

Aplicación de análisis de componentes principales en la identificación de subtipos polínicos en *Miconia* (Melastomataceae)

Ceballos, Sergio J.¹; María E. García²; Alberto C. Slanis^{1,2}; Nora J. F. Reyes²

¹ Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo, Universidad Nacional de Tucumán, Miguel Lillo 205, (4000) Tucumán, Argentina.

² Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251, (4000) Tucumán, Argentina.

Autor corresponsal: sjc_499@hotmail.com

► **Resumen** — Ceballos, Sergio J.; María E. García; Alberto C. Slanis; Nora J. F. Reyes. 2014. “Aplicación de análisis de componentes principales en la identificación de subtipos polínicos en *Miconia* (Melastomataceae)”. *Lilloa* 51 (2). *Miconia* Ruiz et Pav. es un género característico de regiones selváticas que en Argentina está representado por 10 especies. El objetivo de este trabajo fue la identificación de posibles subtipos polínicos en las especies argentinas de este género señalado como estenopalínico por estudios previos. Se midieron 60 granos de polen de cada una de las especies al microscopio óptico y se realizó un análisis de componentes principales y un árbol de recorrido mínimo, basados en una matriz de especies y variables morfométricas de los granos. Fueron seleccionados dos componentes principales que en conjunto explicaron el 77% de la variación total de los datos. La mayoría de las variables se correlacionaron con el componente 1. Seis especies se definieron en tres subtipos, restando cuatro que no pudieron ser incluidas en ninguno de ellos por presentar caracteres intermedios. Se concluyó que el análisis multivariado constituye una posible herramienta para ayudar a diferenciar subtipos polínicos dentro de géneros estenopalínicos.

Palabras clave: ACP; estenopalínico; granos de polen; *Miconia*; subtipos polínicos.

► **Abstract** — Ceballos, Sergio J.; María E. García; Alberto C. Slanis; Nora J. F. Reyes. 2014. “Application of principal component analysis to identify pollen subtypes in *Miconia* (Melastomataceae)”. *Lilloa* 51 (2). *Miconia* Ruiz et Pav. inhabits forest regions being represented in Argentina by 10 species. The aim of this study was to identify possible pollen subtypes in the Argentine species of *Miconia*. Previous studies found that the genus is stenopalynous. Pollen grains of each species were measured with an optical microscope and a PCA was conducted based on a matrix of species versus morphometric variables of pollen grains. Two components were selected because these explained together 77% of the total variation in the data. Most of the variables were correlated with component 1. Three pollen subtypes were defined in the genus, but four of the species could not be included in any of them because they presented intermediated characters. It was concluded that multivariate analysis is a possible tool that helps to differentiate pollen subtypes within stenopalynous genera.

Keywords: *Miconia*; PCA; pollen; pollen subtypes; stenopalynous.

INTRODUCCIÓN

El género *Miconia* Ruiz et Pav., con alrededor de 1056 especies que se distribuyen desde el sur de México hasta el norte de Argentina y Uruguay, representa cerca de un cuarto de la familia Melastomataceae (Goldenberg, 2000; Slanis y Goldenberg, 2011). En Argentina, se encuentran 10 especies que

habitan en regiones selváticas del norte del país: *Miconia ioneura* Griseb., *M. molybdaea* Naudin, *M. pusilliflora* (DC.) Naudin, *M. staminea* (Desr.) DC., *M. calvescens* DC., *M. chamissois* Naudin, *M. cinerascens* Miq., *M. collatata* Wurdack, *M. discolor* DC. y *M. petropolitana* Cogn. (Slanis y Goldenberg, 2011).

Se trata de un género estenopalínico (Ceballos *et al.*, 2012; Barth y Barbosa, 1975), cuyas especies constituyen el tipo polínico

Miconia, con granos isopolares, radiosimétricos, de tamaño pequeño, heterocolpados, normalmente con 3 colporos y 3 pseudocolpos, con formas variadas y ámbito siempre lobado en los granos acetolizados.

