

TESIS DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**BIOLOGÍA Y CONSERVACIÓN DE ESPECIES
DE *FLOURENSIA* DC. (ASTERACEAE)
ENDÉMICAS DEL CENTRO DE ARGENTINA**

por Biól. NATALIA E. DELBÓN

**DIRECTORA: Dra. MARÍA TERESA COSA
CO-DIRECTOR: Dr. GABRIEL BERNARDELLO**



**Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales
Universidad Nacional de Córdoba**

Córdoba, Argentina

2014

COMISIÓN ASESORA

Dra. Liliana Katinas.

Laboratorio de Sistemática y Biología Evolutiva, División Plantas Vasculares. Museo de La Plata, Universidad Nacional de La Plata.

Dra. María Teresa Kraus.

Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto.

Dra. María Teresa Cosa.

Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba.

DEFENSA ORAL Y PÚBLICA

Lugar y Fecha:

Calificación:

TRIBUNAL

Firma:

Aclaración:

Firma:

Aclaración:

Firma:

Aclaración:

A Ale y Alma

ÍNDICE

RESUMEN	1
SUMMARY	3
 CAPÍTULO 1:	
ANTECEDENTES GENERALES	4
Objetivo General	15
Objetivos específicos	15
Materiales	16
Bibliografía	18
 CAPÍTULO 2:	
EXOMORFOLOGÍA Y ANATOMÍA DE ÓRGANOS VEGETATIVOS	21
Introducción	21
Objetivos	24
Objetivos específicos	24
Materiales y métodos	25
Resultados	29
Hoja	29
Tallo	39
Raíz	46
Discusión	51
Conclusiones	60
Bibliografía	62
 CAPÍTULO 3:	
BIOLOGÍA REPRODUCTIVA	68
Introducción	68
Objetivos	72
Objetivos específicos	72
Materiales y métodos	73
Resultados	77

Caracteres florales	77
Éxito reproductivo.....	78
Germinación	84
Morfoanatomía floral	89
Desarrollo de fruto y semilla.....	91
Discusión	101
Conclusiones	110
Bibliografía.....	111
CAPÍTULO 4:	
ESTUDIOS CARIOLÓGICOS	117
Introducción	117
Objetivos.....	119
Objetivos específicos	119
Materiales y métodos.....	120
Resultados.....	122
Discusión	127
Conclusiones	131
Bibliografía.....	132
CONCLUSIONES FINALES	136

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Distribución geográfica.....	7
TABLA 2. Poblaciones estudiadas.....	17
TABLA 3. Características cuantitativas foliares.....	30
TABLA 4. Características cuantitativas epidérmicas.....	32
TABLA 5. Test de Tuckey.....	32
TABLA 6. Características cuantitativas de leño.....	41
TABLA 7. Éxito reproductivo.....	80
TABLA 8. Porcentaje de germinación.....	87
TABLA 9. Cariotipos.....	123
TABLA 10. Porcentaje de células con satélites.....	124
Figura 1. Hábito.....	8
Figura 2. Inflorescencias.....	9
Figura 3. Relaciones filogenéticos.....	12
Figura 4. Relaciones entre especies de <i>Flourensia</i>	14
Figura 5. Exomorfología foliar.....	35
Figura 6. Epidermis foliar.....	36
Figura 7. Anatomía de lámina foliar.....	37
Figura 8. Anatomía de pecíolo y tallo.....	38
Figura 9. Exomorfología de tallo con crecimiento secundario.....	42
Figura 10. Anatomía de tallo secundario.....	43
Figura 11. Anatomía de leño.....	44
Figura 12. Anatomía de leño.....	45
Figura 13. Exomorfología y desarrollo de xilopodio.....	48
Figura 14. Rebrote de yemas del xilopodio luego de un fuego.....	49
Figura 15. Anatomía radical.....	50
Figura 16. Anatomía de xilopodio.....	51
Figura 17. Visitantes florales de capítulos.....	81
Figura 18. Exomorfología de capítulos y flores tubulares.....	82
Figura 19. Exomorfología de fruto y plántula.....	83
Figura 20. Ontogenia floral.....	84

Figura 21. Ontogenia floral.....	85
Figura 22. Desarrollo del nectario.....	96
Figura 23. Desarrollo de anteras y ramas estigmáticas.....	97
Figura 24. Ontogenia del fruto.....	98
Figura 25. Desarrollo del fruto.....	99
Figura 26. Anatomía de fruto maduro.....	100
Figura 27. Metafases mitóticas.....	125
Figura 28. Ideogramas.....	126
Gráfico 1: Viabilidad de las semillas.....	88

RESUMEN

En la presente tesis se estudiaron 6 especies *Flourensia* DC. (subfam. Asteroideae, tribu Heliantheae, subtribu Encellinae) endémicas del centro de Argentina, por su importancia ecológica y su interés farmacobotánico. Con el objetivo de contribuir a su conocimiento, aportando información novedosa sobre su biología y de interés en sistemática y conservación.

Las especies analizadas fueron: *F. campestris*, *F. hirta*, *F. leptopoda*, *F. niederleinii*, *F. oolepis* y *F. tortuosa*.

Se realizaron estudios comparativos sobre la morfoanatomía de los órganos vegetativos, tanto del sistema caulinar como radical, encontrándose en todas las especies y en todos los órganos características consideradas adaptaciones al ambiente xérico en que habitan.

En el sistema aéreo, las más importantes fueron: gran presencia de tricomas de diferentes tipos y conductos secretores esquizógenos en todos los órganos, hojas con abundantes estomas y gran desarrollo del parénquima en empalizada, leño con numerosos vasos, de diámetro pequeño y dispuestos en grupos. En el sistema radical se observó el desarrollo de un xilopodio, y se pudo constatar que su función es regenerar de la planta, por formación de yemas nuevas.

Además, se indagó en aspectos relacionados a la biología reproductiva, en la cual se destaca la gran cantidad de flores y frutos producidos, aunque muchos aquenios se encontraron parasitados o sin desarrollo de embrión. El porcentaje de germinación fue en general bajo, a excepción de *F. oolepis* y *F. campestris*, y la viabilidad de las semillas se perdió completamente a los dos años desde su recolección. *F. oolepis* y *F. campestris* resultaron autoincompatibles, por lo que requieren polinizadores efectivos para su reproducción.

Con respecto a la morfoanatomía de las flores y los frutos, se destaca la presencia de tricomas glandulares y conductos secretores, relacionadas con la protección contra herbívoros o patógenos. También, se observaron gran cantidad de tricomas gemelos tanto en el ovario como en el fruto maduro, su función sería la de absorción y retención de agua.

En el pericarpo de los frutos se observó el desarrollo una capa de fitomelanina, considerada como una defensa contra el ataque de insectos o como una barrera contra la luz, la cual protege al embrión.

Por último, se realizó un estudio cariológico en el que se corroboró el número cromosómico de $2n=18$. Las fórmulas cariotípicas desconocidas hasta el momento variaron entre las especies. *F. campestris*, *F. leptopoda* y *F. tortuosa* compartieron la fórmula con 14 pares $m + 4 sm$, mientras que *F. hirta*, *F. niederleinii* y *F. oolepis* presentaron 12 pares $m + 6 sm$.

La longitud cromosómica promedio varió entre 2,11 y 2,97 μm y se encontraron diferencias estadísticas en las variables C, Lt, R y A_1 . Se encontró uno o dos pares de satélites que variaron en su ubicación entre las especies, excepto en *F. campestris* en la que no se observaron.

Las variaciones encontradas sugieren que la especiación en estos taxones habría sido acompañada por pequeños cambios cromosómicos, causados por inversiones y/o translocaciones.

Las características más importantes que permitieron diferenciar las especies fueron: tamaño foliar y cantidad de flores por capítulo, frecuencia estomática y cantidad de hacecillos de conducción en la vena media y el pecíolo, densidad de vasos del leño, fórmula cariotípica, largo promedio de los cromosomas, índice de simetría y presencia y posición de los satélites. Concluimos que estos caracteres pueden ser utilizados en taxonomía y sistemática.

SUMMARY

In this thesis, six species of *Flourensia* DC were studied (subfam. Asteroideae, tribe Heliantheae, subtribe Encellinae), all of them endemic to the central region of Argentina and having ecological and phytochemical importance. The aim is basically to contribute to their knowledge providing new information about their biology. The species studied were: *F. campestris*, *F. hirta*, *F. leptopoda*, *F. niederleinii*, *F. oolepis* and *F. tortuosa*.

The morphology and anatomy of vegetative organs, both radical and caulinar systems, were studied and characteristics considered adaptations to xeric environment in all species and in all organs were observed.

In addition, we investigated their reproductive biology. The large number of flowers and fruits produced is outstanding, although many achenes were parasitized or were found without embryo development. The percentage of germination was low, except in *F. oolepis* and *F. campestris*. Seed viability was completely lost after two years from harvesting. *F. oolepis* and *F. campestris* were self-incompatible and therefore they need effective pollinators for reproduction.

Regarding morphology and anatomy studies of flowers and fruits, it was important the presence of glandular and eglandular trichomes and secretory ducts. In the fruit pericarp, a phytomelanin layer was observed.

Finally, we studied the mitotic chromosomes, performing qualitative and quantitative analysis of their karyotypes. All species had $2n=36$: three with $14 m + 4 sm$ pairs and the remaining with $12 m + 6 sm$ pairs. The average chromosome length varied between 2.11 and 2.97. Statistical differences were found for the variables C, Lt, R, and A1. Except *F. campestris*, one or two pairs of satellites which varied in their location were found.

CAPÍTULO 1: ANTECEDENTES GENERALES

La familia Asteraceae es una de las familias más dominantes del planeta ya que comprende cerca de 1.600-1.700 géneros y entre 23.000-24.000 especies distribuidas por todo el mundo, excepto en Antártida (Jeffrey, 2007; Katinas *et al.*, 2007; Funk *et al.*, 2009).

Es muy diversa en formas de vida, encontrándose en mayor proporción hierbas anuales o bianuales, en menor cantidad subarborescentes, arbustos y hasta algunos árboles, mientras que unas pocas pueden ser enredaderas o lianas. Usualmente son terrestres, aunque existen especies epífitas y acuáticas. Crecen en casi todos los tipos de hábitat, sin embargo, son poco frecuentes en bosques húmedos tropicales, predominando en áreas abiertas (Jeffrey, 2007; Funk *et al.*, 2009). Su diversificación y gran expansión se debe a una gran capacidad adaptativa a diferentes climas, suelos y relieves, además, de una gran eficacia reproductiva y estrategias para la dispersión y germinación de las semillas (Mani & Saravanan, 1999; Katinas *et al.*, 2007).

Muchas especies son importantes económicamente para el hombre por ser consumidas como alimentos, bebidas, aceites, especias y edulcorantes. Además, se reconocen especies medicinales e insecticidas y otras son utilizadas para la producción de caucho, resinas y colorantes. Por otra parte, una gran cantidad de especies y variedades tienen alto valor comercial como ornamental, por sus bellas inflorescencias (Jeffrey, 2007; Simpson, 2009).

En Argentina esta familia es la más numerosa con cerca de 227 géneros, de los cuales 5 son endémicos; reúne a 1.400 especies, siendo endémicas unas 382 (Katinas *et al.*, 2007). Se consideran especies endémicas de una región aquellas que se encuentran naturalmente sólo en ese sitio; si su área de distribución geográfica es pequeña, los endemismos son restringidos o limitados (Primack *et al.*, 2001; Kruckeberg & Rabinowitz, 1985).

El género *Flourensia* DC. (tribu Heliantheae, subtribu Enceliinae) es endémico de América y comprende un grupo de 32 especies (Dillon, 1984; Ariza Espinar, 2000).

Está compuesto por subarbuscos glutinosos, arbustos y pequeños árboles que habitan regiones elevadas y secas. Tiene una distribución anfitropical, en América del Norte sus especies se encuentran principalmente en México, en tanto que en Sudamérica se hallan asociadas a la Cordillera de los Andes en Perú, Bolivia, Chile y Argentina (Dillon, 1984).

En nuestro país crecen 12 especies, en tanto que en la zona central habitan 6, su importancia se debe a que todas son endémicas de esa zona y presentan distribución restringida. Ellas son: *Flourensia campestris* Griseb., *F. hirta* S. F. Blake, *F. leptopoda* S. F. Blake, *F. niederleinii* S. F. Blake, *F. oolepis* S. F. Blake y *F. tortuosa* Griseb. (Ariza Espinar, 2000).

Todas las especies crecen en zonas serranas, en ambientes caracterizados por un clima semiárido y suelos empobrecidos (Luti, 1979; Ariza Espinar, 2000; Giorgis *et al.*, 2011). Son arbustos resinosos con capítulos radiados de flores amarillas, abundantes y muy vistosas. Presentan un característico aspecto lustroso debido al exudado resinoso de sus hojas y ramas (Ariza Espinar, 2000).

Son reconocidas en medicina popular ya que se las utiliza para aliviar diversas enfermedades gastrointestinales, como purgante, expectorante y antirreumática; además, algunas especies son usadas como incienso, aromáticas y tintóreas (Zardini, 1984; Mata *et al.*, 2003; Barboza *et al.*, 2006; Trillo *et al.*, 2007). También, revisten importancia por su valor ornamental, particularmente *F. oolepis* ha sido estudiada para uso paisajista en regiones semiáridas (Delbón & Eynard, 2006).

Estas especies endémicas presentan diferentes grados de amenaza. *F. hirta*, *F. leptopoda* y *F. niederleinii* se encuentran en la categoría 5 en la base PlanEAR (Plantas Endémicas de la Argentina) (Villamil *et al.*, 2000), la cual corresponde a plantas de distribución restringida, con poblaciones escasas o sobre las que se presume que puedan actuar factores de amenaza, entre los que se citan, destrucción de hábitat, sobreexplotación, invasiones biológicas, etc. *F. oolepis* se encuentra en la categoría 4 correspondiente a plantas restringidas a una sola provincia política o con áreas reducidas compartidas por dos o más provincias políticas contiguas. Por último, *F. campestris* y *F. tortuosa* se hallan en la categoría 3 ya que son plantas comunes, aunque no abundantes.

Como ya es bien sabido, la extinción de especies se produce principalmente por la actividad humana. Esta ha producido un gran impacto sobre los ecosistemas

naturales, generando entre otros, la reducción y fragmentación del hábitat, cambios en la composición de la flora y fauna, pérdida de la cubierta vegetal, compactación y reducción de la humedad del suelo e incremento de la erosión del mismo (Ellenberg, 1979; Primack *et al.*, 2001).

Entre las acciones más perjudiciales del hombre se pueden citar la tala de árboles y arbustos para leña, la introducción de ganado doméstico en áreas naturales, el desmonte para la conversión a terrenos agrícolas y la gran expansión de las áreas urbanas (Ellenberg, 1979).

Sumado a esto, el fuego ha sido históricamente utilizado para transformar los ecosistemas en zonas aptas para la agricultura y ganadería. Además, se debe tener en cuenta la incidencia de los incendios accidentales o provocados, que son muy frecuentes en las zonas serranas del centro de Argentina. El fuego produce grandes cambios en los bosques ya que modifica la fisonomía, composición y riqueza de especies tanto vegetales (Renison *et al.*, 2002; Gurvich *et al.*, 2005; Verzino *et al.*, 2005; Giorgis *et al.*, 2011, 2013), como de líquenes (Rodríguez *et al.*, 2009) y de microorganismos (Abril & González, 1999).

La invasión por especies exóticas también es uno de los principales problemas ambientales del mundo. Sus consecuencias son la pérdida de biodiversidad, el cambio en la estructura y composición de la vegetación, entre otras (Mack *et al.*, 2000; Charles & Dukes, 2007). En las Sierras de Córdoba son numerosos los estudios al respecto (Giorgis *et al.*, 2005; 2011; Teco *et al.*, 2006; Teco *et al.*, 2007; Hoyos *et al.*, 2010), recientemente, se encontró que el 11% de las especies son exóticas, muchas de ellas ornamentales que han colonizado espacios naturales (Giorgis *et al.*, 2011).

Frente a este panorama, el estudio de las especies endémicas merecen especial atención, el entendimiento de su biología es fundamental para comprender sus estrategias de desarrollo y supervivencia. Además, el estudio de sus características reproductivas es importante para plantear posibles planes de conservación, para la reforestación de zonas degradadas o quemadas y para su cultivo como plantas ornamentales.

TABLA 1. Distribución geográfica y categoría en la base PlanEAR de las especies de *Flourensia* DC. estudiadas, se detallan los sitios más comunes de observación y la altura sobre el nivel del mar (m.s.m) en la que se encuentran (tomados de Dillon, 1984; Ariza Espinar, 2000; Villamil *et al.*, 2000).

ESPECIE	DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	PlanEAR
<i>Flourensia campestris</i> (Fig. 1-A)	Abundante en sitios áridos, entre 500 y 1000 msm., en Sierras Chicas de Córdoba, Sierras de Ambato y Gracinana en Catamarca, sudeste de La Rioja hasta Sierras de Guasayán en Santiago del Estero.	3
<i>F. hirta</i> (Fig. 1-B)	Característica de las altas montañas, entre 2100 y 2700 msm., en Sierras de Famatina en La Rioja y Catamarca.	5
<i>F. leptopoda</i> (Fig. 1-C)	Entre los 1500 y 1700 msm., en Sierras de Ulapes y Olta en La Rioja hasta Sierras del Valle Fértil en San Juan.	5
<i>F. niederleinii</i> (Fig. 1-D)	Endémica de las Sierras de Velasco y Famatina en La Rioja, entre 1700 y 2200 msm.	5
<i>F. oolepis</i> (Fig. 1-E)	Común en las Sierras de San Luís y Sierras Chicas y Grandes de Córdoba, entre 1000 y 2000 msm.	4
<i>F. tortuosa</i> (Fig. 1-F)	En Sierras de Belén, Zapata y Aconquija en Catamarca, centro de Tucumán y Salta, entre los 1200 y 3100 msm.	3



Figura 1. Hábito. A: *Flourensia campestris*. B: *F. hirta*. C: *F. leptopoda*. D: *F. niederleinii*. E: *F. oolepis*. F: *F. tortuosa*.



Figura 2. Inflorescencias. A: *Flourensia campestris*. B: *F. hirta*. C: *F. leptopoda*. D: *F. niederleinii*. E: *F. oolepis*. F: *F. tortuosa*.

Relaciones filogenéticas en Asteraceae

Asteraceae se divide en 5 subfamilias, de las cuales Asteroideae (Cass.) Lindl. es la más numerosa, con aproximadamente 17.000 especies, y la más derivada. Dentro de esta, existe un grupo denominado Alianza Heliantheae, conformado por las 13 tribus más derivadas. Sus miembros son en su mayoría endémicos del Continente Americano y se caracterizan por la presencia de una capa de fitomelanina en las paredes de los frutos, lo que le otorga el característico color negro o marrón oscuro (Panero, 2007a).

La tribu Heliantheae es una de las más importantes de la Alianza y es considerada derivada de la familia, junto con las tribus Millerieae, Perityleae, Eupatorieae y Madieae (Fig. 3A). Es también, una de las más grandes y diversas ya que se compone de 113 géneros y entre 1461-1.641 especies. Se divide en 14 subtribus, de las cuales Enceliinae contiene al género *Flourensia* (Panero, 2007a, b; Baldwin, 2009).

Las relaciones filogenéticas de *Flourensia* dentro de la tribu han sido por mucho tiempo poco claras y su posición ha variado a lo largo de las décadas.

Antiguamente, Hoffmann (1894) y luego Solbrig *et al.*, (1972) y Stuessy (1977), lo posicionaron dentro de la subtribu Helianthinae Dumort. (= Verbesininae) reconociendo que esta es “un conjunto complejo de diversos elementos”.

Robinson (1981), basado principalmente en microcaracteres de las flores y los frutos, reubicó a *Flourensia* en el “Grupo *Encelia*” dentro de la subtribu Ecliptinae Lessing. Además lo relacionó con los géneros *Encelia* Adans., *Enceliopsis* A. Nelson y *Geraea* Torr. y A. Gray; y a su vez con *Verbesina* L. y *Podachaenium* Benth (Robinson *et al.*, 1981; Clark, 1998).

