

CARACTERES ANATÓMICOS Y MORFOPALINOLÓGICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mintleaf (LAMIACEAE)

ANATOMICAL AND MORFOPALINOLOGICAL CHARACTERS FOR THE DETERMINATION OF *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mintleaf (LAMIACEAE)

Guadalupe Velarde Montero¹, Leonor Ana María Abundiz-Bonilla¹ y
Mario Alberto Rodríguez de la Concha Paez¹

RESUMEN

Plectranthus coleoides c.v. mintleaf (vaporub) es una planta ornamental introducida que se utiliza en la medicina popular para problemas respiratorios. En los mercados de México se vende la parte vegetativa, pues la floración es poco frecuente. La característica distintiva del género *Plectranthus* es la flor con cuatro lóbulos en el labio superior y uno en el inferior. La determinación taxonómica no puede basarse sólo en la morfología floral, ya que los caracteres son inconstantes y conectan con formas intermedias, por lo que un estudio anatómico a nivel de raíz, tallo y hoja, así como la morfología del polen ayudarán a una identificación más precisa. A individuos procedentes de cuatro entidades se les practicaron cortes transversales de diferentes órganos, para describir sus características anatómicas. Las similitudes observadas fueron las siguientes: epidermis de raíz, tallo y hoja uniestratificada con tricomas no glandulares de tipo uniseriado, tricomas glandulares capitados y peltados; estomas diacíticos en ambas superficies. En tallo, el colénquima es subepidérmico, de tipo angular en bandas discontinuas. De los ejemplares que florecieron se realizó la descripción morfológica del polen. Los granos son hexacolpados, con ornamentación verrucosa y de forma oblato esferoidal a subprolato. Finalmente, se valoraron los datos cuantitativos con una prueba de significancia para obtener similitudes y diferencias de las características anatómicas de todos los individuos estudiados. Se observó poca variabilidad, por lo que se concluye que el material pertenece a la misma especie.

Palabras clave: Anatomía vegetal, morfopalinología, planta medicinal, *Plectranthus coleoides*, polen hexacolpado, tricomas.

Fecha de recepción: 6 de junio de 2007

Fecha de aceptación: 8 de marzo de 2011

ABSTRACT

Plectranthus coleoides c.v. mint leaf (vaporub) is an exotic ornamental plant which is used in folk medicine to solve respiratory problems. The vegetative part is sold in the markets of Mexico, because flowering is very frequent. The distinctive feature of the genus *Plectranthus* is the flower with four lobes on the upper lip and one at the bottom. The taxonomic determination can not only rely on floral morphology since characters are unstable and connect with intermediate forms, so an anatomical study at the root, stem and leaf, as well as the morphology of the pollen will help to a more precise identification. A crossed-section dissection -to describe anatomical characteristics- was practiced to individuals from four entities. The observed similarities are as follows: epidermis of root, a one layer with trichome stem and leaf not glandular uniseriated, glandular trichomes capitated like and diacitic stomata on both surfaces. On stem, the collenchyma is subepidermic, angular like form in discontinuous bands. From the samples that flourished, morphological description of pollen was done. The grains are hexacolpate, with varicose ornamentation and spheroidal form to suprolate. Finally, quantitative data with a test of significance were valued to obtain similarities and differences of the anatomical features of all the studied individuals. There was little variability, so it can be concluded that the material belongs to the same species.

Key words: Plant anatomy, morphopalynology, medicinal plant, *Plectranthus coleoids*, hexacolpate, trichomes.

¹ Facultad de Estudios Iztacala. UNAM. Correo-e: luppitavm@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

El género *Plectranthus* L' Her. pertenece a la tribu Ocimeae de la familia Lamiaceae y comprende 300 especies entre herbáceas y subarborescentes, que se distribuyen en regiones tropicales y subtropicales de Asia, África, Australia e Islas del Pacífico. La gran mayoría son cultivadas por su carácter ornamental o por sus aceites esenciales. En la medicina popular se emplean contra vómito, náusea, infecciones del oído, dolor de muelas o garganta, quemaduras, dermatitis y como antiséptico (Ascensão *et al.*, 1998; Ascensão *et al.*, 1999; Menéndez y Pavón, 1999).

El género es de reciente introducción en México, en los mercados se vende la parte vegetativa de la planta, pues su floración es poco frecuente. La característica distintiva de *Plectranthus* es que la flor tiene cuatro lóbulos en el labio superior y uno en el inferior (Menéndez y Pavón, 1999), pero su determinación taxonómica no puede basarse sólo en la morfología floral, ya que los caracteres son inconstantes y conectan con formas intermedias, por lo que un estudio anatómico es una herramienta amplia en la delimitación de géneros y separación de especies (Suddee *et al.*, 2004).

De manera general, Metcalfe y Chalk (1950) identifican en la familia tallos frecuentemente rectangulares y desarrollo de colénquima en los ángulos. El floema se agrupa en paquetes vasculares opuestos a los ángulos del tallo, conectados por elementos esclerenquimatosos que unen al xilema y forman un cilindro continuo. Las células epidérmicas presentan sinuosidades en las paredes anticlinales. Los estomas son, por lo general, de tipo diafítico, se localizan en ambas superficies de la hoja o en ocasiones sólo sobre una. En particular *Plectranthus* forma anillos cerrados de colénquima en la zona cortical y tejido que se suberiza, en la región subepidérmica.

Ascensão *et al.* (1998) en su descripción del indumento de *Plectranthus madagascariensis* (Pers.) Benth., en los órganos vegetativos y reproductivos, citaron que los tricomas no glandulares son uniseriados y en los glandulares hay de dos tipos, capitados y peltados. El indumento de *Plectranthus ornatus* Codd., además exhibe tricomas glandulares digitiformes y conoidales (Ascensão *et al.*, 1999).

En el caso de los granos de polen, en Lamiaceae se han registrado los tricolpados y hexacolpados, presentes en las tribus Mentoideae, Monordeae y Ocimoideae. En esta última con frecuencia se observa una forma oblato esférica o suboblata, a veces subprolata o prolata esferoidal. La exina, por lo general, es fina y ornamentada, rugosa, finamente granulada o reticulada y los colpos son más o menos abiertos (Pla-Dalmau, 1961; Cantino y Sanders, 1986; Suddee *et al.*, 2004).

INTRODUCTION

The genus *Plectranthus* L' Her belongs to the family Lamiaceae tribe Ocimeae and comprises 300 species between herbaceous and subshrubbery, that are distributed in tropical and subtropical regions of Asia, Africa, Australia, and the Pacific Islands. The vast majority are grown for their ornamental character or its essential oils. In folk medicine used against vomiting, nausea, infections of the ear, wisdom teeth or throat pain, burns, dermatitis and as an antiseptic (Ascensão *et al.*, 1998; Ascensão *et al.*, 1999; Menéndez and Pavón, 1999).

The genus is newly introduced in Mexico, and the vegetative part of the plant is sold at local markets, because its flowering is rare. The hallmark of *Plectranthus* is that the flower has four lobes on the upper lip and one on the bottom (Menéndez and Pavón, 1999), but its taxonomic determination cannot rely only on floral morphology, as the characters are unstable and connect with intermediate forms; thus, an anatomical study is a tool in the delimitation of genera and species separation (Suddee *et al.*, 2004).

In general, Metcalfe and Chalk (1950) often identified in the family rectangular stems and development of collenchyma at the corners. The phloem is grouped into vascular packages opposed to the angles of the stem, connected by sclerenchymatous elements that bind to the xylem and form a continuous cylinder. The epidermal cells are recesses in the anticlines walls. The stomata are, in general diacytic type, they are located on both surfaces of the sheet or sometimes only on one. *Plectranthus* in particular form closed rings of collenchymas in the cortical area and tissue that is suberized, in the sub epidermal region.

Ascension *et al.* (1998), in their description of the layer of the vegetative and reproductive organs of *Plectranthus madagascariensis* (Pers.) Benth., cited that the non-glandular trichomes are uniseriated and in the glandular are of two types, capitated and peltated. The layer of *Plectranthus ornatus* Codd. also exhibits glandular finger-form conoidal trichomes (Ascensão *et al.*, 1999).

In the case of pollen grains, in Lamiaceae tricolpate and hexacolpate have been recorded; present in the Mentoideae, Monordeae and Ocimoideae tribes. In the latter, it is frequently observed an oblate-spherical or sub-oblate, sometimes sub-prolate or spheroidal prolate form. The exine is usually thin and ornate, rough, finely granulated or reticulated and colpos are more or less open (Pla-Dalmau, 1961; Cantino and Sanders, 1986; Suddee *et al.*, 2004).

Byrd (1978) and The Royal Horticultural Society (1992) describe the morphological characteristics of *Plectranthus coleoides* c.v. mint leaf. Pointing out that it is a herbaceous perennial

Byrd (1978) y The Royal Horticultural Society (1992) proporcionan características morfológicas de *Plectranthus coleoides* c.v. mintleaf, ellos señalan que se trata de una planta herbácea, perenne, semi suculenta, muy aromática al estrujarse con olor a "vaporub", tallo erecto, con un promedio de 150 cm de alto, densamente pubescente; hojas ovadas de 2.87 x 2.68 cm, pecioladas, crenadas, pubescentes en ambas caras; peciolo de 10 a 15 mm de longitud (figuras 1 A-B). Inflorescencia terminal simple, en verticilastros de 4-16 flores; flor hermafrodita, zigomorfa, pedicelada; cáliz persistente, pentadentado, regular, de 2 mm y con pelos excretores pluricelulares; corola simpétala, de color morado, de 6 mm de longitud, tubular con 5 lóbulos, limbo frecuentemente bilabiado, labio superior de 4 lóbulos, labio inferior con un solo lóbulo; 4 estambres, didínamos, adnados al labio inferior, delgados de 4 mm aproximadamente, anteras biloculares, dorsifijas, con dehiscencia longitudinal (figuras 1 C-D); ovario supero, tetralocular, estigma ginobásico, bifido; fruto formado por 4 mericarpios lisos.

En la actualidad, características como la forma de los tricomas, desarrollo de colénquima, tipo de estoma y la morfología del polen se utilizan en estudios filogenéticos y juegan un papel importante en las recientes clasificaciones de la familia Lamiaceae (Ryding, 1994), por lo que un estudio anatómico a nivel de raíz, tallo y hoja tiene por objetivo ayudar a la determinación de la especie y la aplicación de la morfología del polen como una herramienta para complementar su identidad taxonómica.

plant, semi-succulent, very aromatic when squeezing with a "vaporub" scent, erect stem, with an average of 150 cm high, densely pubescent; leaves ovate 2.87 x 2.68 cm, petiolate, crenate, pubescent on both sides, 10 to 15 mm in length (figures 1 A and B) petioles. Simple terminal inflorescence in verticillaster flowers 4-16; hermaphrodite flowers, zygomorph, pedicelate; persistent calyx, pentadentated, regular, 2 mm and excretory multicellular hairs; sim petal corolla, purple color, 6 mm long, tubular with 5 lobes, often bilabiated limb, 4-lobed lower lip with a single lobe upper lip; 4 stamens, didynamous, adnated to the lower lip, thin 4 mm, bilocular anthers, dorsifixed, with longitudinal dehiscence (figures 1 C and D); ovary exceeded, tetralocular, bifid gynobasic, stigma; fruit formed by 4 smooth mericarps.

At present, features such as the shape of the trichomes, collenchymas development, type of stoma and the morphology of pollen are used in phylogenetic studies and play an important role in recent classifications of the Lamiaceae family (Ryding, 1994); thus, an anatomical root system, stem and leaf aims to help to identify of the species and the application of the morphology of the pollen as a tool to complement its taxonomic identity.

The use of different statistical analysis allows a better management of the morphological characters that define species, since they make it possible to know intervals by character, to relate characters between them and form groups by their resemblance.



Figura 1. Caracteres morfológicos de *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mintleaf (vaporub). A) Tallo erecto; B) Hojas pubescente en ambas caras; C) Inflorescencia terminal simple; D) Acercamiento de la flor.

Figure 1. Morphologic characteres of *Plectranthus coleoides* c.v. mintleaf (vaporub). a) Straight stem; b) Pubescent leaves in both sides; c) Simple terminal inflorescence; d) Closer look of the flower.

El uso de diferentes análisis estadísticos permite tener un mejor manejo de los caracteres morfológicos que definen a las especies, ya que permiten conocer los intervalos por carácter, relacionar los caracteres entre ellos y formar grupos por su similitud.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia vegetal

Se obtuvieron siete ejemplares vivos de *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mintleaf, conocido como "vaporub", los cuales fueron numerados del 1 al 7 de la siguiente forma: 1 (Tenencia-Morelos, Michoacán); 2 (Invernadero del Herbario Nacional Forestal "Luciano Vela Gálvez" INIF del CENID-COMEF, INIFAP); 3 y 4 (Mercado de las flores en Xochimilco, D.F.); 5 (mercado "sobre ruedas" delegación Iztapalapa, D.F.); 6 (mercado "sobre ruedas" delegación Álvaro Obregón) y 7 (mercado "sobre ruedas" del municipio Atizapán de Zaragoza. Dos de estos últimos se transplantaron al Jardín Botánico de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala (UNAM).

A partir de los individuos en floración (1, 2 y 4) se hizo la determinación taxonómica, para lo cual se utilizó como referencias a Byrd (1978) y el catálogo de la Royal Horticultural Society (1992); el material botánico se herborizó y depositó en el Herbario "IZTA" (Núm. de registro 41669, 41670 y 41671) y "MEXU" (Núm. de registro 1133532 y 1133533) de la UNAM para su resguardo.

Descripción anatómica

A partir de la raíz, tallo (basal, medio y apical) y hoja (parte media) de todos los individuos se hicieron cortes con una navaja de doble filo sobre un portaobjetos; se fijaron en FAA (90 mL de alcohol etílico al 70%, 5 mL de ácido acético glacial y 5 mL de formol comercial); enseguida se montaron, raíz y tallo en gelatina-safranina y las hojas en gelatina transparente.

Con una reglilla micrométrica se midieron los siguientes caracteres.

- a) Corte transversal de raíz y tallo: grosor de célula epidérmica; grosor del córtex; grosor del cilindro vascular y diámetro total de la médula.
- b) Corte transversal de hoja: grosor de célula epidérmica; base y altura del tricoma no glandular uniseriado; base y altura del tricoma glandular capitado de tallo largo y corto; grosor del mesófilo en empalizada y esponjoso; diámetro total de la nervadura principal; largo y ancho del paquete vascular y diámetro de los vasos xilemáticos.

Índice estomático

La descripción de las paredes anticlinales de las células epidérmicas y el tipo de estomas se realizó mediante la técnica

MATERIALS AND METHODS

Vegetal matter

Seven living samples of *Plectranthus coleoides* mint leaf, known as "vaporub", were obtained, which were numbered from 1 to 7 in the following way: 1 (Tenencia-Morelos, Michoacan); 2 (Greenhouse of the "Luciano Vela Gálvez" National Forest Herbarium (INIF) CENID-COMEF, INIFAP); 3 and 4 (Market of flowers in Xochimilco, Mexico City); 5 (Market "on wheels" Iztapalapa, Mexico City); 6 (Market "on wheels" Alvaro Obregon) and 7 (Market "on wheels" of the municipality of Atizapan de Zaragoza, Estado de México.) Two of the latter were transplanted to the Botanical Garden of the Facultad de Estudios Superiores Iztacala (FES-I UNAM).

Taxonomic determination was made with flowering individuals of number 1, 2 and 4 samples, using the work of Byrd (1978) as reference and the catalogue of the Royal Horticultural Society (1992); the botanic material was herborized and deposited in the "IZTA" Herbarium with the following registration numbers: 41669, 41670 and 41671; and in the National Herbarium "MEXU" of the National University of Mexico (UNAM), with the registration numbers: 1133532 and 1133533.

Anatomical description

From the root stem (basal, middle and apical) and leaf (middle part) of all individuals cuts were made, manually, with a knife of double-edged sword on a slide; they were set in FAA (90 mL of ethyl alcohol at 70%, 5 mL of glacial acetic acid and 5 mL of commercial formaldehyde), were soon mounted, root and stem in gelatine-safranine and the leaves in transparent gelatine.

The following characters were measured with a micrometric ruler:

- a) Cross section cut of root and stem: thickness of epidermal cell; thickness of the cortex; thickness of the vascular cylinder and total diameter of the core.
- b) Cross section cut of sheet: thickness of epidermal cell; base and height of the non-glandular uniseriate trichome; base and height of the glandular capitated trichome of long and short stem; stem thickness in the stockade and spongy mesophyll; total diameter of the mid ribs, length and width of the vascular package and vessel xilematic diameters.

Stomatal index

Description of anticlines walls of epidermal cells and stomata type was performed using the technique of diaphanisation, which consisted in removing the mesophile of leaves with the help of a double-bladed knife to leave only the abaxial and/or adaxial epidermis, later. they were put into a 95% alcohol solution for a 24 h period in order to remove the chlorophyll.

de diafanización, que consistió en eliminar el mesófilo de las hojas con ayuda de una navaja de doble filo para dejar sólo la epidermis abaxial y/o adaxial; posteriormente se colocaron en alcohol al 95 % por un periodo de 24 horas, para extraer la clorofila. Después de este tiempo se transfirió el material a una solución de hidróxido de sodio al 5 %, por otras 24 horas. El material aclarado se lavó con agua destilada. Por último se tiñó con azul de toluidina y se montó en gelatina glicerinada.

Los caracteres observados y cuantificados en la epidermis fueron: tipo de estoma y número de células adyacentes. El índice estomático se determinó por medio de la siguiente fórmula:

$$IE: \text{estomas} / (\text{estomas} + \text{células adyacentes}) \times 100$$

Análisis morfopalinológico

De los tres ejemplares que florecieron, se tomaron las anteras para la obtención de granos de polen, los cuales se colectaron y se secaron a temperatura ambiente, posteriormente se aplicó la técnica de acetólisis de Erdtman (1952). Las muestras se montaron en gelatina-safranina, a los granos de polen se les midió el diámetro en vista ecuatorial y polar, longitud de los colpos, distancia entre colpos y grosor de la ectexina y se contó el número de colpos.

Mediciones y observaciones

Las observaciones se hicieron en un microscopio óptico Nikon® con aumento total de X40, X100, X200, X400 y X1000. Se realizaron 25 mediciones al azar de cada uno de los caracteres considerados, para lo cual se utilizó una reglilla micrométrica. Se seleccionaron las mejores preparaciones para la toma de micro fotografías con cámara FX-3DX. Para el polen se usó una cámara digital Nikon® ds fil.

