

ANATOMÍA DE LAS FLORES ESTAMINADAS EN DOS ESPECIES DE *Raphia* P. BEAUV. (ARECACEAE, CALAMOIDEAE)

Lorena Guevara¹, Damelis Jáuregui¹ y Fred Stauffer²

¹Instituto de Botánica Agrícola, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, Maracay. ²Conservatoire et Jardin Botaniques de la Ville de Genève, Université de Genève, laboratoire de systématique végétale et biodiversité Ch. de l'Impératrice 1, case postale 60, 1292 Chambésy/Geneva, Switzerland. loisag@gmail.com

COMPENDIO

Se describe la anatomía de las piezas florales de los diferentes verticilos en las flores estaminadas de *Raphia regalis* y *R. taedigera* con el fin de apoyar la sistemática de la subfamilia Calamoideae. El material herborizado fue rehidratado, para luego ser procesado utilizando técnicas convencionales hasta obtener láminas permanentes. La anatomía de las piezas florales de ambas especies es similar. El perianto presenta numerosos haces vasculares con abundante esclerénquima asociado y tejidos del mesofilo con células de paredes engrosadas, la hipodermis muestra características diferentes hacia ambas epidermis de los verticilos. Sólo en *R. taedigera* se encontraron células con rafidios en el tejido conectivo y paquetes de fibra dispersos en los filamentos estaminales.

PALABRAS CLAVE

Anatomía, flor estaminada, *Raphia*, Arecaceae, Calamoideae.

ANATOMICAL STRUCTURE OF STAMINATE FLOWERS IN TWO SPECIES OF *Raphia* P.BEAUUV. (ARECACEAE, CALAMOIDEAE)

ABSTRACT

The anatomy of the floral parts of the verticils of staminate flowers in *Raphia regalis* and *R. taedigera* was described to support the systematics of the subfamily Calamoideae. Herbarium material was rehydrated and processed using conventional techniques to obtain permanent slides. The anatomy of the floral parts in both species is similar. The perianth presents numerous vascular bundles with abundant associated sclerenchyma, and mesophyll with thick wall cells, the hypodermis is different in both epidermis in the perianth verticills. Only in *R. taedigera* were raphide cells found in the connective tissue and scattered fiber bundles in the staminal filaments.

KEY WORDS

Anatomy, staminate flower, *Raphia*, Arecaceae, Calamoideae.

INTRODUCCIÓN

Raphia P. Beauv. es el único género dentro de la subtribu Raphiinae (Calamoideae) cuya distribución geográfica está compartida entre América y África sólo por *Raphia taedigera* (Mart.) Mart. (su presencia en América como introducida está en discusión), se encuentra dentro de la tribu Lepidocaryeae junto con Mauritiinae y Ancistrophyllinae (Henderson *et al.* 1995, Dransfield *et al.* 2008). Raphiinae, ha sido ubicada como grupo hermano de Mauritiinae, apareciendo frecuentemente en esta posición con un apoyo moderado en los árboles filogenéticos basados en caracteres moleculares y morfológicos (Baker *et al.* 2000a,b, Asmussen *et al.* 2006). A pesar de este apoyo moderado para Raphiinae como grupo hermano de las Mauritiinae, la relación aparece como válida en la monografía más reciente de la familia (Dransfield *et al.* 2008).

Las especies de *Raphia* son hapaxánticas y monoicas, las raquillas de sus inflorescencias llevan flores femeninas solitarias cerca de la base y flores estaminadas hacia el ápice; están distribuidas en África Ecuatorial, Madagascar, Sur y Centroamérica (Dransfield *et al.* 2008). En el continente africano existe una larga tradición en la producción de vino de la “savia” de las rafias, también proveen muchos productos de subsistencia como aceite comestible y

para cosmética, en textilería, techado y construcción de viviendas. En Brasil, Colombia, Costa Rica y Panamá *R. taedigera* se utiliza para la elaboración de diversos utensilios (Johnson 2010).

Junto a los caracteres moleculares, los morfológicos y anatómicos florales en palmas, han demostrado ser de utilidad para la filogenia de la subfamilia Calamoideae (Baker *et al.* 1999, Baker *et al.* 2000a,b, Guevara *et al.* en preparación); sin embargo, los estudios detallados de la anatomía floral en este grupo son escasos y las especies de *Raphia* aún no se han explorado desde este punto de vista (Dransfield *et al.* 2008). En este trabajo se presenta la descripción de la estructura anatómica de las piezas florales en flores masculinas de *R. regalis* Becc. y *R. taedigera*, con la finalidad de contribuir con el conocimiento de la biología del género y aportar características para la sistemática de la subfamilia Calamoideae.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron flores masculinas casi antéticas de material herborizado de *Raphia regalis* (Juillet 1657 Gabón) y *Raphia taedigera* (Smith 54 Nicaragua), proveniente del Gray Herbarium (GH). Para la rehidratación el material se colocó en lactofenol y en estufa a 60 °C, durante 15 horas y en bomba de vacío por tres horas para facilitar la penetración de la solución; en ésta se mantuvo por cinco meses, a temperatura ambiente. Al finalizar este período se lavó el material con agua destilada cuatro veces y se colocó en FAA para su fijación.

Con el objeto de obtener láminas permanentes, se utilizó la técnica convencional propuesta por Johansen (1940) modificada, aplicándose vacío en cada paso de la deshidratación con alcohol terbutílico. Se realizaron secciones transversales y longitudinales seriadas a seis flores por cada especie, utilizando un micrótopo de rotación. Las secciones se tiñeron con safranina - fast green y se efectuó el montaje usando bálsamo de Canadá.

Las secciones se observaron y analizaron con un microscopio óptico. Se obtuvieron fotomicrografías utilizando una cámara digital adaptada al microscopio. Debido a que el material fue extraído de muestras herborizadas, hubo limitaciones en la observación de algunos caracteres. Estos procedimientos se efectuaron en el Laboratorio de Morfoanatomía Vegetal “Profesor Antonio Fernández” de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela.

RESULTADOS

CARACTERES GENERALES

Perianto. El cáliz presenta una cantidad homogénea de capas de tejidos del mesofilo en toda su longitud. La corola tiende a presentar menor cantidad de capas de tejido mesofilar hacia la base. Epidermis. Cáliz con epidermis dorsal y ventral de células cuadrangulares y ovaladas. En la corola, las dorsales pueden ser tabulares, cuadrangulares o redondeadas y en las ventrales predominan las redondeadas. Mesofilo. En ambos verticilos, la porción media del mesofilo está compuesta generalmente por células parenquimáticas redondeado-ovaladas, con paredes delgadas o con diversos grados de engrosamiento. Hipodermis: células de mayor tamaño y de paredes más engrosadas en la porción media del cáliz y hacia el ápice de la corola. La hipodermis dorsal en ambos verticilos está formada por células de paredes homogéneamente engrosadas, alternando con paquetes de fibra; mientras que la ventral está compuesta por células de paredes radiales y tangencial externa más engrosadas (en “u”). Haces vasculares. Son pequeños, numerosos, con tejido vascular evidente y tejido esclerenquimático abundante. Se ubican más o menos centralmente en el mesofilo del cáliz y en la corola hacia el área dorsal, están rodeados por células con cuerpos de sílice esféricos, espinulosos.

Androceo. Seis estambres con filamentos unidos entre sí en la base; idioblastos con rafidios presentes en la porción apical del tejido conectivo sólo en *R. taedigera*. Los filamentos se encuentran insertos por el lado adaxial o ventral de la antera, es decir se encuentran en posición interna en relación con éstas (Figs. 1E y 1D). Polen con superficie rugosa. **Pistilodio.** Se observó únicamente en *R. regalis*.

