

## Caracterización anatómica ultraestructural de las variantes “Atlántica”, “Sur” y “Cebolla” del bambú, *Guadua angustifolia* (Poaceae: Bambusoideae), en Costa Rica

Mayra Montiel<sup>1,2</sup>, Víctor M. Jiménez<sup>3</sup> & Eric Guevara<sup>3</sup>

- 1 Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Escuela de Zootecnia, Universidad de Costa Rica. Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, San Pedro de Montes de Oca. Apdo. Postal 2060, San José, Costa Rica; mmontiel@cariari.ucr.ac.cr
- 2 Centro de Investigación en Estructuras Microscópicas (CIEMIC), Universidad de Costa Rica. Apdo. Postal 2060, San José, Costa Rica. Fax: (506) 207-3182.
- 3 Centro de Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS), Universidad de Costa Rica. Apdo. Postal 2060, San José, Costa Rica.

Recibido 15-VI-2006. Corregido 15-VII-2006. Aceptado 20-VIII-2006.

**Abstract:** We present an ultrastructural characterization of three variants or “forms” of *Guadua angustifolia* and of the closely related *Guadua* sp., from Costa Rican populations. Their ultrastructure is similar. Differences are: the absence of trichomes in the abaxial epidermis of leaf lamina in “Cebolla” and hook-shaped trichomes in the lamina of *Guadua* “Sur” or “Mansa”. Trichomes were bicellular in “Atlántica” or “Brava”. In the adaxial section of the culm sheaths, “Cebolla” lacks trichomes, “Sur” has abundant and long unicellular trichomes, and “Atlántica” has scarce trichomes (trichomes are an important taxonomic characteristic for differentiation of bamboo variants, and they facilitate genotype identification). The bulliform cells present the following variation: large and segmented in *G.* “Cebolla”; of medium size in *G.* “Sur”, and thin and grouped in *G.* “Atlántica”. Rev. Biol. Trop. 54(Suppl. 2): 1-12. Epub 2006 Dec. 01.

**Key words:** *Guadua angustifolia* forms, ultrastructure, morphology, anatomy comparison, diversity.

Los bambúes no habitan solamente las selvas tropicales húmedas del mundo, sino que es posible encontrarlos tanto en los bosques andinos a 4 300 msnm, como en las sabanas brasileñas “cerrado”, con un clima semihúmedo, notablemente estacional y con una baja pluviosidad anual (800-1 600 mm) (Judziewicz *et al.* 1999). Debido a su gran diversidad biológica son muy útiles para casi todas las actividades humanas, y por su importancia económica son motivo de estudio desde hace milenios en Asia, y más recientemente en América.

De las nueve subtribus que constituyen la tribu Bambuseae, cuatro son únicas en el continente americano: Arthrostylydiinae, Chusqueinae, Guaduiniae y Neurolepidinae, mientras que la subtribu Arundinariinae

es común para el nuevo y viejo mundo (Londoño 1990).

Dentro de la subtribu Guadinae, el género *Guadua* es el más representativo y el de mayor impacto en las actividades humanas, ya que reúne las especies más grandes y de mayor importancia económica de la América Tropical (Londoño 2002). Este género cuenta con más de treinta especies, que se distribuyen desde México hasta Argentina, y que se encuentran desde elevaciones bajas hasta 2 000 msnm (Judziewicz *et al.* 1999). Su distribución geográfica está relacionada principalmente con la temperatura, ya que no tolera periodos prolongados de temperaturas muy frías (Londoño 2002).

Dentro de las especies del género *Guadua*, *Guadua angustifolia* Kunth es una de las más

cultivadas, particularmente en Colombia, en donde el área sembrada es cercana a las 51 000 ha. Grandes extensiones de este bambú ocupan además el suroeste del Amazonas y el noroeste en la conjunción de Brasil, Perú y Bolivia, donde, según el más reciente estudio de satélite y fotografía aérea, el área cubierta es de 180 000 km<sup>2</sup> (Judziewicz *et al.* 1999). En Costa Rica, los cultivos más exitosos de este género están entre los 240 y 500 m de altitud, en zonas con precipitaciones anuales promedio de 3 000-4 000 mm.

Es difícil determinar el origen preciso de las especies y variaciones de *Guadua* presentes en Costa Rica. Se sospecha que algunas fueron importadas directamente de Colombia, Brasil y Perú. Es muy probable que se introdujeran a Costa Rica variaciones morfológicas particulares, conocidas localmente como “cebolla” en Colombia; “atlántica” o “brava” en Costa Rica y Colombia, y “mansa” o “sur” en Colombia y Costa Rica. Estas variantes morfológicas quizás se dan por condiciones edáficas específicas o por otras razones que se encuentran en el campo (McClure 1966).

A pesar de su importancia, son pocos los estudios de anatomía y ultraestructura realizados en el género *Guadua*. Un primer estudio anatómico detallado del culmo, fue realizado por Londoño *et al.* (2002) en *G. angustifolia*. En relación con las hojas, solo Bisen (1999) hace referencia a un breve análisis de la epidermis de la lámina de la hoja de *Guadua*, más con el propósito de diferenciar las especies asiáticas de bambú de las americanas, que de realizar un verdadero estudio sobre el género.

Esta ausencia de estudios ha dificultado una caracterización adecuada de la especie *G. angustifolia*, lo que tampoco permite precisar si las diferentes variaciones de *Guadua* observadas son producto de las condiciones ambientales externas o bien se originan por modificaciones incorporadas de manera permanente en cada una de ellas.

El presente trabajo tiene como fin el realizar una descripción ultraestructural comparativa de las varias formas de *G. angustifolia* encontradas en Costa Rica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron las siguientes partes vegetativas de culmos adultos de tres años: lámina de la hoja, brácteas del culmo y ramas de diferentes variaciones de *G. angustifolia* cultivadas en las siguientes localidades de Costa Rica: Estación Los Diamantes, Guápiles, provincia de Limón (*G. angustifolia* f. “atlántica”) y en la finca de Bryan Erickson, Guápiles (*G. angustifolia* f. “cebolla”) y *G. angustifolia* f. “sur”), ambas localidades a una altitud de 240 msnm. También se tomaron muestras del Jardín Lankester de la Universidad de Costa Rica en Cartago (*Guadua angustifolia* f. “atlántica”) a una altitud de 1 360 msnm.

