



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES Y DE LA
CONSERVACIÓN DE LA NATURALEZA
ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES

DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA Y CONSERVACIÓN DE LA
NATURALEZA

ESTUDIO MORFOANATÓMICO DE HOJAS Y ESTRUCTURAS
REPRODUCTIVAS DE *MYRCEUGENIA RUFA* (COLLA)
SKOTTSBERG EX KAUSEL (MYRTACEAE)

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniero Forestal

HERNÁN ALFONSO RETAMALES REYES

Profesores Guías: Sr. Ángel Cabello Lechuga. Ingeniero Forestal, Doctor en Ciencias Forestales

Sra. Adelina Manríquez Leiva, Profesor de Estado en Biología y Ciencias Biológicas

Santiago, Chile

2010

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES Y DE LA
CONSERVACIÓN DE LA NATURALEZA
ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES
DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA Y CONSERVACIÓN DE LA
NATURALEZA

ESTUDIO MORFOANATÓMICO DE HOJAS Y ESTRUCTURAS
REPRODUCTIVAS DE *MYRCEUGENIA RUFA* (COLLA)
SKOTTSBERG EX KAUSEL (MYRTACEAE)

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniero Forestal

HERNÁN ALFONSO RETAMALES REYES

Calificaciones:	Nota	Firma
Prof. Guía Sr. Ángel Cabello Lechuga	7,0
Prof. Guía Sra. Adelina Manríquez Leiva	7,0
Prof. Consejero Sra. Mila Arellano Arce	7,0
Prof. Consejero Sra. María Teresa Serra Vilalta	7,0

A mis padres, hermanos y amigos.

*Arriba de aquel árbol,
se subió mi pensamiento,
y después que estaba arriba,
no halló por donde bajarse.*

Violeta Parra

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Laboratorio de Biología Vegetal de la Facultad de Ciencias Forestales y De la Conservación de La Naturaleza de la Universidad de Chile, de donde fue posible utilizar equipamientos e insumos especializados para la realización del estudio, al Jardín Botánico Chagual, por el apoyo brindado en cada etapa de avance del trabajo, incluyendo colectas, materiales y difusión, al Jardín Botánico Nacional de Viña del Mar, por la incondicional y valiosa ayuda en información y acceso a material botánico propiedad del recinto, como también el apoyo operativo por parte del personal, sobre todo del Sr. Patricio Novoa, encargado del área de Silvicultura y Forestación del centro.

A mis profesores guías y colaboradores, por sus importantes y decisivas observaciones y comentarios.

Por el apoyo técnico y/o personal, tanto en la memoria como en los años de estudio, muchas gracias a Adelina Manríquez, Mila Arellano, Paulette Naulin, Cristina Latorre, Fermín Camilo, Paulina Romero, Nicolás Morales, René Ramírez, Ítalo Pérez, Andrés Peñaloza, Francisco Cisterna y Luis Puz.

ÍNDICE

RESUMEN

ABSTRACT

1. INTRODUCCION	1
2. MATERIALES Y METODOS	6
2.1. MATERIAL VEGETAL	6
2.2. PROTOCOLO PARA OBTENCIÓN DE MUESTRAS ANATÓMICAS.....	6
2.3. OBSERVACIÓN Y MEDICIÓN.....	8
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
3.1 DESCRIPCIÓN MORFOANATÓMICA DE LA HOJA DE MYRCEUGENIA RUF A (COLLA) SKOTTSBERG EX KAUSEL	10
3.1.1 Morfología.....	10
3.1.2 Anatomía.....	10
3.2.1 Yema floral	15
3.2.1.1 Morfología	15
3.2.1.2 Anatomía.....	17
3.2.2 Flor	17
3.2.2.1 Morfología	17
3.2.2.2 Anatomía.....	21
3.2.3 Fruto y semilla	22
3.2.3.1 Morfología de fruto y semilla	22
3.2.3.2 Anatomía de fruto y semilla.....	24
3.3 DESCRIPCIÓN DEL DESARROLLO DE LAS ESTRUCTURAS REPRODUCTIVAS DE MYRCEUGENIA RUF A (COLLA) SKOTTSBERG EX KAUSEL	26
4. CONCLUSIONES.....	30
5. BIBLIOGRAFÍA.....	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Aspectos morfológicos de <i>Myrceugenia rufa</i> (Colla) Skottsberg ex Kausel... ..	7
Figura 2. Material vegetal y de laboratorio utilizados.. ..	9
Figura 3. Hoja de <i>M. rufa</i> . Morfología.. ..	11
Figura 4. Corte transversal de hoja en <i>M. rufa</i> . Anatomía.. ..	13
Figura 5. Morfología de la yema floral de <i>Myrceugenia rufa</i>	16
Figura 6. Anatomía de la yema floral de <i>Myrceugenia rufa</i>	18
Figura 7. Flor de <i>Myrceugenia rufa</i> . Morfología.....	20
Figura 8. Flor de <i>Myrceugenia rufa</i> . Anatomía	23
Figura 9. Fruto y semilla de <i>Myrceugenia rufa</i> . Morfología.	25
Figura 10. Fruto y semilla de <i>Myrceugenia rufa</i> . Anatomía.....	27
Figura 11. Desarrollo temporal de estructuras reproductivas en <i>Myrceugenia rufa</i>	29

RESUMEN

Myrceugenia rufa (Colla) Skottsberg ex Kausel (arrayán de hoja roja) es un arbusto endémico de Chile perteneciente a la familia Myrtaceae y con una restringida distribución geográfica. Su hábitat natural corresponde a sectores costeros y subcosteros de las Regiones IV y V de Chile, donde debido a la degradación histórica de los bosques esclerófilos costeros, posee pocas poblaciones silvestres y está clasificada como especie “Rara” por el Libro Rojo de la Flora Terrestre de Chile. Caracteres morfoanatómicos foliares como cutícula prominente, abundantes tricomas epidermales, epidermis con sectores biestratificados y parénquima en empalizada desarrollado, sugieren una positiva afinidad adaptativa de la especie a un ambiente xerófito, a diferencia de la mayoría de las mirtáceas conocidas, que son de características higrófilas. La morfoanatomía reproductiva de *M. rufa* es concordante con los antecedentes existentes para especies de la familia y del género, como lo es la placentación central, ovario ínfero, fruto de cáliz persistente en la parte distal, y flores tetrámeras polistémonas. El desarrollo de la yema floral a fruto maduro, ocurre en etapas diferenciables desde el punto de vista morfoanatómico. La organogénesis reproductiva de la especie sigue el patrón típico de las dicotiledóneas, con maduración y diferenciación de los tejidos blandos a otros más resistentes y de funciones más diversas. Los frutos de *M. rufa* son del tipo baya y poseen semillas exalbuminosas. Se hallaron embriones desarrollados, con hipocotilo prominente y de largos cotiledones plegados, lo cual es característico de la subtribu Myrciinae, con la que se relaciona al género *Myrceugenia*. Otros caracteres anatómicos relacionados históricamente a Myrtaceae son confirmados: inclusiones de oxalato de calcio, glándulas secretoras de aceites esenciales y floema interno en haces vasculares bicolaterales.

Palabras clave: *Myrceugenia rufa*, Myrtaceae, morfoanatomía, organogénesis, caracteres anatómicos.

ABSTRACT

Myrceugenia rufa (Colla) Skottsberg ex Kausel (arrayán de hoja roja) is an endemic shrub of central Chile of the Myrtaceae family with a restricted geographical distribution. Its natural habitat is in coastal and subcoastal areas of the IV and V Regions of Chile, where cause of historic degradation of the sclerophyll coastal forest, it has few natural populations and it has a “Rare” classification by the Red Book on Chilean Terrestrial Flora. Foliar Morpho-anatomical characters, as prominent cuticle, epidermal trichomes, sub-bi-stratificate epidermis and a developed palisade parenchyma, suggest a positive affinity with a xeric adaptation, in contrast with other Myrtaceae with hygrophilic environment adaptations. Reproductive morpho-anatomical characters in *M. rufa* are concordant with the existent information in Myrtaceae and *Myrceugenia* species, as the central and subcentral placentation, inferior ovary, and berry fruit with persistent calyx lobes, tetrameric and numerous stamens flowers. The development of the floral bud into mature fruit occurs in morpho-anatomical differentiable stages. The reproductive organogenesis follows the dicotyledons classic way, involving differentiation and maturation of initial tissues, into others, more resistant with multiple functions. The fruits of *M. rufa* are berries and have exalbuminate seeds. Developed embryos were founded, with two long cotyledons and prominent hypocotyl, typical in the Myrceinae subtribe, where *Myrceugenia* has been linked. Other anatomical characters with historical relation with Myrtaceae are confirmed: presence of calcium oxalate crystals, secretory cavities of essential oils and internal phloem in bicollateral vascular bundles.

Keywords: *Myrceugenia rufa*, Myrtaceae, morphoanatomy, organogenesis, anatomical characters

1. INTRODUCCION

Myrtaceae A.L. De Jussieu *sensu lato* (*s.l.*¹), es una familia de plantas vasculares que comprende entre 130 a 140 géneros y aproximadamente 4.000 especies, distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales de Australia, Sudamérica y sureste de Asia, teniendo también una baja presencia en África (Wilson *et al.*, 2001), constituyendo la novena familia más numerosa dentro de las Angiospermas (Govaerts *et al.*, 2008). Algunos autores indican que la cantidad de especies reconocidas en la familia puede ascender a las 5.000 (Chen y Lyn, 2007) e incluso a las 5.700 (Govaerts *et al.*, 2008). La discrepancia numérica se debe a una reconocida dificultad en la identificación de especies y delimitación de la familia (Serra *et al.*, 1986; Romagnolo y Souza, 2004). Actualmente la familia está inserta en el orden Myrtales Rchb., según la propuesta del sistema de clasificación Filogenética para las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group, 2009).

La familia agrupa individuos que se caracterizan morfológicamente por poseer hojas perennes, simples, enteras y dotadas de glándulas secretoras de aceites esenciales (Metcalf y Chalk, 1950; Cronquist, 1988; Wilson *et al.*, 2001), que diferencian a la familia de otras del orden Myrtales (Wettstein, 1944). Las mirtáceas presentan flores con ovario semi-ínfero a ínfero, numerosos estambres, que superan el centenar en muchas ocasiones (Conti *et al.*, 1997) y un hipantio desarrollado a menudo nectario (Briggs y Johnson, 1979; Judd *et al.*, 1999). El sistema de polinización dominante es entomófilo, frecuentemente por ápidos de las subfamilias Meliponinae y Bombinae (Landrum, 1981b).

Según la consistencia del fruto y otras características, la familia Myrtaceae se ha dividido tradicionalmente en dos subfamilias (Niedenzu, 1893): la subfamilia Leptospermoideae, donde se agrupan las especies con frutos capsulares (secos) y de distribución principalmente australásica, y en la subfamilia Myrtoideae, con frutos carnosos de mesocarpo desarrollado y con centros de distribución en Sudamérica y Centroamérica. Una propuesta de Kausel (1956), sugiere que las leptospermoideas pueden considerarse como una familia independiente, la familia Leptospermoaceae. Johnson y Briggs (1984) también hacen referencia a esta clasificación, indicando sobre la base de estudios cladísticos, que debería abandonarse la división, al tratarse Myrtoideae de un grupo polifilético, mientras que Wilson *et al.* (2001) realizan la misma sugerencia al determinar parafilia en la subfamilia Leptospermoideae. Los estudios anteriores se ven sustentados con los recientes antecedentes filogenéticos entregados por Lucas *et al.* (2005) y Wilson *et al.* (2005). De todas formas, la tradicional división sigue siendo la base para referirse en sentido amplio a la familia.

La familia Myrtaceae tiene actualmente una notable y creciente importancia en diversos ámbitos, sobretodo en el agroforestal, al incluir una gran cantidad de especies con frutos comestibles, las cuales son principalmente tropicales. Además han constituido una fuente importante de maderas, flores y aceites esenciales (Rancusi *et al.*, 1987; Govaerts *et al.*, 2008).

¹ Se habla de Myrtaceae en sentido amplio debido a los recurrentes cambios en la taxonomía general del grupo, donde subfamilias, tribus y alianzas son incorporadas y excluidas de la familia frecuentemente por estudios filogenéticos, lo que hace variar bastante el número estimado de especies.

Las Mirtáceas que se distribuyen en Chile se encuentran desde la costa de la IV Región de Coquimbo (Punta Calavera) hasta el extremo más austral de Sudamérica, en bosques húmedos de Chile y Argentina, siendo parte también de formaciones vegetales esclerófilas mediterráneas y costeras de la zona central de Chile (Landrum, 1988).

En cuanto a la taxonomía y sistemática de las especies chilenas de la familia, han existido varias reformas y cambios en el número y nomenclatura de éstas. La primera clasificación formal de las mirtáceas chilenas fue realizada en 1854 por el Dr. Otto K. Berg, botánico y farmacólogo alemán que determinó la existencia de 61 especies afines que se desarrollaban en Chile. En 1868 fueron reconocidas por él 14 nuevas especies, totalizando 75. Karl F. Reiche (1897), en los Estudios Críticos de la Flora de Chile, reconoce confusión y sobrestimación en ese número, sugiriendo una disminución a 52 (Kausel, 1942a). Navas (1971) menciona que Kausel acepta 38 especies de Mirtáceas Chilenas hasta esa época. La última revisión integradora realizada en mirtáceas de Chile, donde se mencionan las especies más aceptadas en la actualidad, fue obra de Landrum (1988) quien reconoce 26 especies distribuidas en 9 géneros, entre ellos, el género *Myrceugenia*.

El género *Myrceugenia* Berg. es un taxón que agrupa 40 especies, de las cuales 14 crecen naturalmente en Chile (doce continentales y dos insulares), encontrándose algunas de éstas también en Argentina. Las restantes se desarrollan en el noreste de Argentina, Uruguay, Paraguay y el sureste de Brasil (Landrum, 1988), con un patrón geográfico continental evidentemente disyunto, con poblaciones en dos zonas separadas por casi 1.000 km, fenómeno causado supuestamente durante el Mioceno (Landrum, 1981a).

Myrceugenia rufa (Colla) Skottsberg ex Kausel (Myrtaceae: Myrtoideae), “arrayán de hoja roja” (Hechenleitner *et al.*, 2005), “hitigu” (Reiche, 1897) o “maitén” en Zapallar (Johow, 1945), es según la descripción de Landrum (1988), un arbusto endémico de Chile, monoico, de 1-2 metros de altura, con pelos dibraquiados café-rojizos a blanquecinos. Hojas perennes de filotaxis opuesta, margen entero, densamente pubescentes por el envés y pulverulentas en el haz, a veces glabras con la edad, elíptico-oblongas a elíptico-ovadas, de 0,5-1,8 cm de largo y 0,2-0,5 cm de ancho, de márgenes revolutos, sin nervadura secundaria notoria y peciolo densamente pubescente de 1-2 mm de largo. Ramillas pubescentes cuando jóvenes, con tricomas que persisten hasta transcurrido un tiempo ya iniciado el crecimiento secundario. Flores hermafroditas, tetrámeras y dispuestas en pedúnculos unifloros, densamente pubescentes, de 0,5 mm de ancho, de 1-4 mm de largo, solitarios o de 2 o 3 en un plano de la axila de las hojas. Bracteolas coriáceas y pubescentes de forma ovadas a oblongas, de 0,9-1,5 mm largo. Sépalos ovados a suborbiculares, fuertemente cóncavos, de 1,2-2,6 mm de largo y de ancho usualmente de proporción 0,8-1 del largo, de pubescencia ligera a densa. Pétalos relativamente orbiculares, de 2-3 mm de diámetro, de muy baja pubescencia. Hipantio obcónico densamente pubescente de 2 mm de largo. Abundantes estambres (entre 60-100), de 3-6 mm de largo, con anteras de 0,4-0,6 mm de largo cuando secas. Estilo de 5-6 mm de largo, ligeramente pubescente. Ovario bilocular a tetralocular, con 5-13 óvulos por lóculo. Fruto baya de 4-8 mm de diámetro, amarillo anaranjado y pubescente, que madura de 3 a 5 meses después de la fecundación de los óvulos de las flores (Landrum, 1981b).

