

## OBSERVACIONES MORFOLÓGICAS Y ANATÓMICAS EN NÚCULAS DE ROSMARINUS L. (LAMIACEAE) EN EL SUROESTE DE ESPAÑA

M<sup>a</sup> A. MARTÍN MOSQUERO, J. PASTOR & R. JUAN

Dpto. de Biología Vegetal y Ecología. Apto. 1045, 41080 Sevilla

(Recibido el 17 de Febrero de 2006)

**Resumen.** Se describe la micromorfología y anatomía de núculas de *Rosmarinus* en el suroeste de España, tanto al microscopio óptico como al electrónico de barrido. Caracteres como el hilo, la morfología de células con y sin mucílago, o el tamaño de las células y disposición de los cristales en la capa interna del mesocarpo, permiten una diferenciación clara de otros géneros de *Lamiaceae*. Finalmente se habla acerca de la dispersión de las núculas.

**Summary.** The micromorphology and anatomy of nutlets of *Rosmarinus* from the SW of Spain are described using light and scanning electron microscope. Features such as the hilum, the morphology of cells with and without mucilage, or the size of the cells and layout of the crystals in the inner layer of the mesocarp, allows a clear differentiation with other genera of *Lamiaceae*. Lastly the dispersal system of nutlets is discussed.

### INTRODUCCIÓN

El género *Rosmarinus* presenta un área de distribución centrada en el Mediterráneo (ROSÚA, 1985; HARLEY & al., 2004). Además de las especies consideradas tradicionalmente en la Península Ibérica -*R. officinalis* y *R. eriocalyx*- (AMARAL-FRANCO & ROCHA AFONSO, 1972), un estudio posterior del complejo *eriocalyx-tomentosus* (ROSÚA, 1981), así como una revisión de este género en el Mediterráneo occidental (ROSÚA, 1986), ponen de manifiesto que *R. tomentosus*, descrito por MAIRE & HUBER-MORATH (1940, sec. ROSÚA, 1986), es claramente diferenciable de *R. eriocalyx*, por lo que serían tres las especies a considerar. De estos taxones, *R. officinalis* es el más ampliamente distribuido, llegando a la zona occidental de Andalucía. A pesar de que dicha especie se diferencia claramente de las otras, hay que tener en cuenta la variabilidad observada en su hábito, relacionada con su gran capacidad de adaptación a distintas condiciones ambientales (ROSÚA, 1986).

Son arbustos con hojas sentadas, persistentes, algo coriáceas y revolutas. Flores pediceladas, dispuestas en racimos de verticilastros bracteados paucifloros. Cáliz campanulado, bilabiado, con labio superior entero e inferior bilobado. Corola violácea, bilabiada, con el labio superior bífido, marcadamente cóncavo y el inferior trilobado. Androceo con 2 estambres exertos, un pequeño diente cerca de la base y anteras monotécicas. Estilo curvado, más largo que los estambres.

*Rosmarinus officinalis* ha sido utilizado desde muy antiguo como planta medicinal y para la obtención de aceites esenciales (FONT QUER, 1980). Además, debido a la gran cantidad de néctar que produce es considerada una de las plantas nectaríferas más importantes del matorral Mediterráneo (ZER & FAHN, 1992).

Desde un punto de vista taxonómico, además de las revisiones mencionadas anteriormente, también hay que destacar la realizada por TURRIL (1920) en la que reconocía la existencia de 11 taxones para el género, la mayoría de ellos considerados actualmente como variedades y formas de *R. officinalis* para distintas zonas.

Además, también merecen mención las aportaciones que hace ROSÚA (1985, 1987) sobre la citología y palinología del género, respectivamente, o la de ÜBERA & HIDALGO (1992) sobre la ginodioecia observada en *R. officinalis*. Desde un punto de vista ecológico habría que resaltar el trabajo de MERINO & GARCÍA NOVO (1975) donde se estudia la relación existente entre el contenido en minerales encontrado en plantas de *R. officinalis* pertenecientes a distintas poblaciones y el tipo de sustrato en el que éstas se encuentran.

