



Anatomía foliar y caulinar, y caracterización fitoquímica foliar de *Flaveria bidentis* y *F. haumanii* (Asteraceae) de Santiago del Estero, Argentina

Leaf and stem anatomy, and leaf phytochemical characterization of *Flaveria bidentis* and *F. haumanii* (Asteraceae) from Santiago del Estero, Argentina

Valeria de los A. Páez¹ , Patricia L. Albornoz^{1,2,5} , Emilio Lizarraga^{1,2} , María T. Sobrero³ , Salvador Chaila⁴ 

Resumen:

Antecedentes y Objetivos: *Flaveria* es un género americano; en Argentina presenta dos especies, *F. bidentis* y *F. haumanii*. Los antecedentes anatómicos para las especies son escasos y para *F. bidentis* son referidos a la presencia de tricomas uniseriados, ceras epicuticulares, cristales y estructura Kranz. Químicamente estas especies poseen diversos flavonoides del grupo sulfatado. Los objetivos del presente trabajo fueron caracterizar la anatomía foliar y caulinar, así como cuantificar los componentes fenólicos de las hojas de *F. bidentis* y *F. haumanii*.

Métodos: El material fue recolectado en la provincia de Santiago del Estero (Argentina), fijado en FAA y posteriormente se emplearon técnicas anatómicas y fitoquímicas convencionales para su análisis.

Resultados clave: Ambos taxones presentaron lámina foliar entera, venación primaria trinervada, acródroma. En vista paradermal, en ambas especies las células epidérmicas de la lámina fueron poliédricas en ambas superficies, anfiestomáticas y de cutícula estriada. Se observaron estomas anomocíticos, hemiparacíticos, braquiparacíticos, polocíticos y tricomas glandulares pluricelulares. En corte transversal, la lámina fue dorsiventral con haz vascular colateral y estructura Kranz. El tallo en crecimiento primario presentó colénquima angular subepidérmico y vaina amilífera en la parte interna de la corteza. El crecimiento secundario temprano presentó xilema y floema continuos por la actividad del cambium. Médula parenquimática parcialmente lignificada. Se observó la presencia de conductos secretores esquizógenos en lámina y tallo. Los análisis fitoquímicos mostraron mayor contenido total de fenoles, flavonoides y ácidos hidroxycinámicos en *F. haumanii* comparados con *F. bidentis*, donde solo el contenido total de ortodihidroifenoles fue ligeramente superior.

Conclusiones: *Flaveria bidentis* y *F. haumanii* pueden diferenciarse por la densidad de estomas y de tricomas, así como por el tamaño y ubicación de estos últimos en la lámina; mientras que en el tallo existen diferencias en la cantidad de haces vasculares y de conductos secretores. La cuantificación de compuestos fenólicos permitió establecer un perfil químico para ambas especies con escasas diferencias.

Palabras clave: estomas, fenoles, hoja, morfología vegetal, tallo, tricomas.

Abstract:

Background and Aims: *Flaveria* is an American genus; two species occur in Argentina, *F. bidentis* and *F. haumanii*. Anatomical antecedents are scarce for these species and for *F. bidentis* the presence of uniseriate trichomes, epicuticular waxes, crystals and Kranz structure are reported. Chemically these species have diverse flavonoids of the sulphated group. The aims of this work were to characterize the leaf and cauline anatomy, and quantify the foliar phenolic components for *F. bidentis* and *F. haumanii*.

Methods: The material was collected in the province of Santiago del Estero (Argentina) and subsequently fixed in FAA; conventional anatomical and phytochemical techniques were used for subsequent analysis.

Key results: Both taxa presented entire leaf blade and trinervate, acrodromous primary venation. In paradermal view, both species have polyhedral epidermal cells at both surfaces, which are amphistomatic and with a striate cuticle. Presence of anomocytic, hemiparacytic, brachiparacytic, and polocytic stomata, as well as multicellular glandular trichomes. In cross section, the blade is dorsiventral with collateral vascular bundle and Kranz structure. The growing primary stem showed subepidermal angular collenchymas and amyloid sheath in the inner part of the cortex. Secondary growth included continuous xylem and phloem due to cambium activity. Parenchymal medulla was partially lignified. The presence of secretory schizogenic ducts in both blade and stem was observed. The phytochemical analysis showed higher total content of phenols, flavonoids and hydroxycinnamic acid in *F. haumanii* than in *F. bidentis*; only the total content of the ortho-dihydroxyphenols was slightly higher in the latter species.

Conclusions: *Flaveria bidentis* and *F. haumanii* may be differentiated through stomata and trichome density and size and location of trichomes in the blade; whereas in both species the quantity of vascular bundles and secretory ducts of the stem are different. Quantification of phenolic compounds allowed us to establish a chemical profile for both species having scarce differences.

Key words: leaf, phenols, plant morphology, stem, stomata, trichomes.

1 Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251, 4000 San Miguel de Tucumán, Argentina.

2 Universidad de San Miguel de Tucumán, Facultad de Ciencias Naturales, Miguel Lillo 205, 4000 San Miguel de Tucumán, Argentina.

3 Universidad Nacional de Santiago del Estero, Facultad de Agronomía y Agroindustrias, Av. Belgrano Sur 1912, 4200 Santiago del Estero, Argentina.

4 Universidad de San Miguel de Tucumán, Facultad de Agronomía y Zootecnia, Av. Roca 1900, 4000 San Miguel de Tucumán, Argentina.

5 Autor para la correspondencia: albornoz@csnat.unt.edu.ar

Recibido: 15 de junio de 2018.

Revisado: 25 de julio de 2018.

Aceptado por Marie-Stéphanie Samain: 24 de agosto de 2018.

Publicado Primero en línea: 29 de noviembre 2018.

Publicado: Acta Botanica Mexicana 126 (2019).

Citar como:

Páez, V. A., P. L. Albornoz, E. Lizarraga, M. T. Sobrero y A. Chaila. 2018(2019). Anatomía foliar y caulinar, y caracterización fitoquímica foliar de *Flaveria bidentis* y *F. haumanii* (Asteraceae) de Santiago del Estero, Argentina. Acta Botanica Mexicana 126: e1409. DOI: 10.21829/abm126.2019.1409



Este es un artículo de acceso abierto bajo la licencia Creative Commons 4.0 Atribución-NonCommercial (CC BY-NC 4.0 International).

e-ISSN: 2448-7589

Introducción

La familia Asteraceae presenta una distribución cosmopolita, en Sudamérica integra 20% de la flora en zona andina y patagónica; las especies de esta familia son abundantes en regiones montañosas y zonas áridas, mientras que en la selva tropical son escasas (Cabrerá, 1978; Stevens, 2001 onwards). En Argentina la familia cuenta con 222 géneros y 1490 especies (Zuloaga y Morrone, 1999; Katinas et al., 2007) distribuidas en tres subfamilias: Barnadesioideae, Asteroideae y Cichorioideae, y 17 tribus (Katinas et al., 2007). En la subfamilia Asteroideae tribu Helenieae se encuentra el género *Flaveria* Juss. (Novara y Petenatti, 2000).