También se analizó ultraestructuralmente la lámina de la hoja de tres tipos de *Guadua* que todavía no se han clasificado a nivel de especie, pero que parecen estar muy relacionadas con *G. angustifolia* (se denominaron 2, 3 y 4).

A nivel macroscópico, las plantas utilizadas para la recolección de las muestras tenían las siguientes características morfológicas:

**Variación “sur”:** culmos delgados y sin yemas en el tercio central del culmo; altura de los culmos 18-20 m; diámetro 12.5 cm; largo del entrenudo 20 cm.

**Variación “atlántica”:** culmos gruesos con yemas en los tercios superior e inferior; altura de los culmos 20-25 m; diámetro 15 cm; largo del entrenudo 25 cm.

**Variación “cebolla”:** culmos más gruesos que los anteriores, un poco deformes, con yemas sólo en el tercio inferior; altura de los culmos de 25 m o más; diámetro de hasta 20 cm; largo del entrenudo 12 cm.

Las tres variaciones presentan en los nudos inferiores, yemas que producen ramas con múltiples espinas.

Los especímenes se cortaron en fragmentos de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> y se fijaron en una solución de glutaraldehído (2.5%) y paraformaldehído (2%) en amortiguador de fosfato de sodio (0.1 M, pH 7.4) por 24 horas; luego se

lavaron tres veces con el mismo amortiguador, se posfijaron con tetraóxido de osmio (1%) por dos horas, se lavaron nuevamente, esta vez con agua destilada; se deshidrataron utilizando un gradiente ascendente de alcohol etílico (30-100%) y se secaron en terbutanol, por sublimación. Las muestras secas se montaron en bases de aluminio, utilizando un cobertor iónico (Eiko I-D 2) se cubrieron con 30 nm de oro, y se observaron con un microscopio electrónico de barrido (Hitachi S-570).

Para los análisis de madera se utilizaron muestras extraídas de culmos de cuatro años de edad, a los cuales se les realizaron cortes transversales y longitudinales, preparándose para un microscopio electrónico de barrido de la siguiente forma: secciones secas del tejido del culmo de *G. angustifolia* f. "atlántica" no fijados, fueron cortados en planos longitudinales y transversales con un bisturí, luego la superficie del espécimen fue limpiada con una navajilla filosa de una sola hoja con el fin de evitar marcas en la superficie. A las muestras se les realizaron cortes con un micrótopo JB-4, luego se montaron en bases de aluminio y se cubrieron con una aleación de Pt-Pd utilizando un cobertor iónico IB-5, para luego ser observados en un microscopio electrónico de barrido Akashi Model DS-130.

## RESULTADOS

### *G. angustifolia* f. "atlántica"

**Culmo y rama:** El corte transversal de los culmos maduros (madera) de la forma "atlántica" mostró la presencia de haces vasculares de tipo IIB, en bandas bien definidas y con gran cantidad de tejido esclerenquimatoso (Fig. 1A, 1B). En la figura 1C se puede apreciar el detalle de un haz vascular, con vasos del protoxilema, floema, esclerénquima y tejido parenquimatoso. En el corte longitudinal se observa la laguna del protoxilema con dos anillos individuales de soporte (Fig. 1D). Las puntuaciones del parénquima se pueden notar en la figura 1E, mientras que en un corte longitudinal se puede observar

el tejido parenquimatoso alternando con fibras (Fig. 1F).

El corte transversal de la rama (Fig. 2A) tiene la presencia de dos vasos de protoxilema, así como el tejido esclerenquimatoso que lo rodea y el tejido parenquimatoso. El detalle de las puntuaciones escalariiformes de la pared del xilema se observa en la figura 2B.

En la figura 2C se observan los tricomas auriculares de la vaina que recubre el culmo, los cuales se encuentran en grupos de cinco. A mayor magnificación se observan dichos tricomas, que son de tipo espinoso y por lo tanto dan un aspecto áspero (Fig. 2D). Los tricomas del borde de la vaina son unicelulares y gruesos, y dividen la vaina del pseudo pecíolo, además, se observan más grandes conforme se alejan de los tricomas auriculares (Fig. 2E, 2F).

**Lámina foliar:** La epidermis de la zona abaxial tiene la presencia de tricomas unicelulares largos en las zonas costales (Fig. 3A). También es posible apreciar la abundancia de estomas, algunos pequeños tricomas bicelulares, así como células largas con un margen muy ondulado y grueso, y células cortas de sílice y corcho (Fig. 3B).

En la zona adaxial de la lámina, los estomas son escasos con la presencia de cordones formados por células buliformes pequeñas (Fig. 3C, 3D).

**Vaina de la hoja:** Por su parte, la epidermis de la vaina de la hoja presenta estomas (en baja cantidad) y células de sílice (Fig. 3E).

### *G. angustifolia* f. "sur"

En esta forma de *Guadua*, la estructura de los haces vasculares de la rama presentan el mismo tipo (IIB) que el observado en la *Guadua* "atlántica" (Fig. 4A, 4B). En relación con la hoja, la zona abaxial de la lámina (Fig. 4C) es muy similar a la de la *Guadua* "atlántica". Pero a diferencia de esta última, en la forma "sur", se observa un tipo de tricoma unicelular ganchudo y no hay presencia de tricomas unicelulares. Las células largas con sus márgenes ondulados y