Modelo estadístico y análisis de la información

Con el valor promedio de los caracteres de la hoja, tallo basal, tallo medio, tallo apical y raíz se llevó a cabo un análisis de varianza, en el cual la H_0 se refiere a que todos los caracteres sean diferentes, contra la alternativa de que los miembros de al menos un par sean iguales; el criterio de decisión para rechazar la H_0 es que F_0 sea menor que la F de tablas. Cuando las diferencias fueron significativas entre los caracteres ($p \leq 0.05$) se efectuaron pruebas de comparación de medias de Tukey con la fórmula:

$$\sqrt{\text{HSD}} = \alpha \text{ CM} \sqrt{n}$$

After this time the material was transferred to a 5% sodium hydroxide solution of for another 24 h. The clear material was washed with distilled water. Finally it was stained with toluidine blue and was mounted on glycerinated gelatin.

The observed and quantified characters in the epidermis were: stomatal type and number of adjacent cells; the stomatal index was determined by the following formula:

$$SI: \text{stomata} / (\text{stomata} + \text{adjacent cells}) \times 100$$

Morphologic analysis

From the three samples that flourished, the anthers were taken to obtain pollen grains, which were collected and dried at room temperature; later, the Erdtman (1952) acetolysis technique was applied. Samples were mounted on gelatine-safranin; diameter of the pollen grains was measured in equatorial and polar sides; length of the colpi, distance between the colpi and thickness of the ectexine and the number of colpi were counted.

Measurements and observations

Observations were made in an optical microscope Nikon® with total magnification of X 40, X 100, X 200, X 400 and X 1000. Twenty five measurements were carried out at random for each one of the features with a micrometric ruler. The best preparations were selected for micro pictures with a FX-3DX Nikon digital camera. For pollen, a Nikon digital camera® ds fil was used.

Statistical model and data analysis.

With the average value of the character of the leaf, basal stem, half stem, apical stem and root an analysis of variance was carried out, in which the H_0 refers that all the characters are different, opposite to the alternative hypothesis which states that the members of at least a couple, are equal; the approach of decision to reject the H_0 is that F_0 is smaller than the F of tables. When the differences between characters were significant ($p \leq 0.05$) tests of comparison of means of Turkey were made with the following formula:

$$\sqrt{\text{HSD}} = \alpha \text{ CM} \sqrt{n}$$

Where:

HSD = Honestly Significant Difference

α = Significance from tables (0.05)

CM = Mean square Error from the analysis of variance (ANOVA)

n = Number of events

Donde:

- HSD = Diferencia honestamente significativa de Tukey
- α = Significancia derivada de tablas (0.05)
- CM = Cuadrado medio del error derivado del análisis de varianza (ANOVA)
- n = Número de individuos

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Descripción anatómica

En el corte transversal de raíz se distinguieron las siguientes estructuras: cutícula inconspicua, epidermis uniestratificada de forma rectangular, paredes rectas y delgadas; peridermis compuesta por dos a cuatro capas de células de súber; córtex integrado por colénquima angular de dos a tres bandas discontinuas en toda la periferia. Abajo de estas zonas el esclerénquima está agrupado en paquetes, previo al cilindro vascular (Figura 2 A). El cilindro vascular es continuo, constituido por floema primario y secundario con células dispuestas en capas. El xilema secundario presenta fibras y vasos xilemáticos dispuestos en forma radial (Figura 2 B). Parénquima medular al centro de 1.98 ± 0.76 mm, de forma circular con 16 a 30 capas de células isodiamétricas y grandes espacios intercelulares (Cuadro 1).

RESULTS AND DISCUSSION

Anatomical description

In the crosscutting of the root the following structures are distinguished: inconspicuous cuticle, single-stratified skin with rectangular shape, straight and thin walls, composed of two to four layers of cells of suber; peridermis cortex consisting of angular colenchyma of two or three discontinuous bands throughout the periphery. Below these areas, the sclerenchyma is grouped in packages, prior to the vascular cylinder (Figure 2 A). The vascular cylinder is continuous, consisting of primary and secondary phloem cells arranged in layers. The secondary xylem presents fibers and xylematic vessels arranged in a radial display (Figure 2 B). Medullar parenchyma 1.98 in the center ± 0.76 mm, circular in shape with 16 to 30 layers of isodiametric cells and large intercellular spaces (Table 1).

Crosscutting of basal stem. Trichomes are located along the stem and the leaves are of two types: not glandular trichomes uniseriated and unicellular capitated with long stems and short glandular trichomes. The first are more abundant (figures 3 a-CS). Round stem, inconspicuous cuticle, single-stratified skin of rectangular shape (Figure 4 A), straight and thin walls. Peridermis composed by two to five layers of cells of

Cuadro 1. Valores mínimo y máximo de los caracteres analizados mediante cortes transversales en raíces de *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mintleaf.

Table 1. Values for minimum and maximum of the character analyzed by cross-sections in roots of *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mintleaf.

Caracteres	Mínima (μm)	Media (μm)	Máxima (μm)	D.S.
Epidermis	12	19	23	6
Peridermis	39	48	57	9
Córtex	130	157	190	30
Esclerénquima agrupado largo	128	143	157	15
Esclerénquima agrupado ancho	50	58	67	9
Cilindro vascular	756	993	1118	216
Vaso xilemático	41	45	50	5
Floema	11	158	181	39
Médula	1.32	1.98	2.81	0.76

D.S. = Desviación estándar
D.S. = Standard deviation

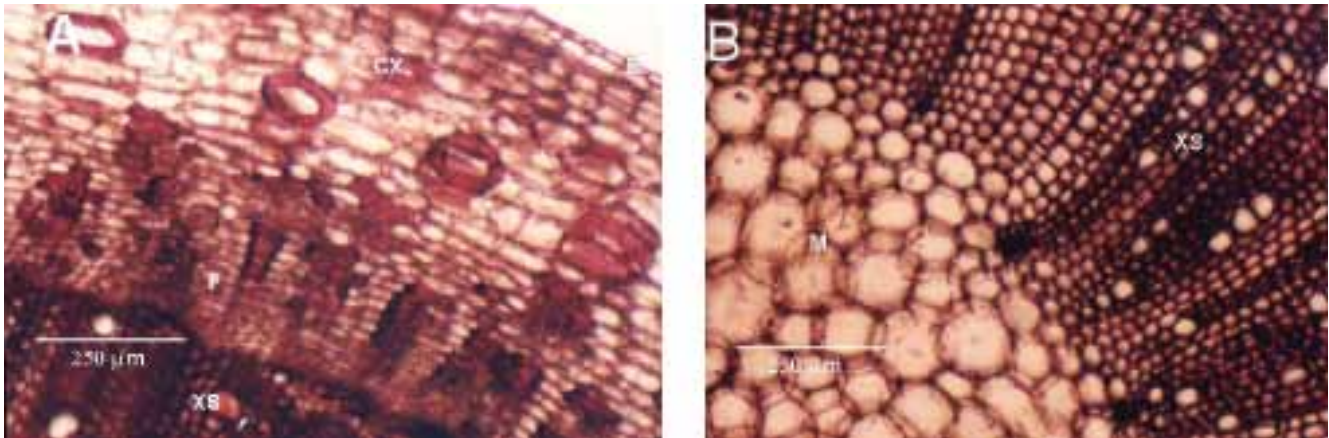


Figura 2. A (X40) y B (X100). Corte transversal de raíz en *Plectranthus coleoides* c.v. mintleaf (vaporub).

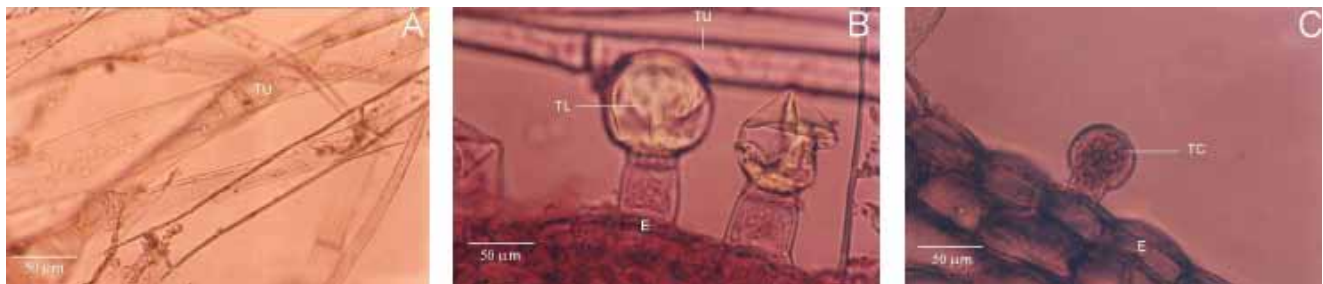


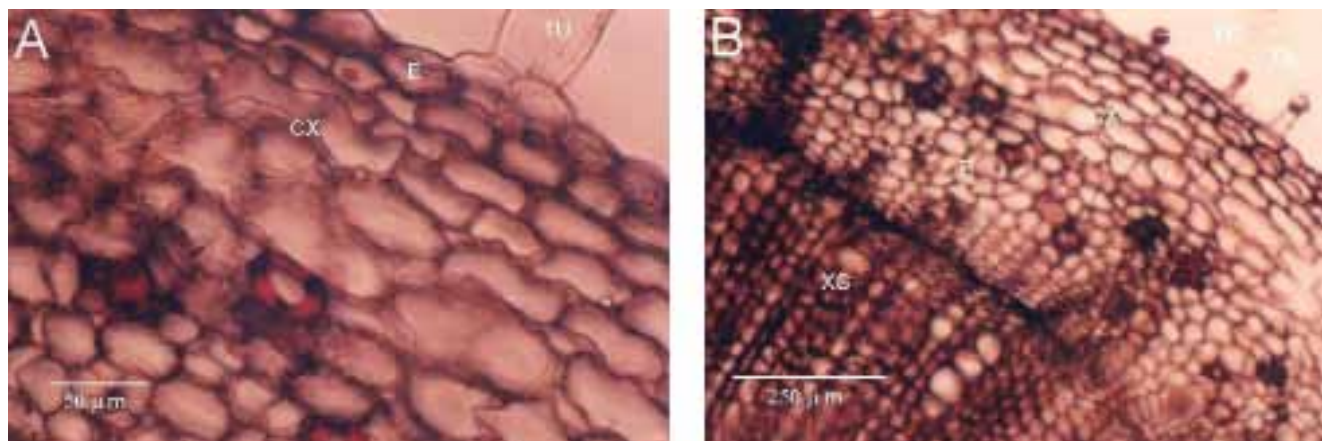
Figura 3. Tricomas presentes en tallo y hoja. A (X200) Tricoma no glandular de tipo uniseriado; B (X200) Tricoma glandular capitado de tallo largo. C (X200) Tricoma glandular capitado de tallo corto.