Flaveria posee 23 especies americanas, distribuidas desde el centro y sur de los Estados Unidos de América hasta el norte de Centroamérica y el Caribe, y desde Venezuela hasta el centro de Argentina (Powell, 1978). Morfológicamente, el género se caracteriza por la similitud y reducción de sus partes florales en numerosas especies, por lo que los caracteres para la identificación de sus especies se basan en su distribución, hábitat, follaje, número de capítulos y presencia y/o ausencia de flores liguladas (Powell, 1978). Este género ha sido ampliamente estudiado por presentar especies con metabolismo fotosintético C₃, C₄ y formas intermedias (Powell, 1978).

Flaveria bidentis (L.) Kuntze y *F. haumanii* Dimitri & Orfila son las únicas especies representativas del género en Argentina, se distribuyen en las regiones noroeste, noreste, Cuyo, Pampeana y Patagónica. *Flaveria bidentis* habita entre 0-3000 m s.n.m, mientras que *F. haumanii* entre 0-1500 m s.n.m. (Bártoli et al., 2008). Ambos taxones son hierbas nativas, anuales, con ramificaciones simpódicas dicotómicas; hojas opuestas sésiles, lanceoladas, trinervadas y aserradas. *Flaveria bidentis* presenta una altura de 1.20 m o más, con hojas anchamente lanceoladas y los capítulos dispuestos en cimas densas, mientras que *F. haumanii* alcanza una altura de 0.60 m, con hojas angostamente lanceoladas y los capítulos dispuestos en cimas laxas (Petenatti y Ariza Espinar, 1997; Zuloaga y Morrone, 1999; Novara y Petenatti, 2000; Bártoli et al., 2008).

Flaveria bidentis y *F. haumanii* son vulgarmente conocidas como “balda”, “fique”, “contrayerba”, “flor amarilla” y “mata gusano”, habitan orillas de ríos y lagunas,

suelen encontrarse en terrenos modificados, márgenes de caminos y en campos de cultivo (Novara y Petenatti, 2000).

Ambas especies se utilizan para aliviar diversas dolencias, empleándose como alexifármaco, emenagogo, digestivo, excitante, tónico, antiparasitario, antidiarreico, antitusígeno, antiséptico y, además, como insecticida (Novara y Petenatti, 2000; Pastor de Abram y Zelada, 2006). Sus flores y hojas son utilizadas como colorantes para teñir diversos tejidos de color amarillo, naranja y verde; ocasionalmente se utilizan como plantas ornamentales (Katinas y Gutiérrez, 2013). Desde el punto de vista agroecológico *F. bidentis* es considerada maleza de cultivos de soja, de caña de azúcar y de hortalizas (Parra et al., 2006, 2007), mientras que *F. haumanii* no se considera como tal.

Los antecedentes anatómicos para la familia son citados por Metcalfe y Chalk (1950), quienes hacen referencia a los tipos de estomas anomocíticos y anisocíticos; mientras que para *Flaveria* citan la presencia de canales con resina en el córtex o la endodermis del tallo, que a veces se extiende a la lámina de la hoja. Petenatti et al. (2005) determinaron el índice estomático y número de estomas en *Flaveria bidentis* y *F. haumanii* y analizaron su morfología foliar. Apóstolo (2005) menciona para *F. bidentis* la presencia de tricomas uniseriados, ceras epicuticulares, cristales y estructura Kranz.

Químicamente se ha informado que el género posee diversos flavonoides del grupo sulfatado, los más comunes son flavonas, flavonoles y sus glicósidos (Cabrerá y Juliani, 1976, 1977, 1979; Powell, 1978; Varin et al., 1987; Agnese et al., 1999).

Debido a la escasa información acerca de la anatomía y química de estas especies, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar la anatomía foliar y caulinar de *Flaveria bidentis* y *F. haumanii*, y cuantificar los constituyentes fenólicos foliares de ambas especies.

Materiales y Métodos

Área de estudio

El material vegetal correspondiente a hoja y tallo de *Flaveria bidentis* y *F. haumanii* fue recolectado en la provincia de Santiago del Estero (Argentina) en las localidades del Zanjón (27°51'05.89"S; 64°14'34.19"O) e Isla Verde (28°38'27.87"S; 64°05'12.35"O), respectivamente (Figs. 1A-C).

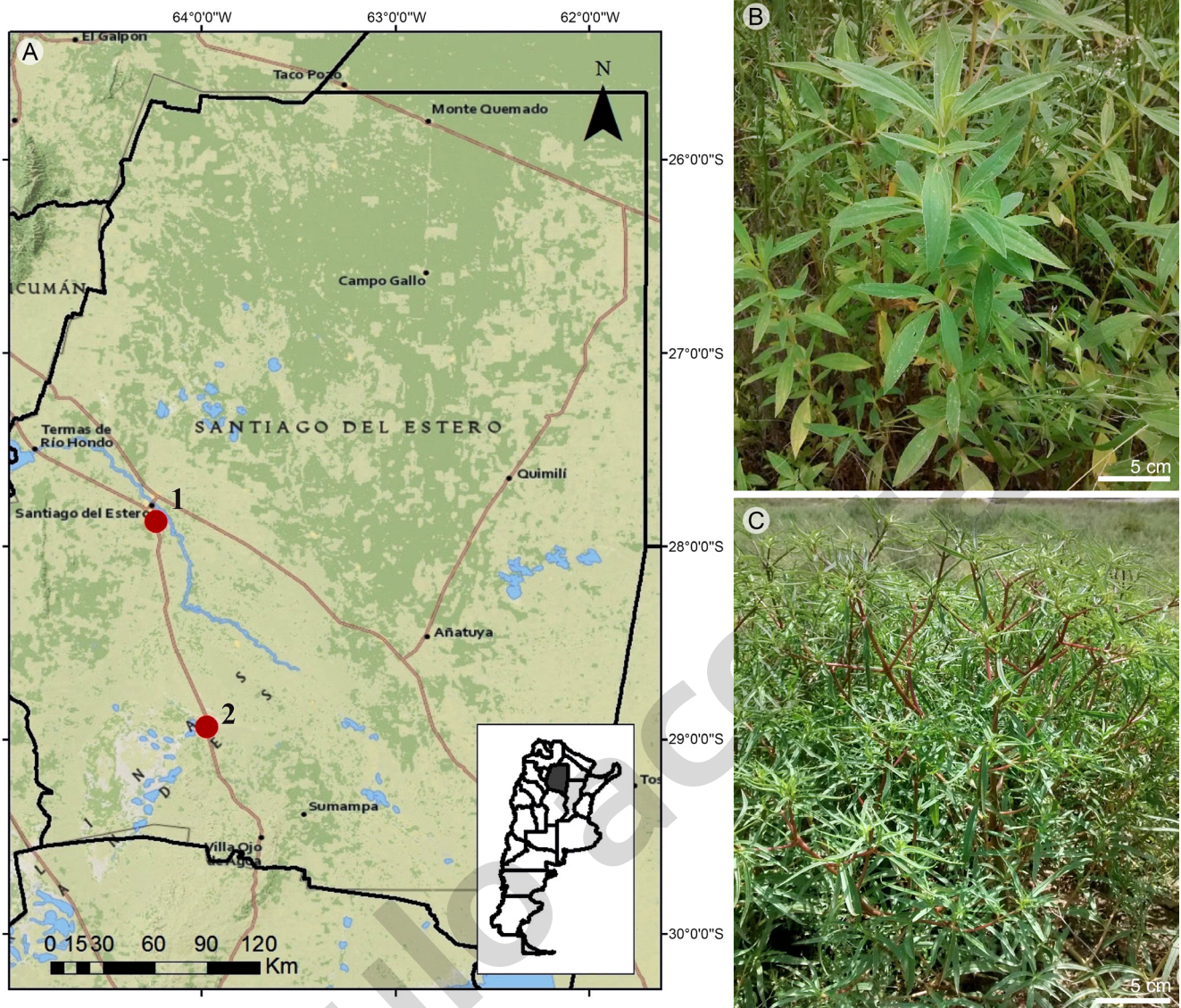


Figura 1: A. sitios de recolección de *Flaveria bidentis* (L.) Kuntze (1) y *F. haumanii* Dimitri & Orfila (2); B. aspecto general de *F. bidentis*; C. aspecto general de *F. haumanii*.