Los frutos de *M. rufa* son severamente atacados por un insecto, posiblemente un tineido no identificado (Lepidóptera), el cual oviposita sobre el fruto recién formado, donde la larva se alimenta de las semillas hasta su sexta etapa de desarrollo. Lo anterior hace muy escasa la producción de semillas, llegando a valores de pérdida estimados en 94,6% (Cortés *et al.*, 2006). Couturier *et al.* (1996) estudiaron las plagas de insectos que afectan a las Mirtáceas de las selvas tropicales de Iquitos en el Perú, mencionando a un curculiónido (*Conotrachelus dubiae*) como el causante de la infestación de frutos, el cual opera de la misma forma que el parásito de *M. rufa*, es decir, ovipositando el fruto en formación para después alimentarse de la totalidad de las semillas. Serra *et al.* (1986) se refieren a un curculiónido como el agente de daño en *M. rufa* y no a un lepidóptero como lo hacen Cortés *et al.* (2006), lo cual es convergente con el caso de Mirtáceas peruanas.

Se reconocen variaciones notables en cuanto a la época de floración y fructificación entre individuos silvestres y cultivados de las Mirtáceas chilenas, lo cual es de gran importancia al momento de la colecta del material reproductivo (Kausel, 1942b). El último autor indica que la floración de *M. rufa* (en 1942 *M. ferruginea*) tiene una excepción en relación al resto de las especies chilenas de la familia, ya que florece entre septiembre y noviembre, a diferencia del resto, que lo hacen en verano, entre noviembre y enero (Kausel, 1944). Cabello y Suazo (2008) hacen alusión a que la floración de *M. rufa* no ocurre necesariamente todos los años, habiendo temporadas donde el aroma de las flores inunda el ambiente, y otras donde hay total inexistencia de éstas, y por lo tanto, déficit de frutos y semillas en verano-otoño.

Las poblaciones de *M. rufa* se pueden encontrar en la actualidad en la costa central de Chile, entre la IV Región de Coquimbo y la V Región de Valparaíso, en quebradas protegidas y orientadas hacia el océano (Serra *et al.*, 1986), sometidas a neblinas costeras, por lo cual no se alejan de muchos kilómetros del mar (Landrum, 1981b). Según la corología de herbario, se determina su límite norte en el Cerro Talinay, costa de Ovalle, Parque Nacional Fray Jorge, IV Región (30°50'S – 71°40'O) y su límite sur en las colinas costeras cerca de Cartagena (33°31'S- 71°35'O) (Serra *et al.*, 1986). Su rango altitudinal de desarrollo va desde los 10 a los 700 msnm creciendo sobre acantilados costeros (Hechenleitner *et al.*, 2005). Crece principalmente en terrenos xerófitos de baja fertilidad, erosionados, y en algunos sitios donde la vegetación ha sido sustantivamente talada y/o quemada (Cabello y Suazo, 2008). Según la clasificación de la vegetación silvestre de Chile, realizada por Gajardo (1994), la especie debería estar asociada a la formación del Bosque Esclerófilo Costero en la V Región y a la formación del Matorral Estepario Costero en la IV Región, mientras que según los pisos de vegetación de Luebert y Pliscoff (2006), *M. rufa* se encontraría probablemente incluida o relacionada al Matorral desértico mediterráneo costero de *Bahia ambrosioides* y *Puya chilensis*, por el norte de su distribución, y en el Matorral arborescente esclerófilo mediterráneo costero de *Peumus boldus* y *Schinus latifolius*, por el sur de ésta.

Considerando sus pocas poblaciones o subpoblaciones remanentes, baja densidad poblacional en muchos puntos y su reconocida escasez (Kausel, 1942a; Serra *et al.*, 1986), *M. rufa* fue catalogada como especie Rara en el Simposio “Flora Nativa Arbórea y Arbustiva de Chile Amenazada de Extinción” (Benoit, 1989). Actualmente, por las razones de degradación ambiental que se han ido agudizando con los años, *M. rufa* se sugiere como

especie En Peligro, según la versión 3.1 emitida por la Unión Internacional por la Conservación de la Naturaleza (UICN, 2001), donde se cataloga el hábitat de la especie como fragmentado y con permanente amenaza debido a la expansión urbana, actividad turística y a los frecuentes incendios (Hechenleitner *et al.*, 2005). Sin embargo, la categoría de conservación vigente para la especie en la legislación, sigue siendo la expuesta en el Libro Rojo de la Flora Terrestre de Chile (Benoit, 1989), la cual corresponde a especie Rara.

Como es frecuente en las especies vegetales chilenas, en Myrtaceae no existe información anatómica en lo que a biología reproductiva respecta. Lo anterior aplica similarmente al resto de la familia, donde se reconoce una carencia casi total de información en la subfamilia Myrtoideae (Lughadha y Proenca, 1996). Esta falta de información en la biología de las especies chilenas de la familia, se contraponen de alguna manera a los cimientos que conforman la clasificación histórica y vigente del grupo, ya que las tres subtribus de Myrtaceae; Myrtinae, Myrcinae (donde se incluye *Myrceugenia*) y Eugeniinae (todas de la tribu Myrteae, subfamilia Myrtoideae), están fundadas en caracteres morfológicos del embrión y la semilla (Reiche, 1897).

Comprender el nivel de organización de los tejidos celulares, es de gran importancia para dar inicio a estudios biológicos más profundos en cualquier especie vegetal, debido a que bajo el prisma del estudio histológico es posible reconocer, identificar y analizar aspectos basales de la biología de plantas, como lo es el crecimiento vegetativo, la reacción frente a condiciones de estrés ambiental y la propagación. Estos estudios sirven para sentar las bases en la interpretación de procesos funcionales que ocurran en los distintos órganos de las plantas.

Los estudios anatómicos y morfológicos de las estructuras reproductivas de las plantas, han tenido gran importancia para los planes y programas de propagación de especies con problemas de conservación, contribuyendo en gran medida al conocimiento base en estos tópicos (Souza *et al.*, 2001).

La organogénesis floral es una herramienta de gran utilidad en el estudio de propiedades reproductivas en las plantas vasculares, habiendo parámetros de gran relevancia en el desempeño reproductivo de las distintas especies (Garzón-Venegas y Orozco, 2006).

El seguimiento o estudio del desarrollo de los componentes reproductivos de una planta permite determinar las fases o etapas de desarrollo en las cuales se encuentra este proceso, lo cual se vincula de forma directa con parámetros ecológicos de adecuación y sobrevivencia de los individuos, como la producción y calidad de las semillas.

Dickison (2000), indica que la ontogenia floral en las Dicotiledóneas (actualmente reconocidas como Eudicots), se da en una serie de etapas concatenadas y relativamente comunes en todas las especies del grupo, siendo sencillo describir los acontecimientos de desarrollo de los tejidos en cada etapa.

Por otra parte, uno de los usos más recurrentes del estudio de la histología reproductiva en plantas, recae en el campo de la taxonomía y sistemática, ya que los caracteres anatómicos relativos a las estructuras reproductivas se reconocen como de alta significancia evolutiva en los distintos grupos. Son numerosos los estudios que utilizan esta herramienta para caracterizar grupos, dilucidar posicionamientos sistemáticos y relaciones de ancestría entre los distintos taxa, entre los que es útil mencionar a Carlquist (1969), Yamazaki (1987), Drinnan y Ladiges (1991), Tucker (1998), Rodríguez (2000), Wilson (2001), Rudall *et al.* (2002), Belsham y Orlovich (2002), Belsham y Orlovich (2003), Tantawy (2004), Drinnan y Carrucan (2004), Visintin y Bernardello (2005), Garzón-Venegas y Orozco (2006), Rosa y Scatena (2007), y a Cao y Xia (2009). De los trabajos mencionados en el área de la organogénesis floral, varios tratan sobre especies de la familia Myrtaceae.

En cuanto a la anatomía de las hojas, es posible obtener datos ampliamente aceptados acerca del ambiente en el cual se desarrolla la especie, ya que es el órgano al cual se le atribuye la mayor cantidad de modificaciones somáticas medibles, en respuesta a las condiciones ambientales. Carlquist (1961), en su tratado de anatomía vegetal señala a la hoja como el órgano de mayor interés en este campo, ya que anatómicamente es quizás el más variable dentro de las Angiospermas.

Kausel (1944) destaca a *M. rufa*, junto con *Myrcianthes coquimbensis* (*Reichea coquimbensis*), como las únicas Mirtáceas chilenas xerófitas, aunque sinéfilas. Sin embargo, estudios anatómicos y fisiológicos contribuirían a confirmar la afinidad a estas características ambientales, como se hace en este trabajo con la anatomía foliar de *M. rufa*.

Para lograr aportar a la conservación efectiva de los recursos vegetales con algún grado de amenaza o peligro, es imperioso conocer la dinámica de reproducción de las plantas, junto con las amenazas o restricciones bióticas y abióticas imperantes, y con ello aplicar las estrategias, medidas o técnicas que propendan a la propagación eficaz de éstas.

En consecuencia, con el propósito de contribuir al conocimiento biológico en especies de este grupo vegetal y de promover su conservación, el presente estudio pretende realizar una descripción morfoanatómica de flores y frutos en distintas fases de desarrollo de *Myrceugenia rufa* (Colla) Skottsberg ex Kausel, para obtener así una aproximación a la organogénesis de las estructuras reproductivas de la especie, lo que en un futuro puede eventualmente aportar a mejorar su reproducción por semillas. También se contempla una descripción de la histología foliar de *M. rufa*, para conocer así sus adaptaciones al ambiente xerófito. Además se realizará un estudio morfológico del material vegetal de la especie, que buscará documentar valores métricos de sus caracteres vegetativos y reproductivos.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. MATERIAL VEGETAL

Se colectaron hojas, yemas florales, flores, y frutos, de individuos adultos de *Myrceugenia rufa* (Figura 1-a) de entre 1-2 m de altura (Figura 1-b, 1-c), de las siguientes localidades con poblaciones naturales: Quebrada de Córdoba (El Tabo, V Región de Valparaíso; 33°20'S), Los Molles (V Región de Valparaíso; 32°40'S), Cerro de la Cruz (Zapallar, V Región de Valparaíso; 32°33'S) y Rodelillo (Viña del Mar, V Región de Valparaíso; 33°00'). Del Jardín Botánico Nacional (J.B.N.) de Viña del Mar (V Región de Valparaíso; 33°00') se dispuso de un individuo cultivado. Las colectas tuvieron lugar entre los días 20 y 22 de noviembre del 2008 en el caso de El Tabo, y entre el 26 y 29 de diciembre del 2008 en el Cerro de La Cruz, mientras que las muestras restantes se colectaron el 2009, en las localidades de Los Molles y Cerro de La Cruz (2 y 3 octubre), sector Rodelillo (25 y 26 de septiembre) y en el Jardín Botánico Nacional de Viña del Mar (3 de agosto, 22 de agosto, 24 de septiembre, 29 de diciembre). Los frutos fueron colectados en enero del año 2010 en el sector de Rodelillo (Figura 1-d). Las localidades de colecta, a excepción del JBN y Los Molles, presentaron importantes indicios de alteración ecológica, lo que se asume sin implicancias sobre el presente estudio en términos cualitativos. De todas formas, debido a la situación actual de la especie, no se descarta que estas condiciones sean las más frecuentes en las cuales se desarrolla en el presente.

El material vegetal fue colectado e identificado mediante clave taxonómica (Landrum, 1988), autor que detalla la descripción morfológica de la especie y sus congéneres.

2.2. PROTOCOLO PARA OBTENCIÓN DE MUESTRAS ANATÓMICAS

Las muestras fueron fijadas, durante 48 hr., en FAA (formalina + etanol 70% + ácido acético glacial + agua destilada). Luego fueron conservadas 96 horas en etanol de 70° hasta el inicio de la deshidratación (Figura 2)

Para obtener la aproximación al desarrollo embriológico de las estructuras reproductivas se realizó una serie de cortes histológicos en muestras provenientes de los distintos individuos, en diversas etapas de desarrollo, y así tener una secuencia lógica que se aproxime a la evolución de estas estructuras en el tiempo. Para definir los estados de desarrollo de las yemas florales, flores y frutos a estudiar, se tomaron en cuenta parámetros de tamaño relativo y coloración, que permitieran diferenciar notablemente un estadio de otro. El tiempo no fue utilizado como referencia para escoger las fases reproductivas, ya que se desconoce el tiempo de desarrollo de las estructuras en las distintas plantas de las diversas poblaciones silvestres.

Los cortes histológicos se hicieron según los procedimientos descritos por Johansen (1940). Luego de la fijación en FAA y la conservación en etanol 70°, las muestras fueron deshidratadas, en una batería de alcohol de gradiente creciente (etanol 70-100°) por periodos variables (3 a 24 hr), para luego someterlas a 8 combinaciones porcentuales de etanol/xilol por 3 horas cada una (E/X%: 97,5/2,5; 95/5; 90/10; 75/25; 50/50; 25/75; 5/95; 0/100). Una vez finalizada esta etapa, las estructuras vegetales fueron inmersas en parafina

fundida (miscible en xilol 100%). La fusión de los pellets de parafina, como la conservación de ésta junto con las muestras, fue realizada en una estufa de laboratorio marca Memmert (Figura 2-b). Posteriormente la parafina con las muestras incluidas, fue solidificada a temperatura ambiente en hexaedros de papel.



Figura 1. Aspectos morfológicos de *Myrceugenia rufa* (Colla) Skottsberg ex Kausel. **a** (Ramilla de *Myrceugenia rufa* con follaje y yemas florales). **b** (*M. rufa*, hábito de individuo cultivado en el Jardín Botánico Nacional). **c** (Individuo de *M. rufa* del sector de la Quebrada de Córdoba). **d** (Rama con frutos de *M. rufa*, sector Rodelillo).

Los cortes fueron realizados en un micrótopo rotativo marca E. Leitz modelo Wetzlar (Figura 2-c) a un espesor entre 5 y 10 μm ., según la resistencia o fragilidad del material. Los cortes de 10 μm corresponden a los de estructuras reproductivas y los de 5 μm a las hojas. Luego de montarlos en portabjetos se procedió a su tinción, previa remoción de la parafina remanente. Las muestras fueron teñidas con safranina-fast-green; ; para ello, fueron rehidratadas mediante una batería de alcohol (etanol 100°, 95°, 70°, 50°), continuándose con los siguientes compuestos: FeCl_3 (cloruro férrico), $\text{C}_{76}\text{H}_{52}\text{O}_{46}$ (ácido tánico), safranina 1% ($\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{ClN}_4$), fast green FCF al 1% ($\text{C}_{37}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{S}_3$) y agua destilada, para lavar los colorantes en exceso. (Figura 2-d).

El sellado de las muestras se realizó con el adhesivo Eukitt (polímero acrílico con xileno), entre portaobjetos y cubreobjetos comunes.

2.3. OBSERVACIÓN Y MEDICIÓN

Para las observaciones y microfotografías se utilizó una cámara digital Canon Power Shot A640 acoplada en un microscopio óptico trilocular Carl Zeiss Axiostar 10-031. Se obtuvieron además fotografías mediante una lupa de luz. Una vez obtenidas las imágenes se procedió a su identificación y descripción anatómica.

Las mediciones biométricas en anatomía, se realizaron con el programa UTHSCSA ImageTool 3.0 (Wilcox *et al.*, 2002), previa construcción de una escala hecha a partir de una regla graduada en micrómetros.

Para el estudio morfológico, se utilizó un pie de metro graduado en milímetros y una lupa de luz. Se realizó una descripción cualitativa de las estructuras, donde se analizaron variables como color de la yema y clámides, simetría de las flores y hojas, filotaxis de las hojas y pubescencia de hojas y yemas florales. Fue realizada también una descripción cuantitativa, cuyos parámetros fueron: Longitud y ancho de las hojas, largo del peciolo, longitud y número de estambres (contados al día siguiente de la anthesis), dimensión de los clámides florales (sépalos, pétalos), longitud del pistilo, dimensiones del fruto y espesor del pericarpo.

Los caracteres morfológicos cualitativos, al igual que las mediciones, fueron obtenidos mediante estadística descriptiva con 35 repeticiones al azar por estructura, extraídas de las 5 localidades de colecta, con el fin de obtener datos representativos y afines con la especie, aunque sin indagar en la variación interpoblacional. Las mediciones serán presentadas con el valor mínimo, máximo y medio aritmético entre paréntesis, como también sus respectivas desviaciones estándar (σ). Los resultados de las mediciones morfológicas se refieren exclusivamente a las muestras colectadas y no pretenden obtener valores representativos para todo el rango de distribución de la especie ni caracterizar al taxón. Distinto es el caso de la contribución anatómica, donde no existe antecedente alguno a nivel de especie.

