

Rasgos morfoanatómicos foliares en especies de *Phycella* (Amaryllidaceae)

Leaf morphoanatomical traits in the genus *Phycella* (Amaryllidaceae)

Lidia González-Atabales^{1,*}, Paulette I. Naulin^{1,2} & Nicolás García^{2,3}

¹Laboratorio Biología de Plantas, Departamento de Silvicultura y Conservación de la Naturaleza, Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza, Universidad de Chile, Av. Santa Rosa 11315, La Pintana, Santiago, Chile.

²Herbario ELF, Departamento de Silvicultura y Conservación de la Naturaleza, Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza, Universidad de Chile, Av. Santa Rosa 11315, La Pintana, Santiago, Chile.

³Laboratorio de Evolución y Sistemática, Departamento de Silvicultura y Conservación de la Naturaleza, Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza, Universidad de Chile, Av. Santa Rosa 11315, La Pintana, Santiago, Chile.

*Corresponding author: lidia.gonzalez@ug.uchile.cl

RESUMEN

Los rasgos morfoanatómicos de las hojas pueden ser particularmente discriminativos en algunos grupos taxonómicos. La morfoanatomía de las hojas de las especies del género *Phycella* puede aportar al proceso de investigación de las relaciones evolutivas y taxonomía en su circunscripción actual. Las hojas de 14 poblaciones de *Phycella* fueron colectadas de una colección *in vivo*. La caracterización de la variabilidad se realizó en microfotografía óptica de muestras obtenidas a través de los métodos a fresco, diafanización e inclusión en parafina. Las hojas presentan una fila de largas células epidermales con estomas anomocíticos, mostrando aerénquima en el mesófilo, que forma grandes cavidades de aire. Haces vasculares periféricos presentes en ambas caras de la hoja y haces grandes alargados se encontraron entre las cavidades inmersos en un tejido conector. Las hojas de las especies pueden ser unifaciales o bifaciales. Algunas especies presentan una o dos filas de parénquima de empalizada y otras presentan solo filas de parénquima esponjoso. Los rasgos que presentan variabilidad son: el ancho de la lámina, el tamaño de las cavidades de aire, el número de cavidades de aire, el número de haces vasculares periféricos, el espesor de los tejidos sobre la cavidad en la cara adaxial y el espesor del parénquima esponjoso en la cara abaxial. Por lo tanto, hay rasgos morfoanatómicos que son informativos y aportan a la discriminación de grupos de especies dentro del género.

Palabras clave: Amaryllidaceae, anatomía de hojas, hoja, rasgos informativos, taxonomía.

ABSTRACT

The morphoanatomical traits of the leaves can be particularly discriminative in some taxonomic groups. The morphoanatomy of the leaves of the species of the genus *Phycella* Lindl. can contribute to the research process of evolutionary relationships and taxonomy in its current circumscription. Leaves from 14 *Phycella* populations were collected from an *in vivo* collection. The characterization of the leaves was carried out in optical microphotography of samples obtained through the fresh, diaphanization and paraffin embedding methods. The leaves present a row of long epidermal cells with anomocytic stomata, showing aerenchyma in the mesophyll, which forms large air cavities. Peripheral vascular bundles present on both sides of the leaf and large elongated bundles were found between the cavities immersed in connective tissue. The leaves of the species can be unifacial or bifacial. Some species have one or two rows of palisade parenchyma and others have only rows of spongy parenchyma. The traits with most variation are the width of the lamina, the size of the air cavities, the number of air cavities, the number of peripheral

vascular bundles, the thickness of the tissues over the cavity on the adaxial face, and the thickness of the spongy parenchyma on the abaxial surface. Therefore, there are morphoanatomical traits that are informative and contribute to the discrimination of groups of species within the genus.

Keywords: Amaryllidaceae, informative traits, leaf anatomy, leaf, taxonomy.

INTRODUCCIÓN

Los rasgos morfológicos y anatómicos son fundamentales para la descripción, para la identificación de los taxones y para el estudio de la evolución (Metcalfe 1979; Dickison 2000; Judd *et al.* 2016). Sin embargo, estos reflejan parcialmente la historia evolutiva o filogenia de los organismos debido a la existencia de las adaptaciones convergentes que responden a condiciones ambientales similares entre diferentes clados (Doyle & Endress 2000). El conocimiento de los rasgos morfoanatómicos permite realizar estudios que integran los rasgos moleculares y morfológicos, y que dan como resultado la inferencia de relaciones evolutivas más confiables, además de ayudar en la búsqueda de parientes de angiospermas en el registro fósil (Endress *et al.* 2000; Wiens 2004). La variación de la morfología y la anatomía de la hoja son el resultado de sucesivas alteraciones del desarrollo en el tiempo, por lo que son comúnmente utilizados en los análisis taxonómicos (Sanders *et al.* 2009).

Cuando especies o ejemplares de diferentes poblaciones comparten un mismo entorno se pueden controlar los efectos de la plasticidad fenotípica, lo que permite encontrar patrones de carácter evolutivo y una expresión de la variabilidad genética (De Villemereuil *et al.* 2016), que en este caso es aplicable para los rasgos morfoanatómicos foliares.

Amaryllidaceae *sensu stricto* (= Amaryllidaceae subfam. Amarylloideae) es una familia cosmopolita y monofilética, subdividida en 11 tribus, las que se distribuyen en distintos continentes. La tribu Hippeastreae lo hace principalmente en América del Sur y contiene a la subtribu Traubiinae, que habita mayoritariamente en la zona central de Chile, e incluye los géneros *Paposoa* Nic. García, *Traubia* Moldenke, *Rhodolirium* Phil. y *Phycella* Lindl. Actualmente se aceptan 13 especies en el género *Phycella*, la mayoría son endémicas de Chile, incluyendo aquellas previamente pertenecientes a *Placea* Miers. Este clado probablemente es el resultado de una radiación rápida y su historia evolutiva se encuentra sin resolver, por lo tanto, es necesario considerar un muestreo más amplio y establecer los límites de las especies que permitan aclarar las relaciones en el género (García *et al.* 2019).