Material estudiado

Los materiales estudiados fueron depositados en el herbario fanerógamico de la Fundación Miguel Lillo (LIL).

Material examinado: *Flaveria bidentis*: ARGENTINA. Provincia Santiago del Estero, departamento San Pedro, localidad Zanjón, 27°51'05.89"S; 64°14'34.19"O, 09.V.2014, V. de los A. Páez s.n (LIL 613.740 A, B). *Flaveria haumanii*: ARGENTINA. Provincia Santiago del Estero, departamento Ojo de Agua, localidad Isla Verde, 28°38'27.87"S; 64°05'12.35"O, 09.V.2014, V. de los A. Páez s.n (LIL 613.733 A, B, C).

Anatomía foliar y caulinar

Para cada especie analizada se seleccionaron cinco individuos al azar; de cada uno de ellos se extrajeron cinco hojas maduras y cinco porciones de tallo correspondientes al sector medio de la planta. Las muestras foliares y caulinares fueron fijadas en FAA (ácido acético, formaldehído, agua y alcohol 1:2:7:10).

Para el análisis de las epidermis y venación foliar se empleó la técnica de diafanizado, propuesta por Dizeo de Strittmatter (D'Ambrogio de Argüeso, 1986); mientras que para la descripción de la venación foliar se utilizó la terminología de Hickey (1974).

Para el estudio estructural de la lámina y el tallo se realizaron cortes transversales y longitudinales a “mano libre”, en el primer caso de la porción media, mientras que en el tallo, los cortes fueron seriados en toda su longitud (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). Las tinciones utilizadas fueron violeta de cresilo y una doble tinción de azul astra-safranina. Las pruebas histoquímicas empleadas fueron lugol para detección de almidón, y cloruro férrico para compuestos fenólicos (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). Los preparados transitorios fueron montados en agua glicerina (1:1), de acuerdo a lo propuesto por D'Ambrogio de Argüeso (1986). Los preparados permanentes se obtuvieron de material vegetal fijado según Karnovsky (1965), que se deshidrataron pasando por una serie de alcoholes y acetona, se secaron con punto crítico y posteriormente se recubrieron con oro-paladio. (Dorador, Ion Spotter, JFC 1100 Joel Japón).

Para cada muestra foliar se analizaron 10 campos ópticos y se calcularon las siguientes variables, tanto en la superficie adaxial como abaxial: a) índice estomático (Wilkinson, 1979), b) densidad estomática (mm^2), c) longitud de los tricomas (μm) y densidad (mm^2), d) espesor de la epidermis y mesofilo (μm). Las variables cuantificadas en la muestra de tallo fueron: a) número de capas de los diferentes tejidos que forman la corteza, b) número de haces vasculares, c) número de conductos secretores. Todas las variables detalladas fueron realizadas en ambas especies.

Para la clasificación de los estomas se empleó la terminología propuesta por Dilcher (1974).

Las observaciones se realizaron en un microscopio estereoscópico (Olympus SZX7, Olympus Co., Tokio, Japón), microscopio óptico (Axiostar Plus, Carl Zeiss, Göttingen, Alemania), microscopio óptico de luz polarizada (AXIO Lab. A1, Carl Zeiss, Göttingen, Alemania), y microscopio electrónico de barrido (Zeiss Supra 55VP, Carl Zeiss, Oberkochen, Alemania) del Centro Integral de Microscopía Electrónica (CIME) INSIBIO-UNT-CONICET. Las fotomicrografías fueron tomadas con cámara digital Canon, Power Shot A620, 7.1 M.P.

Los datos se examinaron estadísticamente mediante el análisis de varianza y pruebas de diferencias de medias con el test de Tukey ($p < 0.05$). Se empleó el programa estadístico InfoStat versión 2012 (Di Rienzo et al., 2012).

Análisis fitoquímico foliar

Para el análisis fitoquímico, se emplearon 5 gramos de hojas secas de cada especie y se realizó una extracción asistida por microondas en tres etapas. Etapa 1: etanol 80%, etapa 2: etanol 50%, etapa 3: agua destilada. Los extractos fueron filtrados, el volumen del solvente se redujo en evaporador rotatorio (Rotavapor R-100 con bomba de vacío V-100, Büchi, Suiza), el remanente se secó en estufa (TDC40, Dalvo, China). Con cada extracto seco se calculó el rendimiento (Peso material vegetal seco/Peso extracto seco). Los extractos conservados a $-4\text{ }^\circ\text{C}$ fueron analizados mediante técnicas fotocolorimétricas para determinar contenido total de: fenoles (FenT) (Singleton et al., 1999), flavonoides (FlavT) (Chang et al., 2002), ácidos hidroxicinámicos (AHCT) (Dao y Friedman, 1992) y orto-dihidroxifenoles (ODF) (Chang et al., 2002). La presencia de taninos, saponinas y alcaloides se estimó cualitativamente mediante el ensayo con albúmina sérica bovina (Ricco et al., 2008), índice de espuma (Harborne, 1989) y reacción al tubo con el reactivo de Dragendorff, respectivamente (Farnsworth, 1996).

Para cada ensayo, las determinaciones fueron realizadas por triplicado y los valores presentados corresponden a la media y su desviación estándar.

Resultados

Arquitectura foliar

Las láminas de *Flaveria bidentis* (Fig. 2A) y *F. haumanii* son enteras, elípticas angostas y simétricas con ápice y base aguda, de textura cartácea. En *F. haumanii* puede ser, además, ovada lanceolada y asimétrica (Fig. 2B). El margen es suavemente crenado en *F. bidentis* (Fig. 2C) y crenado en *F. haumanii*. Ambos taxones presentan una venación primaria trinervada, acródroma de posición basal, desarrollo perfecto y recorrido derecho; las venas principales laterales reducen su espesor desde la porción media hacia el ápice de la lámina; mientras que las venas secundarias presentan un ángulo de divergencia agudo, uniforme, de grosor delgado a capilar, con recorrido curvado uniformemente (Figs. 2A-C). La venación terciaria de *F. bidentis* y *F. haumanii* muestra un modelo reticulado al azar, mientras que la venación cuaternaria es de tamaño fino, con trayectoria en ángulo recto. Las areolas de ambas especies poseen disposición al azar, son de forma triangular, cuadrangular y poligonal; las