Los resultados se presentan mediante texto, junto con micro y macrofotografías que detallan las observaciones correspondientes, dependiendo si se trata de tejidos o estructuras morfológicas.

La preparación de muestras anatómicas y los estudios morfológicos, se realizaron en el Laboratorio de Biología Vegetal, del Departamento de Silvicultura y Conservación de la Naturaleza, Facultad de Ciencias Forestales y Conservación de la Naturaleza, de la Universidad de Chile, Santiago.

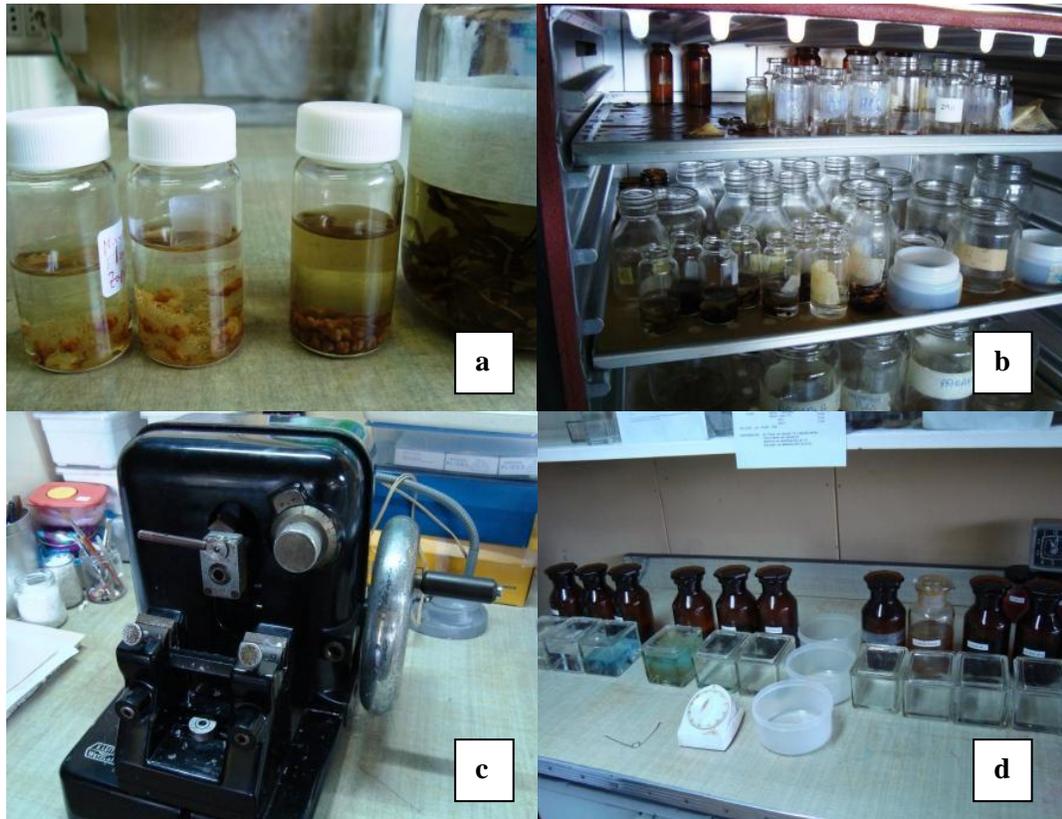


Figura 2. Material vegetal y de laboratorio utilizados. **a** (Hojas, yemas florales, flores y frutos de *M. rufa* en FAA y/o etanol). **b** (Estufa marca Memmert con material vegetal incluido en parafina). **c** (Micrótopo de rotación E. Leitz modelo Wetzlar con el que se realizaron los cortes histológicos). **d** (Compuestos químicos y batería de tinción utilizada en el estudio).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 DESCRIPCIÓN MORFOANATÓMICA DE LA HOJA DE *MYRCEUGENIA RUFa* (COLLA) SKOTTSBERG EX KAUSEL

3.1.1 Morfología

Las hojas de *M. rufa* son opuestas y de función normal. Son simples, simétricas, coriáceas, exestipuladas, elípticas a oblongas, de margen entero y revoluto, ápice obtuso, base cuneado-obtusa, aromáticas, con glándulas secretoras de aceites esenciales muy conspicuas en la cara adaxial y distribuidas de forma marginal-laminar según la clasificación de Hickey (1973), de abundante pubescencia café-rojiza, mucho más densa en la cara abaxial que en la adaxial durante la etapa adulta (Figura 3-a, 3-b), reticuladas pinnadas, con una nervadura central muy poco notoria en el envés, los peciolo presentan abundantes pelos multicelulares, al igual que las láminas, aunque más oscuros (Figura 3-c). Las dimensiones de las hojas fueron determinada en 7 (13) 20 mm de longitud ($\sigma=1,2$) y 3 (4) 6 mm de ancho ($\sigma=0,9$), mientras que el peciolo en 2 mm de longitud ($\sigma=0,8$).

Los valores obtenidos en las mediciones difieren levemente de los expuestos por Landrum (1988), quien en general, documenta dimensiones algo menores en sus muestras (5-18 mm de longitud y 2-5 mm de ancho). Kausel (1942a) describe a *M. rufa* bajo el nombre de *M. ferruginea*, citando también valores inferiores a los obtenidos en este estudio (8-15 mm de largo y 2,5-5,5 mm de ancho). La mayor diferencia se da con los resultados de Reiche (1897), quien se refiere a dimensiones de 5-8 mm de largo y 2-3 mm de ancho. Las diferencias en las mediciones pueden atribuirse a diversas causas cuyo análisis no es propósito de este trabajo.

Se observa un crecimiento anormal en las zonas más distales de las ramillas, con apariencia de hojas que se cierran sobre sí mismas constituyendo una estructura elíptica, vacía y revoluta de color café-rojiza (Figura 3-d), de dimensiones 5 (9) 13 mm de longitud ($\sigma=1,1$) y de 3 (5) 6 mm de ancho ($\sigma=0,8$). Este fenómeno, muy poco documentado, puede atribuirse a algún agente patógeno que causaría la malformación (Novoa, 2005). Cabello y Suazo (2008) han hallado una larva en el interior de esta estructura, probablemente la causante de la reacción. Giblin-Davis *et al.* (2004), asocian un mutualismo entre una mosca (*Fergusonina sp.*) y un nemátodo (*Fergusobia sp.*) como el causante de daño y malformaciones foliares similares en Mirtáceas australianas. En relación al antecedente anterior, se considera prudente tomar en cuenta, a esta o a otro tipo de relaciones simbióticas, al momento de estudiar en profundidad este caso.

3.1.2 Anatomía

M. rufa presenta una lámina foliar hipostomática de 537,2 (588,5) 641,5 μm de ancho ($\sigma=24,2$) (Figura 4-a), posee epidermis mucilaginoso monoestratificada, con segmentos aparentemente de epidermis biestratificada o de cámaras subepidérmicas, las cuales son frecuentes sobre los haces vasculares, tanto centrales como secundarios. Se aprecia una depositación regular de cutina, intrusiva hasta las paredes anticlinales de las células epidermales formando una prominente cutícula de grosor 4,2 (5,6) 6,2 μm ($\sigma=1,0$) en la

cara adaxial y de 2,1 (3,6) 4,2 μm ($\sigma=0,5$) en la cara abaxial. Células epidermales algo comprimidas, algunas rectangulares y otras isodiamétricas, planoconvexas y con pared celular primaria delgada, de 28,3 (35) 39,2 μm de grosor ($\sigma=2,9$) y 21 (24) 31 μm de largo ($\sigma=2,5$) en la cara adaxial y con 11,1 (19) 25 μm de ancho ($\sigma=1,2$) y 10 (15) 16 μm de largo ($\sigma=1,1$) en la cara abaxial (Figura 4-b). Se observan tricomas multicelulares (pelos) de 6,5 (9,4) 11,9 μm de longitud ($\sigma=2,8$), siendo éstos mucho más densos y conspicuos en la cara abaxial de la hoja y sólo con algunas trazas de irregular longitud en la cara adaxial. El mesófilo dorsiventral está compuesto por un parénquima en empalizada y un parénquima esponjoso. El primero está formado por 3-5 estratos muy comprimidos de células rectangulares atenuadas y verticales (el quinto estrato infrecuente y difuso), con células de paredes primarias muy delgadas y alta concentración de cloroplastos, mientras que el segundo, se compone de células de forma irregular, variando de redondeadas a poligonales, y con abundantes espacios intercelulares, que ocupan el 70-80% de la superficie transversal del mesófilo.

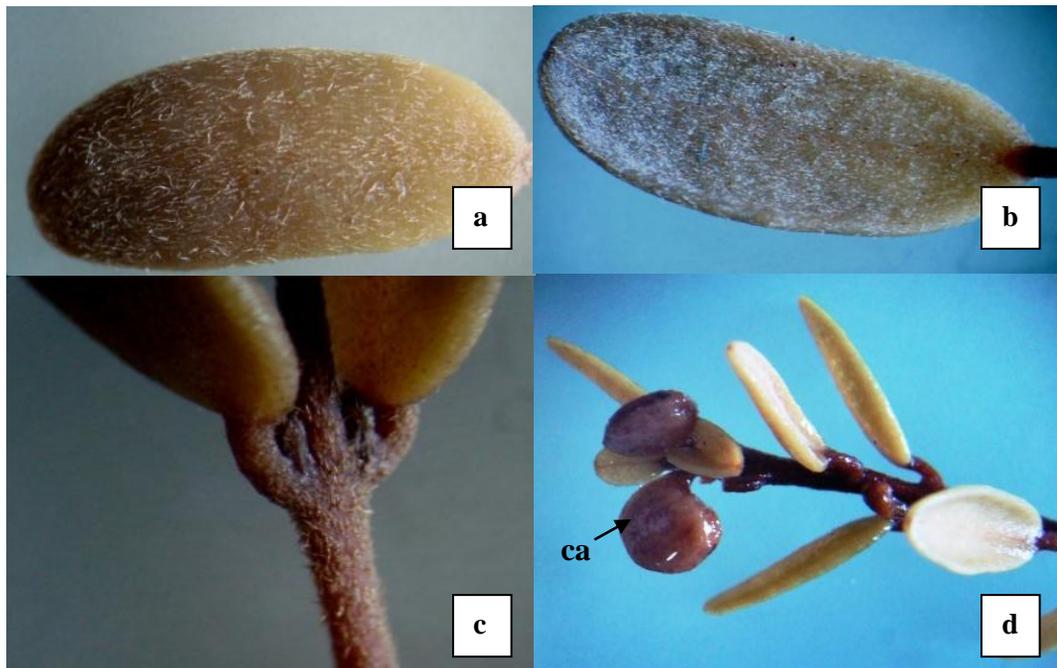


Figura 3. Hoja de *M. rufa*. Morfología. **a** (Cara adaxial de la hoja de *M. rufa*). **b** (Cara abaxial de la hoja de *M. rufa*, donde se observa una mayor pubescencia de la hoja en comparación con la cara adaxial). **c** (Pecíolo de *M. rufa* con pubescencia densa y oscura). **d** (Hojas apicales de la rama en *M. rufa* con crecimiento anómalo). **ca**: crecimiento anormal.

Células en empalizada de 40 (68) 77,3 μm de alto ($\sigma=4$) y 11 (20,6) 29 μm de ancho ($\sigma=2,1$). Células del parénquima esponjoso con 17 (35) 59,1 μm de diámetro ($\sigma=3,9$) (Figura 4-c). Se observan células redondeadas-cuadrangulares bajo el haz vascular central, con una dimensión de 15,5 (25) 33 μm de diámetro ($\sigma=2,3$), las que conforman una prolongación de la vaina del haz, pero sólo hacia la epidermis abaxial del mesófilo. Cavidades secretoras de 80 (95) 110,2 μm de diámetro ($\sigma=4,8$), con células epiteliales rectangulares de 25,5 (30) 38,2 μm de largo y 11 (18,1) 23 de ancho ($\sigma=1,8$) (Figura 4-d). Células de la vaina del haz con 15,3 (23,1) 30 μm de diámetro ($\sigma=2,1$). Como sustancias ergásticas se reconocen inclusiones de drusas, formadas por oxalato de calcio (CaOx), con dimensiones 17 (25,1) 35 μm de diámetro ($\sigma=4,1$) (Figura 4-e). Haces vasculares con floema interno, concéntricos perifloemáticos a bicólaterales anficribales (Figura 4-f). Haz vascular central de 145 (178,2) 201 μm de alto ($\sigma=7$) y 185,2 (215) 223 μm de ancho ($\sigma=7,1$). Vasos del haz vascular central de 6,5 (12) 18 μm de diámetro ($\sigma=2,1$) y con engrosamientos helicoidales. Tubos cribosos 6 (8,1) 12 μm de diámetro ($\sigma=1,8$), fibras del floema 8,8 (13) 17 μm de diámetro ($\sigma=1,9$). Pared secundaria de las fibras floemáticas 2,2 (4,9) 7 μm de ancho ($\sigma=1,1$).

La epidermis foliar de *M. rufa* difiere del patrón típico de epidermis totalmente monoestratificada o uniseriada, observado en la estructura anatómica de casi todas las especies de Myrtaceae a las cuales se les ha estudiado su anatomía foliar, como es el caso de representantes de los géneros *Eugenia* (Fontenelle *et al.*, 1994; Donato y Morretes, 2007), *Myrcia*, *Campomanesia* (Gomes *et al.*, 2009), *Callistemom*, *Eucalyptus*, *Melaleuca* (Tantawy, 2004) y *Amomyrtus* (Retamales y Naulin, 2006; Retamales, 2007; Retamales y Naulin, 2010). De las mirtáceas con anatomía conocida, *Psidium guayaba* (Guayaba) es la única citada con epidermis foliar biestratificada, o bien, monoestratificada con dos a tres cavidades subepidérmicas (Gomes *et al.*, 2009; Tantawy, 2004), lo que se asemeja a lo descrito en *M. rufa*.