Dillon (1984) realizó una extensa revisión del género *Flourensia* y reconoció como cercano filogenéticamente solo a *Encelia*. Mientras que Karis (1993), basado en un análisis cladísticos con una gran cantidad de caracteres morfológicos, alineó a *Verbesina*, *Flourensia*, *Encelia*, *Espeletia* Mutis ex Humb. & Bonpl. y *Zaluzania* Pers. dentro de la subtribu Verbesininae.

En los últimos años, estudios moleculares basados en sitios de restricción de ADN del cloroplasto sugirieron que *Encelia*, *Enceliopsis*, *Flourensia* y *Geraea* estarían íntimamente relacionados y, a su vez, serían hermanos de la subtribu Heliantinae (Panero *et al.*, 1999, Schilling & Panero, 2002). Panero *et al.* (1999) sugirieron que *Flourensia*, *Encelia* y *Helianthella* Torr. & A. Gray formarían un clado y plantearon el reconocimiento de una nueva subtribu para estos géneros, o bien, la necesidad de incluirlos nuevamente dentro de la subtribu Helianthinae.

Finalmente, Panero (2005) crea la nueva subtribu Encellinae en la que agrupa a *Encelia* (15 spp.), *Enceliopsis* (4 spp.), *Geraea* (2 spp.), *Helianthella* (8 spp.) y *Flourensia* (33 spp.) (Fig. 3 B-C).

Actualmente, la tribu Heliantheae se divide en 14 subtribus; Encellinae se ubica muy cercana filogenéticamente a las subtribus Ambrosiinae, Helianthinae y Zaluzaniinae, mientras que se encuentra alejada de Verbesininae y Ecliptinae (Fig. 3 B) (Panero *et al.*, 1999; Panero, 2005; Panero, 2007b; Fehlberg & Ranker, 2007).

Por último, dentro de Encelliinae, *Flourensia* estaría íntimamente relacionado a *Encelia* y a *Helianthella*, aunque no se encuentra confirmada la posición de este último. *Enceliopsis* y *Geraea* sería los géneros más derivados de la subtribu (Fig. 3 C).

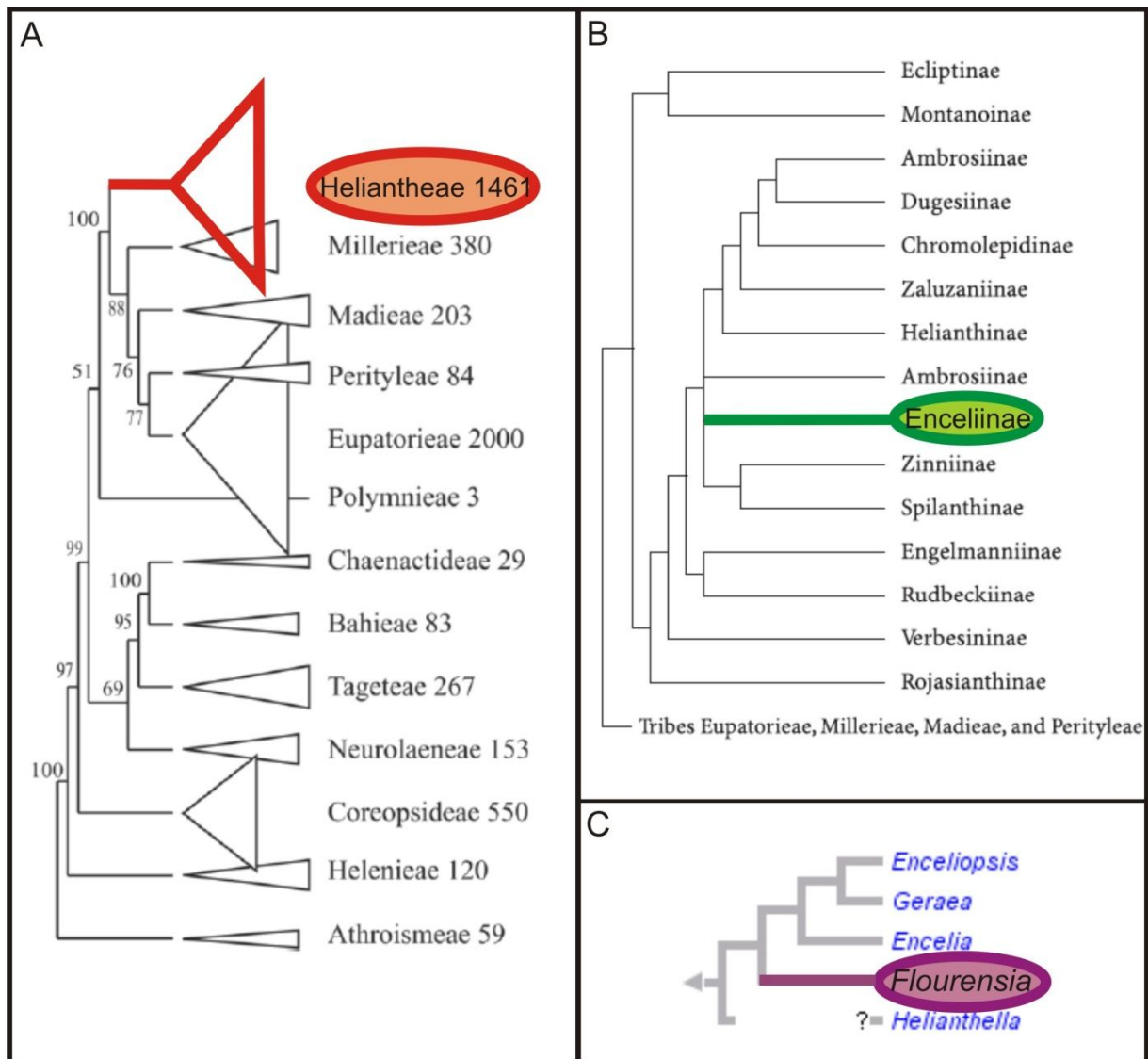


Figura 3. Relaciones filogenéticas. A: tribus que componen la Alianza Heliantheae. **B:** subtribus de Heliantheae. **C:** géneros de la subtribu Enceliinae **A-B:** Extraído de Panero, 2007. **C:** Compilado de Fehlberg and Ranker (2007) y Panero *et al.* (1999).

Relaciones entre especies en *Flourensia*

Dillon (1984) representó las relaciones intraespecíficas de las 31 especies conocidas hasta ese momento. El agrupamiento fue realizado principalmente teniendo en cuenta las características exomorfológicas. Los caracteres considerados más importantes fueron los relacionados a la morfología de los capítulos, incluido el tamaño y la forma de las brácteas y la presencia y número de flores del radio. Además, se tuvo en cuenta el tamaño y la forma de las hojas, la pubescencia, las preferencias ecológicas y la distribución geográfica.

En primer lugar, se dividieron las especies según se localizan en América del Norte o América del Sur.

Las especies que habitan América del Norte se separaron en dos grupos, según la presencia o no de flores del radio. El grupo de especies con capítulos discoides contiene seis especies que se hallan en su mayoría en la región del desierto de Chihuahua, siendo *F. cernua* DC. la especie más importante. Por otro lado, el grupo que presenta capítulos radiados habita en sitios de montaña, a altas elevaciones y gran aridez.

Las especies de América del Sur presentan todos capítulos radiados. *F. macrophylla* S.F. Blake, *F. angustifolia* (DC.) S.F. Blake, *F. peruviana* M.O. Dillon y *F. polycephala* M.O. Dillon se distribuyen en los Andes de Perú y presentan similares capítulos, con 8-13 flores del radio e iguales preferencias ecológicas. *F. thurifera* (Molina) DC. se encuentra en el centro de Chile y presenta similares hojas y involucros que *F. macrophylla*.

F. suffrutescens (R.E. Fr.) S.F. Blake, *F. tortuosa*, *F. macroligulata* Seeligm. y *F. oolepis* forman una línea caracterizada por grandes capítulos con amplias brácteas y entre 13 a 21 flores liguladas, en tanto que *F. heterolepis* S.F. Blake presenta características intermedias entre los dos grupos.

El último subgrupo está formado por ocho especies estrechamente relacionadas, las cuales comparten una gran cantidad de caracteres, incluyendo la morfología de los capítulos y se distribuyen desde el sur de Bolivia al sur de Argentina. De ellas, *F. riparia* Griseb., *F. campestris*, *F. leptopoda*, *F. niederleinii*, *F. hirta*, *F. fiebrigii* S.F. Blake y *F. blakeana* M.O. Dillon muestran una tendencia hacia la disminución de las

flores del radio, ya que poseen entre 5 y 8 flores liguladas. Por último, *F. hirtissima* S.F. Blake presenta capítulos solitarios y estaría más relacionada con *F. fiebrigii*.

Teniendo en cuenta estos antecedentes, en la presente tesis se propone estudiar las especies de *Flourensia* del centro de Argentina, por su importancia ecológica, ya que todas son endémicas con área de distribución restringida. Además, por su valor económico potencial por su interés farmacobotánico u ornamental. Los resultados obtenidos serán un aporte a la clasificación y diferenciación de las especies, así como también, de aplicación para la conservación y mantenimiento de los recursos genéticos.

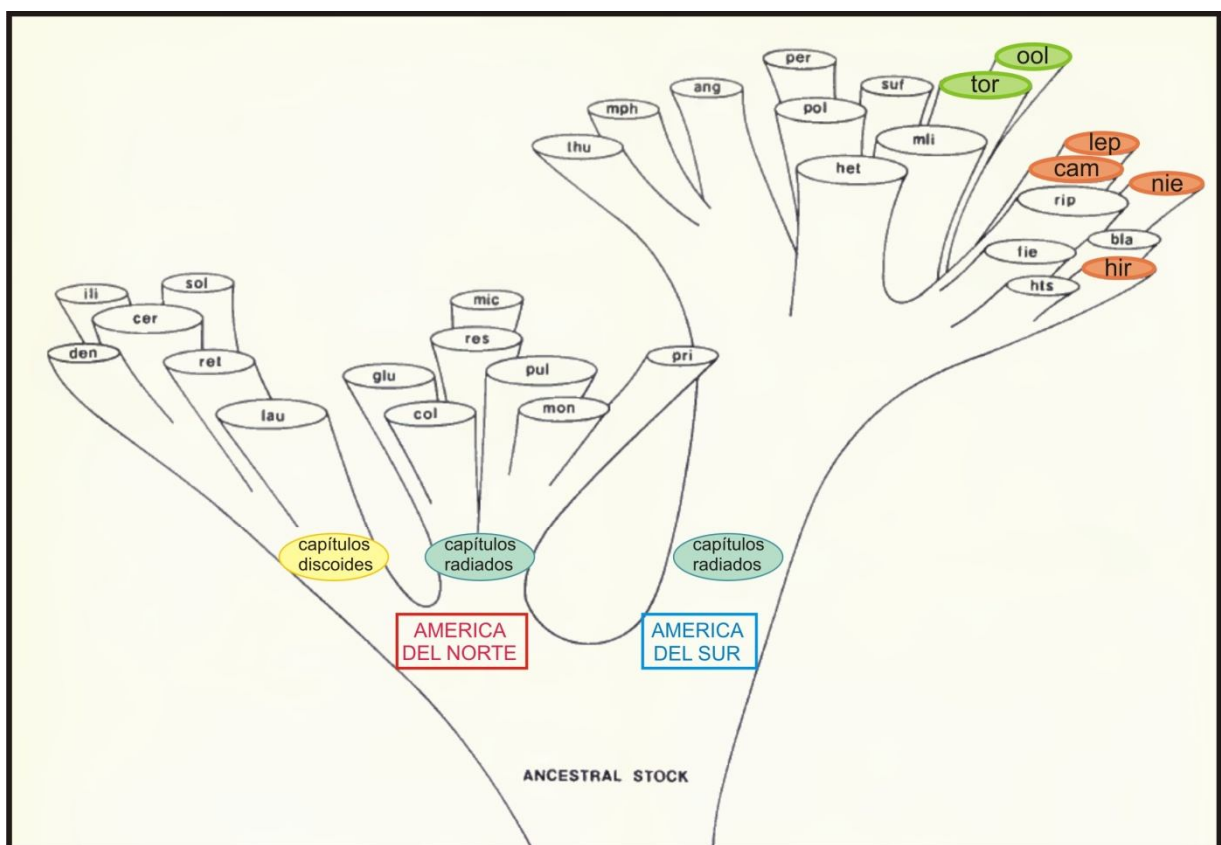


Figura 4. Relaciones entre especies de *Flourensia*. Extraído de Dillon (1984). Abreviaturas: ang: *F. angustifolia*, bla: *F. blakeana*, cam: *F. campestris*, cer: *F. cernua*, col: *F. collodes*, den: *F. dentata*, fie: *F. fiebrigii*, glu: *F. glutinosa*, het: *F. heterolepis*, hir: *F. hirta*, hts: *F. hirtissima*, ili: *F. ilicifolia*, lau: *F. laurifolia*, lep: *F. leptopoda*, mic: *F. microphylla*, mli: *F. macroligulata*, mon: *F. monticola*, mph: *F. macrophylla*, nie: *F. niederleinii*, ool: *F. oolepis*, per: *F. peruviana*, pol: *F. polycephala*, pri: *F. pringlei*, pul: *F. pulcherrima*, res: *F. resinosa*, ret: *F. retinophylla*, rip: *F. riparia*, sol: *F. solitaria*, suf: *F. suffrutescens*, tor: *F. tortuosa*, thu: *F. thurifera*.

OBJETIVO GENERAL

Contribuir al conocimiento de especies de *Flourensia* (Asteraceae) endémicas del centro de Argentina, de importancia por su valor fármaco-botánico y ornamental, aportando información novedosa sobre su biología y de interés para la conservación y mantenimiento de los recursos genéticos.

Objetivos específicos

En seis especies de *Flourensia* endémicas del Centro de Argentina se propone:

- 1) Estudiar la exomorfología de las hojas.
- 2) Analizar y comparar las particularidades de la epidermis foliar.
- 3) Indagar en la anatomía de los órganos vegetativos aéreos; hoja, tallo y leño.
- 4) Estudiar la anatomía radical, determinando la estructura primaria y secundaria de las raíces embrionarias y laterales.
- 5) Indagar en la morfoanatomía de los xilopodios, determinando el o los órganos involucrados y valorando su papel en la reproducción vegetativa.
- 6) Analizar el desarrollo y anatomía de las flores, semillas y frutos, desde el momento de la fecundación hasta la madurez.
- 7) Estudiar la ontogenia, anatomía, distribución y modo de secreción de las estructuras secretoras en todos los órganos, tanto vegetativos como reproductivos.
- 8) Reconocer la naturaleza química de las reservas en las semillas.
- 9) Valorar el éxito reproductivo, determinar el sistema de reproducción y conocer los visitantes florales y su papel en la polinización.
- 10) Determinar la viabilidad de las semillas mediante diferentes ensayos de germinación y analizar el desarrollo de las plántulas en los primeros estadios.

- 11) Estudiar los cromosomas mitóticos y confeccionar los cariogramas y cariotipos.
- 12) Evaluar el riesgo de extinción y la posibilidad de conservación de estas especies en base a los datos obtenidos.

MATERIALES

Los materiales utilizados en la presente investigación provienen de poblaciones ubicadas en la zona central de Argentina, los respectivos ejemplares de herbario se encuentran depositados en el Museo Botánico de Córdoba (CORD). Las determinaciones fueron realizadas por la autora, Dra. Maria Teresa Cosa y Dr. Luis Ariza Espinar. Los datos de recolección se presentan en la Tabla 2.

TABLA 2. Poblaciones estudiadas de *Flourensia*, los datos de colección incluyen provincia, departamento, lugar, georeferencia, altura sobre el nivel del mar, colector, número de muestra y fecha de recolección.

ESPECIE	DATOS DE RECOLECCIÓN
<i>Flourensia campestris</i>	Provincia de Córdoba. Departamento Punilla. Camino al cerro El Cuadrado, La Falda. S 31° 0,5'; W 64° 27'. 1100 msm. Delbón, N. 5, 20-II-2009 – Delbón, N. 7, 21-III-2010. 2011 – 2012
<i>F. hirta</i>	Provincia de La Rioja. Departamento Famatina. Camino a Campana. S 28° 33'; W 67° 38'. 1625 msm. Delbón, N. 3, 18-II-2009 (CORD). Provincia de La Rioja. Departamento Famatina. Campana, en un baldío de los alrededores del pueblo. S 28° 33'; W 67° 37'. 1640 msm. Barboza, G. E. 2460, 20-III-2010 (CORD).
<i>F. leptopoda</i>	Provincia de La Rioja. Departamento General San Martín. Ulapes Camping Municipal. S 31° 34'; W 66° 14'. 734 msm. Delbón, N. 4, 19-II-2009 (CORD). Provincia de La Rioja. Departamento General San Martín. Ulapes. Sierra de Ulapes, subiendo por el camino del Vía Crucis pasando la 7ma. estación de ascenso. S 31° 34'; W 66° 15'. 695 msm. Barboza, G. E. 2438, 18-III-2010 (CORD).
<i>F. niederleinii</i>	Provincia de La Rioja. Departamento Sanagasta. Pasando Sanagasta. Ruta Nacional N° 75, km. 45. S 29° 11'; W 67° 0,3'. 1212 msm. Delbón, N. 1. 16-II-2009 (CORD). Provincia de La Rioja. Departamento Sanagasta. En el Km 45,5 rumbo a Las Peñas. S 29° 11'; W 67° 3'. 1200 msm. Barboza, G. E. 2450, 19-III-2010 (CORD). Provincia de La Rioja. Departamento Chilecito. Desde Sañogasta rumbo a Guanchín. S 29° 16'; W 67° 36'. 1318 msm. Barboza, G. E. 2452, 19-III-2010 (CORD).
<i>F. oolepis</i>	Provincia de Córdoba. Departamento Punilla. Capilla del Monte, Dique El Cajón. S 30° 51'; W 64° 33'. 970 msm. Delbón 6, 20-II-2009 – Delbón 8, 21-III-2010. – 2011 – 2012
<i>F. tortuosa</i>	Provincia de Catamarca. Departamento Andalgalá. Andalgalá Camping La Aguadita, S 27° 32'; W 66° 17'. 1246 msm. Delbón, N. 2, 17-II-2009 (CORD). Provincia de Catamarca. Departamento Belén. 5 km antes de llegar a Londres y al río Quimivil viniendo desde Tinogasta. S 27° 44'; W 67° 10'. 1233 msm. Barboza, G. E. 2462, 20-III-2010 (CORD).