Raphia regalis

Cáliz: no observado.

Corola: Los pétalos libres. En su base, las células muestran paredes delgadas y homogéneas en forma y tamaño, incluyendo al esclerénquima asociado a los haces vasculares (Fig. 1A). Hacia el ápice, las células son de mayor de tamaño y las paredes de mayor grosor al igual que la cutícula (Figs. 1B y 1C). Mesofilo con hipodermis dorsal compuesta por paquetes de fibras de pocas, a veces muchas células, muy juntas, alternando con células de paredes engrosadas (Figs. 1B y 1C). Hipodermis ventral con dos capas de células de paredes desigualmente engrosadas, predominando el engrosamiento de las radiales y tangenciales externas (Fig. 1B). La parte central del mesofilo está compuesta por células

parenquimáticas de paredes delgadas, con paquetes de fibras alternando con los haces vasculares (Figs. 1B y 1D). Haces vasculares ligeramente alargados en sentido radial, ubicados dorsalmente (Fig. 1B y 1D). Hacia el ápice, también en posición dorsal se observan tres o cuatro haces vasculares, con tejido esclerenquimático asociado, pero menos abundante que en la base.

Estambres: Anteras y filamentos con tejido colapsado (no se logró su hidratación completa), en el interior de las tecas se observan abundantes granos de polen pequeños (Fig. 1E).

Pistilodio: Estructura compuesta por tres lóbulos unidos en su base, en el ápice libres entre sí, con una hendidura ventral y tejido central parenquimático (Fig. 1F).

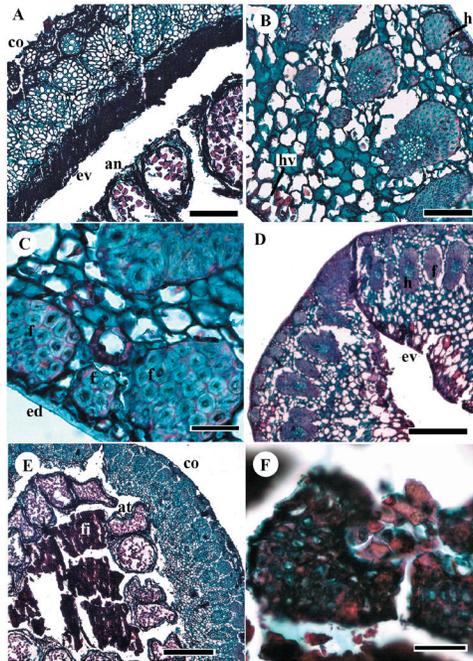


Fig. 1. Sección transversal de la flor estaminada de *Raphia regalis*. A. Base de la corola y androceo. B. Porción media de la corola. C. Detalle dorsal de la porción media de la corola. D. Porción apical de la corola. E. Flor en la porción media-basal. F. Parte del pistilodio. (an) androceo, (at) antera, (co) corola, (ed) epidermis dorsal, (ev) epidermis ventral, (f) paquete de fibra, (fi) filamento, (h) haz vascular, (hd) hipodermis dorsal, (hv) hipodermis ventral. Barras: A y B: 100 μ m; C y F: 30 μ m; D y E: 300 μ m

Raphia taedigera

Cáliz. Epidermis dorsal con células de paredes ligeramente engrosadas, a excepción de la pared superficial y la cutícula, que presentan un grosor mayor. Epidermis ventral con células de paredes delgadas (Figs. 2A y 2C). Mesofilo con hipodermis dorsal constituida por células pequeñas, redondeadas y con engrosamientos de paredes en “u” (Figs. 2A, 2B y 2C), es decir, con todas las paredes engrosadas menos las tangenciales internas; subapicalmente, estas células alternan con paquetes de fibra de pocas células. Hipodermis ventral con células pequeñas y paredes con engrosamientos en “u” (Figs. 2A y 2C). El resto del mesofilo presenta células parenquimáticas redondeadas, con paredes engrosadas, en ocasiones delgadas. Haces vasculares pequeños, con abundante esclerenquima asociado. En términos de tamaño, las células y tejidos de los sépalos se mantienen más o menos similares en toda su longitud (Figs. 2A-2C); sin embargo, hacia el ápice los paquetes de fibra subepidérmicos dorsales son más grandes y en la zona ventral las células son más pequeñas y menos alargadas que hacia la base (Fig. 2B).

Corola. Epidermis similar a la del cáliz, hacia la base, la ventral con células ligeramente alargadas en sentido radial (Fig. 2D). Mesofilo con hipodermis dorsal compuesta por paquetes de fibra de pocas células alternando con células de paredes engrosadas homogéneamente y otras de paredes más delgadas (Figs. 2E y 2F); hipodermis ventral con células redondeadas (Figs. 2D y 2E), hacia la porción subapical tienden a ser de mayor tamaño y alargadas radialmente (Fig. 2F). La hipodermis ventral se compone de dos capas de células alargadas en sentido radial, con fuertes engrosamientos en “u” de sus paredes (Figs. 2D-F), la parte central del mesofilo presenta células parenquimáticas de paredes delgadas. Los haces vasculares alternan con paquetes de fibra de pocas células hacia el ápice (Fig. 2E), el tejido conductor es evidente y presenta gran cantidad de tejido esclerenquimático asociado, sobre todo en la base, donde los haces vasculares se notan muy próximos (Fig. 2D). En la base de la flor, la sección de los pétalos es delgada y aumenta su grosor hacia el ápice (Figs. 2D y 2F).

Estambres. Anteras maduras (Fig. 3A). Células del exotecio colapsadas (no se hidrataron suficientemente). Se distingue una capa de endotecio (que se conserva debido a los engrosamientos típicos en sus paredes), el cual está constituido por células grandes, cuadrangulares (Fig. 3B). Los granos de polen aparentemente están colapsados y presentan superficie lisa o ligeramente rugosa (Fig. 3B). Tejido conectivo conformado por células redondeadas, con tejido vascular no distinguible y dos o tres idioblastos de mayor tamaño que

las células del endotecio, con rafidios dispuestos longitudinalmente, paralelos al eje mayor del estambre y ubicados apicalmente (Fig. 3C). Los filamentos son triangulares transversalmente (Figs. 3D-3E), están unidos entre sí en la base, dejando unas seis hendiduras. La epidermis está compuesta por células alargadas radialmente, mesofilo de células redondeadas con paquetes de fibra dispersos, sobre todo hacia las epidermis (Fig. 3F). No fue posible distinguir los haces vasculares en esta porción.

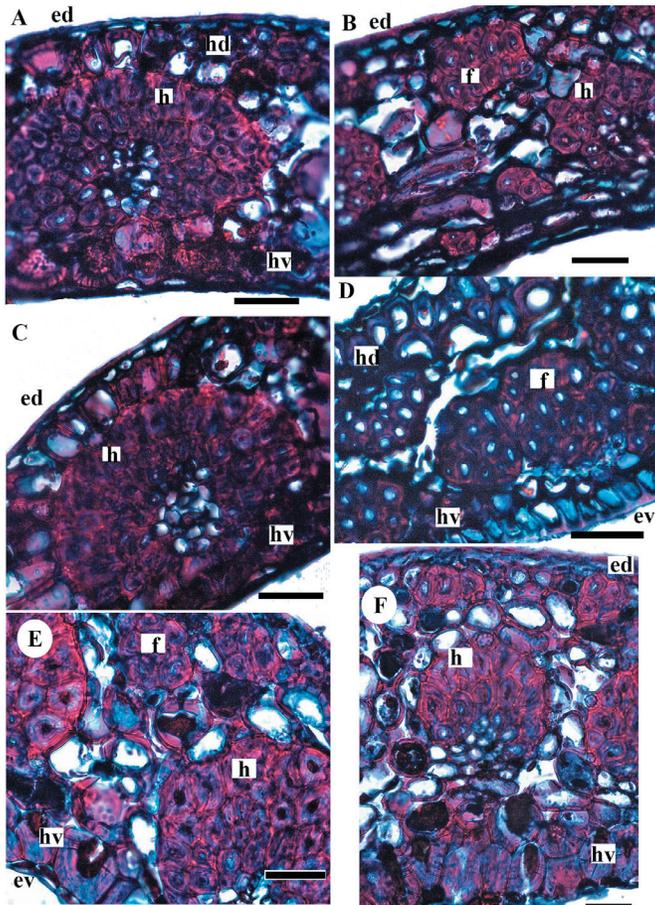


Fig. 2. Sección transversal del perianto de la flor estaminada de *Raphia taedigera*. A. Porción basal del cáliz. B. Porción media del cáliz. C. Porción apical de cáliz. D. Porción basal de la corola. E. Porción media de la corola. F. Porción apical de la corola. (hd) hipodermis dorsal. Barras: 30 μ m.

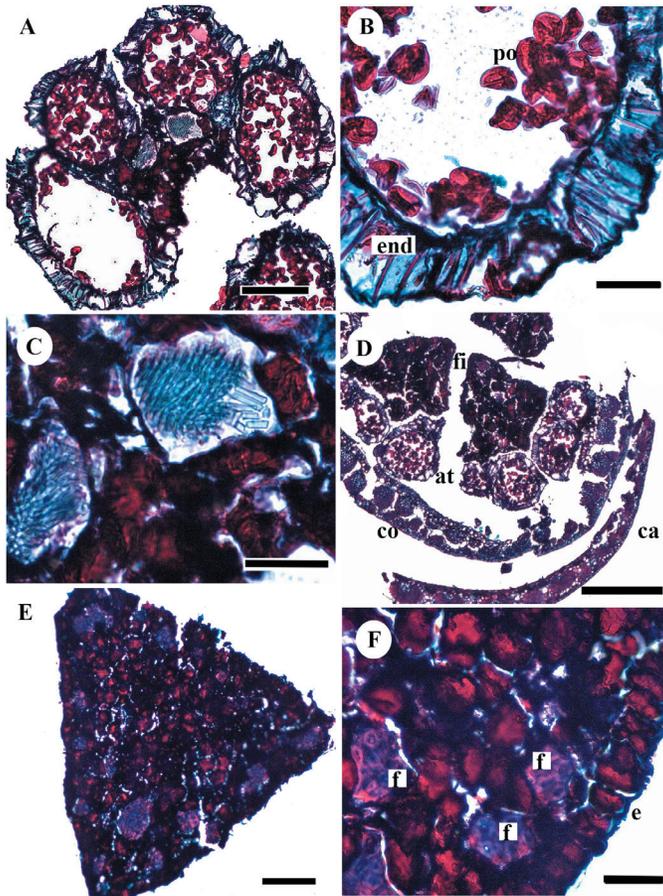


Fig. 3. Sección transversal de la flor estaminada de *R. taedigera*. A. Antera. B. Detalle de la antera con endotecio y polen. C. Tejido conectivo nótese los rafidios. D. Porción media-basal de la flor. E. Filamento estaminales. F. Detalle de un filamento con paquetes de fibras dispersos hacia las epidermis. (ca) cáliz, (end) endotecio, (fi) filamento, (po) polen. Barras: A y E: 100 μ m; B, C y F: 30 μ m; D: 300 μ m.

DISCUSIÓN

Las especies estudiadas tienen una estructura anatómica similar, con abundantes haces vasculares en el perianto, los cuales se encuentran dispuestos muy cercanos entre sí. Únicamente en *R. regalis* se encontró un pistilodio diminuto.

Las ilustraciones de Bosch (1947), evidencian la presencia de pistilodios en las flores estaminadas de *Borassus flabellifer* L., *Salacca affinis* Griff., *Daemorops oblonga* (Reinw. ex Blume) Blume (Calamoideae). Los pistilodios en las flores estaminadas de *Ptychosperma macarthurii* (H. Wendl. ex H.J. Veitch) H. Wendl. ex Hook. f. (Arecoideae) han sido reportados como secretores de néctar (Essig 1973).

La estructura anatómica del perianto en *R. regalis* y *R. taedigera* muestra predominio de tejidos con células engrosadas, principalmente en el mesofilo (hipodermis, paquetes de fibra extra vasculares) y los haces vasculares (esclerénquima asociado), lo cual es congruente con el carácter protector al polen tanto del cáliz como de la corola que se señala para algunas palmas (Dransfield *et al.* 2008). Uhl y Moore (1977) indicaron que este tipo de protección extrema ha sido asociada a la necesidad de solidez y disuasión contra los depredadores durante los largos períodos de exposición de los botones florales en las raquillas.

La hipodermis del perianto es diferente hacia ambas caras, la ventral se compone de células con engrosamientos en “u” y la dorsal por células con paredes homogéneamente engrosadas, alternando con paquetes de fibra. Comparando el perianto con el nomófilo, la hipodermis dorsal es similar a la indicada para la hoja de *Raphia* (Tomlinson 1961). La hipodermis dorsal del perianto de las especies de *Raphia* estudiadas y la de *Lepidocaryum tenue* Mart. es similar, al igual que la presencia de paquetes de fibra en el mesofilo de los filamentos (Guevara *et al.* en preparación). En *Juania australis* (Mart.) Drude ex Hook. f. (Ceroxyloideae) se describió una hipodermis abaxial constituida por esclereidas (Uhl 1969).

El androceo en estas dos especies presenta seis estambres unidos en su base, otras especies de *Raphia* pueden presentar hasta 30 estambres (Dransfield *et al.* 2008). Se encontraron idioblastos con rafidios de gran tamaño, en el tejido conectivo y filamentos de *R. taedigera*. Los rafidios han sido ampliamente reportados en órganos vegetativos (Tomlinson 1961) y en órganos florales de palmas (Uhl y Moore 1977, Henderson y Rodríguez 1999, Stauffer *et al.* 2002, Stauffer y Endress 2003, Askgaard *et al.* 2008, Giddey *et al.* 2009); sin embargo, Henderson y Rodríguez (1999) no encontraron estas estructuras en los estambres de *Raphia*. La presencia de rafidios en la parte apical del tejido conectivo en flores de Araceae ha sido relacionada con la protección del polen en desarrollo (Coté y Gibernau 2012).

Los estudios sobre estructura floral encontrados para los miembros de la subfamilia Calamoideae son escasos (Bosch 1947), otros se limitan al gineceo y los óvulos (Van Heel 1977, 1988, Guevara *et al.* 2010), por lo que se hace difícil

la comparación con otras especies dentro de la subfamilia. Sin embargo, se encontró que las especies de *Raphia* estudiadas presentan algunas afinidades con *Lepidocaryum tenue* (Calamoideae, Mauritiinae) en características hipodérmicas del perianto y paquetes de fibra en los filamentos (Guevara *et al.* en preparación).