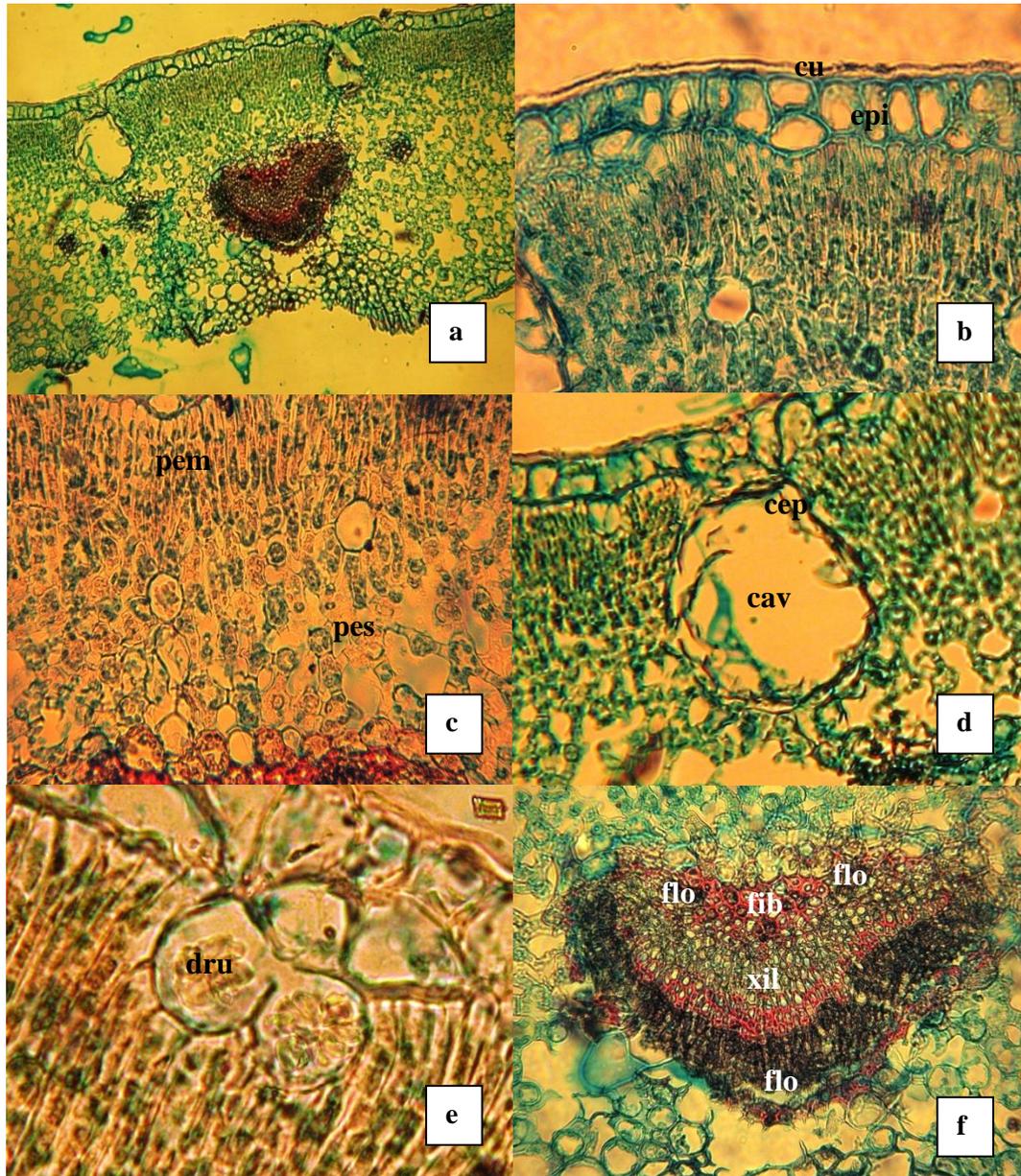


Figura 4. Corte transversal de Hoja en *M. rufa*. Anatomía. **a** (Anatomía en sección media de la hoja de *Myrceugenia rufa* (50x). **b** (Epidermis y cutícula (100x)). **c** (Mesófilo: parénquima en empalizada y parénquima esponjoso (100x)). **d** (Cavidad secretora oleosa y células epiteliales (430x)). **e** (Idioblasto con drusa (cristal de oxalato de calcio) (430x)). **f** (Haz vascular central donde se observa el floema interno (100x)). **cu**: cutícula foliar; **epi**: epidermis foliar; **pem**: parénquima en empalizada; **pes**: parénquima esponjoso; **cav**: cavidad secretora; **cep**: célula epitelial secretora; **dru**: drusa; **xil**: xilema; **flo**: floema interno en haz vascular biclateral; **fib**: fibras del floema.

Son destacables los altos valores de espesor cuticular de *M. rufa*, en comparación con los de *Amomyrtus meli* y *A. luma*, dos especies de mirtáceas con una cutícula mucho más delgada, con valores promedios un 50% menores (Retamales, 2007). Esto se puede explicar por las diferentes condiciones ambientales en que estas especies se desarrollan, siendo las primeras especies componentes abundantes de los bosques templados lluviosos, mientras que la especie en estudio, habita áreas con menos incidencia de precipitación (aunque con aportes de neblinas costeras) y mayores temperaturas, lo que estaría determinando la presencia de una cutícula más prominente en especies que se han adaptado en su historia evolutiva a lugares con menor aporte hídrico (xéricos), favoreciéndose de una menor pérdida de agua por evapotranspiración foliar y de mayor protección física frente al medio (Metcalf y Chalk, 1950; Esau, 1959; Dickison, 2000). Los tricomas foliares, observados tanto a nivel morfológico como anatómico, sugieren también una adaptación de *M. rufa* al ambiente xérico, los cuales al igual que su espesor cuticular, evitan la excesiva pérdida de agua en ambientes con altas diferencias de potencial hídrico, al proveer de un microclima estabilizador en la superficie de la hoja (Raven *et al.*, 2005). La presencia de tricomas foliares persistentes en hojas adultas, aunque no es un carácter recurrente en especies de la familia Myrtaceae, ha sido observado en representantes del género *Eugenia* L., entre otros (Fontenelle *et al.*, 1994). Landrum (1981) se refiere a la condición xerófita de *M. rufa* y otras mirtáceas americanas, explicando su evolución por aislamientos continentales de 10-20 millones de años en áreas suroccidentales de Sudamérica, que provocaron la existencia actual de representantes endémicos de grupos tropicales con estas características.

La estructura anatómica general del mesófilo de *M. rufa* corresponde al típico de una Magnoliopsida (Eudicot), con la presencia de parénquima en empalizada, parénquima esponjoso, y haces vasculares ramificados (uno central y varios laterales). Los caracteres anatómicos diferenciales en el mesófilo de la especie en estudio, es decir, la presencia de idioblastos con cristales formados por oxalato de calcio (drusas), floema interno en los haces vasculares y células secretoras de aceites esenciales, son los más destacables con fines de discusión dentro de la familia Myrtaceae (Cardoso *et al.*, 2009).

Macnish *et al.* (2003) describen drusas formadas por oxalatos de calcio en una mirtácea australiana (*Chamelaucium uncinatum*), mencionando su presencia en otros representantes de la familia, como también lo hacen Donato y Morretes (2007) y Alves *et al.* (2008) en mirtáceas brasileras del género *Eugenia* (*E. brasiliensis* y *E. uniflora*), quienes identifican las mismas estructuras. En lo que respecta al floema interno de los haces vasculares, este es reconocido por Cronquist (1984; 1988) y Takhtajan (1980), como carácter general distintivo del orden Myrtales, estando presente también en otras especies, como las pertenecientes al orden Cucurbitales Dumort. Retamales y Naulin (2006; 2010) confirman también floema interno en las dos especies del género *Amomyrtus* (*A. meli* y *A. luma*), concordando con la descripción que otros autores realizan en diversas mirtáceas en relación a este carácter. En cuanto a los componentes xilemáticos de los haces vasculares, se destaca la presencia de vasos con engrosamientos helicoidales de la pared secundaria, un carácter considerado plesiomórfico y presente en *Myrceugenia*, como también en el género *Luma* Gray (Patel, 1995).

Otro de los caracteres diferenciales de las especies de Myrtaceae, y presente en abundancia en *M. rufa*, son las células epiteliales secretoras de aceites esenciales, observadas también en varias mirtáceas sudamericanas por Gomes *et al.* (2009), como también en los trabajos mencionados de Donato y Morretes (2007) y de Alves *et al.* (2008). Los aceites esenciales secretados por las especies de la familia han sido identificados como flavonoides (Wollenweber *et al.*, 2000) y terpenoides (Tanaka *et al.*, 1996; Lee, 1998; Judd *et al.*, 1999).

3.2 DESCRIPCIÓN MORFOANATÓMICA DE ESTRUCTURAS REPRODUCTIVAS DE *MYRCEUGENIA RUF*A (COLLA) SKOTTSBERG EX KAUSEL

3.2.1 Yema floral

3.2.1.1 Morfología

Yemas de 2,2 (4,1) 5,2 mm de diámetro ($\sigma=0,3$), de forma ovada, que se hacen angostas hacia la zona próxima al ovario, de color café verdoso cuando jóvenes que se torna verde amarillento con la maduración, pubescentes en su totalidad, cubiertas de pelos rojizos multicelulares que se hacen más notorios con el desarrollo. Recubiertas en su parte superior por un conjunto de 4 antesépalos o primordios florales, protuberantes, que le otorgan su forma tetrámera (Figura 5-a, 5-b)

Pedúnculos simples, a veces próximos en las partes distales de las ramas, dando la impresión de disposición agrupada (Figura 5-c), cafés, también muy pubescentes y de 2,1 (3) 5,1 mm de longitud ($\sigma=0,5$). Presencia de pequeñas bracteolas redondeadas entre el pedúnculo y la yema, de 0,8 (1) 1,4 mm de diámetro ($\sigma=0,1$).

La organización interna de piezas florales en la yema sigue el patrón típico de las angiospermas con flores hermafroditas, donde los estambres se hallan en deflexión hacia el centro, juntándose con el pistilo, mientras que los clámidas del perianto se hayan imbricados en la misma dirección y confluyendo con los estambres (Bohte y Drinnan, 2005a) (Figura 5-d, 5-e).

En un estado de yema más cercano a la anthesis, la corola emerge entre los pliegues de los antesépalos, cerrada, blanca, con matices levemente amarillentos y manchas difusas rojizo-rosáceas. Durante esta etapa, mediante un corte longitudinal tangencial, se observa claramente el posicionamiento curvado del casi centenar de estambres en el reducido espacio delimitado por los clámidas. Mediante este corte son observables los conspicuos canales secretores de aceites esenciales en el cáliz, mucho menos notorios en la corola (Figura 5-f).

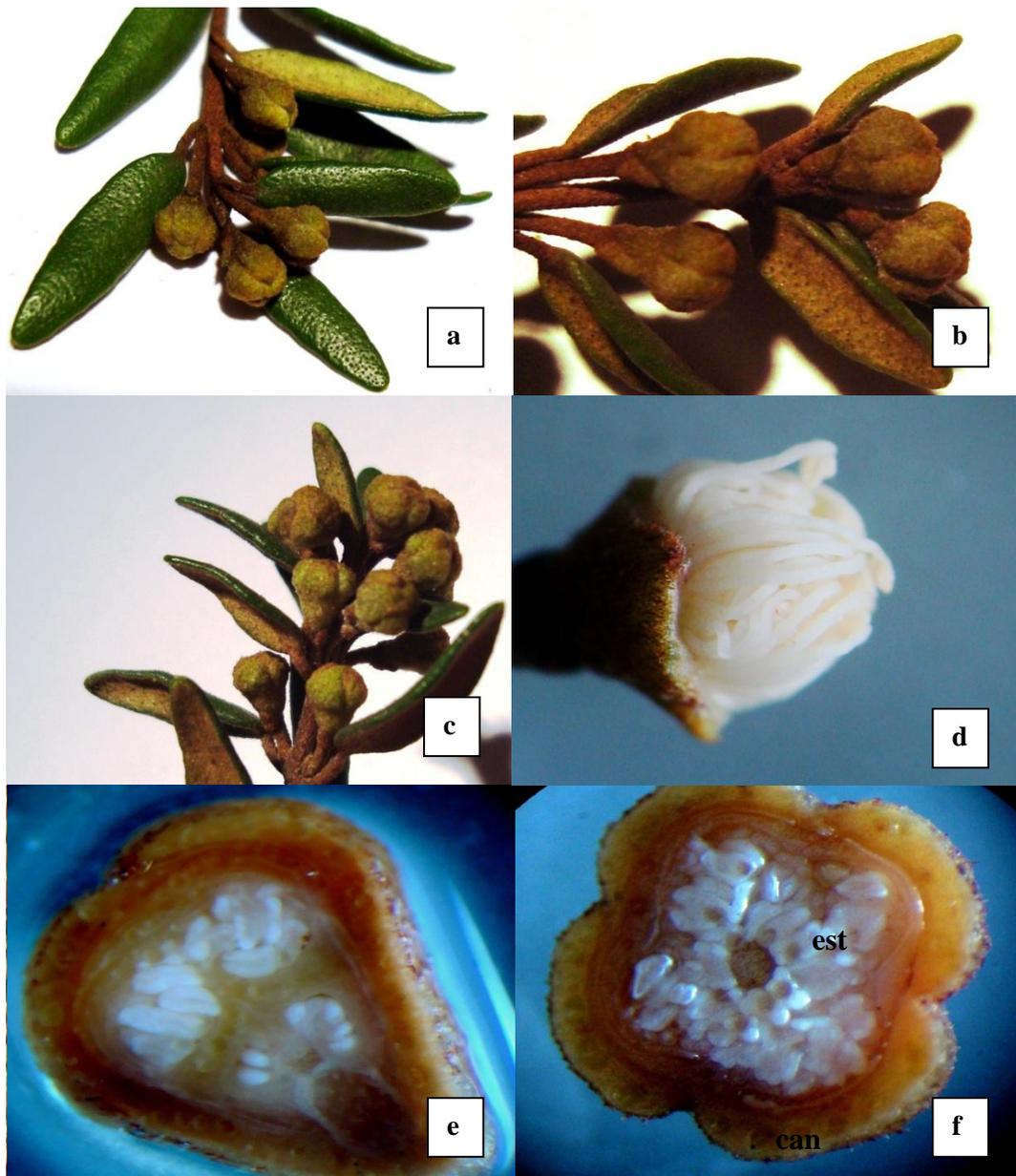


Figura 5. Morfología de la yema floral de *Myrceugenia rufa*. **a,b** (Ramilla con yemas florales. **c** (Disposición uniflora de pedúnculos que se aproximan en la parte distal de las ramillas). **d** (Vista de los estambres deflexos hacia el interior de la yema). **e** (Corte longitudinal radial con vista de estambres hacia el interior). **f** (Vista transversal de los estambres y de los canales secretores en el cáliz de la yema floral). **est**: estambres; **can**: canales secretores del cáliz.

3.2.1.2 Anatomía

En las yemas florales de mediano desarrollo² (2-4 mm de diámetro, coloración café verdosa) (Figura 6-a), los sépalos presentan una epidermis abaxial uniseriada, de células cuadrangulares, con paredes celulares (primarias) engrosadas en algunas zonas tangenciales y con abundante cutina formando una prominente cutícula de 4,5 (7,1) 9,3 μm de grosor ($\sigma=1,1$) (Figura 6-b). La epidermis adaxial es de similares características, pero con menor o casi nula depositación de cutina. No se visualizan estomas en ninguna de las dos caras. Mesófilo hacia la cara adaxial compuesto de 6-8 capas de células parenquimáticas isodiamétricas de 35 (45) 56,1 μm de diámetro ($\sigma=4,1$), con abundantes idioblastos subepidérmicos que contienen cristales de oxalato de calcio en forma de drusas, con dimensiones de 13 (22,1) 29 μm de diámetro ($\sigma=4,3$). Las células del mesófilo poseen abundantes cloroplastos y se disponen dejando espacios intercelulares entre ellas. Son observables cavidades secretoras de aceites esenciales, tapizadas internamente por células epiteliales (Figura 6-c). La cavidad tiene 50 (61) 72,2 μm de diámetro ($\sigma=2,1$), con células epiteliales rectangulares de 15,1 (19) 24,3 μm de largo y 6 (12,1) 14 de ancho ($\sigma=1,3$). Estas estructuras son comunes en las yemas y flores de algunas mirtáceas (como también se ha visto en el caso de las hojas en este estudio), siendo de gran interés su anatomía y funcionamiento (Cicarelli *et al.*, 2008).

Los pétalos tienen una estructura anatómica muy similar a los sépalos, aunque más delgados y con visibles vacuolas pigmentadas en sus células (Figura 6-d), estos también presentan drusas y abundantes canales secretores de aceites esenciales, de dimensiones casi idénticas a las de los sépalos.

Los estambres son los antófilos de mayor volumen en la yema, debido a su alto número y densidad, siendo claramente visibles las anteras de estos (Figura 6-e). El gineceo se diferencia tardíamente en relación a los estambres, siendo poco notorio en yemas con este estado de desarrollo incompleto, siendo sin embargo diferenciable un ovario de 2 a 4 lóculos (Figura 6-f) con 6-10 óvulos en cada uno, de diámetro 0,2-0,4 mm, un estilo delgado y un estigma de incipiente desarrollo.

3.2.2 Flor

3.2.2.1 Morfología

M. rufa presenta una flor hermafrodita, completa, diploclamídea heteroclamídea, actinomorfa, tetrámera, epígina, con disposición cíclica de piezas florales, cáliz y corola dialisépalo y dialipétala respectivamente (Figura 7-a, Figura 7-b). Los pétalos son redondeados, blancos, con pequeñas concrecencias rojizo-fucsias y numerosos puntos translúcidos correspondientes a canales secretores de aceites esenciales.

² Se escogió esta etapa de madurez con el fin de presentar el desarrollo temporal de las estructuras en el ítem correspondiente de este trabajo, realizando en este punto una descripción general.