BIBLIOGRAFÍA

- ABRIL, A. & C. GONZÁLEZ. 1999. Dinámica de la fertilidad y de las poblaciones microbianas en suelos afectados por incendios en las Sierras de Córdoba (Argentina). *Agriscientia* 16: 63-70.
- ARIZA ESPINAR, L. 2000. Familia Asteraceae. Tribu Heliantheae. *Pródromo de la Flora Fanerogámica de Argentina Central* 2: 1-111. Museo Botánico, Fac. de C.E.F. y N., U.N.C., Córdoba.
- BALDWIN, B. 2009. Heliantheae alliance. In: FUNK, V. A., A. SUSANNA, T. F. STUESSY & R. J. BAYER (eds.), *Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae*, pp. 689-711. Sheridan Books, Inc., Ann Arbor, Michigan.
- BARBOZA, G., J. CANTERO, C. NUÑEZ & L. ARIZA ESPINAR. 2006. *Flora medicinal de la provincia de Córdoba (Argentina)*. Museo Botánico, Fac. de C.E.F. y N., U.N.C., Córdoba.
- CHARLES, H. & J. S. DUKES. 2007. Impacts of invasive species on ecosystem services. W. Nentwig (ed.), *Biological invasions*, pp. 217-237. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- CLARK, C. 1998. Phylogeny and adaptation in the Encelia Alliance (Asteraceae, Heliantheae). *Aliso* 17:89-98.
- DELBÓN, N. & C. EYNARD. 2006. Cultivo de *Flourensia oolepis* (Asteraceae). Libro de Resúmenes de la II Jornadas Nacionales de Flora Nativa y III Encuentro de Cactáceas.
- DILLON, M. O. 1984. A systematic study of *Flourensia* (Asteraceae, Heliantheae). *Fieldiana Bot.* 16: 1-67.
- ELLENBERG H. 1979. Man's influence on tropical mountain ecosystems in South America. *Journal of Ecology* 67:401-416.
- FEHLBERG, S. D. & T. A. RANKER. 2007. Phylogeny and biogeography of *Encelia* (Asteraceae) in the Sonoran and peninsular deserts of based on multiple DNA sequences. *Syst. Bot.* 31: 692-699.
- FUNK, A., A. SUSANNA, T. STUESSY & H. ROBINSON. 2009. Classification of Compositae. In: FUNK, V. A., A. SUSANNA, T. F. STUESSY & R. J. BAYER (eds.), *Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae*, pp. 171-192. Sheridan Books, Inc., Ann Arbor, Michigan.
- GIORGIS, M., A. CINGOLANI & M. CABIDO. 2013. El efecto del fuego y las características topográficas sobre la vegetación y las propiedades del suelo en la zona de transición entre bosques y pastizales de las sierras de Córdoba, Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 48: 493-513.
- GIORGIS, M., A. CINGOLANI, F. CHIARINI, J. CHIAPELLA, G. BARBOZA, L. ARIZA ESPINAR, R. MORERO, D. GURVICH, P. TECCO, R. SUBILS & M. CABIDO. 2011. Composición florística del Bosque Chaqueño Serrano de la provincia de Córdoba, Argentina. *Kurtziana* 36: 9-43.
- GIORGIS, M. A., A. CINGOLANI, D. E. GURVICH, N. REYNERO & S. RUFINI. 2005. Diferencias en la estructura de la vegetación del sotobosque entre una

- plantación de *Pinus taeda* L. (Pinaceae) y un matorral serrano (Cuesta Blanca, Córdoba). *Kurtziana* 31: 39-49.
- GURVICH, D. E., L. ENRICO & A. M. CINGOLANI. 2005. Linking plant functional traits with postfire sprouting vigour in woody species in central Argentina. *Austral Ecology* 30: 789–796.
 - HOFFMANN, O. 1894. Compositae. In: ENGLER, K. & A. PRANTL (ed.), *Die natuirlichen Pflanzen- familien*, pp. 87-391. Leipzig.
 - HOYOS, L. E., G. I. GAVIER-PIZARRO, T. KUEMMERLE, E. H. BUCHER, V. C. RADELOFF & P. A. TECCO. 2010. Invasion of glossy privet (*Ligustrum lucidum*) and native forest loss in the Sierras Chicas of Córdoba, Argentina. *Biol. Invasions* 12: 3261-3275.
 - JEFFREY, C. 2007. Compositae. Introduction with key to tribes. In: KADEREIT, J. W. & C. JEFFREY (eds.), *Families and Genera of Vascular Plants*, vol. VIII, Flowering Plants, Eudicots, Asterales, pp. 391-395. Springer-Verlag, Berlin.
 - KATINAS, L., D. GUTIERREZ, M. GROSSI & J. CRISCI. 2007. Panorama de la familia Asteraceae (=Compositae) en la República Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 42: 113-129.
 - KARIS, P. O. 1993. Heliantheae sensu lato (Asteraceae), clades and classification. *Plant Systemat. Evol.* 188: 139-195.
 - KRUCKEBERG, A. & D. RABINOWITZ. 1985. Biological aspects of endemism in higher plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 16: 447-479.
 - LUTI, R. 1979. In: VÁZQUEZ, J., R. MIATELLO & M. ROQUÉ. 1979. *Geografía física de la provincia de Córdoba*. 297-368 Ed. Boldt. Argentina.
 - MANI, M. S. & J. M. SARAVANAN. 1999. *Pollination ecology and evolution in Compositae (Asteraceae)*. Science Publishers, Inc., Enfield.
 - MACK, R. N., D. SIMBERLOFF, W. M. LONSDALE, H. EVANS, M. CLOUT & F. A. BAZZAZ. 2000. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecol. Applic.* 103: 689-710.
 - MATA, R., R. BYE, E. LINARES, M. MACIAS, I. RIVERO-CRUZ, O. PEREZ & B. TIMMERMANN. 2003. Phytotoxic compounds from *Flourensia cernua*. *Phytochemistry*. 64: 285–291.
 - PANERO, J. L. 2005. New combinations and infrafamilial taxa in the Asteraceae. *Phytologia* 87: 1-14.
 - PANERO, J. L. 2007a. Key to the tribes of the Heliantheae Alliance. In: KADEREIT, J. W. & C. JEFFREY (eds.), *Families and Genera of Vascular Plants*, vol. VIII, Flowering Plants, Eudicots, Asterales, pp. 391-395. Springer-Verlag, Berlin.
 - PANERO, J. L. 2007b. Compositae: tribe Heliantheae. In: KADEREIT, J. W. & C. JEFFREY (eds.), *Families and Genera of Vascular Plants*, vol. VIII, Flowering Plants, Eudicots, Asterales, pp. 440-477. Springer-Verlag, Berlin.
 - PANERO, J. L., R. K. JANSEN & J. A. CLEVINGER. 1999. Phylogenetic relationships of subtribe Ecliptinae (Asteraceae: Heliantheae) based on chloroplast DNA restriction site data. *Amer. J. Bot.* 86: 413-427.

- PRIMACK, R., R. ROZZI, P. FEINSINGER, R. DIRZO & F. MASSARDO. 2001. *Fundamentos de conservación biológica*. 1° edición. Fondo de cultura económica, México, D. F.
- RENISON, D., A. M. CINGOLANI & R. SUAREZ. 2002. Efectos del fuego sobre un bosquecillo de *Polylepis australis* (Rosaceae) en las montañas de Córdoba, Argentina. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 75: 719-727.
- ROBINSON, H. 1981. A Revision of the Tribal and Subtribal Limits of the Heliantheae (Asteraceae). *Smithsonian Contr Bot.* 51.
- ROBINSON, H., A. POWELL, R. KING & J. WEEDIN 1981. Chromosome numbers in Compositae XII: Heliantheae. *Smithsonian Contributions of Botany.* 52: 1-28.
- RODRIGUEZ, J. M., C. ESTRABOU, R. FENOGLIO, F. ROBBIATI, M. C. SALAS & G. QUIROGA. 2009. Recuperación post-fuego de la comunidad de líquenes epífitos en la provincia de Córdoba, Argentina. *Acta bot. bras.* 23: 854-859.
- SCHILLING, E. & J. L. PANERO. 2002. A revised classification of subtribe Helianthinae (Asteraceae: Heliantheae). I. Basal lineages. *Bot. J. Linn. Soc.* 140, 65-76.
- SIMPSON, B. 2009. Economic importance of Compositae. In: FUNK, V. A., A. SUSANNA, T. F. STUESSY & R. J. BAYER (eds.), *Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae*, pp. 45-58. Sheridan Books, Inc., Ann Arbor, Michigan.
- SOLBRIG, O., D. KYHOS, M. POWELL & P. RAVEN. 1972. Chromosome Numbers in Compositae VIII: Heliantheae. *Amer. J. Bot.* 59: 869-878.
- STUESSY, T. 1977. Heliantheae systematic review. In: HEYWOOD, V. H., J. B. HARBOME & B. L. TURNER. (eds.). *Biology and Chemistry of the Compositae*. pp. 621-671. Academic Press, London.
- TECCO, P. A., S. DÍAZ, D. E. GURVICH, N. PÉREZ-HARGUINDEGUY, M. CABIDO & G. A. BERTONE. 2007. Experimental evidence of positive association between exotic woody species: facilitation by *Pyracantha angustifolia* on *Ligustrum lucidum* sapling survival. *Appl. Veg. Sci.* 10: 211-218.
- TECCO, P. A., D. E. GURVICH, S. DÍAZ, N. PÉREZ- HARGUINDEGUY & M. CABIDO. 2006. Positive interaction between invasive plants: the influence of *Pyracantha angustifolia* on the recruitment of native and exotic woody species. *Austral Ecol.* 31: 293-300.
- TRILLO, C., P. DEMAIO, S. COLANTONIO & L. GALETTO. 2007. Conocimiento actual de plantas tintóreas por los pobladores del valle de Guasapampa, provincia de Córdoba. *Kurtziana* 33: 65-71.
- VERZINO, G., J. JOSEAU, M. DORADO, E. GELLERT, S. RODRÍGUEZ REARTES & R. NÓBILE. 2005. Impacto de los incendios sobre la diversidad vegetal, Sierras de Córdoba, Argentina. *Ecol. Apl.* 4: 25-34.
- VILLAMIL, C. B., A. E. DE VILLALOBOS & R. L. SCOFFIELD. 2010. Plantas endémicas de Argentina. www.lista-planear.org.
- ZARDINI, E. 1984. Etnobotánica de Compuestas Argentinas con Especial Referencia a su uso Farmacológico. *Acta Farmacol. Bonaerense* 3: 77-99.

CAPÍTULO 2: EXOMORFOLOGÍA Y ANATOMÍA DE ÓRGANOS VEGETATIVOS

INTRODUCCIÓN

En sentido amplio, la morfología se ocupa del estudio de la forma y estructura de las plantas y pretende interpretar la evolución y el desarrollo del individuo y sus órganos componentes. En un sentido estricto, la anatomía se refiere a la estructura interna, al nivel de organización celular y tisular. La anatomía o histología y la morfología son disciplinas separadas, aunque en realidad, se las encuentra íntimamente relacionadas. Los estudios anatómicos, en particular el tipo, número y disposición de los haces vasculares, proporciona una idea del posible origen, del desarrollo, las modificaciones y la función de los órganos (Dickison, 2000).

La sistemática es un amplio campo de investigación que utiliza información de muchas disciplinas, entre ellas la morfoanatomía, para llevar a cabo sus objetivos. Ellos son la descripción, identificación y clasificación de especies, además de la determinación de las relaciones entre ellas. Los datos anatómicos obtenidos del estudio de células y tejidos, han probado ser importantes para esclarecer las relaciones entre plantas superiores. Algunas de las características morfológicas y anatómicas son útiles para determinar tendencias filogenéticas, mientras que otras, delimitan familias, géneros o especies (Dickison, 2000).

En este sentido, el estudio de la epidermis foliar a sido muy importante, ya que las características epidérmicas, como el tipo, abundancia y distribución de estomas y presencia y tipo de tricomas, han sido utilizadas como carácter confiable en la taxonomía de numerosas familias (Doaigey & Harkiss, 1991; Maleci & Servettaz, 1991). En Asteraceae es muy común la presencia de tricomas, los cuales pueden presentar una gran variedad de formas y han sido históricamente utilizados para la

diferenciación de géneros y especies (Ramaya, 1962; De Morales Castro *et al.*, 1997).

Además, en la familia es habitual la presencia de estructuras secretoras, las más comunes son conductos, canales, ideoblastos, latisíferos, hidatodos o tricomas glandulares. Sus secreciones pueden contener diferentes compuestos químicos como terpenos, presentes en aceites esenciales y resinas, carbohidratos u otras sustancias, lo que les confiere un gran valor fitoquímico (Fahn, 1979, 1988, 2002; Evert, 2006; Jeffrey, 2007). Cada una de las estructuras a su vez puede presentar grandes variaciones morfoanatómicas, por lo que pueden ser considerados como un importante carácter taxonómico para diferenciar familias, géneros y hasta especies (De Morales Castro *et al.*, 1997).

En los últimos años, las especies del género *Flourensia* han cobrado gran importancia ya que sus resinas poseen un potencial valor económico; por ello, la mayoría de las investigaciones han sido dirigidas a caracterizar sus compuestos químicos y determinar los posibles usos.

Al respecto, en *F. oolepis* se identificaron los componentes del aceite esencial y se comprobó su efecto bactericida, insecticida, antifúngico y protector contra úlceras gástricas (Priotti *et al.*, 1997; Carrizo Flores *et al.*, 2005; Donadel *et al.*, 2005; Vaca Ruiz *et al.*, 2006; García *et al.*, 2007; Díaz Nepal *et al.*, 2009; Carpinella *et al.*, 2010; Joray *et al.*, 2011). Además, se estudiaron los compuestos químicos en *F. campestris*, *F. riparia* Griseb., *F. fiebrigii* (Uriburu *et al.*, 2004, 2005, 2007; Silva *et al.*, 2012), *F. blakeana* (Pacciaroni *et al.*, 2009), *F. heterolepis* (Bohlmann & Jakupovic, 1979), *F. thurifera* (Faini *et al.*, 1997; Urzúa *et al.*, 2007) y *F. cernua* (Rao *et al.*, 1970; Estell *et al.*, 1996; Tellez *et al.*, 1997). En esta última, se comprobó su acción antifúngica, fitotóxica, bactericida e insecticida (Tellez *et al.*, 2001; Gamboa Alvarado *et al.*, 2003; Mata *et al.*, 2003; Molina Salinas *et al.*, 2006; Gerrero Rodríguez *et al.*, 2007). Por su parte, Jasso de Rodríguez *et al.* (2007) reconocieron el efecto antifúngico de los extractos de *F. microphylla* (A. Gray) S. F. Blake, *F. cernua* y *F. retinophylla* S. F. Blake.

A pesar de esto, poco se sabe sobre la exomorfología y anatomía de los órganos vegetativos y de las estructuras responsables de las secreciones. Delbón *et al.* (2007a y b) analizaron en *Flourensia campestris* y *F. oolepis* la anatomía de los

órganos vegetativos y destacaron la presencia de 2 tipos de estructuras secretoras: tricomas glandulares y conductos esquizógenos. Además, observaron adaptaciones estructurales en respuesta al hábitat xérico en que habitan y a la acción de los herbívoros o patógenos.

Se concideran adaptaciones a las características que desarrollan los organismos como resultado de su interacción con el ambiente. Si bien el genotipo determina el curso del desarrollo de un organismo, la interacción de éste con diferentes factores ambientales, puede dar como resultado un nuevo fenotipo. Entre los factores abióticos, los más importantes son la temperatura y la disponibilidad de agua.

Así entendidas, las adaptaciones son una combinación de caracteres heredados que aumentan la probabilidad del organismo para sobrevivir y reproducirse en determinado ambiente. Como consecuencia, algunos organismos se adaptaron mejor a un ambiente determinado y son incapaces de sobrevivir en otro (Fahn & Cutler, 1992; Dickison, 2000).

Los xerófitos son plantas que crecen en suelos pobres en nutrientes, con escasas precipitaciones y expuestos a la alta radiación. Presentan adaptaciones anatómicas y fisiológicas que les permiten sobrevivir en lugares donde las condiciones ambientales son adversas. La selección natural en ellos ha dado lugar a numerosas modificaciones, relacionadas principalmente con el transporte y almacenamiento de agua y para evitar su pérdida por transpiración (Fahn & Cutler, 1992).

Teniendo esto en cuenta, el estudio de las hojas merece especial atención, ya que son consideradas como los órganos más variables de la planta y sus adaptaciones fueron históricamente usadas como indicadores de condiciones ambientales. Entre las características xeromórficas más comunes se pueden citar la reducción del tamaño foliar, la presencia de una epidermis con cutícula gruesa, abundantes estomas y tricomas, mesofilo con mayor proporción de parénquima en empalizada y presencia de cristales, taninos, aceites o resinas, entre otros (Fahn & Cutler, 1992; Dickison, 2000).

En este marco, los estudios anatómicos cobran especial interés, dado que permiten un detallado conocimiento de los órganos y tejidos, además de contribuir a esclarecer mecanismos de adaptación, alteraciones estructurales, detectar estructuras productoras de principios activos, así como también, aportar datos para su identificación.

OBJETIVOS

El objetivo general es estudiar la morfo-anatomía de los órganos vegetativos tanto del sistema caulinar como del radical, con especial referencia a las estructuras secretoras e indagar en las posibles adaptaciones al ambiente en que habitan.

Objetivos específicos:

- 1) Estudiar la exomorfología de las hojas.
- 2) Analizar y comparar las particularidades de la epidermis foliar.
- 3) Indagar en la anatomía de las hojas, tallos con crecimiento primario y secundario.
- 4) Estudiar las particularidades del leño.
- 5) Estudiar la anatomía radical, determinando la estructura primaria y secundaria de las raíces embrionarias y laterales.
- 6) Indagar en la morfoanatomía de los xilopodios, determinando el o los órganos involucrados y valorando su papel en la reproducción vegetativa.
- 7) Estudiar la ontogenia, anatomía, distribución y modo de secreción de las estructuras secretoras en todos los órganos.
- 8) Indagar en las posibles adaptaciones al ambiente en que habitan.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los estudios morfoanatómicos se realizaron en las seis especies de *Flourensia* del centro de Argentina, con material proveniente de las siguientes poblaciones:

F. campestris, Delbón 5, 20-II-2009. *F. hirta*, Delbón 3, 18-II- 009. *F. leptopoda*, Delbón 4, 19-II-2009. *F. niederleinii*, Delbón 1, 16-II-2009. *F. oolepis*, Delbón 6, 20-II-2009. *F. tortuosa*, Delbón 2, 17-II-2009 (ver datos completos en Tabla 1).

El estudio de las hojas y tallos se realizó en *F. hirta*, *F. leptopoda*, *F. niederleinii* y *F. tortuosa*, ya que *F. campestris* y *F. oolepis* fueron estudiadas con anterioridad (Delbón *et. al.* 2007 a-b).

De cada población se tomaron cuatro individuos al azar; se eligieron especímenes representativos de la especie, teniendo en cuenta tanto el tamaño como su aspecto general, para asegurarse que fueran individuos adultos y sanos. De ellos se tomaron muestras, las cuales fueron fijadas en FAA. Las hojas maduras fueron recolectadas en la zona apical de las ramas laterales.

Se estudiaron las características cuantitativas exomorfológicas de las hojas para lo cual se utilizaron cinco hojas de cada individuo (4 individuos por especie y 5 hojas por individuo). En la lámina y el pecíolo se midió el largo, el ancho y el espesor, y en la vena media el espesor. Además, se calculó el área foliar total (lámina y pecíolo) con el programa Leaf Area Measurement (Askew, 2003).

Con el programa InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2009) se calculó la media y el desvíos estándar de cada variable, se realizaron Análisis de Varianza y Test de Tukey (Scheffé, 1959; Sokal & Rohlf, 1981) con el objetivo de determinar si existen diferencias significativas entre las especies.

Para el análisis de la epidermis foliar se seleccionaron dos hojas de cada uno de los cuatro individuos y se realizaron extendidos de ambas caras. Los preparados temporarios se hicieron raspando la epidermis desde una cara de la hoja, hasta llegar a la cara opuesta, siguiendo la técnica de Metcalfe (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). De cada preparado se eligieron al azar tres campos (4 individuos por especie, 2 hojas por individuo y tres campos de cada cara para cada hoja) y se cuantificaron las células epidérmicas propiamente dichas y los estomas.

Con el programa InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2009) se calcularon las frecuencias medias y los desvíos estándares para ambas epidermis de cada especie. Las variables se compararon estadísticamente utilizando el mismo programa, se realizaron Análisis de Varianza y Test de Tukey (Scheffé, 1959; Sokal & Rohlf, 1981) con el objetivo de determinar si existen diferencias significativas entre las epidermis de cada especie y entre las especies.

Se determinó el índice estomático para ambas epidermis de cada especie, con la fórmula:

I.E.= (frecuencia de estomas / frecuencia de estomas + frecuencia de células epidérmicas) X 100 (Stace, 1965).

En el estudio de los tricomas se utilizó la clasificación y terminología propuesta por Ramayya (1962) para la familia Asteraceae.

La anatomía de la lámina foliar se analizó en preparados permanentes de cortes transversales de la región del tercio medio de la misma. El material conservado en FAA se deshidrató en una serie de alcohol etílico y xilol y se lo incluyó en histoplast. Se realizaron cortes microtómicos los cuales se colorearon con azul astral - fucsina básica y finalmente se montaron con bálsamo de Canadá (Kraus *et al.*, 1998).

Además, se realizaron preparados temporarios por pecíolos y tallos; para el estudio del pecíolo se trabajó con su parte media y proximal, mientras que el estudio del tallo con crecimiento primario y comienzo del secundario fue realizado en el primer y segundo entrenudo inmediatamente por debajo de la yema apical. Los cortes transversales fueron realizados a mano alzada, se tiñeron con azul astral – fucsina básica y se montaron con glicerina 50%.

El estudio del leño y corteza secundaria se realizó en las seis especies de *Flourensia*. Para ello se utilizaron tallos de aproximadamente 2 cm. previamente fijados en FAA, se hicieron cortes transversales, longitudinales radiales y longitudinales tangenciales con xilótomo, los cuales fueron teñidos con safranina-azul astral y montados con bálsamo de Canadá.