AGRADECIMIENTOS

Al CDCH-UCV por el financiamiento PI-010057812005. Al Dr. Gustavo Romero, por permitirnos acceder a la colección de palmas del Gray Herbarium. A la Señora Norbelys Garcés por su asesoramiento y ayuda con los cortes anatómicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Askgard, A., F. Stauffer, D. Hodel and A. Barfod. 2008. Floral structure in the neotropical palm genus *Chamaedorea* (Arecoideae, Arecaceae). *Anales Jard. Bot. Madrid.* 65: 197-210.
- Asmussen C.B., J. Dransfield, I. Deickmann, A.S. Barfod, J.C. Pintaud and W.J. Baker. 2006. A new subfamily classification of the palm family (Arecaceae): evidence from plastid DNA phylogeny. *Bot. J. Linn. Soc.* 151: 15-38.
- Baker, W., J. Dransfield, M. Harley and A. Bruneau. 1999. Morphology and cladistic analysis of subfamily Calamoideae (Palmae). *In: A. Henderson and F. Borschenius (Eds.). Evolution and classification of palms.* Vol. 83. *Mem. New York Bot. Gard* 307-324. The New York Botanical Garden Press. United States of America. 324 p.
- Baker, W., J. Dransfield and T. Hedderson. 2000a. Phylogeny, character evolution, and a new classification of the calamoid palms. *Syst. Bot.* 25: 297-322.
- Baker, W., T. Hedderson and J. Dransfield. 2000b. Molecular phylogenetics of subfamily Calamoideae (Palmae) based on nrDNA ITS and cpDNA rps16 intron sequence data. *Molec. Phyl. Evol.* 14: 195-217.
- Bosch, E. 1947. Blütenmorphologische und zytologische Untersuchungen an Palmen. *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* 57: 37-100.

- Coté, G.G and M. Gibernau. 2012. Distribution of calcium oxalate crystals in floral organs of Araceae in relation to pollination strategy. *Am. J. Bot.* 99: 1231-1242.
- Dransfield, J. , N.W. Uhl, C.B. Asmussen, W.J. Baker, M.M. Harley and C.E. Lewis. 2005. A new phylogenetic classification of the palm family, *Arecaceae*. *Kew Bull.* 60: 559-569.
- Essig, F.B. 1973. Pollination in some New Guinea palms. *Principes* 17: 75-83.
- Giddey, A., R.E Spichiger and F. Stauffer. 2009. Comparative floral structure and systematics in the Asian palm genus *Rhapis* (*Arecaceae*, *Coryphoideae*). *Flora* 204: 347-357.
- Guevara, L., P.J. Rudall, F. Stauffer y D. Jáuregui. 2010. Estructura y desarrollo de las escamas en el ovario de *Mauritia flexuosa* L. f. (*Arecaceae*, *Calamoideae*, *Mauritiinae*). *Ernstia* 20: 159-167.
- Henderson, A. and D. Rodriguez. 1999. Raphides in palm anthers. *Acta Bot. Venez.* 22: 45-55.
- Johansen, D. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill. New York, USA. 523 p.
- Johnson, D.V. 2010. *Tropical Palms. Non-wood forest products* 10. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Rome, Italy. 252 p.
- Stauffer, F., R. Rutishauser and P. Endress. 2002. Morphology and development of the female flowers in *Geonoma interrupta* (*Arecaceae*). *Am. J. Bot.* 89: 220-229.
- Stauffer, F. and P. Endress. 2003. Comparative morphology of female flowers and systematics in *Geonomeae* (*Arecaceae*). *Plant. Syst. Evol.* 242:171-203.
- Tomlinson, P. 1961. *Anatomy of the monocotyledons. II. Palmae*. Clarendon Press, Oxford, England. 453 p.
- Uhl N.W. 1969. Floral anatomy of *Juania*, *Ravenea*, and *Ceroxylon* (*Palmae-Arecoideae*). *Gentes Herb.* 10: 394-411.
- Uhl N.W. and H.E. Moore. 1977. Correlation of inflorescence, flower structure, and floral anatomy with pollination in some palms. *Biotropica* 9: 170-190.
- Van Heel, W.A. 1977. On the morphology of the ovules. *Blumea* 23: 371-375.
- Van Heel, W.A. 1988. On the development of some gynoecia with septal nectaries. *Blumea* 33: 477-504.