Figure 3. Trichomes in stem and leaf. (A) (200 X) non- glandular uniseriate trichome; (B) (X 200) glandular capitated trichome of long stem. (C) (X 200) glandular capitated trichome of short stem.

Corte transversal de tallo basal. Los tricomas se localizan a lo largo del tallo y en las hojas, son de dos tipos: tricomas no glandulares uniseriados y tricomas glandulares capitados unicelulares con tallos largos y cortos. Los primeros son más abundantes (figuras 3 A-C). Tallo redondo, cutícula inconspicua, epidermis uniestratificada, de forma rectangular (Figura 4 A), paredes rectas y delgadas. Peridermis compuesta por dos a cinco capas de células de súber. Córtex integrado por colénquima angular de dos a tres bandas discontinuas en toda la periferia; presencia de clorénquima de tres a siete capas celulares. Por debajo de estas zonas el esclerénquima se agrupa en paquetes, previo al cilindro vascular (Figura 4 B). El cilindro vascular es continuo, constituido por floema primario y secundario con células dispuestas en capas. El xilema secundario presenta fibras y vasos xilemáticos distribuidos en forma radial (Figura 4 B). Parénquima medular al centro, de forma circular con 15 a 26 capas de células isodiamétricas y grandes espacios intercelulares (Cuadro 2).

suber. Cortex consists of angular colechyma of two or three discontinuous bands throughout the periphery; clorenchyma of three to seven cell layers. Below these areas the sclerenchyma is grouped in packages, prior to the vascular cylinder (Figure 4 B). The vascular cylinder is continuous, consisting of primary and secondary phloem cells arranged in layers. The secondary xylem presents xilematic fibers and vessels distributed in radial form (Figure 4 B). Medullar parenchyma at the center of a circle with 15 to 26 layers of isodiametric cells and large intercellular spaces (Table 2).

The anatomical structure of the root and basal stem are similar: both have secondary vascular tissue that forms a complete cylinder where xylem prevails, with vertical and horizontal elements composed of vessels, fibers, axial parenchyma and medullar rays (figures 2 and 4) (Fahn, 1974). The development of the secondary vascular and the formation



CX= Córtez; E= Epidermis; F= Floema; TC= Tricoma glandular corto; TL= Tricoma glandular largo; TU= Tricoma no glandular uniseriado; XS= Xilema secundario.
 CX = cortex; E = Epidermis; F = phloem; TC = short glandular trichome; TL = long glandular trichome; TU = non- glandular uniseriated trichome; XS = xylem secondary.

Figura 4. A (X100) y B (X40). Corte transversal de talla basal de *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mintleaf.
 Figure 4. A (100 X) and (B) (X 40). Crossed-section of basal size of *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mintleaf.

Cuadro 2. Valores mínimo y máximo de los caracteres analizados en corte transversal en tallo basal de *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mintleaf.

Table 2. Minimum and maximum of the character analyzed through cross-section in basal stem values of *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mintleaf.

Caracteres	Mínima (µm)	Media (µm)	Máxima (µm)	D.S.
Tricoma uniseriado largo	477	691	800	185
Tricoma glandular tallo largo (altura)	116	125	142	14
Tricoma glandular tallo corto (altura)	36	36	39	5
Epidermis	16	18	23	4
Peridermis	57	58	58	1
Colénquima	43	66	83	21
Clorénquima	177	196	223	24
Esclerénquima agrupado largo	107	118	132	13
Esclerénquima agrupado ancho	49	54	64	8
Cilindro vascular	1.03	1.31	1.7	0.35
Vaso xilemático	36	42	47	6
Floema	153	196	269	64
Médula	1.8	2.23	2.9	0.59

D.S. = Desviación estándar
 D.S. = standard deviation

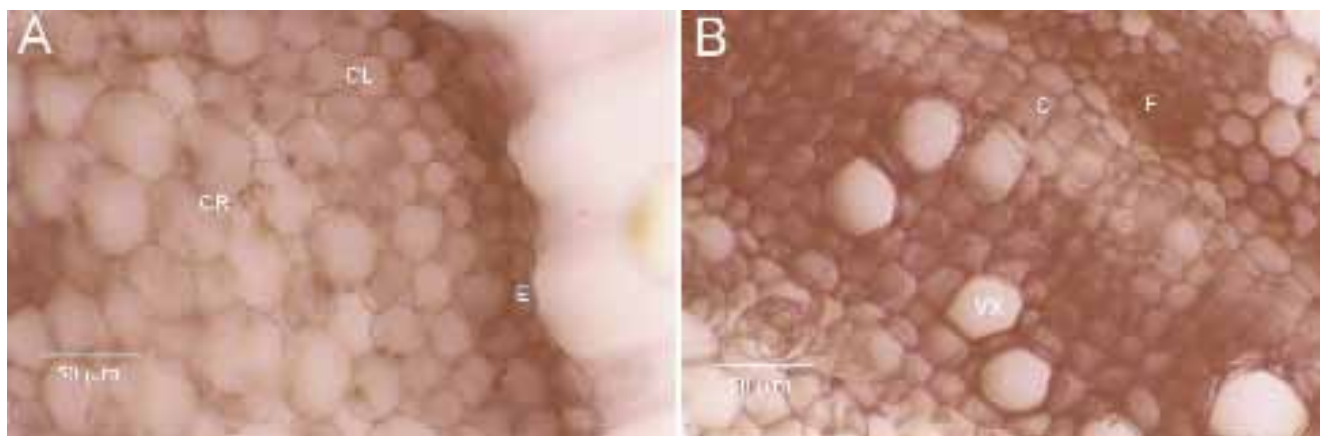
La estructura anatómica de la raíz y del tallo basal son semejantes: ambos tienen tejido vascular secundario que forma un cilindro completo en el que predomina el xilema, con elementos verticales y horizontales compuesto por vasos, fibras, parénquima axial y radios medulares (figuras 2 A y 4 A) (Fahn, 1974). Con el desarrollo del tejido vascular secundario la formación de súber ocurre paralelamente. Desde el punto de vista funcional el tejido suberizado es una capa protectora que reemplaza a la epidermis, cuando ésta se desprende. La formación de tejido suberizado subepidérmico, en el género *Plectranthus*, es un fenómeno común que se presenta en las partes vegetativas que poseen crecimiento secundario con grosor continuo y pronunciado, lo que le proporciona una consistencia subleñosa (Metcalf y Chalk; 1950), como la que se observa en las partes más viejas del tallo y raíz de las herbáceas dicotiledóneas (Fahn, 1974; Esau, 1985).

Corte transversal de tallo medio. Tricomas no glandulares uniseriados, de hasta 10 células; tricomas glandulares capitados unicelulares de tallos largos y cortos, los primeros son más abundantes. Tallo redondo; cutícula inconspicua. Epidermis uniestratificada, de forma rectangular con paredes rectas y delgadas (Figura 5 A). El córtex está formado por colénquima angular con dos a cuatro bandas discontinuas en toda la periferia; seguido por células de clorénquima de tres a diez capas (Figura 5 A). El cilindro vascular es de tipo eustele, en paquetes discontinuos; constituido por floema primario con células dispuestas en capas. El xilema primario está integrado por fibras y vasos xilemáticos dispuestos radialmente. Parénquima medular al centro, de forma circular, de 20 a 25 capas de células isodiamétricas con grandes espacios intercelulares (Cuadro 3) (Figura 5 B).

of suber occur in a parallel way. From a functional point of view, suberized tissue is a protective layer that replaces the epidermis, when it falls. Subepidermic suberized tissue, in the genus *Plectranthus*, is a common phenomenon that occurs in the vegetative parts that have secondary growth with continuous and pronounced thickness, which provides a sub-woody consistency (Metcalf and Chalk, 1950), such as the observer in older parts of the stem and root of herbaceous dicotyledons (Fahn, 1974; Esau, 1985).

