

Estudios anatómicos en especies de *Mentha* (Fam. Lamiaceae) de Argentina

Anatomical studies in *Mentha* species (Fam. Lamiaceae) from Argentina

Norma E. Bonzani

Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (UNC-CONICET), C.C. 495, 5000. Córdoba, ARGENTINA.
nbonzani@imbiv.unc.edu.ar

María Costaguta

Salud Ambiental del Ministerio de Salud del Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires, Av. Pellegrini 313, Ciudad de Buenos Aires, ARGENTINA.

Gloria E. Barboza

Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (UNC-CONICET), C.C. 495, 5000. Córdoba, ARGENTINA.

Resumen

Se realiza un estudio anatómico de los órganos vegetativos en seis especies de *Mentha*: *M. citrata* Ehrh., *M. pulegium* L., *M. spicata* L., *M. x rotundifolia* (L.) Hudson, *M. x piperita* L., *M. arvensis* L., que habitan en Argentina, con el objeto de 1) contribuir al conocimiento del género 2) valorar los caracteres diferenciales, 3) aportar herramientas para la identidad botánica a nivel específico ante controles de calidad. Se analiza comparativamente la estructura de hoja y tallo para cada especie, con especial referencia al tejido epidérmico. Se presenta una clasificación para los tricomas no glandulares y glandulares y se señala un tipo novedoso para el género (tricoma glandular con cabeza unicelular estipitada). Los caracteres histológicos diagnósticos se resumen en una tabla y en una clave dicotómica con el objeto de facilitar el control de calidad botánico. El trabajo se acompaña con ilustraciones y fotografías tomadas con microscopio óptico y electrónico de barrido.

Palabras claves: *Mentha*, tricomas, anatomía foliar, anatomía caulinar, Argentina.

Abstract

An anatomical research of the vegetative organs belonging to six species of *Mentha*: *M. citrata* Ehrh., *M. pulegium* L., *M. spicata* L., *M. x rotundifolia* (L.) Hudson, *M. x piperita* L., *M. arvensis* L., has been carried out in order to 1) contribute to the knowledge of the genus, 2) evaluate the differential characters and, 3) provide tools to identify the species when quality controls are required. The leaf and stem structure of each species is comparatively analyzed, with special reference to the epidermis. A non glandular and glandular trichomes classification is proposed, and a novel type of trichome for the genus is described (glandular trichome with unicellular and stipitate head). The histological diagnostic characters are summarized in a table and a key with the objective to facilitate the quality control. Illustrations and photographs taken with optical and scanning electronic microscope are included.

Key words: *Mentha*, trichomes, leaf anatomy, stem anatomy, Argentina.

Introducción

El género *Mentha* L. (subfam. *Nepetoideae*, tribu *Mentheae*), originario de las regiones templadas de Europa y Asia, se encuentra distribuido en los 5 continentes (Harley & Brighton, 1977; Gobert et al., 2002). Su taxonomía es complicada dada la alta frecuencia de hibridación, la cantidad de especies poliploides y la gradual variación morfológica, tanto

intra- como interespecífica; ello se agudiza aún más en los híbridos ya que algunas de las poblaciones presentan caracteres predominantes de uno u otro progenitor (Harley & Brighton, 1977, Mabberley, 1997). Hasta el momento se han publicado unos 900 binomios, de los que se reconocen alrededor de 25 especies y varios híbridos (Harley & Brighton, 1977, Mabberley, 1997).

Recientes estudios filogenéticos realizados en la subfam. *Nepetoideae* (Kaufmann & Wink, 1994), proponen 13 clados que representarían a las tribus propuestas por Cantino (1992); la tribu *Mentheae* a su vez, necesitaría ser dividida en tres grupos (clados III-VIII; VIII y IX-XIII), quedando *Mentha* incluido en el clado IX junto a *Monarda* (Kaufmann & Wink, 1994).

A nivel infragenérico, se proponen 5 secciones: Sect. *Audibertia* (Benth.) Briq., *Eriodontes* Benth., *Pulegium* (Mill.) Coss & Germ., *Preslia* (Opiz) Harley y *Mentha* L. (Harley & Brighton, 1977); salvo las especies de la sect. *Mentha*, las restantes secciones no presentan problemas taxonómicos por carecer de híbridos interespecíficos (Shasany et al., 2000).

Mentha es introducido en América, con representantes de las sect. *Mentha* y *Pulegium* (Epling, 1939; Moldenke, 1944; Bailey, 1944; Abrams, 1951; Jørgensen & León-Yáñez, 1999; Brako & Zarucchi, 1993) y de la sect. *Audibertia* (Hickman, 1993). En la Argentina se han naturalizado 3 especies y dos híbridos: *M. citrata* Ehrh., *M. pulegium* L., *M. x piperita* L., *M. x rotundifolia* (L.) Hudson y *M. spicata* L. (Crespo, 1979; Pontiroli, 1993; Costaguta, 1999; Bonzani, 2004; <http://www.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/FA.asp>, 2006); una sexta entidad, *Mentha arvensis* L., es cultivada ampliamente en este país (Alonso, 2004) sin haber logrado naturalizarse hasta el momento.

Las dos secciones de *Mentha* presentes en Argentina se distinguen por caracteres diferenciales propios del cáliz, corola, inserción de los estambres, posición de las inflorescencias y forma y tamaño de hojas.

Desde el punto de vista anatómico, algunas especies de *Mentha* han sido tratadas en los clásicos trabajos de Solereder (1908) y Metcalfe & Chalk (1950); a partir de ellos, se ha ido adicionando nueva información sobre este género (Gilg & Brandt, 1926; Escalante, 1942; Claus & Tyler, 1968; Bonzani & Ariza Espinar, 1993; Muñoz Centeno et al., 1998; Martins, 2002; Martins & Martins, 2003), algunos de ellos sobre la base del análisis de materiales cultivados. Por otro lado, dada la importancia del género en la producción de aceites esenciales (monoterpenos), los tricomas glandulares

peltados son los que han llamado la atención a muchos autores quienes realizaron estudios de sus aspectos morfológicos, ontogénicos y fisiológicos (Amelunxen 1964, 1965, 1967; Clark & Menary, 1980; Turner et al., 1999, 2000, Mc Conkey et al., 2000).

El aceite esencial producido por las especies de este género, entre cuyos componentes principales se destacan el mentol, la mentona y la carvona, constituyen un importante recurso económico sustentable y son utilizados en la industria para la preparación de insecticidas, antisépticos, medicamentos, golosinas, confituras, licores y/o perfumes, entre otras (Claus & Tyler, 1968; Bruneton, 1991; Villar del Fresno, 1999; Bonzani 2004). A su vez, las especies de *Mentha* son tradicionalmente usadas en medicina folklórica en infusiones, por sus propiedades estimulantes, digestivas, carminativas, antiespasmódicas, antiinflamatorias, saporíferas, antihelmínticas (Ratera & Ratera, 1980; Rombi, 1991; Gupta, 1995; Ticli, 1998; Bonzani, 2004; Cantero et al., 2004; Barboza et al., 2006; Alonso, 1998, 2004) o en mezclas con "yerba mate", *Ilex paraguayensis* A. St.-Hil. (Código Alimentario Argentino, 2000) por sus características aromáticas. En el mercado herbolario argentino, se expenden estas hierbas como droga cruda, muchas veces con una inexacta identificación a nivel específico.

Dada la importancia que reviste el género en el mercado industrial así como su uso etnomédico y/o farmacéutico, se realiza en el presente trabajo un estudio anatómico integral y comparativo de los órganos aéreos de las especies de *Mentha* sect. *Mentha* y sect. *Pulegium* que crecen en Argentina con el objeto de 1) contribuir al conocimiento del género 2) valorar los caracteres diferenciales, 3) aportar herramientas para la identidad botánica a nivel específico ante controles de calidad.

Materiales y Métodos

Para analizar la anatomía de los órganos vegetativos se realizaron preparados permanentes de pequeñas secciones de hojas maduras y tallos que fueron fijados en FAA (formol, alcohol etílico y ácido acético, en proporción 3:1:1); se aplicaron las técnicas clásicas de deshidratación, inclusión en parafina, cortes

microtómicos de 10 a 14 mm, triple coloración y posterior montaje con bálsamo de Canadá (Johansen, 1940; D' Ambrogio de Argüeso, 1986). También se efectuaron cortes a mano alzada con material fresco, usualmente diafanizado con hipoclorito de sodio al 30% (Dizeo de Strittmatter's, 1973); ya montado en portaobjeto, previo enjuague con agua destilada, se procedió a la coloración. Para evidenciar paredes celulares y contenidos se efectuaron pruebas histoquímicas mediante la técnica de coloración directa (D' Ambrogio de Argüeso, 1986). Los colorantes utilizados fueron: safranina (cutícula, paredes lignificadas, núcleo y paredes celulares suberificadas), Sudán III y IV (aceites, grasas), iodo yoduro de potasio (almidón), "Fast green" (citoplasma). A *posteriori* se realizó el montaje en glicerina acuosa al 50 %.

Para el análisis epidérmico, se desprendió la epidermis de material vivo o de herbario; en este último caso, el material fue hidratado con agua caliente y unas gotas de detergente durante ca. 12 hs. Posterior a las pruebas histoquímicas, se montó con glicerina acuosa al 50%.

Los dibujos fueron realizados con microscopio óptico mediante el uso de cámara clara. Las fotomicrografías fueron tomadas con fotomicroscopio Axiophot Zeiss. Se empleó también el microscopio electrónico de barrido (MEB, JEOL JSM 35 CF del INSIBIO-CONICET, Tucumán); para ello se siguió la técnica de Gesterberger & Leins (1978), secado a punto crítico y finalmente baño de oro-paladio.

A continuación se cita el material estudiado, todos procedentes de Argentina:

Mentha sect. *Mentha*

M. arvensis. Prov. Córdoba: Ariza Espinar 3147 (CORD); Bonzani 62 (CORD).

M. citrata. Prov. Córdoba: Ariza Espinar 3420 & 3421 (CORD); Prov. Neuquén: Rossow 5594 (BAF); Prov. Tucumán: Ruiz Leal 2183 (LP); Prov. San Juan: Semper 479 (LIL).

M. spicata. Prov. Buenos Aires: Costaguta 83 (BAF); Prov. Córdoba: Bonzani 83 & 88 (CORD); Prov. La

Rioja: Hunziker & Cocucci 18149 (CORD); Prov. Mendoza: Ruiz leal 11539 (SI).