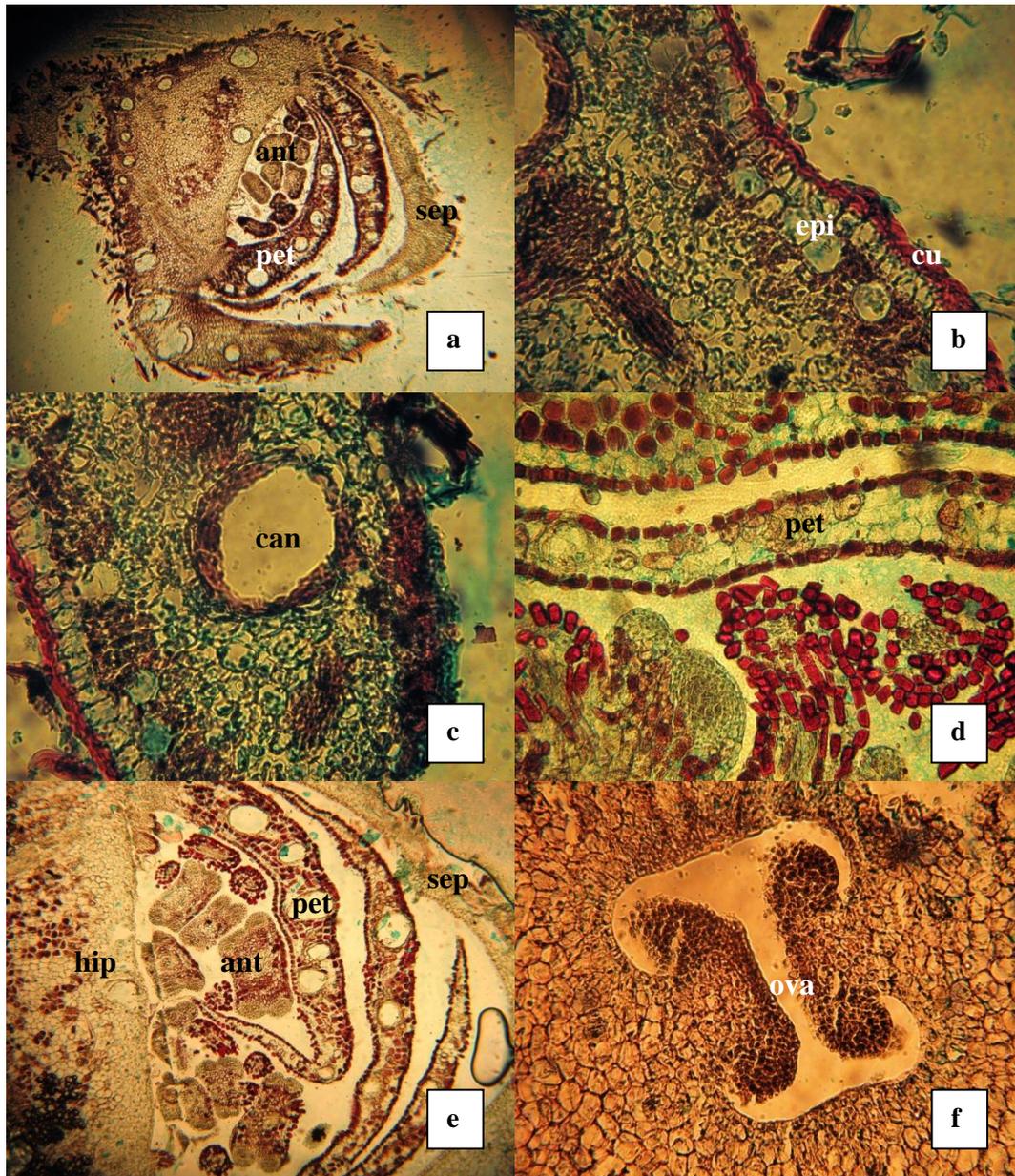


Figura 6. Anatomía de la yema floral de *Myrceugenia rufa*. **a** (Corte longitudinal tangencial de la yema floral (50x), con vista de clámides y anteras). **b** (Sépalos con detalle de la epidermis y cutícula (430x)). **c** (Detalle de canal secretor de aceites y células epiteliales en la yema floral). **d** (Detalle de pétalos con vacuolas pigmentadas (430x)). **e** (Corte longitudinal tangencial de la yema floral con detalle de los pétalos, hipantio y anteras (100x)). **f** (Sección baja del ovario de la yema floral en desarrollo, ovario bicarpelar (430x)). **pet**: pétalo; **sep**: sépalo; **ant**: antera; **epi**: epidermis; **cu**: cutícula; **can**: canal secretor; **hip**: hipantio; **ova**: ovario.

El cáliz está constituido por 4 sépalos orbiculares, verde-grisáceos y pubescentes. La dimensión de los pétalos se determinó en 2 (3,5) 5 mm de diámetro ($\sigma=0,5$), y la de los sépalos en 1,8 (2,3) 2,5 mm de diámetro ($\sigma=0,3$). Bracteolas ovadas de 0,5 (0,7) 1,1 mm de diámetro. Flor polistémona (Figura 7-c), con 52 (77) 91 estambres libres e isodínamos, de 2,5 (5,4) 6,2 mm de longitud, con anteras tetrasporangias de 0,3 (0,5) 0,7 mm de diámetro. Gineceo sincárpico con ovario ínfero bicarpelar con 2 a 4 lóculos cada uno, estilo de 3,9 (5,4) 7,1 mm de longitud. En el corte longitudinal y transversal del ovario se aprecian aproximadamente 5-7 óvulos anátropos (Figura 7-d, 7-e). Las flores se agrupan en inflorescencias de 2 o 3 unidades, en la zona media de las ramillas y los ápices (Figura 7-f).

La especie en estudio comparte diversos caracteres morfológicos florales con otras especies de Myrtaceae, como el alto número y conspicuidad de estambres, (Belsham y Orlovich, 2002), la presencia de un ovario semi ínfero o ínfero multilocular (Litt y Stevenson, 2003) y flores muy abundantes y aromáticas (Ciccarelli *et al.*, 2007).

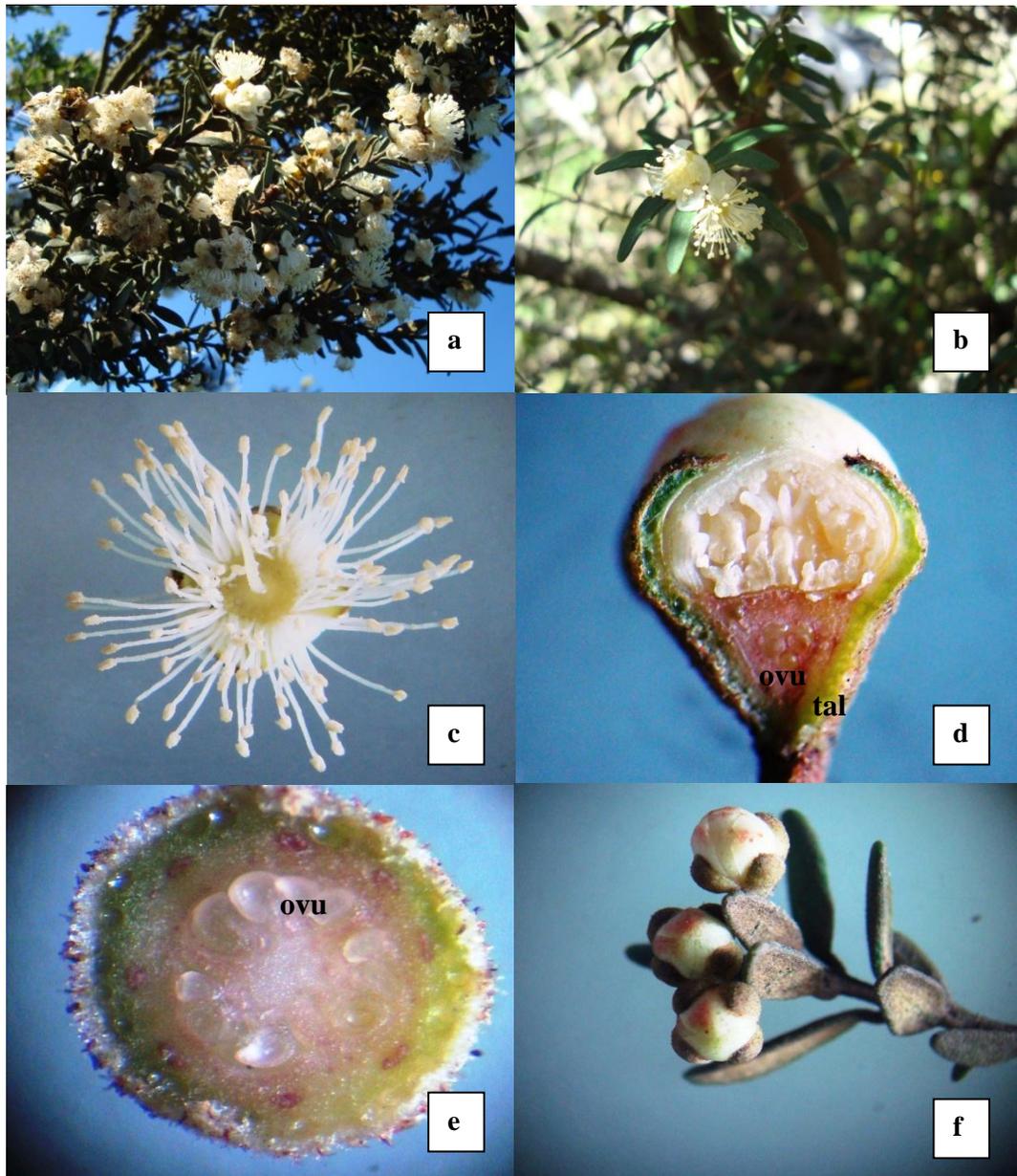


Figura 7. Morfología de la flor de *Myrceugenia rufa*. **a** (Ramilla florida, localidad de Rodelillo). **b** (Detalle de la flor en la rama, Jardín Botánico Nacional). **c** (Detalle de los estambres de la flor). **d** (Óvulos en corte longitudinal tangencial de flor antes de la antesis). **e** (Óvulos en corte transversal). **f** (Grupo de tres flores en el extremo apical de una ramilla). **ovu**: óvulos anátropos; **tal**: tálamo.

3.2.2.2 Anatomía

En la anatomía floral de *M. rufa* (Figura 8-a), se observa un hipantio bien desarrollado y constituido por células parenquimáticas de reserva muy unidas entre sí, entre las cuales destacan canales secretores de aceites esenciales. Bracteolas de 45,4 (66) 76,1 μm de diámetro, cubiertas de una densa capa de tricomas (pelos). Los sépalos presentan una epidermis adaxial uniseriada, de células cuadrangulares y con una espesa cutícula de 5,1 (9,3) 10,2 μm de ancho ($\sigma=1,5$). En la superficie epidermal se observa una densa capa de tricomas anchos, multicelulares, posiblemente glandulosos, los cuales tienen un diámetro de 6,1 (8,2) 10,8 μm ($\sigma=1,82$) (Figura 8-b). Estos tricomas son las estructuras que otorgan a los sépalos la textura pubescente-hirsuta que se observa en su morfología. La epidermis abaxial es un 20% más delgada y con menor depositación de cutina. En el mesófilo de los sépalos se observan grandes y numerosas cavidades secretoras de aceites esenciales, las cuales se hayan tapizadas, como es común, de células epiteliales productoras de las esencias.

Se observan también en el mesófilo, inclusiones de oxalato de calcio (drusas) de 16 (26,1) 32 μm de diámetro ($\sigma=4,1$). El tejido fundamental del sépalo está formado por células parenquimáticas de pared delgada y en apariencia del tipo reservante. Este tejido posee además altas concentraciones de cloroplastos en sus células, lo que le otorga al cáliz el color verde característico. Tanto en los sépalos de la flor como en las yemas florales, se observan haces vasculares con floema interno. Los pétalos, al igual que los sépalos, tienen una anatomía similar a las hojas, presentando una epidermis monoestratificada y un mesófilo formado por células parenquimáticas isodiamétricas y de pared celular primaria delgada. Un aspecto diferencial es que los pétalos casi no poseen cutina, habiendo sólo algunos sectores con una leve depositación, de aproximadamente 4 μm de espesor. Otro carácter anatómico relevante en los pétalos de *M. rufa*, es la presencia de vacuolas pigmentadas en la epidermis y mesófilo, causantes de la coloración de estos clámidis (Figura 8-c). Al igual que en otros órganos, son observables canales secretores de aceites esenciales en los pétalos. Las dimensiones de los canales secretores es de 70 (81) 99,2 μm de diámetro ($\sigma=3,9$), con células epiteliales rectangulares de 21,1 (24) 31,2 μm de largo y 10 (15,1) 19 de ancho ($\sigma=1,5$). Las secreciones provenientes de estos canales son presumiblemente los causantes de la fragancia de las flores, cuya naturaleza ha sido estudiada por Niemeyer y Teillier (2007), identificando el fitoquímico como β -Pino. El rol de estos aceites esenciales en las plantas, específicamente en grupos botánicos con especies aromáticas como Myrtaceae, requiere de más estudio (Ciccarelli *et al.*, 2007).

Los estambres, elementos del androceo, están formados por un filamento y una antera tetrasporangia con dos tecas (Figura 8-d). En la sección transversal del filamento se observa una epidermis uniestratificada muy delgada (<5 μm de ancho) posiblemente con vacuolas pigmentadas, que le otorgan el color blanco-amarillento a la estructura. El tejido interno del filamento es parenquimático con un haz vascular biclateral anficribal, tejidos que adquieren una tonalidad roja bajo la tinción. La antera está formada por cuatro sacos polínicos (microsporangios) unidos por un tejido conectivo, constituido por células parenquimáticas de pared primaria delgada y un haz vascular biclateral anficribal con escaso xilema. La pared de la antera está formada por una epidermis uniestratificada

delgada de 3,1 (5) 6,4 μm de ancho ($\sigma=0,9$), y un endotecio de células rectangulares, de gran tamaño (15 (25,4) 30 μm de ancho) con engrosamientos de la pared celular en forma de barras lignificadas perpendiculares a la superficie de la epidermis. No se aprecia estrata transitoria. Bajo el endotecio se observa tejido remanente del tapete, que luego de ocurrida la antesis ya ha translocado su contenido a los granos de polen (gametofito masculino) almacenados al interior del saco polínico. Los granos de polen son trigonales, atenuados en las esquinas y poseen un diámetro de 8 (10,1) 12 μm ($\sigma=0,3$). Entre los estambres y el gineceo se aprecia un extenso hipantio de células parenquimáticas grandes y ricas en contenido, posiblemente de reserva, el cual sustenta estas estructuras y da forma a la flor.

El gineceo de *M. rufa* posee un ovario, un estilo y un pequeño estigma. Se observa que el ovario se compone por 2 carpelos y 2 a 4 lóculos. Los carpelos tienen una placentación central con 5 (9) 11 óvulos por lóculo (Figura 8-e), los cuales se hayan separados y anclados en una placenta formada por células parenquimáticas isodiamétricas, grandes y de pared primaria delgada. Muñoz (1959) se refiere a caracteres similares para *Myrceugenia*, identificando en el género una placentación central sub-basal abultada; así mismo, Johow (1945), menciona que en las mirtáceas chilenas es común la placentación central o pseudocentral y que en *Myrceugenia* el número relativo de óvulos por lóculo es de doce.

El ovario se ubica por debajo de los clámidas del perianto, tratándose evidentemente de una flor epígina. El estilo (Figura 8-f) es alargado y conformado por una muy delgada epidermis, un tejido parenquimático poco desarrollado y un tejido de transmisión con xilema y floema interno, por donde atraviesa el tubo polínico previo a la fecundación.

Los resultados en anatomía floral en la especie, concuerdan con los estudios en otras mirtáceas, evidenciando varias similitudes anatómicas en términos de organización y maduración de los elementos de la flor, como el hipantio (Belsham y Orlovich, 2002), perianto (Ciccarelli *et al.*, 2008), estambres (Ladd *et al.*, 1999) y gineceo (Bohte y Drinnan, 2005b).

3.2.3 Fruto y semilla

3.2.3.1 Morfología de fruto y semilla

El fruto de *M. rufa* (Figura 9-a, rama frutos) es simple, verdadero, individual, carnoso e indehisciente, corresponde a una baya (“berry”), de forma globosa-esférica con 4 (7,2) 9,1 mm de diámetro, algo dura, de epicarpo resistente y mesocarpo húmedo, de color pardo-amarillo-verdoso, de textura áspera en relieve, levemente cerosa y con el cáliz de la flor persistente en la zona distal al pedúnculo del fruto (Figura 9-b). En algunos frutos maduros son observables también restos de los estambres de la flor junto con el cáliz. Los pedúnculos frutales son solitarios o de pocas unidades (dos o tres), miden 2,2 (3,2) 5,4 mm de longitud ($\sigma=0,4$) y poseen abundante pubescencia. Se observaron sólo dos frutos con ausencia de signos de parasitismo (sin desechos y restos de larvas) y sin semillas atacadas (Figura 9-c, 9-d), de un total de 55 frutos obtenidos de todas las poblaciones muestreadas, lo que significa que el 96,36% de los frutos colectados presentaron todas sus semillas depredadas.

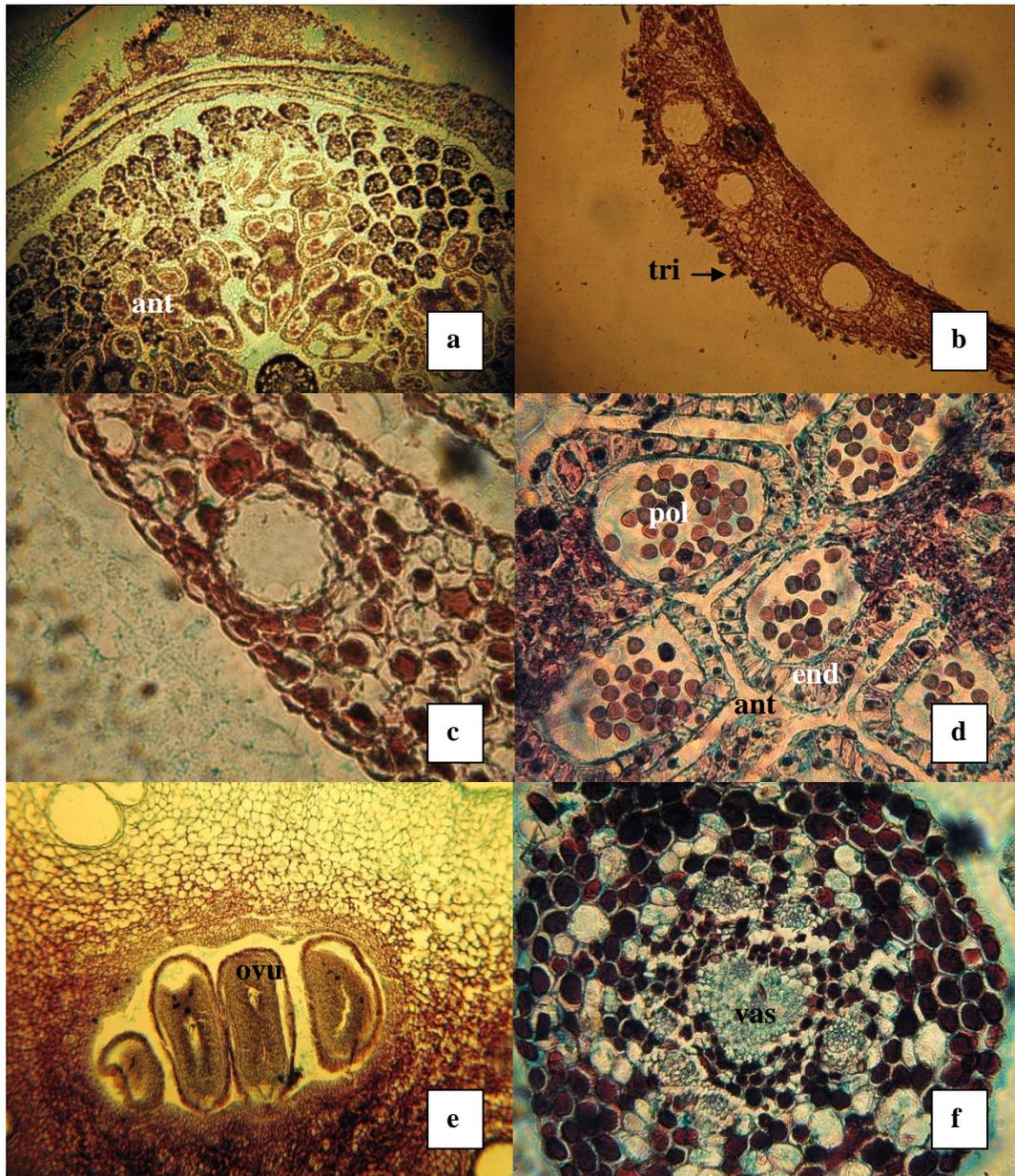


Figura 8. Anatomía floral de *Myrceugenia rufa*. **a** (Corte transversal de la flor, con vista de estambres, estilo, pétalos y sépalos (50x)). **b** (Vista de un sépalo con capa de tricomas en su epidermis (100x)). **c** (Pétalo con células de vacuolas pigmentadas (430x)). **d** (Corte transversal de estambres con detalle de las tecas, observándose pared de anteras con endotecios de pared celular engrosada y granos de polen (430x)). **e** (Ovario de la flor con vista de cuatro óvulos en un lóculo (100x)). **f** (Corte transversal del estilo de la flor, con detalle del tejido parenquimático y vascular (430x)). **ant**: antera; **tri**: tricomas (pelos); **pol**: grano de polen; **end**: endotecio; **ovu**: óvulo; **vas**: tejido vascular del estilo.

Las semillas de *M. rufa* son de forma irregular, pseudo-arriñonadas y con una cara plana (Figura 9-e), la cual entra en contacto con la placenta del fruto. Es observable el funículo que unía el óvulo y semilla con la placenta. Son duras, de color café-verdoso brillante y con 1,2 (2,5) 3,2 mm de diámetro. Es difícil determinar un número de semillas por fruto, debido a la escasez de frutos sanos sin signos de depredación. Sin embargo, como valor relativo, este puede aproximarse a las siete y nueve semillas por fruto según las observaciones de este trabajo (Figura 9-f). Novoa (2005) (citado por Cabello y Suazo, 2009), menciona que serían entre una y tres semillas por fruto. No obstante, es necesario destacar que se reconoce una alta variabilidad en el número de semillas por fruto dentro las especies del género *Myrceugenia* (Landrum, 1981b). Cabello y Suazo (2008) también hallan semillas intactas en frutos de *M. rufa* colectados en Tunquén y en el Cerro de La Cruz, V Región.

3.2.3.2 Anatomía de fruto y semilla

El pericarpo del fruto maduro está constituido por epicarpo, mesocarpo y endocarpo, tejidos que siguen la estructura general conocida en una baya corriente. El epicarpo consta de una epidermis uniseriada de células muy irregulares y planoconvexas de 17 (21,1) 26 μm de grosor ($\sigma=1,5$) (Figura 10-a), en la que se observan abundantes tricomas densos y cortos de 3,5 (5,4) 8,9 μm de longitud, además de una delgada cutícula de 2,2 (4,2) 6,0 μm de grosor ($\sigma=0,3$), que le otorga a la baya una superficie levemente cerosa.

El mesocarpo del fruto es un tejido parenquimático de reserva, de células grandes e isodiamétricas y con pared celular primaria delgada. Las dimensiones de estas células es de 25 (36) 54,2 μm de diámetro ($\sigma=2,9$). Se observan canales secretores en el interior de este tejido, los cuales son amplios y con grandes células epiteliales (Figura 10-b). En términos de volumen, el mesocarpo es un tejido escaso en el fruto maduro, limitándose a aproximadamente 7 capas de células laxas, aglomeradas entre el epicarpo y el endocarpo, teniendo un espesor total de 0,2 (0,6) 0,8 mm. El endocarpo corresponde a un tejido pulposo que rodea las semillas. Este tejido posee una configuración similar al mesocarpo, pero con células más alargadas y con menos espacios intercelulares entre ellas. Las dimensiones de las células del endocarpo se determinó en 21 (34) 52,1 μm de largo ($\sigma=1,9$) y 12,2 (21) 31,1 μm de alto ($\sigma=1,6$) (Figura 10-c). De las mediciones anteriores se deriva que el espesor del pericarpo en frutos maduros de *M. rufa* es de 0,7 (1,5) 1,9 mm ($\sigma=0,2$).

Las semillas desarrolladas de *M. rufa* (tres a cuatro meses de crecimiento fructífero) (Figura 10-d) son exalbuminosas, por lo que el embrión ocupa casi en su totalidad el volumen seminal, restando sólo un angosto espacio entre éste y la testa interna. Esta característica se considera frecuente en las mirtoídeas (Lughadha y Proenca, 1996). Lo anterior también es confirmado por Johow (1946), que se refiere a las semillas de mirtáceas como exalbuminosas con vestigios de endosperma. Se observan dos cubiertas seminales o testas, contiguas y esclerificadas, con un espesor de 0,04 (0,1) 0,18 mm. El embrión de *M. rufa* presenta cotiledones alargados, plegados sobre sí mismos y con un conspicuo hipocotilo del cual se observa su sección circular (transversal), con células meristemáticas iniciales isodiamétricas y de gran núcleo (Figura 10-e, 10-f). Las características de este embrión, concuerdan perfectamente con la descripción de los embriones en Landrum (1981b), para la



Figura 9. Morfología del fruto y la semilla de *Myrceugenia rufa*. **a** (Ramilla con frutos, localidad de Rodelillo). **b** (Detalle del fruto). **c** (Fruto con presencia de semillas sin signos de ataque de insecto). **d** (Frutos abiertos con evidente parasitismo y depredación de semillas). **e** (Detalle de la morfología de la semilla donde se puede observar el funículo). **f** (Fruto abierto con nueve semillas sin parasitar). **sem**: semillas; **fu**: funículo.

subtribu Myrciinae, subgrupo de las mirtáceas al cual se relaciona *Myrceugenia* (aunque existen estudios discrepantes). El largo total de los cotiledones se estima en 25 (36) 54,2 μm ($\sigma=2,9$) y el diámetro transversal del hipocotilo en 12 (15,2) 24,2 μm ($\sigma=1,2$), sin embargo, un valor métrico exacto de estas estructuras es muy difícil en un corte anatómico, a causa del grado de plegamiento de éstas. Los cotiledones, como el hipocotilo poseen canales secretores en abundancia.

3.3 DESCRIPCIÓN DEL DESARROLLO DE LAS ESTRUCTURAS REPRODUCTIVAS DE *MYRCEUGENIA RUF*A (COLLA) SKOTTSBERG EX KAUSEL

Aspectos generales del desarrollo floral y fructífero de *M. rufa* (Figura 11-a) serán presentados a continuación.

Se realizaron cortes anatómicos en yemas florales de desarrollo temprano (2 mm de diámetro, coloración verdosa y de tejido blando), en las cuales se encontró un incipiente desarrollo de los tejidos vascular y epidermal, con una mayor proliferación celular de tejido fundamental, principalmente parénquima, constituyendo las fases inmaduras del perianto e hipantio (Figura 11-b). Esta última estructura se reconoce en Myrtaceae como una de las primeras en desarrollarse en la yema, ya que sobre él es donde comienzan a gestarse y sostenerse los estambres (Belsham y Orlovich, 2002). El hipantio constituye una estructura anexa e independiente a la estructura de la flor, la cual rodea al ovario en las flores epíginas (Litt y Stevenson, 2003).

Luego de aproximadamente un mes y medio a dos meses de crecimiento de la yema floral, esta comienza a evidenciar diferenciación en todos los tejidos, sobre todo en el perianto, donde los pétalos y sépalos alcanzan un avanzado nivel de desarrollo, observándose claramente los canales secretores y tricomas externos de estos últimos, estructuras que desde un principio cumplen la función de proteger del medio externo al resto del sistema. Se observan claramente los estambres, en deflexión hacia el interior de la yema y con anteras desarrolladas casi por completo, donde sólo los granos de polen no han terminado su maduración. Los tejidos del gineceo más desarrollados hasta ese momento son los carpelos del ovario, siendo ya observables los lóculos independientes (Figura 11-c). Es importante señalar que en las flores hermafroditas, como el caso de *M. rufa*, la organología del androceo es tan relevante como el de los óvulos y ovario del gineceo, ya que el desarrollo de las tecas y filamentos de los estambres constituyen un factor muy importante en la cantidad y calidad del polen emitido por las flores, lo que influye directamente en la polinización (Carrizo, 2001). Se determina que los estambres de las flores de *M. rufa* terminan su maduración antes que los componentes del gineceo, por lo que corresponden a flores protandras. Lo anterior es probablemente uno de los factores que influye en que las especies del género *Myrceugenia* sean reconocidas como autoincompatibles (Arroyo y Humana, 1999), al disminuir dentro de la yema floral la probabilidad de autocruzamiento por esta dicogamia.

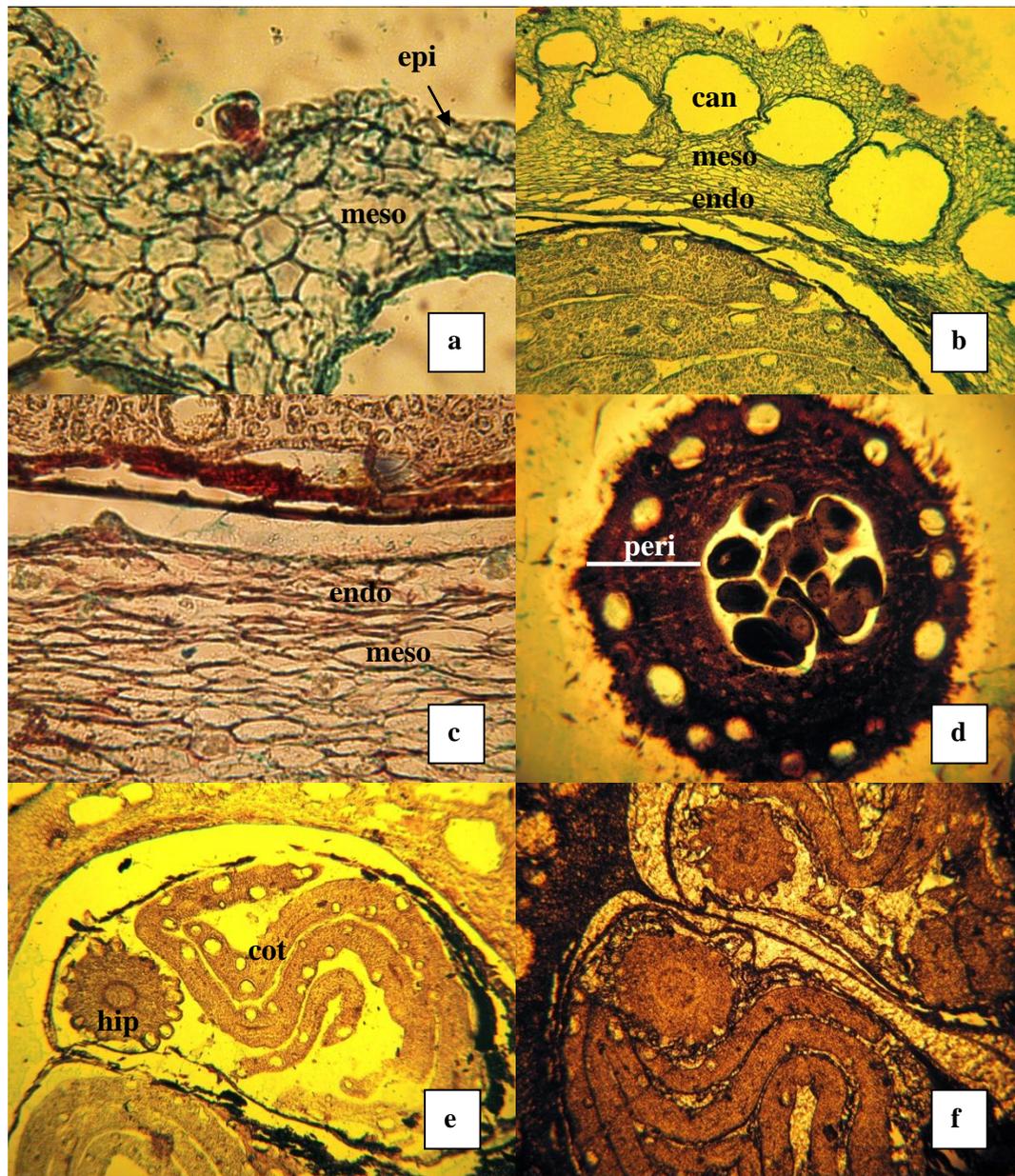


Figura 10. Anatomía del fruto y semilla de *Myrceugenia rufa*. **a** (Zona exterior del fruto donde se observa el epicarpo como la capa de células más externa (430x)). **b** (Detalle de los abundantes canales secretores en el mesocarpo (100x)). **c** (Células parenquimáticas del endocarpo y mesocarpo (430x)). **d** (Vista completa del corte transversal del fruto, observándose el pericarpo y las semillas en su interior (50x)). **e** (Vista detallada del embrión de *M. rufa*, dentro de las dos cubiertas seminales (430x)). **f** (Dos embriones contiguos de *M. rufa*, cada uno dentro de su cubierta. Son observables los cotiledones e hipocotilos (430x)). **epi**: epicarpo; **can**: canales secretores en el mesocarpo; **meso**: mesocarpo; **endo**: endocarpo; **peri**: pericarpo (segmento claro para referencia); **hip**: hipocotilo; **cot**: cotiledón.