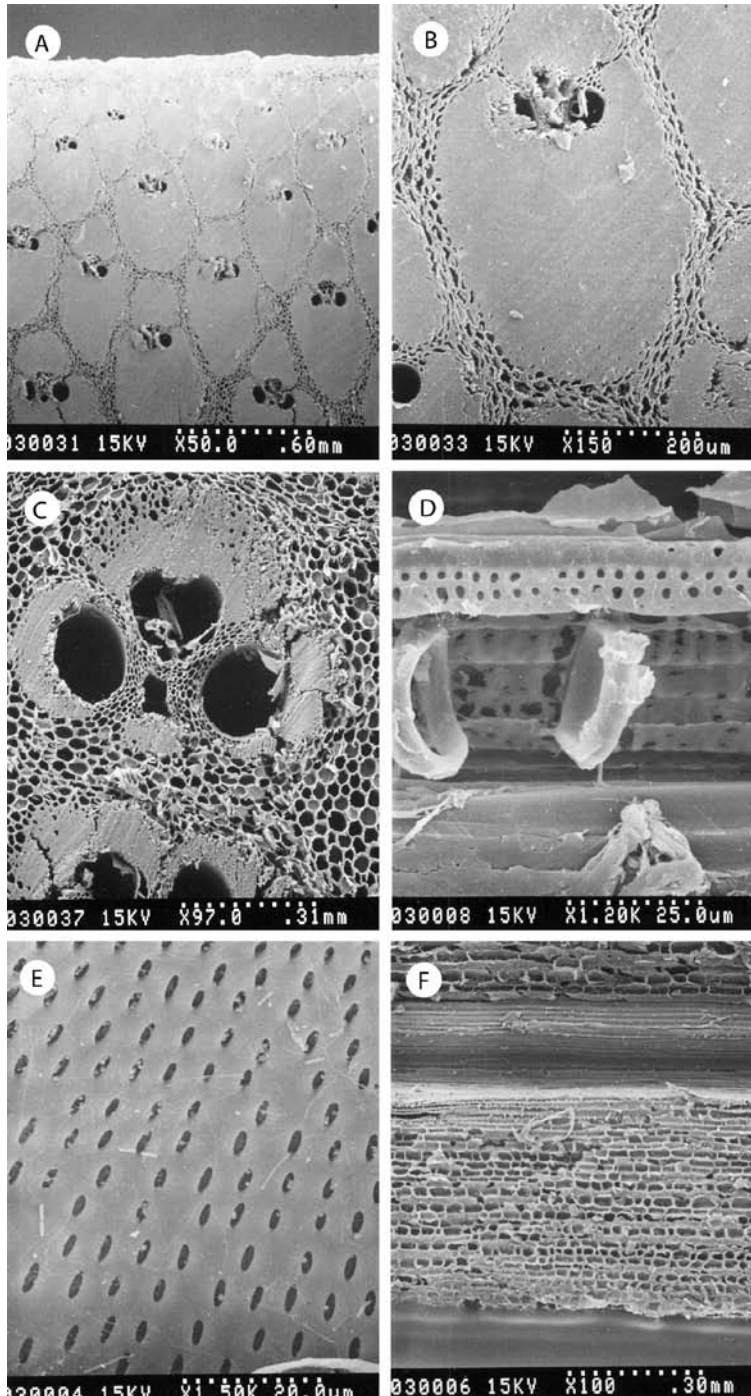


Fig. 1. Ultraestructura de la “madera” del culmo de *G. angustifolia* f. “atlántica”. A. Corte transversal del culmo (4 años de edad) con el ordenamiento de los haces vasculares de tipo IIb. B. Sección aumentada de un haz con la gran cantidad de tejido esclerenquimatoso y parénquima que lo rodea. C. Haz vascular con los vasos de protoxilema, una sección de floema y tejidos esclerenquimatoso y parenquimatoso D. Lacuna del protoxilema con dos anillos individuales de soporte. E. Puntuaciones de la pared del parénquima. F. Corte longitudinal con fibras y tejido parenquimatoso.