Cross section of a medium-sized stem. Non-glandular uniseriate trichome, of up to 10 cells; unicellular capitate glandular trichomes of long and short stems, the first being the most abundant. Round stem; inconspicuous cuticle. Single-stratified epidermis of rectangular shape with straight and thin walls (Figure 5 A). Cortex is composed of angular collenchymas with two to four bands discontinuous throughout the periphery; followed by three to ten layers of chlorenchyma cells (Figure 5A). The vascular cylinder is of eustele type, in discontinuous packages; made up by primary phloem cells arranged in layers. The primary xylem is integrated by fibers and xylem vessels radially arranged. Medullar parenchyma at the center, circular shape, 20 to 25 layers of isodiametric cells with large intercellular spaces. (Table 3B) (Figure 5B).

Cross-section of an apical stem. Non-glandular uniseriate trichomes, of up to 9 cells; glandular unicellular capitate trichomes of long and short stems, being the first the most abundant. Round stem, inconspicuous cuticle. Single-stratified epidermis of rectangular shape with straight and thin walls (figures 6 A-B). Cortex formed by angular collenchyma with two to four



C = Cambium vascular; CL = Colénquima; CR = Clorénquima; E = Epidermis; F = Floema; VX = Vaso xilemático. Figura 5. A y B (X100).
C = vascular cambium; CL = Colechyma; CR = Clorenchyma; E = Epidermis; F = phloem; VX = xylem vessel.

Figura 5. A y B (X100). Corte transversal de tallo medio en *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mintleaf. Epidermis uniestratificada y córtex formado por colénquima subepidérmico de tipo angular y células de clorénquima además de tejido vascular secundario.
Figure 5 A and B (X 100). A crossed-section of medium stem in *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mint leaf. Single-stratified epidermis and cortex formed by subepidermic collenchyma of angular type and clorenchyma cells as well as secondary vascular tissue.

Cuadro 3. Valores mínimo y máximo de los caracteres analizados en corte transversal en tallo medio de *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mintleaf.

Table 3. Minimum and maximum values of the analyzed character by cross-section in a medium stem of *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mintleaf.

Caracteres	Mínima (µm)	Media (µm)	Máxima (µm)	D.S.
Tricoma uniseriado largo	0.84	1.03	1.22	0.13
Tricoma glandular tallo largo (altura)	110	130	149	13
Tricoma glandular tallo corto (altura)	37	39	41	2
Epidermis	15	19	23	3
Colénquima	42	70	85	16
Clorénquima	147	182	224	31
Esclerénquima agrupado largo	107	127	156	18
Esclerénquima agrupado ancho	33	40	48	6
Paquete vascular largo	245	523	706	163
Paquete vascular ancho	130	323	553	149
Vaso xilemático	25	33	41	7
Floema	43	99	137	32
Médula	1.66	1.7	1.78	0.04

Caracteres	Mínima (µm)	Media (µm)	Máxima (µm)	D.S.
Tricoma uniseriado largo	0.84	1.03	1.22	0.13
Tricoma glandular tallo largo (altura)	110	130	149	13
Tricoma glandular tallo corto (altura)	37	39	41	2
Epidermis	15	19	23	3
Colénquima	42	70	85	16
Clorénquima	147	182	224	31
Esclerénquima agrupado largo	107	127	156	18
Esclerénquima agrupado ancho	33	40	48	6
Paquete vascular largo	245	523	706	163
Paquete vascular ancho	130	323	553	149
Vaso xilemático	25	33	41	7
Floema	43	99	137	32
Médula	1.66	1.7	1.78	0.04

D.S. = Desviación estándar
D.S. = Standard deviation

Corte transversal de tallo apical. Tricomas no glandulares uniseriados, de hasta 9 células; tricomas glandulares capitados unicelulares de tallos largos y cortos, los primeros son más abundantes. Tallo redondo, cutícula inconspicua. Epidermis uniestratificada, de forma rectangular con paredes rectas y delgadas (figuras 6 A-B). Córtex formado de colénquima angular con dos a cuatro bandas discontinuas en toda la periferia; seguido por células de clorénquima de cuatro a diez capas. La figura 6B muestra la continuación del córtex y tejido vascular, se detalla el floema y xilema secundarios en fase temprana. El cilindro vascular es de tipo eustelete, en paquetes discontinuos; constituido por floema primario con células dispuestas en capas. El xilema primario integrado por fibras y vasos xilemáticos dispuestos radialmente. Parénquima medular al centro, de forma circular, de 15 a 26 capas de células isodiamétricas con grandes espacios intercelulares (Cuadro 4) (Figura 6 A).

discontinuous bands in throughout the periphery; followed by of four to ten layers of clorenchyma cells. Figure 6B shows the continuation of the cortex and tissue vascular, detailed side in early stage the phloem and xylem. The vascular cylinder is of eustelete type, in discontinuous packages; made up by primary phloem cells arranged in layers. The primary xylem is integrated by fibers and xilematic vessels radially arranged. A medullar parenchyma at the center, circular shape, from 15 to 26 layers of isodiametric cells with large intercellular spaces is represented in Table 4 (Figure 6 A).

The seven analyzed specimens show a single-stratified epidermis with medium ($19 \pm 3 \mu\text{m}$) and apical ($17 \pm 3 \mu\text{m}$) thickness which increases as they mature (figures 5A and 6B), with glandular capitated trichomes long and short in the whole stem of the plant, as well as non glandular uniseriated, but of

Cuadro 4. Valores mínimo y máximo de los caracteres analizados en corte transversal en tallo apical de *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mintleaf.

Table 4. Minimum and maximum values of the analyzed character by cross-section in an apical stem of *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mintleaf.

Caracteres	Mínima (μm)	Media (μm)	Máxima (μm)	D.S.
Tricoma uniseriado largo	0.86	1.15	1.42	0.21
Tricoma glandular tallo largo (altura)	95	149	213	39
Tricoma glandular tallo corto (altura)	36	39	45	3
Epidermis	14	17	22	2
Colénquima	47	66	77	11
Clorénquima	117	168	241	41
Paquete vascular largo	130	265	390	90
Paquete vascular ancho	94	107	140	15
Vaso xilemático	19	27	34	5
Floema	57	118	155	36
Médula	1.18	1.41	1.67	0.17

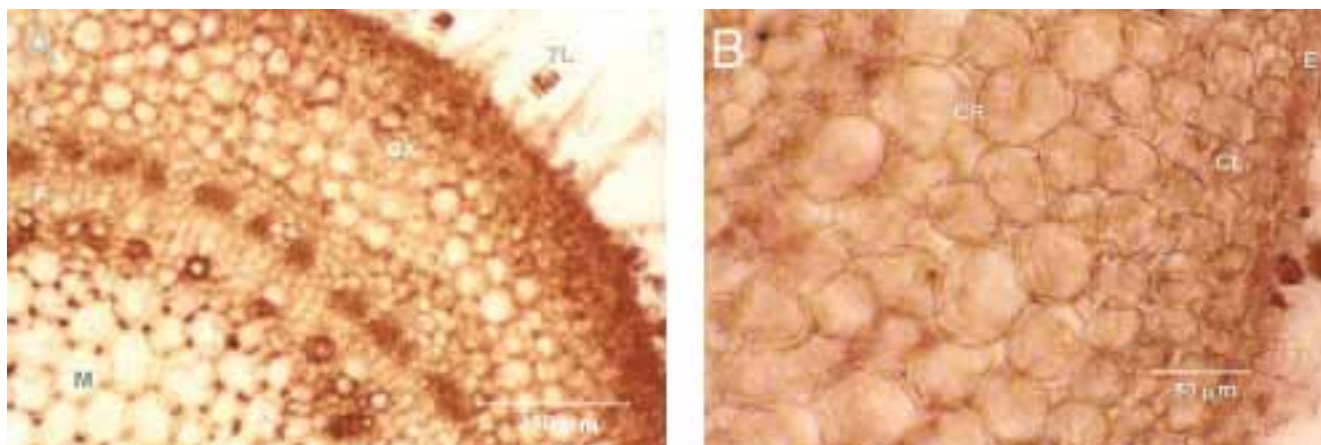
D.S. = Desviación estándar

D.S. = standard deviation

Los siete individuos estudiados muestran epidermis uniestratificada con grosor a nivel medio ($19 \pm 3 \mu\text{m}$) y apical ($17 \pm 3 \mu\text{m}$) el cual aumenta a medida que estos maduran (figuras 5 A y 6 B), con tricomas glandulares capitados largos y cortos en todo el tallo de la planta, así como no glandulares uniseriados sólo que de mayor longitud en la porción apical (figuras 2 A-C). Se ha sugerido que el significado ecológico de los tricomas abundantes, es de protección contra el sol y para evitar la pérdida de agua (Ascensão *et al.*, 1998).

greater length in the apical section (figures 2 A-C). It has been suggested that the ecological significance of the abundant trichomes, is protection against the sun and to avoid the loss of water (Ascensão *et al.*, 1998).

The subepidermic colenchyma forms discontinuous bands in the reviewed material, which consist of living cells with unevenly thickened walls (figures 5A and 6B), that arrangement does not match with what Metcalfe and Chalk described (1950)



CL = Colénquima; CR = Clorénquima; CX = CórteX; E = Epidermis; F = Floema; M = Médula; TL = Tricoma glandular largo.
 CL = Colechyma; CR = Clorenchyma; CX = cortex; E = Epidermis; F = phloem; M = cord; TL = long glandular trichome.

Figura 6. A (X40) y B (X100). Corte transversal de tallo apical de *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mintleaf. Tallo semicircular. Células de clorénquima con gran cantidad de cloroplastos, cilindro vascular de tipo eustelete y médula con grandes espacios intercelulares.
 Figure 6 A. (X 40) and (B) (X 100). Cross section of apical stem of *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mint leaf. Semi-circular stem. Clorenchyma cells with a great amount of chloroplasts, eustelete type vascular cylinder and core with large intercellular spaces.