La presencia de una morfología polínica similar dentro del grupo conduce a una complicación en la diferenciación de las especies en base de estos caracteres. Sin embargo, existen herramientas estadísticas multivariadas específicas, que han sido utilizadas en la delimitación de entidades taxonómicas utilizando variables morfométricas de los granos de polen (Mambrín *et al.*, 2010; García *et al.*, 2011).

El objetivo de este trabajo es el ordenamiento de las especies, usando un análisis multivariado específico, en grupos artificiales denominados subtipos, definidos por variables morfométricas y caracteres palinológicos. De este modo, los subtipos constituirían una instancia importante en la diferenciación de especies o grupos de especies en un género estenopalínico como *Miconia*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el presente estudio se empleó material procedente de ejemplares depositados en el Herbario LIL. Se trabajó con especímenes procedentes de Argentina, salvo en aquellos casos en que los mismos fueron insuficientes o se encontraron en mal estado en los que se analizaron otros de países limítrofes. Los granos fueron procesados siguiendo la técnica de Wodehouse (1935) para polen natural. Las observaciones se realizaron con el uso de un microscopio óptico (MO) Zeiss Axio-star Plus con un objetivo de 100x. Se analizaron y midieron 60 granos por especie y los parámetros considerados fueron: longitud del eje polar (P), diámetro ecuatorial (E), amplitud del mesocolpio (M), amplitud del apocolpio (A), largo del colpo (LC), ancho del pseudocolpo (APs), ancho del colporo (AC), espesor de la exina (EE) y forma del grano (P/E). En la clasificación de tamaños de los granos de polen se siguió a Erdtman (1960) y en la terminología a Punt *et al.* (2007) y a Sáenz Laín (2004). Las prepara-

ciones fueron incorporadas a la Palinoteca de la Fundación Miguel Lillo (PAL-TUC).

ANÁLISIS DE DATOS

Para la obtención de subtipos polínicos de las especies estudiadas en base de las mediciones obtenidas con el MO, se utilizó un Análisis de Componentes Principales (ACP). Esta metodología multivariada posibilita reducir la variabilidad de los datos con la menor pérdida de la información posible, al transformar las variables originales en componentes principales, o sea un conjunto de variables no correlacionadas.

La matriz básica se elaboró en base de 10 especies y 7 variables de medición de los granos (Tabla 1) correlacionadas con los ejes principales. A pesar de que se midieron 9 variables, solo fueron consideradas 7 en el ordenamiento, debido a que la información del eje polar (P) y el diámetro ecuatorial (E) se resumió en una sola variable: la relación P/E. Como resultado se presenta un gráfico de ordenamiento, en el cual las entidades están representadas por puntos y las variables por vectores dentro de un sistema cartesiano. En las interpretaciones se tuvo en cuenta la proximidad entre los puntos. El criterio empleado para la selección de los subtipos fue considerar que cada conjunto de puntos estuviera en el espacio multivariado lo suficientemente alejado de otros, empleando para ello un Árbol de Recorrido Mínimo, que une a los puntos más similares en su comportamiento con respecto a las variables. Para realizar los análisis se utilizó el programa Infostat versión 2008 (Di Rienzo *et al.*, 2008).

MATERIAL ESTUDIADO

Miconia calvescens: ARGENTINA. Prov. Jujuy, Dpto. Humahuaca, Tres Cruces, 1100 m, 17-X-1993, *Ayarde* 398 (LIL). Prov. Salta, Dpto. Orán, Finca Yakulica, 560 m, 23-IX-1974, *Mesneses* y *Vervoorst* 33 (LIL).

Miconia chamissois: ARGENTINA. Prov. Corrientes, Dpto. Ituzaingó, El Plata, XI-1944, *Lucena* 94 (LIL). BOLIVIA, Dpto. Santa Cruz, Prov. Sara, V/1916, *Steinbach* 2283 (LIL). BRASIL. Minas Gerais, Municipio of

Tabla 1. Variables morfométricas de los granos de polen de las especies argentinas de *Miconia* [Melastomataceae].

Especie	E (μm)	P (μm)	P/E	EE (μm)	LC (μm)	AC (μm)	APs (μm)	M (μm)	A (μm)
<i>M. calvescens</i>	11,6 \pm 0,1	12,4 \pm 0,2	1,08 (pe)	1,2	9,4 \pm 0,4	1,5 \pm 0,1	1 \pm 0,0	7,5 \pm 0,1	3,8 \pm 0,1
<i>M. chamissois</i>	9,8 \pm 0,5	20,9 \pm 0,5	1,84 (pr)	1	15,4 \pm 0,5	2 \pm 0,0	1 \pm 0,0	11 \pm 0,0	6 \pm 0,0
<i>M. cinerascens</i>	12,2 \pm 0,1	14,1 \pm 0,1	1,16 (spr)	1,2	10,4 \pm 0,2	1,6 \pm 0,1	1 \pm 0,0	8 \pm 0,2	4,3 \pm 0,2
<i>M. collatata</i>	10,1 \pm 0,2	15,5 \pm 0,2	1,43 (pr)	1,2	11 \pm 0,3	1,9 \pm 0,1	1 \pm 0,0	7,8 \pm 0,3	3 \pm 0,0
<i>M. discolor</i>	11,9 \pm 0,6	17 \pm 0,3	1,75 (pr)	1	14,8 \pm 0,3	1,3 \pm 0,3	2,4 \pm 0,2	7,5 \pm 0,4	4,5 \pm 0,4
<i>M. ioneura</i>	14,8 \pm 0,1	13,6 \pm 0,1	0,94 (oe)	1,2	9,3 \pm 0,3	3,5 \pm 0,1	3,2 \pm 0,2	10,7 \pm 0,2	5,8 \pm 0,4
<i>M. molybdaea</i>	15,9 \pm 0,1	14,2 \pm 0,2	0,94 (oe)	1,2	7,5 \pm 0,3	2,3 \pm 0,1	1 \pm 0,0	12,5 \pm 0,2	5,8 \pm 0,4
<i>M. petropolitana</i>	11,7 \pm 0,3	15,3 \pm 0,2	1,36 (pr)	1	11,9 \pm 0,4	2 \pm 0,1	1,4 \pm 0,2	7,7 \pm 0,2	3,3 \pm 0,3
<i>M. pusilliflora</i>	13,2 \pm 0,2	16,8 \pm 0,2	1,28 (spr)	1,2	14,4 \pm 0,3	1,8 \pm 0,2	1 \pm 0,0	9,2 \pm 0,4	5,7 \pm 0,3
<i>M. staminea</i>	15,9 \pm 0,1	15,2 \pm 0,1	0,96 (oe)	1,2	10,2 \pm 0,3	2,9 \pm 0,1	2 \pm 0,0	12,5 \pm 0,2	6,9 \pm 0,1

E: diámetro ecuatorial; P: eje polar; P/E: relación eje polar/ diámetro ecuatorial; EE: espesor de la exina; LC: largo del colporo; AC: ancho del colporo; APs: ancho del pseudocolpo; M: mesocolpo; A: apocolpo; Formas: pe: prolato esferoidal, spr: subprolato, pr: prolato, oe: oblato esferoidal.

Betim, Fazenda do Cabui, near Cartagem, 900 m, 10-VI-1945, *Williams 7355* (LIL).

Miconia cinerascens: ARGENTINA. Prov. Misiones, Dpto. San Pedro, 17-X-1977, *Cabrera 28893* (LIL).

Miconia collatata: ARGENTINA. Prov. Misiones, Dpto. Iguazú, PN Iguazú, 21-XI-1991, *Lucena 94* (LIL). BOLIVIA, Dpto. Santa Cruz, Prov. Sara., Río Surutú, 500 m, 02-X-1917, *Steinbach 3486* (LIL).

Miconia discolor: ARGENTINA. Prov. Misiones, Dpto. Iguazú, 13-IX-1915, *Rojas 8237* (LIL); Cataratas del Iguazú, 02-III-1994, *Ferraro 435* (LIL).

Miconia ioneura: ARGENTINA. Prov. Tucumán, Dpto. Monteros, Pueblo Viejo, 20-IV-1997, *Figueroa Romero et al. 1142* (LIL).

