

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DE LA ANATOMÍA FOLIAR DEL ICACO (*Chrysobalanus icaco* L.)

Guadalupe Espinosa-Osornio¹, Georgina Vargas-Simón² y Mark Engleman¹

RESUMEN

El icaco se localiza en diversas asociaciones vegetales tropicales, su fruto es comestible y contiene compuestos fenólicos y grasas. Los trabajos anatómicos en icaco y el resto de Chrysobalanaceae son escasos y antiguos por lo que el objeto de esta investigación fue el de obtener, mediante microscopía fotónica, información actualizada y ampliada sobre la anatomía foliar del icaco proveniente de Tabasco, México. Se encontró que el índice estomático fue de 12,4 y la frecuencia estomática de 243 estomas/mm². Las hojas son hipostomáticas con estomas paracíticos. Las células de ambas epidermis contienen taninos condensados y engrosamientos celulósicos en la pared externa con una cutícula delgada; en la epidermis adaxial se observaron algunas divisiones periclinales. Las hojas jóvenes tienen en la superficie abaxial tricomas simples unicelulares en forma de estilete, principalmente sobre la nervadura central, márgenes y ápice de la lámina foliar. El mesófilo se diferencia en parénquima esponjoso y en empalizada. La vaina del haz es parenquimática y las extensiones de ésta pueden ser colenquimáticas ó esclerenquimáticas. En este trabajo se hallaron algunas diferencias con las descripciones previamente realizadas en esta especie.

Palabras clave adicionales: Epidermis, índice estomático, frecuencia estomática, mesófilo

ABSTRACT

Contribution to the study of foliar anatomy of icaco (*Chrysobalanus icaco* L.)

The icaco tree inhabits in different plant associations of the humid tropics. Its fruits are edible and contain phenolic substances and lipids. Since anatomical data and the rest of the Chrysobalanaceae are scarce this research was conducted to improve the knowledge on leaf anatomy of these plants by studying icaco trees grown in Tabasco, México. The stomatal index was 12.4 with a density of 243 stomata/mm². The paracitic stomata are restricted to the lower side of the leaf. Cells of both epidermis have condensed tannins and thickened outer cell walls, which also have a thin cuticle. The adaxial epidermis shows periclinal divisions in some of its cells. The leaves have dagger-shaped trichomes on the abaxial side, with emphasis on the median vein, margins and tip. The mesophyll is differentiated into palisade and spongy parenchyma. The bundle sheaths are parenchymatous and their extensions are colenchymatous or composed of cells with thickened secondary lignified walls. Our results are not in complete agreement with previous descriptions of leaf anatomy of icaco trees.

Additional key words: Epidermis, stomatal number, stomatal index, mesophyll

INTRODUCCIÓN

El icaco (*Chrysobalanus icaco* L.) es un integrante de la familia pantropical Chrysobalanaceae. Sus frutos, de variados colores (Prance, 1973), son comestibles y contienen compuestos fenólicos y grasas. Diferentes partes de la planta son utilizadas en la medicina popular (Gunstone y Subbarao, 1967; Pennington y Sarukhán, 1998; Prance, 1986; Watson y Dallwitz, 1998). Tiene una amplia plasticidad para establecerse en diversas asociaciones vegetales como selvas bajas,

manglares, sabanas y vegetación de playa (Prance, 1986).

Las plantas de esta especie se caracterizan por tener hojas alternas, simples, coriáceas, de forma orbicular a ovado elíptica y color verde brillante en el haz. Tienen alta variación en el tamaño de sus hojas. La familia Chrysobalanaceae se había considerado una subfamilia o tribu de las Rosaceae, pero se ubicó como un grupo aparte por Robert Brown en 1818 (Prance, 1970), principalmente porque se descubrieron ciertas variaciones morfológicas y anatómicas. Entre las características que difieren

Recibido: Mayo 22, 2001

Aceptado: Noviembre 26, 2001

¹ Instituto de Recursos Naturales, IRENAT. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México, C.P. 56230.

² División Académica de Ciencias Biológicas. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa, Tabasco, México. C.P 86000. e-mail: gvargas@portium.com.mx

de las Rosaceae se incluyen: estilo ginobásico, óvulo erecto y anátropo en Chrysobalanaceae, tendencia hacia las flores zigomórficas, estomas paracíticos (tipo rubiáceos), presencia de sílice, morfología del polen y características del xilema secundario (Harling, 1979; Prance, 1970). Sin embargo, en algunos herbarios de México se les encuentra aún como Rosaceae.

