Revalidación de *Nothomyrcia* (Myrtaceae), un género endémico del Archipiélago de Juan Fernández

Revalidation of *Nothomyrcia* (Myrtaceae) an endemic genus from Juan Fernandez Archipelago

José Murillo-Aldana^{1,2} & Eduardo Ruiz¹

¹Departamento de Botánica, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.

RESUMEN

Sobre la base de caracteres moleculares y morfológicos encontrados en *Myrceugenia fernandeziana* se revalida a *Nothomyrcia*, un género monoespecífico y endémico del Archipiélago de Juan Fernández.

Palabras clave: Myrceugenia, Myrteae, Taxonomía.

ABSTRACT

The monotypic genus *Nothomyrcia*, endemic to the Juan Fernández Islands, is revalidated, based on molecular and morphological characters found in *Myrceugenia fernandeziana*.

KEYWORDS: *Myrceugenia*, Myrteae, Taxonomy.

INTRODUCCIÓN

Myrceugenia fernandeziana (Hook. & Arn.) Johow es una especie endémica de la isla Robinson Crusoe (Más a Tierra), en el Archipiélago de Juan Fernández. Originalmente, fue descrita dentro del género Myrtus por Hooker & Arnott (1833), y posteriormente fue incluida en Eugenia L., Luma A. Gray y Nothomyrcia Kausel (Kausel 1948, Landrum 1981). Landrum (1981) en su tratamiento taxonómico de *Myrceugenia* O. Berg no encontró caracteres que permitieran separarla como una entidad distinta y consideró que se debía incluir dentro de este género. Estudios filogenéticos basados en marcadores moleculares (Murillo 2011, Murillo et al. sometido) muestran que esta especie no forma parte de Myrceugenia, encontrando evidencias para reestablecer tanto al género Nothomyrcia como a su única especie N. fernandeziana (Hook. & Arn.) Kausel, por lo cual el objetivo de este estudio es revalidar al género monotípico Nothomyrcia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron los especímenes de *Myrceugenia* depositados

en CONC. Los procedimientos para la extracción del ADN, amplificación, secuenciación, alineamiento de secuencias y análisis filogenéticos están descritos en una publicación que está en progreso (Murillo 2011, Murillo *et al.* sometido). La estructura secundaria de las secuencias ITS1, 5.8S, ITS2 y ETS se predijo a través del servidor mfold (http://mfold. rna.albany.edu/?q=mfold/RNA-Folding-Form) (Mathews *et al.* 1999, Zucker 2003). Las secuencias se alinearon manualmente y se ajustaron basado en la estructura secundaria con el programa 4Sale (Seibel *et al.* 2006, Seibel *et al.* 2008). La reconstrucción filogenética se realizó con análisis de inferencia bayesiana usando MrBayes 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck 2003) y de máxima parsimonia con NONA (Goloboff 1999).

RESULTADOS

Nothomyrcia Kausel, Lilloa 13: 148. 1948 ("1947"). Tipo: *Nothomyrcia fernandeziana* (Hook. & Arn.) Kausel, Lilloa 13: 148. 1948 ("1947").

Árboles cubiertos con pelos simples. Hojas simples, opuestas, pecíolo levemente acanalado; lámina cartácea,

²Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Apartado 7495, Bogotá, Colombia. jcmurilloa@unal.edu.co

a veces coriácea, ovada a lanceolada, ápice agudo a acuminado, base cordada a redondeada, a veces obtusa, margen entera; venación pinnada broquidódroma, vena media elevada por la haz, venas intersecundarias presentes, venación terciaria reticulada, generalmente prominente por ambas caras. Inflorescencias generalmente axilares, en racimos cortos, brácteas y bractéolas generalmente caducas durante la antesis. Flores solitarias o en pares, 4 pétalos; cáliz de 4 lóbulos, cóncavos, los lóbulos cubren la yema floral; hipanto obcónico, disco con pubescencia variable, estambres numerosos, ovario con 2 (-3) lóculos, placentación central. Fruto una baya, semillas con embrión de tipo myrcioide; hipocótilo alargado, basal, en forma de "U".

Composición y distribución

Nothomyrcia es un género endémico de la isla Robinson Crusoe (Más a Tierra) y posee una sola especie, *N. fernandeziana*. Es una de las especies arbóreas más abundantes de la isla y se encuentra principalmente en altitudes entre 30 y 550 m, en áreas con diverso grado de intervención (Greimler *et al.* 2002).

Nothomyrcia fernandeziana (Hook. & Arn.) Kausel Kausel, Lilloa 13: 148. 1948 ("1947").

=Myrtus fernandeziana Hook. & Arn., Bot. Misc. 3: 316. 1833.

=*Eugenia fernandeziana* (Hook. & Arn.) Barnéoud in Gay, Fl. Chil. 2: 392. 1847.

=*Myrceugenia fernandeziana* (Hook. & Arn.) Johow, Flora de Juan Fernández 94.1896.

=*Luma fernandeziana* (Hook. & Arn.) Burret, Notizbl. Bot. Gart. Berlin-Dahlem 15: 526. 1941.

Sinonimia adicional y una descripción detallada de la especie se encuentra en Landrum (1981).

MATERIAL REPRESENTATIVO

CHILE: Región de Valparaíso, Archipiélago de Juan Fernández, Isla Robinson Crusoe (Más a Tierra): XII-1938 (fl.), López 20218 (CONC); Isla Más a Tierra, 400 m, XI-1941 (fl.), Weber 1000 (CONC). Along high ridge above Pangal and Corrales de Molina, 750 m, 21-XI-1980 (fl.), Stuessy 5367 (CONC). Cerro de Bahía Cumberland, 10-250 m, 11-16-VIII-1942 (fl.), Pisano & Montaldo 1421 (CONC). Cordón Los Chifladores, 630 m, 23-XI-1980, Stuessy 5402 (CONC). Faldeos del Yunque, entre la Plazoleta y el Camote, 300 m, 11-16-VIII-1942 (fl.), Pisano & Montaldo 1444 (CONC). La Vaquería, forest of Myrceugenia on north-central slope opposite the sea and Cerro Alto, ca 250 m, 28-XI-1980 (fr.), Stuessy 5492 (CONC). La Piña, 575 m, 22-I-1997, Stuessy 15344 (CONC). Mirador Selkirk on Villagra side, 565 m, 30-XI-1980 (fl.), Stuessy 5514 (CONC). Plazoleta el Yunque, 33°38'58.4"S 78°50'35.3"W, 11-XII-2003 (fl.), Gardner 45 (CONC), 7-IX-1934 (fl.), Bock 37 (CONC). Puerto Francés, Cerro Pascua down into Quebrada del Cordón Michay, 470 m 22-I-1997 (fl.), Baeza & Kottirsch 15358 (CONC). Quebrada Villagra, 450 m, 14-I-1996 (fl.), Stuessy 15035 (CONC). Rabanal, 33°38'S-78°52′W, 28-III-1983 (fr.), 150 m, López 41 (CONC). Valle Colonial hasta Portezuelo de Villagra, 10-XII-1965 (fl.), Muñoz & Sierra 7200 (CONC). Villagra, Howard Mirador Selkirk, 440 m, 4-II-1984, Ruiz 6610 (CONC).

Clave para separar *Nothomyrcia* de *Myrceugenia*

DISCUSIÓN

Nothomyrcia fernandeziana ha sido considerada como una especie "anómala" de Myrceugenia (Legrand 1957) o de la tribu Myrteae (McVaugh 1968), de difícil ubicación taxonómica debido a que la combinación de caracteres como el tipo de inflorescencia (racemosa), el número de partes del perianto (4), el número de lóculos del ovario (2-(3)) y la placentación (central) no se encuentra en otros géneros de la tribu (Legrand 1957, McVaugh 1968). Dentro de Myrceugenia, las especies a las que más se parece N. fernandeziana son M. campestris (DC.) D. Legrand &

Kausel y *M. rufescens* (DC.) D. Legrand & Kausel, por el tipo de pelos y la inflorescencia (Landrum 1981). En cuanto al indumento, *N. fernandeziana* está cubierta con pelos simples, mientras que las especies de *Myrceugenia*, en general, están cubiertas con pelos dolabriformes y en algunos casos como en *M. campestris*, *M. rufescens* y *M. miersiana* (Gardner) D. Legrand & Kausel, principalmente por pelos simples o una mezcla de pelos simples y dolabriformes. *Myrceugenia* generalmente tiene inflorescencias solitarias o en fascículos y las flores son solitarias o dispuestas en dicasios. En *N. fernandeziana* se presentan racimos simples, carácter que es compartido algunas veces con *M. rufescens*, *M. campestris* y

M. kleinii Legrand & Kausel (Landrum 1981). No obstante, *N. fernandeziana* se diferencia por tener bractéolas caducas antes o durante la antesis y la vena media de la hoja elevada por la haz, mientras que en *M. campestris*, *M. kleinii* y *M. rufescens*, al igual que en todas las demás especies del género, las bractéolas son usualmente persistentes y la vena media de la hoja es inmersa por la haz (Landrum 1981).

Dentro de la tribu Myrteae la morfología del embrión ha sido considerada de gran importancia taxonómica para separar subtribus (Berg 1855-1856) e incluso géneros (Landrum 1981, Proença *et al.* 2006). La subtribu Myrtinae se caracteriza por presentar un embrión con cotiledones muy pequeños y un hipocótilo alargado, espiralado o curvo (Fig. 1A). En la subtribu Eugeniinae los cotiledones son grandes, gruesos y plano convexos, mientras que el hipocótilo es muy pequeño (Fig. 1B) y en la subtribu Myrciinae los cotiledones son grandes, foliosos, contortuplicados y el hipocótilo es alargado y rodea lateralmente los cotiledones,

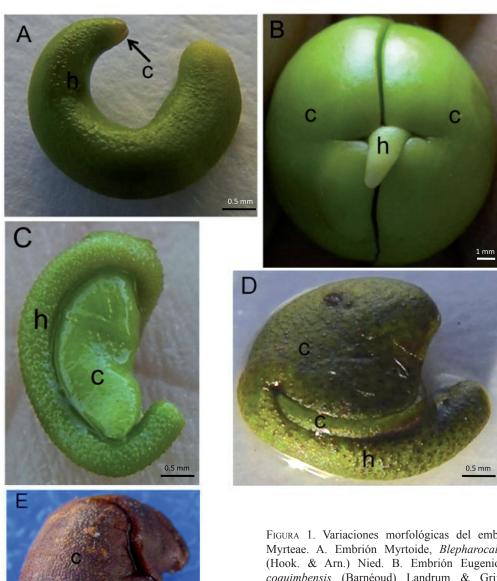


FIGURA 1. Variaciones morfológicas del embrión en la tribu Myrteae. A. Embrión Myrtoide, *Blepharocalyx cruckshanksii* (Hook. & Arn.) Nied. B. Embrión Eugeniode, *Myrcianthes coquimbensis* (Barnéoud) Landrum & Grifo. C. Embrión Myrcioide, *Myrceugenia exsucca* (DC.) O.Berg. D. Embrión de *Luma apiculata* (DC.) Burret. E. Embrión de *N. fernandeziana* (B. López 41 CONC). c. Cotiledón. h. Hipocótilo.

FIGURE 1. Morphological variations of embryo in tribe Myrteae. A. Myrtoid embryo, *B. cruckshanksii*. B. Eugenioid embryo, *M. coquimbensis*. C. Myrcioid embryo, *M. exsucca*. D. Embryo of *L. apiculata*. E. *N. fernandeziana* embryo. c. Cotyledon. h. Hypocotyl.

como en Myrceugenia (Fig. 1C). Luma presenta un embrión intermedio entre Eugeniinae y Myrciinae con cotiledones plano convexos y el hipocótilo es relativamente de la misma longitud que los cotiledones (Fig. 1D). Nothomyrcia tiene un embrión semejante a Myrceugenia, pero con el hipocótilo en posición basal y con forma de "U" (Fig. 1 E). Nothomyrcia y Myrceugenia presentan el mismo tipo de embrión Myrcioide, lo que haría pensar que podrían estar estrechamente relacionados; sin embargo, los estudios filogenéticos basados en caracteres moleculares (Murillo 2011, Murillo *et al.* sometido) muestran que los embriones de estos géneros, así como el del "grupo Myrcia" (sensu Lucas et al. 2007) han surgido independientemente, por lo tanto la variación en la forma y la posición del hipocótilo de Nothomyrcia no corresponderían a una variación morfológica de Myrceugenia.

Análisis filogenéticos con Máxima Parsimonia, Inferencia Bayesiana y "Neighbor-Net" basados en el estudio de 6 marcadores moleculares, 4 del cloroplasto (partial *matK-trnK*, *rpl32-trnL*, *trnQ-5'rps16*, *rpl16*) y dos del núcleo (ITS, ETS), muestran que *Myrceugenia* y *Nothomyrcia* aparecen en clados separados (Fig. 2), demostrando que han surgido independientemente (Murillo 2011, Murillo *et al.* sometido) y por tanto corroboran el restablecimiento de *Nothomyrcia*. Todas las especies de *Myrceugenia* aparecen en un clado fuertemente soportado y sustentado por 12 sustituciones sin homoplasia, nueve de ellas del cloroplasto y tres de las regiones nucleares. Además,

presentan una inserción de cuatro pares de bases (TAAA) en la región *matK-trnK* y dos deleciones del espaciador intergénico *rpl32-trnL* (AAGTGATGA, TTMAAATK); ninguno de estos caracteres se encuentra en *Nothomyrcia* ni tampoco en otros géneros estudiados (*Blepharocalyx, Luma, Ugni, Myrcianthes y Myrtus*), por lo que corresponderían a sinapomorfias de *Myrceugenia*. Además, una duplicación de 7 pares de bases (GAGATAAT) en el intron *rpl16* está presente en *Nothomyrcia, Blepharocalyx, Luma, Myrcianthes y Myrtus*, pero no en *Myrceugenia*.

La estructura secundaria de los marcadores nucleares ha mostrado ser de gran utilidad filogenética, pues se obtienen hipótesis más resueltas y más robustas (Tippery & Les 2008); además, se ha utilizado para separar taxones que no son fácilmente distinguibles con caracteres morfológicos (Ruhl et al. 2010). La estructura secundaria del ITS y del ETS es altamente conservada en la tribu Myrteae y las variaciones generalmente corresponden a cambios compensatorios para mantener las hélices (Murillo 2011). Algunas de las mutaciones permiten establecer diferencias estructurales entre Myrceugenia, Nothomyrcia y otros géneros de la tribu Myrteae. De acuerdo con la estructura secundaria del ETS, todas las especies de Myrceugenia comparten dos sinapomorfías estructurales que no se encuentran en Nothomyrcia ni en ningún otro género de Myrteae (Fig. 3). La primera ocurre en la parte media de la hélice II de *Myrceugenia*, donde hay una transversión en el par A-U, el cual cambia a un par U U, lo que determina una

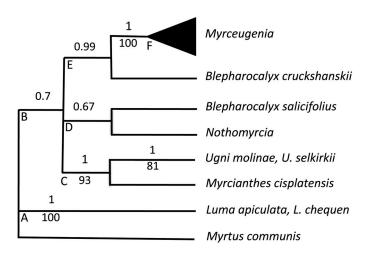


FIGURA 2. Reconstrucción filogenética simplificada de las relaciones de parentesco entre *Myrceugenia*, *Nothomyrcia* y otros géneros de la tribu Myrteae, sobre la base de análisis combinados de cuatro marcadores del cloroplasto y dos nucleares. Los números encima de las ramas representan la probabilidad posterior encontrada en los análisis bayesianos y los números debajo de las ramas son los valores de Bootstrap provenientes de los análisis de Máxima Parsimonia. Obtenido de Murillo (2011) y Murillo *et al.* (sometido).

FIGURE 2. Simplified phylogenetic reconstruction of relationships among *Myrceugenia*, *Nothomyrcia* and other genera of the tribe Myrteae, based on combined analysis of four chloroplast and two nuclear markers. Numbers above branches are Bayesian posterior probabilities; numbers below branches are bootstrap percentages from parsimony analysis. Obtained from Murillo (2011) and Murillo *et al.* (submitted).

falta de apareamiento de bases en esta posición (Fig. 3A) y la segunda es otra transversión de una U por una A en la base de la hélice VI, lo cual hace que esta estructura tenga una longitud de cuatro pares de apareamientos de bases en las especies de *Myrceugenia*, mientras que en *Nothomyrcia*, *Blepharocalyx*, *Myrcianthes* y *Ugni* presentan cinco y en *Luma* siete (Fig. 3B).

Además, si se tiene en cuenta la composición de bases de estas dos hélices, se observa que las estructuras de *Nothomyrcia* son idénticas a otros géneros distintos de *Myrceugenia*, así la hélice II es igual a la de *B. cruckshanksii* y la de *Ugni* (Fig. 3A), mientras que la hélice VI es semejante a la que presenta *B. salicifolius* (Kunth) O.Berg, *Myrcianthes cisplatensis* (Cambess.) O.Berg, *Myrtus communis* L. y las especies de *Ugni* (Fig. 3), lo cual sugiere una relación más cercana con otros géneros de Myrteae que con *Myrceugenia*. Las relaciones de parentesco entre *N. fernandeziana* y otros géneros de la tribu Myrteae no es clara, debido a su particular combinación de caracteres morfológicos, por lo que McVaugh (1968) propuso que

Nothomyrcia estaría relacionado con los ancestros de la tribu y que se habría mantenido aislado, es decir que no habría diversificado en nuevos taxones. Por el tipo de embrión myrcioide se podría pensar que Nothomyrcia estaría relacionado con Myrceugenia o con el grupo "Myrcia" (sensu Lucas et al. 2007); sin embargo, el estudio de Murillo (2011), donde se incluyen cerca de 30 géneros de la tribu Myrteae, muestra que Nothomyrcia está relacionado con Blepharocalyx y éstos a su vez con los grupos "Pimenta" y "Plinia" (sensu Lucas et al. 2007). Aunque Nothomyrcia se parece a *Blepharocalyx* por el indumento, la vena media elevada por la haz, las bractéolas caducas antes o durante la antesis y las flores tetrámeras, se diferencian por el tipo de inflorescencias (racimos o dicasios y panículas) y de embriones (myrcioide o myrtoide). De acuerdo con las evidencias moleculares y morfológicas, se concluye que N. fernandeziana no pertenece a Myrceugenia, lo que corrobora lo propuesto por Kausel (1948) y McVaugh (1968), quienes consideraban a esta especie como un género independiente (McVaugh 1968).

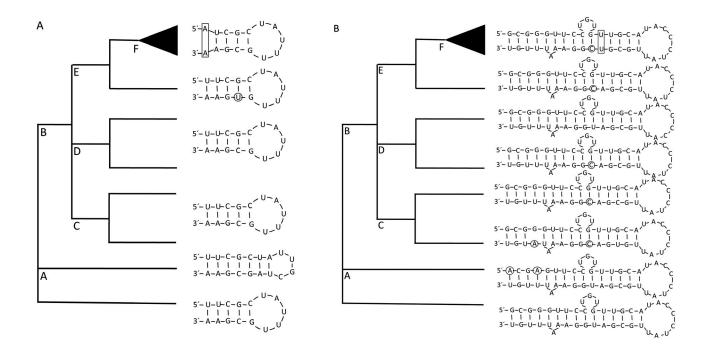


FIGURA 3. Variación en la estructura secundaria del ETS sobre la filogenia presentada en la Fig. 2. A. Hélice II, B. Hélice VI. Los recuadros muestran las sinapomorfias de *Myrceugenia*. Los círculos muestran cambios de nucleótidos.

FIGURE 3. Variability of the ETS secondary structure using the phylogeny presented in Fig. 2. A. Helix II, B. Helix VI. Boxes show the synapomorphies of *Myrceugenia*. Circles show nucleotides change.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por CONICYT (24090098) y por la Universidad de Concepción (DIUC 209.111.054-1.0). Al Department of Systematic and Evolutionary Botany, Faculty Centre of Biodiversity, University of Vienna y al Laboratorio de Sistemática Molecular del Departamento de Botánica de la Universidad de Concepción por todas las facilidades. CONC permitió el estudio de los ejemplares y Rosy Montero (CONC) facilitó su estudio. A Leslie Landrum, Tod Stuessy, Marcos Sobral, Marcelo Baeza y a un evaluador anónimo por los comentarios y sugerencias que mejoraron el manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

- Berg, O. 1855-1856. Revisio Myrtacearum Americae. Linnaea 27: 1-472.
- GOLOBOFF, P. 1999. NONA (NO NAME), v.2. Tucumán, published by the author.
- Greimler, J., P. López, T.F. Stuessy & Th. Dirnbiick. 2002. The Vegetation of Robinson Crusoe Island (Isla Masatierra), Juan Fernández Archipelago, Chile. Pacific Science 56(3): 263-284
- HOOKER, W.J. & G.A.W. ARNOTT. 1833. Contributions towards a flora of South America and the islands of the Pacific. Hooker's Botanical Miscellany 3: 302-367.
- KAUSEL, E. 1948. Notas mirtológicas. Lilloa 13: 125-149.
- Landrum, L.R. 1981. A monograph of the genus *Myrceugenia* (Myrtaceae). New York Botanical Garden, Bronx, New York [Flora Neotropica Monographs 29]. 135 pp.
- LEGRAND, D. 1957. Representantes neotropicales del género *Myrceugenia*. Darwiniana 11(2): 293-365.
- Lucas, E., S. Harris, F. Mazine, S. Belsham, E.M. Lughadha, A. Telford, P. Gasson & M. Chase. 2007. Suprageneric phylogenetics of Myrteae, the generically richest tribe in

- Myrtaceae (Myrtales). Taxon 56(4): 1105-1128.
- Mathews, D., J. Sabina, M. Zuker & D.H. Turner. 1999. Expanded Sequence Dependence of Thermodynamic Parameters Improves Prediction of RNA Secondary Structure. Journal of Molecular Biology 288(5): 911-940.
- McVaugh, R., 1968. The genera of American Myrtaceae, An interim report. Taxon 17(4): 354-418.
- Murillo-A, J. 2011. Filogenia molecular y análisis biogeográfico del género *Myrceugenia* (Myrtaceae). Tesis de Doctorado, Universidad de Concepción, Concepción. 177 pp.
- MURILLO-A., J. (sometido). Phylogenetic relationships of *Myrceugenia* (Myrtaceae) based on plastid and nuclear DNA sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution.
- Proença, C.E., E.M. Lughadha, E. Lucas & E.M. Woodgyer. 2006. *Algrizea* (Myrteae, Myrtaceae): a new genus from the Highlands of Brazil. Systematic Botany 31(2): 320-326
- RONQUIST, F. & J.P. HUELSENBECK. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics 19(12): 1572-1574.
- Ruhl, M.W., M. Wolf & T.M. Jenkins. 2010. Compensatory base changes illuminate morphologically difficult taxonomy. Molecular Phylogenetics and Evolution 54(2): 664-669.
- Seibel, P.N., T. Müller, T. Dandekar, J. Schultz & M.Wolf. 2006. 4SALE - A tool for synchronous RNA sequence and secondary structure alignment and editing. BMC Bioinformatics 7: 498.
- SEIBEL, P.N., T. MÜLLER, T. DANDEKAR & M. WOLF. 2008. Synchronous visual analysis and editing of RNA sequence and secondary structure alignments using 4SALE. BMC Research Notes 1: 91.
- TIPPERY, N.P. & D.H. Les. 2008. Phylogenetic analysis of the internal transcribed spacer (ITS) region in Menyanthaceae using predicted secondary structure. Molecular Phylogenetics and Evolution 49(2): 526-537.
- ZUCKER, M. 2003. Mfold web server for nucleic acid folding and hybridization prediction. Nucleic Acids Research 31(13): 3406-3415.

Recibido: 06.05.11 Aceptado: 11.07.11