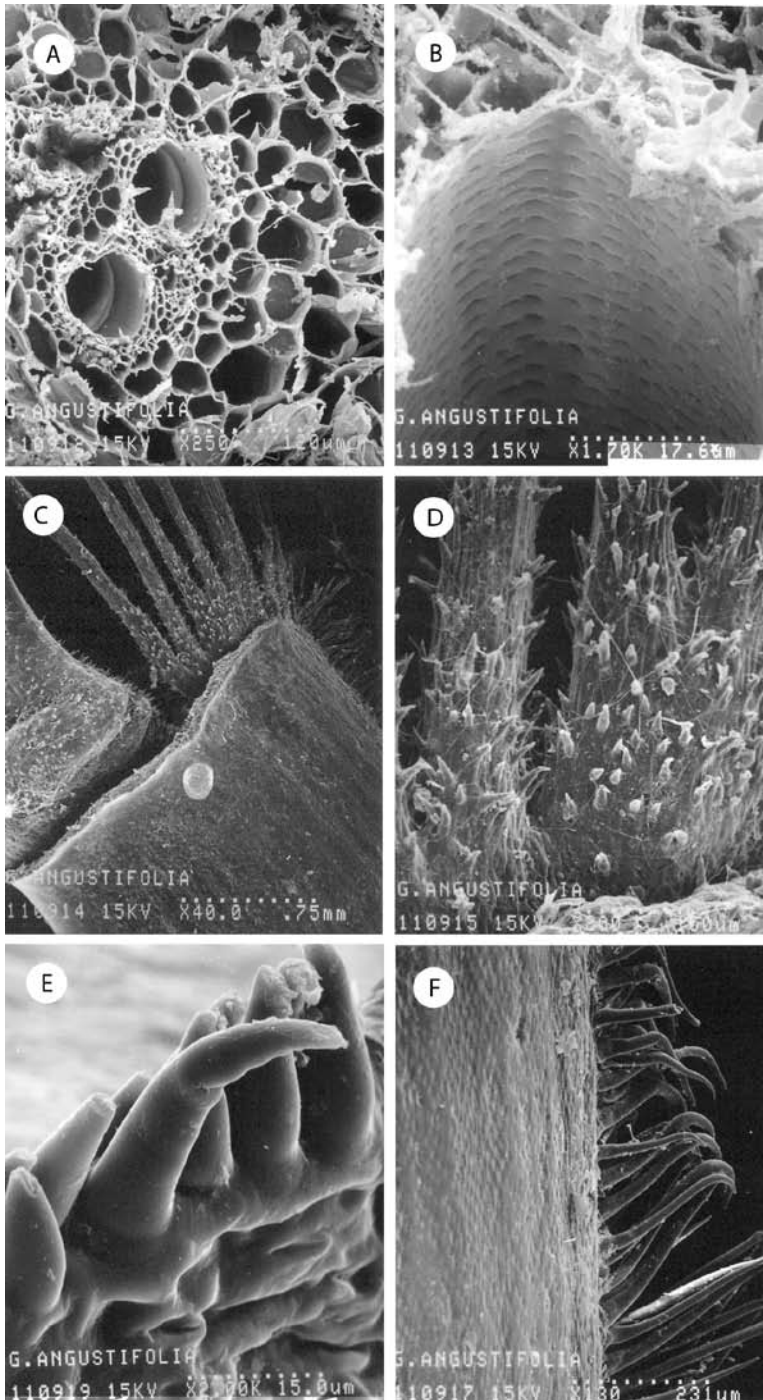


Fig. 2. Ultraestructura de la rama y vaina de *G. angustifolia* f. "atlántica". A. Corte transversal de la rama con un haz vascular con tejido esclerenquimatoso y parénquima que lo rodea. B. Sección ampliada de un vaso de protoxilema con puntuaciones escalariformes. C. Tricomas auriculares de la vaina de la hoja. D. Sección ampliada de los tricomas con en ellos pequeños tricomas ganchudos. E. Tricomas unicelulares gruesos del borde la vaina. F. Tricomas unicelulares del margen de la vaina delgados y largos.

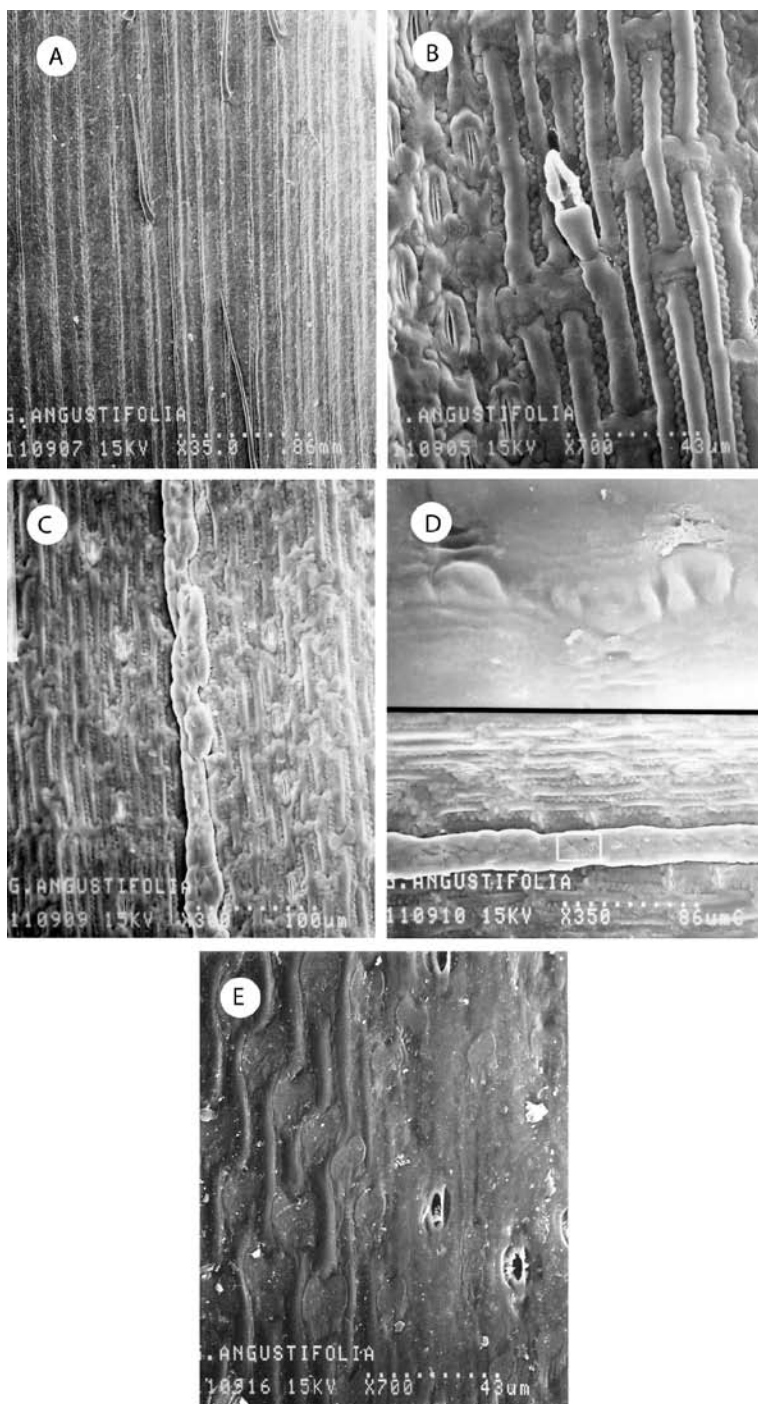


Fig. 3. Ultraestructura de la lámina foliar y vaina de *G. angustifolia* f. "atlántica". A. Panorámica de la superficie abaxial de la epidermis de la lámina, donde se observan las zonas costales e intercostales así como tricomas unicelulares largos. B. Sección ampliada de la zona abaxial con los estomas, células cortas, de sílice, células largas con paredes muy onduladas y tricomas bicelulares. C. Zona adaxial de la lámina con un cordón de células buliformes. D. Detalle de las células buliformes que actúan en la turgencia de la lámina de la hoja. E. Epidermis de la vaina de la hoja con algunos estomas y células de sílice.

engrosados son idénticas, así como los estomas son similares a los observados en *G. angustifolia* f. “atlántica” (Fig. 3B, 4C, 4D).