Los trabajos anatómicos sobre la familia son escasos y algunos antiguos, entre ellos, cabe señalar los estudios de Bonne (1926) sobre el gineceo de las flores. El más completo es el realizado por Küster (1897) sobre diferentes estructuras vegetativas de las Chrysobalanaceae, a partir de ejemplares de herbario. Actualmente se ha identificado la anatomía foliar de *Licania cariae*, *L. pittieri* e *Hirtella paniculata* (Jáuregui y Cardozo, 2000).

En su investigación sobre anatomía foliar del icaco, Küster (1897) señaló que *C. icaco* se caracteriza por tener tricomas unicelulares sin contenido y en varios integrantes de la familia Chrysobalanaceae éstos son de tipo aracnoide. Asimismo, identificó una hipodermis mucilaginoso y en cuanto al mesófilo descubrió que las células del tejido de asimilación se encuentran en empalizada. En relación a los haces vasculares, mencionó que éstos se encuentran rodeados por un anillo continuo de esclerénquima que puede estar mezclado con fibras libriformes de lumen estrecho y células de parénquima esclerosadas de un solo lado (actualmente, todas estas células se clasifican dentro del esclerénquima). Los cristales de oxalato de calcio en forma de drusa son comunes en esta especie, incluidos en el mesófilo o adyacentes en la epidermis.

Metcalf y Chalk (1979) mencionan que la familia Chrysobalanaceae, en cuanto a su anatomía foliar, constan de una epidermis papilosa y mucilaginoso, estomas paracíticos, una hipodermis y un mesófilo homogéneo.

Dado que la caracterización de la anatomía foliar es importante para establecer diferencias entre rasgos adaptativos a un determinado ambiente o fijados por el genotipo, se realizó esta investigación con el objeto de obtener una descripción actualizada y aumentada sobre la anatomía foliar del icaco a fin de aportar una mayor información sobre esta especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron 25 hojas sanas expuestas al sol de la parte inferior de la copa de 5 árboles adultos (aproximadamente 12 años) durante el mes de agosto de 1999 en la localidad de Paraíso, Tabasco, México (93° 07' W, 18° 25' N). De las hojas recolectadas se seleccionaron al azar 15 hojas, las cuales se dedicaron a la descripción anatómica mediante los procedimientos tradicionales de microtecnica vegetal. Las porciones medias de las hojas se fijaron en FAA (Alcohol 96°, 50 mL; ácido acético glacial, 5 mL; formaldehído 40%, 10 mL; agua destilada, 35 mL) y se procesaron para inclusión en parafina. Luego se realizaron cortes transversales de 10 µm de grosor en micrótopo rotatorio. Las secciones fueron teñidas con safranina-verde fijo para las observaciones generales y con rojo de aceite 7B para definir las características cuticulares de la epidermis (Sass, 1968).

Para la determinación del índice, la frecuencia y las medidas estomáticas se tomaron impresiones epidérmicas en el envés foliar con pegamento de cianoacrilato de las restantes 10 hojas recolectadas (55 a 60 mm de longitud). Se realizaron diez impresiones a partir de las cuales se hizo un conteo con la ayuda de un microscopio fotónico Zeiss con cámara clara (brazo dibujador), se tomaron aleatoriamente dos campos de cada impresión en una zona sin nervaduras prominentes. La frecuencia se determinó cuantificando el número de estomas por milímetro cuadrado, se obtuvo el valor promedio con su desviación estándar. El índice estomático se calculó en un área de la hoja de acuerdo a la fórmula de Weyers y Meidner (1990), según la siguiente relación:

$$IE = \frac{\text{Número de estomas} \times 100}{\text{No. estomas} + \text{No. células epidérmicas no estomáticas}}$$

Para caracterizar y medir los tricomas se utilizaron 5 hojas muy jóvenes de 8, 10, 12 y 15 mm de longitud recolectadas en agosto del 2000 en plantas de aproximadamente 2 años de edad. Se observó toda la lámina foliar, tanto por su superficie abaxial como adaxial, utilizando un

microscopio estereoscópico Olympus con ocular micrometrado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La lámina foliar presentó un grosor de $176 \pm 9 \mu\text{m}$ en corte transversal. Para presentar los resultados de su estudio, éstos se dividieron en cinco componentes principales: epidermis, estomas, tricomas, mesófilo y nervaduras.

Epidermis. Las células de ambas epidermis en sección transversal son de forma cuboidal, se observó un engrosamiento celulósico en la pared externa y una delgada cutícula sobre su superficie. En las células de ambas epidermis se observaron taninos condensados (Figura 1). La presencia de taninos se interpreta como una adaptación fisiológica a factores ambientales, entre los que se destacan la alta luminosidad (Fontenelle et al., 1994) y la protección contra insectos masticadores como los más importantes (G.T. Prance. National Tropical Botanical Garden, Kalaheo, Hawaii. Comunicación personal). Tanto en material procesado como en material fresco, en ninguna de las dos epidermis se observaron células secretoras ni tampoco células con cuerpos de sílice, lo cual no coincide con lo mencionado por Küster (1897). Llama la atención la detección de mucílago por este autor, ya que sus observaciones se realizaron con material herborizado y esa substancia desaparece al deshidratar el material vegetal.

En la epidermis adaxial se observaron frecuentes divisiones periclinales, pero sin llegar a formar una epidermis pluriestratificada (Figura 1). Inmediatamente debajo de la epidermis adaxial se distinguió un estrato de parénquima en empalizada frecuentemente compuesta de idioblastos con drusas (Figura 1). La presencia aparente de capas fue interpretado por Küster (1897) como una hipodermis en *C. icaco* y *C. cuspidatus*. Sin embargo, dado que una hipodermis se define por tener células de paredes gruesas frecuentemente de tipo esclerénquimático (Font Quer, 1979), definitivamente no se considera que en esta especie dicho estrato corresponda a una hipodermis.

Las células de la epidermis abaxial son ligeramente más pequeñas que las de la

epidermis adaxial (Figura 1). En ella se distinguieron células epidérmicas normales, oclusivas y anexas (Figuras 2 y 3), en ninguna de ellas hubo evidencia de divisiones periclinales. Las paredes anticlinales de ambas epidermis en vista frontal se observaron rectas, no sinuosas (Figura 2). Estudios anteriores muestran que en hojas expuestas al sol las paredes epidérmicas anticlinales se endurecen más rápidamente y tienden a ser menos onduladas (Fontenelle et al., 1994).

Estomas. Los estomas de icaco se clasificaron como paracíticos (tipo rubiáceos), presentaron dos células anexas y se encontraron al mismo nivel que las demás células epidérmicas (Figuras 2 y 3); sus dimensiones se muestran en el Cuadro 1. Las características coinciden con las mencionadas por Küster (1897), Metcalfe y Chalk (1979) para la familia. Los estomas paracíticos son frecuentes en las Rubiaceae, las Mimosoideae y en algunos géneros de Papilionoideae; se distribuyen de manera regular en las depresiones entre las nervaduras, ubicación típica en las dicotiledóneas (Esau, 1977; Fahn, 1974).

El índice estomático de las hojas evaluadas (Cuadro 1) fue similar a *Licania pittieri* (Chrysobalanaceae) y a la especie tropical *Malphigia emarginata* (Jáuregui y Cardozo, 2000; Laskowski, 2000). En cuanto a la frecuencia estomática se observó que al compararlo con otras especies tropicales (Cuadro 2), este valor es menor a *Licania cariae* y a *Maranthes corymbosa*, otros integrantes de la familia Chrysobalanaceae, las cuales contienen 379,07 y 859,6 estomas/mm², respectivamente (Eamus et al., 1993; Jáuregui y Cardozo, 2000). Datos similares de frecuencia se cuantificaron en algunas variedades de café (*Coffea arabica*) y algunas especies de *Eugenia* (Benetti et al., 1992; Fontenelle et al., 1994). Al respecto, es importante señalar que la frecuencia y el índice estomático pueden variar entre diferentes porciones de la lámina foliar o entre hojas que ocupan distinta posición en la planta e incluso entre individuos de la misma especie cuando se desarrollan en ambientes diferentes, lo cual probablemente explicaría estas variaciones (Weyers y Meidner, 1990)