Para el análisis cuantitativo se eligieron al azar cuatro individuos de cada especie, se tomó una muestra de leño de cada uno y se realizaron cortes transversales. De

ellos se eligieron al azar 6 cortes y se contaron los vasos en todo el ancho del último anillo de crecimiento, siendo el ancho entre 3 y 5 campos (4 individuos por especie, 6 cortes de tallo por individuo y 3-5 campos por corte). Se calculó el promedio por cada individuo y luego se promediaron y calcularon los desvíos estándares para cada especie, los valores se expresaron como frecuencia de vasos en 1mm^2 .

Se realizaron preparados temporarios de macerados de leño, utilizando una sección de tallo de aproximadamente dos centímetros de diámetro y de largo, de un individuo; se utilizó con el método de Jeffrey (Johansen, 1940) y el material se montó con glicerina 50%. En estos se midió el diámetro y largo de los vasos y las fibras libriformes, tomándose 10 mediciones para cada variable.

Se calcularon con el programa InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2009) la media y el desvío estándar de todas las variables, luego fueron comparadas estadísticamente mediante análisis de la varianza y Test de Tuckey (Scheffé, 1959; Sokal & Rohlf, 1981).

Se determinaron los índices de vulnerabilidad y mesomorfía con las fórmulas de Carlquist (1977):

IV = diámetro de elementos de vaso/ frecuencia de vasos

IM = IV x longitud de elementos de vaso

El sistema radical fue estudiado en las dos especies de Córdoba, *F. campestris* y *F. oolepis* con material recolectado en 2010 (Delbón 7, 21-III-2010 y Delbón 8, 21-III-2010, respectivamente). Para conocer la estructura radical primaria se estudiaron raíces embrionarias de plántulas de un mes de edad. Se utilizaron 10 raíces por especie y se realizaron cortes transversales a cuatro diferentes alturas desde la base del hipocótilo hasta el ápice radical. Los mismos fueron realizados a mano alzada, coloreados con azul astral – fucsina básica y finalmente montados con glicerina 50%.

Con el fin de estudiar el sistema radical completo se utilizaron plantas enteras, para ello se eligieron al azar individuos jóvenes, menores de 1 m, a los cuales se excavó su sistema radical. In situ se realizaron observaciones de los xilopodios y se valoró su función en la reproducción vegetativa. Luego el material fue fijado en FAA.

A los individuos recolectados se les realizaron cortes transversales de raíz principal y xilopodio a diferentes alturas y de raíces laterales de diferentes grosores. Los cortes se hicieron a mano alzada cuando fuera posible, siguiendo la técnica descrita anteriormente. Los cortes de mayor diámetro fueron realizados con xilótomo y teñidos con azul astral – safranina, luego un pasaje por xilol y finalmente montados con bálsamo de Canadá.

RESULTADOS

HOJA

Exomorfología

Las cuatro especies de *Flourensia* estudiadas y las 2 ya conocidas son arbustos ramosos, resinosos, de entre 0,5 y 2 m, siendo *F. hirta* la que presentó menos altura. Las ramas jóvenes se observaron color verde a castaño oscuro, pubescentes y resinosas, con hojas alternas. Con la formación de la peridermis en el crecimiento secundario se vuelven color castaño oscuro (Fig.1 A-F).

Flourensia hirta presentó hojas angostamente lanceoladas, atenuadas hacia el ápice, con margen entero; mientras que, en *F. leptopoda* fueron rómbico-aovadas con margen aserrado o dentado. Por su parte, *F. niederleinii* y *F. leptopoda* presentaron márgenes siempre enteros y de forma aovada a lanceolada. Los pecíolos resultaron breves en *F. hirta* y *F. niederleinii* (Fig. 5 A-D).

Se observaron marcadas diferencias en el tamaño de las hojas, los resultados se muestran en la Tabla 3. Los análisis de varianza, con $p \leq 0,05$ y 1 grado de libertad, mostraron que existen diferencias significativas en todas las variables analizadas. Los test de Tukey indicaron entre qué especies hay diferencias. Cabe destacar que *F. tortuosa* presentó los mayores valores en todas las mediciones; en contraste, en *F. hirta* se observaron los menores valores en la mayoría de las variables.

TABLA 3. Características cuantitativas foliares en especies de *Flourensia*. Los resultados se muestran como media con su desvío estándar entre paréntesis, las mediciones se expresan en mm y el área en mm². Test de Tukey, diferentes letras indican diferencias significativas.

ESPECIES	Lámina largo	Lámina ancho	Lámina espesor	Vena espesor	Pecíolo largo	Pecíolo ancho	Pecíolo espesor	Área foliar
<i>Flourensia hirta</i>	49,75 (9,24) a	7,1 (1,07) a	0,32 (0,06) ab	0,55 (0,09) a	2,33 (0,61) a	1,15 (0,22) a	0,61 (0,13) a	258,04 (74,03) a
<i>F. leptopoda</i>	44,55 (6,92) a	22,9 (2,85) c	0,28 (0,06) a	0,65 (0,12) b	8,8 (2,21) c	1,33 (0,13) a	0,93 (0,15) b	659,37 (178,67) b
<i>F. niederleinii</i>	63,15 (13,16) b	11,65 (2,01) b	0,32 (0,09) ab	0,61 (0,11) ab	6,5 (2,28) b	1,18 (0,22) a	0,78 (0,19) b	541,58 (205,01) b
<i>F. tortuosa</i>	75,45 (12,36) c	25,05 (4,86) c	0,38 (0,09) b	0,89 (0,1) c	9,2 (2,69) c	2,03 (0,35) b	1,38 (0,2) c	1385,25 (80,66) c

Epidermis foliar

Las células epidérmicas propiamente dichas presentaron formas irregulares en ambas caras, las paredes anticlinales fueron sinuosas en *F. hirta* (Fig. 6 A) y ligeramente sinuosas en las otras 3 especies (Fig. 6 B-D). En todas las especies, los estomas se diferencian en ambas caras foliares, resultaron de tipo anomocítico, ya que carecieron de células auxiliares y se hallaron rodeados por 4 a 6 células epidérmicas propiamente dichas (Fig. 6 A-D).

Se presentaron tres tipos de tricomas:

- Eglándular Filiforme Simple: Pie simple, unicelular. Cuerpo pluricelular, uniseriado, entero, formado por 3 a 6 células isodiamétricas, finalizando en una célula apical alargada con contenido algo oscuro, opaco, dado posiblemente por la presencia de sustancias pécticas (Fig. 6 E). Fueron frecuentes en todas las especies, en ambas caras de las hojas y siguiendo la venación.

- Eglándular Cónico Simple: pluricelular uniseriado, entero de forma cónica y con su extremo ahusado, formado por 2 ó 3 células de diferente longitud (Fig. 6 F - G). Fueron escasos en *F. niederleinii* y *F. leptopoda* y frecuentes en *F. tortuosa* y *F. hirta*; en ésta última, fueron de mayor tamaño y abundantes en los bordes de las hojas.

- Glandular Vesicular Biseriado – subtipo β : pie compuesto, bicelular biseriado. Cuerpo biseriado, entero, de forma oblonga, compuesto por cuatro o cinco pares de células de contenido denso (Fig. 6 H - I). Abundantes en todas las especies, en ambas caras foliares y en especial siguiendo la venación.

En la Tabla 4 se muestran la media y desvío estándar de las variables frecuencias de estomas y de células epidérmicas propiamente dichas, para ambas epidermis de cada especie. Se realizaron comparaciones entre las epidermis de cada especie, por separado, para las variables mencionadas. Los resultados del análisis de varianza mostraron que la frecuencia estomática es significativamente diferente entre las epidermis de *F. tortuosa*, *F. niederleinii* y *F. leptopoda*, siendo en todos los casos mayor en el hipofilo; en *F. hirta* no se encontraron diferencias significativas. La frecuencia de células epidérmicas sólo fue significativamente diferente entre las epidermis foliares de *F. tortuosa*, siendo menor en el epifilo.

Luego se comparó la frecuencia de estomas del hipofilo y epifilo de todas las especies. Los análisis de varianza (con $p \leq 0,05$ y 3 grados de libertad) indicaron que existen diferencias significativas en ambas variables. Los resultados del test de Tuckey (Tabla 5) mostraron que, teniendo en cuenta las frecuencias estomáticas de los hipofilos, *F. tortuosa* y *F. hirta* forman un grupo con valores bajos mientras que *F. niederleinii* y *F. leptopoda* forman otro grupo con valores altos.

Por otro lado, teniendo en cuenta la frecuencia estomática de los epifilos, las especies se distribuyeron en tres grupos, *F. tortuosa* con un valor muy bajo, *F. hirta* y *F. niederleinii*, con valores intermedios y finalmente *F. leptopoda* con un valor comparativamente muy alto.

TABLA 4. Características cuantitativas epidérmicas para cada cara foliar de cada especie de *Flourensia*. Las variables frecuencias estomática y de células epidérmicas propiamente dichas se expresan como media con su desvío estándar entre paréntesis. **IE**= índice estomático. Anova con $p \leq 0,05$ y 1 grado de libertad. * = diferencias significativas entre las caras de la misma especie.

ESPECIES	Cara foliar	Frecuencia Estomática	Frecuencia células Epidérmicas	Índice Estomático
<i>Flourensia hirta</i>	Hipofilo	123,68 (25,85)	845,83 (164,13)	12,76
	Epifilo	115,35 (18,7)	937,50 (190,68)	10,96
<i>F. leptopoda</i>	Hipofilo	182,29 (53,2)	1083,33 (318,51)	14,4
	Epifilo	149,02 (33,15) *	1145,83 (317,57)	11,51
<i>F. niederleinii</i>	Hipofilo	169,34 (31,77)	1141,98 (186,52)	12,91
	Epifilo	124,45 (31,49) *	1198,56 (190,84)	9,41
<i>F. tortuosa</i>	Hipofilo	135,86 (27,46)	1433,33 (205,72)	8,66
	Epifilo	81,39 (39,66) *	1300,00 (164,18) *	5,89

TABLA 5. Test de Tuckey, comparación entre los hipofilos y epifilos de todas las especies para la variable frecuencia estomática. Se incluyen las medias para su mejor visualización. Diferentes letras representan diferencias significativas.

ESPECIES	HIPOFILO	EPIFILO
<i>F. tortuosa</i>	135,86 a	81,39 a
<i>F. hirta</i>	123,68 a	115,35 b
<i>F. niederleinii</i>	169,34 b	124,45 b
<i>F. leptopoda</i>	182,29 b	149,02 c

Lámina

La epidermis es unistratificada, con cutícula gruesa y células epidérmicas propiamente dichas comprimidas en transcorte (Fig. 7 A - D).

El mesofilo presentó estructura isolateral, el parénquima en empalizada se encontró muy desarrollado en comparación con el esponjoso que fue escaso; este último resultó algo laxo en *F. leptopoda* (Fig. 7 B) y más compacto en las otras especies (Fig. 7 A, C y D).

Hacia la cara inferior se pudieron encontrar mayor cantidad de espacios intercelulares y cámaras subestomáticas las cuales pueden alcanzar un gran desarrollo (Fig. 7 A-D).

El sistema vascular estuvo representado por haces colaterales. En general, salvo en los más pequeños, los acompañaron grupos de fibras que se ubicaron por fuera del floema. Todos los haces se hallaron incluidos en una vaina de células parenquimáticas, en los haces mayores, ésta se prolongó hacia ambas epidermis constituyendo las extensiones de la vaina (Fig. 7 E-H) y frecuentemente se encuentran conductos secretores (Fig. 7 C-D).

La vena media presentó de un sólo haz central en *F. hirta* (Fig. 7 E) y *F. leptopoda* (Fig. 7 F), tres en *F. niederleinii* (Fig. 7 G) y cinco en *F. tortuosa* (Fig. 7H); algunos haces estuvieron acompañados por fibras.

En todas las especies los conductos secretores se diferenciaron con mayor frecuencia hacia el floema, siendo los de *F. hirta* los que tuvieron mayor diámetro (Fig. 7 E). Se observaron como espacios largos que recorren longitudinalmente al órgano, limitados por un epitelio unistratificado de células secretoras que presentaron contenido denso. Estos espacios resultaron de origen esquizógeno, es decir, originados por separación de las paredes de las células vecinas, sin que éstas se desintegren.

Pecíolo

La epidermis fue unistratificada y la cutícula gruesa. Se encontraron abundantes tricomas, en especial del tipo glandular. Por debajo de la epidermis se observaron 2 ó 3 estratos de colénquima angular compacto y por dentro la misma cantidad de

clorénquima y luego parénquima de reserva. En los estratos internos, próximos a los haces vasculares, se ubicaron los conductos secretores (Fig. 8 A-D).

Los hacecillos vasculares fueron colaterales cerrados y en general estuvieron acompañados por fibras perivasculares. En *F. hirta* (Fig. 8 A) se observaron 3 a 5 hacecillos y conductos secretores sólo hacia el hipofilo. En *F. leptopoda* (Fig. 8 B) y *F. niederleinii* (Fig. 8 C), 3 a 7 hacecillos y los conductos secretores se encuentran hacia ambas caras. *F. tortuosa* (Fig. 8 D) presentó 5 a 9 hacecillos y los conductos secretores fueron de mayor diámetro y se diferenciaron hacia el hipofilo, con poca frecuencia aparecieron algunos hacia el epifilo.

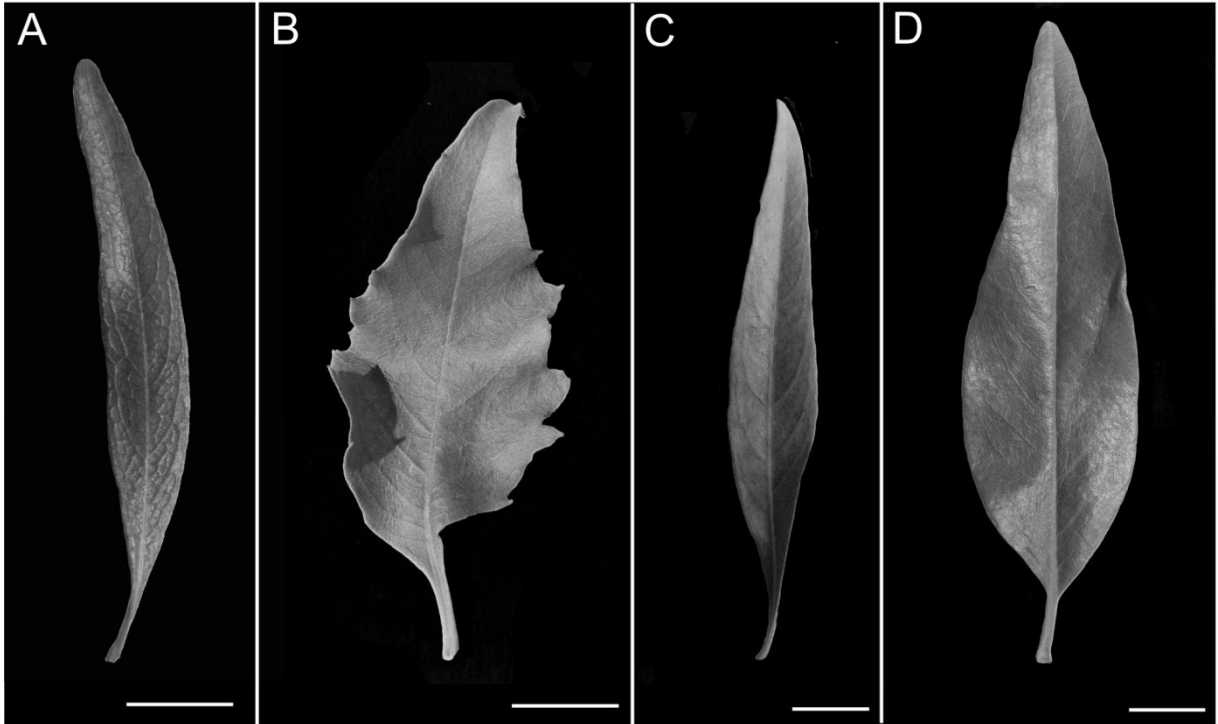


Figura 5. Exomorfología foliar. A: *Flourensia hirta*. B: *F. leptopoda*. C: *F. niederleinii*. D: *F. tortuosa*. Escala: 10 mm.

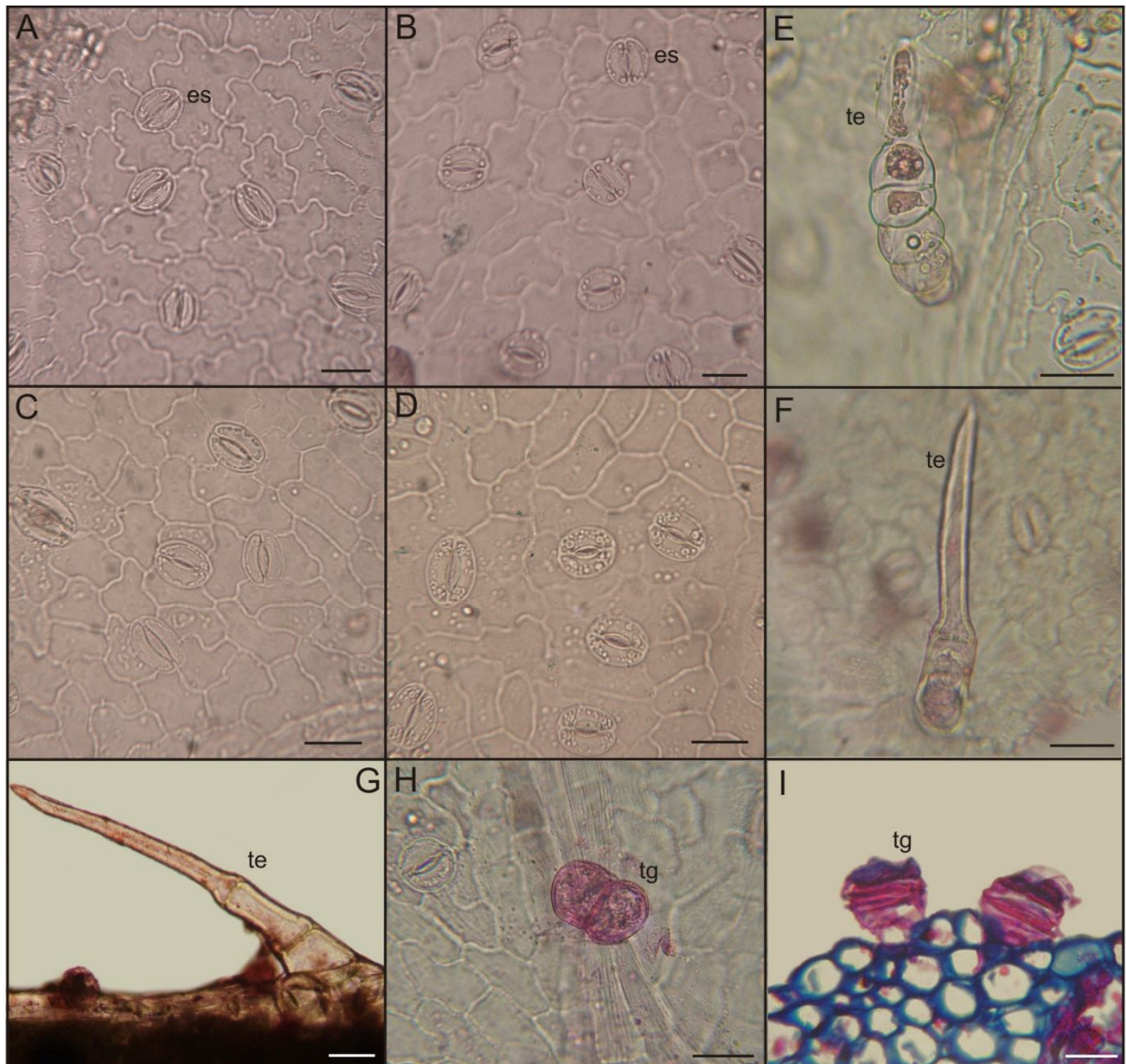


Figura 6. Epidermis foliar. **A, E y G:** *Flourensia hirta*. **B:** *F. leptopoda*. **C y I:** *F. niederleinii*. **D, F y H:** *F. tortuosa*. **A-D:** epidermis inferior en vista superficial. **E-G:** tricomas eglandulares en vista superficial. **H:** tricoma glandular en vista superficial. **I:** tricoma glandular en corte transversal. Escala: 30 μ m. Abreviaturas: es: estoma, te: tricoma eglandular, tg: tricoma glandular.