Al momento de la antesis, ya transcurridos aproximadamente tres meses luego de la aparición de las yemas florales, la flor de *M. rufa* posee todos sus elementos maduros y diferenciados (Figura 11-d), y entra en un periodo de espera hasta una eventual polinización y fecundación. Luego de la fecundación, en la flor comienza la abscisión de la corola y parcialmente del androceo, persistiendo sólo el cáliz y el ovario, siendo este último el elemento que continúa desarrollándose para transformarse en fruto. El cáliz queda confinado al extremo distal del fruto, a consecuencia de la dinámica de crecimiento del ovario ínfero de las flores, que se desarrolla bajo el plano de inserción de las clámides.

En una primera etapa, en el fruto en formación se comienzan a diferenciar los tejidos provenientes de las paredes del ovario de la flor, con la lenta maduración de la epidermis adaxial y abaxial de los carpelos, que darán lugar el epicarpo y endocarpo del fruto respectivamente. Según Landrum (1981b), la maduración de los tejidos fructíferos de *M. rufa* es lenta en comparación a otros representantes del género, pudiendo tardar en algunos años hasta 5 meses. Lo anterior es confirmado con las colectas realizadas en este trabajo, donde los frutos tardaron cuatro meses aproximadamente en alcanzar la maduración. Del mismo modo, el paso de óvulo fecundado (Figura 11-e) a embrión (Figura 11-f), se da en una serie de etapas concatenadas de larga duración.

Los tejidos del fruto en maduración comienzan a diferenciarse y a causar la diferenciación de las tres capas del pericarpo: epicarpo o capa exterior, mesocarpo o el tejido interno fundamental y el endocarpo, el cual rodea a las semillas, y que en el caso de las bayas es pulposo y poco resistente, a diferencia de las drupas (Esau, 1959).

Luego de transcurridos aproximadamente cuatro meses los frutos llegan a su madurez, de los cuales se extraen las semillas descritas en este estudio.

La evolución de los tejidos de la flor a fruto ocurre de forma continua y progresiva, donde el principal cambio observable es la diferenciación de los elementos celulares de los órganos, que mediante divisiones periclinales y anticlinales, engrosamiento de pared celular primaria, depositación de pared secundaria y esclerificación, va dando lugar a tejidos más desarrollados y especializados.

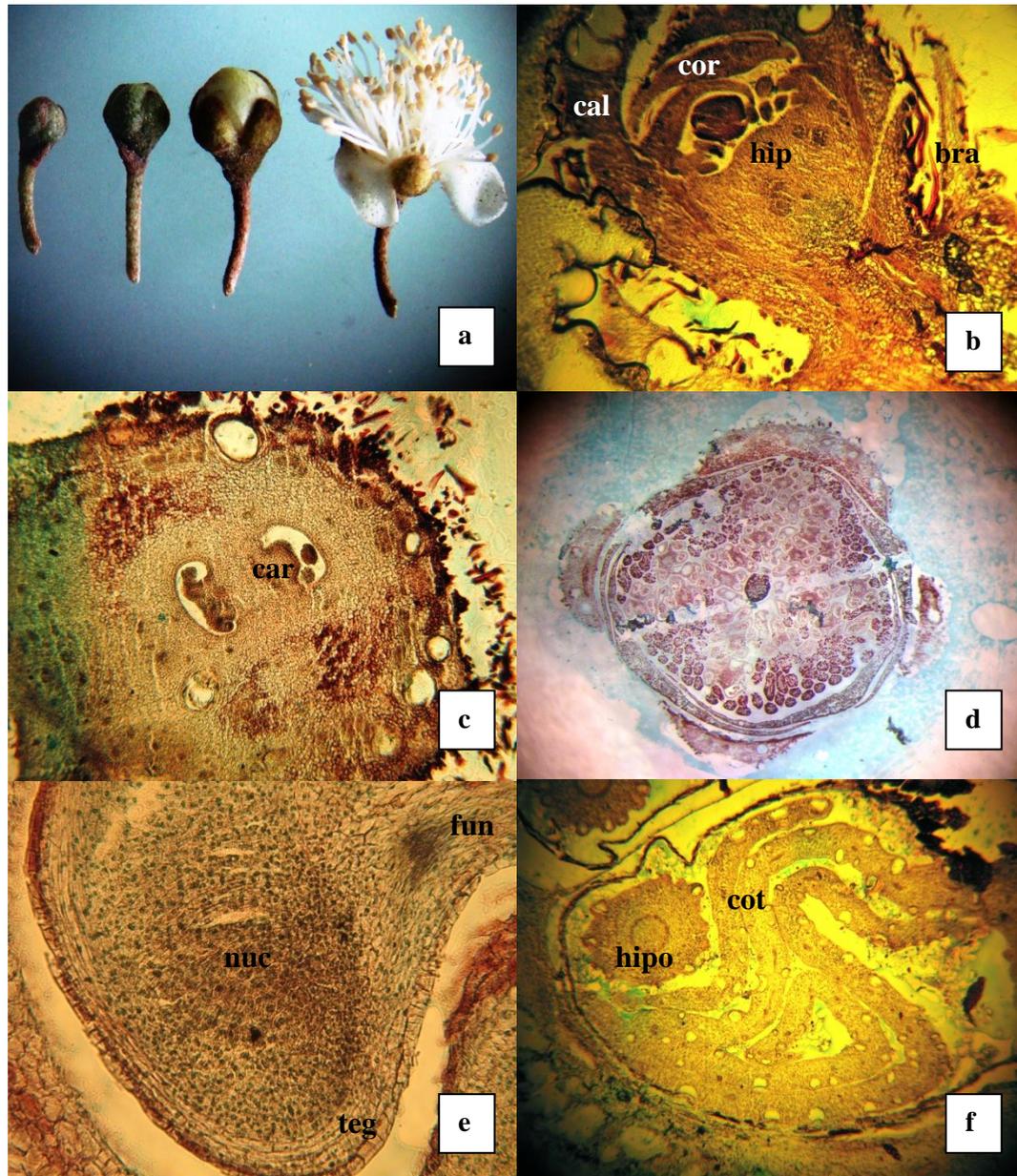


Figura 11. Desarrollo temporal de estructuras reproductivas en *Myrceugenia rufa*. **a** (Serie de crecimiento y desarrollo de yema floral a antesis). **b** (Tejidos de la yema floral inmadura). **c** (Ovario de escaso desarrollo en yema floral). **d** (Corte transversal de flor desarrollada (30x)). **e** (Óvulo, donde se observan algunas de sus partes constituyentes (430x)). **f** (Embrión con sus partes: hipocotilo y cotiledones plegados (430x)). **cal**: caliz; **cor**: corola; **hip**: hipantio; **bra**: bractéola; **car**: carpelo; **fun**: funículo; **teg**: tegumentos; **nuc**: nucela; **hipo**: hipocotilo; **cot**: cotiledones.

4. CONCLUSIONES

Myrceugenia rufa, arbusto perteneciente a la familia Myrtaceae, comparte caracteres morfoanatómicos conocidos en la sistemática del grupo con muchos representantes de la familia, ya sean de origen natural en Chile o en otros centros de distribución. Existiendo sin embargo, diferencias con el típico patrón anatómico en lo que respecta a los caracteres anatómicos adaptativos al ambiente.

El resultado del estudio morfoanatómico foliar de la especie, dio como resultado una anatomía de tipo xerofítica, con caracteres anatómico-ecológicos conocidos para plantas de ese tipo de ambientes, como una epidermis monoestratificada con segmentos ya sea biseriados o con cámaras subepidérmicas, tratándose en ambos casos de una adaptación relacionada al déficit hídrico en gran parte del año. Cutícula espesa y prominente, como la observada en las hojas de *M. rufa*, corresponde también a uno de los caracteres anatómicos más vinculados a los ambientes xerofíticos. Otro carácter anatómico que sugiere una adaptación al ambiente seco es un parénquima en empalizada ancho y un parénquima esponjoso escasamente desarrollado. Todos los caracteres anatómicos mencionados no corresponden con el común de las mirtáceas, incluyendo a las chilenas cuya anatomía se conoce, ya que éstas generalmente poseen adaptaciones a ambientes higrófilos (ej: *Amomyrtus meli*, *Amomyrtus luma*), mostrando estados de carácter completamente opuestos a los observados en *M. rufa*. Sin embargo, si bien hay diferencias de adaptación, existen muchas concordancias en caracteres anatómicos típicos de la familia, con todas las demás mirtáceas cuya anatomía foliar ha sido estudiada, como la presencia de canales secretores de aceites esenciales con células epiteliales, inclusión de cristales de oxalato de calcio y floema interno en los haces vasculares.

Del estudio morfoanatómico de las estructuras reproductivas de *M. rufa* se extrae que la configuración y estructura de las yemas florales, flores y frutos, poseen relaciones afines a todos los estudios realizados en este campo a especies vegetales del grupo de las magnoliopsidas (dicotiledóneas), con caracteres relevantes, tanto ecológica como evolutivamente.

Las flores de *M. rufa* son hermafroditas, tetrámeras y protandras con abundantes estambres, lo que confluye con la descripción general de las flores en Myrtaceae y sobre todo de *Myrceugenia*. En la especie se observa la relación inequívoca entre ovario ínfero – fruto baya, existente en todos los representantes estudiados de la subfamilia Myrtoideae de las mirtáceas, donde este tipo fruto entrega el carácter diagnóstico tradicional para la diferenciación con la subfamilia Leptospermoideae.

En *M. rufa*, la maduración y crecimiento de los óvulos fecundados ocurre en una serie de eventos concatenados, donde se observa un desarrollo de los tejidos, continuo y reconocible en etapas. Durante este proceso los principales cambios observables son el mayor desarrollo de las paredes celulares, elongación de los segmentos y divisiones anticlinales y periclinales de los tejidos. Lo anterior en referencia a todas las estructuras reproductivas y sus componentes.

Se determina que la escasez de semillas en la especie es totalmente atribuible al ataque de insectos fitófagos, ya que es observable un desarrollo organológico y embriológico normal en flores y frutos sanos.

Del estudio morfoanatómico y la revisión de literatura asociada a *Myrceugenia rufa* (Colla) Skottsberg ex Kausel, se concluye que corresponde a una especie de alta singularidad dentro de la familia Myrtaceae y de la flora chilena. En apoyo de esto, es relevante mencionar que Landrum (1981a), sobre la base de estudios cladísticos mediante caracteres morfológicos, afirma que la especie es muy peculiar y no se encuentra relacionada a ninguna de los 40 taxa reconocidos del género, debido a particularidades morfológicas, ecológicas y evolutivas. Kausel (1944) también diferencia a *M. rufa* del resto de las mirtáceas chilenas en términos de fenología y adaptación ambiental. Recapitulando las singularidades que se reconocen importantes a considerar en la conservación y preservación de *M. rufa*, se puede mencionar: la adaptación anatómica xerofítica hasta ahora única dentro de las mirtáceas chilenas (especulativamente compartida con *Myrcianthes coquimbensis*, especie clasificada como En peligro en las conclusiones del Libro Rojo de la Flora Terrestre de Chile, y cuya anatomía foliar es desconocida aún), los caracteres anatómicos diagnóstico de fuerte soporte sistemático para Myrtaceae que posee, y la actual escasez y posible regresión de las poblaciones silvestres, debido a importantes restricciones naturales sanitarias (fitofagia de semillas y posiblemente hojas) y humanas (alteración acelerada del hábitat natural).

Es de interés considerar la interrogante sobre a qué nivel o escala se debe conservar o preservar un recurso vegetal, es decir, si es relevante preservar particularidades anatómicas de adaptación únicas dentro de un grupo botánico, sobre todo si la especie se encuentra en serios problemas de repoblamiento natural por restricciones naturales y humanas, como se ha mencionado.

Debido a las particularidades morfoanatómicas, ecológicas y de riesgo expuestas para la especie en este estudio, se propone a futuro replantear y revisar su estado de conservación actual de especie “Rara” según Benoit (1989), tal como es expuesto por los criterios de UICN (2001), sin efecto legislativo directo en Chile, que reconoce a *M. rufa* como especie “En Peligro”.

Los resultados de este estudio buscan contribuir a promover la investigación y aplicación de técnicas de propagación y protección en ésta y otras especies vegetales singulares con problemas de conservación, que bajo el amparo del artículo 19 de la Ley 20.283 sobre Recuperación del Bosque Nativo y Fomento Forestal (Ministerio de Agricultura, 2008), están relacionadas de forma directa o indirecta a posibilidades de forestación, compensación o preservación de poblaciones frente a actividades o proyectos que impliquen impacto ambiental, debido a la vinculación de este artículo con los Reglamentos de Clasificación de Especies de Flora y Fauna Silvestres (MINSEGPRES, 2008) y el Libro Rojo de la Flora Terrestre de Chile (Benoit, 1989). Para hacer efectivos estos recursos legales, es imperiosa la necesidad de poseer antecedentes biológicos sobre los taxa a rescatar, datos que comúnmente no existen, son escasos, o imprecisos, debido a que se trata de grupos taxonómicamente complejos.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Alves, E.; Tresmondi, F. y Longui, E. 2008. Análise estrutural de folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) colectadas em ambientes rural e urbano, SP, Brasil. *Acta bot. bras.* 22(1): 241-248.
- Angiosperm Phylogeny Group. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group Classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society.* 161(2): 105-121.
- Arroyo, M. y Humaña, A. 1999. Breeding systems of two endemic rainforest species in southern Chile: *Amomyrtus meli* (Phil.) Legr. et Kaus. (Myrtaceae) and *Luzuriaga polyphylla* (Hook.) Macbr. (Philesiaceae). *Gayana Botánica* 56(1): 31-37.
- Belsham, S. y Orlovich, D. 2002. Development of hypanthium and androecium in New Zealand Myrtoideae (Myrtaceae). *New Zealand Journal of Botany* 40: 687- 695.
- Belsham, S. y Orlovich, D. 2003. Development of the hypanthium and androecium in *Acmena smithii* and *Syzygium australe* (*Acmena* Alliance, Myrtaceae). *Australian Systematic Botany* 16(5): 621-628.
- Benoit, I. 1989. Libro Rojo de la Flora Terrestre de Chile. Corporación Nacional Forestal, Santiago, Chile. 157 p.
- Bohte, A. y Drinnan, A. 2005a. Floral development and systematic position of *Arillastrum*, *Allosyncarpia*, *Stockwellia* and *Eucalyptopsis* (Myrtaceae). *Plant Systematics and Evolution* 251: 53-70.
- Bohte, A. y Drinnan, A. 2005b. Ontogeny, anatomy and systematic significance of ovular structures in the 'eucalypt group' (Eucalypteae, Myrtaceae). *Plant Systematics and Evolution* 255: 17-39.
- Briggs, B. y Johnson, L. 1979. Evolution in the Myrtaceae-Evidence from inflorescence structure. *Procedures Linnaeus Society News* 102: 157-256.