En cuanto a las núculas, únicamente destacar los trabajos de WAGNER (1914), FABRE & NICOLI (1965) y WOJCIECHOWSKA (1966) donde se analizan distintos aspectos de la morfología y anatomía de las mismas en material europeo de *R. officinalis*.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El material recolectado se fijó en FAA durante un mínimo de 24 horas, y posteriormente se pasó a etanol al 70% que actuó como líquido conservante hasta su análisis. El origen de las muestras estudiadas se indica en el apéndice, y los testigos se encuentran en el Herbario de la Universidad de Sevilla (SEV).

El estudio morfológico se realizó con núculas maduras, fijadas y sometidas a punto crítico. El material se montó en portas utilizando adhesivo de doble cara. Seguidamente se metalizó con oro-paladio y posteriormente se examinó con un microscopio electrónico de barrido (M.E.B.) Philips LX-30. Los datos sobre longitud y anchura se basan en un muestreo de 180 núculas.

Para el estudio anatómico también se utilizaron núculas maduras fijadas, que posteriormente fueron deshidratadas mediante la serie de alcohol butílico terciario (JOHANSEN, 1940). A continuación, fueron incluidas en parafina y se cortaron a 9 – 12 µm de grosor. Una vez montadas las secciones, se trataron con safranina alcohólica al 1%, que tiñe de rojo las capas con presencia de lignina, y fast-green alcohólico al 0,1%, que tiñe de verde las capas con celulosa o hemicelulosa. Posteriormente se montaron de modo permanente para su posterior observación al microscopio óptico (M.O.) El esquema del cortes anatómico se ha realizado con ayuda de una cámara clara.

Para el estudio del mucílago se utilizaron núculas que fueron colocadas, durante un máximo de 48 horas, en cámara húmeda y sometidas al “Test del agua destilada” (ALBURQUERQUE & ANDRADE, 1998). Posteriormente fueron sometidas a una solución de fast-green (0,1%) en alcohol de 70° durante unos segundos, lo que tiñó li-

geramente el mucílago y permitió medir el grosor del halo. Se midieron 25 núculas por taxón. También se tomaron muestras del mucílago, se montaron en un portaobjetos sobre el que se colocó un cubreobjetos previamente humedecido con una gota de agua destilada, y se analizaron las preparaciones con ayuda del M. O.

Para la terminología se ha seguido principalmente a STEARN (1992) y FONT QUER (1993).

#### *Material estudiado.*

**Córdoba.** Alrededores de Villaviciosa de Córdoba, 21.IV.1996, *Martín Mosquero, Ocaña y Rojas* (SEV 153334). Entre Rute y Carcabuey, arroyo Fuente las Cañas, 15.V.1996, *Martín Mosquero y Ocaña* (SEV 153342). **Huelva.** Entre Matalascañas y Mazagón, pinares, 4.III.1996, *Juan, Martín Mosquero y Ocaña* (SEV 153295). Entre Hinojos y El Rocío, pinares, 25.III.1996, *Martín Mosquero y Ocaña* (SEV 153320). **Sevilla.** Entre Villanueva del Rey y Pruna, 18.III.1996, *Martín Mosquero y Ocaña* (SEV 153312). Entre Lora del Río y Constantina, 12.IV.1996, *Martín Mosquero y Ocaña* (SEV 153327).

## RESULTADOS

### **Rosmarinus officinalis L.**

*Núculas* de 1.4 - 2.0 x 0.6 - 1.2 mm, leñosas. De ligeramente obovoideas a elipsoideas. Ápice y base redondeados. Hilo de contorno obovado a subtriangular, ocupando aproximadamente 1/2 de la cara ventral, con una prominencia central ligeramente crateriforme. De color pardo-oscuro; brillante. Simetría dorsiventral. Superficie rugosa, formada por células poligonales, de tamaño variable y con paredes radiales de no visibles a superficiales y tangencial externa lisa o ligeramente estriada (Fig. 1 A-D).

*Pericarpo* de 127 - 187  $\mu\text{m}$  de grosor. Epicarpo de 35 - 60  $\mu\text{m}$ , formado por una capa en la que se distinguen dos tipos de célula: unas de mayor tamaño, con paredes delgadas y contenido mucilaginoso, entre las que pueden disponerse las no mucilaginosas, estrechas, osiformes e intensamente teñidas; cutícula de 2 - 4  $\mu\text{m}$  de grosor. Mesocarpo de 43 - 62  $\mu\text{m}$ , donde se distinguen dos regiones: la más externa de 35- 50  $\mu\text{m}$ , formada por 2 - 5 capas de células parenquimáticas, irregulares, intensamente teñidas y de paredes delgadas, y la más interna de aproximadamente 8 - 12  $\mu\text{m}$ , formada por una capa de células con la pared tangencial interna cóncava, cubierta de cristales de 2 - 3  $\mu\text{m}$  de diámetro. Capa en empalizada de 42 - 55  $\mu\text{m}$ , constituida por esclereidas alargadas radialmente, de paredes engrosadas y con un lumen central ancho e irregular. Endocarpo de aproximadamente 5-6  $\mu\text{m}$  de grosor, formado por una capa de células más o menos rectangulares, de paredes delgadas, con gránulos intensamente teñidos (Fig. 2).

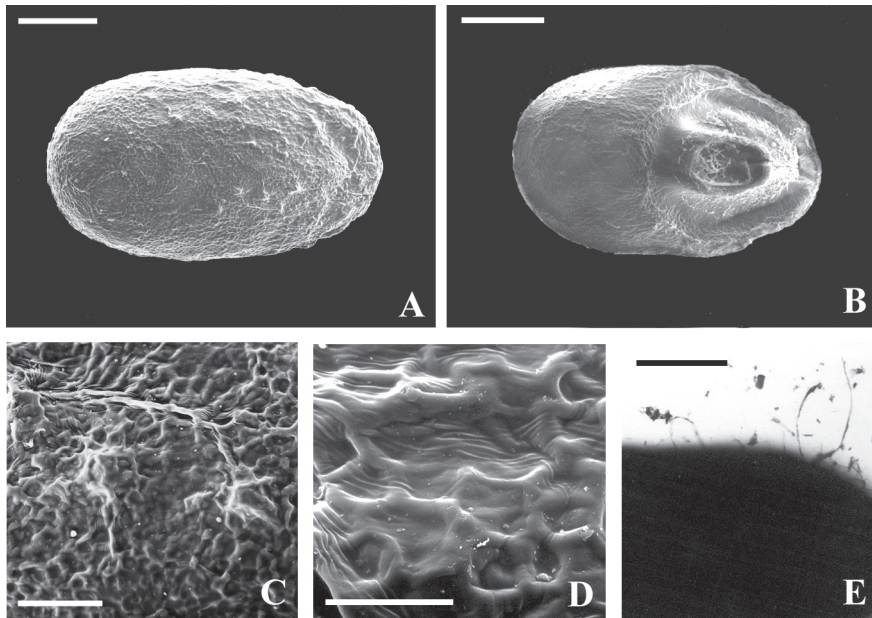


Fig. 1. *Rosmarinus officinalis*. A, contorno dorsal; B, contorno ventral; C, D, detalle de la superficie; E, detalle del mucílago. Escalas: 500  $\mu\text{m}$  (A, B, E); 100  $\mu\text{m}$  (C); 50  $\mu\text{m}$  (D).

*Testa* de aproximadamente 5-6  $\mu\text{m}$ , formada por una capa de células más o menos rectangulares, intensamente teñidas y de paredes delgadas (Fig. 2).

*Mucílago* continuo, formando un halo muy transparente, consistente y homogéneo de 0.7 - 0.8 (1) mm. Matriz mucilaginoso con espinas patentes, hebras helicoidales, elementos discoidales y elementos peltados (Fig. 1 E).

## DISCUSIÓN

De acuerdo con WAGNER (1914), FABRE & NICOLI (1965) y WOJCIECHOWSKA (1966) la morfología y la anatomía de las núculas en *R. officinalis* permiten una diferenciación clara de este taxón con respecto a las restantes *Lamiaceae*.