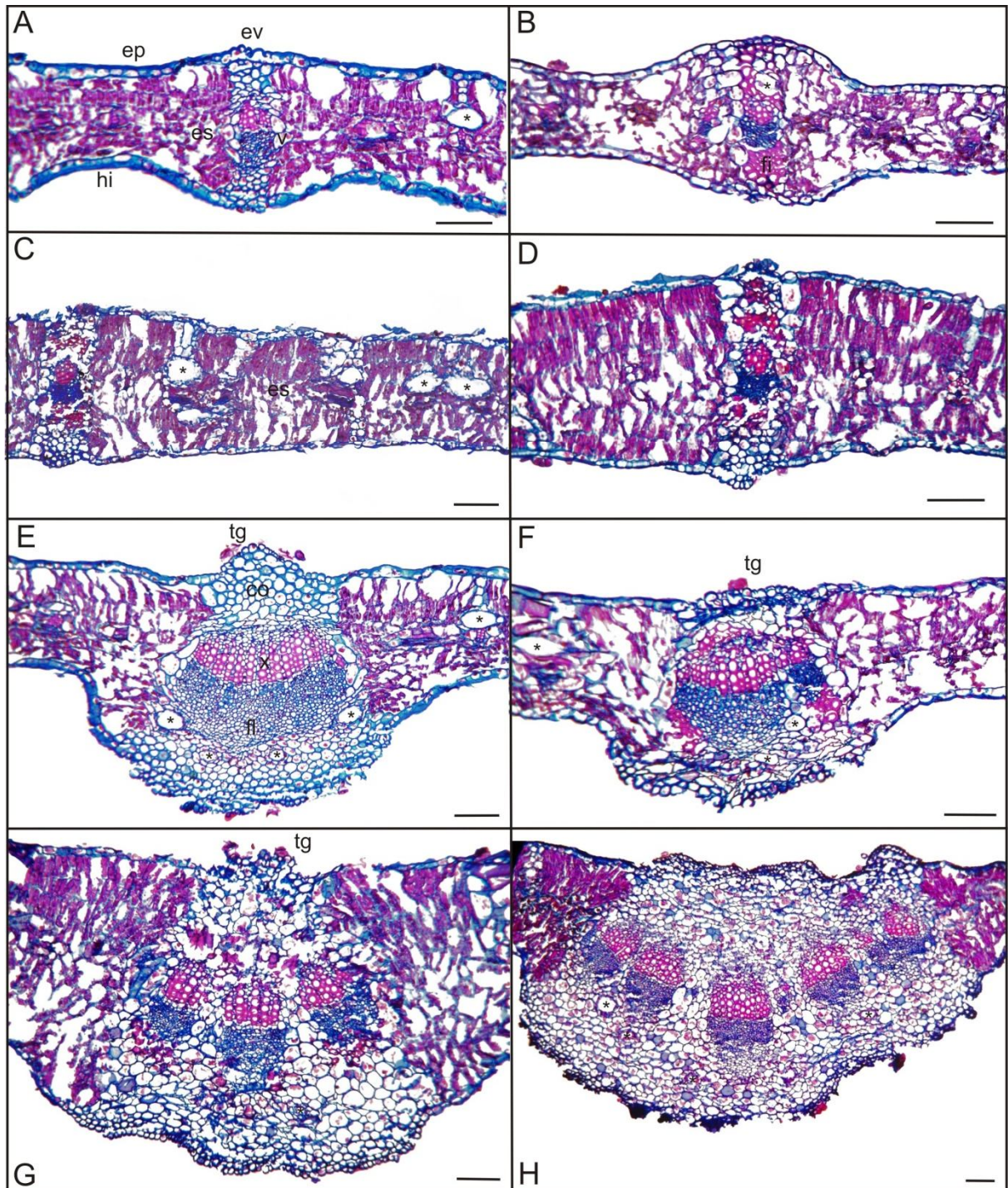


Figura 7. Anatomía de lámina foliar. A y E: *Flourensia hirta*. **B y F:** *F. leptopoda*. **C y G:** *F. niederleinii*. **D y H:** *F. tortuosa*. **A-D:** Corte transversal por hoja a la altura del mesofilo y **E-F:** vena media. Escala: 100 μm . Abreviaturas: co: colénquima, es: parénquima esponjoso, ep: epifilo, ev: extensiones de la vaina, fi: fibras, fl: floema, hi: hipofilo, tg: tricoma glandular, v: vaina, x: xilema, * conductos secretores.

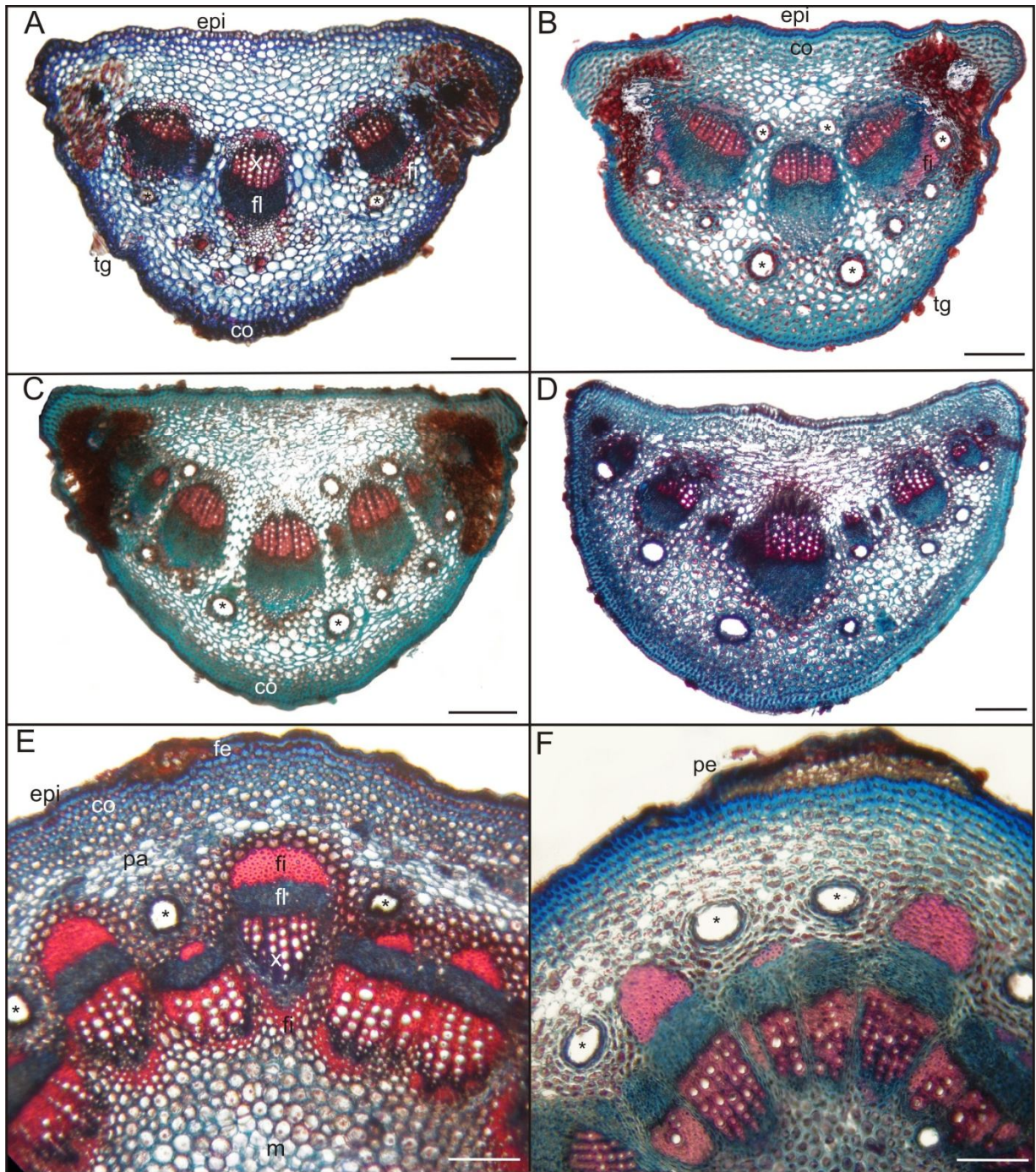


Figura 8. Anatomía de peciolo y tallo. A: *Flourensia hirta*. **B y F:** *F. leptopoda*. **C:** *F. niederleinii*. **D y E:** *F. toutuosa*. **A-D:** corte transversal por peciolo. **E:** corte transversal de tallo primario y **F:** tallo con comienzo de crecimiento secundario. Escalas: A-D: 200 μ m. E - F: 150 μ m. Abreviaturas: co: colénquima, epi: epidermis, fe: felógeno, fi: fibras, fl: floema, m: médula, pe: peridermis, x: xilema, * conductos secretores.

TALLO

Crecimiento primario

Resultaron circulares en corte transversal. La epidermis fue unistratificada con cutícula engrosada y los tricomas fueron abundantes en las partes jóvenes en especial los glandulares. Por debajo de la epidermis se encontraron 4 a 6 estratos de colénquima angular y 5 a 7 de clorénquima. Se observaron conductos secretores en el parénquima cortical, próximos al sistema vascular; además, unos pocos conductos aparecieron en la médula. El tejido vascular se dispuso inicialmente formando una eustela. Los haces fueron colaterales abiertos y estuvieron separados por parénquima interfascicular, los haces mayores presentaron un casquete notable de fibras por fuera del floema y en menor cantidad hacia la médula (Fig. 8 E-F).

El crecimiento en espesor, comenzó en estados tempranos del desarrollo de los tallos. El felógeno en todas las especies, tuvo su origen en el primer estrato de células corticales, inmediatamente por debajo de la epidermis y forma la peridermis. Como consecuencia de la actividad del cámbium, el volumen de los tejidos vasculares aumentó, la eustela perdió su forma ya que los haces se unieron y formaron un cilindro continuo (Fig. 8 F).

Crecimiento secundario

Externamente, los tallos con crecimiento secundario mostraron una coloración marrón oscuro (Fig. 9 A-C), al cortarlos o dañarlos secretaron una gran cantidad de resina color amarillo – anaranjado (Fig. 9 A y B). En los cortes transversales pudo observarse que las resinas eran secretadas en la corteza, específicamente en el floema secundario (Fig. 9 D y E). Además, se observaron zonas en las cuales el centro del leño se encontraba teñido de marrón – rojizo, formando un duramen, las cuales siempre estaban asociadas a heridas internas o superficiales (Fig. 9 E y F).

Anatómicamente, la corteza presentó una peridermis desarrollada, como tejidos de protección, formada de numerosas capas de súber y pocas de felodermis. La corteza primaria se mantuvo por un tiempo, presentó grupos de fibras y conductos secretores. En el floema secundario se encontraron gran cantidad de conductos secretores y grupos de fibras. Los radios floemáticos se continuaron con los del xilema, ensanchándose hacia la corteza (Fig. 10 A y B).

En general, el primer anillo de crecimiento y el xilema primario se encontraron con sus vasos obliterados, formando el duramen. La sustancia contenida en los vasos resultó ser resinosa, igual que la secretada por los conductos. En la médula, compuesta de células parenquimáticas, se encontraron conductos secretores con las mismas características descritas anteriormente (Fig. 10 C y D).

Los anillos de crecimiento fueron marcados, la porosidad varió de semicircular a circular. En el leño temprano se observó mayor densidad de vasos y de diámetro algo mayor, en tanto que en el leño tardío fueron abundantes las fibras (Fig.11 A-F).

Los vasos se encontraron en general agrupados y acompañados de traqueadas. El parénquima axial no fue muy abundante y se distribuyó rodeando los vasos, por lo que fue escasamente paratraqueal (Fig.12 A y B).

En los cortes longitudinal tangencial se observó que los radios eran 1-4 seriados. Se vio que los miembros de vaso eran cortos y se pudo distinguir las traqueidas de las fibras (Fig.12 C y D). en los cortes longitudinal radial se observó que los radios son homogéneos, es decir formados solo por células procumbentes (Fig.12 E).

En los materiales macerados pudo observarse que algunos elementos de vasos presentaron prolongaciones en el extremo de sus paredes y engrosamientos helicoidales; en todos los casos las puntuaciones fueron areoladas y las placas perforadas simples. Se encontraron fibras libriformes y fibrotraqueidas con engrosamientos helicoidales (Fig. 12 F y G).

En la tabla 4 se muestran los valores de ancho y largo de los elementos de vaso y de las fibras libriformes. Se realizaron comparaciones entre las especies para las cuatro variables mencionadas, los análisis de varianza (con $p \leq 0,05$ y 5 grados de libertad) mostraron diferencias significativas en todas las variables, excepto en el diámetro de las fibras.

Los resultados del test de Tuckey indicaron que para la variable diámetro de vaso existieron diferencias significativas entre *F. leptopoda* que presentó el valor mayor y *F. campestris*, *F. niederleinii* y *F. oolepis* con los menores valores. Para la variable largo de vaso, *F. campestris* y *F. leptopoda* mostraron valores mayores y significativamente diferentes a las restantes especies. Finalmente, el largo de las fibras en *F. campestris* y *F. oolepis* fue mayor y significativamente diferente a las demás especies.

La densidad de vasos resultó alta (Tabla 6), varía entre 140,19 y 233,77. Los índices de vulnerabilidad variaron entre 0,20 - 0,31 lo que indica que la conducción de agua es muy segura; mientras que, los índices de mesomorfía se encontraron entre 27,41 y 48,42 lo que corresponde a plantas xeromórficas.

TABLA 6. Características cuantitativas de leño en especies de *Flourensia*. Las variables se expresan en milímetros, como media con su desvío estándar entre paréntesis. Test de Tukey con $p \leq 0,05$, diferentes letras indican diferencias significativas. **IV**= Índice de Vulnerabilidad, **IM**= Índice de Mesomorfía.

ESPECIES	Diámetro vasos	Largo vasos	Diámetro fibras	Largo fibras	Densidad vasos	IV	IM
<i>Flourensia campestris</i>	0,03 (0,01) a	0,17 (0,03) c	0,01 (0,002)	0,59 (0,11) bc	140,19 (36,23)	0,31	48,42
<i>F. hirta</i>	0,04 (0,02) ab	0,14 (0,02) ab	0,01 (0,004)	0,43 (0,08) a	164,94 (40,08)	0,27	36,94
<i>F. leptopoda</i>	0,06 (0,01) b	0,17 (0,03) bc	0,01 (0,002)	0,5 (0,08) ab	233,77 (39,98)	0,24	40,23
<i>F. niederleinii</i>	0,03 (0,01) a	0,14 (0,02) a	0,01 (0,003)	0,45 (0,08) a	144,63 (27,027)	0,22	29,74
<i>F. oolepis</i>	0,03 (0,01) a	0,13 (0,03) a	0,02 (0,004)	0,66 (0,07) c	160,16 (19,69)	0,20	27,41
<i>F. tortuosa</i>	0,04 (0,02) ab	0,14 (0,01) ab	0,02 (0,002)	0,48 (0,08) b	165,09 (29,52)	0,25	35,96



Figura 9. Exomorfología de tallo con crecimiento secundario. Vista externa general de **A:** *Flourensia niederleinii*. **B:** *F. hirta*. **C:** *F. tortuosa*. Nótese en A y B la gran cantidad de resina secretada en las heridas. Corte transversal de **D:** *F. oolepis*, con gran cantidad de resina en la corteza. **E:** *F. campestri* con resina en la corteza y heridas en el duramen. **F:** *F. leptopoda* con una herida antigua y duramen. Abreviaturas: a: albura, c: corteza, d: duramen, le: leño, punta de flecha: secreción resinosa. Escala: 1 cm.

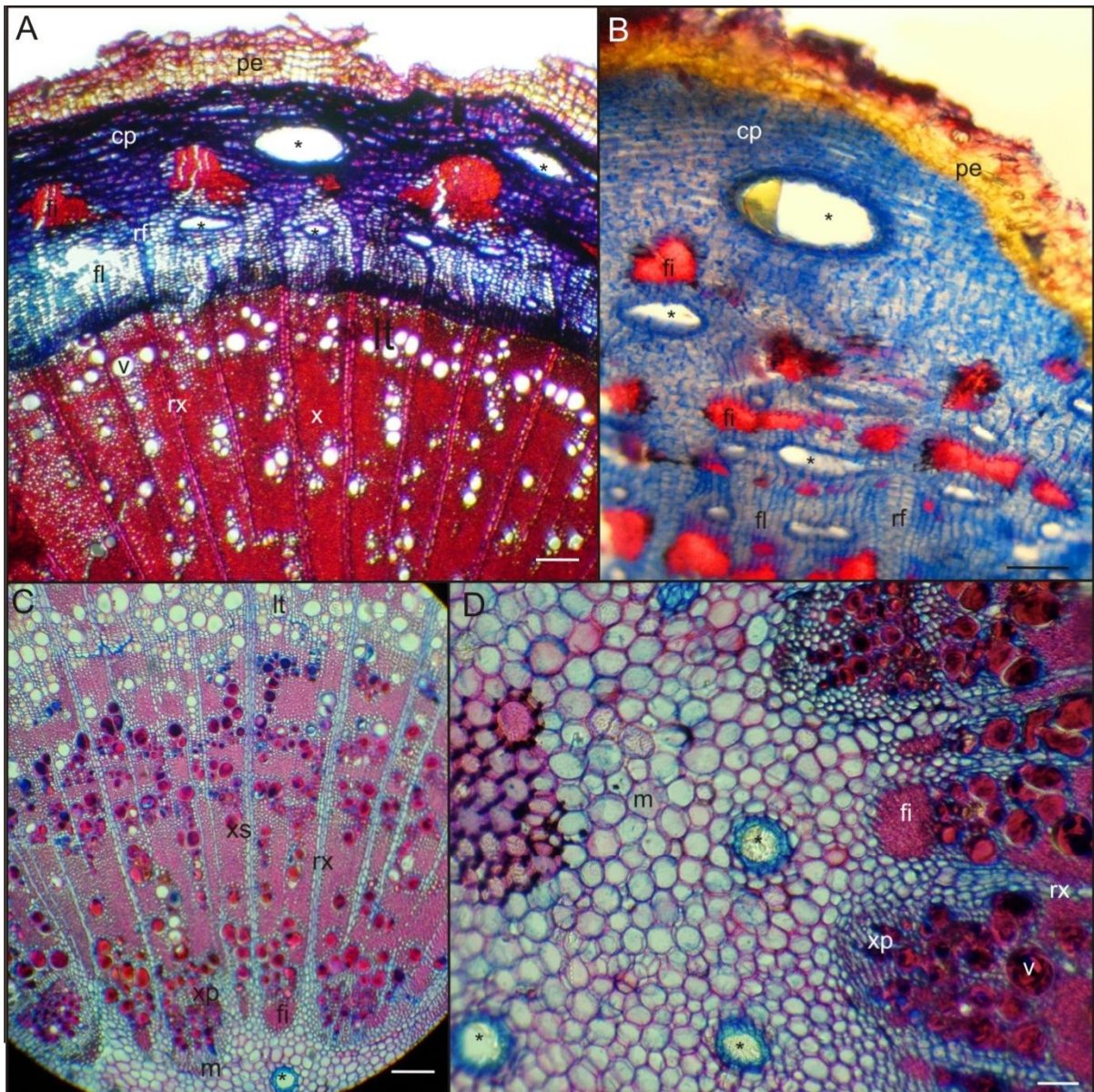


Figura 10. Anatomía de tallo secundario. A, C y D: *Flourensia campestris*. B: *F. oolepis*. A: vista general de corteza y leño. **B:** detalle de corteza con conducto secretor. **C:** médula con conductos y primer anillo de crecimiento con poros obliterados. **D:** detalle de médula con conductos secretores y xilema primario obliterado. Escalas: A-C: 80µm. D: 45 µm. Abreviaturas: cp: corteza primaria, fi: fibras, fs: floema secundario, lt: leño temprano, m: médula, pe: peridermis, rf: radio floemático, rx: radio xilemático, v: vaso, xp: xilema primario, xs: xilema secundario, * conductos secretores.