M. x piperita. Prov. Buenos Aires: Costaguta 66 (BAF); Prov. Córdoba: Bonzani 84 (CORD); Prov. Mendoza: Lillo 70030 (LIL); Prov. Neuquén: Rossow 5454 (BAF).

M. x rotundifolia. Prov. Buenos Aires: Costaguta 81 (BAF); Prov. Catamarca: Hunziker & Di Fulvio 17109 (CORD); Prov. Córdoba: Bonzani 87 & 93 (CORD); Prov. Mendoza: Lillo 326294 (LIL).

Mentha sect. *Pulegium*

M. pulegium. Prov. Buenos Aires: Costaguta 78 (BAF); Prov. Corrientes: Renisi s.n. (BAB 63730); Prov. Córdoba: Bonzani 86 (CORD), Subils & Bernardello 2427 (CORD); Prov. Mendoza: Lillo 292327 (LIL); Prov. Neuquén: Rossow 5212 (BAF).

Resultados

EPIDERMIS

Las especies analizadas presentan tricomas no glandulares y tricomas glandulares los que se describen a continuación:

Tricomas no glandulares

Son uni-pluricelulares, uniseriados o ramificados; en algunos casos, la base o tricopodio es pluriseriada. Las paredes celulares están ornamentadas con verrugas notables (Fig. 3 A), tenues (fig. 2 B) o carecen de ellas (Fig. 4 F). Se observan en hojas y tallos.

De acuerdo al número de células y ramificaciones se distinguen 3 tipos:

Tipo I. Simples unicelulares

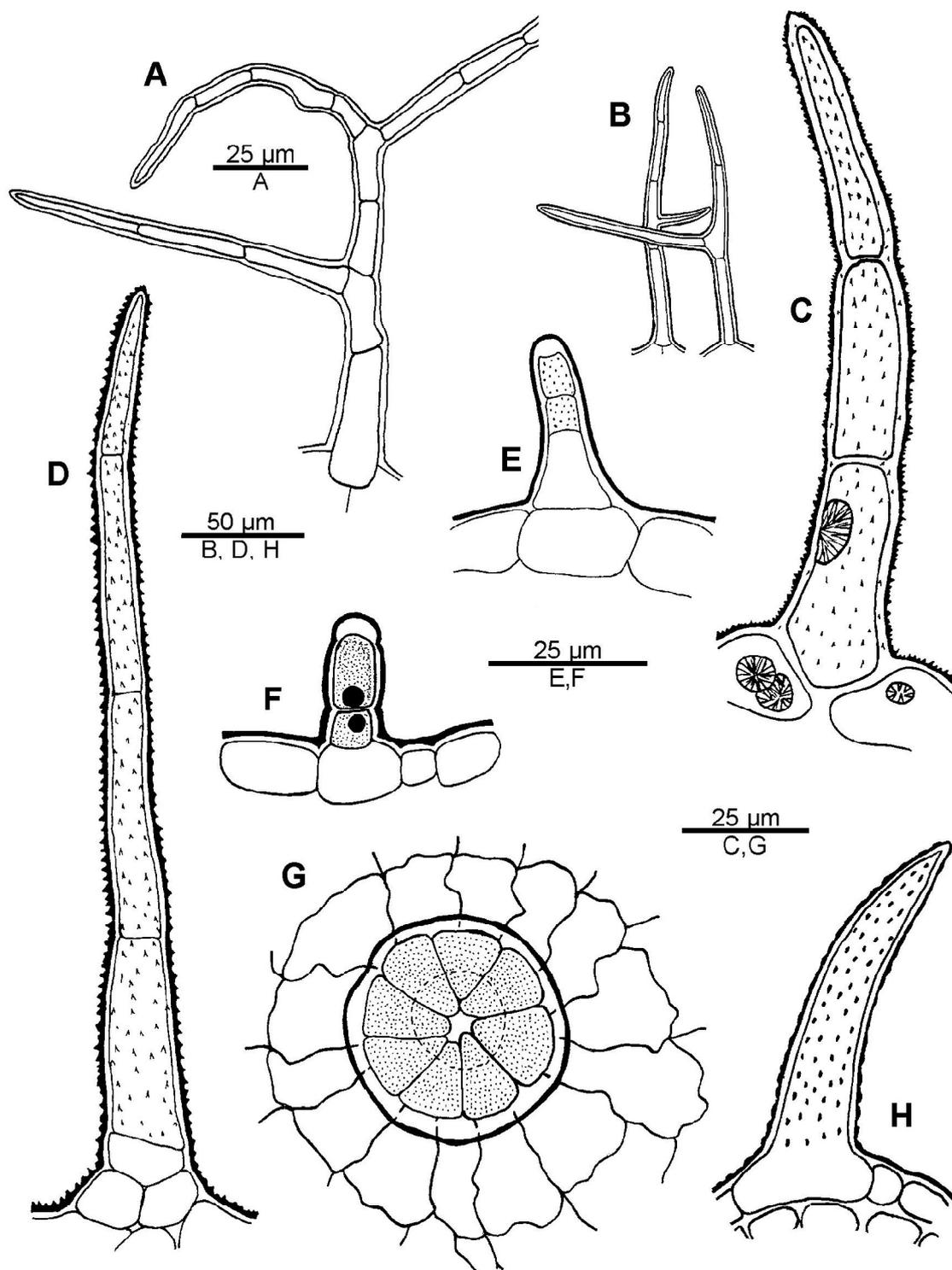
Histología: Cónicos, de base ensanchada, verrucosos o no, patentes o adpresos (Fig. 1H).

Distribución: Son escasos sobre los nervios foliares y tallos de *M. citrata*, *M. spicata* y *M. x piperita* y abundantes en las restantes especies.

Tipo II. Simples pluricelulares

Subtipo 1 (ST 1). Tricomas rígidos

Histología: Cónicos, 2-7-celulares, lisos o verrucosos, adpresos (Fig. 2 B) o patentes; la célula proximal puede



Tricoma glandular no capitado 3-celular; E: Tricoma glandular no capitado bicelular; G: Vista paradermal de tricoma glandular peltado (observense las células secretoras punteadas y células peribasales); H: Tricoma unicelular.

poseer forma de cuña o trapecio, de manera tal que se inserta entre 2-3 células basales (Fig. 1 C, 2 D) o elevada por un tricopodio de desarrollo variable, 2-5-celular (Fig. 1 D). Es común la presencia de esferocristales tanto en las células tricomáticas como en las basales.

Distribución: Son abundantes en *M. arvensis*, *M. pulegium* y *M. x rotundifolia*; escasos en las restantes.

Subtipo 2 (ST 2). Tricomas flexuosos

Histología: Cónicos, 4-9-celulares, paredes celulares no ornamentadas y flexibles que se colapsan con facilidad, poseen abundantes esferocristales en su interior; célula basal globosa (Fig. 4 F).

Distribución: Dominan en el hipofilo y tallos de *M. arvensis* entremezclados con otros tipos de tricomas.

Tipo III. Ramificados

Subtipo 3 (ST 3). Bifurcados

Histología: La bifurcación ocurre en las células centrales o cercanas al ápice (Fig. 1 B, 4 D).

Distribución: Son escasos sobre los nervios del envés foliar de *M. pulegium*, abundantes en *M. x rotundifolia*; en las restantes especies están ausentes.

Subtipo 4 (ST 4). Dendríticos

Histología: Poseen más de dos ramificaciones; su longitud y número de células es variable, llegando a medir hasta 1 cm (Fig. 1 A). Es común la presencia de proyecciones mamelonadas en algunas células, como así también la depresión de las paredes radiales. La cutícula, muy ornamentada, presenta verrugas notorias (Fig. 3 A).

Distribución: Son abundantes en la epidermis de los nervios del envés foliar de *M. x rotundifolia*.

Tricomas glandulares

Son pluricelulares, de pared lisa y variable en cuanto al número de células secretoras. Pueden ser capitados o no.

Tipo IV. No capitados

Histología: El cuerpo es siempre uniseriado 3-5-celular, de ca. 42 µm, con células cilíndricas, a excepción de la célula próxima a la basal, de forma

trapezoidal. El número de células secretoras es variable; por lo general corresponde a las dos apicales en las que se observan conspicuos núcleos; el contenido celular se tiñe fuertemente con Sudán IV lo que evidenciaría la presencia de sustancias lipofílicas. La secreción se acumula en un espacio subcuticular formado entre las células secretoras y la cutícula, para ser liberada posteriormente por ruptura de esta última (Fig. 1 F, E; 4 A; 6 D).

Distribución: Son numerosos en tallos y hojas de *M. x rotundifolia*, *M. arvensis* y *M. pulegium* y escasos en *M. spicata*, *M. citrata* y *M. x piperita*.

Tipo V. Capitados de cabezuela unicelular

Histología: Presentan pie bicelular conformado por una célula basal y una célula del cuello; la cabezuela es unicelular. Abundan sobre ambas superficies foliares y tallos aún en brotes tiernos. Según la forma de la cabezuela se distinguen las siguientes variantes:

Subtipo 5 (ST 5).

Cabezuela cilíndrica, unas dos veces más larga que ancha, generalmente inclinada.

Secreción: El contenido de estos tricomas es acuoso con abundantes esferocristales, no se observan gotas lipofílicas. La cabezuela carece de espacio subcuticular, por lo tanto la secreción se realiza a través de poros en la cutícula (Fig. 4 E, 6 C).

Distribución: En la epidermis de los nervios foliares, más abundantes en hipofilo y aristas de los tallos de todas las especies estudiadas.

Subtipo 6 (ST 6).

Cabezuela globosa, erecta o inclinada; célula del cuello isodiamétrica.

Secreción: El contenido celular consiste en gotas lipofílicas y cristales en vacuolas. No hay en estos tricomas un espacio subcuticular definido, acumulándose la totalidad del contenido en la misma célula secretora que se elimina, posteriormente, a través de poros cuticulares (Fig. 4 G).

Distribución: Abundantes en hojas y tallos de *M. arvensis*, *M. pulegium* y *M. x rotundifolia*; escasos en las restantes especies.