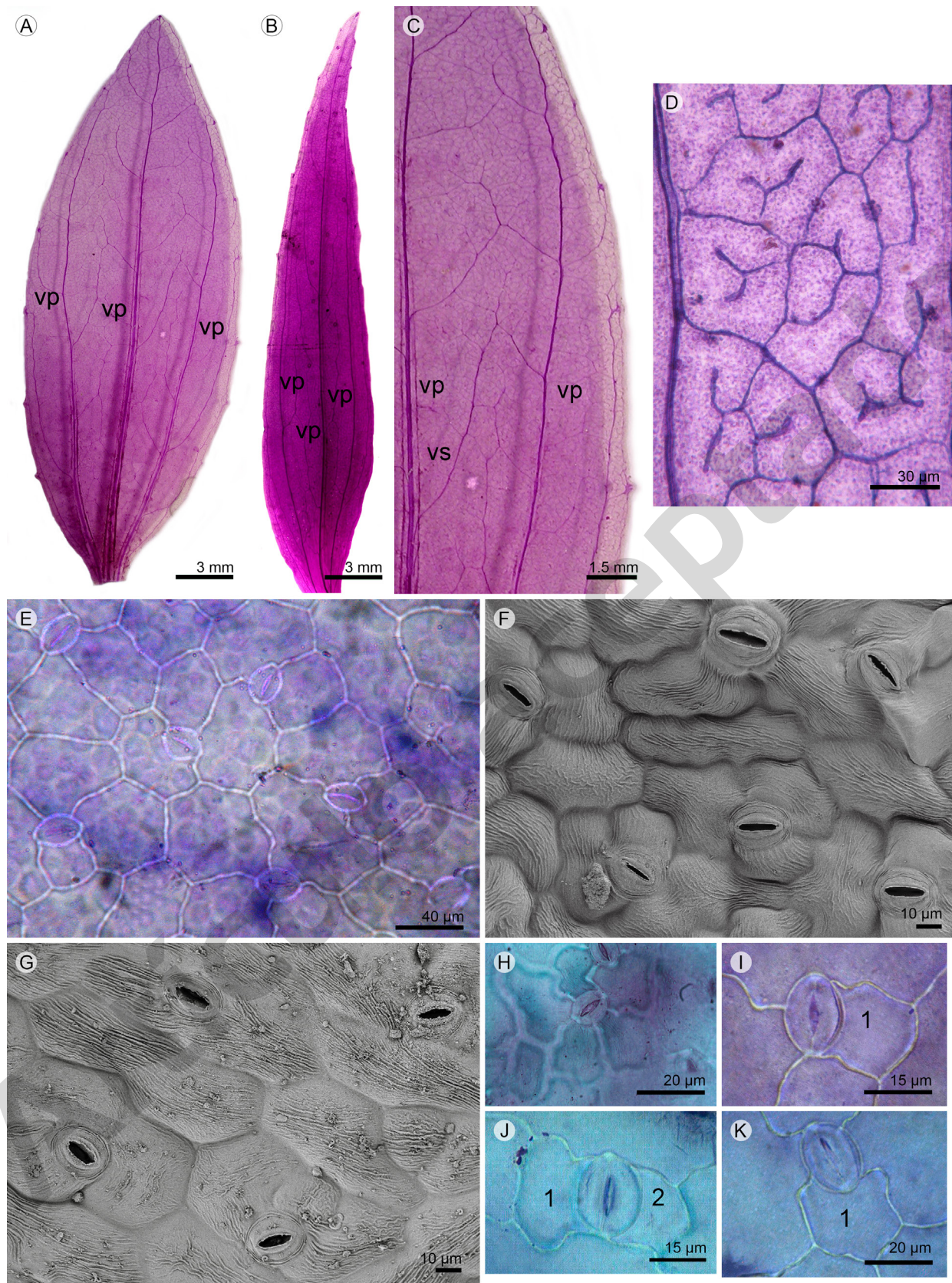


Figura 2: Venación y epidermis foliar de *Flaveria bidentis* (L.) Kuntze y *F. haumanii* Dimitri & Orfila, en vista superficial. A-D. venación: A. aspecto de la lámina elíptica simétrica en *F. bidentis*; B. aspecto de la lámina ovada lanceolada asimétrica en *F. haumanii*; C. detalle del margen crenado en *F. bidentis*; D. areola con vénula simple y ramificada una y dos veces en *F. haumanii*. E-K. anatomía foliar: E. epidermis adaxial de *F. bidentis*; F. epidermis abaxial de *F. bidentis* en MEB; G. epidermis abaxial de *F. haumanii* en MEB; H. estoma anomocítico; I. estoma hemiparacítico; J. estoma braquiparacítico; K. estoma polocítico. Abreviaciones: vp=vena primaria, vs=vena secundaria, 1 y 2=células subsidiarias.

vénulas, cuando están presentes, pueden ser simples curvadas y ramificadas una o dos veces (Fig. 2D).

Anatomía foliar

En vista paradormal, la lámina foliar presenta células epidérmicas poliédricas, es anfiestomática y con cutícula es triada en las dos especies. En *F. bidentis* las células epidérmicas poseen paredes rectas a curvas en superficie adaxial (Fig. 2E), mientras que en la superficie abaxial las paredes son levemente sinuosas (Fig. 2F). En *F. haumanii* las paredes de las células son rectas, curvas a levemente sinuosas en superficie adaxial y abaxial (Fig. 2G). Los estomas presentes en las especies son de tipo anomocítico (Fig. 2H), hemiparacítico (Fig. 2I), braquiparacítico (Fig. 2J) y polocítico (Fig. 2K) y se observó la presencia de estomas gemelos (Fig. 3A). En el Cuadro 1 se muestra el índice y la densidad estomática de las especies estudiadas. El índice estomático en la epidermis abaxial y adaxial fue de 18.34(±3.91) y de 17.86(±2.06) para *F. bidentis*; mientras que para *F. haumanii* fue de 18.40(±3.49) y de 19.84(±3.66), observándose diferencias significativas en la epidermis superior de ambas especies (Cuadro 1). La densidad estomática, en los dos taxones, muestra que la epidermis abaxial presenta diferencia significativa en relación con la superficie adaxial de la lámina. *Flaveria haumanii* evidenció la mayor diferencia significativa en superficie abaxial respecto de *F. bidentis* para la misma superficie.

En *F. bidentis* y *F. haumanii* se observaron tricomas glandulares pluricelulares uniseriados, ocasionalmente pluriseriados en la porción basal y apical (Figs. 3B-E). En

F. bidentis estos tricomas están presentes en ambas superficies y se distribuyen uniformemente en toda la lámina, la longitud varía entre 123.31(±6.84) y 328.79(±23.87) μm . En *F. haumanii* la longitud varía entre 85.02(±10.51) y 390.19(±56.22) μm , los de menor longitud se distribuyen en ambas superficies de la lámina, mientras que los de mayor longitud se ubican solamente en la porción basal de la misma. En el Cuadro 1 se presenta la densidad de tricomas glandulares en las especies analizadas, donde se evidencia diferencia significativa en ambas epidermis en *F. bidentis*, mientras que en *F. haumanii* no se encontraron diferencias significativas entre las superficies. La mayor cantidad de tricomas se observó en la epidermis adaxial de *F. bidentis*.