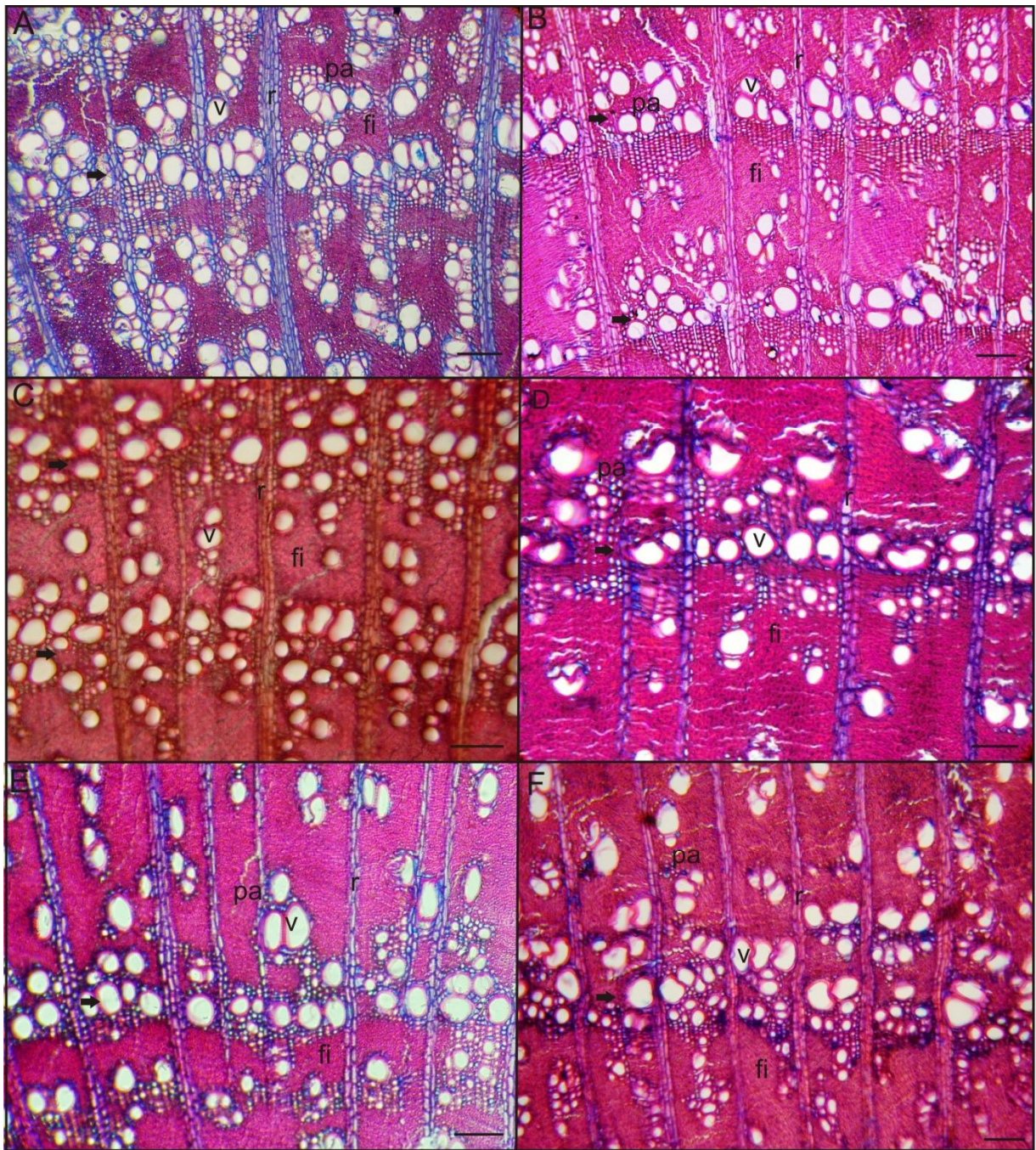


Figura 11. Anatomía de leño. Corte transversal. **A:** *Flourensia campestris*. **B:** *F. hirta*. **C:** *F. leptopoda*. **D:** *F. niederleinii*. **E:** *F. oolepis*. **F:** *F. tortuosa*. Escala: 90µm. Abreviaturas: fi: fibras, pa: parenquima vertical, r: radio, v: vaso. Las flechas indican el leño temprano.

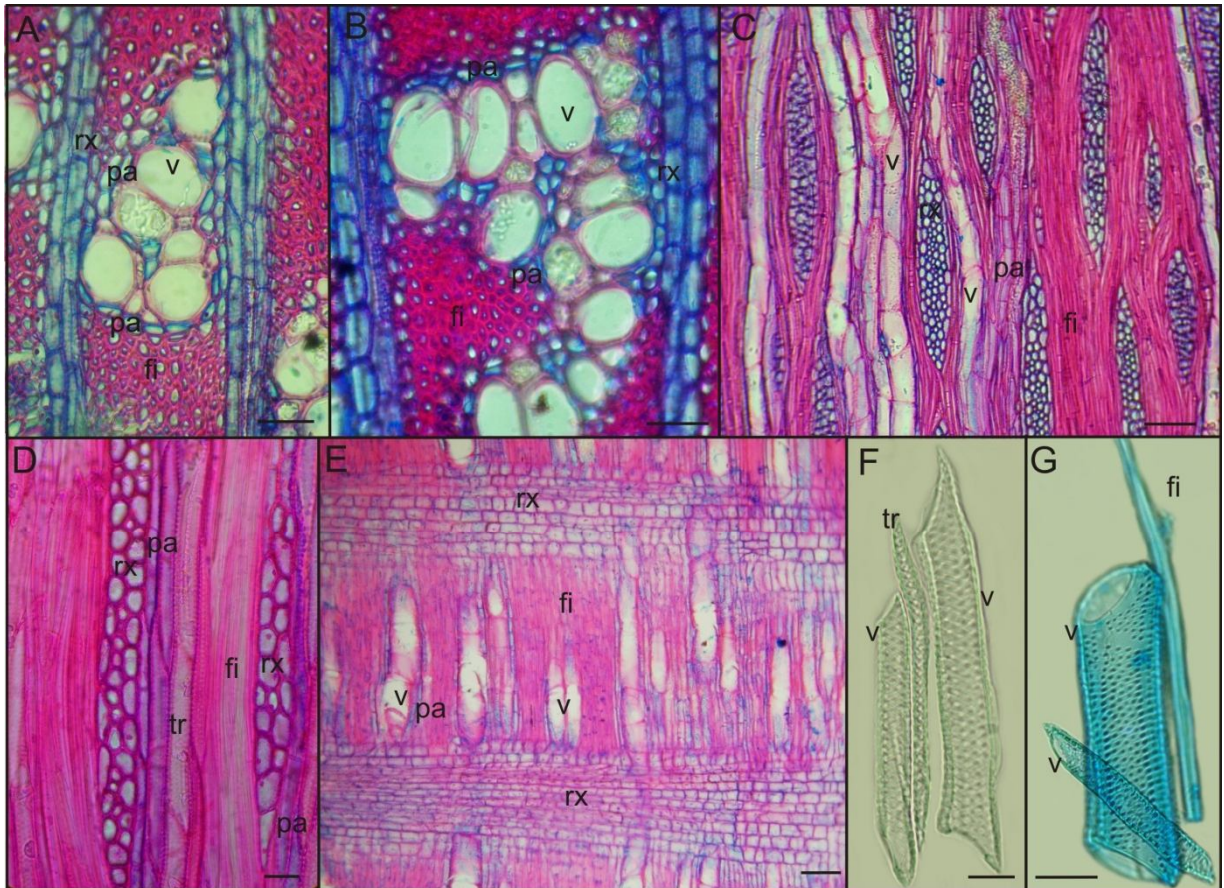


Figura 12. Anatomía del leño. **A.** *Flourensia olepis*. **B-E:** *F. campestris*. **F:** *F. niederleinii*. **G:** *F. leptopoda*. **A-B:** detalle de grupo de poros en corte transversal. **C:** corte longitudinal tangencial y **D:** detalle de radios. **E:** corte longitudinal radial. **F:** macerado mostrando vasos y traqueidas y **G:** macerado mostrando vasos de diferentes diámetros y una fibra libriforme. Abreviaturas: fi: fibras, pa: parénquima axial, rx: radio xilemático, tr: traquida, v: vaso. Escala: 50 μ m. C y E: 100 μ m.

RAÍZ

El sistema radical es alorrizo, en el cual se diferenció una raíz principal y raíces laterales. En plántulas joven se observó un engrosamiento en la base de la raíz principal, por debajo del nivel del suelo, el cual se consideró el comienzo del desarrollo del xilopodio, en ese engrosamiento se diferenciaron numerosas yemas (Fig. 13 A y B; Fig. 14 D).

El xilopodio siguió su desarrollo volviéndose más voluminoso (Fig. 13 C y D), hasta que finalmente su forma fue irregular, con una corteza rugosa. Presentó numerosas yemas, las cuales pueden originar tanto brotes y ramas laterales, como así también raíces adventicias (Fig. 13 E y F; Fig. 14 E y F).

En *Flourensia campestris* se comprobó que luego de un incendio, el cual quemó totalmente la parte aérea de las plantas, éstas rebrotaron desde la base (Fig. 14 A y B). Cuando se indagó en el origen de estos brotes se pudo comprobar que se desarrollaron a partir de yemas del xilopodio que nacían por debajo del nivel del suelo (Fig. 14 C - F).

No se observó que se desarrollen nuevas plantas a partir del xilopodio, por lo que este órgano no tendría ninguna función en la reproducción vegetativa, si en cambio en la recuperación de la planta dañada.

En cuanto a la anatomía de las raíces con estructura primaria, en sección transversal, tanto la raíz principal como de las laterales, presentaron epidermis unistratificada con células comprimidas de paredes tangenciales externas algo engrosadas. La corteza constó de 5 ó 6 estratos de células parenquimáticas redondeadas; la exodermis se compuso de un estrato de células algo mayores que las parenquimáticas subyacentes; mientras que, las células de la endodermis se observaron más pequeñas. El periciclo fue uni o bi estratificado, con células de paredes delgadas. Con respecto al cilindro central, la raíz principal presentó dos, tres o cuatro polos de protoxilema que alternaron con el floema; mientras que, las raíces laterales presentaron entre tres y cinco polos. El metaxilema ocupó la zona central, por lo que la raíz careció de médula (Fig. 15 A y B).

El crecimiento secundario comenzó temprano en el desarrollo de las raíces, cuando estas alcanzaron aproximadamente entre 1 y 2 mm, y se evidenció por la

actividad tanto del cámbium como del felógeno. En la zona central, donde se hallaba el metaxilema, aparecieron fibras con paredes gruesas. El cámbium comenzó a formar abundante xilema secundario y escaso floema secundario. Se formaron conductos secretores esquizógenos, generalmente se hallaron de a pares en la corteza, hacia fuera de los polos de floema. El felógeno formó la peridermis que constó de células suberificadas de forma irregular y felodermis (Fig. 15 C).

El crecimiento secundario continuó con la normal actividad tanto del cámbium como del felógeno, observándose una gran producción de súber y el colapso de las capas de células de la corteza primaria (Fig. 15 D).

Cuando la raíz alcanzó un diámetro de 2 a 3 mm se observaron grandes grupos de fibras hacia dentro de los conductos, entre éstos y los polos de floema que todavía se visualizaban, de modo que hay tantos grupos de fibras y pares de conductos, como polos de floema primario (Fig. 15 E).

En raíces con mayor diámetro se pudo observar anillos de crecimiento formados por la actividad estacional del cámbium, la porosidad fue circular con abundantes fibras. El floema secundario en este punto fue abundante y continuo, en él se formaron nuevos conductos secretores de menor tamaño. Aparecieron numerosos grupos de fibras de diversos tamaños y la corteza primaria colapsó por completo junto con los conductos secretores (Fig. 15 F).

El estudio anatómico del xilopodio reveló que corresponde a una modificación que comprende parte del tallo y de la raíz. Cortes en ambos órganos se muestran en la Fig. 16. En ellos se observó un desarrollo secundario normal, con numerosos anillos de crecimiento de porosidad circular. Los vasos no resultaron abundantes y en cambio se encontraron gran cantidad de fibras; los radios se destacaron por su abundancia y desarrollo. La corteza secundaria se halló desarrollada, con conductos secretores y grupos de fibras en el floema secundario (Fig. 16 D). En los cortes por xilopodio a la altura de la raíz se encontró que el xilema primario en la zona central, presenta un número variable de polos de metaxilema; en la Fig. 16 B y C se muestran tres de esos polos. En los cortes a la altura del tallo se observó una médula parenquimática (Fig. 16 F).



Figura 13. Exomorfología y desarrollo de xilopodio. *Flourensia olepis*. **A:** plantula joven con xilopodio incipiente y **B:** detalle a la altura del cuello de la raíz principal. **C:** plantula con mayor desarrollo del xilopodio y **D:** detalle de xilopodio con yemas. **E:** planta joven y **F:** detalle de xilopodio con yemas y raíces laterales. Abreviaturas: ra: raíz adventicia, r: raíz lateral, rp: raíz principal, y: yema, x: xilopodio. Escala: 2 cm.

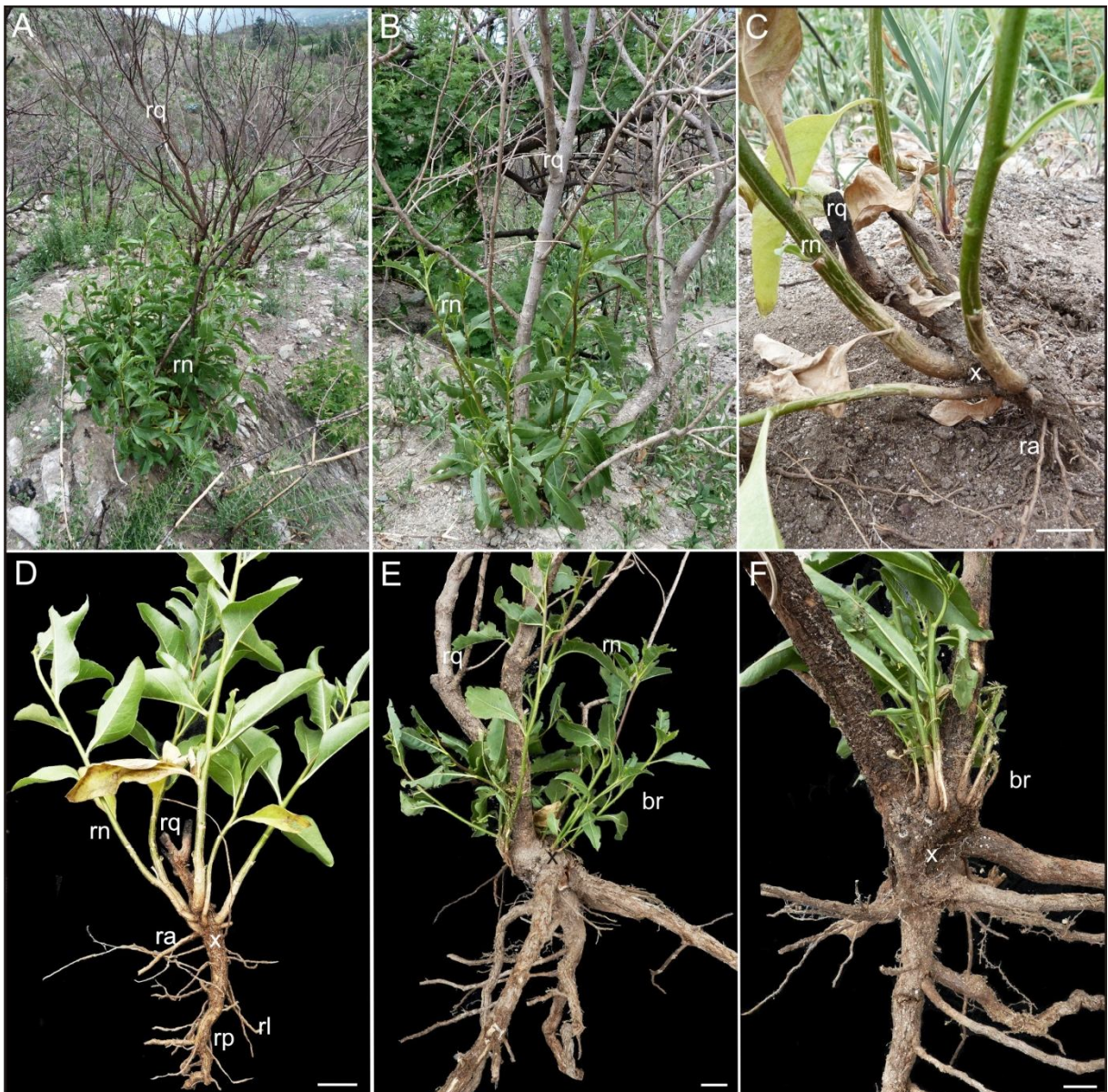


Figura 14. Rebrote de yemas del xilopodio luego de un fuego en *Flourensia campestris*. A y B: plantas adultas quemadas con rebrotes en sus bases. **C:** planta joven semi escavada mostrando una rama quemada y ramas nuevas nacidas del xilopodio. **D:** misma planta completa mostrando xilopodio poco engrosado del cual nacen ramas y raíces adventicias. **E:** planta adulta con xilopodio desarrollado y **F:** detalle de xilopodio con numerosas yemas. Abreviaturas: br: brote, ra: raíz adventicia, rn: rama nueva, rl: raíz lateral, rp: raíz principal, rq: rama quemada, x: xilopodio. Escala: 2 cm.

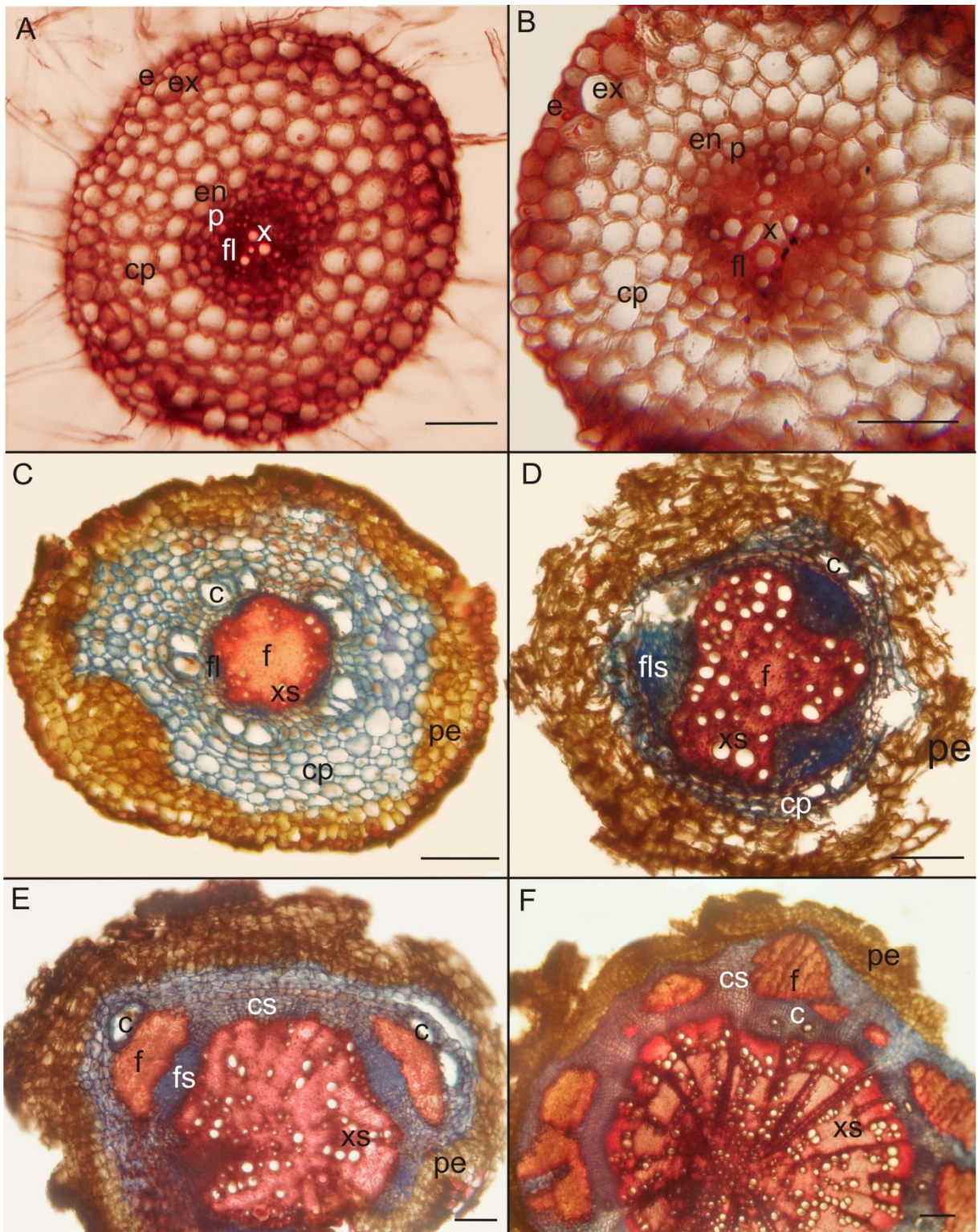


Figura 15. Anatomía radical. A, D, E y F: *Flourensia oolepis*. B y C: *F.campestris*. A: raíz principal de plantula con tres polos de metaxilema. B: raíz principal de plantula con cuatro polos de metaxilema. C: raíz lateral de planta adulta con comienzo de crecimiento secundario mostrando cinco polos. D: raíz lateral con tres polos. E: misma raíz de D con mayor desarrollo. F: raíz principal con crecimiento secundario mostrando un anillo de crecimiento. Abreviaturas: c: conductos, cp: corteza primaria, cs: corteza secundaria, e: epidermis, en: endodermis, ex: exodermis, f: fibras, f: floema primario, fs: floema secundario, p: periciclo, pe: peridermis, x: xilema primario, xs: xilema secundario. Escalas: A y B: 100 μ m. C - D: 200 μ m.