El colénquima subepidérmico se presenta en bandas discontinuas en el material revisado, que constan de células vivas con paredes engrosadas de forma desigual (figuras 5 A y 6 B), dicha disposición no coincide con lo descrito por Metcalfe y Chalk (1950) para el género *Plectranthus*, quienes observan anillos de colénquima cerrado en el córtex. Este arreglo permite que funcione como tejido mecánico durante todo desarrollo de la planta, y le proporciona plasticidad y la posibilidad de alcanzar tallas superiores (Fahn, 1974).

El clorénquima está constituido por parénquima fotosintético, con grosor promedio entre 1.82 ± 31 mm y 1.68 ± 41 mm en todos los individuos (figuras 5 A y 6 B), el cual aumenta conforme madura. Este tejido es importante para la regeneración y restauración de heridas (Esau, 1985).

El esclerénquima lo integran células con paredes secundarias engrosadas de forma uniforme, lignificadas o poco lignificadas. El diámetro de las fibras esclerosadas tiene un promedio de $20 \pm 1 \mu\text{m}$ en los individuos revisados; se dispone en paquetes a nivel de tallo medio y basal, en respuesta a que son órganos que necesitan protección, elasticidad y resistencia, por el continuo crecimiento celular (Fahn, 1974).

El sistema vascular del tallo consta de un cilindro de xilema y floema discontinuo que envuelve a la médula (Figura 6 A), se trata de un eustelete, y sólo en algunos individuos llega a madurar en tejido secundario hasta el nivel medio de la planta, lo cual puede deberse a la condición propia de una especie subleñosa o herbácea, o bien que el material a estudiar proceda de ejemplares jóvenes. La médula es un

for the genus *Plectranthus*, who observed rings of colenchyma closed in the cortex. This arrangement allows it to work as a mechanical tissue throughout the whole development of the plant, and provides it plasticity and the possibility of reaching greater sizes (Fahn, 1974).

The clorenchyma consists of a photosynthetic parenchyma, with average thickness between 1.82 ± 31 mm and 1.68 ± 41 mm in all individuals (figures 5A and 6 B), which increases as it matures. This tissue is important for the regeneration and restoration of wounds (Esau, 1985).

The sclerenchyma is formed by cells with secondary walls uniformly thickened, lignified or slightly lignified. The diameter of the esclerosed fiber has an average of $20 \pm 1 \mu\text{m}$ in the analyzed individuals; it is displayed in packages at the level of medium and basal stem, in response to the fact that they are bodies that need protection, elasticity and resistance, by continuous cell growth (Fahn, 1974).

The vascular stem system consists of a cylinder discontinuous xylem and phloem that wraps the core (Figure 6 A); it is an eustelete, which only in some individuals reaches a mature secondary tissue to the middle level of the plant, which may be due to the condition proper of a sub woody or herbaceous species, or else that the material to study comes from young samples. The core is a more or less cylindrical tissue body located at the center of the axis and surrounded by vascular tissues, with large parenchymal cells of thin wall, that store water; lack chloroplasts and intercellular spaces, as cited in general for herbaceous plants (Esau, 1985).

cuerpo tisular más o menos cilíndrico situado en el centro del eje y rodeado por los tejidos vasculares, con células grandes parenquimáticas, de pared fina, que almacenan agua, carecen de cloroplastos y espacios intercelulares, como se cita de manera general para las plantas herbáceas (Esau, 1985).

Corte transversal de hoja. En vista superficial, las células epidérmicas tienen paredes anticlinales más o menos sinuosas. Estomas, en ambas superficies, de tipo diacítico (Caryophyllaceae), más abundantes en la epidermis abaxial; índice estomático en la superficie adaxial de 62 ± 6.43 y en la superficie abaxial de 86 ± 2.55 (figuras 7 A-C). En ambas los intervalos de valores para la longitud de estomas y células accesorias son muy similares (Cuadro 5). En sección transversal, las epidermis son uni-stratificadas; células típicas, procumbentes, las paredes anticlinales en las dos superficies son rectas y delgadas. Tricomas no glandulares uniseriados, cuerpo con dos a diez células y tricomas glandulares capitados unicelulares, de tallos largos y cortos; tricomas glandulares peltados muy escasos, la mayor ocurrencia se observa en la cara abaxial. Mesófilo bifacial representado por parénquima en empalizada, constituido por dos a siete capas de células alargadas de forma vertical y parénquima esponjoso con dos a seis capas de células. Nervadura media, tres a ocho capas de células parenquimatosas que rodean el paquete vascular abierto (Cuadro 5).

Cross-section of the leaf. In a superficial view, the epidermal cells have more or less sinuous anticlinal walls. Stomata on both surfaces, of diacitic type (Caryophyllaceae), more abundant in the abaxial epidermis; index stomata on the adaxial surface of 62 ± 6.43 and abaxial surface of 86 ± 2.55 (figures 7 A-C). In both, the intervals of values for the length of stomata and accessory cells are very similar (Table 5). In cross section, the epidermises are uni-stratified; typical, procumbent cells, anticlinal walls in both surfaces are straight and thin. Non glandular trichomes uniseriated, body with two to ten cells and single-celled capitated glandular trichomas, of long and short stems; very few peltate glandular trichomes, the greatest occurrence is seen in the abaxial face. Bifacial mesophile represented by palisade parenchyma, consisting of two to seven layers of elongated cells of vertical shape and spongy parenchyma with two to six layers of cells. Average ribs, three to eight layers of parenchymal cells that surround the open vascular package (Table 5).

In the seven individuals can be observed the epidermis of uni-stratified type, with tubular epidermal cells, more or less sinuous (diaphanized) anticlinal walls, as cited for the Lamiaceae family (Metcalf and Chalk, 1950;) Fahn, 1974, Azizian and Cutler, 1982).

Cuadro 5. Valores mínimo y máximo de los caracteres analizados en corte transversal en hoja de *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mintleaf.

Table 5. Minimum and maximum values of the analyzed character by cross-section in leaf of *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mintleaf.

Caracteres	Mínima (μm)	Media (μm)	Máxima (μm)	D.S.
Tricoma uniseriado largo	624	703	823	81
Tricoma glandular tallo largo (altura)	89	101	127	14
Tricoma glandular tallo corto (altura)	29	33	36	3
Epidermis	20	22	24	1
Células accesorias (Long.)	50	57	67	6
Longitud de estomas	28	31	35	2
Mesófilo esponjoso	267	427	550	101
Mesófilo empalizada	230	371	586	132
Vena media	569	874	1171	208
Paquete vascular largo	114	217	288	60
Paquete vascular ancho	99	172	213	41
Vaso xilemático	13	17	22	3

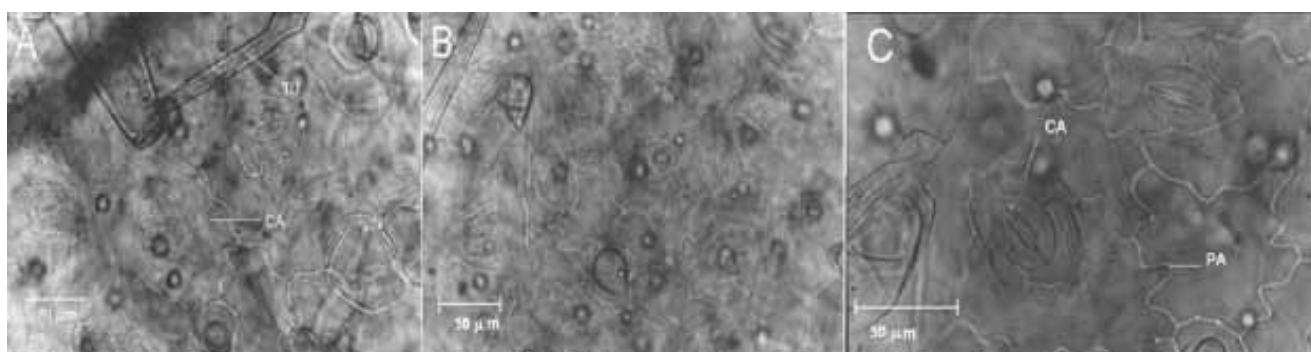
D.S. = Desviación estándar
D.S. = standard deviation

En los siete individuos se observa epidermis de tipo uniestratificada, con células epidérmicas tubulares, paredes anticlinales (diafanizada) más o menos sinuosas, de acuerdo a lo citado para la familia Lamiaceae (Metcalf y Chalk, 1950; Fahn, 1974, Azizian y Cutler, 1982).

El índice estomático para la superficie adaxial presenta un serie de valores que van de 50 - 69 y para la cara abaxial de 83 - 90. Estas cifras muestran un intervalo muy amplio para ambas caras, por lo que se requieren más estudios, con otras especies, para determinar su valor taxonómico, ya que en algunos trabajos se usa el índice estomático como un carácter taxonómico, porque se mantiene constante a nivel de género y especie (Rejdali, 1991).

The stomata index for the adaxial surface presents a series of values from 50-69 and the abaxial face from 83-90. These figures show a very broad interval for both sides, so more studies, with other species, are required to determine its taxonomic value, as in some works the stomata index is used as a taxonomic character, because it remains constant at the level of genus and species (Rejdali, 1991).

Ascensão *et al.* (1998, 1999) listed five types of trichomes in leaf, calyx and corolla of *Plectranthus madagascariensis* and *P. ornatus* Codd. of which in *P. coleoides* va. mint leaf are only observed three, so it is important to continue and increase the description of trichomes for the different species, as, apparently, it is a character with taxonomic value.



CA= Células accesorias; PA= Paredes anticlinales y TU= Tricoma no glandular de tipo uniseriado.
CA = Accessory cells; PA = anticlinal walls and TU = non glandular trichome of uniseriate type.

Figura 7. Caracteres anatómicos de *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mint leaf. A y B (X100). Presencia de mayor cantidad de estomas en epidermis abaxial; C (X200). Estoma diacítico y epidermis con paredes anticlinales más o menos sinuosas.

Figure 7. Anatomical characters of *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mint leaf. (A) and (b) (X 100). Presence of largest number of stomata in abaxial epidermis; (C) (X 200). Diacytic and more or less sinuous anticlines walled epidermis stoma.

Ascensão *et al.* (1998; 1999) detallan cinco tipos de tricomas en hoja, cáliz y corola de *Plectranthus madagascariensis* y *P. ornatus* Codd., de los cuales en *P. coleoides* va. mint leaf sólo se observan tres, por lo que es importante continuar y aumentar la descripción de tricomas para las diferentes especies, ya que aparentemente es un carácter con valor taxonómico.

El grosor del mesófilo es variable, pues oscila entre 270 a 550 μm en empalizada y de 230 a 590 μm para el esponjoso; de acuerdo a la literatura, esto se debe a la disponibilidad luminosa en el sitio donde crecían los ejemplares estudiados, puesto que en lugares con menor cantidad de luz las hojas son más grandes y delgadas, para mejorar la captación de energía, en cambio en lugares expuestos a los rayos solares presentan características propias de las especies de climas cálidos, es decir láminas gruesas y hojas pequeñas, lo cual disminuye la pérdida de agua como consecuencia de la heterogeneidad lumínica (Daubennire, 1979).

The thickness of the mesophile varies from 270 to 550 μm in palisade and from 230 to 590 μm for the spongy tissue; according to literature, this is due to light availability of on the site where the studied specimens grew, as in places with less amount of light the leaves are larger and thinner, to improve the uptake of energy; but, in contrast, in locations exposed to the sun, they exhibit characteristics of the species from warm climates, *i.e.* thick sheets and small leaves, which reduces the loss of water as a result of light heterogeneity (Daubennire, 1979).

Morphology of pollen

Of hexacolpated type, form that varies from spheroidal oblate (P/E 77 \pm 6 μm) to suboblate (P/E 131 \pm 24 μm), length of the colpo 24 μm , polar area index 63 μm and ektexine 3 μm thick, with tectaded wall, reticulated ornamentation and verrucose (figures 8 A-D).

Morfología del polen

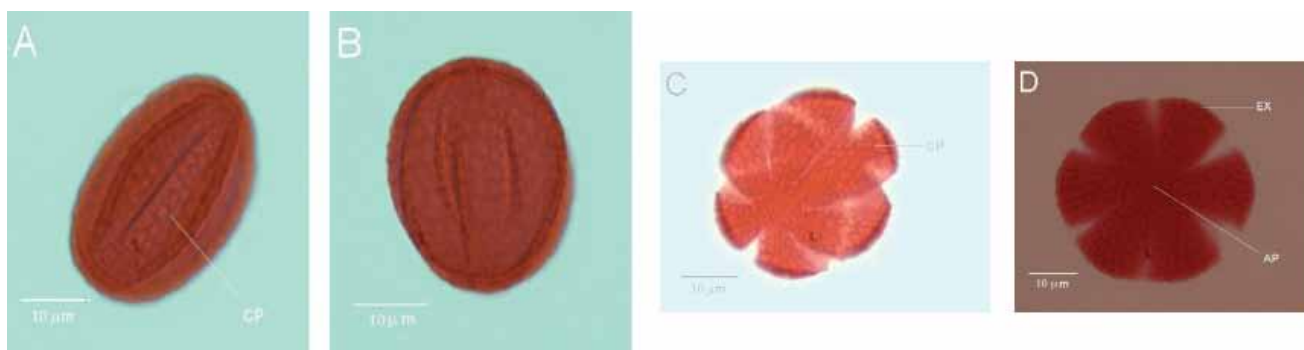
De tipo hexacolpado, forma que varía de oblato esferoidal (P/E $77 \pm 6 \mu\text{m}$) a suboblato (P/E $131 \pm 24 \mu\text{m}$), longitud del colpo $24 \mu\text{m}$, índice de área polar $63 \mu\text{m}$ y ectexina de $3 \mu\text{m}$ de grosor, con pared tectada, ornamentación reticulada y verrucosa (figuras 8 A-D).

El grano de polen en el material estudiado coincide con las descripciones citadas para la familia Lamiaceae, como es la existencia de seis colpos y la ornamentación reticulada (Pla-Dalmau, 1961 y Cantino y Sanders, 1986); aunque se registró por primera vez una ornamentación verrucosa para la tribu Ocimeae a la cual pertenece el género *Plectranthus*, (Suddee *et al.*, 2004). Se ha mencionado que en los granos de polen acetolizados de angiospermas se observa a la exina dividida en ectexina y endexina; la primera conformada por el tectum, columnellas y capa basal (Martínez-Hernández *et al.*, 1979).

The pollen grain in the studied material matches the descriptions referred for the Lamiaceae family, as it is the existence of six colpos and reticulated ornamentation (Pla-Dalmau, 1961; Cantino and Sanders, 1986); however, there was first a verrucose ornamentation to the Ocimeae tribe to which the genus *Plectranthus* belongs (Suddee *et al.*, 2004). It has been mentioned that in the acetolized pollen grains of Angiosperms it has been observed that exine is divided into ectexine and endexine; the first made-up by tectum, columnellae and basal layer (Martínez-Hernández *et al.*, 1979).

Statistical analysis

The results showed significant differences in the following factors of variation: epidermis at the middle and apical stem level, in accessory cells of stomata and length of stomata, spongy mesophyll and mesophyll in palisade of the leaf, collenchyma in middle stem, collenchyma in middle and apical stem, in the middle of the leaf vein, long vascular package in middle, apical



AP= Área polar; CP= Colpos; EX.=Ectexina
AP = Polar area; CP = Colpos; EX = Ektexine

Figura 8. Caracteres palinológicos de *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mint leaf. A y B (X1000). Vista ecuatorial de grano de polen, donde se observa ornamentación reticulada y verrucosa; C y D (X1000). Vista polar, polen hexacolpado, ornamentación de tipo reticulada y verrucosa y ectexina.

Figure 8. Palynological characteristics of *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mint leaf. (A) and (B) (X 1000). Equatorial view of grain of pollen, which exhibits reticulated and verrucose ornamentation; (C) and (D) (X 1000). Polar view, hexacolpated pollen, ornamentation of reticulated type and verrucose and ectexine.

Análisis estadístico

Los resultados mostraron diferencias significativas en los siguientes factores de variación: epidermis a nivel de tallo medio y apical, en las células accesorias de estomas y longitud de estomas, mesófilo esponjoso y mesófilo en empalizada en la hoja, colénquima en tallo medio, clorénquima en tallo medio y apical, en la vena media de la hoja, paquete vascular largo en tallo medio, apical y hoja, cilindro vascular en raíz, vaso xilemático a nivel de tallo medio, apical y hoja, floema en tallo basal, medio y apical y finalmente en la médula a nivel de raíz, tallo basal y apical (Cuadro 6).

and stem and leaf, vascular cylinder in root, xylematic vessel at middle, stem, apical and leaf, phloem in basal stem, middle and apical and finally in the core at the level of root, basal stem and apical (Table 6).

Finally the Turkey test was applied with the following results: the individuals number 1 (Tenecia-Morelos, Michoacán), 2 (CENID-COMEF) and 3 (Xochimilco) had differences at the level of apical and middle stem, but they are not constant in root, basal stem and leaf; at the level of apical stem, individuals 1 showed affinity with individuals 4 (Xochimilco), 5 (Iztapalapa) and 6 (Álvaro Obregón), but in middle stem it was only obtained

Cuadro 6. Análisis de varianzas de los caracteres en raíz, tallo y hoja de *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mintleaf donde el valor de $F_{0.168}^{(2,1)}$.

Table 6. Analysis of variance of the characters in root, stem and leaf of *Plectranthus coleoides* Benth. c.v. mint leaf where the value of $F_{0.168}^{(2,1)}$.

Factores d de variación	Órgano	GL.	S.C.	C.M.	F ₀ .
	Hoja	6	0.0172	0.0029	0.7839
	Tallo apical	6	0.0216	0.0036	4.8649
Epidermis	Tallo medio	6	0.2119	0.0353	294.1667
	Tallo basal	6	0.018	0.003	2.307*
	Raíz	6	0.034	0.0056	2.8*
Células accesorias	Hoja	6	0.6576	0.1096	7.7183
Longitud de estomas	Hoja	6	0.0869	0.0145	21.6418
	Tallo basal	6	0.0003	0.00005	0.0019
Peridermis	Raíz	6	0.081	0.013	0.813
Mesofilo esponjoso	Hoja	6	110.4027	18.4005	27.9388
Mesofilo empalizado	Hoja	6	78.5497	13.0917	20.6494
Cortéx	Raíz	6	0.95	0.16	0.925
	Tallo apical	6	0.4849	0.0808	1.8239
Colénquima	Tallo medio	6	1.957	0.326	13.04
	Tallo basal	6	0.423	0.07	2.33*
	Tallo apical	6	10.0133	1.6689	6.3288
Clorénquima	Tallo medio	6	6.44	1.07	2.95
	Tallo basal	6	0.587	0.098	0.315
Vena media	Hoja	6	362.9203	60.4867	12.8561
	Tallo medio	6	1.298	0.216	0.706
Esclerénquima largo	Tallo basal	6	0.1698	0.028	0.197
	Raíz	6	0.218	0.036	0.166
	Tallo medio	6	0.179	0.029	1.933
Esclerénquima ancho	Tallo basal	6	0.068	0.0113	0.297
	Raíz	6	0.074	0.012	0.364
	Hoja	6	34.4007	5.7335	22.5463
Paquete vascular largo	Tallo apical	6	43.9412	7.3235	8.4401
	Tallo medio	6	135.78	22.6302	13.184

Continúa...

Factores d de variación	Órgano	G.L.	S.C.	C.M.	Fo.
Paquete vascular ancho	Hoja	6	16.5426	2.7571	13.3451
	Tallo apical	6	0.7515	0.1253	2.4189
	Tallo medio	6	120.04	20.01	2.74
Cilindro vascular	Tallo basal	6	139.3	23.217	1.26
	Raíz	6	46.873	7.812	3.67
	Hoja	6	0.12	0.02	14.29
Vaso xilemático	Tallo apical	6	0.1204	0.02	3.6364
	Tallo medio	6	0.273	0.045	6.716
	Tallo basal	6	0.031	0.0052	0.743
Floema	Raíz	6	0.022	0.0036	0.54
	Tallo apical	6	4.9361	0.8227	8.0815
	Tallo medio	6	7.354	1.226	10.277
Médula	Tallo basal	6	4.071	0.678	5.7
	Raíz	6	1.475	0.246	0.549
	Tallo apical	6	215.9262	35.9877	8.1553
Médula	Tallo medio	6	14.872	2.479	0.487
	Tallo basal	6	349.37	58.23	8.567
	Raíz	6	583.59	97.26	10.36

C.M.= Cuadrado medio; G.L.= Grados de libertad; S.M.= Suma de cuadrados

* En estos caracteres el valor de $F^{0.8}$ (3.58)

C.M. = medium square; G.L. = degrees of freedom; S.M = sum of squares

* In these characters the value of $F^{0.8}$ (3.58)

Finalmente se aplicó la prueba de Tukey con los siguientes resultados: los individuos 1 (Tenecia-Morelos, Michoacán), 2 (CENID-COMEF) y 3 (Xochimilco) tuvieron diferencias a nivel de tallo apical y medio, pero no son constantes en raíz, tallo basal y hoja; a nivel de tallo apical el individuo 1 muestra afinidad con los individuos 4 (Xochimilco), 5 (Iztapalapa) y 6 (Álvaro Obregón), pero en tallo medio sólo se obtuvo con el 6; en el individuo 2 no se observaron diferencias con el 5 y el 7 (Atizapán de Zaragoza) a nivel de tallo apical; el individuo 3 tuvo afinidad con el 4, 5, 6 y 7 a nivel apical y nivel medio, sólo con el 5 y 7. Sin embargo, deben considerarse con cautela porque se involucran factores generados por su domesticación y manejo, los cuales modifican caracteres anatómicos y en consecuencia se evidencia un intervalo de variación entre los tejidos, por lo tanto se puede asumir que el material analizado de las siete localidades corresponde a una misma especie, y que ésta tiene un alto grado de plasticidad y adaptación.

with 6; in number 2 there were no differences with 5 and 7 (Atizapan de Zaragoza) at the level of apical stem; 3 had affinity with 4, 5, 6 and 7 at the apical level and middle level, only with 5 and 7. However, they should be considered with caution because they involve factors generated by its domestication and management, which modify anatomical characters, and consequently, in interval of variation among tissues becomes evident, so it can be assumed that the analyzed material of the seven provenances corresponds to a single species, and that it has a high degree of plasticity and adaptation.

CONCLUSIONS

There are three types of trichomes acknowledged for *Plectranthus coleoides* c.v. mint leaf: uniseriated non glandular, peltated glandular and capitated glandular of long and short stem, which equals that described in other species of the genus.

CONCLUSIONES

Se reconocen para *Plectranthus coleoides* c.v. mintleaf, tres tipos de tricomas: los no glandulares uniseriados, glandulares peltados y glandulares capitados de tallo largo y corto, igual a lo descrito en otras especies del género.

Se describe un arreglo diferente en el córtex del colénquima de tipo subepidérmico para el material estudiado de *Plectranthus*.

El índice estomático obtenido aporta diferencias entre la cara adaxial y abaxial por lo que podría utilizarse como herramienta taxonómica, pero se requiere revisar otros taxa.

La descripción morfopalinológica es similar a lo consignado en la literatura para el género, pero se agrega un carácter a nivel de especie, la ornamentación de tipo verrucosa, que pudiese tener valor diagnóstico, aunque es necesario realizar estudios, sobre el particular.

Se observan muchas similitudes y pocas diferencias en las características cualitativas y cuantitativas de *Plectranthus coleoides* c.v. mintleaf y los individuos obtenidos en los mercados por lo que concluye que corresponden a la misma especie. 🍃

AGRADECIMIENTOS

Al M. en C. Víctor Corona Nava Esparza, investigador del Jardín Botánico del Instituto de Biología de la UNAM y responsable del Invernadero Faustino Miranda, por su valiosa colaboración en la determinación de la especie estudiada.

REFERENCIAS

- Ascensão, L., A. C. Figueiredo, J. G. Barroso, L. G. Pedro, J. Schripsema, S. G. Deans and J. C. Scheffer. 1998. *Plectranthus madagascariensis*: Morphology of the glandular trichomes, essential oil composition, and its biological activity. *Int. J. Plant Sci.* 159(11):31-38.
- Ascensão, L., L. Mota and M. de M. Castro. 1999. Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: morphology, distribution and histochemistry. *Annals of Botany* 84(4): 437-447.
- Azizian, D. and D. F. Cutler. 1982. Anatomical, cytological and phytochemical studies on *Phlomis* L. and *Eremostachys* Bunge (Labiatae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 85:249-281.
- Byrd, A. 1978. *Exotic plant manual*. 5ta. Roehrs Company. East Rutherford, NJ. USA. pp. 684-685.
- Cantino, P. D. and R. W. Sanders. 1986. Subfamilial classification of Labiatae. *Systematic Botany* 11(1): 163-185.
- Daubenmire R. F. 1979. *Ecología vegetal. Tratado de Autoecología de plantas*. 3era. Limusa. México, D.F. México. pp. 266-280.
- Erdtman, G. 1952. *Pollen morphology and plant taxonomy*. Angiosperms. Hafner. New York. NY. USA. 553 p.
- Esau, K. 1985. *Anatomía vegetal*. 3era. Omega. Barcelona. España. pp. 202-213.
- Fahn, A. 1974. *Anatomía Vegetal*. H. Blume. Madrid. España. pp. 95-217.
- Martínez-Hernández, E., M. Vargas-Olvera y B. Ludlow-Wiechers. 1979. Ultraestructura de la exina en granos de polen en Angiospermas. *Biotica*: 4(1):33-48.

It is described a different arrangement in the cortex of the colechyma of subepidérmico type for the studied material of *Plectranthus*.

The stomata index makes differences between the adaxial and the abaxial faces, thus favoring their use as a taxonomic tool, but the review of other taxa is necessary.

The morphopalinological description is similar to what is reported in literature for the genus, but adds a character at the level of species, the ornamentation of verrucose type, that could have diagnostic significance, although it is necessary to carry out studies on the subject.

Many similarities are observed and few differences in qualitative and quantitative characteristics of *Plectranthus coleoides* c.v. mint leaf in the studied specimens and in regard to individuals found in markets; thus, it can be concluded that they correspond to the same species. 🍃

ACKNOWLEDGEMENTS

To † M.Sc. Víctor Corona Nava Esparza, researcher of the Botanical Garden of the Institute of Biology and manager of the Faustino Miranda greenhouse of the National University of Mexico (UNAM), for his valuable assistance in the determination of the studied species.

End of the English version

- Metcalf, R. and L. Chalk. 1950. *Anatomy of the dicotyledons: Leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Oxford: Clarendon. London. UK. pp. 1023-1041.
- Menéndez R., A. y V. Pavón. 1999. *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. *Revista Cubana Plantas Medicinales*. 3(3):110-115.
- Pla-Dalmau J., M. 1961. Polen: Estructura y características de los granos de polen. Precisiones morfológicas sobre el polen de especies recolectadas en el NE. de España. *Polinización y aeropalinología*. Talleres gráficos. D.C.P. Gerona, España. pp. 308-311.
- Rejzali, M. 1991. Leaf micromorphology and taxonomy of North African species of *Sideritis* L. (Lamiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 107: 67-77.
- Ryding, O. 1994. The importance of pericarp structure in the classification of labiates. *Royal Botanic Gardens Kew. Lamiales Newsletter*. 3: 1-3.
- Suddee, S., A. J. Paton and J. Parnell. 2004. A Taxonomic Revision of tribe Ocimeae Dumort. (Lamiaceae) in continental South East Asia. II. *Plectranthinae*. *Kew Bulletin*, 59: 379-414.
- The Royal Horticultural Society. 1992. *Enciclopedia de plantas y flores*. London, UK. Vol 3. pp. 556 - 560.