Muchos rasgos morfoanatómicos de Amaryllidaceae no son caracteres diagnóstico inequívocos y a veces son controversiales. Sin embargo, algunos rasgos de las hojas son discriminativos entre géneros. Arroyo & Cutler (1984) publicaron el estudio más completo sobre la morfoanatomía foliar de las Amaryllidaceae, el que, además de describir de forma general a la familia, compara especies de 25 géneros, tanto sudamericanos como sudafricanos (entre ellas cuatro de *Phycella*, dos de ellas tratadas como *Placea*) encontrando rasgos discriminativos en un sentido taxonómico y evolutivo.

La inferencia de filogenias en la familia mediante análisis cladísticos que combinan rasgos morfoanatómicos y moleculares han resultado confiables (Meerow *et al.* 2002; Meerow & Snijman 2001), aunque ellos se basan generalmente en los rasgos morfoanatómicos de las estructuras reproductivas. También existen estudios evolutivos y taxonómicos que dan cuenta de cierta variabilidad en los rasgos de las hojas y que permiten la identificación de grupos de especies (Davis & Barnett 1997; Alves-Araújo & Alves 2005; Raymúndez *et al.* 2005)

Davis & Barnett (1997) mencionan que en *Galanthus* L., se registran rasgos variables entre los grupos, entre las especies o dentro de las especies, los que tienen algún valor sistemático, tales como la forma de las células epidérmicas y el tamaño de las cavidades de aire en las hojas. También, se mencionan como rasgos que discriminan, las células buliformes de la parte superior de la hoja, la forma transversal de las células epidérmicas en la parte adaxial y la posición de los estomas en la epidermis. Los dos últimos rasgos mencionados son consistentes en grupos de especies basadas en color de la hoja y distribución geográfica en *Galanthus*. Por otra parte, Raymúndez *et al.* (2005) mencionan que en *Hymenocallis* Salisb., la forma de las células epidérmicas, y la forma y la orientación de los parénquimas en empalizada y esponjoso contribuyen a formar grupos diferentes de especies, incluso si se analizan ejemplares con distintas condiciones de crecimiento.

Actualmente no hay estudios que describan y comparen la morfología y anatomía de las hojas de las especies de *Phycella* en su circunscripción actual (*sensu* García *et al.* 2019). Este estudio busca aportar información relativa a la morfoanatomía

foliar de *Phycella* y aportar a la clarificación de su taxonomía.

MATERIAL Y MÉTODO

Phycella se distribuye en la zona central de Chile, específicamente entre los 29° y 38° S. Habita en matorrales desérticos, matorrales y bosques esclerofilos, y vegetación altoandina, incluyendo comunidades intrazonales, como vegas. Son plantas de 20 a 100 cm de altura, con bulbo ovoide, hojas anuales, lineales, lineal-lanceoladas o loradas, con venación paralela, entre 30 y 60 cm de longitud y entre (3) 4–15 (–30) mm de anchura, planas o (semi-) teretes y fistulosas, con bordes redondos a angulados y de ápice agudo a obtuso (García *et al.* 2019).

En el contexto de una colección *in vivo* de geófitas chilenas de la Universidad de Chile se recolectaron entre una y tres 3 hojas originadas en 14 poblaciones de 10 de las 13 especies pertenecientes a *Phycella* (Tabla 1), cuyos ejemplares se mantienen en condiciones de cultivo homogéneas en invernadero. En el caso de este estudio, un ejemplar corresponde a las plantas de donde se obtuvieron las muestras, las que comparten un mismo macetero y provienen de una misma población. La taxonomía al nivel de las especies en *Phycella* está siendo estudiada todavía por el tercer autor de este artículo (García *et al. in prep.*). Según dicha investigación, cinco de las poblaciones muestreadas son afines a alguna especie en sentido estricto, es decir, que hay razones para creer que corresponden a otra especie:

una afín a *Phycella lutea* (Phil.) Nic.García, una afín a *Phycella cyrtanthoides* (Sims) Lindl. y tres afines a *Phycella ornata* (Miers) Nic.García (Tabla 1).

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS HISTOLÓGICAS

Las hojas, primero, se escanearon para medir su área, luego se prepararon las muestras histológicas que permitieron observar las células de la epidermis (adaxial y abaxial) y la sección transversal de la hoja.

Las muestras histológicas se prepararon según el método estandarizado del Laboratorio Biología de Plantas de la Universidad de Chile, el que consiste en diseccionar el tercio central de cada hoja en tres trozos de 1 cm de longitud, luego, se escanea un trozo de cada hoja para medir su área y se somete al proceso de secado. La biomasa foliar se obtiene manteniendo las hojas a 65 °C en una estufa de secado hasta que la masa sea constante; el mismo trozo se utiliza para obtener una muestra histológica mediante diafanización y los otros dos para obtener las muestras histológicas mediante preparación en fresco e inclusión de parafina. Este método permite medir todas las variables en la misma hoja facilitando los análisis estadísticos.

La preparación de la superficie de células de las epidermis adaxial y abaxial se realizó utilizando el método de diafanización, el que ablanda los tejidos del mesófilo de la hoja lo que hace que se separen ambas epidermis. Este método corresponde a una modificación de los métodos, propuestos por Dizeo de Strittmatter (1973) y Castellaro *et al.* (2007).

TABLA 1. Tamaño muestral por población, especie y número de hojas consideradas en el estudio. sn: sin número de colección. / Sample size by population, species and number of leaves considered in the study. sn: no collection number.