Desde un punto de vista morfológico, la superficie en *R. officinalis* es rugosa, si bien autores como FABRE & NICOLI (1965) y WOJCIECHOWSKA (1966), al no utilizar el M.E.B. en sus respectivos estudios, la definen como lisa. Del hilo destaca la prominencia central crateriforme no observada en otros géneros de *Lamiaceae*. En cuanto al tamaño de las núculas, teniendo en cuenta los resultados obtenidos y los aportados por los autores citados anteriormente parece existir cierta variabilidad, observándose una tendencia a que las núculas sean más pequeñas en el área de estudio (< 2 mm) frente hasta los 3 mm que alcanzan en otras zonas. Este fenómeno podría

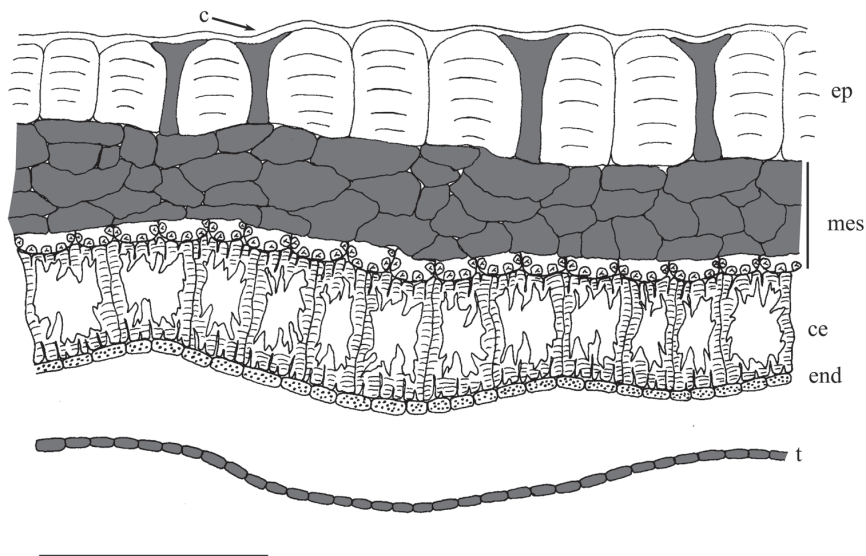


Fig. 2. Esquema de la estructura anatómica del pericarpo de *Rosmarinus officinalis*. c: cutícula; ep: epidermis; mes: mesocarpo; ce: capa en empalizada; end: endocarpo; t: testa. Escala: 100  $\mu$ m.

estar relacionado con las condiciones ambientales propias del suroeste peninsular, donde las temperaturas elevadas junto a una escasa precipitación harían que las núculas no crecieran tanto, como observarían HARPER & al. (1970) en las semillas de *Linum usitatissimum*, *Vicia faba*, o *Avena sativa* entre otras.

Por otro lado, las núculas de este taxón se identifican con facilidad teniendo en cuenta algunos caracteres como la morfología de las células mucilaginosas y no mucilaginosas presentes en el epicarpo, la diferenciación del mesocarpo en dos regiones, y el tamaño del lumen de las esclereidas de la capa en empalizada. Así, aunque es frecuente la presencia de células con y sin mucílago en el epicarpo de numerosas *Lamiaceae*, el patrón observado en *R. officinalis* en el que las células no mucilaginosas son estrechas, muy teñidas y escasas, no coincide con la de otros géneros de esta familia (WAGNER, 1914; WOJCIECHOWSKA, 1958, 1961a, b, 1966, 1972; RYDING, 1995). En cuanto al mesocarpo, la zona interna constituida por una capa de células con cristales sobre las paredes tangenciales inferiores, lo asemeja a otros géneros de *Lamiaceae* como *Salvia* o *Lophanthus*, si bien tanto el tamaño de las células como el tamaño y disposición de los cristales varían en los distintos géneros (WAGNER, 1914). Por último, aunque a nivel de familia es bastante normal la presencia de una capa de esclereidas en empalizada limitando con el endocarpo, éstas suelen tener un lumen más pequeño que el observado en *R. officinalis*, al menos cuando se sitúa en la zona central (WAGNER, 1914; WOJCIECHOWSKA, 1958, 1961a, b, 1966, 1972; RYDING, 1995). No obstante, WOJCIECHOWSKA (1966) no observó ni las células no mucilaginosas, ni la zona inferior del mesocarpo en las poblacio-

nes estudiadas de *R. officinalis* procedentes de Europa meridional. Estas características junto a un grosor superior de la capa de esclereidas en empalizada, indicado por dicha autora, podrían ser atribuidas a la gran variabilidad que muestra esta especie en general.

Aunque hay autores como HARLEY & al. (2004) que indican la ausencia de mucílago, de acuerdo con WAGNER (1914), GRUBERT (1974, 1981) y RYDING (1992a), y tras la hidratación de las núculas de *R. officinalis* se confirma su carácter mucilaginoso. Sin embargo, en las poblaciones estudiadas, el halo de mucílago puede alcanzar hasta 1 mm de grosor, por lo que podría ser considerada como una reacción moderada, a diferencia de las observaciones de RYDING (1992a) que la califican como débil debido a que no supera 0.1 mm. De nuevo, estas diferencias ponen de manifiesto la variabilidad mostrada por esta especie, probablemente relacionada con el hábitat en el que viven, como ya destacaran HEDGE (1970) y RYDING (1992b) para otros taxones de *Lamiaceae*.

En cuanto a la dispersión y tras la caída de las núculas al suelo por su propio peso (barocoria), lo normal es que éstas sean dispersadas por las hormigas (BOUMAN & MEEUSE, 1992), aunque en el material estudiado no se ha observado la existencia de eleosoma u otra estructura similar. Por otra parte, al igual que en otros géneros (GRUBERT, 1974; PIJL, 1982; RYDING, 1992a), la excreción de mucílago confiere a la núcula ventajas tanto para la dispersión como para la germinación.

**Agradecimientos.** Los autores agradecen a Dña. A. Fernández (S.M.E.) la preparación de las muestras en punto crítico, y al Dpto. de Biología del Desarrollo de la Facultad de Medicina de Sevilla las facilidades prestadas para el uso del microtomo de parafina y la cámara de vacío.

## BIBLIOGRAFÍA

- ALBURQUERQUE, U. P. & L. C. ANDRADE (1998). El género *Ocimum* L. (Lamiaceae) en el nordeste del Brasil. *Anales Jard. Bot. Madrid* **56**: 43 - 64.
- AMARAL FRANCO, J. DO & M. L. DA ROCHA AFONSO (1972). *Rosmarinus*. In T. G. TUTIN & al. (eds.), *Flora Europaea*, vol. **3**. Cambridge University Press. Cambridge.
- BOUMAN, F. & A. D. J. MEEUSE (1992). Dispersal in Labiatae. In R. M. HARLEY & T. REYNOLDS (eds.), *Advances in Labiatae Science*, pp. 193 - 202. Royal Botanic Gardens. Kew.
- FABRE, G. & R. M. NICOLI (1965). Sur la morphologie des akènes de quelques Labiées de la flore de France. Intérêt systematique de cette étude. *Bull. Soc. Bot. France* **112**: 267 - 271.
- FONT QUER, P. (1980). *Plantas Medicinales (El Dioscórides Renovado)*. 6ª edición. Labor. Barcelona.
- (1993). *Diccionario de Botanica*. Labor. Barcelona
- GRUBERT, M. (1974). Studies on the distribution of myxospermy among seeds and fruits of Angiospermae and its ecological importance. *Acta Biol. Venez.* **8**: 315 - 551.
- (1981). *Mucilage or gum in seeds and fruits of angiosperms*. Minerva Publikation. München.
- HARLEY, R. M., S. ATKINS, A. L. BUDANTSEV, P. D. CANTINO, B. J. CONN, R. GRAYER, M. M. HARLEY, R. DE KOK, T. KRESTOVSKAJA, R. MORALES, A. J. PATON, O. RYDING & T. UPSON (2004). Labiatae. In J. W. KADERIT (ed.), K. KUBITZKI (ed. in chief). *The families and genera of vascular plants VII. Flowering plants. Dicotyledons: Lamiales (except Acanthaceae including Avicenniaceae)*, pp 167-275. Springer. Berlin.