- Cabello, A. y Suazo, D. 2008. Propagación Vegetativa de *Myrceugenia rufa* (Colla) Skottsberg ex Kausel (arrayán rojo, arrayán de hoja roja). *Revista Chagual* 6: 65- 72.
- Cabello, A. y Suazo, D. 2009. *Myrceugenia rufa* (arrayán rojo, arrayán de hoja roja): Ensayos de propagación vegetativa. *Ambiente Forestal* 7: 28-34.
- Cao, L. y Xia, N. 2009. Floral organogenesis of *Delavaya toxocarpa* (Sapindaceae: Sapindales). *Journal of Systematics and Evolution* 47(3): 237-244.
- Cardoso, C.; Proenca, S. y Sajo, M. 2009. Foliar anatomy of the subfamily Myrtoideae (Myrtaceae). *Australian Journal of Botany* 57(2): 148–161.
- Carlquist, S. 1961. *Comparative Plant Anatomy*. Holt, Rinehart and Winston. New York. ix + 146 pp.
- Carlquist, S. 1969. Toward acceptable evolutionary interpretations of floral anatomy. *Phytomorphology* 19(4): 332-362.
- Carrizo, C. 2001. Ontogenia del androceo en *Normantia triphylla* (Lowe) Lowe (Solaneae, Solanaceae). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 59(1): 67-74.
- Chen, J. y Lyn, A. 2007. Myrtaceae. *Flora of China* 13: 321-359.
- Ciccarelli, D.; Garbari, F. y Pagni, A. 2008. The flower of *Myrtus communis* (Myrtaceae): Secretory structures, unicellular papillae, and their ecological role. *Flora – Morphology - Distribution, Functional Ecology of Plants* 203: 85-93.
- CONAF. 1985. Simposio “Flora nativa arbórea y arbustiva de Chile amenazada de extinción”. Ministerio de Agricultura, Corporación Nacional Forestal, Santiago de Chile, 85 p.
- Conti, E.; Litt, A.; Wilson, P.; Graham, S.; Briggs, B.; Johnson, L. y Sytsma, K. 1997. Interfamilial relationships in Myrtales: molecular phylogeny and patterns of morphological evolution. *Systematic Botany* 22(4): 629-647.

- Cortés, F.; Ruz, L. y Squeo, F. 2006. Interacción entre el arbusto nativo *Myrceugenia rufa* (Myrtaceae) y la larva de un tineido (Lepidoptera) en un sector costero de la V Región de Valparaíso. XXIX Congreso Nacional de Entomología, 28-29 Noviembre, 1 de Diciembre, 2006. Temuco.
- Couturier, G.; Quiñones, L.; González, I.; Riva, R. y Young, F. 1996. Los insectos plaga de las Mirtáceas frutales en Pucallpa, Amazonía peruana. Revista Peruana de Entomología 39: 125-130.
- Cronquist, A. 1984. A commentary on the definition of the order Myrtales. Annals of the Missouri Botanical Garden 71: 780-782.
- Cronquist, A. 1988. The Evolution and Classification of Flowering Plants. 2ª Edición. New York Botanical Garden, Bronx.
- Dickison, W. 2000. Integrative Plant Anatomy. Harcourt/Academic Press, San Diego, USA, 533 pp.
- Donato, A. y Morretes, L. 2007. Anatomía foliar de *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae) proveniente de áreas de restinga e de floresta. Revista Brasileira de Farmacología 17(3): 426-443.
- Drinnan, A. y Carrucan, A. 2004. *Agonis*, *Leptospermum* and *Kunzea* (Myrtaceae). Plants Systematic and Evolution 251: 71-88.
- Drinnan, A. y Ladiges, P. 1991. Floral development in the 'Symphyomyrtus group' of Eucalypts (*Eucalyptus*: Myrtaceae). Australian Systematic Botany 4(3):553- 562.
- Esau, K. 1959. Anatomía Vegetal. Ediciones Omega, Barcelona, España. 729 p.
- Fontenelle, G.; Costa, C. y Machado, R. 1994. Foliar anatomy and micromorphology of eleven species of *Eugenia* L. (Myrtaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 116(2): 111-133.
- Gajardo, R. 1994. La vegetación natural de Chile. Clasificación y distribución geográfica. Editorial Universitaria, Santiago, Chile. 165 pp.

- Garzón-Venegas, J. y Orozco, C. 2006. Organogénesis floral en *Acnistus arborescens*, *Dunalia solanacea*, *Deprea bitteriana*, *Larnax glabra* y *Larnax hawkesii* – Tribu Physaleae (Solanaceae). *Caldasia* 28(2): 227-242.
- Giblin-Davis, R.; Center, B.; Davies, K.; Purcell, M.; Scheffer, J.; Taylor, G.; Goolsby, J. y Center, T. 2004. Histological comparisons of *Fergusobia/Fergusonina*-induced galls on different Myrtaceous hosts. *Journal of Nematology* 36(3): 249-262.
- Gomes, S.; Somavilla, N.; Gomes-Becerra, K.; Miranda, S.; De-Carvalho y Graciano-Ribeiro. 2009. Anatomía foliar de especies de Myrtaceae: contribuciones á taxonomía e filogenia. *Acta bot. bras.* 23(1): 223-238.
- Govaerts, R.; Sobral, M.; Ashton, P.; Barris, F.; Holst, B.; Landrum, L.; Matsumoto, K.; Marine, F.; Lughadha, E.; Proenca, C.; Soares-Silva, L.; Wilson, P. y Lucas, E. 2008. World Checklist of Myrtaceae. Kew Publishing, Royal Botanical Garden, UK. 470 p.
- Hechenleitner, P.; Gardner, M.; Thomas, P.; Echeverría, C.; Escobar, B.; Brownless, P. y Martínez, C. 2005. Plantas Amenazadas del Centro-Sur de Chile. Distribución, Conservación y Propagación. Primera Edición. Universidad Austral de Chile y Real Jardín Botánico de Edimburgo. 188 p.
- Hickey, L. 1973. Classification of the architecture of dicotyledonous leaves. *American Journal of Botany* 60(1): 17-33.
- Johansen, D. 1940. *Plant Microtechnique*. Mc Graw-Hill Book. New York-London. 523 p.
- Johnson, L. y Briggs, B. 1984. Myrtales and Myrtaceae – a phylogenetic analysis. *Annals of the Missouri Botanic Garden* 71: 700-756.
- Johow, F. 1945. Flora de las plantas vasculares de Zapallar. *Revista Chilena de Historia Natural*. 49: 8-364.
- Judd, W.; Campbell, C.; Kellog, E.; Stevens, P. 1999. *Plant Systematics. A phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA. 464 p.
- Kausel, E. 1942a. Contribución al estudio de las Mirtáceas Chilenas. *Revista Argentina de Agronomía* 9(1): 39-68.

- Kausel, E. 1942b. Contribución al estudio de las Mirtáceas Chilenas. *Revista Argentina de Agronomía* 9(3): 221-243.
- Kausel, E. 1944. Contribución al estudio de las Mirtáceas Chilenas. *Revista Argentina de Agronomía* 11(4): 320-327.
- Kausel, E. 1956. Beitrag zur Systematik der Myrtaceen. *Ark. Bot.* 3: 491–516.
- Ladd, P.; Parnell, J. y Thomson, G. 1999. Anther diversity and function in *Verticordia* DC. (Myrtaceae). *Plant Systematic Evolution* 219: 79-97.
- Landrum, L. 1981a. The phylogeny and geography of *Myrceugenia* (Myrtaceae). *Brittonia* 33(1): 105-129.
- Landrum, L. 1981b. A monograph of the genus *Myrceugenia* (Myrtaceae). *Flora Neotropica* 29: 137 p.
- Landrum, L. 1988. The Myrtle family (Myrtaceae) in Chile. *Proceedings of the California Academy of Sciences* 45(12): 277-317.
- Lee, C. 1998. Ursane triterpenoids from leaves of *Melaleuca leucadendron*. *Phytochemistry* 49(4): 1119-1122.
- Litt, A. y Stevenson, D. 2003. Floral development and morphology of Vochysiaceae. I. The structure of the gynoecium. *American Journal of Botany* 90(11): 1533-1547.
- Lucas, E.; Belsham, S.; Lughadha, E.; Orlovich, D.; Sakuragui, C.; Chase, M. y Wilson, P. 2005. Phylogenetic patterns in the fleshy-fruited Myrtaceae – preliminary molecular evidence. *Plant Systematics and Evolution* 251: 35-51.
- Luebert, F. y Pliscoff, P. 2006. Sinopsis bioclimática y vegetacional de Chile. Editorial Universitaria, Santiago, Chile. 316 p.
- Lughadha, E. y Proenca, C. 1996. A survey of the reproductive biology of the Myrtoideae (Myrtaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 83: 480-503.

- Macnish, A.; Irving, D.; Joyce, D.; Vithanage, V.; Wearing, A.; Webb, R. y Frost, R. 2003. Identification of intracellular calcium oxalate crystals in *Chamelaucium uncinatum* (Myrtaceae). *Australian Journal of Botany* 51(5): 565-572.
- Metcalf, C. y Chalk, L. 1950. *Anatomy of the Dicotyledons*. 2th ed. Oxford: Clarendon Press. 297 p.
- Ministerio de Agricultura. 2008. Ley 20.283: Recuperación del bosque nativo y fomento forestal. Santiago, Chile, julio, 2008. 28 p.
- MINSEGPRES. 2008. Reglamentos de Clasificación de Especies de Flora y Fauna Silvestres. CONAMA. D.S. 29/2008.
- Muñoz, C. 1959. Sinopsis de la flora chilena. Claves para la identificación de familias y géneros. Ediciones Universidad de Chile, Santiago de Chile, 840 págs, 238 lám. incluidas en el texto, 5 lám.
- Navas, E. 1971. Distribución geográfica de las Mirtáceas Chilenas. *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural* 29: 223-247.
- Niedenzu, F. 1893. *Myrtaceae*. K. Prantl y A. Engler, *Nat. Pflanzenfam* 3: 57-105.
- Niemeyer, H. y Teillier, S. 2007. Aromas de la flora nativa de Chile. Universidad de Chile y Gobierno de Chile (Fondo para la Innovación Agraria). 448 p.
- Novoa, P. 2005. Antecedentes del proyecto Libro Rojo, flora V Región. http://www.conaf.cl/cd_sitio_web_flora_regional/comprimidos/plantillas/continental/myrceugenia_rufa_individuo.htm [en línea]. Consultado: 10 de diciembre, 2009.
- Patel, R. 1995. Wood anatomy of the dicotyledons indigenous to New Zealand. 25. Myrtaceae-subfam. Myrtoideae. *New Zealand Journal of Botany* 33: 541-555.
- Rancusi, M.; Nishida, M. y Nishida, H. 1987. Xilotomy of important chilean woods. In: Nishida, M. (Ed.) *Contributions to the Botany in The Andes II*. Ed. Academic Scientific Book. Tokio. 68-158 pp.

- Raven, P.; Evert, R. y Eichhorn, S. 2005. *Biology of Plants*. 7th ed. New York. W. H. Freeman. 875 p.
- Reiche, K. 1897. Estudios críticos sobre la flora de Chile. *Anales Universidad de Chile* 97: 725-790.
- Retamales, H. 2007. Anatomía ecológica comparativa de *Amomyrtus luma* (Mol.) Legr. et Kaus. y *Amomyrtus meli* (Phil.) Legr. et Kaus. (Myrtaceae). En: III Reunión Binacional de Ecología, La Serena, Chile, 30 de septiembre a 4 de octubre, 2007. Disco de resúmenes.
- Retamales, H. y Naulin, P. 2006. Anatomía foliar y caulinar de *Amomyrtus meli* (Phil.) Legr. et Kaus. y su justificación sistemática dentro del orden Myrtales. En: Actas del IX Congreso Latinoamericano de Botánica, Santo Domingo, República Dominicana, 18 al 25 junio, 2006. Libro de resúmenes pp. 641.
- Retamales, H. y P. Naulin. 2010. Anatomía foliar de las especies de *Amomyrtus* (Burret) Legr. et Kaus. (Myrtaceae). *Chloris Chilensis*. Año 12 N° 2. [online] <<http://www.chlorischile.cl>>
- Rodríguez, I. 2000. Flower anatomy and morphology of *Exodeconus maritimus* (Solanaceae, Solaneae) and *Nicandra physalodes* (Solanaceae, Nicandreae): importance for their systematic relationships. *Adansonia* 22(2): 187-199.
- Romagnolo, M. y Souza, M. 2004. Os gêneros *Calycorectes* O. Berg., *Hexachlamys* O. Berg., *Myrcianthes* O. Berg., *Myrciaria* O. Berg. e *Plinia* L. (Myrtaceae) na planície alagável do Alto Río Paraná, Brasil. *Acta Botânica Brasileira* 18(3): 613-627.
- Rosa, M. y Scatena, V. 2007. Floral anatomy of Paepalanthoideae (Ericaulaceae, Poales) and their Nectariferous Structures. *Annals of Botany* 99: 131-139.
- Rudall, P.; Bateman, R.; Fay, M. y Eastman, A. 2002. Floral anatomy and systematic of Alliaceae with particular reference to *Gilliesia*, a presumed insect mimic strongly zygomorphic flowers. *American Journal of Botany* 89(12): 1867-1883.
- Serra, M.T.; Gajardo, R. y Cabello, A. 1986. Programa de protección y recuperación de la flora nativa de Chile. Ficha técnica de especies amenazadas II: Especies raras. Santiago, Departamento de Silvicultura y Manejo. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad de Chile – Departamento de Áreas Silvestres Protegidas, CONAF. 304 p.

- Souza, L.; Moscheta, I.; Mourao, K. y Silverio, A. 2001. Morphology and anatomy of the flowers of *Trichilia catigua* A. Juss., *T. elegans* A. Juss. and *T. pallida* Sw. (Meliaceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 44(4): 383-394.
- Takhtajan, A. 1980. Outline of the classification of flowering plants (Magnoliophyta). *Botanical Review* 46: 225–359.
- Tanaka, T.; Orii, Y.; Nonaka, G.; Nishioka, I.; Kouno, I. 1996. Syzyginins A and B, two ellagitannins from *Syzygium aromaticum*. *Phytochemistry* 43(6): 1345-1348.
- Tantawy, M. 2004. Morpho-Anatomical study on certain taxa of Myrtaceae. *Asian Journal of Plant Sciences* 3(3): 274-285.
- Tucker, S. 1998. Floral ontogeny in Legume Genera *Petalostylis*, *Labichea* and *Dialium* (Caesalpinoideae: Cassieae), a series in floral reduction. *American Journal of Botany* 85(2): 184-208.
- UICN. 2001. Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN: Versión 3.1. Comisión de Supervivencia de Especies de la UICN. UICN, Gland, Suiza y Cambridge, Reino Unido. Ii + 33 pp.
- Visintin, A. y Bernardello, G. 2005. Morfología y Anatomía floral de *Tagetes minuta* L. (Asteraceae). *Arnaldoa* 12(1-2): 8-15.
- Wettstein, R. 1944. *Tratado de Botánica Sistemática*. Traducción de la cuarta edición alemana. Editorial Labor, s.a. Barcelona, Madrid, Buenos Aires, Río de Janeiro. 945 p.
- Wilcox, C.; Dove, S.; McDavid, W. y Greer, D. 2002. ImageTool 3.0. Free image processing and analysis program. Department of Dental Diagnostic Science at The University of Texas <<http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html#What>> [online] [consulta: 20 octubre 2009].
- Wilson, C. 2001. Floral stages, ovule development, and ovule and fruit success in *Iris tenax*, focusing on *var. gormanii*, a taxon with low seed set. *American Journal of Botany* 88(12): 2221-2231.
- Wilson, P.; O'Brien, M.; Gadek, P. y Quinn, C. 2001. Myrtaceae Revisited: A Reassessment of intrafamilial groups. *American Journal of Botany* 88(11): 2013-2025.

Wilson, P.; O'Brien, M.; Heslewood, M. y Quinn, C. 2005. Relationships within Myrtaceae sensu lato based on a *matK* Phylogeny. *Plant Systematic and Evolution* 251: 3-19.

Wollemweber, E.; Wehde, R.; Dörr, M.; Lang, G. y Stevens, J. 2000. Methyl-flavonoids from leaf waxes of some Myrtaceae. *Phytochemistry* 55(8): 965-970.

Yamazaki, T. 1987. The floral anatomy of the genus *Phytolacca*, with reference to the flower of the Caryophyllaceae. *Acta Phytolax. Geobot.* 38: 21- 32.