En sección transversal, la lámina de los taxones es dorsiventral (Fig. 3F). La epidermis superior e inferior de *F. bidentis* presentó un espesor promedio de 27.1(±6.6) y 32(±7.4) μm , mientras que en *F. haumanii* es de 31.5(±7.53) y 34.9(±7.3) μm . La epidermis adaxial de *F. bidentis* presentó diferencias significativas (Cuadro 1). En ambas especies el parénquima en empalizada posee 1-2 estratos y el esponjoso de 3-4 estratos, el espesor promedio del mesófilo fue de 173(±2.55) μm en *F. bidentis* y de 139.65(±3.13) μm en *F. haumanii* (Cuadro 1). Las venas primarias de las especies estudiadas presentan haz vascular colateral, con casquete de colénquima hacia floema y esclerénquima hacia xilema (Fig. 3G). Los nervios secundarios y terciarios son colaterales, con vaina parenquimática, casquete de colénquima en floema y clorénquima radial.

En las dos especies analizadas se registraron conductos secretores esquizógenos en el parénquima, gene-

Cuadro 1: Índice estomático, densidad de estomas y tricomas, y espesor de epidermis y lámina en *Flaveria bidentis* (L.) Kuntze y *F. haumanii* Dimitri & Orfila. EAD: epidermis adaxial, EAB: epidermis abaxial, NE: número de estomas, CE: número de células epidérmicas, NT: número de tricomas. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Especies	<i>Flaveria bidentis</i> (L.) Kuntze		<i>Flaveria haumanii</i> Dimitri & Orfila	
	EAD	EAB	EAD	EAB
Índice estomático (NE/CE+NE)*100	17.86±2.6a	18.34±3.91ab	19.84±3.66b	18.40±3.49ab
Densidad de estomas (NE/mm ²)	115.38±4.06a	152.17±3.91b	138.55±3.78b	173.91±3.78c
Densidad de tricomas (NT/mm ²)	58.79±3.98a	2.37±3.94b	3.31±3.79c	3.31±3.89c
Espesor de epidermis (μm)	27.1±6.6a	32±7.4b	31.5±7.53b	34.9±7.3b
Espesor de la lámina (μm)	173±2.55a		139.65±3.13b	

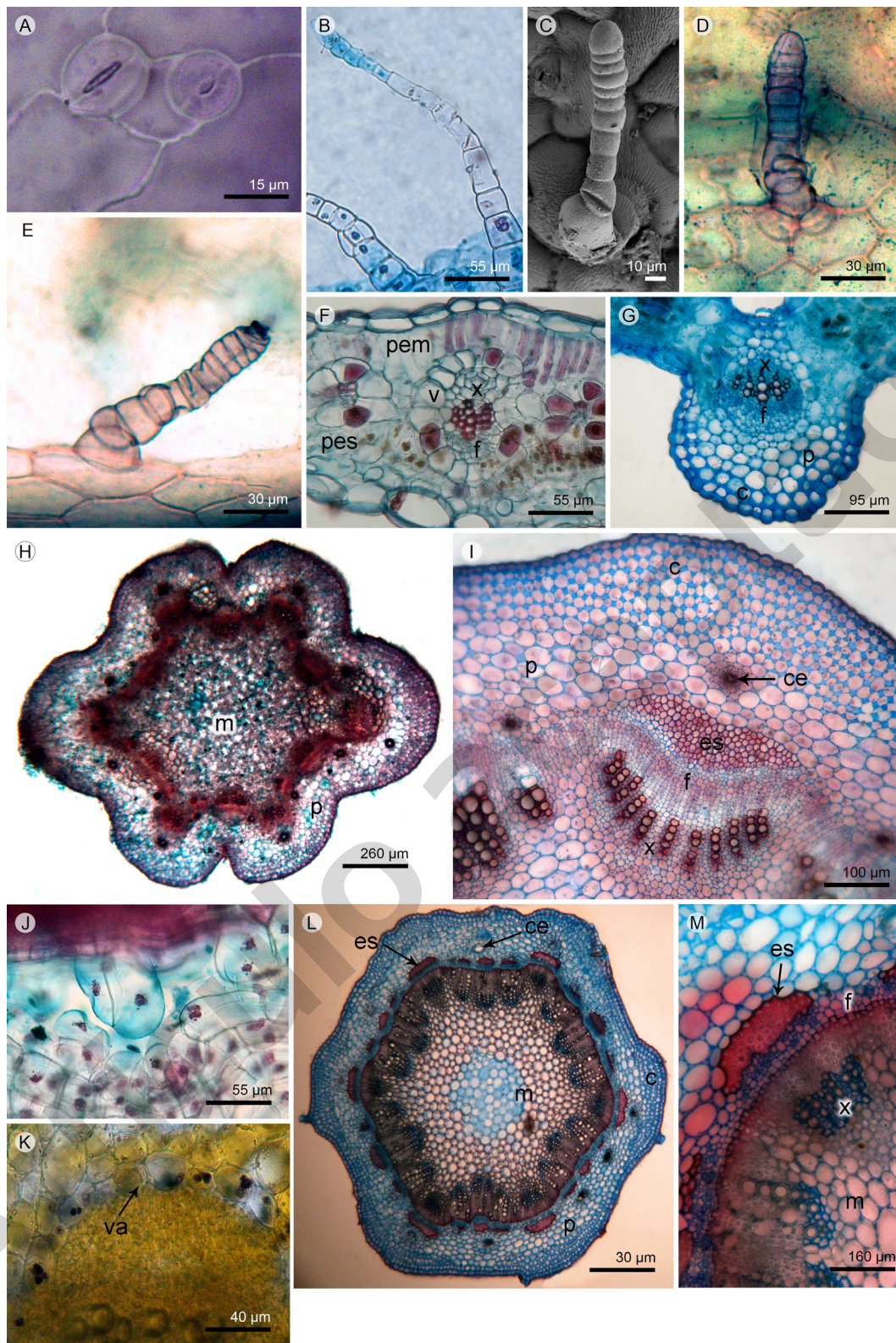


Figura 3: Anatomía foliar y caulinar de *Flaveria bidentis* (L.) Kuntze y *F. haumanii* Dimitri & Orfila. A-G. epidermis foliar: A. estomas gemelos en *F. haumanii*; B. tricoma glandular pluricelular uniseriado, largo; C. tricoma glandular pluricelular uniseriado, corto en MEB; D. tricoma glandular pluricelular biseriado en la porción basal; E. tricoma glandular pluricelular biseriado en la porción apical; F. lámina dorsiventral, anfistomática en *Flaveria bidentis*; G. haz vascular colateral de vena primaria en *F. haumanii*. H-M. Tallo: H. estructura primaria; I. haces vasculares colaterales, J. corte longitudinal de conducto secretor; K. vaina amilífera; L. estructura secundaria temprana; M. detalle de xilema y floema continuos por actividad del cambium. Abreviaciones: c=colénquima angular, ce=conducto ezquizógeno, es=esclerénquima, f=floema, m=médula, p=parénquima, pem=parénquima empalizado, pes=parénquima en esponjoso, x=xilema, v=vaina, va=vaina amilífera.

ralmente asociados a los nervios primarios, secundarios, terciarios, tanto en xilema como en floema. Además, presentan colénquima angular subepidérmico a la altura del nervio medio, hacia ambas superficies y en los márgenes de la lámina.