Nº	Especie	Procedencia	Población (Nº colección)	Voucher	Nº de hojas
1	<i>Phycella amoena</i> (Phil.) Nic.García	Cuesta El Espino, Illapel	s.n	EIF 17635	2
2	<i>Phycella angustifolia</i> Phil.	Caleu, Tiltit	15	EIF 14802	3
3	<i>Phycella arzae</i> (Phil.) Nic.García	Chicauma, Lampa	32	EIF 14819	3
4	<i>Phycella australis</i> Ravenna	Cerro Cayumanqui, Quillón	39	EIF 14812	3
5	<i>Phycella chilensis</i> (L'Hér.) Grau ex Nic.García	Santa Juana, Concepción	41	EIF 14814	3
6	<i>Phycella aff. cyrtanthoides</i> (Sims) Lindl.	Tongoy, Coquimbo	23	EIF 13240	3
7	<i>Phycella cyrtanthoides</i> (Sims) Lindl.	Quebrada Verde, Valparaíso	27	EIF 13285	3
8	<i>Phycella davidii</i> (Ravenna) Nic.García	El Manzano, San José de Maipo	18	EIF 14806	3
9	<i>Phycella aff. lutea</i> (Phil.) Nic.García	Cuesta Barriga, Melipilla	35	EIF 14290	1
10	<i>Phycella aff. ornata</i> (Miers) Nic.García	Estero Durazno, Salamanca	11	EIF 14798	3
11	<i>Phycella aff. ornata</i> (Miers) Nic.García	Cuesta Chincolco, Petorca	12	EIF 14799	1
12	<i>Phycella ornata</i> (Miers) Nic.García	La Dormida, Tiltit	14	EIF 14801	3
13	<i>Phycella aff. ornata</i> (Miers) Nic.García	Quilapilún, Colina	20	EIF 12716	3
14	<i>Phycella scarlatina</i> Ravenna	Tres Cruces, Hurtado	6	EIF 14793	3

La observación de la sección transversal de la hoja se hizo mediante la preparación de muestras en fresco y la preparación de muestras permanentes (25 µm) incluidas en parafina, teñidas con safranina- *fast green*, modificando el método de Johansen (1940). Finalmente, las muestras fueron fotografiadas en un microscopio óptico Zeiss Axio Lab. A1 y una lupa estereoscópica Motic SMZ- 171.

DESCRIPCIÓN DE LOS RASGOS MORFOANATÓMICOS DE LAS HOJAS

Las descripciones de los rasgos morfoanatómicos de las hojas se logró mediante la observación y las mediciones en las microfotografías de las hojas procesadas por población.

Los rasgos cualitativos y cuantitativos se determinaron con base en los descritos para hojas de Amaryllidaceae (Tabla 2). Las mediciones de los rasgos cuantitativos se llevaron a cabo con el programa ImageJ (Schneider *et al.* 2012). La calibración del programa se consiguió utilizando una regla milimétrica o micrométrica, según cada variable.

En las mediciones morfológicas, el área foliar (AF) y el ancho de la lámina (AL) se obtuvieron con *ImageJ* utilizando las imágenes escaneadas de las hojas (Fig. 1C). La biomasa foliar se obtuvo calculando la relación directa entre el área foliar y la biomasa del trozo (obtenida al principio de la preparación de muestras).