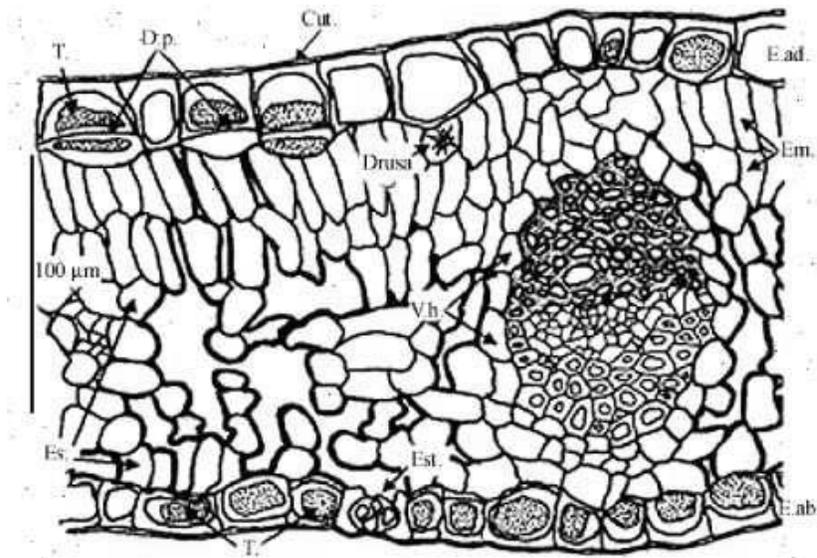


Figura 1. Corte transversal de la hoja madura de *Chrysobalanus icaco* donde se muestra la cutícula delgada (Cut.) y el engrosamiento de las paredes externas de la epidermis. En ambas epidermis hay taninos condensados (T.). En la epidermis adaxial (E.ad.), se observan divisiones periclinales (D.p.). En el mesófilo se encuentran dos estratos de parénquima en empalizada (Em.) con drusa y de dos a cinco estratos de parénquima esponjoso (Es.). Vaina del haz vascular (V.h.) con células de parénquima. Los estomas (Est.) se observan sólo en la epidermis abaxial (E.ab.).

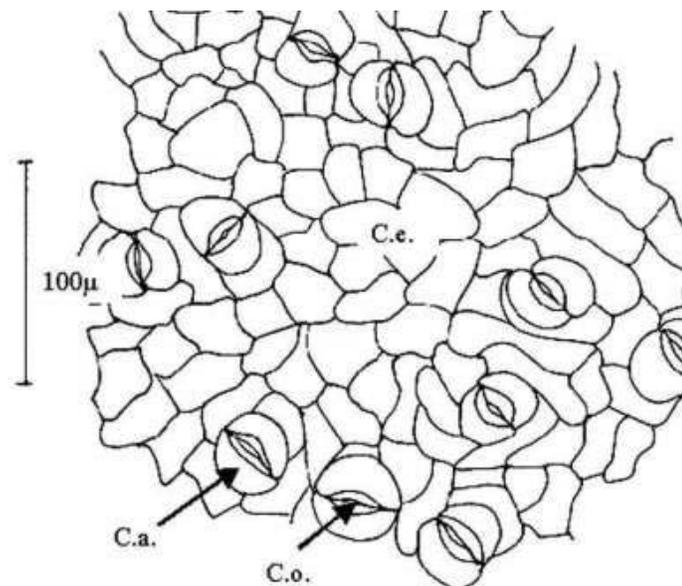


Figura 2. Vista Frontal de la epidermis abaxial de hoja madura de *Chrysobalanus icaco*, se muestran células oclusivas (C.o.), células anexas (C.a.) y el contorno recto de las paredes anticlinales de las células epidérmicas (C.e.).

Cuadro 1. Características estomáticas en hojas de icaco (*Chrysobalanus icaco*). Promedios \pm error estándar.

Ancho de estomas (μm)	Longitud de estomas (μm)	Índice estomático	Frecuencia estomática (estomas/ mm^2)
39,15 \pm 4,0	32,55 \pm 0,06	12,4	243 \pm 15,6

Tricomas. En el presente trabajo se pudieron observar tricomas simples, sin ramificación, unicelulares, delgados y largos en forma de estilete con pared gruesa (Figura 4). Esto coincide en su mayoría con las determinaciones que realizó Küster (1897) para *C. icaco* y *C. cuspidatus*, aunque él los definió por tener una pared delgada, lo contrario a lo observado en este trabajo. Cabe resaltar que el mismo autor hace referencia a que la familia Chrysobalanaceae se caracteriza por tener tricomas no sólo unicelulares sino también multicelulares de varios tipos -entre ellos del tipo aracnoide-, ubicados en la superficie abaxial de la hoja. En este sentido, Jáuregui y Cardozo (2000) en su investigación sobre *Licania cariae* y *L. pittieri* identificaron tricomas unicelulares tanto simples como del tipo aracnoideo, también ubicados en la superficie inferior.