Anatomía caulinar

La anatomía del tallo de *F. bidentis* y *F. haumanii* es similar (Figs. 3H-M). En estadio de plántula la sección transversal presentó contorno ondulado (Fig. 3H) y de circular a hexagonal en etapa adulta (Fig. 3L).

Durante el crecimiento primario, se observó epidermis unistrata con cutícula estriada, colénquima angular subepidérmico de 2-5 estratos y parénquima cortical de 5-9 estratos; el parénquima presentó conductos secretores esquizógenos cuyo número varió de 7-8 en *F. bidentis* y 16-18 en *F. haumanii* (Figs. 3I, J, L); internamente se observó una vaina amílifera (Fig. 3K). El tejido vascular se organizó en haces vasculares colaterales con casquete de colénquima o esclerénquima hacia floema, el número de haces fue de 12-15 en *F. bidentis* y 22 en *F. haumanii*; internamente se presentó una médula parenquimática (Fig. 3I).

El crecimiento del tallo secundario temprano presentó el cambium, xilema y floema continuos, próximo al floema se observó esclerénquima (Fig. 3M); el resto de los tejidos son similares a la estructura primaria descrita anteriormente, solo se observó variación en el número de capas del colénquima subepidérmico (5-6 capas), el parénquima cortical (8-11 capas) y los conductos secretores (23-26). La médula parenquimática se observó parcialmente lignificada (Fig. 3L). El crecimiento secundario típico no fue observado en ninguna de las especies estudiadas.

Caracterización fitoquímica

Las diferencias en cuanto al rendimiento de extracto obtenido a partir de las hojas de *F. bidentis* y *F. haumanii*, no fueron marcadas. *Flaveria bidentis* tuvo un rendimiento de 1.33 g de extracto (26.7%), mientras que en *F. haumanii* de 1.59 g (31.9%). Los resultados de las técnicas fotocolorimétricas empleadas indican que *F. haumanii* posee mayor contenido total de fenoles, flavonoides y ácidos hidroxicinnámicos, comparados con *F. bidentis*, solo el contenido de los orto-dihidroxifenoles totales fue ligeramente superior en *F. bidentis* (Cuadro 2). Mediante las pruebas cualitativas, no se evidenció la presencia de taninos, saponinas y alcaloides.

Discusión

La morfología foliar de *F. bidentis* y *F. haumanii* descrita por otros autores se caracteriza por sus hojas opuestas, sésiles, trinervadas, glabras o glanduloso-pubescentes; ovadas o elípticas, serradas en el margen en *F. bidentis*, lineares o angostamente elípticas, ligeramente serradas en el margen en *F. haumanii* (Pettenatti y Ariza Espinar, 1997; Novara y Pettenatti, 2000; Bártoli et al., 2008; Katinas y Gutiérrez, 2013). Sin embargo, en este trabajo las hojas de las especies estudiadas son pubescentes y la forma de la lámina de *F. haumanii* es ovada-lanceolada, asimétrica, a diferencia de lo descrito por los autores antes mencionados. Anderberg et al. (2007) citan para la familia venación paralelopinnada, pinnada, palmatopinnada o palmada. Gutiérrez et al. (2015) mencionan que la lámina de *F. bidentis* y *F. haumanii* es trinervada; sin embargo, no la caracteriza arquitecturalmente. Las especies aquí estudiadas presentaron venación acródroma, la cual se describe por primera vez.

Cuadro 2: Análisis fitoquímico de *Flaveria bidentis* (L.) Kuntze y *F. haumanii* Dimitri & Orfila. Los valores representan la media de tres repeticiones \pm la desviación estándar (DE).

Análisis fitoquímico foliar	<i>Flaveria bidentis</i> (L.) Kuntze	<i>Flaveria haumanii</i> Dimitri & Orfila
Rendimiento	26.7%	31.9%
Fenoles totales (FT) (mgEAG/gmv)	56.35 \pm 0.23	62.81 \pm 0.12
Flavonoides totales (FlavT) (mgEQ/gmv)	84.36 \pm 0.34	97.30 \pm 0.38
Ácidos hidroxicinnámicos totales (AHCT) (mgEAC/ gmveg)	113.25 \pm 0.64	137.40 \pm 0.54
o-dihidroxifenoles totales (ODF) (mgCat/gmveg)	32.04 \pm 0.31	29.51 \pm 0.27

En lo referente a la anatomía foliar, Metcalfe y Chalk (1950) citan para la familia la presencia de estomas anomocíticos y anisocíticos. En los taxones estudiados se registraron estomas anomocíticos, hemiparacíticos, braquiparacíticos y polocíticos. El índice estomático citado por Petenatti et al. (2005) para *Flaveria bidentis*, en epidermis adaxial y abaxial, fue de 20-22.22 y 15.38-20 respectivamente, y en *F. haumanii* fue de 21.87-23.33 y 17.5-20. Los resultados aquí obtenidos indican que el índice estomático, en epidermis adaxial y abaxial fue de 17.86(± 2.06) y 18.34(± 3.91) en *F. bidentis*, y de 19.84(± 3.66) y 18.40(± 3.49) en *F. haumanii*. Puede observarse que este índice es ligeramente menor en la epidermis superior de ambas especies si se compara con los datos obtenidos por Petenatti et al. (2005). Probablemente esto se relaciona con las diferentes condiciones ambientales del sitio de recolección de las muestras aquí analizadas. Es conocido que el índice estomático en una especie puede verse afectado por las condiciones ambientales, entre hojas de la misma planta y entre sectores de una misma hoja (Esau, 1972; Roth et al., 1986; Brownlee, 2001). En lo concerniente a la densidad estomática, los datos citados en este trabajo son los primeros, encontrándose diferencias significativas entre los taxones.

En relación a los tricomas en Asteraceae, es común la presencia de tricomas glandulares (Metcalfe y Chalk, 1950). En las especies analizadas se observaron tricomas glandulares, pluricelulares, uniseriados y biseriados, a diferencia de lo registrado por Apóstolo (2005), quien citó para *F. bidentis* solamente la presencia de tricomas uniseriados. En los taxones estudiados la lámina foliar es dorsiventral, con estructura Kranz, la que solamente fue citada para *F. bidentis* por Powell (1978), Apóstolo (2005), McKown et al. (2005) y Anderberg et al. (2007).

La presencia de canales secretores fue mencionada para el género por Metcalfe y Chalk (1950), quienes los observaron en el córtex y la endodermis del tallo, los que pueden extenderse a la lámina de la hoja; estos canales no fueron observados en las especies en cuestión. En este trabajo, se evidenció la presencia de conductos secretores esquizógenos en hoja y tallo, los que se caracterizan por presentar un epitelio unistratificado con células secretoras que se ubican hacia la luz del conducto; esto es mencionado para otras especies de la familia (Castro et al., 1997; Melo-

De-Pinna y Menezes, 2002; Simon et al., 2002; Lapp et al., 2004; Delbón et al., 2007; Molares et al., 2009). La prueba histoquímica resultó positiva para fenoles en los conductos esquizógenos de ambas especies. La presencia de fenoles también fue citada en *Flourenzia campestris* Griseb. y *F. oo-lepis* S.F. Blake, especies pertenecientes a la familia Asteraceae (Delbón et al., 2007). Apóstolo (2005) menciona para *F. bidentis* la presencia de ceras epicuticulares y cristales, que no fueron observados en las muestras analizadas.

En lo referente al tallo, la estructura primaria y secundaria se menciona por primera vez en este trabajo.

Químicamente los compuestos fenólicos son esenciales para la fisiología de la planta y juegan un papel importante en la defensa pasiva como barreras bioquímicas preformadas (Cruz Borrueal et al., 2006). Flavonoides mono y tetrasulfatados han sido usados tradicionalmente como marcadores quimiosistemáticos para las especies de *Flaveria* (Varin y Ibrahim, 1991). Agnese et al. (1999) llevaron a cabo análisis en *F. bidentis* en busca de esta familia de compuestos, los cuales revelaron que esta planta sintetiza dos derivados con características únicas: quercetina-3,7,3',4-tetrasulfato y quercetina-3-acetil-7,3',4-trisulfato, mientras que *F. haumanii* sintetiza isorhamnetin-3,7-disulfato e isorhamnetin-3-monosulfato, utilizándose este criterio químico como elemento de valor diagnóstico. En este trabajo se determinó la presencia de otros compuestos fenólicos, ácidos hidroxicinámicos y orto-dihidroxifenoles junto con fenoles y flavonoides totales.

A pesar de haber cuantificado por primera vez diferentes grupos de compuestos fenólicos, no se observaron diferencias significativas para emplear estos perfiles químicos en la identificación de las especies. Por lo tanto, se debería seguir explorando a los flavonoides como compuestos con valor diagnóstico e investigar otros compuestos fenólicos no sulfatados.

Conclusiones

Flaveria bidentis y *F. haumanii* pueden diferenciarse por la densidad de estomas, densidad de tricomas, y por el tamaño y ubicación de los últimos en la lámina; mientras que en el tallo la diferencia se presentó en la cantidad de haces vasculares y de conductos secretores. Entre las características que comparten se encuentran la nerviación, tipos de

estomas y tricomas en la hoja y estructura Kranz, el crecimiento primario y secundario del tallo, y la presencia de conductos secretores en tallo y hoja. La cuantificación de compuestos fenólicos permitió establecer un perfil químico para ambas especies con escasas diferencias diagnósticas.

Contribución de autores

VAP, MTS y SC diseñaron la presente investigación y colectaron el material. VAP y PLA aplicaron las técnicas histológicas convencionales y se encargaron de la adquisición de datos y su interpretación anatómica. EL realizó la caracterización fitoquímica foliar y adquisición de datos. Todos los autores contribuyeron a la discusión, revisión y aprobación del manuscrito final.

Financiamiento

Este estudio fue apoyado por la Fundación Miguel Lillo en el marco del proyecto B-0002-1, B0013-1 (Miguel Lillo 251, T4000JFE, Tucumán) y Bioecología y manejo de malezas de los agroecosistemas del semiárido 23/A199 Consejo de Investigaciones científicas y Tecnología, Universidad Nacional de Santiago del Estero (CICYT-UNSE).

Agradecimientos

A la Fundación Miguel Lillo y a la Facultad de Agronomía y Agroindustrias (UNSE) por la provisión del espacio físico, viajes de campaña y equipamiento necesario para realizar este trabajo. A Lelia Bordón de la sección Iconografía, de la Fundación M. Lillo, por la realización de las láminas.

Literatura citada

- Agnese, A. M., S. Núñez Montoya, L. Ariza Espinar y J. L. Cabrera. 1999. Chemotaxonomic features in Argentinian species of *Flaveria* (Compositae). *Biochemical Systematics and Ecology* 27(7): 739-742. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(99\)00017-4](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(99)00017-4)
- Anderberg, A. A., B. G. Baldwin, R. J. Bayer, I. Breitwieser, C. Jeffrey, M. O. Dillon, P. Eldenäs, V. Funk, N. Garcia-Jacas, D. J. N. Hind, P. O. Karis, H. W. Lack, G. Nesom, B. Nordenstam, C. Oberprieler, J. L. Panero, C. Puttock, H. Robinson, T. F. Stuessy, A. Susanna, E. Urtubey, R. Vogt, J. Ward y L. E. Watson. 2007. Compositae. In: Kadereit, J. W. y C. Jeffrey (eds.). *The families and genera of vascular plants*, vol. 8. Flowering Plants, Eudicots, Asterales. Springer. Berlin, Germany. Pp. 61-588.
- Apóstolo, N. M. 2005. Caracteres anatómicos de la vegetación costera del Río Salado (Noroeste de la provincia de Buenos Aires, Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 40(3-4): 215-227.
- Bártoli, A., C. M. Baeza, N. D. Bayón, J. M. Bonifacino, G. Delucchi, M. Dematteis, S. E. Freire, D. Giuliano, D. Gutiérrez, L. Iharlegui, L. Katinas, A. A. Sáenz, G. Sancho, N. Soria, T. F. Stuessy, R. D. Tortosa, K. Tremetsberger y E. Urtubey. 2008. In: Zuloaga, F. O., O. Morrone, M. J. Belgrano (eds.). *Catálogo de Plantas Vasculares del Cono Sur II*. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden. St. Louis, Missouri, USA. Pp. 985-1636.
- Brownlee, C. 2001. El largo y el corto de las señales de la densidad de estomas. *Trends in Plant Science* 6(10): 441-442. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(01\)02095-7](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(01)02095-7)
- Cabrera, A. L. 1978. Compositae. In: Cabrera, A. L. (ed.). *Flora de la provincia de Jujuy*. Colección Científica del INTA 12(10): 1-726.
- Cabrera, J. L. y H. R. Juliani. 1976. Quercetin 3 acetyl 7,3',4'-trisulphate from *Flaveria bidentis*. *Lloydia* 39: 253-254.
- Cabrera, J. L. y H. R. Juliani. 1977. Isorhamnetin 3,7-disulphate from *Flaveria bidentis*. *Phytochemistry* 16(3): 400. DOI: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(77\)80079-4](https://doi.org/10.1016/0031-9422(77)80079-4)
- Cabrera, J. L. y H. R. Juliani. 1979. Two new quercetin sulphates from leaves of *Flaveria bidentis*. *Phytochemistry* 18(3): 510-511. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)81907-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)81907-X)
- Castro, M., H. Leitao-Filho y W. Monteiro. 1997. Utilização de estruturas secretoras na identificação dos gêneros de Asteraceae de uma vegetação de cerrado. *Revista Brasileira de Botânica* 20(2): 163-174. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-84041997000200007>
- Chang, C. C., M. H. Yang, H. M. Wen y J. C. Chern. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10: 178-182.
- Cruz Borrueal, M., Y. Hernández-Fundora y E. Rivas-Figueredo. 2006. Mecanismos de resistencia de las plantas al ataque de patógenos y plagas. *Temas de Ciencia y Tecnología* 10(29): 45-54.
- D'Ambrogio de Argüeso, A. 1986. *Manual de técnicas en histología vegetal*. Ed. Hemisferio Sur, S.A. Buenos Aires, Argentina. 83 Pp.

- Dao, L. y M. Friedman 1992. Chlorogenic acid content of fresh and processed determined by ultraviolet spectrophotometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40(11): 2152-2156. DOI: <https://dx.doi.org/10.1021/jf00023a022>
- Delbón, N., M. T. Cosa y N. Dottori. 2007. Anatomía de órganos vegetativos en *Flourenzia campestris* y *F. oolepis* (Asteraceae), con especial referencia a las estructuras secretoras. *Arnaldoa* 14(1): 61-70.
- Dilcher, D. L. 1974. Approaches to the identification of angiosperm leaf remains. *Botanical Review* 40(1): 1-157. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02860067>
- Di Rienzo, J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. González, M. Tablada y C. W. Robledo. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat. Facultad Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar> (consultado febrero de 2015).
- Esau, K. 1972. Anatomía vegetal. Omega. Barcelona, España. Pp. 1-779.
- Farnsworth, N. R. 1966. Biological and phytochemical screening of plants. *Journal of Pharmaceutical Science* 55(3): 225-276. DOI: <https://doi.org/10.1002/jps.2600550302>
- Gutiérrez, D. G., E. Petenatti, M. D. Montero, A. Moreira, M. L. Stampacchio, N. B. Forte, A. Marticorena, T. Moro, J. F. Rodríguez-Craverio y M. A. Grossi. 2015. Helenieae s.l., Flora Argentina. In: Zuloaga, F. O., M. J. Belgrano, A. M. Antón (eds.). *Flora Argentina: Asteraceae, Tribu Helenieae s.l.* Ibo-da-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (Conicet). Buenos Aires, Argentina. Pp. 83-131.
- Harborne, J. B. 1989. *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. 3ra. ed. Chapman and Hall. New York, USA. Pp. 1-552.
- Hickey, L. E. 1974. Clasificación de la arquitectura de las hojas de dicotiledóneas. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 16(1-2): 1-26.
- Karnovsky, M. J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron-microscopy. *Journal of Cell Biology* 27: 137-138.
- Katinas, L. y D. G. Gutiérrez. 2013. Asteraceae (=Compositae), Tribu X: Helenieae. In: Ariza Espinar, L. y S. Freire (eds.). *Flora de San Juan, República Argentina III b*. Mendoza: Zeta Editores. Ciudad de Mendoza, Argentina. Pp. 1-344.
- Katinas, L., D. G. Gutiérrez, M. A. Grossi y J. V. Crisci. 2007. Panorama de la familia Asteraceae (=Compositae) en la República Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 42(1-2): 113-129.
- Lapp, M., D. Jáuregui y T. Ruiz-Zapata. 2004. Anatomía foliar de ocho especies venezolanas del género *Oyadea* DC. (Asteraceae-Heliantheae). *Acta Botanica Venezuelica* 27(1): 1-16.
- Melo-De-Pinna, G. y N. Menezes. 2002. Vegetative organ anatomy of *Ianthopappus corymbosus* Roque & Hind (Asteraceae-Mutisieae). *Revista Brasileira de Botânica* 25(4): 505-514. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0100-84042002012000014>
- Metcalfe, C. R. y L. Chalk. 1950. *Anatomy of Dicotyledons*. 2. Clarendon Press. Oxford, UK. Pp. 1067-1074.
- McKown, A. D., J. M. Moncalvo y N. G. Dengler. 2005. Phylogeny of *Flaveria* (Asteraceae) and inference of C₄ photosynthesis evolution. *American Journal of Botany* 92(11): 1911-1928. DOI: <https://doi.org/10.3732/ajb.92.11.1911>
- Molares, S., S. González, A. Ladio y M. Agueda-Castro. 2009. Et-nobotánica, anatomía y caracterización físico-química del aceite esencial de *Baccharis obovata* Hook. et Arn. (Asteraceae: Astereae). *Acta Botanica Brasilica* 23(2): 578-589. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062009000200030>
- Novara, L. y E. M. Petenatti. 2000. Asteraceae-Tribu 6: Helenieae. *Aportes Botánicos de Salta, Serie Flora* 6(8): 1-46.
- Parra, M. V., M. T. Sobrero y S. Chaila. 2006. Efecto del potencial osmótico sobre la germinación de *Flaveria bidentis*. XXV Congresso Brasileiro da Ciencia das Plantas Daninhas 29 de maio a 2 de junho de 2006. Brasília, Brasil.
- Parra, M. V., E. Raña, M. T. Sobrero y S. Chaila. 2007. Influence of temperatures on the germination of *Flaveria bidentis* (L.) O. Kuntze at different levels of water stress. *Biocell* 31(2): 306.
- Pastor de Abram, A. y M. B. R. Zelada. 2006. Estudio fitoquímico de *Flaveria bidentis* (L.) Kuntze (Asteraceae). *Revista de la Sociedad Química del Perú* 72(1): 3-11.
- Petenatti, E. M. y L. Ariza Espinar. 1997. Asteraceae, parte 6, Tribu VI: Helenieae. *Flora Fanerogámica Argentina* 45: 3-35.
- Petenatti, M. E., E. M. Petenatti y L. A. Del Vitto. 2005. Morphologic and micrographic studies of Argentinian *Flaveria* (Asteraceae: Helenieae). *Biocell* 29(3): 386.
- Powell, A. M. 1978. Systematics of *Flaveria* (Flaveriinae-Asteraceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 65(2): 590-636. DOI: <https://doi.org/10.2307/2398862>
- Ricco, R. A., V. Lozano, V. Lator, A. A. Gurni y M. L. Wagner. 2008. Modificación en el perfil de polifenoles de *Tripodanthus acutifolius* (Ruiz et Pav.) Tiegh. (Loranthaceae) infectado por

- "cochinilla" (Homoptera)-Lecanidae). *Latin American Journal of Pharmacy* 27(2): 258-262.
- Roth, I., T. Merida y H. Lindorf. 1986. Morfología y anatomía foliar de plantas de la Selva Nublada de Rancho Grande, Parque Nacional "Henry Pittier". El ambiente físico, ecología general y anatomía vegetal. Fondo Editorial Acta Científica Venezolana. Caracas, Venezuela. Pp. 205-241.
- Simon, P., L. Katinas y A. Arambarri. 2002. Secretory structures in *Tagetes minuta* (Asteraceae, Helianieae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 37(3-4): 181-191.
- Singleton, V. L., R. Orthofer y R. M. Lamuela-Raventos. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteau reagent. *Methods in Enzymology* 299: 152-178. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Stevens, P. F. 2001 onwards. Asterales. Angiosperm Phylogeny Website, Versión 8. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/> (consultado junio de 2007).
- Varin, L., D. Barron y R. K. Ibrahim. 1987. Enzymatic synthesis of sulphated flavonols in *Flaveria*. *Phytochemistry* 26(1): 135-138. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)81496-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)81496-X)
- Varin, L. y R. K. Ibrahim. 1991. Partial purification and some properties of flavonol 7-sulfotransferase from *Flaveria bidentis*. *Plant Physiology* 95(4): 1254-1258. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.95.4.1254>
- Wilkinson, H. 1979. The plant surface (mainly leaf). In: Metcalfe, C. R. y L. Chalk (eds.). *Anatomy of Dicotyledons*. Oxford Clarendon Press. London, UK. Pp. 97-165.
- Zuloaga, F. O. y O. Morrone. 1999. Catálogo de las plantas vasculares de la República Argentina. II. Dicotyledoneae. *Monographs in Systematic Botany*. Missouri Botanical Garden 74: 1-1269.