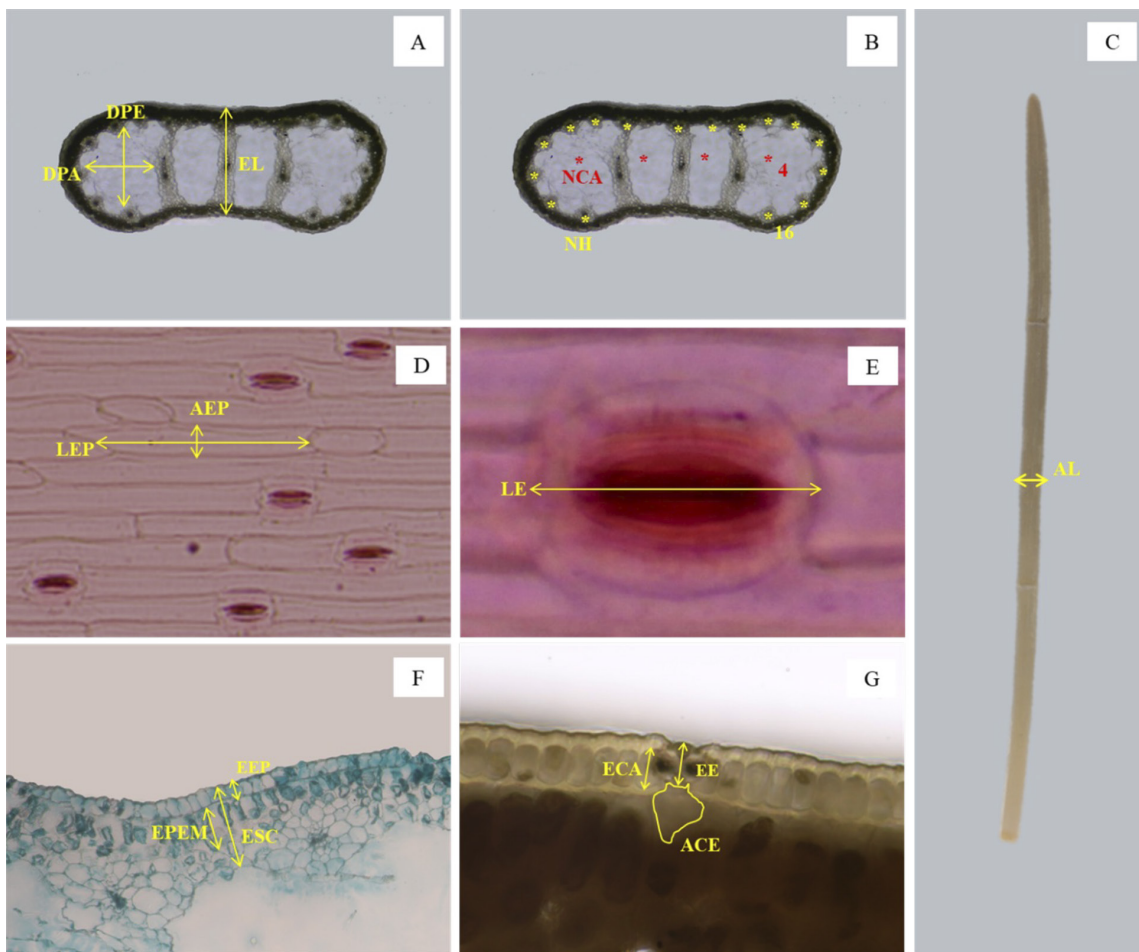


FIGURA 1. Mediciones de los rasgos en las microfotografías. A: Espesor de la lámina (EL), Diámetro paralelo a la lámina de la cavidad de aire (DPA) Diámetro perpendicular a la lámina de la cavidad de aire (DPE). B: Número de haces vasculares (NH) y Número de cavidades de aire (NCA). C: Ancho de la lámina (AL). D: Largo (LEP) y ancho (AEP) de la célula epidermal. E: Largo (LE) del estoma. F: Espesor sobre la cavidad de aire (ESC), Espesor de la epidermis (EEP), Espesor parénquima empalizada (EP) G: Espesor del estoma (EE), Espesor de la célula acompañante (ECA) y Área de cámara subestomática (ACE). / Measurements of traits in photomicrographs. A: Leaf thickness (EL), Diameter parallel to the air cavity blade (DPA) Diameter perpendicular to the air cavity blade (DPE). B: Number of vascular bundles (NH) and Number of air cavities (NCA). C: Blade width (AL). D: Length (LEP) and width (AEP) of the epidermal cell. E: Length (LE) of the stoma. F: Thickness above the air cavity (ESC), Thickness of the epidermis (EEP), Thickness of the palisade parenchyma (EP) G: Thickness of the stoma (EE), Thickness of the accompanying cell (ECA) and Substomatal cavity area (ACE).

El espesor de la lámina y los diámetros de las cavidades de aire se midieron al centro de cada estructura (Fig. 1A). El tamaño de las células o estomas corresponde al ancho y al largo de ellos y se promedió la medición de 20 a 30 células o estomas por ejemplar (Fig. 1D y 1E). La medición del espesor del estoma, de las células acompañantes y del área subestomática también fue del promedio de 20 a 30 estomas por ejemplar (Fig. 1G). Por otra parte, las mediciones de los espesores (AB y AD) de la epidermis, del parénquima en empalizada y del parénquima esponjoso se efectuaron en una zona sin haces vasculares (Fig. 1F). El

espesor del parénquima esponjoso se determinó mediante la diferencia entre el espesor total de la hoja y la suma de los tejidos parenquimáticos. Los espesores de la epidermis y del parénquima en empalizada se midieron en distintas zonas de tejidos y distintos cortes promediando entre 2 a 15 mediciones por ejemplar (Fig. 1E y 1G). El número de cavidades de aire y de haces vasculares correspondió a lo observado en la sección transversal (Fig. 1B). Por último, los rasgos se describieron mediante el promedio y la desviación estándar de dos a tres hojas de cada ejemplar por población (Tabla 1).

TABLA 2. Rasgos morfoanatómicos de la hoja utilizados para la descripción. AD: adaxial; AB: abaxial. / Morphoanatomical traits of the leaf used for the description. AD: adaxial; AB: abaxial.

Estructura	Rasgos
Lámina	Tipo de hoja Forma de la sección transversal de la hoja. Espesor de la lámina. Área foliar (AF). Biomasa foliar (BF). Ancho de la lámina (AL). Espesor de la lámina (EL).
Epidermis	Tipo de células epidermales. Presencia y tipo de células acompañantes. Presencia de otras modificaciones epidermales. Posición de los estomas. Ancho de las células epidermales (AEP). Largo de las células epidermales (LEP). Largo de los estomas (LE). Espesor epidermis AD (EEP AD). Espesor epidermis AB (EEP AB). Espesor estoma (EE). Espesor células acompañantes (ECA). Área de cámara subestomática (ACE).
Mesófilo	Tipo de células del mesófilo. Distribución de los haces vasculares. Forma de los haces vasculares. Espesor de parénquima empalizada en la cara AD (EPEM AD). Espesor de parénquima empalizada en la cara AB (EPEM AB). Espesor de parénquima esponjoso en AD (EPES AD). Espesor de parénquima esponjoso en AB (EPES AB). Espesor sobre la cavidad en cara AD (ESC AD). Espesor sobre la cavidad en cara AB (ESC AB). Diámetro perpendicular a la lámina de la cavidad de aire (DPE). Diámetro paralelo a la lámina de la cavidad de aire (DPA). Número de cavidades de aire (NCA). Número de haces vasculares periféricos (NH).

RESULTADOS

LÁMINA

Las hojas en *Phycella* son anchas-cóncavas y elípticas. Algunas especies son bifaciales, es decir, tiene una distribución heterogénea de los tejidos en ambas caras de la hoja, por ejemplo, en la cara adaxial se observa tejido parenquimático de empalizada y en la cara abaxial se observa tejido parenquimático esponjoso (Fig. 2A y 2B). Otras especies son unifaciales, tienen una distribución homogénea de los tejidos en la hoja, por ejemplo, se observa tejido parenquimático esponjoso en ambas caras (Fig. 2C). De los rasgos cuantitativos, el ancho de la lámina (AL) muestra variabilidad entre las poblaciones (Tabla 3).

EPIDERMIS

Las hojas de *Phycella* tienen una cutícula delgada y una sola fila de células epidermales; éstas son alargadas y, a veces, también cortas. Los estomas son del tipo anomocítico y se insertan de manera que truncan a las células acompañantes. Hay estomas en ambas caras de la hoja, se distribuyen de forma paralela, en algunos casos la misma célula acompañante es compartida por dos estomas (Fig. 2D y 2E). En un corte transversal los estomas se posicionan al nivel de las células epidermales y tienen cavidades subestomáticas no muy grandes (Fig. 2G). No hay presencia de otras modificaciones epidermales. Los rasgos cuantitativos no muestran variabilidad entre los

promedios de los ejemplares por población.

MESÓFILO

El tejido fotosintético de las hojas de *Phycella* se clasifica según su forma en parénquima de empalizada o parénquima esponjoso, ubicándose en la cara adaxial preferentemente (Fig. 2H y 2I). Algunas poblaciones presentan cristales de oxalato de calcio del tipo rafídios. El mesófilo tiene grandes cavidades de aire en la zona central, las que son formadas por tejido parenquimático especializado, el aerénquima (Fig. 2J). Los haces vasculares del mesófilo son de dos tipos: 1) haces vasculares periféricos que están inmersos en el parénquima próximo a la epidermis en la sección transversal de la hoja (Fig. 2L), y 2) haces vasculares alargados inmersos en un tejido conector de ambas caras de la hoja entre las cavidades formado por el aerénquima. Los haces vasculares periféricos de la cara adaxial son circulares y pequeños; los de la cara abaxial, más largos y grandes que los observables en la cara adaxial (Fig. 2K).