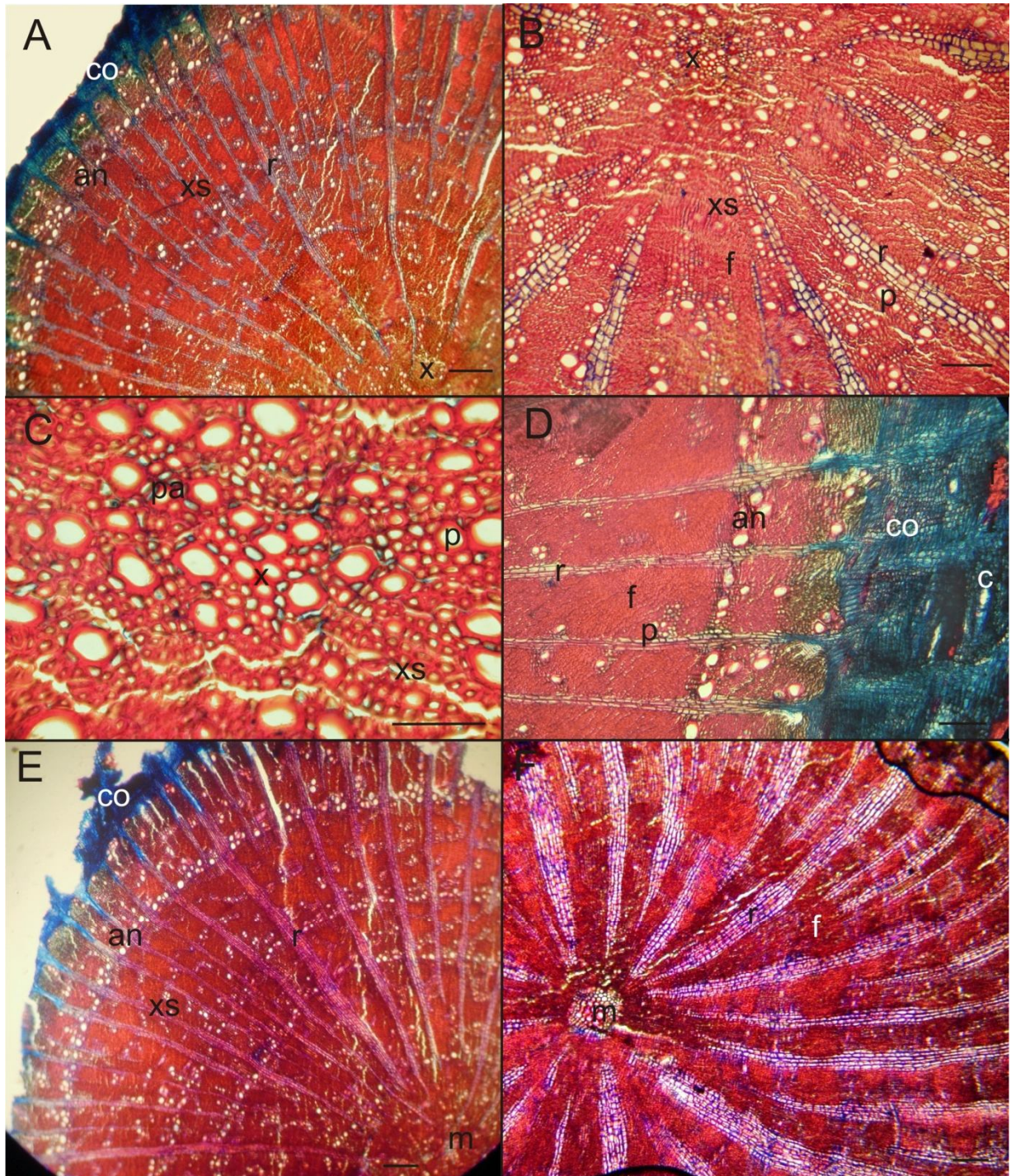


Figura 16. Anatomía del xilopodio en *Flourensia oolepis*. **A:** corte a la altura de la raíz, vista general. **B:** detalle de zona central. **C:** detalle de xilema primario con tres polos de metaxilema. **D:** zona de cambium, mostrando un anillo de crecimiento en el xilema secundario y conductos secretores en el floema secundario. **E:** corte a la altura del tallo, vista general. **F:** detalle de zona central mostrando la médula de células parenquimáticas. Abreviaturas: an: anillo de crecimiento, c: conducto, co: corteza secundaria, f: fibras, m: medula, p: poro, pa: parenquima axial, r: radio, x: xilema primario, xs: xilema secundario. Escalas: A, E y F: 300 μ m. B, C y D: 200 μ m.

DISCUSIÓN

Las diferencias más notables entre las especies de *Flourensia* analizadas se encontraron en la exomorfología foliar, ya que se observó una gran variación en cuanto a la forma de las hojas y el tamaño de las láminas y pecíolos. Nuestras observaciones concuerdan con las reportadas anteriormente (Dillon, 1984; Ariza Espinar, 2000).

Según varios autores, la reducción del tamaño de las hojas en especies de ambientes áridos podría ser considerada una importante adaptación, ya que disminuiría la pérdida de agua por transpiración (Fahn, 1990; Fahn & Cutler, 1992; Dickison, 2000). Teniendo en cuenta esta hipótesis, *F. hirta* y *F. leptopoda* podrían ser consideradas las especies mejor adaptadas al ambiente en que viven. Se desea resaltar en este punto, la importancia del tamaño y la forma de las hojas como caracteres taxonómicos fundamentales para la identificación de las especies.

Si bien las especies estudiadas son perennes, pierden gran parte de su follaje en invierno. En muchas otras especies de este género se ha observado que las hojas son caducas dependientes de la sequía, de modo que, el grado de pérdida de las hojas depende de la duración y severidad de los períodos de sequía (Dillon, 1984). En *F. thurifera*, especie del centro de Chile, las hojas gradualmente se secan a medida que la sequía avanza, hasta que solo unas pocas hojas terminales sobreviven. Esta característica sería ventajosa en períodos desfavorables ya que previene la pérdida de agua por transpiración (Mooney y Kummerow, 1971).

Las especies estudiadas presentaron una gran similitud en la morfoanatomía de sus órganos vegetativos, así como *F. campestris* y *F. oolepis* estudiadas previamente (Delbón *et al.* 2007a).

En la epidermis se encontraron abundantes estomas anomocíticos en ambas caras foliares, lo cual se considera ventajoso en ambientes xéricos, ya que permitirían una mayor eficiencia en el intercambio gaseoso, en poco tiempo.

Por otro lado, es posible diferenciar las especies teniendo en cuenta una característica cuantitativa epidérmica de valor taxonómico como lo es la frecuencia estomática, ya que los análisis estadísticos realizados mostraron que existen

diferencias significativas entre las especies. Los resultados están en concordancia con los anteriormente publicados (Delbón *et al.*, 2007b), en *F. campestris* la frecuencia de estomas fue de $170,82 \pm 27,18$ en el epifilo y de $198,03 \pm 35,42$ en el hipofilo y en *F. oolepis* de $149,64 \pm 22,3$ en el epifilo y de $198,03 \pm 35,42$ en el hipofilo.

Las células epidérmicas propiamente dichas también presentan características adaptativas. En condiciones de sequía, cuando la presión de turgencia es negativa, los engrosamientos de la pared y el volumen pequeño de las células le darían mayor resistencia al colapso, además, el espesor de la cutícula sería importante para la prevención contra la desecación (Fahn, 1990; Fahn & Cutler, 1992).

Con respecto a los tricomas, se encontraron tres tipos, dos eglandulares y uno glandular. Cabe destacar que si bien la presencia de tricomas es común para el género, numerosas especies presentan hojas glabras, tal es el caso de *F. retinophylla* S. F. Blake, *F. peruviana* Dillon y *F. polycephala* Dillon (Dillon, 1984).

Los tipos de tricomas coinciden parcialmente con las observaciones realizadas anteriormente en *F. campestris* y *F. oolepis*, ya que en éstas no se hallaron tricomas eglandulares del tipo cónico simple (Delbón *et al.*, 2007 a, b). En cambio, los tricomas glandulares resultaron iguales, ya que también constaron de diez o doce células dispuestas en dos hileras; presentaron un pequeño pie bicelular biseriado y una gran cabezuela pluricelular biseriada, formada por cuatro o cinco pares de células de contenido denso. En esas dos especies los tricomas glandulares resultaron muy abundantes en los primordios foliares, formando una capa densa, protectora del ápice caulinar. Su origen y ontogenia fue minuciosamente estudiado y se observó que se desarrollan a partir de una única célula epidérmica que se agranda, luego se divide simétricamente en forma anticlinal resultando dos células, ambas sufren sucesivas divisiones periclinales formando un tricoma de cuatro células, seis, ocho, diez y finalmente doce células (Delbón *et al.*, 2007 a).

Este tipo de tricomas glandulares son muy comunes en casi todas las compuestas (Ramaya, 1962; De Moraes Castro, 1997), tanto en especie perteneciente a la tribu Heliantheae (Aguilera *et al.*, 2004), como en tribus cercanas (Rossi Monteiro *et al.*, 2001; Funk *et al.*, 2009). En *Baccharis coridifolia* DC. (Astereae) se observó que los tricomas reaccionaron positivamente a los test de compuestos lipofílicos y fenólicos, confirmando su carácter secretor (Budel & Duarte, 2007). En *Stevia rebaudiana*

(Bertoni) Bertoni (Eupatorieae) se encontró el mismo tipo morfológico de tricoma glandular descrito en el presente trabajo; además, la ontogenia es similar, así como también, el hecho que aparecen temprano en el desarrollo de las hojas. Las únicas diferencias son que sus tricomas están formados por diez células y que la secreción queda retenida en la cutícula que los rodea (Monteiro *et al.*, 2001). En *Flourensia* están formados generalmente por 12 células y la secreción resinosa se vierte en la superficie de la hoja.

Desde el punto de vista ecológico, la resina secretada por los tricomas glandulares podría jugar un rol importante en la reducción de la pérdida de agua por transpiración, por lo que esta característica es considerada como un adaptación a ambientes áridos. En tanto, la función de los tricomas eglandulares en relación con la economía de agua puede ser directa o indirecta. Contribuyen directamente a disminuir el movimiento de aire en la superficie externa que rodea la epidermis, permitiendo así concentrar el vapor de agua en este sector y evitar la excesiva transpiración. Por otro lado, se considera que indirectamente regulan la temperatura a través de la reducción de la absorción de energía radiante o por reflexión de la luz (Fahn & Cutler, 1992).

En las especies del género *Encelia*, hermano de *Flourensia*, se registraron cuatro tipos de tricomas, que varían en su densidad según las especies. Se observaron pelos eglandulares uniseriados con base unicelular o multicelular y pelos moniliformes, mientras que los glandulares fueron biseriados. Numerosos estudios sobre la función de estos tricomas concluyeron que son los responsables de incrementar la reflectancia y disminuir la absorbancia de la luz en las hojas, lo cual disminuye la temperatura de la misma (Ehleringer & Bjorkman, 1978 a, b; Ehleringer, 1982; Ehleringer & Cook, 1987). Específicamente se pudo constatar que en hojas donde los pelos eglandulares con base multicelular eran más abundantes, era mayor la reflectancia (Ehleringer & Cook, 1987).

Por último, las características epidérmicas observadas, como tipo y frecuencia de estomas y tricomas, pueden ser utilizadas como caracteres confiables para la diferenciación de las especies de *Flourensia* estudiadas. Iguales conclusiones se han reportado con anterioridad para otras Asteráceas (De Morales Castro *et al.* 1997; Adedeji & Jewoola, 2008) y en especial en especies Argentinas de importancia

medicinal u ornamental (Vignale & Gurni, 1999; Delbón *et al.* 2007a; Freire *et al.*, 2007; Gil *et al.*, 2012).

En general, en la familia las hojas presentan una estructura foliar dorsiventral, pero también pueden encontrarse en menor proporción estructuras isolateral (Jeffrey, 2007). Asimismo, en unos pocos casos, como por ejemplo el género *Isostigma* Less. (Heliantheae) el mesofilo presenta estructura Kranz, el que a su vez puede ser de tres tipos diferentes (Peter & Katinas, 2003); de este modo, en la familia existe una gran variedad de estructuras foliares y mecanismos fotosintéticos.

En las especies estudiadas el mesofilo resultó isolateral y el parénquima en empalizada presentó un gran desarrollo, a expensas del esponjoso. Esta estructura responde al mecanismo C3 de fijación de CO₂, considerado poco eficiente en plantas de ambientes rigurosos. A pesar de ello, la presencia de abundante tejido en empalizada y alta densidad de estomas en ambas epidermis permitiría mayor eficiencia en la fotosíntesis y un rápido intercambio de gases. Asimismo, las extensiones de la vaina, ayudarían a la conducción de agua ya que conectan los haces vasculares con la epidermis (Fahn, 1990; Fahn & Cutler, 1992; Dickison 2000).

Las diferencias anatómicas entre las especies se relacionan con las particularidades del sistema vascular. *F. hirta* y *F. leptopoda* presentaron menor número de haces vasculares en la vena media y en el pecíolo, en comparación con las restantes especies, incluida *F. campestris* y *F. oolepis* (Delbón *et al.*, 2007a); esto podría ser considerado como una consecuencia de la reducción del tamaño de las hojas.

Tanto el pecíolo como el tallo primario y secundario presentaron rasgos xeromórficos, entre los que se destacan abundantes fibras y conductos secretores, que estarían relacionadas con la protección de los tejidos vasculares (Fahn, 1990; Fahn & Cutler, 1992; Dickison 2000).

Cabe destacar la presencia y abundancia de conductos secretores, los cuales se observaron en todos los órganos vegetativos, de todas las especies. Fueron de origen esquizógeno, presentaron un epitelio secretor unistratificado y se lo encontró siempre asociados al sistema vascular. Estos resultados concuerdan con los

reportados anteriormente en *F. campestris* y *F. oolepis* (Delbón *et al.* 2007 a), así como en otros géneros de Asteraceae (Castro *et al.*, 1997; De Moraes Castro 1997; Simon *et al.*, 2002; Lapp *et al.*, 2004; Molares *et al.*, 2009). Aguilera *et al.* (2004), observaron que las secreciones de los conductos reaccionaron positivamente a los tests de compuestos fenólicos y alcaloides. Se considera que la secreción interna de terpenos y otras sustancias ayudaría a proteger la planta de herbívoros y patógenos, ya que sólo saldrían al exterior si la planta es herida, además de contribuir al balance hídrico (Fahn, 1979, 2002).

Sumado a esto, la presencia de diversas estructuras secretoras, y en consecuencia de una gran cantidad y variedad de productos químicos, está íntimamente relacionada con la aparición de efectos alelopáticos, es decir, la inhibición de la germinación o el crecimiento de otras especies vegetales.

Este efecto ha sido ampliamente estudiado y comprobado en la especie chilena *Flourensia thurifera* (Fuentes *et al.*, 1987) y recientemente se observó que *F. campestris* y *F. oolepis* inhiben la germinación y el desarrollo de *Lactuca sativa* L. (Silva *et al.*, 2008; 2012). El efecto alelopático es importante ecológicamente ya que una especie se vuelve dominante en el sitio, disminuyendo la diversidad y con una alta probabilidad de que se vuelva invasora (Fuentes *et al.*, 1987); en las especies de *Flourensia* estudiadas se puede inferir la presencia de este fenómeno ya que las poblaciones aparecen casi puras, en manchones donde son dominantes.

Iguals observaciones se llevaron a cabo en poblaciones de *Encelia farinosa* A. Gray ex Torr., esta especie también produce efectos alelopáticos, ya que se ha demostrado que los compuestos químicos de sus hojas y tallos causan una notable inhibición del crecimiento en tomate (*Solanum lycopersicum* L.), lechuga (*Lactuca sativa*) y otras plantas de cultivo (Gray & Bonner, 1948; Wright *et al.*, 2013). Los autores concluyen que este efecto tendría gran importancia en relación con el hecho de que solo unos pocos especímenes de plantas anuales crecen en relación estrecha con ese arbusto.

Como se ha dicho anteriormente, de acuerdo al hábitat donde los vegetales se desarrollen, serán diferentes las estrategias para optimizar y asegurar la conducción de agua. Las especies arbóreas que habitan en zonas tropicales húmedas tienen su sistema xilemático preparado para conducir grandes volúmenes de agua en poco

tiempo. Por ello presentan, en general, maderas con elementos vasculares largos, poros medianos a grandes, y poco numerosos. Por el contrario, las especies que viven en ambientes áridos y semiáridos, deben estar preparadas para conducir la escasa cantidad de agua distribuida en un período anual determinado. Estas presentan poros pequeños, muy numerosos y agrupados en racimos o bandas radiales o tangenciales. Estas características aseguran la conducción de agua bajo una alta presión negativa y evitan el bloqueo de la conducción debido a las embolias y cavitación (Carlquist, 1988; Lindorf, 1994).

Las características encontradas en el leño de las especies de *Flourensia* muestran una estrecha relación con el ambiente árido y semiárido en el cual habitan. Todas las especies presentaron porosidad de semicircular a circular, esto permitiría una conducción rápida en el leño temprano a través de los vasos grandes, mientras que, la conducción sería más segura en el leño tardío gracias al menor diámetro de los vasos (Woodcock, 1994). Además, se encontró una alta frecuencia de vasos, de diámetro relativamente pequeño y reunidos en grupos; estas características son consideradas xeromórficas ya que se relacionan con una alta eficiencia en la conducción. En particular, el agrupamiento de los vasos garantizaría una mayor seguridad ya que si el flujo de agua a través de un vaso se interrumpe, podría continuar a través de los vasos adyacentes (Baas *et al.*, 1983; Bass & Carlquist, 1985; Carlquist, 1977, 1984, 1988; Lindorf, 1994).

Por último, los índices de vulnerabilidad y mesomorfía confirman que estas especies están adaptadas para sobrellevar las condiciones adversas en las que se desarrollan. Además, La presencia de conductos secretores productores de resina en la corteza y médula protegerían a la planta contra herbívoros y patógenos. Además, cuando se produce algún daño o herida se estimula la producción de resina que oblitera las células conductoras para evitar la pérdida de savia (Lindorf, 1994).

Numerosos son los trabajos que confirman la relación entre la aridez de un ambiente y las características anatómicas de las especies vegetales que habitan en el. Villagra & Roig Juñent (1997) reportaron características xeromórficas en *Prosopis argentina* que habita las provincias de Mendoza, San Juan, La Rioja y Catamarca. Esta especie presenta alta densidad de vasos, agrupados y de diámetro reducido.

Moglia & Gimenes (1998) estudiaron 46 especies arbóreas de la Región Chaqueña de Argentina y encontraron que las especies que se encuentran en las zonas central del país, en la región del Chaco Seco donde son menores las precipitaciones, presentaron mayores características xeromórficas, como por ejemplo, mayor densidad de vasos y de menor tamaño. Esto concuerda con lo observado en las especies de *Flourensia*, las cuales habitan esa misma zona geográfica.