#### *G. angustifolia* f. “cebolla”

La ultraestructura de la epidermis de la sección adaxial de la lámina foliar de la forma “cebolla” (Fig. 5A) presenta características similares tanto con la “atlántica” como con la “sur”; presenta células largas muy onduladas y engrosadas, estomas, células de sílice, células cortas y de corcho (Fig. 5B), así como franjas de células buliformes (Fig. 5C). La sección abaxial tiene gran cantidad de estomas, células largas y cortas, pero no presenta tricomas (Fig. 5D).

De todas las guadas estudiadas, ésta es la única en la que se han encontrado en la lámina de la hoja gran cantidad de diatomeas, aparte de bacterias e hifas de hongos, más abundantes en el envés (superficie abaxial) que en el haz (superficie adaxial) (Fig. 5E).

#### **Brácteas del culmo de *G. angustifolia* “atlántica”, “sur” y “cebolla”**

*G. angustifolia* (f. “sur”): la superficie adaxial de la bráctea del culmo presenta tricomas unicelulares largos y delgados (Fig. 6A), mientras que en la superficie abaxial hay carencia de tricomas; también se observan células largas y poca cantidad de estomas (Fig. 6B).

*G. angustifolia* (f. “atlántica”): en la superficie adaxial de la bráctea del culmo se observa gran cantidad de cera cuticular y tricomas unicelulares largos en poca cantidad (Fig. 6C); en la superficie abaxial se observan muy pocos estomas y las células largas presentan paredes poco onduladas (Fig. 6D)

*G. angustifolia* (f. “cebolla”): la superficie adaxial de la bráctea del culmo presenta numerosos tricomas largos unicelulares (Fig. 6E); mientras que en la superficie abaxial hay pocos estomas y las células largas presentan paredes más delgadas y muy poco onduladas (Fig. 6F).

El cuadro 1 resume las principales características ultraestructurales observadas en las tres formas de *G. angustifolia* estudiadas.

#### **Ultraestructura de *Guadua* sp. (formas 2, 3 y 4)**

*Guadua* sp. forma 2: permite observar en la superficie adaxial de la lámina foliar células largas, cortas, estomas, tricomas bicelulares y células buliformes acordonadas (Fig. 7A, 7B).

*Guadua* sp. forma 3: presenta en la superficie adaxial de la lámina foliar tricomas bicelulares y en forma de gancho, así como células cortas y muchos estomas (Fig. 7C).

CUADRO 1

*Principales características ultraestructurales comparativas de tres formas de G. angustifolia presentes en Costa Rica*

Forma de <i>G. angustifolia</i>	Hoja		Bráctea del culmo	
	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial
“Cebolla”	Células buliformes grandes segmentadas	Sin tricomas	Sin tricomas	Células largas de paredes poco onduladas
“Sur”	Células buliformes de mediano tamaño	Tricomas en forma de gancho	Numerosos tricomas unicelulares largos	Células largas de paredes bastante lisas
“Atlántica”	Células buliformes angostas y apiñadas	Tricomas bicelulares	Escasos tricomas	Células largas de paredes poco onduladas

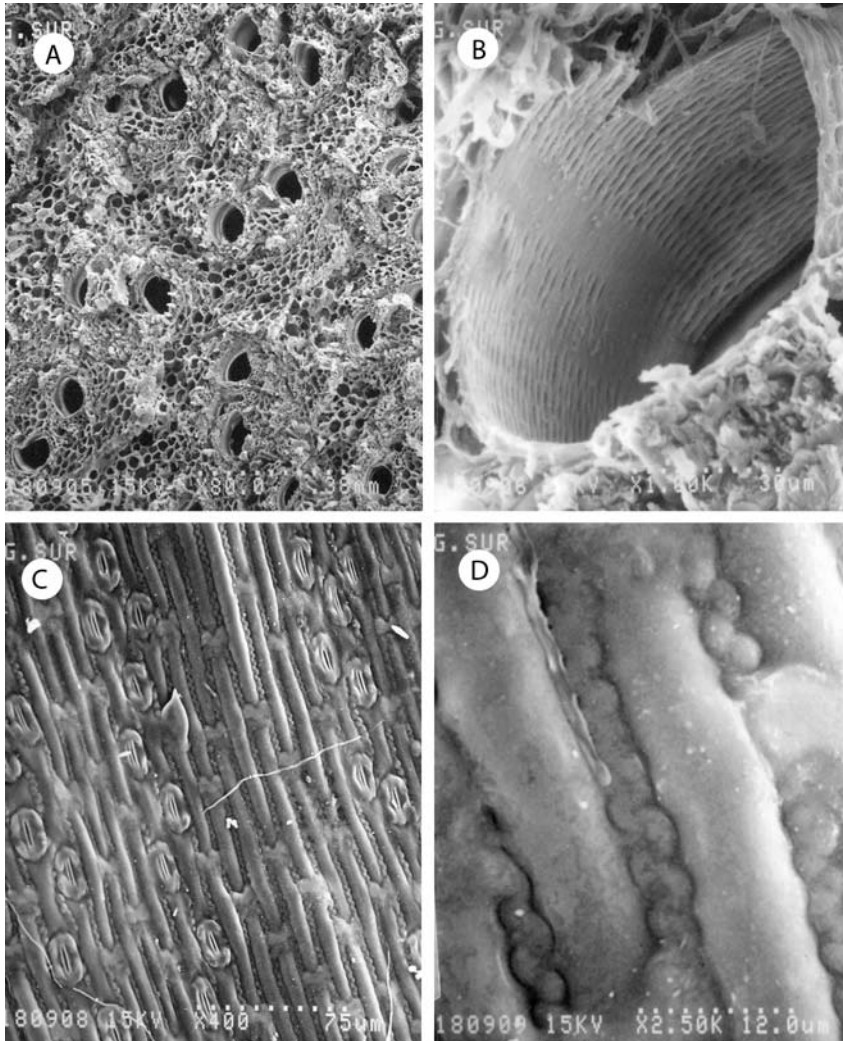


Fig. 4. Ultraestructura de *G. angustifolia* f. "sur". A. Sección transversal de la rama con vasos de protoxilema, tejidos parenquimatoso y esclerenquimatoso. B. Detalle de un vaso de protoxilema y sus puntuaciones escalariformes. C. Epidermis de la superficie abaxial de la lámina de la hoja con estomas, tricomas ganchudos, células largas con paredes muy onduladas, células cortas y de sílice. D. Sección aumentada de células largas donde se observa muy bien la forma en que se entrelazan los bordes ondulados de células contiguas y también una célula corta intercalada.

*Guadua* sp. forma 4: la superficie adaxial de la lámina foliar tiene células largas, cortas, estomas y carece de tricomas (Fig. 7D). Su superficie abaxial es la única que presenta dos hileras de tricomas en forma de gancho, muy numerosos y que alternan con los estomas (Fig. 7E).

## DISCUSIÓN

La anatomía ultraestructural del culmo de *G. angustifolia* coincide con la descripción realizada por Londoño *et al.* (2002) y es común en las diferentes formas de *Guadua* caracterizadas en el presente estudio.



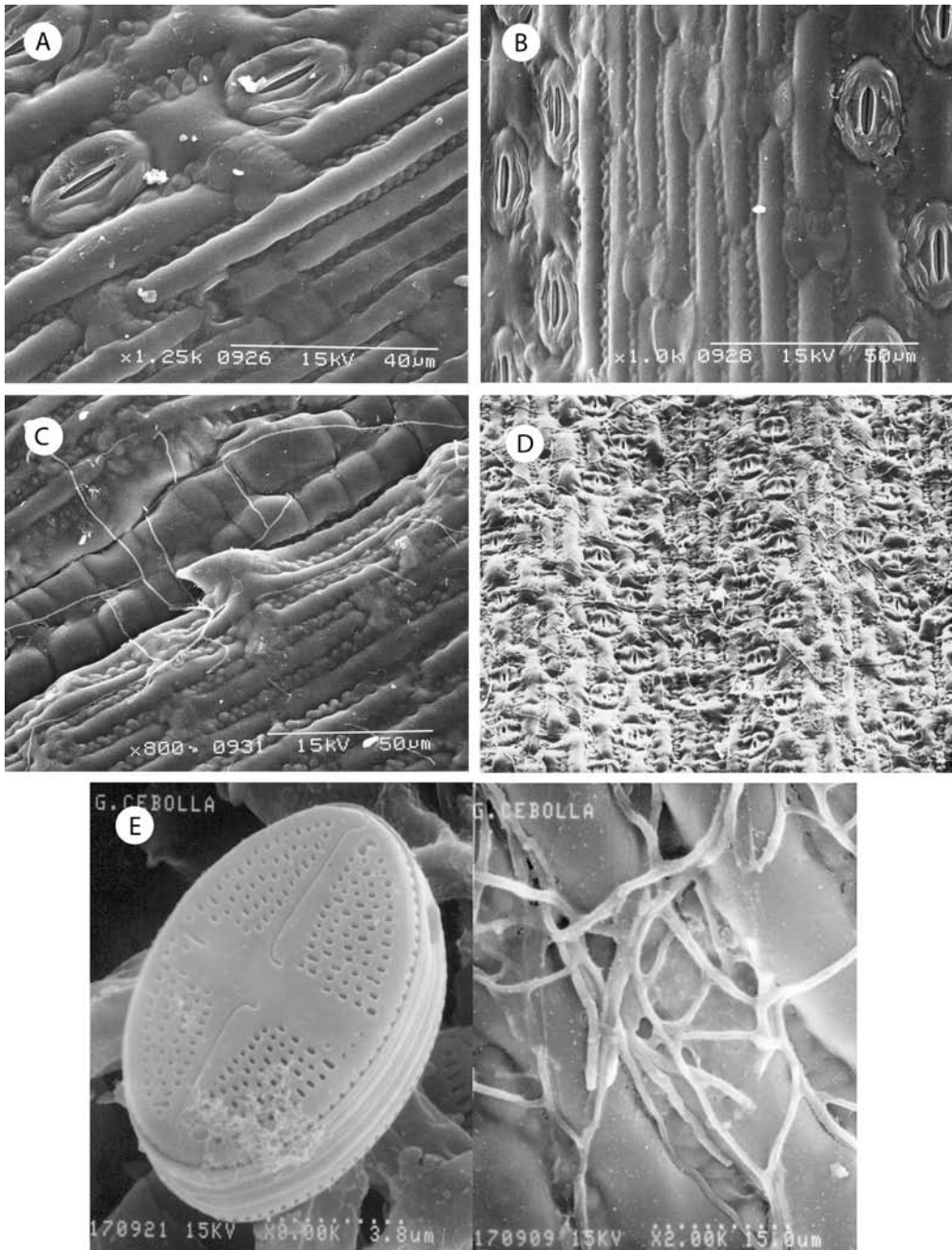


Fig. 5. Ultraestructura de la superficie adaxial de la lámina foliar de *G. angustifolia* f. "cebolla". A. Estomas, células largas con paredes muy onduladas y células cortas. B. Células de sílice intercaladas entre las células largas. C. Secuencia de células buliformes (semejando un cordón) y un tricoma ganchudo. D. Estomas, células largas y cortas y ausencia de tricomas. E. Detalle de diatomeas, hifas de hongos y bacterias presentes en esta estructura.