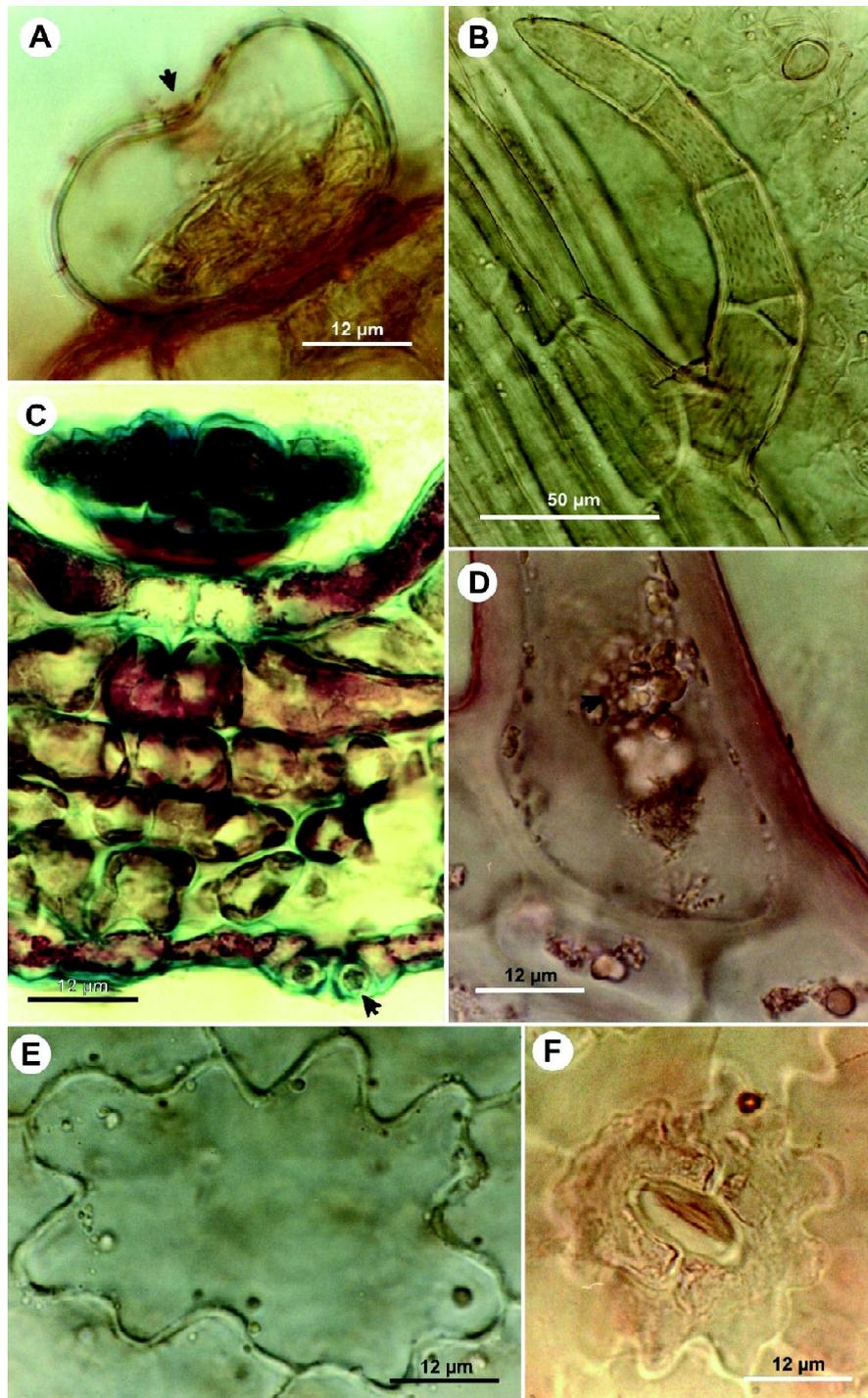


Fig. 2. Fotomicrografías de epidermis y tricomas. A: *M. x rotundifolia* (Bonzani 83); B, E: *M. x piperita* (Bonzani 84); C: *M. spicata* (Bonzani 83); D, F: *M. pulegium* (Bonzani 86). A: Tricoma glandular peltado (obsérvese el poro de ruptura de la cutícula); B: Tricoma pluricelular adpreso; C: Tricoma glandular peltado en depresión (obsérvese el parénquima asociado); D: Cristales en células proximal y basal de tricoma simple; E: Célula epidérmica propiamente dicha de hipofilo; F: Estoma diacítico de hipofilo.

Subtipo 7 (ST 7).

Cabezuela globosa estipitada debido a la prolongación de la cabezuela hacia la base, en forma angosta o estípite, y, del mismo ancho que la célula del cuello.

Secreción: El contenido es lipofílico, las gotas a veces están emulsionadas; también se observan cristales en vacuolas y un conspicuo núcleo. En las cabezuelas turgentes se aprecia un espacio subcuticular incipiente; no obstante, la secreción se realiza por poros (Fig. 4 C, 6 D).

Distribución: Abundantes en tallos y hojas de *M. x rotundifolia* y *M. arvensis*; escasos en las restantes especies.

Tipo VI. Capitados de cabezuela pluricelular peltados

Histología: Presentan una célula basal similar a las restantes epidérmicas, una célula del cuello de forma trapezoidal deprimida y una cabezuela peltada de ca. 60µm, con 8 células secretoras dispuestas radialmente en un solo estrato (Fig. 2 A, C; 4 B; 7 D, E). Se ubican en depresiones de la epidermis, de tal manera que aparentan ser sésiles en vista paradermal. Alrededor de célula basal se dispone, en forma radiada, una corona de 9-14 células epidérmicas (células peribasales); estas células difieren ligeramente, en tamaño y forma, del resto de las células epidérmicas propiamente dichas (Fig. 1 G). Según el estado de desarrollo, estos tricomas se observan diferentes. Así, antes de la secreción las células secretoras presentan un denso citoplasma con conspicuos núcleos y notables leucoplastos, también presentes en las células del cuello y basal; en esta instancia, la cabezuela posee forma de copa, en cuya superficie cóncava se observa la cutícula adherida a la pared de las células secretoras (Fig. 2 C; 7 D). Posteriormente, el producto de la secreción migra a través de la pared celular a un espacio subcuticular que primeramente ocupa el centro de la cabeza glandular; durante esta fase, la cutícula se hincha y se eleva en forma de cúpula, conteniendo el material secretado entre la pared celular y la cutícula mientras que las paredes radiales y tangenciales de la célula

basal y célula del cuello se observan fuertemente cutinizadas (Fig. 4 B). Al final se produce el mecanismo de dehiscencia, mediante el cual el depósito de aceite esencial es liberado. El fenómeno comienza con la ruptura de la cutícula en un punto o poro, que se extiende en toda la región diametral de la cúpula (Fig. 2 A; 7 E). Las células secretoras quedan expuestas, a la vez que comienzan a degradarse. La secreción consiste en una mezcla de gotas lipídicas (monoterpenos) y agua. El mesofilo asociado a los tricomas peltados se observa modificado; hacia el epifilo, las células en empalizada se redondean y, al igual que las células del parénquima esponjoso, presentan notables cloroplastos y conspicuos granos de almidón (Fig. 2 C). Algo similar ocurre en los tallos donde estos tricomas se hallan en contacto con el parénquima de la corteza (Fig. 4 B).

Distribución: Son los más numerosos y están presentes en los órganos aéreos maduros de todas las especies estudiadas. En las hojas se ubican en depresiones siendo más abundantes en el hipofilo en tanto que en el tallo sólo se distribuyen entre las aristas.

Indumento

El indumento no siempre es el mismo en toda la planta; en general, el epifilo suele tener menor densidad tricomática que el hipofilo y/o poseer distintos tipos de tricomas.

A continuación se describen los diferentes tipos de indumentos para las especies de *Mentha* estudiadas.

Glabrescente: La superficie del órgano se observa con escasísimos tricomas simples de Tipo I y II (ST 1). Presente en estructuras vegetativas de *M. citrata*, *M. x piperita*.

Glanduloso: Formado casi exclusivamente por tricomas glandulares Tipos IV y V, en estructuras vegetativas de *M. citrata*, *M. x piperita* y *M. spicata* (Fig. 3 E).

Pubescente: Superficie del órgano cubierto de un vello corto y fino, compuesto principalmente por tricomas Tipo I y Tipo II (ST 1), como ocurre en el epifilo de *M. arvensis*, *M. pulegium* y *M. x rotundifolia* (Fig. 3 B).

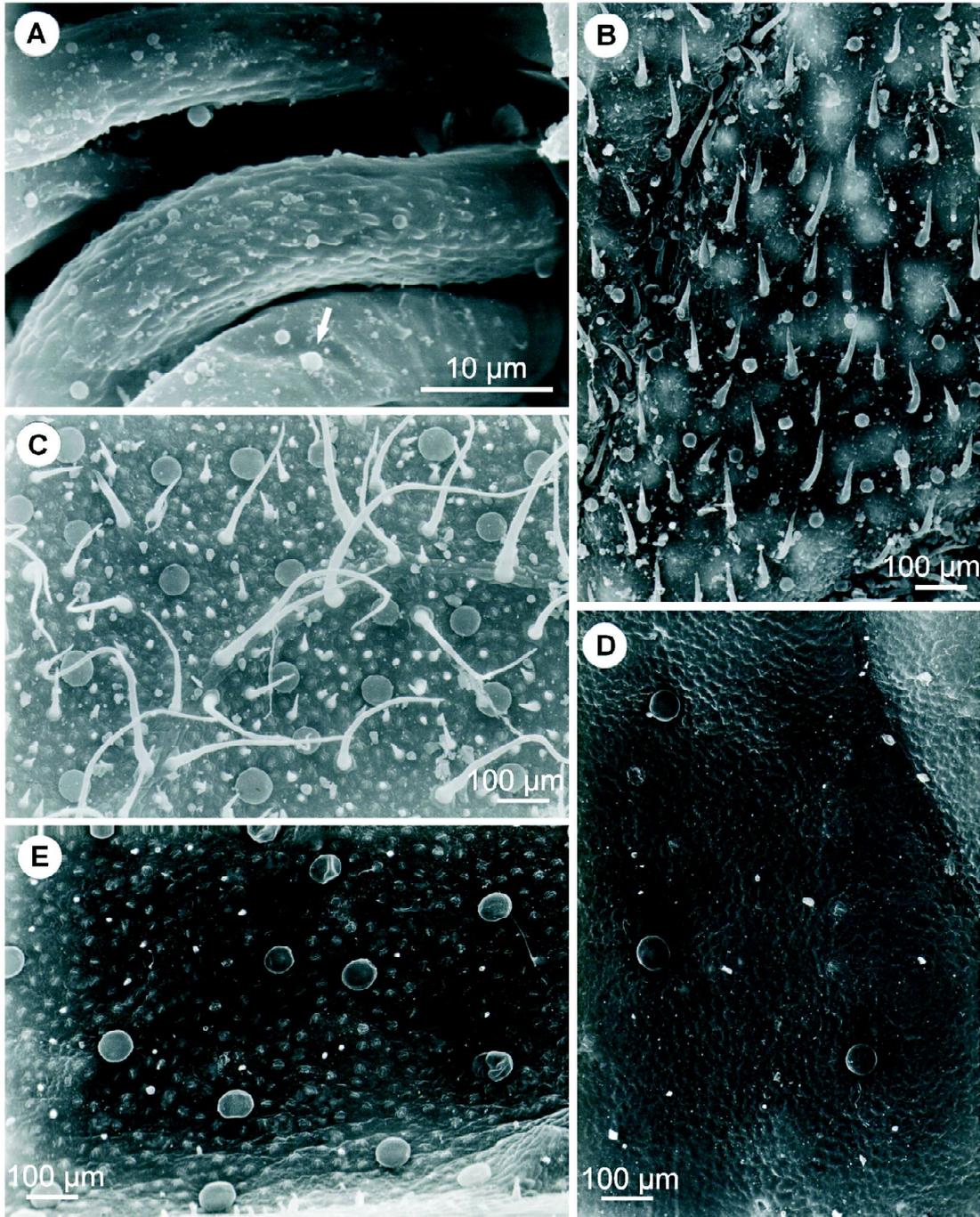


Fig. 3. Fotomicrografía de tricomas e indumento tomadas con MEB A: *M. x rotundifolia* (Bonzani 87); B: *M. pulegium* (Bonzani 86); C: *M. arvensis* (Ariza Espinar 3147), D: *M. spicata* (Bonzani 83); E: *M. x piperita* (Bonzani 84). A: Detalle de la ornamentación de tricoma ramificado mostrando las verrugas; B: Indumento glanduloso pubescente; C: Indumento lanuginoso; D: Indumento glanduloso en epidermis adaxial; E: Indumento glanduloso en epidermis abaxial.

Lanuginoso: Abundantes tricomas de Tipo II (ST 1 y ST 2), observados en el envés foliar de *M. arvensis* (Fig. 3 C).

Tomentoso: Integran este indumento tricomas ramificados Tipo III (ST 3) en *M. pulegium* y Tipo III (ST 4) en *M. x rotundifolia*, acompañados de tricomas simples Tipo I y II (ST 1), densamente distribuidos en el hipofilo y tallos de ambas especies.

ANATOMÍA FOLIAR

En vista superficial el indumento del epifilo de *M. citrata*, *M. x piperita* y *M. spicata* es glanduloso, mientras que el hipofilo a pesar de tener diminutos tricomas simples en los nervios, tiene aspecto glabrescente; pubescente en las restantes especies, siendo el envés lanuginoso en *M. arvensis* y tomentoso en *M. x rotundifolia* y *M. pulegium*.

Las hojas son anfistomáticas con estomas diacíticos. *Mentha pulegium* presenta similar frecuencia estomática en ambas epidermis mientras que en las restantes especies, son muy escasos en el epifilo. En el complejo estomático se destaca una de las células acompañantes por ser más desarrollada que la otra, aunque ambas poseen paredes celulares anticlinales levemente onduladas (Fig. 2 F).

En todas las especies se distinguen claramente dos modelos epidérmicos que caracterizan a cada superficie foliar. En el epifilo, las células epidérmicas propiamente dichas son isodiamétricas, de paredes onduladas con lóbulos anchos (Fig. 2 E, 5 H) mientras que en el hipofilo, las células son irregulares, con paredes también onduladas pero con las sinuosidades más estrechas (Fig. 5 J, K).

En corte transversal, el contorno de la lámina es plano en *M. pulegium* (Fig. 5 M); ampollosa con áreas de resalto correspondientes a los nervios en las restantes especies (Fig. 5 K, N). Borde ligeramente revoluto. En la zona del nervio medio, la superficie adaxial con escotadura marcada en todas las especies a excepción de *M. arvensis* en donde se observa ligeramente cóncava. La superficie abaxial es prominente, subcircular o a modo de arco en casi todas las especies (Fig. 5 A, C, D, F), salvo en *M.*

pulegium (Fig. 5 B) donde la convexidad hacia abaxial es poco acentuada.

La epidermis adaxial es unistrata, con células grandes, rectangulares, cutícula delgada y lisa (Fig. 5 G, I); estomas a nivel de las células epidérmicas. Epidermis abaxial con células menores y de igual forma que las de la epidermis adaxial, cutícula delgada y lisa, ligeramente estriada en los nervios en la mayoría de las especies (Fig. 5 G, I), algo más gruesa en *M. x rotundifolia* y *M. pulegium*; estomas elevados (Fig. 2 C).

El mesofilo es dorsiventral (Fig. 7 D). Parénquima en empalizada unistrato con células grandes que ocupan poco menos o la mitad del mesofilo (Fig. 5 I); en la mayoría de las especies se disponen en un tejido compacto, salvo en *M. pulegium* donde se observan notables espacios celulares (Fig. 5 G). Parénquima esponjoso laxo con 3-5 estratos celulares

En el nervio medio la hipodermis es colenquimatosa, con 1-4 estratos hacia adaxial y 1-2 hacia abaxial. Parénquima muy desarrollado hacia el hipofilo (Fig. 5 A-F); en *M. pulegium* las células se ordenan dejando espacios intercelulares conspicuos a modo de un aerénquima. El desarrollo del nervio medio hacia abaxial depende de la cantidad de clorénquima y parénquima. En *M. x piperita* (Fig. 5 D), *M. citrata* (Fig. 5 E), *M. x rotundifolia* (Fig. 5 F) y *M. pulegium* (Fig. 5 B), ambos tejidos están en proporción; en cambio, en *M. arvensis* y *M. spicata* es el parénquima el tejido más abundante (Fig. 5 A, C). Los hacecillos centrales pueden o no tener una vaina parenquimática completa, en cambio en los hacecillos laterales la vaina los rodea completamente.

Es frecuente la presencia de esferocristales aislados o en grupos entre las células epidérmicas y del mesofilo, siendo muy abundantes en *M. arvensis*, *M. pulegium*, *M. x rotundifolia* y escasos en las restantes especies (Fig. 7 A, C).

ANATOMÍA CAULINAR.

Estructura primaria

En corte transversal, el tallo es de contorno cuadrangular, con los vértices prominentes en la mayoría de las especies (Fig. 6 A) y escasamente marcados en *M. pulegium*. Epidermis unistrata, células rectangulares a isodiamétricas, con paredes radiales

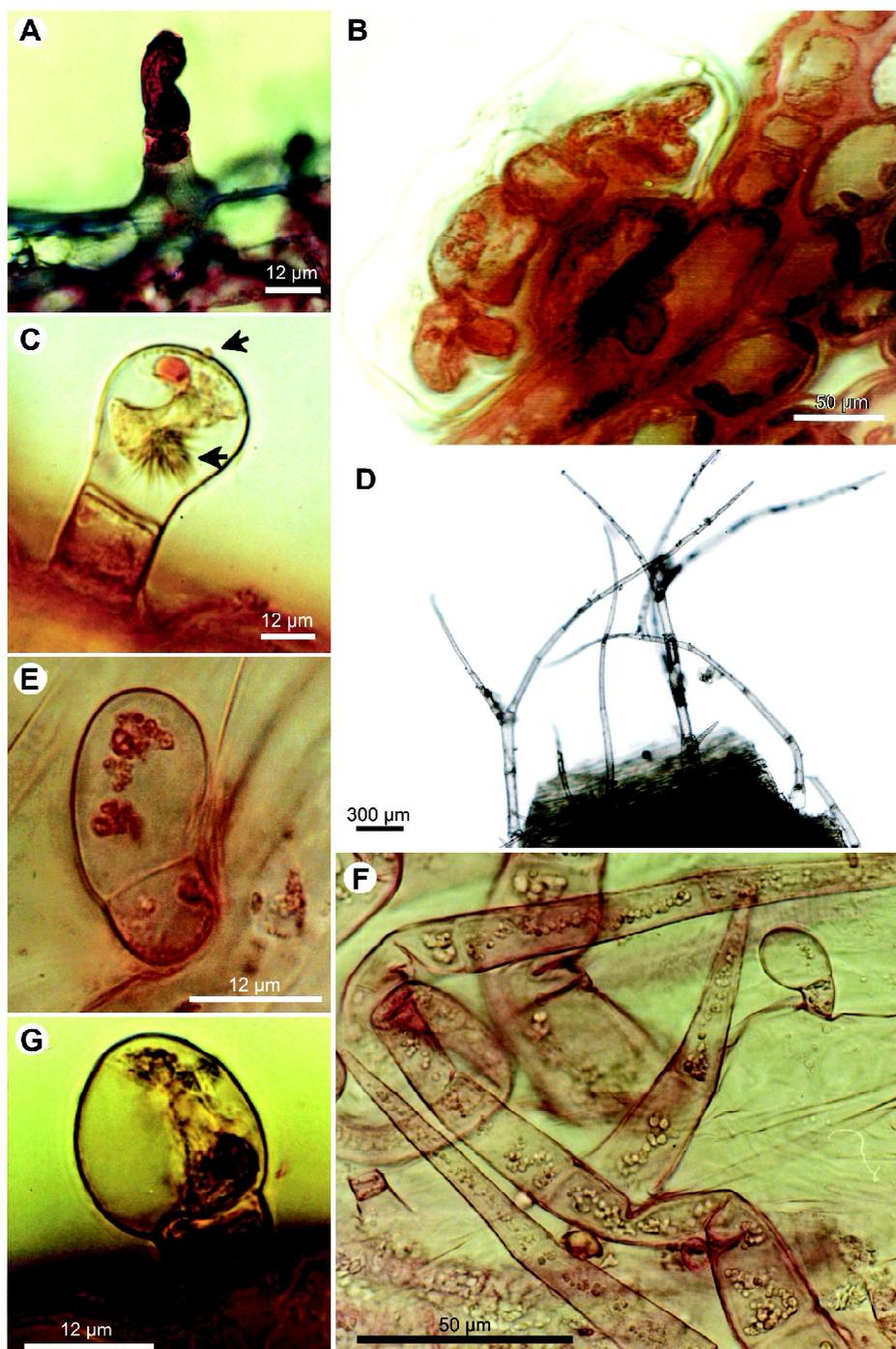


Fig. 4. Fotomicrografías de tricomas. A: *M. arvensis* (Bonzani 62); B: *M. x piperita* (Bonzani 84); C, D, G: *M. x rotundifolia* (Bonzani 87); E: *M. pulegium* (Subils & Bernardello 2427). A: Tricoma glandular no capitado, nótese las células apicales con contenido; B: Tricoma glandular peltado con espacio subcuticular y célula del cuello con paredes cutinizadas; C: Tricoma glandular de cabezuela unicelular estipitada con contenido lipofílico y cristales; D: Tricoma bifurcado; E: Tricoma glandular de cabezuela unicelular cilíndrica (nótese los esferocristales); F: Tricomas flexuosos con esferocristales en su interior; G: Tricoma glandular de cabezuela unicelular globosa con contenido lipofílico.

rectas y tangenciales convexas (Fig. 6 B); el contenido celular se observa rojizo en *M. x piperita* y *M. spicata* por la presencia de pigmentos antocianicos. En todas las especies la cutícula es gruesa y levemente estriada en los vértices. Escasos estomas con células oclusivas algo elevadas de la superficie epidérmica.