El diámetro paralelo a la lámina de la cavidad de aire (DPA), el diámetro perpendicular a la lámina de la cavidad de aire (DPE), el número de cavidades de aire (NCA), el número de haces vasculares periféricos (NH), el espesor sobre la cavidad en la cara adaxial (ESC AD) y el espesor del parénquima esponjoso en la cara abaxial (EPES AB) muestran variabilidad entre los promedios de los ejemplares por poblaciones (Tabla 4).

TABLA 3. Variabilidad (promedio y desviación estándar) del ancho de la lámina entre poblaciones de *Phycella*. / Variability (mean and standard deviation) of blade width among *Phycella* populations.

Especies	Población	AL mm
<i>P. amoena</i>	s.n	3,1 ± 0,03
<i>P. angustifolia</i>	15	3,2 ± 0,32
<i>P. arzae</i>	32	3,5 ± 2,3
<i>P. australis</i>	39	5,6 ± 0,75
<i>P. chilensis</i>	41	3,8 ± 0,73
<i>P. aff. cyrtanthoides</i>	23	8,6 ± 1,8
<i>P. cyrtanthoides</i>	27	10,5 ± 2,1
<i>P. davidii</i>	18	2,9 ± 0,4
<i>P. aff. lutea</i>	35	3,6
<i>P. aff. ornata</i>	11	4 ± 0,51
<i>P. aff. ornata</i>	12	3
<i>P. ornata</i>	14	3,3 ± 0,28
<i>P. aff. ornata</i>	20	2,3 ± 0,7
<i>P. scarlatina</i>	6	3,2 ± 0,2
General		4,6 ± 2,6

GRUPO DE ESPECIES SEGÚN RASGOS DESCRITOS

Los rasgos descritos, tipo de hoja, formación de la sección transversal de la hoja, presencia de rafidios, tipos de células y

distribución de haces vasculares, permiten formar tres grupos de especies (ver Tabla 5). No se incluyen rasgos de epidermis, ya que no se observaron rasgos que varíen entre las especies.