Los tricomas en *C. icaco* sólo se localizaron en hojas frescas menores de 15 mm de longitud (aproximadamente 25% de su tamaño final) y se encontraron distribuidos solamente en la superficie abaxial, principalmente en los bordes de la nervadura central, en los márgenes de la hoja y como mechón en el ápice. En hojas de 8 a 15 mm, los tricomas midieron 0,19 \pm 0,06 mm de longitud.

A medida que la hoja madura los tricomas

tienden a desprenderse, por lo que en el material procesado para microtecnica (hojas de 55 a 60 mm de longitud) éstos no se pudieron observar. Esto concuerda con las descripciones de Prance (1973), quien indica que las hojas maduras de esta especie son glabras.

La característica de la pérdida de tricomas en hojas maduras fue evidente en un estudio realizado por Fontenelle et al. (1994), quienes señalan la característica de tricomas ausentes en material adulto como taxonómica para diferenciar especies de *Eugenia*.

Mesófilo. Como se muestra en la Figura 1, en el mesófilo de la hoja de icaco, se observaron dos estratos de parénquima en empalizada y cinco a seis estratos de parénquima esponjoso.

En todos ellos se pudo observar la presencia de drusas, especialmente en el estrato adaxial del parénquima en empalizada. Estas características difieren de lo señalado por Küster (1897), quien afirmó que en las Chrysobalanaceae las células del mesófilo son de forma más o menos alargada pero no muestran una clara diferenciación del parénquima en empalizada y esponjoso. Posiblemente la diferenciación sea mayor en hojas expuestas al sol que en las que crecen bajo sombra. Esto sugiere que estudios anatómicos posteriores deberían tomar en cuenta este posible efecto.

Cuadro 2. Frecuencia estomática para algunas especies tropicales.

Especie	Familia	Estomas/ mm^2	Condiciones*	Fuente
<i>Licania cariae</i>	Chrysobalanaceae	379,07	Condiciones normales (Selva nublada Superior)	Jáuregui y Cardozo, 2000
<i>Licania pittieri</i>	Chrysobalanaceae	226,46	Condiciones normales (Selva nublada Superior)	Jáuregui y Cardozo, 2000
<i>Maranthes corymbosa</i>	Chrysobalanaceae	859,6 \pm 30,6	Condiciones normales	Eamus et al., 1993
<i>Maranthes corymbosa</i>	Chrysobalanaceae	743,5 \pm 25,6	Aire enriquecido con CO ₂	Eamus et al., 1993
<i>Coffea arabica</i> var. Mundo novo	Rubiaceae	256,14	Intensidad lumínica 100%	Benetti et al., 1992
<i>Coffea arabica</i> var. Catual-Vermelho	Rubiaceae	244,71	Intensidad lumínica 100%	Benetti et al., 1992
<i>Coffea arabica</i> var. Icatu Amarelo	Rubiaceae	246,43	Intensidad lumínica 100%	Benetti et al., 1992
<i>Coffea arabica</i> var. Apoata	Rubiaceae	413,14	Intensidad lumínica 100%	Benetti et al., 1992
<i>Eugenia badia</i>	Myrtaceae	175	No indicadas	Fontenelle et al., 1994
<i>Eugenia excelsa</i>	Myrtaceae	322	No indicadas	Fontenelle et al., 1994
<i>Malphigia emarginata</i>	Malphigiaceae	132	No indicadas	Laskowski, 2000

*Condiciones especificadas por la fuente

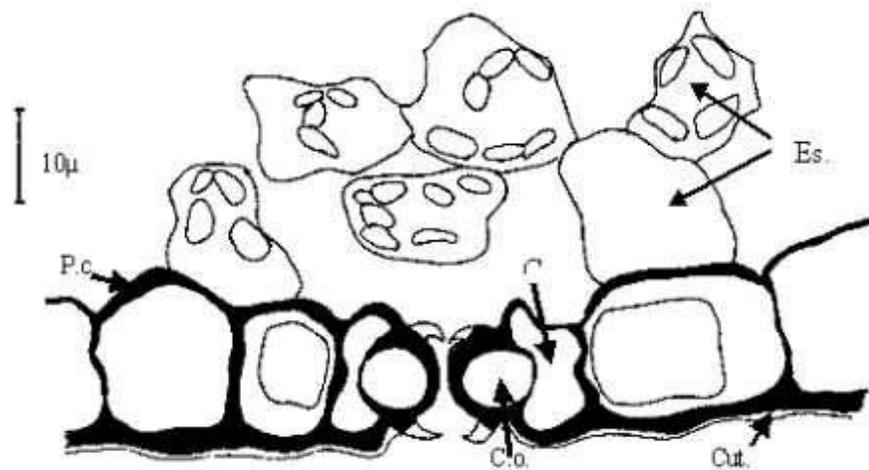


Figura 3. Sección transversal de la epidermis abaxial de hoja madura de *Chrysobalanus icaco*. Se muestran los engrosamientos celulósicos de la pared celular de las células epidérmicas (**P.c.**); una cutícula delgada (**Cut.**) sobre la pared externa de la epidermis. Células oclusivas (**C.o.**) y las células anexas (**C.a.**) de los estomas. Hay algunas células del parénquima esponjoso (**Es.**).

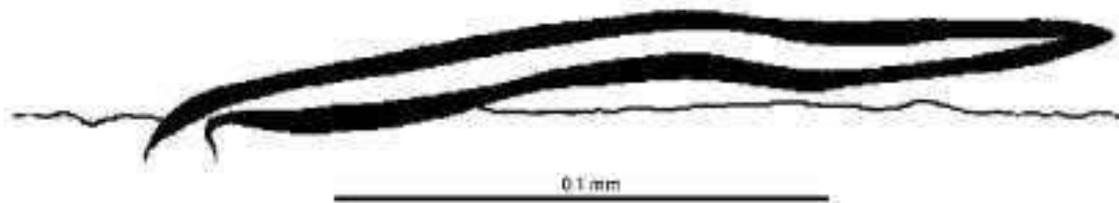


Figura 4. Tricoma simple y unicelular en forma de estilete de *Chrysobalanus icaco*, ubicado en el margen de una hoja joven, se muestran las paredes engrosadas. El ápice de la hoja se encuentra hacia la derecha.

Nervaduras. En todas las nervaduras se identificó una vaina del haz vascular constituida por células parenquimáticas de paredes delgadas (Figura 1), sus cloroplastos se encontraron orientados hacia el exterior del haz. Esto no concuerda con Küster (1897), quien observó que las nervaduras foliares de las Chrysobalanaceae se caracterizaban por tener un anillo continuo de esclerénquima alrededor de los haces vasculares, dicho anillo contiene fibras libriformes de lumen estrecho combinado con células de parénquima

esclerosadas de un solo lado.

En los haces mayores se registró una extensión de la vaina del haz constituida por células colenquimatosas y algunas con paredes secundarias engrosadas y lignificadas, del tipo esclerenquimático, posiblemente es la característica a la que Küster (1897) se refirió como el anillo continuo del haz vascular.

Se observaron cristales en forma de drusas tanto en idioblastos del mesófilo (Figura 1) como en el colénquima de las nervaduras, así

mismo, en las células tanto de la vaina del haz vascular como de su extensión; sólo las células epidérmicas carecen por completo de estos cristales. Küster (1897) señaló la presencia de cristales simples de oxalato de calcio, los cuales no se pudieron visualizar en el presente estudio.

En este trabajo se observaron diferencias anatómicas foliares con respecto a las identificadas por Küster (1897), posiblemente porque el autor sólo utilizó material herborizado y ejemplares colectados en el oeste del continente africano, razón por la cual es imprescindible que para estudios posteriores se considere coleccionar ejemplares, donde además se evalúe el efecto de diferentes ambientes como los realizados en otras especies tropicales (Benetti et al., 1992; Nagel et al., 1998; Silva et al., 1998; Strauss-Debenedetti y Berlyn, 1994; Weyers y Meidner, 1990).

CONCLUSIONES

En este estudio se logró actualizar y ampliar la información existente sobre la anatomía foliar del icaco. Se encontró que algunas características anatómicas difieren de las registradas con anterioridad para ejemplares de esta especie, sugiriendo que la anatomía foliar en este caso pudiera depender de las condiciones ambientales en las que crece. Es necesario entonces continuar con este tipo de trabajos con materiales provenientes de diferentes ambientes para profundizar en esta área del conocimiento.