En la familia son comunes los órganos de reserva subterráneos, principalmente en herbáceas perennes y formas arbustivas, encontrándose una gran variedad, como por ejemplo tubérculos radicales, rizomas tuberosos, rara vez cormos o lignotubérculos (Jeffrey, 2007).

En las especies estudiadas se observaron xilopodios formados por el engrosamiento del tallo y la raíz. Presentaron numerosas yemas, las cuales pueden dar origen a ramas o raíces adventicias. Sin embargo, no se observó que se desarrollen nuevas plantas a partir del xilopodio, por lo que este órgano no tendría función reproductiva. En cambio, sería el responsable del rebrote en las plantas dañadas, ya que se observó que luego de un fuego se desarrollaron nuevas ramas a partir de yemas por debajo del nivel de suelo. Esta característica es de vital importancia en las zonas serranas donde habitan ya que la frecuencia de fuego es alta, en especial en las sierras de Córdoba (Renison *et al.*, 2002; Gurvich *et al.*, 2005; Verzino *et al.*, 2005; Giorgis *et al.*, 2011, 2013).

Estas observaciones confirman la capacidad regenerativa de estas especies, observada por Verzino *et al.* (2005). Los autores estudiaron el efecto de los incendios forestales sobre la composición florística, la estructura y la diversidad de la vegetación del Bosque Serrano en la provincia de Córdoba. Observaron que en *F. campestris* la regeneración fue muy importante en zonas con 2 y 9 años de antigüedad del incendio y destacaron la capacidad adaptativa de esta especie frente a los incendios. Asimismo, esta función regenerativa del xilopodio luego de una quema o de un período desfavorable de sequía prolongada, a sido observada para otras especies de la familia (Vilhalva & Appezzato da Glória, 2006).

Como se ha dicho con anterioridad, en Asteraceae es común la presencia de estructuras secretoras, las cuales han sido ampliamente estudiadas en los órganos aéreos, sin embargo no son tan numerosos los estudios del sistema radical.

En las especies estudiadas se encontraron conductos secretores esquizógenos tanto en las raíces principales como en las laterales, ubicados en la corteza y en el floema secundario. Estas observaciones concuerdan con las realizadas en otras especies de la familia, en las que además, se ha demostrado que los conductos de la corteza se forman a partir de la endodermis, de modo que esta conserva su capacidad meristemática. En todos los casos se encuentran relacionados a los polos del floema y se ha planteado que los conductos y sus secreciones podrían ayudar al floema en la conducción de metabolitos, así como también, estarían relacionados con la prevención del herbivorismo o la acción de patógenos (Luque *et al.*, 1997; Melo de Pinna & Menezes, 2003; Cury & Appezzato da Glória, 2009).

Con respecto a los xilopodios, en las especies de *Flourensia* se observaron conductos solo en el floema secundario. En cambio, en las tribus Eupatorieae, Mutisiae y Vernoniae, los xilipodios presentaron espacios y conductos tanto en la corteza, como en el floema secundario y hasta en los radios del xilema secundario (Cury & Appezzato da Glória, 2009; Vilhalva & Appezzato da Glória, 2006). Iguales observaciones se realizaron en la tribu Heliantheae, en los géneros *Isostigma* Less. (Vilhalva & Appezzato da Glória, 2006).

CONCLUSIONES

En las especies de *Flourensia* estudiadas se observaron una variedad de adaptaciones estructurales consideradas xeromórficas, a saber:

La epidermis foliar presentó estomas abundantes en ambas caras de las hojas, lo cual incrementarían la conducción de CO₂ y la capacidad fotosintética, además de tricomas glandulares y eglandulares que estarían relacionados con la regulación de la temperatura y la protección.

La estructura foliar resultó isolateral, con parénquima en empalizada muy desarrollado, lo cual aumenta la capacidad fotosintética. Los hacecillos colaterales se encontraron rodeados de una vaina de células parenquimáticas y con extensiones de la vaina.

Tanto el pecíolo como el tallo primario y secundario presentaron rasgos xeromórficos, entre los que se destacan abundantes fibras y conductos secretores, que estarían relacionadas con la protección de los tejidos vasculares.

El leño presentó anillos de crecimiento marcados, con porosidad circular. Los vasos son numerosos, de diámetro pequeño y dispuestos en grupos. Estas características le confieren seguridad y eficiencia para la conducción del agua.

El sistema radical presentó un xilopodio, de naturaleza mixta, formado por parte del tallo y de la raíz, su función es la de regenerar la planta por rebrote, luego de condiciones desfavorables o de un fuego.

Por todas estas características morfoanatómicas, se concluye que las especies están adaptadas para sobrevivir y desarrollarse en el ambiente en que habitan, en el que las condiciones desfavorables como la sequía, altas temperaturas, alta irradiación solar y frecuencia de fuego jugaron un papel importante en el curso de su evolución. Al respecto, *F. hirta*, *F. leptopoda* y *F. niederleinii* son consideradas mejor adaptadas al ambiente xérico en que habitan, ya que tienen menor tamaño foliar, reducción en la cantidad de hacecillos foliares y mayor frecuencia estomática, entre otras características.

Finalmente, los caracteres más importantes y que permitieron diferenciar las especies fueron: tamaño foliar, frecuencia estomática, cantidad de hacecillos de conducción en la vena media y el pecíolo y densidad de vasos del leño; por ello pueden ser tenidos en cuenta como caracteres confiables en taxonomía.

BIBLIOGRAFÍA

- ADEDEJI, O. & O. JEWOOLA. 2008. Importance of leaf epidermal characters in the Asteraceae family. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj.* 36: 7-16.
- AGUILERA, D., R. MEIRA & F. FERREIRA. 2004. Anatomía e histoquímica dos órgãos vegetativos de *Siegesbeckia orientalis* (Asteraceae). *Planta daninha, viçosa-mg* 22: 483-489.
- ARIZA ESPINAR, L. 2000. Familia Asteraceae. Tribu Heliantheae. *Pródromo de la Flora Fanerogámica de Argentina Central* 2: 1-111. Museo Botánico, Fac. de C.E.F. y N., U.N.C., Córdoba.
- ASKEW, A. 2003. *Leaf Area Measurement*. Version 1.3. The University of Sheffield. UK.
- BAAS, P. & S. CARLQUIST. 1985. A Comparasen of The Ecological Wood Anatomy of The Floras of Southern California And Israel. *IAWA* 6: 349-353.
- BAAS P., A. WERKER & A. FAHN. 1983. Some Ecological trends in vessel characters. *IAWA* 4: 141-158.
- BOHLMANN, F. & J. JAKUPOVIC. 1979. Neue Sesquiterpene, Triterpene, Flavanone und andere aromatische Verbindungen aus *Flourensia heterolepis*. *Phytochemistry* 18: 1189-1194.
- BUDEL, J. & M. DUARTE. 2007. Caracteres Morfoanatômicos de Partes Vegetativas Aéreas de *Baccharis coridifolia* DC. (Asteraceae-Astereae). *Lat. Am. J. Pharm.* 26: 723-31.
- CARPINELLA, M., G. RUIZ & S. PALACIOS. 2010. Screening of native plants of central Argentina for antifungal activity. *Allelopathy J.* 25: 423-431.
- CARRIZO FLORES, R., L. VACA, O. DONADE, A. LACIAR & C. TONN. 2005. Antibacterial effect of *Baccharis salicifolia* and *Flourensia oolepis* essential oils on *Listeria monocytogenes*. *Biocell* 29 (3).
- CARLQUIST, S. 1977. Ecological factors in wood evolution: a floristic approach. *Am. J. Bot.* 64: 887-896.
- CARLQUIST, S. 1984. Vessel grouping in Dicotyledons wood: Significance and relationships to imperforate tracheary elements. *Aliso* 10: 505-525.
- CARLQUIST, S. 1988. *Comparative wood anatomy*. Springer Series of wood Science. Springer Verlag. Nueva York. 436 p.
- CASTRO, M., H. LEITAO-FILHO & W. MONTEIRO. 1997. Utilização de estruturas secretoras na identificação dos gêneros de Asteraceae de uma vegetação de cerrado. *Rev. Bras. Bot.* 20: 163-174.
- CURY, G & B. APPEZZATO DA GLÓRIA. 2009. Internal secretory spaces in thickened underground systems of Asteraceae species. *Aust. J. Bot.* 57: 229-239.
- D' AMBROGIO DE ARGÜESO, A. 1986. *Manual de técnicas de Histología Vegetal* 1-83 Ed. Hemisferio Sur.

- DELBÓN, N., M. T. COSA & N. DOTTORI. 2007a. Anatomía de órganos vegetativos en *Flourensia campestris* y *F. oolepis* (Asteraceae), con especial referencia a las estructuras secretoras. *Arnaldoa* 14: 61-70.
- DELBÓN, N., M. T. COSA, N. DOTTORI & L. STIEFKENS. 2007b. Estudio de la epidermis foliar en *Flourensia campestris* y *F. oolepis* (Asteraceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 42: 245-250.
- DE MORAES CASTRO, M, H. DE FREITAS LEITAO FILHO & W. ROSSI MONTEIRO. 1997. Utilização de estruturas secretoras na identificação dos gêneros de Asteraceae de uma vegetação de cerrado. *Rev. Brasil. Bot.* 20: 163-174.
- DIAZ NAPAL, G., M. CARPINELLA & S. PALACIOS. 2009. Antifeedant activity of ethanolic extract from *Flourensia oolepis* and isolation of pinocembrin as its active principle. *Bioresour. Technol.* 100: 3669-3673.
- DICKISON, W. C. 2000. *Integrative Plant Anatomy*. Academic Press.
- DILLON, M. O. 1984. A systematic study of *Flourensia* (Asteraceae, Heliantheae). *Fieldiana Bot.* 16: 1-67.
- DI RIENZO, J., F. CASANOVES, M. BALZARINI, L. GONZALEZ, M. TABLADA & C. ROBLEDO. *InfoStat, versión 2009*, Grupo InfoStat, F. C. A (UNC). Córdoba.
- DOAIGEY, A.R. & K. HARKISS. 1991. Application of epidermal characters to the taxonomy of european species of *Antirrhinum* (Schrophulariaceae). *Nord. J. Bot.* 11:513-524.
- DONADEL, O., E. GUERREIRO, M. WENDEL, G. ENRIZ, R. GUIORDANO & C. TONN. 2005. Gastric cytoprotective activity of ilicic aldehyde: Structure-activity relationships. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15: 547-550.
- EHLERINGER, J. R. 1982. The influence of water stress and temperature on leaf pubescence development in *Encelia farinosa*. *Am. J. Bot.* 69: 670-675.
- EHLERINGER, J. R. & O. BJORKMAN. 1978a. Pubescence and Leaf Spectral characteristics in a Desert Shrub, *Encelia farinosa*. *Oecologia* 36: 151-16.
- EHLERINGER, J. R. & O. BJORKMAN. 1978b. A comparison of photosynthetic characteristics of *Encelia* species possessing glabrous and pubescent leaves. *Plant Physiol.* 62: 185-190.
- EHLERINGER, J. R. & C. S. COOK. 1987. Leaf hairs in *Encelia* (Asteraceae). *Am. J. Bot.* 74: 1532-1540.
- ESTELL, R., E. FREDICKSON & K. HAVSTAD. 1996. Chemical composition of *Flourensia cernua* at four growth stages. *Grass Forage Sci.* 15: 434-411.
- EVERT, R. F. 2006. Esau's Plant anatomy. 447-473. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- FAHN, A. 1979. *Secretory tissues in plants*. Academic Press. London.
- FAHN, A. 1988. Secretory tissues in vascular plants. *New Phytol.* 108:229-257.
- FAHN, A. 1990. *Plant Anatomy*. Pergamon Press. Oxford.
- FAHN, A. 2002. Functions and location of secretory tissues in plants and their possible evolutionary trends. *Isr. J. Plant. Sci.* 50: 59-64.

- FAHN, A. & D. CUTLER. 1992. *Xerophytes*. Handbuch der Pflanzenanatomie XIII, 3. Gebrüder Borntraeger, Berlín.
- FAINI, F., C. LABBE, I. SALGADO, J. COLL. 1997. Chemistry, toxicity and antifeedant activity of the resin of *Flourensia thurifera*. *Biochem. Sys. Ecol.* 25: 189-193.
- FREIRE, S., E. URTUBEY & D. GIULIANO. 2007. Epidermal characters of *Baccharis* (Asteraceae) species used in traditional medicine. *Caldasia* 29:23-38.
- FUENTES, E., G. ESPINOZA & G. GAJARDO. 1987. Allelopathic effects of the Chilean matorral shrub *Flourensia thurifera*. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 60: 57-62.
- FUNK, A., A. SUSANNA, T. STUESSY & H. ROBINSON. 2009. Classification of Compositae. In: FUNK, V. A., A. SUSANNA, T. F. STUESSY & R. J. BAYER (eds.), *Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae*, pp. 171-192. Sheridan Books, Inc., Ann Arbor, Michigan.
- GAMBOA ALVARADO, R., F. HERNANDEZ CASTILLO, E. GERRERO RODRIGUES & A. SANCHEZ ARIZPE. 2003. Inhibición del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* Kuhn. y *Phytophthora infestans* Mont. (De Bary) con extractos vegetales metanólicos de Hojasen (*Flourensia cernua* DC.) Mejorana (*Origanum mejorana* L.) y Trompetilla *Bouvardia ternifolia* (Ca.) Schelecht. *Rev. Mex. Fitopatol.* 21: 13-18.
- GARCÍA, M., A. GONZALEZ COLOMA, O. DONADEL, C. ARDANAZ, T. TONN & M. SOSA. 2007. Insecticidal effects of *Flourensia oolepis* Blake (Asteraceae) essential oil. *Biochem. Sys. Ecol.* 35: 181-187.
- GERRERO RODRIGUEZ, E., S. SOLIS GAONA, F. HERNANDES CASTILLO, A. FLORES OLIVAS & V. SANDOVAL LOPEZ. 2007. Actividad biológica in vitro de extractos de *Flourensia cernua* DC. en patógenos de postcosecha: *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl., *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. y *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc. *Rev. Mex. Fitopatol.* 25: 48-53.
- GIL, S., L. SEISDEDOS, M. REYNA, M. CERANA. 2012. Epidermis foliar de tres especies de Asteráceas nativas de Argentina con potencial ornamental. *Fyton* 81: 205-210.
- GIORGIS, M., A. CINGOLANI & M. CABIDO. 2013. El efecto del fuego y las características topográficas sobre la vegetación y las propiedades del suelo en la zona de transición entre bosques y pastizales de las sierras de Córdoba, Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 48: 493-513.
- GIORGIS, M., A. CINGOLANI, F. CHIARINI, J. CHIAPELLA, G. BARBOZA, L. ARIZA ESPINAR, R. MORERO, D. GURVICH, P. TECCO, R. SUBILS & M. CABIDO. 2011. Composición florística del Bosque Chaqueño Serrano de la provincia de Córdoba, Argentina. *Kurtziana* 36: 9-43.
- GURVICH, D. E., L. ENRICO & A. M. CINGOLANI. 2005. Linking plant functional traits with postfire sprouting vigour in woody species in central Argentina. *Austral Ecology* 30: 789-796.
- GRAY, R. & BONNER, J. 1948. An Inhibitor of Plant Growth from the Leaves of *Encelia farinosa*. *Am. J. Bot.* 35: 52-57.

- JASSO DE RODRIGUEZ, D., D. HERNANDEZ CASTILLO, J. ANGULO SANCHEZ, R. RODRIGUEZ GARCIA, J. VILLARREAL QUINTANILLA & R. LIRA SALDIVAR. 2007. Antifungal activity in vitro of *Flourensia* spp. extracts on *Alternaria* sp., *Rhizoctonia solani*, and *Fusarium oxysporum*. *Ind. Crop Prod.* 25: 111-116.
- JEFFREY, C. 2007. Compositae. Introduction with key to tribes. In: KADEREIT, J. W. & C. JEFFREY (eds.), *Families and Genera of Vascular Plants*, vol. VIII, Flowering Plants, Eudicots, Asterales, pp. 391-395. Springer-Verlag, Berlin.
- JOHANSEN, D. 1940. *Plant microtechnique*. 1° edition. Mc Graw Hill Book Company, Inc.
- JORAY, M., M. DEL ROLLÁN, G. RUIZ, S. PALACIOS & M. CARPINELLA. 2011. Antibacterial activity of extracts from plants of central Argentina. Isolation of an active principle from *Achyrocline satureioides*. *Planta Med.* 77: 95-100.
- KRAUS, J., H. DE SOUSA, M. REZENDE, N. CASTRO, C. VECCHI & R. LUQUE. 1998. Astra Blue and Basic Fuchsin double staining of plant materials. *Biotech. Histochem.* 73 (5).
- LAPP, M., D. JÁUREGUI & T. RUIZ ZAPATA. 2004. Anatomía foliar de ocho especies venezolanas del género *Oyedaea* DC. (Asteraceae-Heliantheae). *Acta Bot. Venez.* 27: 1-16.
- LINDORF, H. 1994. Eco-anatomical wood features of species from a very dry tropical forest. *IAWA* 15: 361-376.
- LUQUE, R., N. MENEZES & J. SEMIR. 1997. La función secretora de la endodermis de la raíz de especies de *Lychnophora* Mart. (Asteraceae). *Plantula* 1:221-228.
- MALECI, L. B. & O. SERVETTAZ. 1991. Morphology and distribution of trichomes in italian species of *Teucrium* sect. *Chamaedrys* (Labiatae) - a taxonomical evaluation. *Pl. Syst. Evol.* 174:83-91.
- MATA, R., R. BYE, E. LINARES, M. MACIAS, I. RIVERO CRUZ, O. PEREZ & B. TIMMERMANN. 2003. Phytotoxic compounds from *Flourensia cernua*. *Phytochemistry* 64: 285-291.
- MELO DE PINNA, G. & N. MENEZES. 2003. Meristematic endodermis and secretory structures in adventitious roots of *Richterago* Kuntze (Mutisieae-Asteraceae) *Revista Brasil. Bot.* 26: 1-10.
- MOLARES, S., S. GONZÁLEZ, A. LADIO & M. AGUEDA CASTRO. 2009. Etnobotánica, anatomía y caracterización físico-química del aceite esencial de *Baccharis obovata* Hook. et Arn. (Asteraceae: Astereae). *Acta Bot. Bras.* 23: 578-589.
- MOLINA SALINAS, G., M. RAMOS GUERRA, J. VARGAS VILLARREAL, B. MATA CÁRDENAS, P. BECERRIL MONTES & S. SAID FERNÁNDEZ. 2006. Bactericidal Activity of Organic Extracts from *Flourensia cernua* DC against Strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *Arch. Med. Res.* 37: 45-49.
- MONTEIRO, W.; CASTRO, M.; MAZZONI-VIVEIROS, S. & MAHLBERG, P. G. 2001. Development and some histochemical aspects of foliar glandular trichomes of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bert. Asteraceae. *Revista Bras. de Bot.* 24: 349-357.

- MOGLIA, G & A. JIMÉNEZ. 1998. Rasgos anatómicos característicos del hidrosistema de las principales especies arbóreas de la región Chaqueña Argentina. *Invest. Agrar – Sist. R.* 7: 53-71.
- MOONEY, H. & J. KUMMEROW. 1971. The comparative water economy of representative evergreen sclerophyll and drought deciduous shrubs of Chile. *Bot. Gaz.* 132: 245-252.
- PACCIARONI, A., V. ARJONA, R. MILA, L. ARIZA ESPINAR & V. SOSA. 2009. Benzofuranos y eudesmanólidos de *Flourensia blakeana* Dillon. XVII Simposio Nacional de Química Orgánica. Mendoza, Argentina. Res. Pag 9.
- PETER, G. & L. KATINAS. 2003. A new type of Kranz anatomy in Asteraceae. *Aust. J. Bot.* 51: 217-226.
- PRIOTTI, Z., J. ZYGADLO & L. ARIZA ESPINAR. 1997. Essential oils of *Flourensia oolepis* S. L. Blake. *J. Essent. Oil Res.* 9: 345-347.
- RAMAYYA, N. 1962. Studies on de trichomes of some Compositae I. General structure. *Bull. Bot. