

Artículo Original / Original Article

Morfo-anatomía foliar de *Araujia odorata* (Apocynaceae - Asclepiadoideae) en un gradiente altitudinal. Histoquímica de laticíferos[Foliar morpho-anatomy of *Araujia odorata* (Apocynaceae - Asclepiadoideae) in an altitudinal gradient. Histochemistry of laticifers]María de los Ángeles Álvarez¹, María Inés Mercado², María Eugenia Guantay² y Graciela Inés Ponessa²¹Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRON), Instituto de Bioprospección y Fisiología Vegetal (INBIOFIV-CONICET), Facultad de Ciencias Naturales e IML, Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán, Argentina²Instituto de Morfología Vegetal. Área Botánica. Fundación Miguel Lillo, San Miguel de Tucumán, Argentina**Reviewed by:**Martha Gattuso
Universidad Nacional de Rosario
Argentina

Adriana Gratti

Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco
Argentina**Correspondence:**María Inés MERCADO:
mimercado@lillo.org.ar**Section**

Ethnobotany

Received: 13 April 2020

Accepted: 30 June 2020

Accepted corrected: 4 July 2020

Published: 30 July 2021

Citation:Álvarez MA, Mercado MI,
Guantay ME, Ponessa GI.
Morfo-anatomía foliar de *Araujia odorata*
(Apocynaceae - Asclepiadoideae) en un gradiente
altitudinal. Histoquímica de laticíferos.**Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat**

20 (4): 367 - 385 (2021).

<https://doi.org/10.37360/blacpma.21.20.4.27>

Abstract: *Araujia odorata* is a sub-shrub native from Argentina, Brazil, Paraguay and Uruguay, whose latex, roots and leaves are used in traditional medicine. The objective of this work is to study the foliar morpho-anatomy of six populations in an altitudinal gradient (359-2155 m.a.s.l.) of Northwestern Argentine and to determine the nature of the compounds present in the laticiferous of the stems and fruits using conventional techniques for plant anatomy. The populations under study did not show significant morpho-anatomical differences. They presented simple leaves, pinnated brochodromous venation, amphistomatic isolateral lamina, brachy, anomo and amphicyclocytic stomata, eglandular trichomes, midvein with bicolateral vascular bundle and non-articulated laticifers continuous in the petiole, stem and fruits. Differences in the quantified foliar parameters are observed, however, only the density of trichomes, stomata and the thickness of the cuticle are positively correlated with the altitudinal gradient, indicating phenotypic plasticity. Histochemical analysis of laticifers and other stem idioblasts of *A. odorata* was performed for the first time.

Keywords: Doca; Fruit; Leaf, Stem, Laticifers; NOA.

Resumen: *Araujia odorata*, es un subarbusto nativo de Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay, cuyo látex, raíces y hojas son utilizados en medicina popular. Se plantea como objetivo realizar un estudio morfo-anatómico foliar de seis poblaciones del Noroeste Argentino en un gradiente altitudinal (359-2155 m.s.n.m) y determinar la naturaleza de los compuestos presentes en laticíferos de tallos y frutos mediante técnicas convencionales de anatomía vegetal. Las poblaciones estudiadas no evidenciaron diferencias morfo-anatómicas significativas. Presentan hojas simples, venación pinnada broquidódroma, lámina isolateral anfiestomática, estomas braqui, anomo y anficyclocíticos, tricomas eglandulares, nervio medio con haz bicolateral y laticíferos no-articulados continuos en pecíolo, tallo y frutos. Se observan diferencias en los parámetros foliares cuantificados, sin embargo, solo la de densidad de tricomas, estomas y el espesor de cutícula se correlacionan positivamente con el gradiente altitudinal indicando plasticidad fenotípica. Se realiza por primera vez un análisis histoquímico de los laticíferos y otros idioblastos del tallo *A. odorata*.

Palabras clave: Doca; Fruto; Hoja; Tallo; Laticíferos; NOA.

INTRODUCCIÓN

La familia Apocynaceae, se encuentra representada por 366 géneros (Endress *et al.*, 2014) y aproximadamente 5000 especies (Rapini *et al.*, 2011), en regiones tropicales, subtropicales y templadas del mundo (Endress y Bruyns, 2000). Estudios moleculares han incluido a las Asclepiadoideae como una de sus subfamilias más extensas de las Apocynaceae (Endress y Bruyns, 2000; Potgieter y Albert, 2001; APG IV, 2016).

De las Asclepiadoideae, el género *Araujia* Brot. presenta 12 especies (Liede-Schumann *et al.*, 2005; Farinaccio, 2008; Rapini *et al.*, 2011), pertenecientes a la región Chaqueña de Argentina, oeste de Paraguay, Sud este de Bolivia y parte de Brasil (Goyder, 2003; Goyder, 2004; Rapini *et al.*, 2011).

Araujia odorata (Hook. & Arn.) Fontella & Goyder (Apocynaceae, Asclepiadoideae), conocida popularmente como “tasi”, “tási”, “doca”, “isipo’a”, “ysypo’a”, “guaicurú-rembiú” o “milkweed vine”, es un sub-arbusto voluble, lechoso, de 3 a 5 m de altura (Figura N° 1A) (Bayón y Arambarri, 1999; Hechem y Ezcurra, 2006; Rapini *et al.*, 2011). Su distribución se extiende desde Argentina (en las provincias de

Buenos Aires, Catamarca, Chaco, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, Jujuy, La Pampa, La Rioja, Mendoza, Salta, Sgo. del Estero, Santa Fe, San Juan, Tucumán) hasta Brasil, Paraguay y Uruguay, desde 0 a 2000 m s.n.m. (Zuloaga y Anton, 2020), tanto en selvas húmedas y sombrías como en bosques secos. Encontrándose frecuentemente en cercos y alambrados (Meyer *et al.*, 1977).

La especie presenta hojas semi-suculentas, simples, opuestas, pecioladas, las inferiores ovado-lanceoladas, las superiores triangular-hastadas o sagitadas. Flores aromáticas en cimas umbeliformes, pauci o plurifloras (Figura N° 1B), con cáliz de segmentos lanceolados, agudos, pubescentes; corola rotácea, blanco-verdosa, con lóbulos oblongos, pubescentes en la cara abaxial. Se caracteriza por presentar corona tubulosa blanca, 5-lobada, de 6-7 mm de alto, sobre elevada con respecto a un ginostegio cortamente estipitado. Apéndice estigmático cónico, partido en el ápice. El polen se encuentra en polinios. El fruto es un folículo ovoide, liso, de 8-14 cm de long. x 4-9 cm de latitud (Figuras N° 1C-E). Las semillas son oblongas, de 6 a 7 mm de long., rugosas, de color castaño oscuro, con penacho de pelos largos sedosos (Zuloaga y Anton, 2020).

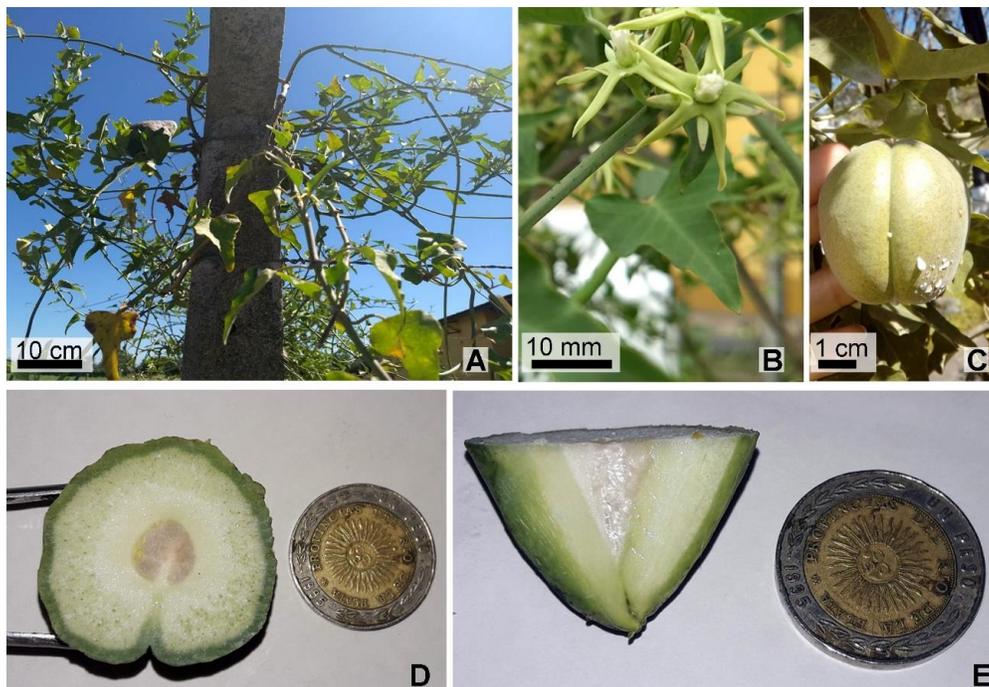


Figura N° 1

Araujia odorata (Hook. & Arn.) Fontella & Goyder. A. Aspecto general de la planta. B. Flor. C. Folículo inmaduro. D. Corte transversal de folículo. E. Corte longitudinal de folículo

Se cita el uso de su látex como galactógeno (Tourksarkissian, 1980), utilizado para cuajar leche, como odontálgico para evitar dolores en la dentición, para el tratamiento de verrugas (Barboza et al., 2009), empachos, difteria y en gárgaras para inflamaciones de la garganta, (Bustamante, 1927; Saggese, 1959; Martínez Crovetto, 1981; González Torres, 1992; Burgstaller, 1994; Lahitte et al. 1998; Trillo, 2010). También se consumen las flores, tallos, hojas superiores astadas y frutos verdes cocidos en forma de dulces o conservas (Arenas, 1999; Arenas y Scarpa, 2007). Pobladores rurales de la provincia de Tucumán refieren el uso del látex como sustituto de la goma de pegar.

Sus frutos presentan cantidades elevadas de calcio, hierro y magnesio, pudiendo sustituir perfectamente otros frutos comerciales. Según Chifa y Gimenez (2003), sus hojas y frutos son aptos para el consumo humano, en forma de decocciones e infusiones.

Químicamente se ha informado sobre la presencia de alcaloides en sus hojas y enzimas proteolíticas en tallos, pecíolos y látex (Arribere et al., 1998; Cavalli et al., 2001; Barboza et al., 2009). Hernández et al. (2019) citan presencia de idioblastos con drusas, taninos, lípidos y almidón, aunque no definen claramente en que estructura se encuentran dichos compuestos.

Estudios anatómicos generales para la familia y algunos de sus miembros fueron abordados por Metcalfe y Chalk (1950), Wilson y Mahlberg (1978), Fahn (1979), Buvat (1989) y deteniéndose especialmente en sus estructuras secretoras, indican la presencia de tricomas glandulares, idioblastos y laticíferos en hojas y tallos. Cortadi et al. (1999) y Cortadi (2001) realizaron una descripción de la anatomía de órganos vegetativos de especies de *Araujia* y *Morrenia* de uso medicinal, recalando la importancia de caracteres como ser densidad estomática, patrón de venación, simetría de la hoja en transcurso, tipo y presencia de cristales, que permiten la diferenciación de las mismas en estado de droga vegetal. En tanto Bayón y Arambarri (1999) y Hernández et al. (2019) realizaron una descripción morfoanatómica general y de parámetros micrográficos foliares de *A. odorata* como parte de una descripción de especies de Apocynaceae - Asclepiadoideae de uso medicinal de la Provincia Pampeana y de especies trepadoras medicinales rioplatenses de la República Argentina. Carvalho et al. (2017), realizaron un estudio de anatomía foliar de diez especies de *Araujia* y *Morrenia*, entre las cuales

se cita *A. odorata*, para establecer nuevas evidencias que apoyan la reinserción de *Morrenia* en *Araujia* propuesta previamente por Rapini et al. (2011), Farinaccio (2008) y Liede-Schumann et al. (2005).

La estructura anatómica del fruto fue descripta de forma general para *A. serifera* Brot. (Castro, 1986), *A. brachystephana* (Griseb.) Fontella & Goyder y *A. odorata* (Cortadi, 2001).

Teniendo en cuenta que gradientes de distribución altitudinal y en menor medida los latitudinales pueden modificar la morfología y anatomía foliar de las especies vegetales (Korner et al., 1986; Molina-Montenegro, 2008; Wang et al., 2015; Jiménez-Noriega et al., 2017), en particular la densidad de estomas y tricomas y el espesor de tejidos foliares (Kao y Chang, 2001; Kofidis et al., 2003; Colmenares-Arteaga et al., 2005; García y Lapp, 2005; Tiwari et al., 2013) modificando la descripción farmacobotánica de una especie y su fitoquímica en cuanto a la tipo y cantidad de compuestos secretados dependiendo de las estructuras secretoras presentes y su densidad. Considerando la distribución de *A. odorata* en diferentes pisos altitudinales del Noroeste Argentino (NOA) y el escaso conocimiento sobre su desarrollo en los mismos, el objetivo del presente trabajo es realizar una descripción morfo-anatómica de hojas de diferentes poblaciones de *A. odorata* a lo largo de un gradiente altitudinal del NOA, a fin de identificar variaciones cuali o cuantitativas de estructuras foliares en relación a dicho gradiente; y determinar mediante técnicas histoquímica la naturaleza de los compuestos contenidos en los laticíferos presentes en sus hojas, tallos y frutos.

MATERIALES Y METODOS

Material vegetal

Se analizaron 6 poblaciones de *Araujia odorata* (Hook. & Arn.) Fontella & Goyder. del NOA. De cada población se muestrearon 10 individuos seleccionados al azar. Material de referencia fue ingresado al herbario de la Fundación Miguel Lillo.

Población 1: Argentina, Provincia de Santiago del Estero, Departamento de El Bagual, Puesto de la Libertad, 15 S27°08'54.8" W0.64°44'9, 359 m.s.n.m., 3-XII- 2012. *M.I. Mercado, G. Guzman. S/N (LIL).*

Población 2: Argentina, Provincia de Tucumán, Departamento de Trancas, Localidad Vipos "Estancia los Ángeles" Km 1338 ruta 9, 640 m.s.n.m., 17-XII- 2012. *M.I. Mercado, G.I. Ponessa. 613527 (A, B) y 613529 (LIL).*

Población 3: Argentina, Provincia de Salta, Departamento de Candelaria, Localidad El Tala, Estancia el Dátil, S20°5'1800'' W65°16'58.93'', 798 m.s.n.m., 18-I-2013. *M.I. Mercado*. S/N (LIL).

Población 4: Argentina, Provincia de Tucumán, Departamento de Tafí del Valle, Localidad Amaicha, S26°35'42'' W65°55'44.5'' 1965 m.s.n.m., 5-V-2013. *R. Delgado*. S/N (LIL).

Población 5: Argentina, Provincia de Tucumán, Departamento de Tafí del Valle, Localidad del Mollar, 2100 m.s.n.m., 26-I-2013. *G.I. Ponessa*. 613530 (A, B) (LIL).

Población 6: Argentina, Provincia de Catamarca, Departamento de Santa María, S26°54'13.4'' W 65°04.1'59.4, 2155 m.s.n.m., 3-III-2014, *R. Delgado*. S/N (LIL).

Morfología, anatomía e histoquímica

Muestras de órganos vegetativos (sección de tallo del segundo entrenudo a partir del ápice, pecíolo y hojas superiores del tercer nudo a partir del ápice) y frutos (no lignificados) fueron fijadas en FAA (formol, alcohol etílico, ácido acético, agua, 100:500:50:350 ml) para su posterior estudio o fueron utilizadas como material fresco para pruebas histoquímicas.

Para el estudio de la epidermis y la venación foliar, se realizaron diafanizados según la técnica de Dizeo de Strittmater (1973) y raspado según Metcalfe (D'Ambrogio de Argueso, 1986). En la descripción de la venación foliar se utilizó la terminología de Hickey (1974), Hickey (1979) y Ellis *et al.* (2009). Las epidermis fueron posteriormente tratadas con hipoclorito de Na 50%, lavadas con agua destilada y coloreadas con violeta de cresil (5%) para determinar densidad estomática ($DE = N^{\circ}$ de estomas/mm²), tamaño estomático (longitud x latitud de células oclusivas), densidad de tricomas (DT) y longitud de tricomas. De cada individuo se analizaron 20 campos seleccionados al azar. Para la clasificación de los estomas se usó la terminología propuesta por Dilcher (1974).

Para los estudios anatómicos de cada individuo de las diferentes poblaciones se tomaron fragmentos de aproximadamente 1 cm de los diferentes órganos previamente fijados (tallo, pecíolo, hoja y fruto, en su sección media opuesta a la línea de dehiscencia del folículo). Los fragmentos fueron montados en soportes de cera odontológica y posteriormente seccionados a 15-25 µm de espesor con un micrótopo rotativo de minot Microm HM315 (GMI Inc., Ramsey, MN, USA). Las secciones obtenidas fueron decoloradas durante 10 min en

solución clarificante de hipoclorito de Na al 50%, lavadas con agua destilada y coloreadas con coloración doble sucesiva azul astral-safranina O (Sigma Aldrich), finalmente se realizaron preparados semi-permanente montando en agua: glicerina (1:1) (Zarlavsky, 2014).

El estudio histoquímico de laticíferos fue realizado en tallos debido a la abundancia y facilidad de manipulación de los mismos en este órgano. Se seleccionaron muestras de 2-3 mm de longitud de material fresco de tallos del primer o segundo entrenudo a partir del ápice. Dichos fragmentos fueron colocados en soportes de cera odontológica y seccionados a 15-25 µm de espesor. Las secciones obtenidas fueron coloreadas con Sudan IV para determinación de lípidos, Rojo de rutenio para sustancias pécticas y azul de toluidina para mucílagos (Zarlavsky, 2014). Reacciones de coloración fueron utilizadas para la determinación de almidón (lugol), proteínas (ácido picrico), compuestos fenólicos (cloruro férrico 1%) (Zarlavsky, 2014), alcaloides (Reactivo de Dragendorff), terpenos y aceites esenciales (Reactivo de NADI), triterpenos y esteroides (Reactivo de Liberman-Buchard) y taninos (vainillin clorhídrico y sulfúrico) (Merck, 1980). Cristales de oxalato de Ca fueron detectados por su birefringencia bajo luz polarizada (Zarlavsky, 2014).

Para las observaciones se utilizó un microscopio óptico binocular Carl Zeiss Lab. A1 Axiolab con polarizador y cámara AxioCam ERc 5s Zeiss adosada (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany). Las mediciones de espesores de tejidos se realizaron utilizando el programa Axio Vision release 4.8.2 (n=20 para cada parámetro cuantificado).

Para microscopía electrónica de barrido (MEB) de tres ejemplares de cada población se tomaron muestras de lámina de 2 mm². Las mismas fueron fijadas en glutaraldehído fosfato 5% (Karnovsky, 1965), deshidratadas pasando por una serie de alcoholes y acetona, secadas mediante punto crítico con CO₂ y posteriormente recubiertas con oro-paladio. Las observaciones y fotografías fueron realizadas en el microscopio electrónico de barrido ZEISS SUPRA-55 VP (Field emission scanning electron microscope -FESEM) del Centro de investigaciones y servicios de microscopía electrónica (CISME), CONICET-UNT.

Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis de la varianza ($p=0,05$), posteriormente se aplicó el test de Tukey, y se realizaron estudios de correlación aplicando el coeficiente de correlación no paramétrico de Spearman (Zar, 1996) para analizar la

correlación entre cada una de las variables y la altitud a la cual fue muestreada la población, mediante el empleo del paquete estadístico Infostat (versión 1.1).

RESULTADOS

Morfología foliar

El análisis de las hojas superiores de individuos de las diferentes poblaciones revela una estructura básica similar. Hojas semi-suculentas, simples, opuestas, largamente pecioladas (peciolo de 2,4 a 3,7 cm de long.), triangular-hastadas o sagitadas, de entre

6,42-8,57 cm de longitud x 4,27-6,42 cm de latitud, ápice acuminado y margen entero.

Venación primaria de tipo pinnada. Vena primaria de recorrido recto. Venación secundaria broquidódroma. El espacio entre ellas es irregular, con ángulo de divergencia agudo-moderado (45-65°) (Figura N° 2A). Venación terciaria de tipo intercostal, exterior y epimedial (Figura N° 2B y Figura N° 2C). Areolación bien desarrollada. Areolas sin vénulas, con vénulas simples o ramificadas hasta dos veces. Venación última marginal ojalada (Figura N° 2C).

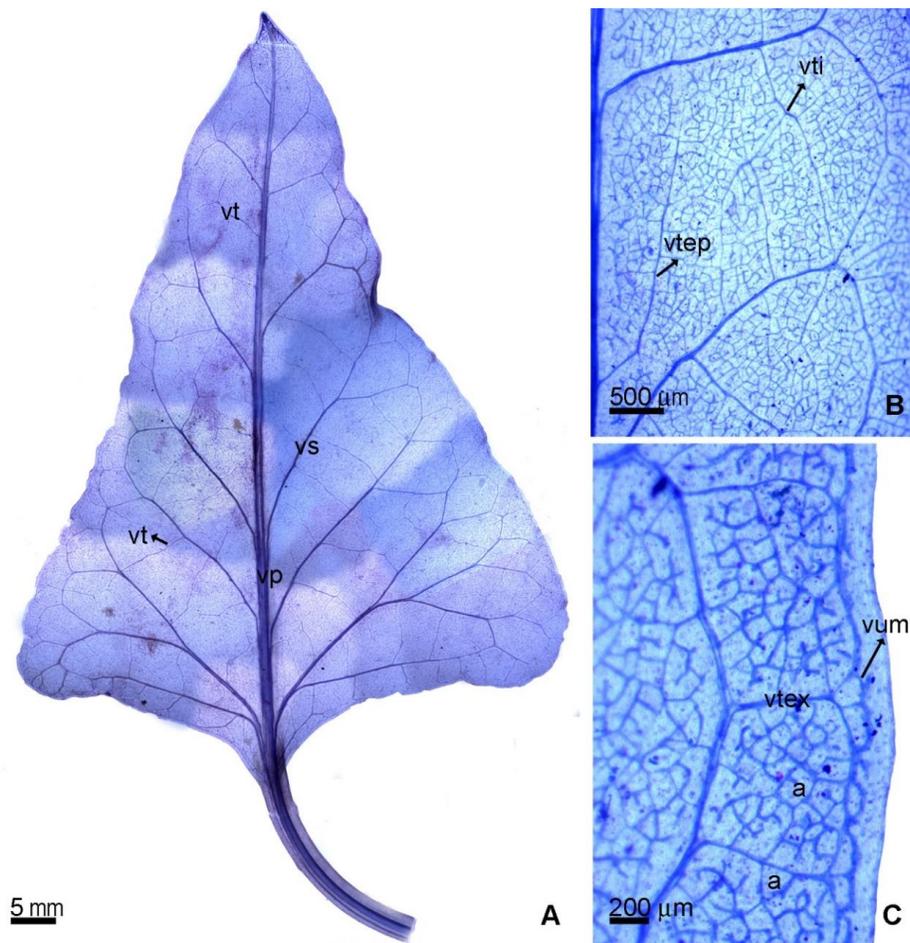


Figura N° 2

Araujia odorata (Hook. & Arn.) Fontella & Goyder. Arquitectura foliar. A. Aspecto general de la lámina. B-C. Detalle de la venación. Abreviaturas: a, aréola; vp, vena primaria; vs, vena secundaria; vt, vena terciaria; vtep, vena terciaria epimedial; vtex, vena terciaria exterior; vti, vena terciaria intercostal; vum, venación última marginal

Anatomía foliar

En vista superficial ambas epidermis presentan cutículas estriadas y células poligonales de paredes anticlinales rectas a levemente curvadas (Figuras N° 3A-C). Las hojas son anfiestomáticas. Aparatos estomáticos, generalmente anfibraquiparacíticos, braquiparacíticos y hemibraquiparacíticos, en menor medida anomocíticos y ciclocíticos (Figuras N° 3B-G). La longitud y latitud de las células oclusivas, así como la densidad estomática, tanto para la epidermis

adaxial como abaxial varían de según la población bajo estudio (Tabla N° 1).

En ambas superficies epidérmicas se observan tricomas eglandulares pluricelulares uniseriados (2-4 células) de ápice agudo, superficie ornamentada y base rodeada de 5-6 células epidérmicas dispuestas radialmente (Figura N° 3A, Figura N° 3C y Figura N° 3H), su longitud oscila entre los 105,82 y 175,92 μm (Tabla N° 1), este parámetro no presentó correlación con el gradiente altitudinal.

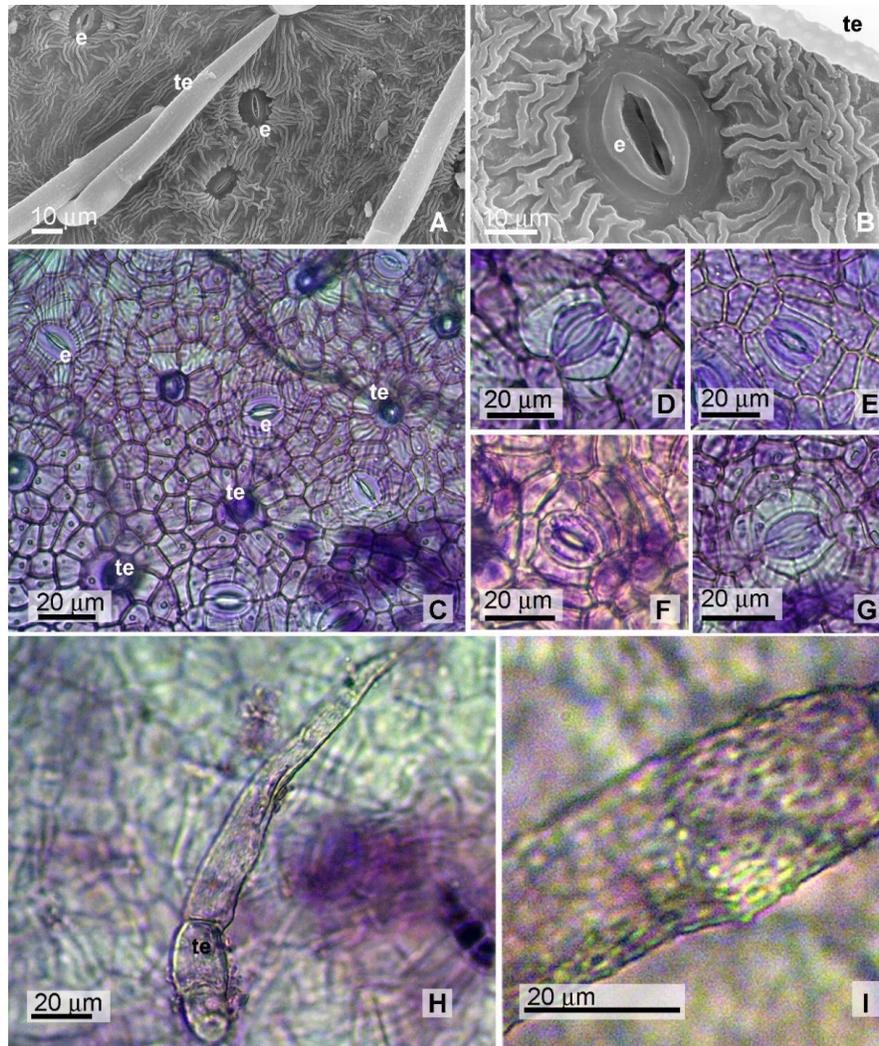


Figura N° 3

Araujia odorata (Hook. & Arn.) Fontella & Goyder. Estomas. A-B. Microscopía electrónica de barrido. C-I. Microscopio óptico. A. Epidermis adaxial. B. Estoma y cutícula estriada. C. Epidermis abaxial con estomas anomocíticos. D. Estomas braquiparacítico. E. Estoma anfibraquiparacítico. F. Estoma hemibraquiparacítico. G. Estomas anficiclocítico o biciclocítico. H. Tricoma eglandular uniseriado ornamentado. I. Detalle de superficie ornamentada del tricoma eglandular. Abreviaturas: e, estoma; te, tricoma eglandular

Las dimensiones estomáticas mostraron una ligera correlación negativa con respecto al gradiente altitudinal (Figura N° 4A y Figura N° 4B). Las poblaciones (4, 5 y 6) de regiones áridas y en altura presentan mayores densidades de estomas y tricomas

en las superficies epidérmicas adaxial, abaxial y total, variables que se correlacionan de forma positiva con el gradiente altitudinal (Tabla N° 1, Figuras N° 4C-H).

Tabla N° 1
Parámetros epidérmicos cuantificados para las distintas poblaciones de *A. odorata*

Población	Densidad Estomática (E/mm ²)		Densidad Estomática total (mm ²)
	Ep.Superior	Ep. Inferior	
1	84,09 ± 30,15 ^{ab}	103,57 ± 17,25 ^a	179,17 ± 43,06 ^a
2	115 ± 26,87 ^b	212,5 ± 48,95 ^b	327,55 ± 51,97 ^b
3	72,72 ± 26,11 ^a	140,90 ± 28,00 ^a	213,64 ± 37,69 ^a
4	228,12 ± 31,16 ^c	237,5 ± 56,82 ^b	464,24 ± 63,03 ^c
5	77,78 ± 19,54 ^{ab}	120 ± 30,73 ^a	202,78 ± 38,41 ^a
6	190,47 ± 47,43 ^c	205,55 ± 46,40 ^b	400,00 ± 55,90 ^c

Población	Long. Estomática (µm)		Lat. Estomática (µm)	
	Ep.Superior	Ep. Inferior	Ep.Superior	Ep. Inferior
1	24,46 ± 2,13 ^c	22,64 ± 3,42 ^c	18,55 ± 2,43 ^c	14,78 ± 2,34 ^{ab}
2	21,14 ± 2,03 ^{ab}	22,24 ± 1,96 ^{bc}	17,6 ± 1,61 ^{dc}	15,28 ± 1,62 ^{ab}
3	23 ± 2,08 ^{bc}	19,26 ± 1,85 ^a	17,83 ± 2,12 ^{bc}	14,38 ± 1,35 ^a
4	19,79 ± 1,71 ^a	20,32 ± 1,74 ^{ab}	14,67 ± 1,30 ^a	14,77 ± 1,68 ^{ab}
5	22,85 ± 2,62 ^{bc}	18,87 ± 0,94 ^a	16,53 ± 2,00 ^{ab}	15,02 ± 1,39 ^{ab}
6	21,65 ± 2,08 ^{ab}	21,57 ± 1,72 ^{bc}	15,71 ± 1,89 ^a	16,10 ± 1,60 ^b

Población	Densidad Tricoma (T/mm ²)		Densidad de Tricoma total (mm ²)	Longitud Tricoma (µm)	
	Ep.Superior	Ep. Inferior		Ep.Superior	Ep. Inferior
1	46,87±24,77 ^a	157,14±37,40 ^{ab}	191,67±43,78 ^b	175,92±45,55 ^b	135,73±28,53 ^{ab}
2	25 ±16,67 ^a	93,7±25,88 ^a	118,75±32,04 ^a	128,9±29,66 ^a	143,46±43,61 ^{ab}
3	57,5 ±16,87 ^a	175±31,18 ^b	232,50±33,63 ^b	146,32±51,07 ^{ab}	168,64±47,92 ^b
4	161,11±18,16 ^b	192,5±56,58 ^{bc}	344,44±52,70 ^c	154,08±31,79 ^{ab}	128,82±46,08 ^a
5	58,33±25 ^a	247,22±44,09 ^c	305,56±52,70 ^c	138,85±20,14 ^{ab}	105,82±36,93 ^a
6	171,42±41,90 ^b	175±61,24 ^b	346,43±52,89 ^c	165,75±33,11 ^{ab}	152,88±43,39 ^b

Referencias: 1, El Bagual, Santiago del Estero (359 m.s.n.m.); 2, Trancas, Tucumán (640 m.s.n.m.); 3, El Tala, Salta (798 m.s.n.m.); 4, Amaicha, Tucumán (1965 m.s.n.m.); 5, El Mollar, Tucumán (2100 m.s.n.m.); 6, Santa María, Catamarca (2155 m.s.n.m.). Valores de longitud y latitud expresados en µm. Densidad expresada en número de tricomas o estomas/ mm². Letras distintas indican diferencias significativas ($p = 0,05$)

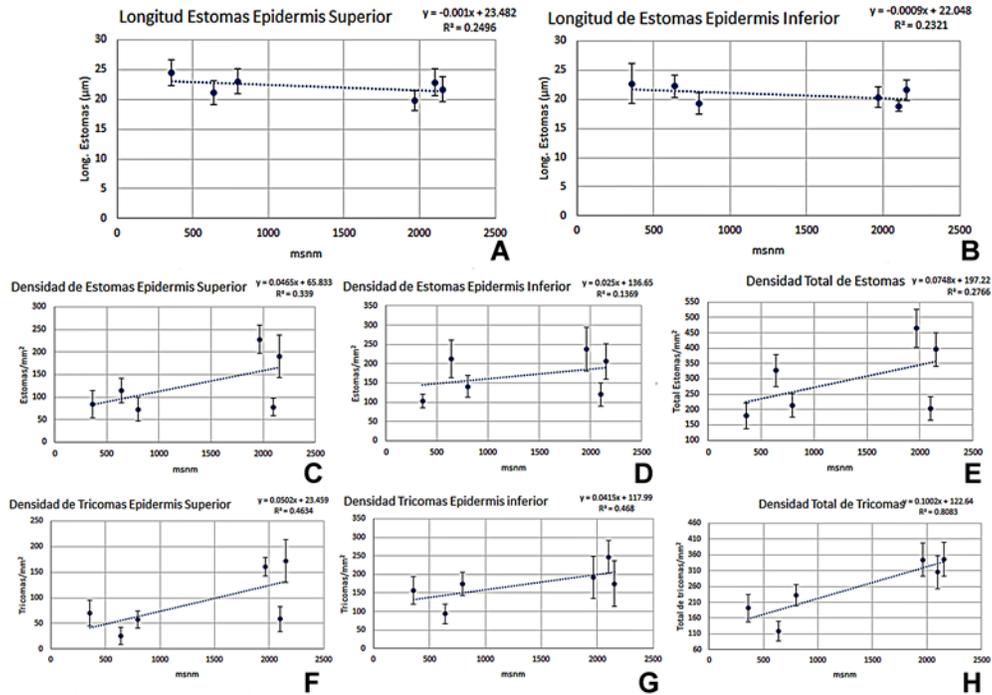


Figura N° 4

Araujia odorata (Hook. & Arn.) Fontella & Goyder. Correlación de dimensiones de las células oclusivas (A-B), densidad de estomas para la epidermis superior, inferior y total respectivamente (C-E) y densidad de tricomas para la epidermis superior, inferior y total respectivamente (F-H) con respecto a la altitud a la que se encuentra la población bajo estudio. Se indica el coeficiente de correlación R^2

En corte transversal el nervio medio presenta contorno plano-convexo, epidermis unistrata, 1-2 estratos de colénquima laminar subepidérmico (más desarrollado hacia la epidermis abaxial), en el parénquima próximo al sistema vascular se observan idioblastos con drusas de oxalato de Ca (Figura N° 5A). El sistema vascular se encuentra constituido por un único haz biclateral acompañado por numerosos laticíferos a nivel de floema y en el parénquima fundamental circundante, siendo muy abundantes en la escotadura que deja el sistema vascular hacia la epidermis adaxial (Figura N° 5B). Las hojas son isolaterales, con cutículas gruesas, epidermis adaxial y abaxial unistrata con paredes periclinales externas engrosadas, en ocasiones se observan divisiones periclinales. Los estomas se encuentran al mismo nivel o levemente hundidos respecto a las células

epidérmicas (Figura N° 5A y Figura N° 5C). El mesofilo presenta 2-3 estratos de parénquima en empalizada adaxial, 2-4 estratos de parénquima esponjoso y 2-3 estratos de parénquima en empalizada abaxial con células más cortas que las observadas en el parénquima adaxial. Raramente se observan idioblastos con drusas de oxalato de Ca. Los haces vasculares menores son colaterales o biclaterales, con vaina parenquimática poco desarrollada, suelen presentar laticíferos floemáticos (Figuras N° 5A y Figura N° 5B).

Si bien los espesores de tejidos presentan ligeras diferencias en las poblaciones muestreadas, solo el espesor de la cutícula en la epidermis superior se correlaciona de forma positiva con el gradiente altitudinal (Tabla N° 2, Figura N° 6A y Figura N° 6B).

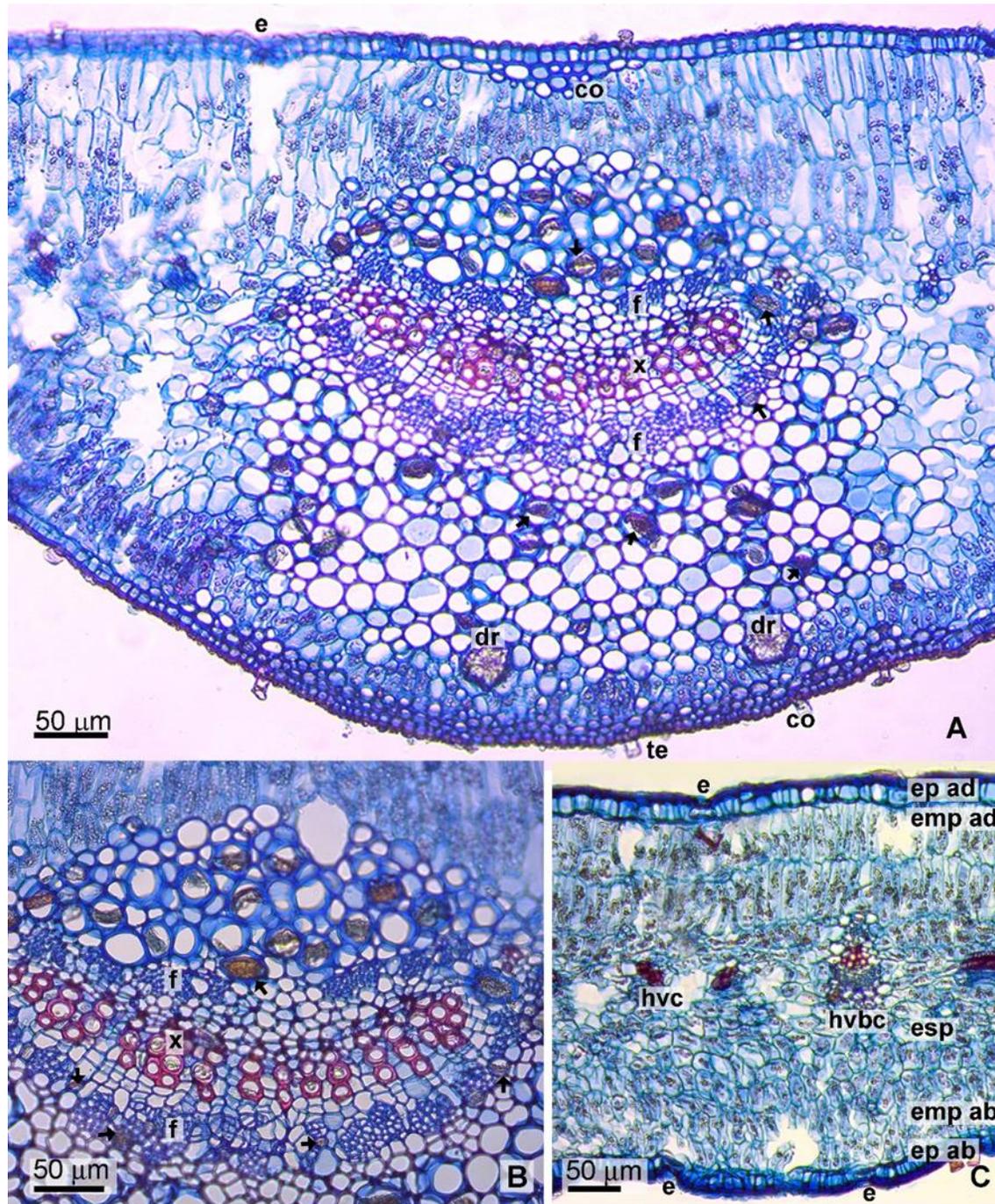


Figura N° 5

Araujia odorata (Hook. & Arn.) Fontella & Goyder. Corte transversal de hoja.

A. Nervio medio. B. Detalle del haz vascular del nervio medio. C. Lámina.

Abreviaturas: co, colénquima; dr, drusa; e, estoma; emp ab, empalizada abaxial; emp ad, empalizada adaxial; ep ab, epidermis abaxial; ep ad, epidermis adaxial; esp, esponjoso; f, floema; flecha, laticíferos; hvbc, haz vascular biclateral; hvc, haz vascular colateral; te, tricomas glandular; x, xilema

Tabla N° 2
Espesores de tejidos foliares cuantificados para las distintas poblaciones de *A. odorata*

Población	Cutícula superior (µm)	Epidermis superior (µm)	Empalizada superior (µm)	Esponjoso (µm)
1	4,31 ± 1,31 ^a	17,82 ± 3,86 ^{ab}	194,18 ± 21,81 ^{cd}	138,06 ± 16,76 ^b
2	4,45 ± 0,78 ^a	16,03 ± 1,61 ^{ab}	106,87 ± 47,37 ^a	93,76 ± 10,94 ^a
3	4,98 ± 0,88 ^a	14,88 ± 3,20 ^a	182,72 ± 11,42 ^{cd}	140,90 ± 10,59 ^b
4	9,20 ± 1,11 ^c	17,58 ± 1,18 ^{ab}	218,38 ± 21,54 ^d	131,72 ± 23,68 ^{ab}
5	7,20 ± 1,52 ^b	18,35 ± 2,18 ^{ab}	163,16 ± 13,07 ^{bc}	130,45 ± 17,26 ^{ab}
6	8,44 ± 0,97 ^{bc}	20,58 ± 3,26 ^b	153,53 ± 11,54 ^{ab}	146,36 ± 39,50 ^b

Población	Empalizada inferior (µm)	Epidermis inferior (µm)	Cutícula inferior (µm)	Espesor de lámina (µm)
1	76,33 ± 17,58 ^b	14,72 ± 2,30 ^a	6,95 ± 1,10 ^a	452,37 ± 25,14 ^b
2	74,06 ± 10,57 ^b	12,78 ± 1,83 ^a	4,91 ± 0,55 ^a	312,86 ± 49,40 ^a
3	51,72 ± 9,82 ^a	12,99 ± 1,62 ^a	5,78 ± 1,03 ^a	413,97 ± 18,94 ^b
4	68,11 ± 6,91 ^{ab}	12,94 ± 0,98 ^a	5,94 ± 0,94 ^a	463,87 ± 36,65 ^b
5	69,22 ± 11,44 ^{ab}	12,85 ± 1,48 ^a	6,35 ± 1,60 ^a	407,57 ± 33,56 ^b
6	74,15 ± 10,15 ^b	14,07 ± 1,70 ^a	6,54 ± 1,48 ^a	406,20 ± 24,66 ^b

Referencias: 1, El Bagual, Santiago del Estero (359 m.s.n.m.); 2, Trancas, Tucumán (640 m.s.n.m.); 3, El Tala, Salta (798 m.s.n.m.); 4, Amaicha, Tucumán (1965 m.s.n.m.); 5, El Mollar, Tucumán (2100 m.s.n.m.); 6, Santa María, Catamarca (2155 m.s.n.m.). Letras distintas indican diferencias significativas ($p=0,05$)

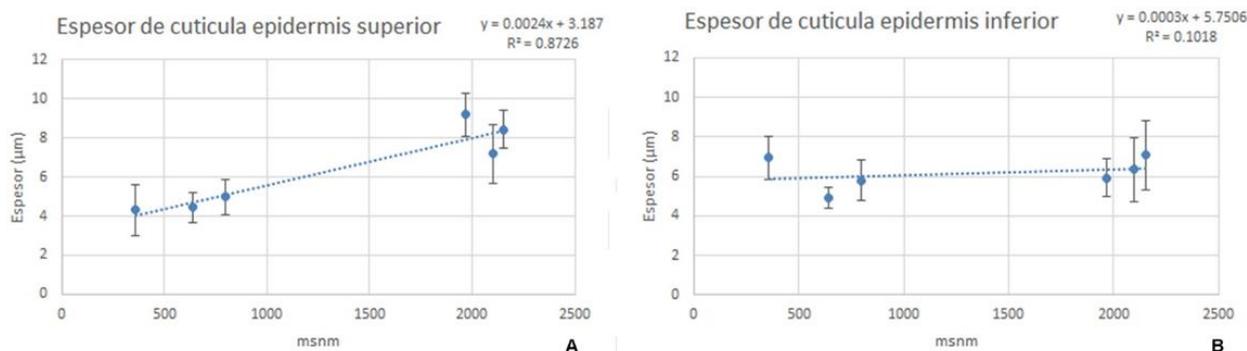


Figura N° 6

Araujia odorata (Hook. & Arn.) Fontella & Goyder. Correlación de espesores de cutículas (A-B) con respecto a la altitud a la que se encuentra la población bajo estudio. Se indica el coeficiente de correlación R^2

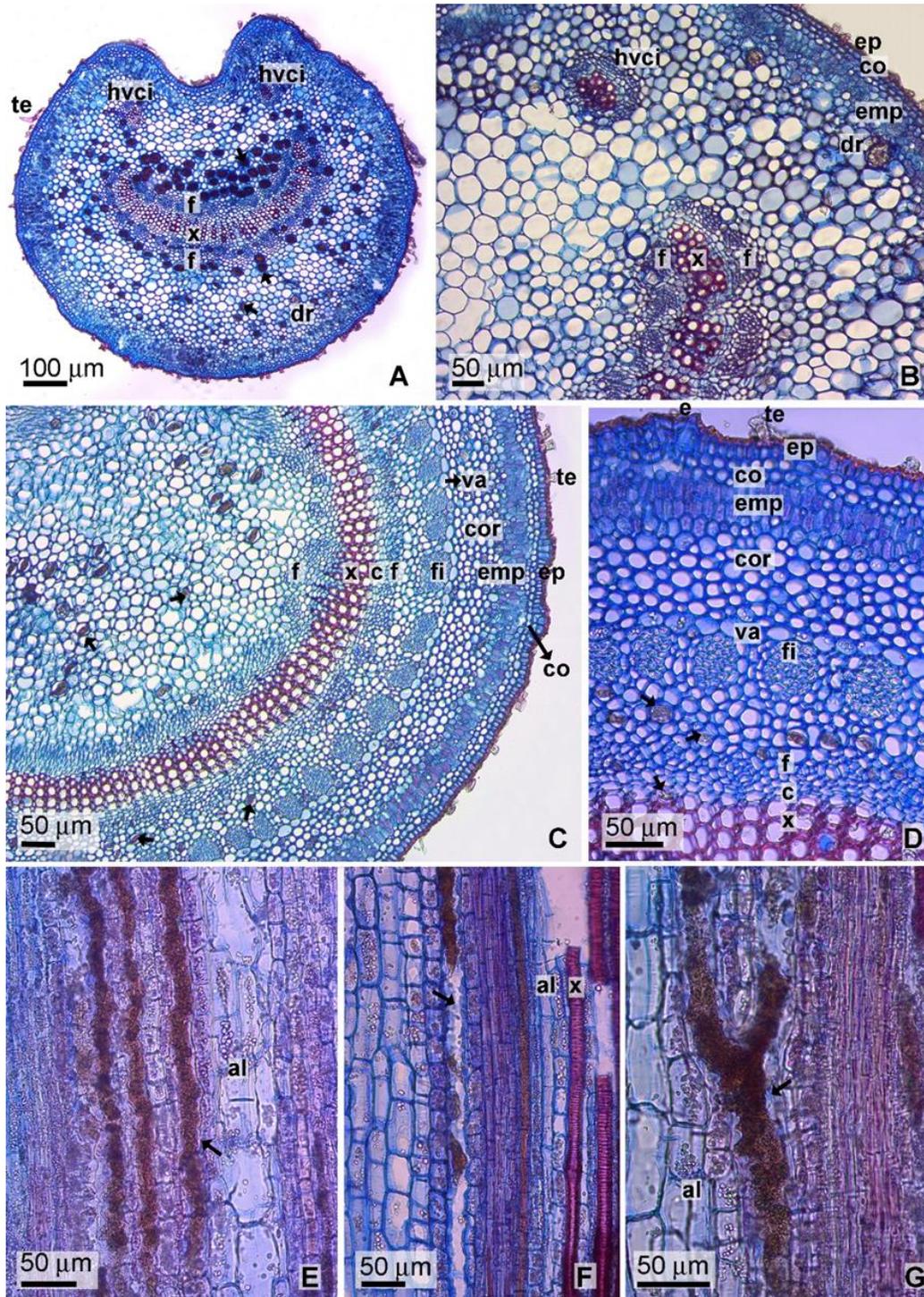


Figura N° 7

Araujia odorata (Hook. & Arn.) Fontella & Goyder. A. Corte transversal de Pecíolo. B. Detalle del pecíolo. C. Corte transversal de tallo. D. Detalle del tallo. E-F. Corte longitudinal de tallo a nivel de laticíferos. G. Laticífero no articulado ramificado. Abreviaturas: al, almidón; c, cambium; co, colénquima; cor, cortex; dr, drusa; e, estoma; ep, epidermis; emp, empalizada; f, floema; fi, fibras no lignificadas; flecha, laticífero; hvci, haz vascular colateral invertido; te, tricoma glandular; va, vaina amilífera; x, xilema

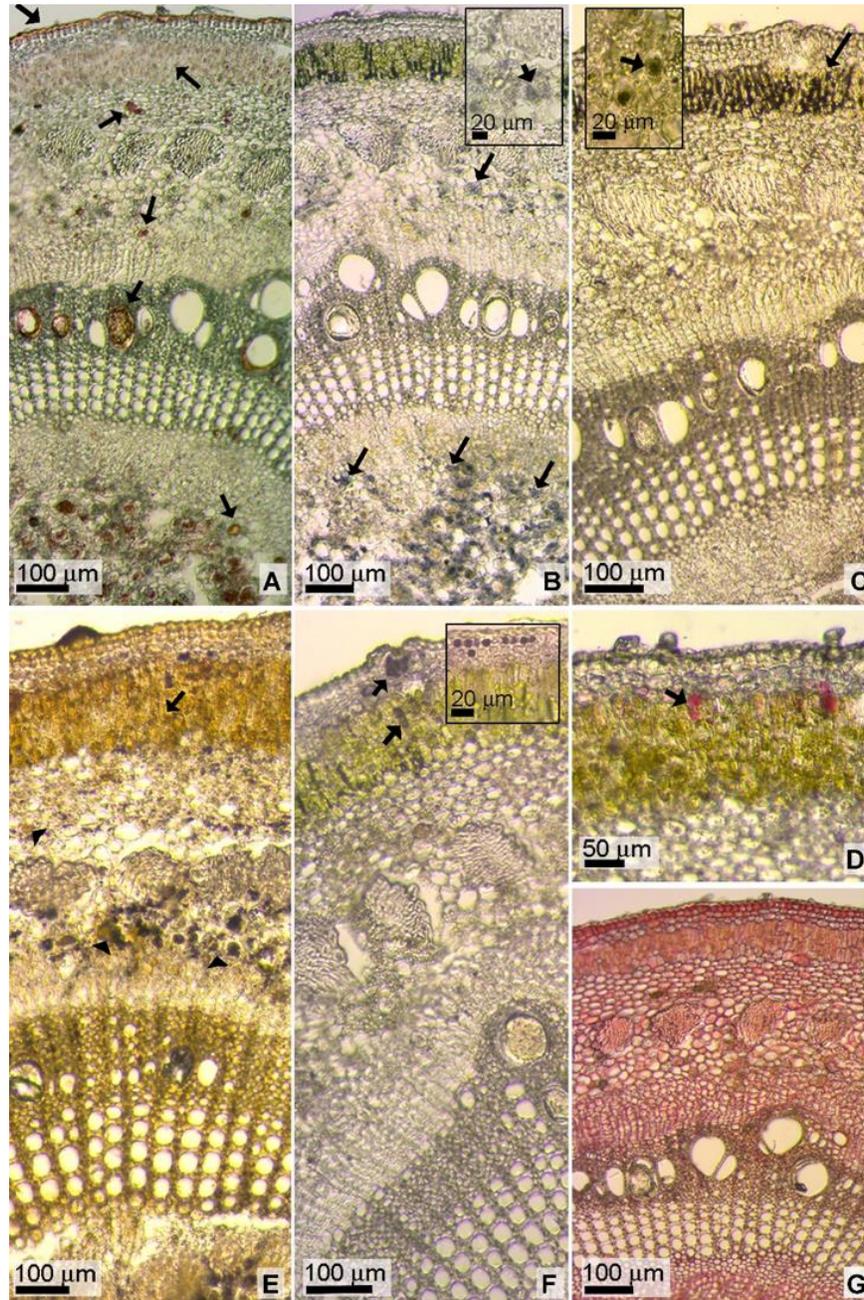


Figura N° 8

Araujia odorata (Hook. & Arn.) Fontella & Goyder. Histoquímica de laticíferos de tallos de *A. odorata*.

A. Sudan IV colorante para lípidos, positivo (flecha) en cutículas, como gotas en el parénquima en empalizada del cortex, laticíferos a nivel de cortex, floema y médula, y en vasos xilemáticos de grandes dimensiones. B. Revelado de gránulos de almidón (flecha) en laticíferos (detalle) y células parenquimáticas del floema y médula mediante reactivo de Lugol. C. Cloruro férrico, revela la presencia de compuestos fenólicos (flecha) en parénquima en empalizada del cortex y laticíferos (detalle). D. Liberman Buchard positivo (flecha) indica presencia de triterpenos esteroides en idioblastos del colénquima subepidérmico. E. Dragendorff para alcaloides positivo en parénquima cortical en empalizada (flecha) y laticíferos de floema (punta de flecha). F. NADI, indica la presencia de aceites esenciales y/o terpenos (flecha) en células epidérmicas, acompañantes de los estomas y células de parénquima cortical en empalizada. G. Rojo de rutenio facilita la observación de sustancias pécticas (coloración rojiza) de las laminillas medias

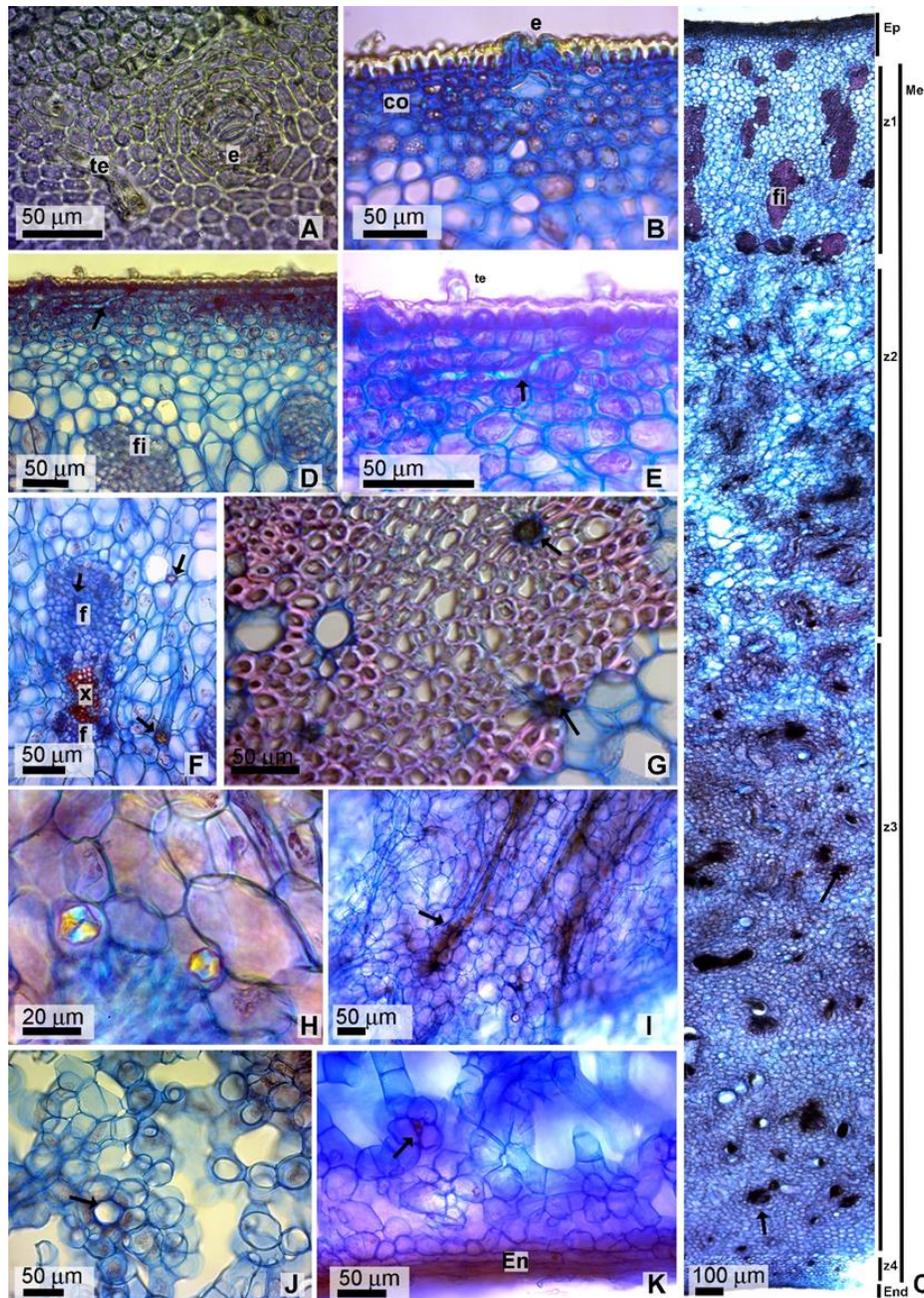


Figura N° 9

Araujia odorata (Hook. & Arn.) Fontella & Goyder. A. Vista superficial, epidermis de fruto. B. Estoma en transcorte. C. Corte transversal de pericarpio. D. Límite entre epi y mesocarpio determinado por la presencia de haces de fibras esclerenquimáticas. E. Detalle de conducto laticífero subepidérmico. F. Haz vascular de mesocarpio. G. Detalle de laticíferos presentes en casquetes de fibras. H. Granos de almidón en parénquima del mesocarpio bajo luz polarizada. I. Laticíferos en zona aerénquimática. J. Laticíferos en zona aerénquimática formado por células braquimorfos en el límite mesocarpio, endocarpio. K. Endocarpio. Abreviaturas: e, estoma; En, endocarpio; Ep, epicarpo; co, colénquima; f, floema; Me, mesocarpio (z1, zona parénquima compacto con haces vasculares y fibras; z2, aerénquima; z3, parénquima compacto; z4 aerénquima de células braquimorfos); te, tricoma eglandular; flecha, laticífero; fi, fibras no lignificadas/lignificadas; x, xilema

Anatomía de peciolo

En corte transversal presenta contorno circular con una escotadura o depresión hacia la cara adaxial de la hoja. Cutícula gruesa estriada, epidermis unistrata de paredes gruesas, 1-2 estratos de colénquima laminar subepidérmico, 2-3 estratos de clorénquima radial constituido por células cortas. El sistema vascular se dispone en un único haz vascular bicolateral en forma de semiluna abierta hacia la epidermis adaxial, acompañado por dos haces colaterales menores invertidos próximos a la epidermis adaxial. Se observan idioblastos con drusas de oxalato de Ca y laticíferos en el parénquima fundamental y floema. Estos últimos son más evidentes en la escotadura del nervio medio y proximidades del floema hacia la cara adaxial (Figura N° 7A y Figura N° 7B).

Anatomía de tallo e histoquímica de laticíferos

En corte transversal presenta contorno circular, cutícula gruesa, epidermis unistrata papilosa, con tricomas similares a los observados en las hojas y estomas ligeramente sobre elevados con respecto a la superficie epidérmica y 1-2 estratos de colénquima laminar subepidérmico continuo. El córtex se halla constituido por 2-3 estratos de clorénquima en empalizada de disposición radial formado por células cortas y 5-11 estratos de células parenquimáticas de paredes engrosadas, se observan idioblastos con drusas de oxalato de Ca. El cilindro vascular presenta una estela continua anfifloica con crecimiento secundario incipiente, externamente se halla delimitado por una vaina amilífera, a nivel de floema se observan fibras pericíclicas aún no lignificadas. La médula es amplia, constituida por células de mayores dimensiones que las de la corteza. A nivel de córtex parenquimático, floema y médula se observan laticíferos idénticos a los descritos para peciolo y hoja (Figura N° 7C y Figura N° 7D).

En sección longitudinal los laticíferos se presentan no articulados, raramente ramificados (Figuras N° 7E-G). No se observaron diferencias significativas en el número de laticíferos presentes en el transcorte de tallos de las poblaciones bajo estudio. Todas las poblaciones bajo estudio presentaron resultados idénticos para las pruebas histoquímicas ensayadas. Se determinó la presencia de lípidos a nivel cutículas, así como en pequeñas gotas en el parénquima en empalizada del córtex, en laticíferos y en vasos de grandes dimensiones (Figura N° 8A). Gránulos de almidón fueron detectados a nivel de laticíferos y células parenquimáticas del floema y médula (Figura N° 8B). Se observó presencia de

compuestos fenólicos y alcaloides en idioblastos del parénquima radial del córtex y en laticíferos (Figura N° 8C y Figura N° 8E). Triterpenos fueron identificados en idioblastos del colénquima subepidérmico y células en empalizada del parénquima radial (Figura N° 8D). Aceites esenciales y terpenos fueron detectados en células epidérmicas, células oclusivas de los estomas y algunas células del parénquima cortical radial (Figura N° 8F). Sustancias pécticas fueron coloreadas en laminillas medias de los tejidos observados (Figura N° 8G). No se detectó presencia de proteínas, taninos o mucílagos mediante los test y colorantes ensayados.

Anatomía de fruto

En vista paradormal presenta células epidérmicas de paredes anticlinales rectas a ligeramente curvadas, gruesas. Cutícula gruesa con estriaciones entorno a elevaciones donde se encuentran los estomas (Figura N° 9A y Figura N° 9B). Estomas ciclo y anomocíticos de $26,99 \pm 4,65 \mu\text{m}$ de longitud por $18,90 \pm 2,28 \mu\text{m}$ de latitud, en una densidad de $6 \pm 2,3 \times \text{mm}^2$ (Figura N° 9A). Tricomas eglandulares unicelulares o uniseriados similares a los observados en la superficie foliar en una densidad de $24 \pm 6,4 \times \text{mm}^2$. La densidad y el tamaño de estomas y tricomas no presentaron diferencias significativas en las poblaciones bajo estudio.

En corte transversal se observa epicarpio constituido por epidermis unistrata, cutícula gruesa, estomas sobre-elevados con respecto a la superficie epidérmica con células oclusivas con marcado reborde cuticular (Figura N° 9B); 5-6 estratos de colénquima angular a laminar (Figuras N° 9C-E) y 6-7 estratos de parénquima compacto constituido por células poliédricas isodiamétricas (Figura N° 9F).

Paquetes de fibras acompañan a los haces vasculares formando casquetes que marcan el límite entre el epi y mesocarpio (Figura N° 9F y Figura N° 9G). En el mesocarpio se distinguen cuatro zonas (Figura N° 9B): una externa compacta constituida por parénquima de células isodiamétricas donde se observan haces vasculares colaterales cerrados acompañados por casquetes de fibras muy desarrolladas hacia el floema (Figura N° 9F); una zona laxa de aerénquima con grandes espacios de aire (Figura N° 9I y Figura N° 9J); una zona interna compacta constituida por células parenquimáticas isodiamétricas de menores dimensiones; y finalmente una cuarta zona, conformada por una estrecha región aerénquimática constituida por células braquimorfos de brazos cortos (Figura N° 9K).

A través del epi y del mesocarpio se observan granos de almidón aislados (Figura N° 9H) y laticíferos no articulados ramificados de diversas dimensiones formando una intrincada red subepidérmica que se extiende a través de los casquetes de fibras que acompañan a los haces vasculares, en el tejido de conducción y en las diferentes regiones del mesocarpio. Los laticíferos observados en las regiones internas presentan mayores dimensiones que los periféricos.

El endocarpio presenta una epidermis interna bi a tristrata de células alargadas tangencialmente, algo imbricadas entre sí (Figura N° 9K).

No se observaron diferencias significativas en los parámetros cuantitativos de espesores de tejidos y densidad de laticíferos, evaluados para las poblaciones bajo estudio.

DISCUSIÓN

La morfología foliar de las poblaciones estudiadas no mostró mayores diferencias con respecto a lo informado por Meyer *et al.* (1977), Hechem y Ezcurra (2006) y Zuloaga y Anton (2020). De la misma manera el patrón de venación coincide con el descrito en forma general por Cortadi (2001).

Bayón y Arambarri (1999) y Hechem y Ezcurra (2006) describen para la especie hojas pubescentes en el envés, en tanto en el presente trabajo se observan tricomas en ambas superficies epidérmicas coincidiendo con lo informado por Carvalho *et al.* (2017) y Hernández *et al.* (2019).

Al igual que Bayón y Arambarri (1999), Cortadi *et al.* (1999), Carvalho *et al.* (2017), Hernández *et al.* (2019) se cita para *A. odorata* hojas anfiestomáticas, tricomas eglandulares uniseriados pluricelulares ornamentados 2-4 celulares, con células epidérmicas que rodean la base del pelo radialmente, en corte transversal, cutícula gruesa, epidermis unistrata, colénquima laminar subepidérmico y vena media con haz bicolateral.

Con respecto al tipo de aparato estomático Carvalho *et al.* (2017) solo mencionan estomas anomocíticos, en tanto Hernández *et al.* (2019) refiere la presencia de aparatos estomáticos braquiparacíticos, paralelocíticos o anfibraquiparacíticos, ciclocíticos y anficiclocíticos, en tanto en el presente aporte solo se observaron braquiparacíticos, hemibraquiparacíticos y anfibraquiparacíticos, en menor medida anomocíticos y ciclocíticos.

A nivel de nervio medio se registran refuerzos subepidérmicos de colénquima hacia ambas

superficies epidérmicas a diferencia de lo informado por Cortadi *et al.* (1999) quienes describieron refuerzos de colénquima laminar solo hacia la superficie adaxial.

Carvalho *et al.* (2017) mencionan que *A. odorata* presenta epidermis papilosa y mesofilo dorsiventral o isolateral. Las diferentes poblaciones analizadas en presente trabajo presentaron de forma consistente células epidérmicas poliédricas cuadrangulares de paredes periclinales externas gruesas ligeramente convexas y mesofilo isolateral.

A largo de gradientes altitudinales se presentan condiciones abióticas de estrés para las plantas, las cuales suelen modificar su morfología como estrategia para adaptarse a condiciones climáticas limitantes (Molina-Montenegro, 2008). Las poblaciones bajo estudio no mostraron grandes diferencias morfológicas, aunque sí en su anatomía foliar. Esta observación de un predominio de modificaciones anatómicas frente a cambios morfológicos en relación al gradiente altitudinal fue previamente mencionada por Korner *et al.* (1983) y Jiménez-Noriega *et al.* (2017) para heliófitas montañas de Nueva Guinea y para otras 5 especies en un gradiente altitudinal en el cinturón volcánico trans-mexicano.

Las poblaciones 4 y 6 correspondientes a ambientes áridos de altura, en Amaicha del Valle (2100 m.s.n.m.) y Santa María (2155 m.s.n.m.), presentaron caracteres anatómicos como mayor densidad de estomas y tricomas totales, mayor espesor en las cutículas de la epidermis superior y una ligera tendencia a la disminución en el tamaño de los estomas, los cuales se correlacionaron de forma positiva con la elevación. Estas tendencias se asocian a condiciones de alta radiación solar, marcado déficit hídrico y alta luminosidad, comunes en ambientes de altura (Torrecilla *et al.*, 2008). Numerosas especies como *Nothofagus menziesii*, algunas ericáceas y *Ranunculus* herbáceos (Korner *et al.*, 1983; Korner *et al.*, 1986), *Miscanthus* spp. (Kao y Chang, 2001), *Origanum vulgare* (Kofidis *et al.*, 2003), *Oyedaea verbesinoides* (García y Lapp, 2005), *Quercus kelloggii* y *Nothofagus solandri* var. *cliffortioides* (Kouwenberg *et al.*, 2007), *Carpinus betulus* (Paradari *et al.*, 2013), *Primula denticulata* (Aslam *et al.*, 2015), entre otras presentan un comportamiento similar de aumento en las cutículas, en la densidad de estomas y tricomas, y disminución en el tamaño estomático en relación a la elevación a la cual se encuentra la población, en tanto otras especies como el helecho *Argyrochosma nivea* (Hernández *et al.*,

2005), *Acaena elongata* y *Lupinus montanus* (Jiménez-Noriega *et al.*, 2017) muestran tendencias contrarias particularmente en la densidad estomática.

Korner *et al.* (1983), Kouwenberg *et al.* (2007) y Jiménez-Noriega *et al.* (2017) sugieren que las respuestas morfológicas y anatómicas parecen ser especie dependientes y están relacionadas con la forma de vida, elevación y otros factores microclimáticos como la humedad ambiente, la temperatura, la disminución de la presión parcial de CO₂, el aumento de radiación UV y otras características edáficas. Indican que mayores frecuencias de estomas se observan generalmente en plantas de hábitats con una alta demanda de evapotranspiración, con moderado estrés hídrico y alta radiación; y bajas frecuencias estomáticas parecen estar más asociadas a ambientes húmedos sombríos o en climas extremadamente áridos. En este último caso dicha disminución se encuentra sujeta a una especialización, ya que los estomas suelen acomodarse en criptas u otras estructuras (Roth, 1973). Si consideramos solo la elevación a la cual se encuentran las poblaciones bajo estudio, se esperaría que la población 1 de El Bagual (359 m.s.n.m.) y la población 5 de El Mollar (2100 m.s.n.m.) presentasen diferencias significativas en cuanto al número de estomas, sin embargo, esto no es así y podría deberse a que la región de El Bagual, a pesar de encontrarse en pisos altitudinales bajos corresponde a un área árida, en tanto la población de El Mollar se encuentra próxima al cuerpo de agua del Dique Escaba por lo que la humedad relativa en la zona es alta.

Por su parte los tricomas cumplen un papel importante regulando la economía hídrica, como barrera protectora contra la radiación y regulando la difusión de gases. Con frecuencia forman una densa capa sobre las hojas, la cual actúa como barrera protectora de luz, sin embargo, al mismo tiempo pueden limitar la difusión de CO₂ hacia el interior de la cámara estomática, lo cual sumado a la natural disminución de la presión parcial de los gases con la altitud podría provocar una disminución en las tasas de fotosíntesis. Una estrategia para evitar la falta de difusión de CO₂ es un aumento en la densidad estomática lo cual permitiría a las plantas aumentar el intercambio gaseoso evitando así que el aumento de tricomas se convierta en un factor negativo (Molina-Montenegro, 2007).

La presencia de cutículas gruesas está muy relacionada con ambientes secos de alta montaña permitiendo la protección de la hoja contra la transpiración excesiva y aumentando la resistencia

mecánica (Esau, 1977). Sin embargo, Korner *et al.* (1983) advierte que también revisten de importancia frente a radicación UV-B y frente a herbívoros y otros patógenos.

En todas las poblaciones bajo estudio el pecíolo se presenta pubescente con su cara adaxial sulcada tal como lo describen Carvalho *et al.* (2017) y Hernández *et al.* (2019). En coincidencia con Cortadi *et al.* (1999) se observa parénquima radial en empalizada formado por células cortas inmediatamente por debajo del colénquima subepidérmico. A nivel de nervio medio se describen dos haces colaterales menores, en ocasiones invertidos, a diferencia de lo observado por Cortadi *et al.* (1999) y Carvalho *et al.* (2017) quienes observaron haces bicolaterales.

En coincidencia con Bayon y Arambarri (1999) a nivel de tallo se observa epidermis unistrata con tricomas eglandulares, colénquima subepidérmico, clorénquima radial y parénquima reservante formando una vaina amilífera perivascular, no descriptos por Cortadi *et al.* (1999).

Bayon y Arambarri (1999) citan agrupaciones cristalinas prismáticas, Cortadi *et al.* (1999) observan drusas a nivel de hoja y drusas, cristales solitarios y esferos cristales a nivel de pecíolo y tallo. En el presente aporte al igual que Carvahlo *et al.* (2017) y Hernández *et al.* (2019) solo se observaron drusas en todos los órganos estudiados.

Bayón y Arambarri (1999) y Cortadi *et al.* (1999) citan laticíferos no articulados ramificados sin indicar su posición. En tanto Carvahlo *et al.* (2017) y Hernández *et al.* (2019) solo citan la presencia de laticíferos en el parénquima fundamental. El presente trabajo describe por primera su ubicación en el aerénquima y colénquima de frutos, en el parénquima fundamental, cortical y medular; y en el floema de todos los órganos estudiados.

Con respecto a la histoquímica, Hernández *et al.* (2019) citan la presencia de almidón, lípidos y taninos para la especie en general, sin especificar su localización. En el presente trabajo se detectó por primera vez la presencia lípidos y almidón en laticíferos, en células parenquimáticas del cortex, floema y médula, y en algunos vasos xilemáticos de grandes dimensiones; compuestos fenólicos en el clorénquima en empalizada del córtex; alcaloides, aceites esenciales y triterpenos en células del colénquima subepidérmico. En todos los órganos, y particularmente en los frutos se observó la presencia de drusas de oxalato de Ca, las cuales podrían estar relacionadas a las altas concentraciones de Ca

reportadas para este órgano (Chifa y Gimenez, 2003).

CONCLUSIONES

El presente trabajo describe por primera vez variaciones anatómicas foliares en diferentes poblaciones de *A. odorata* presentes en el Noroeste Argentino. Detalla la histoquímica de laticíferos e idioblastos de los tallos. Aporta información sobre la presencia de una vaina amilífera perivascular a nivel de tallo y de colénquima subepidérmico hacia ambas epidermis a nivel de nervio medio de las hojas. Registra el aumento en el número de tricomas y estomas, y mayores espesores de en cutícula de la

epidermis adaxial en poblaciones de ambientes a mayores altitudes. Indicando una cierta plasticidad fenotípica de la especie a diferentes condiciones ambientales.

AGRADECIMIENTOS

A Fundación Miguel Lillo por el financiamiento en el marco de su proyecto B-0001-1. Al Sr. Rodrigo Delgado por su colaboración en la colección del material proveniente de Amaicha del Valle prov. de Tucumán y Sta María, prov. de Catamarca.

REFERENCIAS

- APG [Angiosperm Phylogeny Group], Chase MW, Christenhusz MJM, Fay MF, Byng JW, Judd WS, Soltis DE, Mabberley DJ, Sennikov AN, Soltis PS, Stevens PF. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Bot J Linn Soc** 181: 1 - 20. <https://doi.org/10.1111/boj.12385>
- Arenas P. 1999. *Morrenia odorata* (Asclepiadaceae), an edible plant of the Gran Chaco. **Econ Bot** 53: 89 - 97
- Arenas P, Scarpa GF. 2007. Edible wild plants of the Chorote Indians, Gran Chaco, Argentina. **Bot J Linn Soc** 153:73 - 85. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2007.00576.x>
- Arribére MC, Cortadi AA, Gattuso MA, Bettioli MP, Priolo NS, Caffini NO. 1998. Comparison of Asclepiadaceae latex proteases and characterization of *Morrenia brachystephana* Griseb. cysteine peptidases. **Phytochem Anal** 9: 267 - 273. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1565\(199811/12\)9:6<267::AID-PCA427>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1565(199811/12)9:6<267::AID-PCA427>3.0.CO;2-4)
- Aslam K, Nawchoo IA, Ganai BA. 2015. Altitudinal variation in some phytochemical constituents and stomatal traits of *Primula denticulate*. **Int J Adv Scient Res** 1: 93 - 101. <https://doi.org/10.7439/ijasr.v1i2.1792>
- Barboza GE, Cantero JJ, Núñez C, Pacciaroni A, Ariza Espinar L. 2009. Medicinal plants: A general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native Argentine Flora. **Kurtziana** 34: 7 - 365.
- Bayón DN, Arambarri AM. 1999. Anatomía y Etnobotánica de las especies medicinales de la Provincia Pampeana: *Asclepiadaceae*. **Acta Farmaceut Bonaer** 18: 23 - 31.
- Burgstaller JA. 1994. **700 hierbas medicinales (sus propiedades terapéuticas - usos y dosis)**. Ed. Lancelot, Buenos Aires, Argentina.
- Bustamante P. 1927. **Manual del naturalismo Argentino**. 2ª Edición de la Flora Argentina, corregida y aumentada. Buenos Aires, Argentina.
- Buvat R. 1989. **Ontogeny, cell differentiation and structure of vascular plants**. Springer - Verlag, Berlin, Germany.
- Carvalho R, Olazar Pellissari LC, Pace MR, Scremin-Dias E, de Oliveira Arruda R, Farinaccio MA. 2017. Leaf morphoanatomy of *Araujia* and *Morrenia* (Asclepiadoideae, Apocynaceae): phylogenetic implications and species key. **Bot J Linn Soc** 183: 280 - 293. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/bow004>
- Cavalli SV, Cortadi A, Arribére MC, Conforti P, Caffini NO, Priolo N. 2001. Comparison of two cysteine endopeptidases from latices of *Morrenia brachystephana* Griseb. and *Morrenia odorata* (Hook et Arn.) Lindley (Asclepiadaceae). **Biol Chem** 382: 879 - 883. <https://doi.org/10.1515/bchm.2001.382.5.879>
- Castro M. 1986. Anatomía del fruto de *Araujia hortorum* E. Fourn. **Parodiana** 4: 195 - 203.
- Chifa C, Giménez MC. 2003. Aprovechamiento de *M. odorata* en medicina tradicional y como una alternativa en la alimentación humana. **Ciencia e Investigación** 6: 19 - 24
- Colmenares-Arteaga M, Rada F, Luque R. 2005. Anatomía foliar de *Polylepis sericea* Wedd. (Rosaceae) a dos altitudes en los Altos andes venezolanos. **Plantula** 3: 141 - 148.
- Cortadi A. 2001. **Estudio ontogenético y ultraestructural de los laticíferos de *Morrenia brachystephana* Griseb. y *Morrenia odorata* (Hook. et Arn.) Lindley (Asclepiadaceae). Aislamiento, purificación y caracterización de las proteasas presentes en el látex**. Tesis, Universidad Nacional de la Plata, Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas/383

Argentina.

- Cortadi A, Scandizzi A, Gattuso S, Priolo N, Caffini N, Gattuso M. 1999. Estudio morfoanatómico de especies de Generos *Araujia* y *Morrenia* (Asclepiadaceae) utilizados en medicina popular. **Rojasiana** 5: 15 - 36. <https://doi.org/10.17660/actahortic.1999.501.41>
- D'Ambrogio de Argüeso A. 1986. **Manual de técnicas de histología vegetal**. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina.
- Dilcher D. 1974. Approaches to the identification of angiosperm leaves. **Bot Rev** 40: 1 - 157.
- Dizeo De Strittmater C. 1973. Nueva técnica de diafanización. **Bol Soc Arg Bot** 15: 126 - 129.
- Ellis B, Daly D, Hickey L, Johnson K, Mitchell J, Wilf P, Wing S. 2009. **Manual of leaf architecture**. The New York Botanical Garden Press, New York, USA. <https://doi.org/10.1086/659936>
- Endress ME, Bruyns PV. 2000. A revised classification of the Apocynaceae s.l. **Bot Rev** 66: 1 - 56. <https://doi.org/10.1007/bf02857781>
- Endress ME, Liede-Schumann S, Meve U. 2014. An updated classification for Apocynaceae. **Phytotaxa** 159: 175 - 194. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.159.3.2>
- Esau K. 1977. **Anatomy of seed plants**. Ed. John Wiley and Sons, New York, USA.
- Farinaccio MA. 2008. **Sistemática molecular de Oxypetalum R.Br. (Apocynaceae, Asclepiadoideae)**. Thesis, Universidade de São Paulo, Brazil.
- Fahn A. 1979. **Secretory tissues in plants**. Academic Press, Londres, UK.
- García M, Lapp M. 2005. Anatomía foliar en especímenes de *Oyedaea verbesinoides* DC. (Asteraceae) creciendo en tres ambientes distintos. **Ernstia** 15: 129 - 143.
- González Torres D. 1992. **Catálogo de plantas medicinales alimenticias y útiles usadas en Paraguay**. Ed. Servi, Asunción, Paraguay.
- Goyder DJ. 2003. A synopsis of *Morrenia* Lindl. (Apocynaceae subfam. Asclepiadoideae). **Kew Bull** 58: 713 - 721. <https://doi.org/10.2307/4111150>
- Goyder DJ. 2004. An amplified concept of *Philibertia* Kunth (Apocynaceae: Asclepiadoideae), with a synopsis of the genus. **Kew Bull** 59: 515 - 555. <https://doi.org/10.2307/4110951>
- Hechem V, Ezcurra C. 2006. **Asclepiadaceae**. En: Novara LJ (Ed.). Flora del Valle de Lerma, Aportes botánicos de Salta – ser. Flora. Ed. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina.
- Hernández MA, Albornóz P, Guantay ME, Varela O. 2005. Morfología y anatomía foliar de *Argyrochosma nivea* (Poir.) Windham var. *nivea* (Pteridaceae) en un gradiente altitudinal en el noroeste argentino. **Lilloa** 42: 37 - 46.
- Hernández MP, Perrotta VG, La Valle NC, Nughes LM, Colares MN, Novoa MC, Arambarri AM. 2019. Parámetros micrográficos foliares e histoquímica en la identificación de doce especies trepadoras medicinales rioplatenses (Argentina). **Lilloa** 56: 24 - 53. <https://doi.org/10.30550/j.lil/2019.56.1/3>
- Hickey L. 1974. Clasificación de la arquitectura de las hojas de Dicotiledóneas. **Bol Soc Arg Bot** 16: 1 - 26.
- Hickey L. 1979. **A revised classification of the architecture of dicotyledonous leaves**. En: Metcalfe C, Chalk L. (Eds.). **Anatomy of the Dicotyledons**. Ed. Clarendon Press, Oxford, UK.
- Jiménez-Noriega PMS, Terrazas T, López-Mata L, Sánchez-González A, Vibrans H. 2017. Anatomical variation of five plant species along an elevation gradient in Mexico City basin within the Trans-Mexican Volcanic Belt, Mexico. **J Mount Sci** 14: 2182 - 2199. <https://doi.org/10.1007/s11629-017-4442-8>
- Karnovsky M. 1965. A formaldehyde glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **J Cell Biol** 27: 137 - 138.
- Kao W-Y., Chang K-W. 2001. Altitudinal trends in photosynthetic rate and leaf characteristics of *Miscanthus* populations from central Taiwan. **Australian J Bot** 49: 509 - 514.
- Kouwenberg LLR, Kürschner WM, McElwain JC. 2007. Stomatal frequency change over altitudinal gradients: prospects for paleoaltimetry. **Rev Mineral Geochem** 9: 215 - 241. <https://doi.org/10.2138/rmg.2007.66.9>
- Kofidis G, Bosabalidis AM, Moustakas M. 2003. Contemporary seasonal and altitudinal variations of leaf structural features in oregano (*Origanum vulgare* L.). **Ann Bot** 92: 635 - 645. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg180>
- Korner C, Allen A, Hilscher H. 1983. Altitudinal variation of leaf diffusive conductance and leaf anatomy in heliophytes of montane New Guinea and their interrelation with microclimate. **Flora** 174: 91 - 135.
- Korner C, Bannister P, Mark AF. 1986. Altitudinal variation in stomatal conductance, nitrogen content and leaf anatomy in different plant life forms in New Zealand. **Oecologia** 69: 577 - 588.

- <https://doi.org/10.1007/bf00410366>
- Lahitte HB, Hurrell JA, Belgrano MJ, Jankowski L, Haloua P, Mehlreter K. 1998. **Plantas medicinales Rioplatenses**. Ed. L.O.L.A., Buenos Aires, Argentina.
- Liede-Schumann S, Rapini A, Goyder DJ, Chase MW. 2005. Phylogenetics of the New World subtribes of Asclepiadeae (Apocynaceae – Asclepiadoideae): Metastelmatinae, Oxypetalinae, and Gonolobinae. *Syst Bot* 30: 184 - 195. <https://doi.org/10.1600/0363644053661832>
- Martínez Crovetto R. 1981. **Plantas Utilizadas en Medicina en el N.O. de Corrientes**. Miscelánea N°69. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina.
- Merck E. 1980. **Reactivos de coloración para cromatografía en capa fina y en papel**. Darmstadt, Alemania.
- Metcalf CR, Chalk L. 1950. **Anatomy of the Dicotyledons**. Ed. Clarendon Press, Oxford, UK.
- Meyer T, Villa Carengo M, Legname P. 1977. **Flora ilustrada de la provincia de Tucumán**. Ministerio de Cultura y Educación de la Nación. Fundación Miguel Lillo. Tucumán, Argentina.
- <https://doi.org/10.5962/bhl.title.159493>
- Molina-Montenegro MA. 2008. Variación de la pubescencia foliar en plantas y sus implicaciones funcionales a lo largo de gradientes altitudinales. *Ecosistemas* 17: 146 - 154.
- Paradari IC, Jalali SG, Sonboli A, Zarafshar M, Bruschi P. 2013. Leaf macro- and micro-morphological altitudinal variability of *Carpinus betulus* in the Hyrcanian forest (Iran). *J Forest Res* 24: 301 - 307. <https://doi.org/10.107/s11676-013-0353-x>
- Potgieter K, Albert VA. 2001. Phylogenetic relationships within Apocynaceae S.L. based on trnL intron and trnL-F spacer sequences and propagule characters. *Ann Missouri Bot Gard* 88: 523 - 549.
- Rapini A, Fontella Pereira J, Goyder DJ. 2011. Towards a stable generic circumscription in Oxypetalinae (Apocynaceae). *Phytotaxa* 26: 9 - 16. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.26.1.2>
- Roth I. 1973. Anatomía de las hojas de las plantas de los Páramos Venezolanos; 2, *Espeletia* (Compositae). *Acta Biol Venez* 8: 281 - 310.
- Saggese D. 1959. **Yerbas medicinales Argentinas**. Decima edición corregida y aumentada por el farmacéutico Angel A. Saggese. Buenos Aires, Argentina.
- Tiwari SP, Kumar P, Yadav D, Chauhan DK. 2013. Comparative morphological, epidermal, and anatomical studies of *Pinus roxburghii* needles at different altitudes in the North-West Indian Himalayas. *Turk J Bot* 37: 65 - 73.
- Torrecilla P, Castro M, Lapp M. 2008. Morfoanatomía foliar en especímenes de *Capparis flexuosa* (L.) 1. (Capparaceae) creciendo en tres localidades distintas del Estado Aragua (Venezuela). *Ernstia* 19: 35 - 54.
- Toursarkissian M. 1980. **Plantas medicinales de la Argentina**. Ed. Hemisferio Sur, Capital Federal, Argentina.
- Trillo C, Arias Toledo B, Galetto L, Colantonio S. 2010. Persistence of the use of medicinal plants in rural communities of the western Arid Chaco (Córdoba, Argentina). *Open Complement Med J* 2: 80 - 89. <https://doi.org/10.2174/1876391x01002020080>
- Wang R, Yu G, He N, Wang Q, Zhao N, Xu Z, Ge J. 2015. Latitudinal variation of leaf stomatal traits from species to community level in forests: linkage with ecosystem productivity. *Scient Rep* 5 (1). <https://doi.org/10.1038/srep14454>
- Wilson KJ, Mahlberg PG. 1978. Ultrastructure of non-articulated laticifers in mature embryos and seedlings of *Asclepias syriaca* L. (Asclepiadaceae). *Am J Bot* 65: 98 - 109. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1978.tb10840.x>
- Zar JD. 1996. **Biostatistical analysis**. Ed. Prentice Hall Inc., New Jersey. USA.
- Zarlavsky GE. 2014. **Histología vegetal: Técnicas simples y complejas**. Ed. Sociedad Argentina de Botánica, Buenos Aires, Argentina.
- Zuloaga FO, Anton MA. 2020. **Flora Argentina**. <http://www.florargentina.edu.ar>