AGRADECIMIENTO

Al Professor Sir Ghilleen T. Prance, del National Tropical Botanical Garden, Kalaheo, Hawaii, por la revisión y sus valiosos aportes al escrito.

LITERATURA CITADA

- Benetti, Q.V.R., J.F. Irineu y M.L.C. Carvalho. 1992. Variação na anatomia foliar de cafeeiros submetidos a diferentes intensidades luminosas. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 42(2): 99-105.
- Bonne, G. 1926. Sur la constitution du gynécée chez les *Chrysobalanées*. *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris* 182: 1404-1406.
- Eamus, D., C.A. Berryman y G.A. Duff. 1993. Assimilation, stomatal conductance, specific leaf area and chlorophyll responses to elevated CO₂ of *Maranthes corymbosa*, a tropical monsoon rain forest species. *Australian Journal of Plant Physiology* 20: 10-25.
- Esau, K. 1977. *Anatomy of Seed Plants*. John Wiley & Sons. New York.
- Fahn, A. 1974. *Plant Anatomy*. Pergamon Press. Oxford.
- Font Quer, P. 1979. *Diccionario de Botánica*. Labor. Barcelona.
- Fontenelle, G.B., C.G. Costa y R.D. Machado. 1994. Foliar anatomy and micromorphology of eleven species of *Eugenia* L. (Myrtaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 115:111-133.
- Gunstone, F.D. y R. Subbarao. 1967. New tropical seed oils. Part. 1 Conjugated trienoic and tetraenoic acids and their oxo derivatives in the seed oils of *Chrysobalanus icaco* and *Parinarium laurinum*. *Chem. Phys. Lipids* 1: 349-359.
- Harling, G. (ed.). 1979. *Flora of Ecuador*. No. 10. Berlings. London.
- Jáuregui, D. y A. Cardozo. 2000. Anatomía foliar de dos especies de *Chrysobalanaceae* presentes en el Parque Nacional Henri Pittier. *Acta Botánica Venezolana* 23(1):9-18.
- Küster, E. 1897. Die anatomischen Charakteren der *Chrysobalanen*, insbesondere ihre Kieselsäurelagerungen. *Bot. Centralbl.* 69: 97-106, 129-139.
- Laskowski, L.E. 2000. Características anatómicas de la hoja y el tallo del semeruco (*Malpighia emarginata* DC) cultivado en dos localidades del estado Lara. *Bioagro*

- 12(2):33-40.
13. Metcalfe, C. R. y L. Chalk. 1979. Anatomy of Dicotyledons. Second Edition, Vol. I. Clarendon Press. Oxford.
 14. Nagel, M. L., J. H. Bassman, G. E. Edwards, R. Robberecht y V.R. Franceshi. 1998. Leaf anatomical changes in *Populus trichocarpa*, *Quercus rubra*, *Pseudotsuga menziesii* and *Pinus ponderosa* exposed to enhanced ultraviolet-B radiation. *Physiologia Plantarum* 104: 385-396.
 15. Pennington, T.D. y J. Sarukhán. 1998. Árboles tropicales de México. Universidad Nacional Autónoma de México, Fondo de Cultura Económica. México, D.F.
 16. Prance, G.T. 1970. The genera of Chrysobalanaceae in the Southeastern United States. *J. Arnold Arb. Harv. Univ.* 51(4): 521-528.
 17. Prance, G.T. 1973. Chrysobalanaceae. *In: Flora Neotrópica. Monograph No. 10.* Hafner Publishing. New York.
 18. Prance, G.T. 1986. El origen y evolución de la flora amazónica. *In: Guizar, N. E. Antología Fitogeográfica. Serie No. 25.* División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México.
 19. Sass, J. E. 1968. Botanical microtechnique. Iowa State University Press, Iowa.
 20. Silva, R.A., A.A. Silva y L. Zambolim. 1998. Índice estomático en materiales genéticos de café resistentes o susceptibles a la roya. *Bioagro* 10(2): 57-61.
 21. Strauss-Debenedetti, S. y G.P. Berlyn. 1994. Leaf anatomical responses to light in five tropical Moraceae of different successional status. *American Journal of Botany* 81(12): 1582-1591.
 22. Watson, L. y M.J. Dallwitz. 1998. The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification and information retrieval <http://biodiversity.uno.edu/delta> (consulta Octubre 10, 2000).
 23. Weyers, J.D.B. y H. Meidner. 1990. Methods in stomatal research. Longman Scientific & Technical. London.