- HARPER, J. L., P. H. LOVELL & K. G. MOORE (1970). The shapes and sizes of seeds. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **1**: 327 - 356.
- HEDGE, I. C. (1970). Observations on the mucilage of *Salvia* fruits. *Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh* **30**: 79 - 95.
- JOHANSEN, D. A. (1940). *Plant microtechnique*. MacGraw-Hill Book Company. New York.
- MERINO, J. & F. GARCÍA NOVO (1975). Ordenación de poblaciones de *Rosmarinus officinalis* L. por su composición mineral, empleando técnicas de análisis factorial. *Anal. Inst. Bot. Cavanilles* **32**: 521 - 536.
- PIJL, L. Van Der (1982). *Principles of Dispersal in Higher Plants*. Springer-Verlag, Berlín.
- ROSÚA, J. L. (1981). El complejo *Rosmarinus eriocalyx-tomentosus* en la Península Ibérica. *Anales Jard. Bot. Madrid* **37**: 587 - 595.
- (1985). Notas cariosistémicas del género *Rosmarinus* L. (Lamiaceae) en la Península Ibérica. *Anales Jard. Bot. Madrid* **42**: 93 - 99.
- (1986). Contribución al estudio del género *Rosmarinus* L. en el Mediterráneo Occidental. *Lagascalía* **14**: 179 - 187.
- (1987). Estudio palinológico del género *Rosmarinus* L. (Labiatae). *An. Asoc. Palinol. Leng. Esp.* **3**: 13 - 17.
- RYDING, O. (1992a). The distribution and evolution of myxocarpy in Lamiaceae. In R. M. HARLEY & T. REYNOLDS (eds.), *Advances in Labiatae Science*, pp. 85 - 96. Royal Botanic Gardens. Kew.
- (1992b). Pericarp structure and phylogeny within Lamiaceae subfamily Nepetoideae. *Nordic J. Bot.* **12**: 273 - 298.
- (1995). Pericarp structure and phylogeny of the Lamiaceae-Verbenaceae-complex. *Pl. Syst. Evol.* **198**: 101 - 141.
- STEARNS, W. T. (1992). *Botanical Latin*. David & Charles Book. Newton Abbott. London.
- TURRILL, W. B. (1920). The genus *Rosmarinus*. *Kew Bull.* 105 - 107.
- ÜBERA, J. L. & P. J. HIDALGO (1992). Temporal gynodioecy in *Rosmarinus officinalis*. In R. M. HARLEY & T. REYNOLDS (eds.), *Advances in Labiatae Science*, pp. 281 - 289. Royal Botanic Gardens. Kew.
- WAGNER, S. (1914). *Contribution à l'étude anatomique du fruit des Labiées*. Thèse. Université de Paris.
- WOJCIECHOWSKA, B. (1958). Taxonomy, morphology and anatomy of fruits and seeds in the genus *Salvia* L. *Monogr. Bot.* **6**: 3 - 56.
- (1961a). Fruits of the Middle European species of the genus *Prunella* L. (Labiatae), their morphology and anatomy. *Monogr. Bot.* **12**: 49 - 88.
- (1961b). Fruits in the Middle European species of some genera of Stachyoideae. *Monogr. Bot.* **12**: 89 - 120.
- (1966). Morphology and anatomy of fruit and seeds in the family Labiatae with particular respect to medicinal species. *Monogr. Bot.* **21**: 3 - 244.
- (1972). Fruit morphology and anatomy in *Scutellaria*, *Chayturus*, *Galeobdolon* and *Sideritis* of the family Labiatae. *Monogr. Bot.* **37**: 137 - 169.
- ZER, H. & A. FAHN (1992). Floral nectaries of *Rosmarinus officinalis* L. Structure, ultrastructure and nectar secretion. *Ann. Bot.* **70**: 391 - 397.