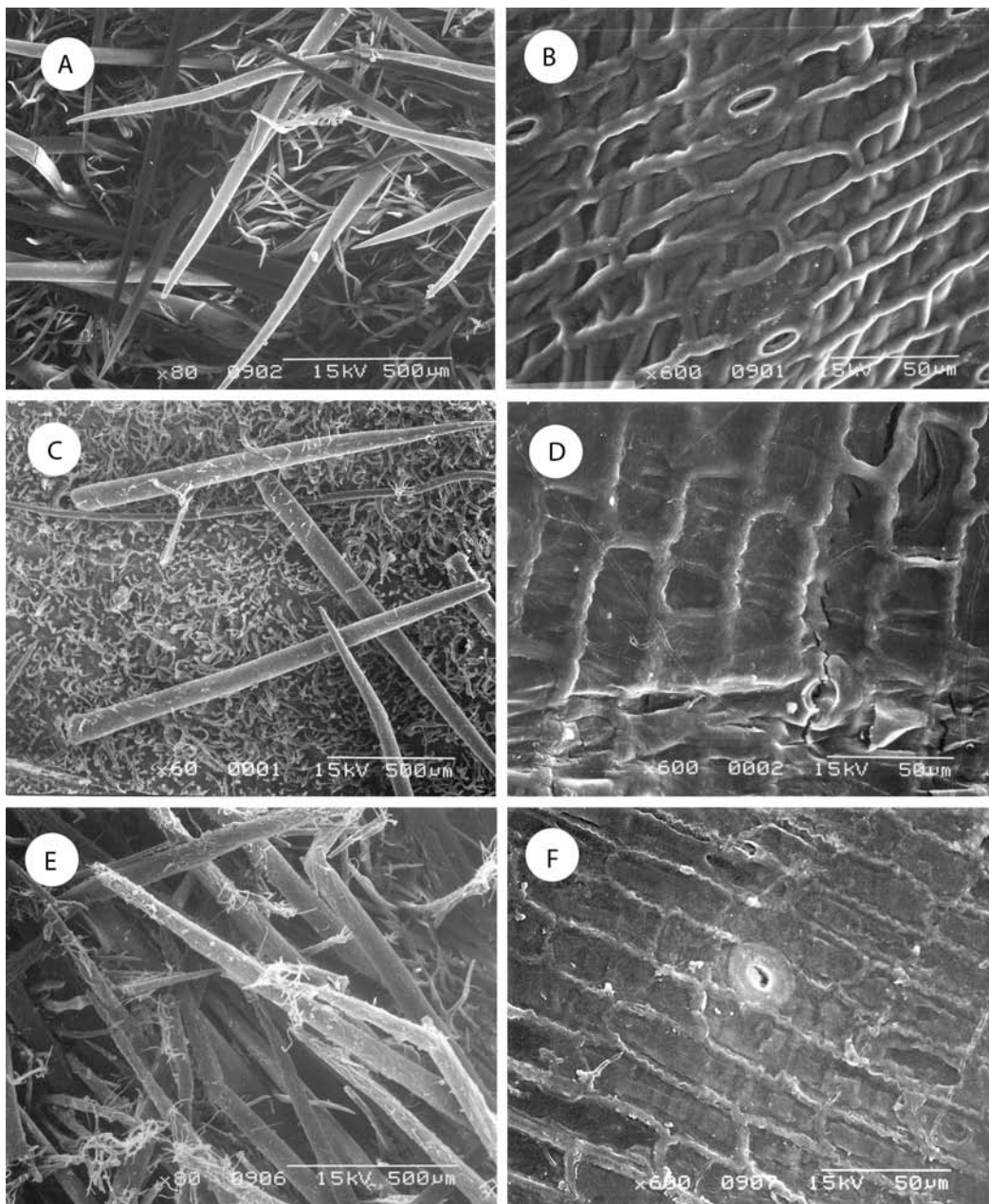


Fig. 6. Ultraestructura de la bráctea del culmo de las tres formas de *G. angustifolia*, “sur”, “atlántica” y “cebolla”. A. Superficie adaxial de la bráctea de la forma “sur”, con numerosos tricomas unicelulares largos. B. Superficie abaxial de la bráctea de la forma “sur” con estomas y células largas de paredes lisas. C. Superficie adaxial de la bráctea de la forma “atlántica”, con escasos tricomas unicelulares largos y gran cantidad de papilas céricas. D. Superficie abaxial de la bráctea de la forma “atlántica”, con escasos estomas y células largas de paredes un poco onduladas. E. Superficie adaxial de la bráctea de la forma “cebolla”, con numerosos tricomas unicelulares largos. F. Superficie abaxial de la bráctea de la forma “cebolla” con células largas de paredes poco onduladas, escasos estomas y sin tricomas.

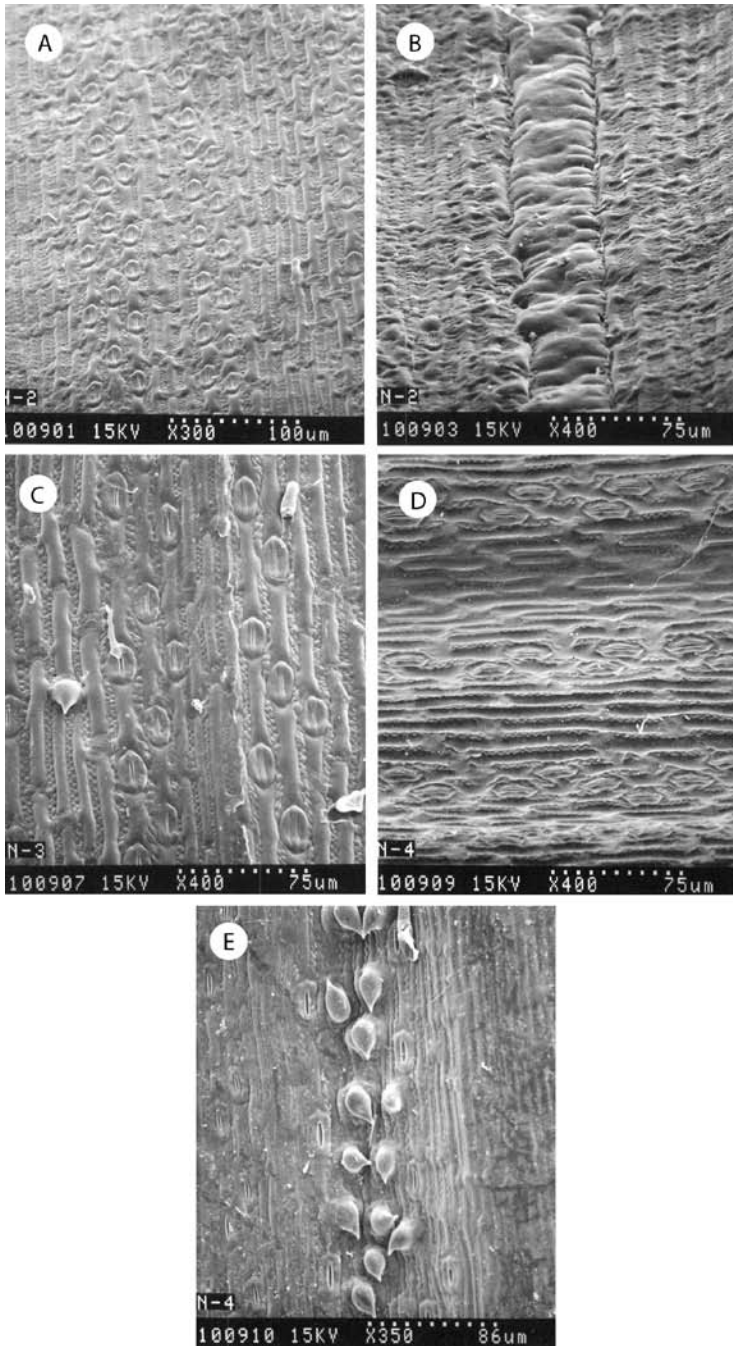


Fig. 7. Ultraestructura de las formas 2, 3 y 4 de *Guadua* sp. A. Superficie adaxial de la lámina foliar de la forma 2, con células largas, estomas y escasos tricomas bicelulares. B. A mayor aumento, células buliformes de la superficie adaxial de la lámina foliar de la forma 2. C. Forma 3, con tricomas bicelulares, tricomas en forma de gancho, células cortas y largas, y muchos estomas en la superficie adaxial de la lámina foliar. D. Superficie adaxial de la lámina foliar de la forma 4, presentando hileras de estomas, que alternan con células largas, y un patrón celular característico. E. Superficie abaxial de la lámina foliar de la forma 4, la única que presenta esta distribución de tricomas en forma de gancho y que alternan con los estomas.

En el cuadro 1 se puede notar que hay algunas diferencias en estas formas a nivel celular en la lámina de la hoja y brácteas del culmo, y que también se presentan en la morfología externa de la planta, pues en ella se observan variaciones en tamaño, grosor y forma.

La descripción anatómica de la lámina foliar concuerda con la realizada por Bisen (1999): en la sección abaxial se observan las zonas costales e intercostales con tricomas unicelulares largos, estomas, células largas, cortas y tricomas bicelulares. En la sección adaxial hay presencia de células largas, estomas, y células buliformes, las cuales forman estructuras acordonadas.

Las características anteriores, de la lámina de la hoja y de la bráctea del culmo, se pueden utilizar como criterio para diferenciar estas formas de *Guadua*. Sin embargo, por sí mismas, estas características probablemente pueden considerarse más como adaptaciones externas que como características determinadas genéticamente. No obstante, un estudio paralelo de caracterización molecular de estas formas ha permitido evidenciar diferencias y similitudes entre ellas (Albertazzi *et al.* en prep.).

Con respecto al análisis ultraestructural de la “madera” del culmo, lo encontrado corresponde a la estructura vascular que se encuentra en la zona periférica y de transición descrita por Londoño *et al.* (2002). También este estudio viene a complementar un análisis anterior sobre ultraestructura de fibras de *Guadua* realizado por Kozuka y Montiel (1990).

#### AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica el apoyo que ha dado a este proyecto, así como al Centro de Investigación en Estructuras Microscópicas de la Universidad de Costa Rica por las facilidades brindadas. Este trabajo se realizó con la ayuda financiera de la Comunidad Europea, en el marco del Proyecto *Guadua: Research for Sustainable Management and Markets of Bamboo in Colombia and Costa Rica* (EU INCO ICA4-CT-2001-10091).

#### RESUMEN

Se hizo una caracterización ultraestructural de tres variaciones o formas de *Guadua angustifolia* cultivadas en Costa Rica, y además se analizaron tres especímenes de *Guadua* sp. (formas 2, 3 y 4), los cuales se supone que están relacionados con *G. angustifolia*. Hay gran similitud ultraestructural entre las formas. Principales diferencias: en la epidermis abaxial de la lámina foliar de la forma “cebolla” no hay tricomas, mientras que en la misma sección de la hoja de la forma “sur” o “mansa” los tricomas son en forma de gancho. En la forma “atlántica” o “brava” los tricomas son bicelulares. En cuanto a la sección adaxial de las brácteas del culmo, la forma “cebolla” no presenta tricomas, la forma “sur” tiene numerosos tricomas unicelulares largos, y la forma “atlántica” tiene escasos tricomas. Los tricomas son un carácter taxonómico importante que permite una fácil diferenciación de estas variaciones de bambú.

**Palabras clave:** *Guadua angustifolia*, formas, ultraestructura, morfología, anatomía comparada, diversidad.

#### REFERENCIAS

- Bisen, S.S. 1999. Identification and classification of Indian Bamboos (SEM Atlas of epidermis). Bishen Singh Mahendra Pal Singh, Dehra Dum, India. 200 p.
- Judziwicz, E.J., L.G. Clark, X. Londoño & M.J. Stern. 1999. American Bamboos. Smithsonian Institution, Washington D.C., Washington, Estados Unidos. 392 p.
- Kozuka, Y. & M. Montiel. 1990. Ultrastructure of bamboo fibers, a comparative study on four bamboo species from Costa Rica. *Bamboo J.* 8: 84-91.
- Londoño, X. 1990. Estudio botánico, ecológico, silvicultural y económico-industrial de las Bambusoideae de Colombia. *Cespedesia* 16: 51-78.
- Londoño, X. 2002. Distribución, morfología, taxonomía, anatomía, silvicultura y usos de los bambúes del nuevo mundo. Cátedra Maestría en Construcción. Módulo Guadua, Arquitectura, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- Londoño, X., G.C. Camayo, N.M. Riaño & Y. López. 2002. Characterization of the anatomy of *Guadua angustifolia* (Poaceae: Bambusoideae) culms. *J. Am. Bamboo Soc.* 16:18-31.
- McClure, F.A. 1966. The bamboos: a fresh perspective. Harvard University, Cambridge, Massachusetts, Estados Unidos. 347 p.