Miconia molybdaea: ARGENTINA. Prov. Salta, Dpto. Orán, San Pedrito, 1100 m, X-1940, *Schreiter 11432* (LIL); Dpto. Santa Victoria, PN Baritú, 09-X-1996, *Hilgert et al. 1534* (LIL).

Miconia petropolitana: ARGENTINA. Prov. Misiones, Dpto. San Pedro, camino al este de San Pedro, aproximadamente 8 km, 23-IX-1978, *Legname et al. 5556* (LIL). BRASIL. Paraná, Parque Estadual do Guartelá Cerrado, 26°16'54" S 50°13'10" W, 26-IX-2008, *Muelbert et al. 35* (LIL, UPCB).

Miconia pusilliflora: PARAGUAY. Alto Paraná, In regione fluminis, X-1909, *Fiebrig s.n.* (LIL).

Miconia staminea: ARGENTINA. Prov. Corrientes, Dpto. Ituzaingó, Isla Apipé Grande, 05-VII-1975, *Krapovickas et al.* 23776 (LIL).

RESULTADOS

Para la interpretación de los resultados se seleccionaron dos ejes o componentes principales debido a que en conjunto sintetizaron el 77% de la variación de los datos. Por separado, el eje 1 explicó el 49,5 % y el eje 2 el 27,5 %.

Las mayores correlaciones de las variables P/E, EE, LC, AC y M fueron con el eje 1, por ello la mayoría de las interpretaciones se realizaron en relación a éste. Por su parte, el eje 2 fue un gradiente de las variables A, APs y EE (Tabla 2).

Los puntos muy cercanos en el gráfico se consideraron como subtipos polínicos englobados dentro del tipo *Miconia* (Gráfico 1). El subtipo 1 se encuentra representado por *M. staminea*, *M. ioneura* y *M. molybdaea* ubicadas en el extremo de los vectores AC, M y EE. Estas especies muestran solamente valores más altos de las variables AC y M en comparación con el resto pero a su vez alcanzan valores mínimos de LC y P/E. En definitiva, el subtipo 1 se caracteriza por pre-

sentar granos de polen oblatos, con los colpos de mayor diámetro y mesocolpio ancho.

Con el ACP pudo delimitarse el primer subtipo, sin embargo debido a la dispersión de los puntos en el gráfico el resto de las especies no pudieron ser agrupadas en una primera instancia. Utilizando solamente el ACP se puede cometer el error de agrupar puntos cercanos en el gráfico que difieren en sus mediciones. Para resolver este problema se realizó un segundo análisis que se compara con el ACP y que se conoce como Árbol de Recorrido Mínimo (ARM), que une los puntos de acuerdo a las distancias entre ellos en el espacio original que tiene tantas dimensiones como variables en estudio (Gráfico 2). En el gráfico 1, *M. chamissois* y *M. discolor* están representadas por puntos muy cercanos de modo que podrían agruparse dentro de un mismo subtipo, pero el ARM estableció que no son similares en todas las variables y por lo tanto deben ser consideradas como grupos o subtipos diferentes. El subtipo 2, que incluye a *M. chamissois*, se caracteriza por sus granos prolatos, alargados y delgados y con colpos largos. *Miconia discolor* y *M. petropolitana* constituyen el subtipo 3 determinado por granos prolatos, con colpos alargados además de la presencia de 3 - 4 colporos y 3 - 4 pseudocolpos.

Para *Miconia pusilliflora*, *M. collatata*, *M. cinerascens* y *M. calvescens* el análisis multivariado no constituye una buena herra-

Tabla 2. Correlaciones entre las variables y los componentes principales.

Variables	CP1		CP2	
	Autovectores	Coefficiente de correlación	Autovectores	Coefficiente de correlación
P/E	-0,41	-0,77	0,38	0,53
EE	0,40	0,74	-0,38	-0,53
LC	-0,40	-0,74	0,42	0,58
AC	0,45	0,83	0,27	0,37
APs	0,20	0,37	0,34	0,48
M	0,41	0,76	0,34	0,47
A	0,33	0,61	0,47	0,66

P/E: relación eje polar/ diámetro ecuatorial; EE: espesor de la exina; LC: largo del colporo; AC: ancho del colporo; APs: ancho del pseudocolpo; M: mesocolpio; A: apocolpio.

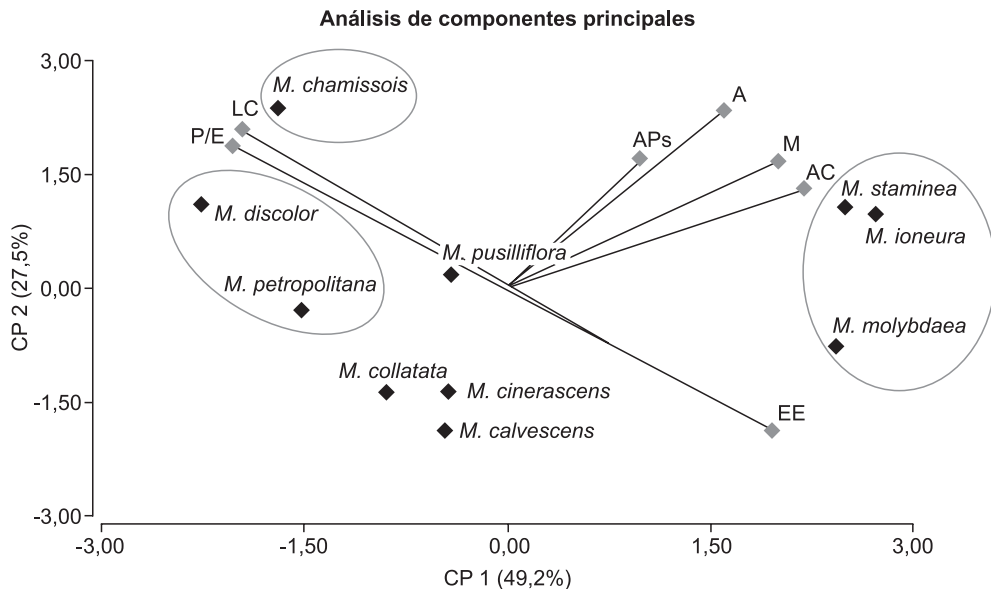


Gráfico 1. Ordenamiento de las especies en relación a las variables morfométricas de los granos de polen.

P/E: relación eje polar/diámetro ecuatorial; EE: espesor de la exina; LC: largo del colporo; AC: ancho del colporo; APs: ancho del pseudocolpo; M: mesocolpio; A: apocolpio.

mienta en la detección de subtipos ya que presentan características palinológicas intermedias entre los grupos establecidos.

DISCUSIÓN

Los análisis estadísticos fueron realizados en base a mediciones de granos de polen naturales sometidos a la Técnica de Wodehouse (1935). Los subtipos polínicos planteados se corresponden entonces solamente con granos de polen naturales. Esto es relevante, debido a que las características morfométricas de los granos de polen pueden variar con la técnica utilizada para su procesamiento y como consecuencia la definición de subtipos polínicos probablemente se modifique. Entre las distintas especies estudiadas, la relación P/E determina cambios en la forma de los granos de polen, lo cual es un aporte importante en la identificación de los subtipos polínicos. En cambio, la utilización de técnicas como Acetólisis (Erdtman, 1952) dificultaría la identificación de subtipos polínicos debido a la homogeneidad de caracteres entre los granos de polen de las

especies argentinas de *Miconia*, los cuales son en su totalidad prolatos y de ámbito lobado cuando son sometidos a esta técnica (Ceballos *et al.*, 2012).

Puede plantearse que la identificación de los subtipos polínicos es dificultosa debido a que los granos de polen tienen un tamaño pequeño y sus mediciones se solapan, pero esto no es necesariamente cierto. El solapamiento en las mediciones determina la unión de las especies en subtipos polínicos y facilita la individualización de estos grupos. La variabilidad y solapamiento de las mediciones en realidad reviste dificultad a una escala menor, en la identificación de las especies utilizando caracteres morfométricos de sus granos de polen. La variabilidad intraespecífica es alta entre los granos de polen prolatos y baja entre los oblatos. Por otra parte, la variabilidad interespecífica en las mediciones de los granos de polen oblatos es baja, lo cual otorga consistencia al subtipo que definen.

El gráfico de ordenamiento separó a las especies principalmente a lo largo del componente 1 y las variables con mayor impor-

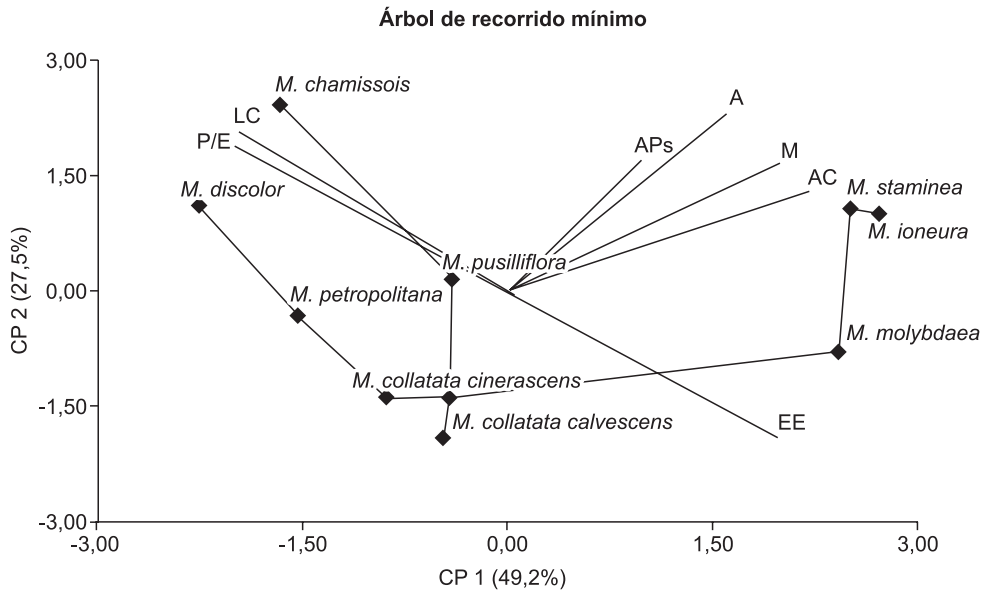


Gráfico 2. Árbol de recorrido mínimo en el cual las líneas unen a las especies más similares en relación a las variables morfométricas de los granos de polen. P/E: relación eje polar/diámetro ecuatorial; EE: espesor de la exina; LC: largo del colporo; AC: ancho del colporo; APs: ancho del pseudocolpo; M: mesocolpio; A: apocolpio.

tancia fueron la relación P/E, el largo y ancho del colpo y la amplitud del mesocolpio. En particular la relación P/E es importante en la identificación de los granos de polen de las especies de *Miconia* (Mercado Gómez *et al.*, 2007; Uribe y Fonnegra, 1979), debido a que en definitiva es una medida referente a la forma de los mismos. Por su parte, el espesor de la exina presentó una alta correlación con ambos ejes a pesar de no presentar una variabilidad importante, debido a que sus mediciones se ubicaron entre 1 y 1,2 μm . Cabe destacar que el espesor de la exina divide a las especies con respecto al componente 2 y a pesar que los subtipos fueron definidos en base al componente 1 del gráfico, su identificación no se ve dificultada por esta variable.

Mercado Gómez y colaboradores (2007) describen granos de polen de *Miconia* de formas variadas y con diferentes características de las aberturas, presentándose formas heteroestefanocolporadas, heterocolporadas y heterosincolporadas. Los granos de polen de las especies argentinas de *Miconia* no exhi-

ben esta gran variabilidad y responden en términos generales al tipo polínico definido para la familia Melastomataceae (Barth y Barbosa, 1975). Sin embargo, en términos generales, siempre que existan semejanzas y diferencias en los granos de polen pueden establecerse patrones que nos lleven a la definición de un taxón (Uribe y Fonnegra, 1979) o un subtipo polínico.

CONCLUSIONES

Dentro del género *Miconia* se pudieron establecer tres subtipos polínicos utilizando el análisis multivariado. El subtipo 1 incluye a *M. staminea*, *M. ioneura* y *M. molybdaea* que se caracterizan por sus granos oblatos, con mesocolpio y colpos amplios. El subtipo 2, representado únicamente por *M. chamissois*, presenta granos prolatos, alargados y delgados. El subtipo 3, que incluye a *M. discolor* y *M. petropolitana*, se diferencia por sus granos prolatos, con colpos alargados y formas con distinto número de aberturas. *Miconia pusilliflora*, *M. collatata*, *M. cine-*

rascens y *M. calvescens* no integran ninguno de los subtipos establecidos por presentar características palinológicas intermedias.

Se demostró que el ACP y el ARM permiten identificar posibles subtipos polínicos, incluso en géneros estenopalínicos, salvo en aquellos casos donde se presentan características que se solapan entre los grupos.

AGRADECIMIENTOS

A las autoridades de la Fundación Miguel Lillo por permitir realizar este trabajo en el Laboratorio de Palinología y a la Lic. Nora B. Muruaga, Curadora del Herbario LIL, por facilitar el material de estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Barth M. O., Barbosa A. F. 1975. Catálogo sistemático dos polens das plantas arbóreas do Brasil Meridional XIX. Melastomataceae. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 73: 39-60.
- Ceballos S. J., García M. E., Slanis A. C., Reyes N. J. F. 2012. Morfología polínica de las especies argentinas de *Miconia* (Melastomataceae). Ameghiniana Suplemento Resúmenes 49 (4): 129.
- Di Rienzo J. A., Casanoves F., Balzarini M. G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C. W. 2008. InfoStat, versión 2008. Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Erdtman G. 1952. Pollen Morphology and Plant Taxonomy: Angiosperms. Almqvist & Wiksells, Uppsala, Stockolm. 533 pp.
- Erdtman G. 1960. The acetolysis method. A revised description. Svensk Botanisk Tidskrift 54: 561-564.
- García M. E., Varela R. O., Reyes N. J. F., Prado F. E., González J. A. 2011. Análisis exploratorio de características morfométricas del polen de 15 variedades de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) aplicando componentes principales. Lilloa 48 (1): 11-16.
- Goldenberg R. 2000. O Gênero *Miconia* Ruiz et Pav. (Melastomataceae). I. Listagens analíticas, II Revisao Taxonômica da Seção *Hypoxanthus* (Rich Ex DC) Hook. f. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas.
- Mambrín M. V., Avanza M. M., Ferrucci M. S. 2010. Análisis morfológico y morfométrico del polen de *Corchorus*, *Heliocarpus*, *Luehea*, *Mollia* y *Triumffeta* (Malvaceae, Grewioideae) en la región austral de América del Sur. Darwiniana 48 (1): 45-58.
- Mercado Gómez J. D., Solano Flórez L., Sánchez Montaña L. R. 2007. Morfología polínica para especies de 5 géneros de Melastomataceae registradas para Norte de Santander, (Colombia). Bistua 5 (1): 71-86.
- Punt W., Hoen P. P., Blackmore S., Le Thomas A. 2007. Glossary of pollen and spore terminology. Review of Palaeobotany and Palynology 143 (1): 1-81.
- Sáenz Laín C. 2004. Glosario de términos palinológicos. Lazaroa 25: 93-112.
- Slanis A. C., Goldenberg R. 2011. Notas sobre el género *Miconia* (Melastomataceae) en la Argentina. Darwiniana 49 (1): 99-103.
- Uribe A. F., Fonnegra G. R. 1979. Importancia de la forma, estructura y tamaño del polen en la determinación de la familia Melastomataceae. Universidad de Antioquía. Actualidades Biológicas 8 (27-28): 3-9.
- Wodehouse R. 1935. Pollen grains. Mc Graw-Hill Book Company. New York & London, 559 pp.