En las especies con indumento tomentoso, los tricomas no glandulares están presentes en todo el contorno, siendo más abundantes en los vértices; los glandulares son más frecuentes hacia los lados.

En la corteza, la hipodermis es colenquimatoso; unistrata hacia los lados y pluriestratificada en los vértices ocupando toda la costilla (5-10 estratos, el primero laminar y angular los restantes). Tanto los 3-4 estratos de clorénquima como 3-5 de parénquima que subyacen, se disponen laxamente en todas las especies, siendo más notorio en *M. pulegium* donde se observa un verdadero aerénquima (Fig. 6 B). El límite más interno de la corteza está diferenciado por un estrato de células grandes y rectangulares que, a menudo, constituyen una vaina amilífera (va), puesta en evidencia con Lugol (Fig. 6 D, E).

En el cilindro vascular, entre la vaina amilífera y los tejidos de conducción se observa una capa de células parenquimáticas muy pequeñas (1-2 estratos), sin contenido que se interpreta como periciclo (p) (Fig. 6 D). Los tejidos vasculares, organizados en 4 grandes haces colaterales y separados por parénquima, determinan una eustela. Médula abundante con células redondeadas de paredes algo engrosadas y puntuaciones. Las células parenquimáticas que rodean el xilema, presentan sus paredes esclerificadas.

Estructura secundaria

Indumento y coloración de la epidermis similar a la estructura primaria. No se observa peridermis, aún en las porciones basales del tallo. Tanto la epidermis como los tejidos corticales se presentan íntegros aunque las células se disponen compactas y a menudo aplastadas por el crecimiento de los tejidos conductores secundarios. Endodermis con banda de Caspary (Fig. 7 E). El periciclo se esclerifica parcialmente presentando grupos de 1-3 fibras (fp) aisladas o bien en un círculo unistrato (Fig. 7

B). Tejidos vasculares continuos, con un notable incremento de fibras esclerenquimáticas entre los vasos del xilema y el parénquima medular subyacente. Es común encontrar en la corteza y xilema esferocristales, tanto en la estructura primaria como secundaria.

Discusión y conclusiones

Tricomas.- La presencia de los tricomas no glandulares simples y ramificados es común en la familia Lamiaceae (Solereder, 1908; Metcalfe & Chalk, 1950, 1979; Cantino, 1990) y están presentes en *Mentha* sin excepción. En *M. pulegium* predominan los tricomas no glandulares simples pluricelulares en ambas superficies foliares, además de los tricomas bifurcados ubicados sobre los nervios del hipofilo. Los primeros habían sido ya reportados por Muñoz Centeno et al. (1998), no así los bifurcados, que son característicos de unas pocas especies como *M. pulegium* y *M. x rotundifolia*. Estos mismos tricomas fueron también encontrados en el híbrido *Mentha pulegium x Mentha spicata* (Martins & Martins, 2003), lo que hace suponer que tal híbrido los adquiere de su parental *M. pulegium* ya que están ausentes en *M. spicata*. Más raro aún son los tricomas dendríticos presentes sólo en *M. x rotundifolia*, los que sumados a los tricomas simples de las superficies foliar y caulinar dan a esta especie su particular aspecto tomentoso.

La morfología de los tricomas glandulares, con algunas variantes en el número de células del pie y de la cabezuela secretora, son comúnmente descriptos para muchos géneros de esta familia (Amelunxen, 1965; Bosabalidis & Tsekos, 1984; Werker et al., 1985; Hanlidou et al., 1991; Turner et al., 2000; Martins & Martins, 2003). *Mentha* sect. *Mentha* y sect. *Pulegium* se caracterizan por poseer tricomas con un breve pie bicelular y cabezuela unicelular o, lo que es más llamativo, pluricelular, con 8 células secretoras, paralelas y dispuestas en un solo círculo. Todas estas variantes han sido observadas en las especies aquí tratadas, siendo imposible diferenciarlas sólo por este carácter.

Los apéndices tricomáticos secretores Tipo IV han sido denominados en este tratamiento tricomas no capitados, ya que su cuerpo está formado por 2-3-

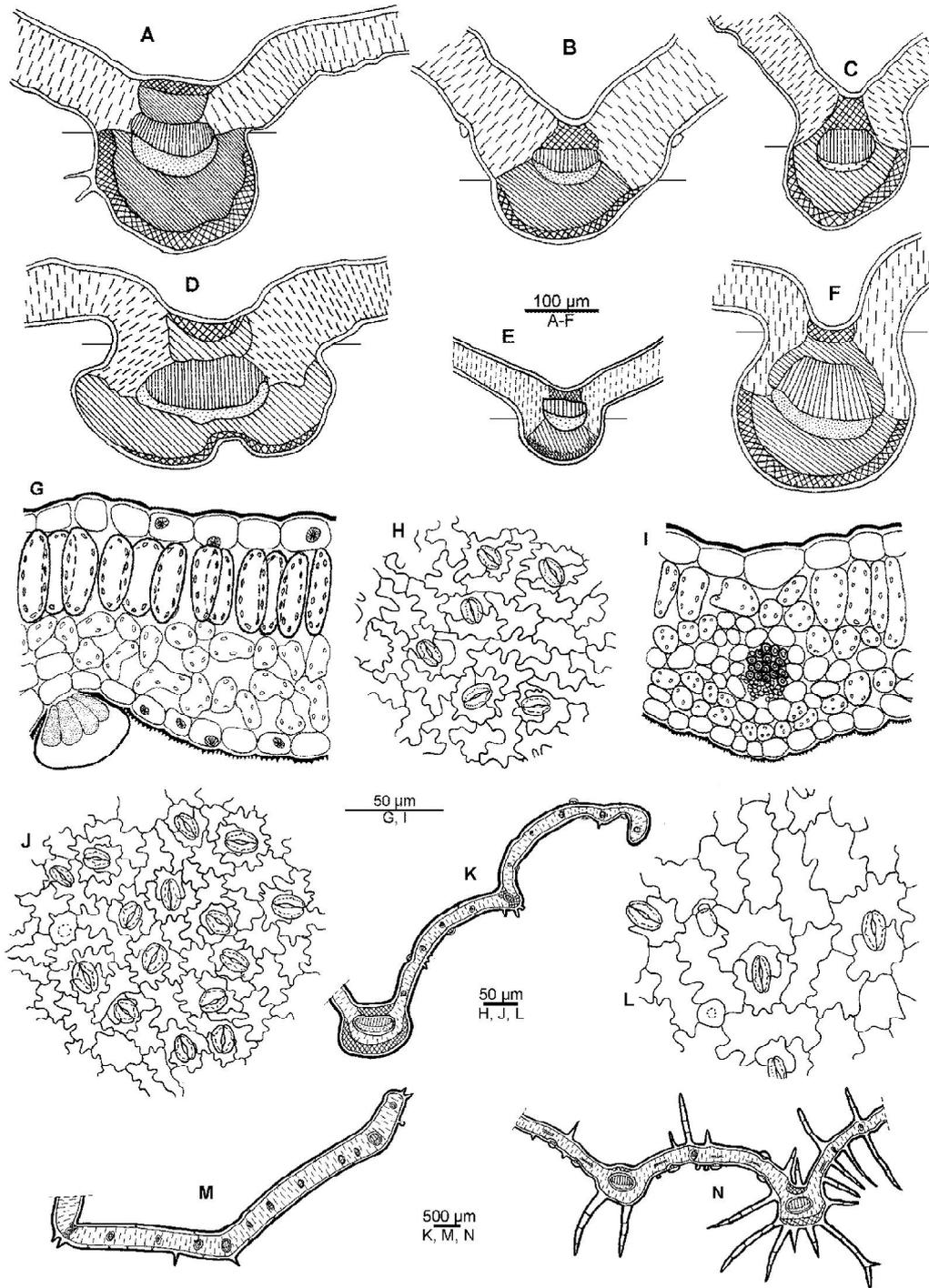


Fig. 5. Anatomía foliar. A: *M. arvensis* (Bonzani 62); B, G: *M. pulegium* (Bonzani 86); C: *M. spicata* (Bonzani 83); D: *M. x piperita* (Bonzani 84); E: *M. citrata* (Ariza Espinar 3420); F: *M. x rotundifolia* (Bonzani 93); L, M: *M. pulegium* (Rossow 5212); J, N: *M. x rotundifolia* (Costaguta 81); H, K: *M. spicata* (Costaguta 83). A-F: Esquemas de nervio medio; G: Detalle de mesofilo dorsiventral; H, J, L: Modelos epidérmicos. I: Detalle de mesofilo (hacecillo lateral con vaina parenquimática); K, M, N: Contornos de lámina.

células secretoras alineadas, sin una cabezuela diferenciada. Similares tricomas han sido mencionados para el género *Calamintha* Mill. (Hanlidou et al., 1991) y *Salvia* (Corsi & Bottega, 1999). En *Mentha*, aunque presentes en todas las especies analizadas, son más abundantes en el hipofilo en combinación con el indumento tomentoso.

Los tricomas capitados de cabezuela unicelular (Tipo V), han sido aquí clasificados en tres subtipos teniendo en cuenta fundamentalmente la forma de su cabezuela (ST 5, 6, 7), además del contenido y modo de secreción. El subtipo 5 (Fig. 4 E), de acuerdo a las pruebas histoquímicas realizadas, secreta sustancias hidrofílicas y se observan en abundancia en las venas del hipofilo. Nuestras observaciones coinciden con las de Bruni & Modenessi (1983) para *Thymus vulgaris* L., los que reportan la presencia de mucílago y agua en los mismos tricomas y con las de Werker et al. (1985) para otros géneros de Lamiaceae, quienes observan estos tricomas siempre en relación al floema. El subtipo 6 (Fig. 4 G) aparece distribuido en casi toda la planta y produce y acumula sustancias hidrofílicas y lipofílicas claramente observables en la cabezuela; esta secreción se elimina a través de poros de la cutícula mediante un mecanismo similar al reportado por Werker et al. (1985) para *Rosmarinus officinalis* L. Asimismo, el subtipo 7 (Fig. 4 C) produce también los dos tipos de sustancias al que se adiciona un notable depósito de cristales de diosmina en la fase acuosa. En este caso, el mecanismo de secreción, difiere del anterior. Si bien es a través de un poro cuticular, existe un delgado espacio subcuticular donde se deposita primero y se elimina enseguida, gradualmente y en forma de gotas. Este tipo de tricoma -es decir con cabezuela estipitada, con fase lipofílica, con fase acuosa y cristales de diosmina y con secreción en gotas-, es descrito por primera vez para *Mentha*.

Respecto de la maduración de los tricomas de cabezuela unicelular (Tipo V), Werker et al. (1985) manifiestan, para otros géneros de Lamiaceae, que estos tricomas comienzan y terminan su actividad cuando la hoja aún es joven. Esta situación no ocurre en *Mentha* ya que hemos observado que tales tricomas

están en plena actividad secretora en tallo y hojas maduras; lo mismo fue señalado por Asenso et al. (1995) para *Leonotis leonurus* (L.) R. Br. Entonces, en *Mentha* a la madurez de los órganos, la secreción se realiza no sólo por los tricomas peltados (Tipo VI), los que ya han completado su desarrollo, sino también por los de Tipo V.

La mayoría de los autores que abordaron el estudio y desarrollo de los tricomas peltados en diferentes géneros de Lamiáceas (Fahn, 1979, 1988; Azizian et al., 1982; Bosabalidis & Tsekos, 1982; Cantino, 1990), coinciden en una estructura básica y constante como la aquí descrita; el único carácter variable lo constituye el número de células secretoras, siendo en general de 8 para *Mentha* (Amelunxen, 1967; Fahn, 1979, 1988; Turner et al., 2000; Muñoz Centeno et al., 1998). Un caso particular es el reporte de Martin (2002), quien observó un número de 12 células secretoras dispuestas en 2 círculos concéntricos para *M. spicata* y para el híbrido *M. spicata* x *M. x suaveolens*.

A pesar de la variación en el número de células secretoras, los tricomas peltados son considerados como el sitio primario de la biosíntesis de los aceites esenciales en Lamiaceae (Croteau, 1986; Gershenzon et al., 1989). En *Mentha*, las células epidérmicas peribasales se observan con paredes ligeramente más cutinizadas que el tejido restante y en número variable de 9 a 14. Según Gavalas et al. (1998), estas células peribasales actúan como coadyuvante de la función secretora transportando los productos de la fotosíntesis desde el mesofilo hacia las células de la cabezuela. Asimismo, la cutinización de las paredes laterales observada en las células del cuello, contribuye a un mejor soporte cuando el volumen del tricoma aumenta durante la formación del espacio subcuticular, reporte dado para *Origanum* (Bosabalidis & Tsekos, 1982, 1984); según Gersbach (2002), esta cutinización actuaría además como una barrera para impedir el movimiento intercelular de la secreción.

Anatomía foliar.- La lámina es anfistomática; en *M. pulegium* la densidad estomática de ambas epidermis es similar, a diferencia de las restantes especies donde

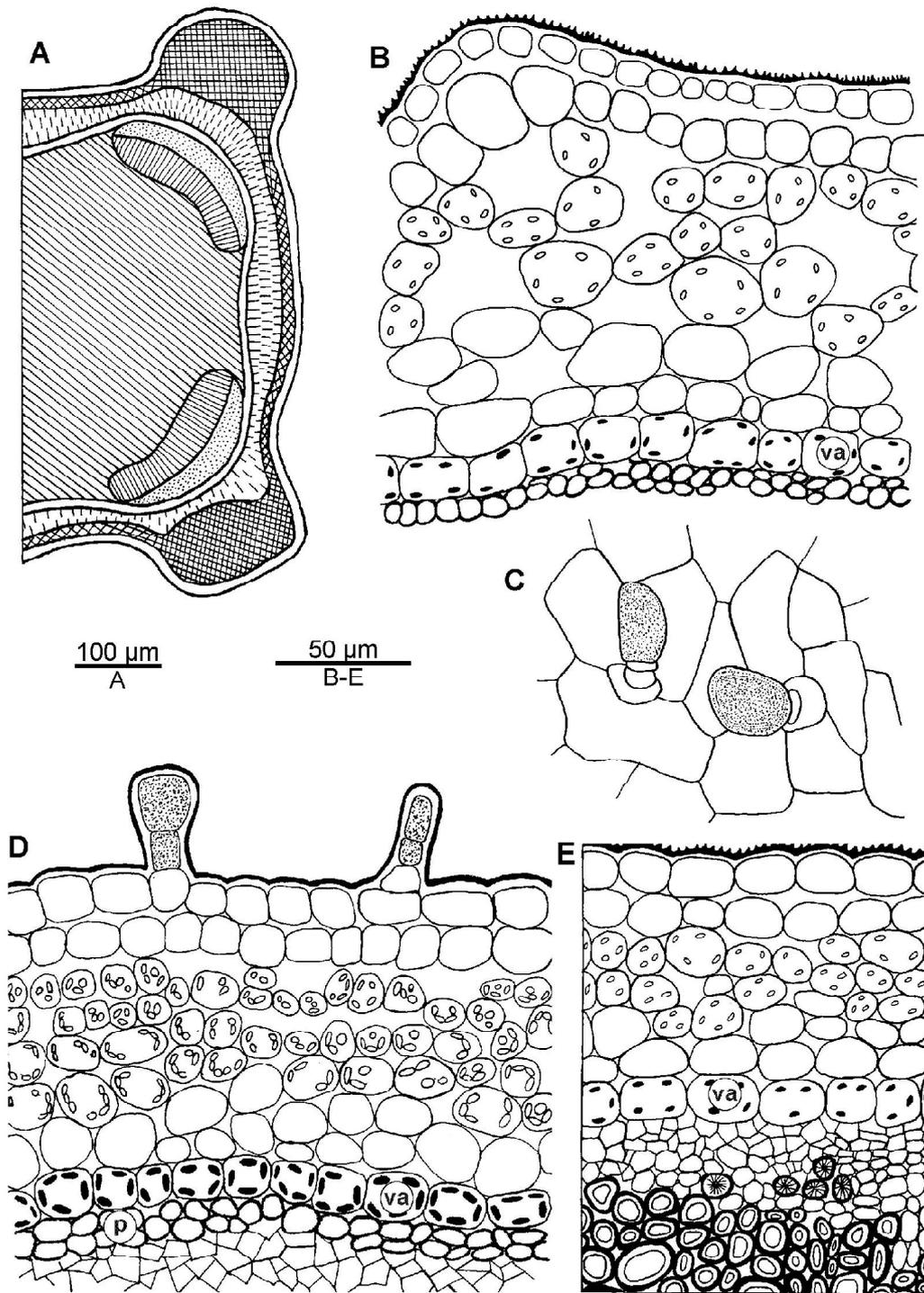


Fig. 6. Anatomía caulinar. *M. arvensis* (Bonzani 62); B: *M. pulegium* (Bonzani 86), C: *M. x piperita* (Rossow 5454); D: *M. spicata* (Bonzani 83), *M. x rotundifolia* (Bonzani 93). A: Esquema de transcorte por tallo; B: Detalle de la corteza con aerénquima y vaina amilífera; C: Epidermis caulinar con tricomas glandulares; D: Detalle de corteza con vaina amilífera (va) y periciclo (fp); E: Detalle de transcorte por tallo con vaina amilífera y esferocristales en el floema.

la presencia de los estomas es insignificante en el epifilo. La morfología del estoma corresponde al tipo diacítico, según la clasificación de Wilkinson (1979) y Cantino (1990) para Lamiaceae. Sin embargo, existe un reporte de estomas anomocíticos para el híbrido *Mentha pulegium* x *Mentha spicata* (Martins & Martins, 2003).

Para el género, el mesofilo es dorsiventral en concordancia con lo reportado por Martins (2002), con igual arquitectura en sus tejidos. Hace excepción *M. pulegium* por poseer tejidos muy laxos (aerénquima) tanto en mesofilo como en nervio medio, en respuesta al ambiente donde habita. En menor grado, esta variación se presenta en *M. citrata* y *M. x piperita*.

Una situación que merece destacarse es el arreglo de los tejidos subyacentes a la posición del tricoma peltado observándose una modificación del mesofilo. Tal modificación consiste en un cambio de forma de las típicas células en empalizada, adquiriendo aspecto redondeado y aumento del número de cloroplastos y granos de almidón; esta particularidad fue también descrita para *Origanum* (Bosabalidis & Tsekos, 1982) acompañada por otros cambios ultraestructurales (ordenamiento de microcuerpos y mitocondrias), lo que fue asociado a procesos de fotorespiración (Frederick et al., 1975).

Anatomía caulinar.- Son escasos los trabajos referidos a la anatomía de tallo de *Mentha*. Según Metcalfe & Chalk (1950), en la mayoría de las entidades de Lamiaceae los tallos poseen 4 ángulos colénquimáticos. No obstante ello, en *Mentha*, según nuestras observaciones, el ángulo colénquimático varía en desarrollo; así, los límites extremos se observan en *M. x rotundifolia* donde está más desarrollado a diferencia de *M. pulegium* donde se presenta débilmente marcado. Este carácter es, al parecer, constante en *M. pulegium* ya que existen reportes previos sobre el mismo (Muñoz Centeno et al., 1998).

El arreglo del parénquima cortical demuestra una relación histológica con el hábitat de la especie. Así, *M.*

pulegium desarrolla un aerénquima cortical muy notorio que le permite mantener el órgano a flote en las zonas inundables donde crece habitualmente. Por su parte, en las restantes especies que crecen en hábitat mesofítico, la corteza es más homogénea con aerénquima menos desarrollado (*M. x piperita* y *M. citrata*) o casi ausente (*M. x rotundifolia*, *M. spicata* y *M. arvensis*).

La presencia de una endodermis bien diferenciada y, a menudo, con bandas de Caspary ha sido observada en *Mentha* al igual que para otros géneros de Lamiaceae (Metcalfe & Chalk (1950, 1979; Muñoz Centeno et al., 1998), confirmándose además la presencia de un periciclo esclerenquimático más o menos desarrollado en todas las especies estudiadas.

Los esferocristales en los tejidos caulinar y foliar son comunes en esta familia (Metcalfe & Chalk, 1979, Bonzani & Ariza Espinar, 1993; Barboza et al., 2001, Martins & Martins, 2003). La naturaleza química de estos cristales fue erróneamente consignada como cristales de hesperidina (Solereider, 1908; Metcalfe & Chalk, 1950); fue Hegnauer (1966) quien dilucidó que, en realidad, se trataba de esferocristales de diosmina. En el caso particular de *M. x rotundifolia*, se pudo comprobar químicamente que los cristales observados corresponden a flavonoides de la línea metabólica de la diosmina (Bonzani et al., 2004). Estas estructuras cristalinas son muy llamativas no sólo por su tamaño sino también por el color y la forma que adquieren en su deposición. En las especies aquí analizadas, los cristales están presentes desde el mesofilo, corteza, tejidos vasculares hasta la epidermis incluyendo las células de los tricomas no glandulares y glandulares, destacándose particularmente en *M. arvensis*, *M. pulegium* y *M. x rotundifolia* por su abundancia.

Desde el punto de vista taxonómico, algunos caracteres (tipo de mesofilo, grado de desarrollo y distribución de los tejidos en el tallo) pusieron en evidencia una gran homogeneidad a nivel genérico. Por su parte, el indumento, los tipos de tricomas, la abundancia de los estomas en la superficie foliar, la frecuencia de esferocristales (Tabla I), la morfología y distribución de los tejidos en el nervio medio y el

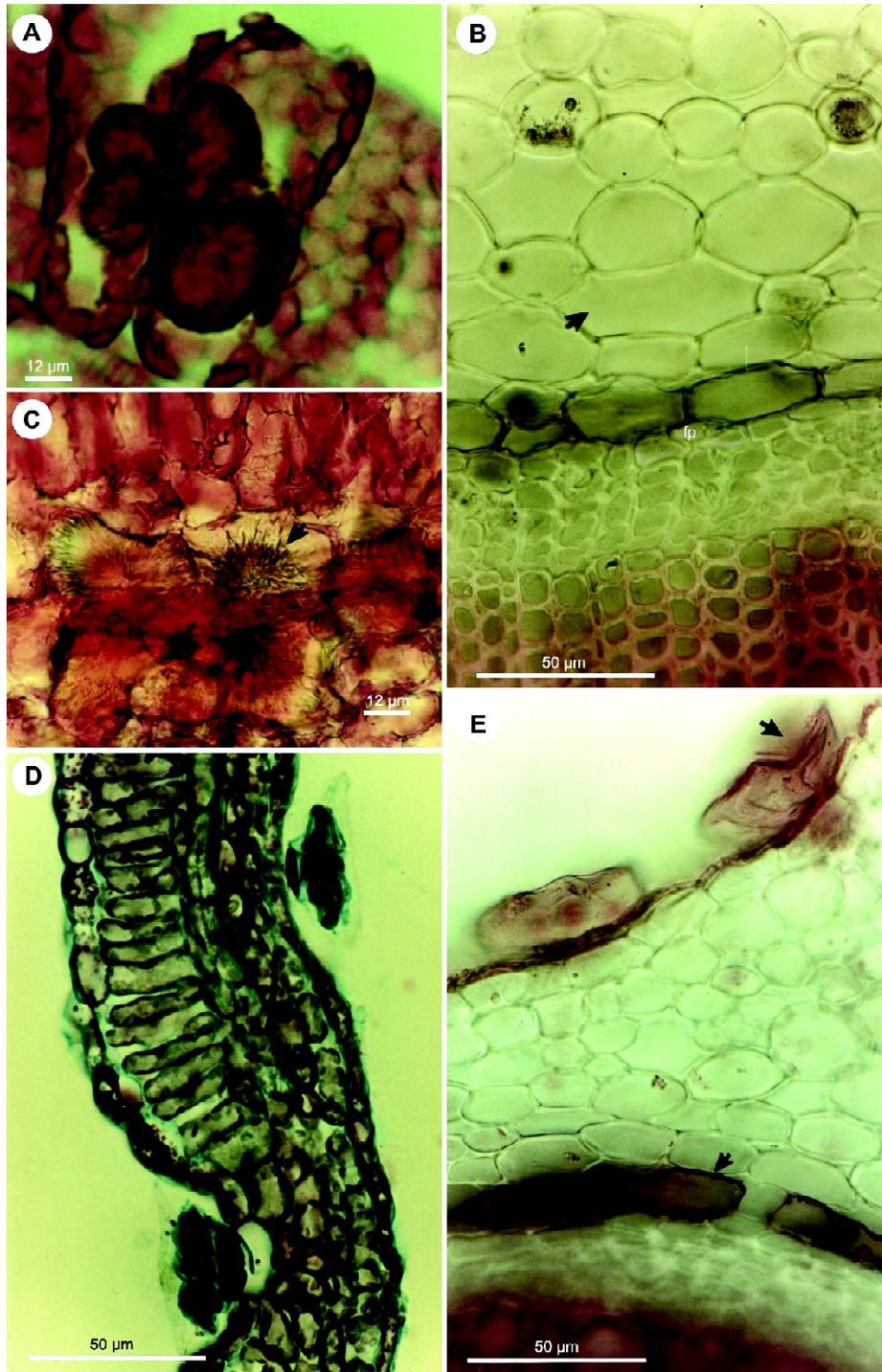


Fig. 7. Fotomicrografías de hoja y tallo. A, C: *M. arvensis* (Ariza Espinar 3147); B: *M. pulegium* (Bonzani 86); D: *M. spicata* (Bonzani 83); E: *M. x piperita* (Bonzani 84). A: Esferocristales en células de parénquima en empalizada; B: Aerénquima en corteza y fibras pericíclicas (fp); C: Cristales en parénquima esponjoso; D: Mesofilo dorsiventral (obsérvense los tricomas glandulares peltados en depresiones foliares); E: Detalle de corteza (nótese la endodermis con bandas de Caspary y los tricomas glandulares peltados con ruptura de la cutícula).

grado de desarrollo del aerénquima en tallos y hojas, son los que, por su constancia, permiten ser valorados para la identificación de las especies.

A nivel seccional, si bien las sect. *Mentha* y *Pulegium* difieren en su número básico de cromosomas ($x = 12$ y $x = 10$ respectivamente, cfr. Harley & Brighton,

1977), no se observaron diferencias anatómicas de importancia.

Desde el punto de vista práctico y a los fines de facilitar los controles de calidad de las especies de *Mentha* que se comercializan, se resumen los caracteres diferenciables en la siguiente clave:

1. Nervio medio foliar poco emergente hacia el hipofilo; tejidos vasculares ausentes en la zona emergente hacia el hipofilo y aerénquima fuertemente desarrollado. Hojas netamente anfistomáticas (epi- e hipofilo con frecuencia estomática similar)

M. pulegium

1'. Nervio medio foliar muy emergente hacia el hipofilo; tejidos vasculares presentes en la zona emergente hacia el hipofilo y aerénquima poco o nada desarrollado. Hojas no marcadamente anfistomáticas (epifilo con escasos estomas, hipofilo con abundantes estomas)

2. Plantas glabrescentes. Aerénquima poco desarrollado

3. Nervio medio con parénquima supraxilemático.

M. x piperita

3'. Nervio medio sin parénquima supraxilemático.

M. citrata

2'. Plantas pubescentes a tomentosas. Aerénquima ausente

3. Predominio de tricomas ramificados (bifurcados y dendríticos). Hacedillo del nervio medio rodeado íntegramente por parénquima no clorofílico

M. x rotundifolia

3'. Tricomas ramificados ausentes. Hacedillo del nervio medio rodeado por parénquima clorofílico y no clorofílico

4. Nervio medio sin parénquima no clorofílico supraxilemático y con parénquima clorofílico en la zona emergente. Predominio de tricomas simples no flexuosos (indumento pubescente)

M. spicata

4'. Nervio medio con parénquima no clorofílico supraxilemático y sin parénquima clorofílico en la zona emergente. Predominio de tricomas simples flexuosos (indumento lanuginoso)

M. arvensis

Agradecimientos

Las autoras expresan su agradecimiento a los curadores y asistentes de los herbarios (BAB, BAF, CORD, LIL, LP, SI), que pusieron a nuestra disposición las colecciones de los materiales estudiados o bibliografía, para la identificación de las especies; al Dr. L. Ariza Espinar por su constante estímulo para el estudio de las "mentas", a L. Ribulgo

y P. Peralta por la confección de las ilustraciones y a A. Pérez por su asistencia técnica. También dejamos constancia de nuestro reconocimiento a la Secretaría de Ciencia y Tecnología (Secyt-UNC), Agencia Córdoba Ciencia y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET-Argentina) por el apoyo financiero otorgado.

Literatura citada

- Amelunxen, F. 1964. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Drüsenhaaren von *Mentha piperita* L. *Planta Méd.* 12:121-139.
- Amelunxen, F. 1965. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Drüsenschuppen von *Mentha piperita* L. *Planta Méd.* 13:457-473.
- Amelunxen, F. 1967. Einige Beobachtungen an den Blatzellen von *Mentha piperita* L. *Planta Méd.* 15: 32-34.
- Abrams, L. 1951. *Illustrated Flora of the Pacific States*. Vol. III, Ed Stanford University Press, California. pp. 866.
- Alonso, J. R. 1998. *Tratado de Fitomedicina. Bases Clínicas y Farmacológicas*. Isis Ediciones S.R.L. Buenos Aires. pp. 1039.
- Alonso, J. R. 2004. *Tratado de Fitofármacos y Nutraceúticos*. Ed. Corpus, Rosario, Argentina. pp. 1359.
- Asensão, L., N. Marques & M. S. Pais. 1995. Glandular trichomes on vegetative and reproductive organs of *Leonotis leonurus* (Lamiaceae). *Ann. Bot.* 75: 619-626.
- Azizian, D. & D. F. Cutler. 1982. Anatomical, cytological and phytochemical studies on *Phlomis* L. and *Eremostachys* Bunge (Labiatae). *Bot. J. Linnean Soc.* 85: 249-281.
- Bailey, L. H. 1944. *The Standard Cyclopedia of Horticulture*. Vol. II, Ed Macmillan Company. New York. pp. 2421.
- Barboza, G. E., N. Bonzani, E. M. Filippa, M. C. Luján, R. Morero, M. Bugatti, N. Decolatti & L. Ariza Espinar. 2001. *Atlas histo-morfológico de plantas de interés medicinal de uso corriente en Argentina*, Museo Botánico, Córdoba, Argentina. pp. 212.
- Barboza, G. E., J. J. Cantero, C. Nuñez & L. Ariza Espinar (eds.). 2006. *Flora Medicinal de la Provincia de Córdoba (Argentina). Pteridófitas y Antófitas silvestres o naturalizadas*. Museo Botánico, Córdoba, Argentina. pp. 1252.
- Bonzani, N. & L. Ariza Espinar. 1993. Estudios anatómicos de tres especies de Lamiaceae usadas en medicina popular. *Acta Farm. Bonaerense* 12 (3):113-123.
- Bonzani, N. E. 2004. *Estudios farmacobotánicos, fitoquímicos y farmacológicos en especies de Mentha de Argentina*. Tesis de Magister en Ciencias Químicas. Univ. Nac. de Córdoba, Argentina. pp. 185. Inédito.
- Bosabalidis, A. & I. Tsekos. 1982. Glandular scale development and essential oil secretion in *Origanum dictamnus* L. *Planta* 156: 496-504.
- Bosabalidis, A. & I. Tsekos. 1984. Glandular hair formation in *Origanum* species. *Ann. Bot.* 53: 559-563.
- Brako, L. & J. L. Zarucchi. 1993. *Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú*. Monogr. Syst. Bot. 45: 1-1275.
- Bruneton, J. 1991. *Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia*. Ed. Acribia, S. A. Zaragoza. pp. 579.
- Bruni, A. & P. Modenesi. 1983. Development oil storage and dehiscence of peltate trichomes in *Thymus vulgaris* (Lamiaceae). *Nordic J. Bot.* 3: 245-251.
- Cantino, P. D. 1990. The phylogenetic significance of stomata and trichomes in the Labiatae and Verbenaceae. *J. Arnold Arbor.* 71: 323-370.
- Cantino, P. D. 1992. Toward a phylogenetic classification of the Labiatae, pages 27-37, in R. M. Harley & T. Reynolds, editors. *Advances in Labiatae Science*. Royal Botanical Gardens Kew. London.
- Claus, E. & V. E. Tyler. 1968. *Farmacognosia*. Ed. El Ateneo. Buenos Aires, Argentina. pp. 501
- Clark, R.J. & R. C. Menary. 1980. Environmental effects on peppermint (*Mentha piperita* L.): I. Effect on daylength, photon flux density, night temperature and day temperature on the yield and composition of peppermint oil. *Austr. J. Plant Physiol.* 7: 685-692.
- Código Alimentario Argentino. 2000. Ediciones La Rocca, Buenos Aires. pp. 460.
- Corsi, G & Bottega. 1999. Glandular hair of *Salvia officinalis*: New data on morphology, localization and histochemistry in relation to function. *Ann. Bot.* 84: 657-664.
- Costaguta, M. 1999. *Mentha*. In M. Correa (dir.), *Fl. Patagónica* 8: 205-211. INTA. Buenos Aires.
- Crespo, S. 1979. Labiatae. En A. Burkart (dir.), *Fl. II. Entre Ríos* 6 (5) [*Mentha*: 316-320]. INTA. Buenos Aires.
- Croteau, R. 1986. Biochemistry of monoterpenes and sesquiterpenes of the essential oils. In L. E. Craker, J. E. Simon, editors, *Herbs, spices and medicinal plants: Recent advances in botany, horticulture and pharmacology*, Vol. 1, Oryx Press. Phoenix.
- D'Ambrogio de Argüeso, A. 1986. *Manual de técnicas en histología vegetal*. Ed. Hemisferio Sur. S.A. Buenos Aires. pp. 83.
- Dizeo de Strittmatter, C. 1973. Nueva técnica de diafanización. *Bol. Soc. Arg. Bot.* 15 (1): 126-129.
- Escalante, M. 1942. Las mentas cultivadas en la Argentina. *Revista Farmac.* 95 (5-6): 99-106.
- Epling, C. 1939. Las Labiadas de la Argentina, Paraguay y Uruguay. *Revista Museo de la Plata* 2, Serie Botánica N° 8: 133-135.
- Fahn, A. 1979. *Secretory tissues in plants*. Academic Press. London. pp. 302.

- Fahn, A. 1988. Secretory tissue in vascular plants. *New Phytol.* 108: 229-257.
- Frederick, S. E., P. J. Gruber & E. H. Newcombe. 1975. Plant microbodies. *Protoplasma* 88: 1-29.
- Gavalas, N., A. Bosabalidis & S. Kokkini. 1998. Comparative study of leaf anatomy and essential oils of the hybrid *Mentha x villosa-nervata* and its parenteral species *M. longifolia* and *M. spicata*. *Israel J. Plant Sci.* 47 (1): 27-33.
- Gersbach, P. V. 2002. The essential oil secretory structures of *Prostanthera ovalifolia* (Lamiaceae). *Ann. Bot.* 89: 255-260.
- Gershenzon, J., M. Maffei & R. Croteau. 1989. Biochemical and histochemical localisation of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of spearmint (*Mentha spicata*). *Pl. Phytol.* 89: 1351-1357.
- Gersterberger, P. & P. Leins. 1978. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an Blütenknospen von *Physalis philadelphica* (Solanaceae). Anwendung einer neuen Präparationsmethode. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 91: 381-387
- Gilg, E. & W. Brandt. 1926. *Farmacognosia*. Ed. Labor. Madrid. pp. 531.
- Gobert, V., S. Moya, M. Colson & P. Taberlet. 2002. Hybridization in the section *Mentha* (Lamiaceae) inferred from AFLP markers. *Am. J. Bot.* 89: 2017-2023.
- Gupta, M. P. 1995. 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. CYTED-SECAB. Colombia. pp. 617.
- Hanlidou, E., S. Kokkini, A. M. Bosabalidis & J. M. Bessière. 1991. Glandular trichomes and essential oil constituents of *Calamintha menthifolia* (Lamiaceae). *Pl. Syst. Evol.* 177: 17- 26.
- Harley, R. & C. A. Brighton. 1977. Chromosome numbers in the genus *Mentha* L. *Bot. J. Linnean Soc.* 74: 1-96.
- Hegnauer, R. 1966. *Chemotaxonomie der Pflanzen*. Band 4. Birkhäuser Verlag Basel und Stuttgart. pp. 503.
- Hickman, J. C. 1993. *The Jepson Manual*. Higher Plants of California. University of California Press. Berkeley. pp. 1365.
- Johansen, D. A. 1940. *Plant Microtechnique*. Ed. Mc. Graw-Hill Book Co. New York. pp. 553.
- Jørgensen P. M. & S. León-Yáñez (eds.). 1999. Catálogo de las Plantas Vasculares del Ecuador. *Monogr. Syst. Bot.* 75: 1-1169.
- Kaufmann, M. R & M. Wink. 1994. Molecular systematics of the Nepetoideae (family Labiatae): Phylogenetic implications from *rbcL* gene sequences. *Z. Naturforsch. [C]*. 49 (9-10): 635-45
- Mabberley, D. 1997. *The Plant-Book*. Cambridge University Press. Cambridge. pp. 858
- McConkey, M. E., J. Gershenzon & R. B. Croteau. 2000. Developmental regulation of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of peppermint. *Pl. Physiol.* 122: 215-224.
- Martins, M. B. 2002. Estudio de microscopia óptica e de microscopia electrónica de varredura en folhas de *Mentha spicata* e de *Mentha suaveolens* (Lamiaceae). *Bragantia* 61(3): 205-218.
- Martins, M. B. & A. R. Martins. 2003. Caracterização histológica de fholas de *Mentha pulegium x spicata* (Lamiaceae). *Rev. Bras. Pl. Med.* 5 (2): 33-39.
- Metcalfe, C. R. & L. Chalk. 1950. *Anatomy of the Dicotyledons I*. Clarendon Press. Oxford. pp. 724.
- Metcalfe, C. R. & L. Chalk. 1979. *Anatomy of the Dicotyledons I*. Clarendon Press. Oxford. pp. 276.
- Moldenke, H. N. 1944. Contribution to the flora of extra-tropical South America. *Lilloa* 10: 348-352.
- Muñoz Centeno, L., M. Alonso Beato & M. Santos Bobillo. 1998. Plantas medicinales Españolas. *Mentha pulegium* L. (Labiatae). (Poleo, Poleo-menta). *Studia Bot.* 17: 97-107
- Núñez, C. & J. J. Cantero. 2000. Las plantas medicinales del sur de la Provincia de Córdoba. Ed. Fund. Universidad Nacional de Río Cuarto. Córdoba, Argentina. pp. 144.
- Pontioli, A. 1993. Labiatae. In A. L. Cabrera (dir.), *Fl. prov. Jujuy* 13 (9) [*Mentha*: 128-129]. INTA. Buenos Aires.
- Ratera, E. L. & M. O. Ratera. 1980. *Plantas de la flora argentina empleadas en medicina popular*. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires. pp. 189.
- Rombi, M. 1991. 100 Plantas Medicinales, composition, mode d'action et interet therapeutique. Ed. Romart. Francia. pp. 279.
- Shasany, A. K., A. K. Shukla, S. Gupta, S. Rajkumar & S. P. S. Khanuja. 2000. AFLP analysis for genetics relationships among *Mentha* species. *Euphytica* 111: 121-125.
- Solereder, H. 1908. *Systematic Anatomy of the Dicotyledons*. Vol. II. Clarendon Press. Oxford. pp. 1182
- Ticli, B. 1998. *Las hierbas medicinales de mayor eficacia*. Ed. De Vecchi, Barcelona. pp. 95.
- Turner, G. W., J. Gershenzon, E. E. Nielson, J. E. Froehlich & R. B. Croteau. 1999. Limonene synthase the enzyme responsible for monoterpene biosynthesis in peppermint, is localized to leucoplasts of oil gland secretory cells. *Plant Physiol.* 120: 879-886.

- Turner, G. W., J. Gershenzon & R. B. Croteau. 2000. Development of peltate glandular trichomes of peppermint. *Plant. Physiol.* 124: 665-680.
- Villar del Fresno, A. M. 1999. *Farmacognosia General*. Ed. Sintesis. Madrid. pp. 336.
- Werker, E., U. Ravid & E. Putievsky. 1985. Structure of glandular hair and identification of the main components of their secreted material in some species of the Labiatae. *Israel J. Bot.* 34:31-45.
- Wilkinson, H. P. 1979. The plant surface (mainly leaf), pages en 97-165 in C. R. Metcalfe & L. Chalk, editors, *Anatomy of Dicotyledons*, 2^a ed., Clarendon Press, Oxford.
- Zuloaga, F. & O. Morrone (eds.). *Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina*. Instituto de Botánica Darwinion, San Isidro, Buenos Aires. Web on line: http://www.darwin.edu.ar/Proyectos/Flora_Argentina/FA.asp. Actualizado al 20/11/2006.