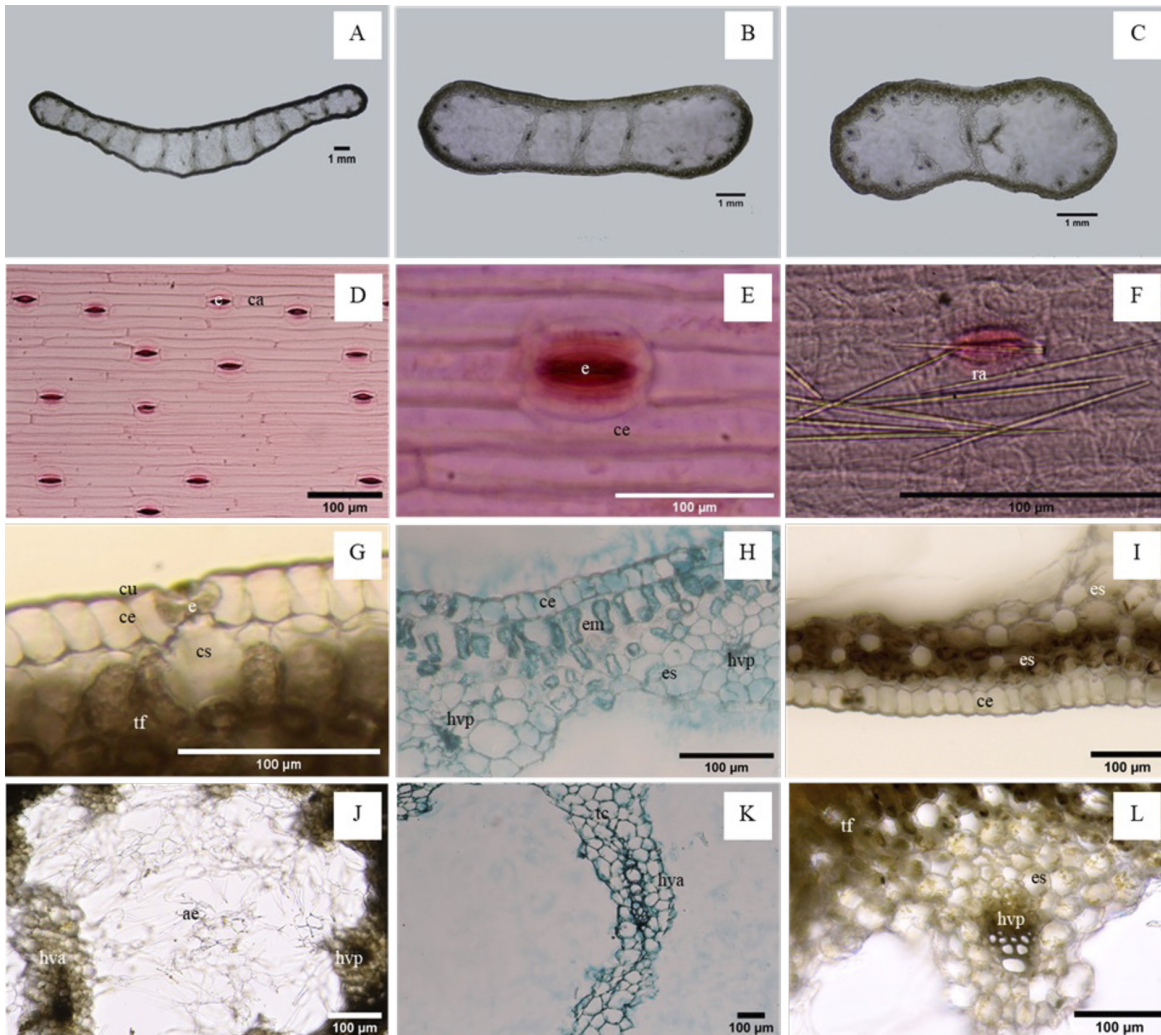


FIGURA 2. Rasgos de las hojas en el género *Phycella*. A: Sección transversal de hoja bifacial ancha- cóncava en *Phycella cyrtanthoides*. B: Sección transversal de hoja bifacial elíptica en *Phycella australis*. C: Sección transversal de hoja unifacial elíptica en *Phycella ornata* (población N°14). D: Superficie de la epidermis en *Phycella angustifolia*. E: Estoma en *Phycella australis*. F: Rafidios en *Phycella cyrtanthoides*. G: Epidermis desde la sección transversal de la hoja en *Phycella cyrtanthoides*. H: Tejido fotosintético en la cara AD en *Phycella angustifolia*. I: Tejido fotosintético en la cara AB en *Phycella cyrtanthoides*. J: Cavidad de aire en *Phycella australis*. K: Tabique del tejido conector en *Phycella* aff. *ornata* (población N°20). L: Haz vascular periférico en *Phycella australis*. e: Estoma, ca: Célula acompañante, ce: Célula epidermal. cu: Cutícula cs: Cámara subestomática. ra: Rafidios. tf: Tejido fotosintético. es: Parénquima esponjoso. em: Parénquima empalizada. hvp: Haz vascular periférico. tc: Tejido conector. hva: Haz vascular alargado. ae: Aerénquima. / Leaf traits in the genus *Phycella*. A: Cross section of broad-concave bifacial leaf in *Phycella cyrtanthoides*. B: Cross section of elliptic bifacial leaf in *Phycella australis*. C: Cross section of elliptic unifacial leaf in *Phycella ornata* (population N° 14). D: Surface of the epidermis in *Phycella angustifolia*. E: Stoma in *Phycella australis*. F: Raphides in *Phycella cyrtanthoides*. G: Epidermis from cross section of leaf in *Phycella cyrtanthoides*. H: Photosynthetic tissue on the AD side in *Phycella angustifolia*. I: Photosynthetic tissue on the AB side in *Phycella cyrtanthoides*. J: Air cavity in *Phycella australis*. K: Connective tissue septum in *Phycella* aff. *ornata* (population N° 20). L: Peripheral vascular bundle in *Phycella australis*. e: Stoma, ca: Companion cell, ce: Epidermal cell. cu: Cuticle cs: Substomatal cavity. ra: Raphides. tf: Photosynthetic tissue. es: Spongy parenchyma. em: Palisade parenchyma. hvp: Peripheral vascular bundle. tc: Connective tissue. hva: Elongated vascular bundle. ae: Aerenchyma.

TABLA 4. Variabilidad (promedio y desviación estándar) de los rasgos descritos en el mesófilo entre poblaciones de *Phycella*. / Variability (mean and standard deviation) of mesophyll traits among *Phycella* populations.

Población	Población	DPA mm	DPE mm	NCA	NH	ESC AD μm	EPES AB μm
<i>P. amoena</i>	s.n	1,1 \pm 0,02	1 \pm 0,03	2 \pm 0	16 \pm 1,4	194,6	38,3
<i>P. angustifolia</i>	15	1,2 \pm 0,06	1,1 \pm 0,14	2 \pm 0	14,7 \pm 2,9	170,1 \pm 17,7	64,7 \pm 8,1
<i>P. arzae</i>	32	1 \pm 0,43	1 \pm 0,22	2,3 \pm 0,6	15 \pm 5,3	188,5 \pm 29,6	66,4 \pm 13,4
<i>P. australis</i>	39	1,1 \pm 0,1	1,1 \pm 0,19	4 \pm 0	17,7 \pm 1,5	220,9 \pm 11,6	77,8 \pm 9,4
<i>P. chilensis</i>	41	1,2 \pm 0,07	0,93 \pm 0,09	2,7 \pm 0,6	16,3 \pm 2,5	168 \pm 14,4	64 \pm 13,4
<i>P. aff. cyrtanthoides</i>	23	0,35 \pm 0,12	0,26 \pm 0,08	15,7 \pm 2,9	0	110,8 \pm 8	77,8 \pm 10,1
<i>P. cyrtanthoides</i>	27	0,74 \pm 0,14	0,58 \pm 0,15	11,7 \pm 2,1	25 \pm 4,4	155,9 \pm 22,7	95,3 \pm 11,7
<i>P. davidii</i>	18	0,84 \pm 0,24	0,91 \pm 0,1	3 \pm 1	16,3 \pm 2,5	253,6 \pm 25,2	111,1 \pm 2,2
<i>P. aff. lutea</i>	35	1,5	1,5	2	16	217,4	129,5
<i>P. aff. ornata</i>	11	1,6 \pm 0,17	1,2 \pm 0,26	2 \pm 0	17,7 \pm 2,1	179,9 \pm 21	74,5*
<i>P. aff. ornata</i>	12	1,2	0,8	2	17	216,4	64,4
<i>P. ornata</i>	14	1,3 \pm 0,15	1 \pm 0,12	2 \pm 0	19 \pm 1,8	213,9 \pm 12,9	46,5 \pm 19,3
<i>P. aff. ornata</i>	20	0,58 \pm 0,09	0,7 \pm 0,28	2,7 \pm 1,2	13,3 \pm 3,9	225,1 \pm 25,9	76,8 \pm 10,1
<i>P. scarlatina</i>	6	0,88 \pm 0,31	0,84 \pm 0,09	2,7 \pm 1,2	17 \pm 1	187,9 \pm 11,8	76,9 \pm 5
General		0,1 \pm 0,4	0,9 \pm 0,32	4,5 \pm 4,5	15,7 \pm 6,1	190,2 \pm 40,4	77 \pm 20,7

*Ejemplar contiene 3 hojas, pero el valor se obtuvo de solo una.

TABLA 5. Rasgos informativos para grupos de especies/poblaciones en *Phycella*. AD: adaxial; AB: abaxial / Informative traits for groups of species/populations in *Phycella*. AD: adaxial; AB: abaxial.

Especies	Población	Lámina			Mesófilo	
		Tipo de hoja	Forma de la sección transversal de la hoja	Cristales de rafídios	Tipos de células	Distribución de haces vasculares
<i>P. amoena</i>	s.n	Unifacial	Elíptica	Ausentes	Células empalizadas en ambas caras	Haces vasculares periféricos alrededor de toda la sección transversal
<i>P. angustifolia</i>	15					
<i>P. arzae</i>	32					
<i>P. australis</i>	39					
<i>P. chilensis</i>	41					
<i>P. ornata</i>	14					
<i>P. aff. ornata</i>	11, 12 y 20	Bifacial	Elíptica	Ausentes	Células empalizadas en cara AD y células esponjosas en cara AB	Haces vasculares periféricos alrededor de toda la sección transversal
<i>P. scarlatina</i>	6					
<i>P. davidii</i>	18	Bifacial	Ancha-cóncava	Presentes	Células empalizadas en cara AD y células esponjosas en cara AB	Haces vasculares periféricos en la cara adaxial
<i>P. aff. lutea</i>	35					
<i>P. cyrtanthoides</i>	27					
<i>P. aff. cyrtanthoides</i>	23				Células esponjosas en ambas caras	Sin haces vasculares periféricos

DISCUSIÓN

La descripción de rasgos foliares en este estudio concuerdan, en buena parte, con las descripciones hechas en Amaryllidaceae (Arroyo & Cutler 1984). En esta familia se distinguen los siguientes rasgos cualitativos de las hojas: 1) la forma puede ser bifacial o unifacial; las bifaciales aparecen tanto en las hojas anchas como en las elípticas; en tanto que las hojas unifaciales aparecen solo en las elípticas; 2) forma de las células epidermales, caracterizadas por ser alargadas; 3) el tipo de estoma que es anomocítico; 4) el tipo parénquima en el mesófilo el que puede ser tanto en empalizada como esponjoso; y 5) la presencia de cavidades de aire entre los haces vasculares. En este trabajo sobre *Phycella* se encuentran todos esos rasgos.

Entre los rasgos foliares de *Phycella* que no concuerdan con la descripción proveída por Arroyo & Cutler (1984), están la presencia y la distribución de los haces vasculares. De acuerdo con el mencionado autor, las hojas bifaciales presentan un arco de haces vasculares y se distribuyen entre los pares de cavidades de aire; las hojas unifaciales, en cambio, tienen un anillo de haces vasculares que está inserto en el parénquima debajo de la epidermis (Arroyo & Cutler 1984). En este estudio, queda en evidencia que en las especies de *Phycella*, excepto *P. aff. cyrtanthoides* (N°23), coexisten las dos formas de distribución de los haces vasculares en la sección transversal de ambos tipos de hojas (Fig. 2), descritas como haces vasculares periféricos y haces vasculares en los tabiques que forman las cavidades de aire. El presente trabajo aporta mayor variabilidad de los rasgos de presencia y la distribución de los haces vasculares de *Phycella* que lo propuesto por Arroyo & Cutler (1984), ya que dicho trabajo analizó solo cuatro especies de este género.

Las hojas de *Phycella* son en su mayoría unifaciales y en solo cuatro especies son bifaciales (ver Tabla 5). Este rasgo se complementa con la forma de la hoja y con el tipo de células que forman el mesófilo. Existen especies que se distinguen por tener hojas elípticas y anchas-cóncavas, y células en empalizada en ambas caras, en una o carecer de ellas. Estos rasgos también aportan información taxonómica en otros estudios de Amaryllidaceae; en *Galanthus*, la presencia del parénquima en empalizada permite distinguir solo un par de especies (Davis & Barnett, 1997); en *Hymenocallis*, resulta informativo la forma de la hoja para formar varios grupos de especies (Raymúndez et al. 2005); ambos rasgos son informativos y de carácter ancestral en *Allium* L. subg. *Amerallium* Traub (Mashayekhi & Travis Columbus 2014). También son caracteres diagnósticos en *Hippeastrum* Herb. y *Worsleya* (Traub) Traub ya que varían entre las especies de ambos géneros (Campos-Rocha et al. 2022).

Mashayekhi & Travis Columbus (2014) mencionan que en *Allium* subg. *Amerallium* la forma de la hoja tiene relación con el ancho de la lámina, de manera que, las hojas cilíndricas o teretes tienen un ancho menor de lámina que las hojas que son planas. En el caso de *Phycella*, la relación de ambos rasgos es la misma y el ancho de la lámina es informativo; las especies con hojas elípticas tienen un menor ancho de lámina que aquellas con hoja anchas - cóncavas como *P. cyrtanthoides* y *P. aff. cyrtanthoides*.

Arroyo & Cutler (1984) señalan que varias especies de la familia presentan rafidios cerca de la superficie. Prychid & Rudall (1999) mencionan que la presencia o ausencia de diferentes tipos de cristales de oxalato de calcio es un rasgo ya descrito en Amaryllidaceae. En *Phycella* se registran rafidios solamente en *P. cyrtanthoides* y una especie afín (población N°23), por lo tanto, este rasgo parece ser informativo para dicho complejo de especies.

En *Allium* subg. *Amerallium*, la distribución y la orientación de los haces vasculares son dos rasgos informativos (Mashayekhi & Travis Columbus 2014), lo que también se cumple para *Phycella*. La mayor parte de las especies muestra en sus hojas dos formas diferentes de distribución de los haces vasculares, salvo *P. aff. cyrtanthoides*, que tiene sus haces vasculares entre las cavidades de aire, por lo que este podría ser un carácter de diagnóstico para dicha especie. También es informativo para la discriminación de *Phycella cyrtanthoides*, pues sus haces vasculares periféricos se distribuyen solo en la cara adaxial de la hoja.

En los estudios citados sobre *Galanthus* e *Hymenocallis*, la forma de las células epidermales tiene un mínimo valor sistemático pudiendo discriminar solo algunas especies dentro de cada grupo (Davis & Barnett 1997; Raymúndez et al. 2005). En este estudio, dicho rasgo no resulta informativo para discriminar poblaciones o especies.

El tamaño de las cavidades de aire (DPA y DPE) es un rasgo informativo para *Phycella*, que podría contribuir a distinguir algunas especies o grupos. Dicho rasgo también es informativo en *Galanthus*, aunque en estas especies tiene un valor sistemático menor, pues aparece solo en un par de especies (Davis & Barnett 1997).

El análisis del número de cavidades de aire, número de haces vasculares periféricos, espesor sobre la cavidad en la cara adaxial y el espesor del parénquima esponjoso en la cara abaxial también son informativos, sin embargo, estos rasgos cuantitativos no han sido utilizados previamente en taxonomía de otros grupos de Amaryllidaceae por lo que no se dispone de fuentes para su comparación.

Los rasgos morfoanatómicos descritos en este estudio sustentan una caracterización morfoanatómica de las especies de *Phycella* que aporta a su determinación taxonómica. Futuros

estudios podrían ahondar en estos resultados considerando la variabilidad de los rasgos a escala poblacional.

REFERENCIAS

- Alves-Araújo, A., Alves, M. 2005. Anatomical features of three species of three species of Amaryllidaceae from North-Eastern Brazil. *Herbertia* 59: 94-106.
- Arroyo, S.C., Cutler, D.F. 1984. Evolutionary and Taxonomic Aspects of the Internal Morphology in Amaryllidaceae from South America and Southern Africa. *Kew Bulletin* 39(3): 467-498. <https://doi.org/10.2307/4108592>
- Campos-Rocha, A., Meerow, A.W., Machado, R.M., Mayer, J.L.S., da Mota, R.C., Fontana, A.P., Ribeiro, O.B.C., García, N.B., Dutilh, J.H.A. 2022. Out of the mud: two new species of *Hippeastrum* (Amaryllidaceae) from the Doce and Jequitinhonha River basins, Brazil. *Plant Systematics and Evolution* 308(3): 1-25. <https://doi.org/10.1007/s00606-022-01805-3>
- Castellaro G., G., Squella N., F., Ullrich R., T., León C., F., Raggi S., A. 2007. Algunas técnicas microhistológicas utilizadas en la determinación de la composición botánica de dietas de herbívoros. *Agricultura Técnica* 67(1): 86-93. <https://doi.org/10.4067/S0365-28072007000100011>
- Davis, A.P., Barnett, J.R. 1997. The leaf anatomy of the genus *Galanthus* L. (Amaryllidaceae J. St.-Hil.). *Botanical Journal of the Linnean Society* 123: 333-352. <https://doi.org/10.1006/bojl.1996.0087>
- De Villemereuil, P., Gaggiotti, O.E., Mouterde, M., Till-Bottraud, I. 2016. Common garden experiments in the genomic era: New perspectives and opportunities. *Heredity* 116(3): 249-254. <https://doi.org/10.1038/hdy.2015.93>
- Dickison, W.C. 2000. In *Integrative Plant Anatomy*. Academic Press, San Diego. 560 pp.
- Dizeo de Strittmatter, C. 1973. Nueva técnica de diafanización. *Boletín de La Sociedad Argentina de Botánica* 15(1): 126-129.
- Doyle, J.A., Endress, P.K. 2000. Morphological Phylogenetic Analysis of Basal Angiosperms: Comparison and Combination with Molecular Data. *International Journal of Plant Sciences* 161 (Supplement): S121-S153. <https://doi.org/10.1086/317578>
- Endress, P.K., Baas, P., Gregory, M. 2000. Systematic Plant Morphology and Anatomy: 50 Years of Progress. *Taxon* 49(3): 401-434.
- García, N., Meerow, A.W., Arroyo-Leuenberger, S., Oliveira, R.S., Dutilh, J.H., Soltis, P.S., Judd, W.S. 2019. Generic classification of Amaryllidaceae tribe Hippeastreae. *Taxon* 68(3): 481-498. <https://doi.org/10.1002/tax.12062>
- Johansen, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill, New York. 523 pp.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.F., Donoghue, M.J. 2016. *Plant systematics: A phylogenetic approach*. Fourth edition. Sinauer Associates is an imprint of Oxford University Press.
- Mashayekhi, S., Travis Columbus, J. 2014. Evolution of leaf blade anatomy in *Allium* (Amaryllidaceae) subgenus *Amerallium* with a focus on the North American species. *American Journal of Botany* 101(1): 63-85. <https://doi.org/10.3732/ajb.1300053>
- Meerow, A.W., Guy, C.L., Li, Q.B., Clayton, J.R. 2002. Phylogeny of the tribe Hymenocallideae (Amaryllidaceae) based on morphology and molecular characters. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 89(3): 400-413. <https://doi.org/10.2307/3298600>
- Meerow, A.W., Snijman, D.A. 2001. Phylogeny of Amaryllidaceae tribe Amaryllideae based on nrDNA ITS sequences and morphology. *American Journal of Botany* 88(12): 2321-2330. <https://doi.org/https://doi.org/10.2307/3558392>
- Metcalfe, C.R. 1979. History of systematic anatomy. En: Metcalfe, C.R., Chalk, L. (Eds.) *Anatomy of the Dicotyledons*, Vol. 1, pp. 1-4. Second edition. Oxford University Press, New York.
- Raymúndez U., M.B., Escala, M., Xena de Enrech, N. 2005. Morfoanatomía foliar como herramienta para la delimitación de especies del género *Hymenocallis* Salisb. (Amaryllidaceae) presentes en Venezuela. *Acta Botánica Venezolánica* 28(2): 301-319.
- Sanders, H., Rothwell, G.W., Wyatt, S.E. 2009. Key morphological alterations in the evolution of leaves. *International Journal of Plant Sciences* 170(7): 860-868. <https://doi.org/10.1086/600135>
- Wiens, J.J. 2004. The role of morphological data in phylogeny reconstruction. *Systematic Biology* 53(4): 653-661. <https://doi.org/10.1080/10635150490472959>

Received: 31.08.2023

Accepted: 26.06.2024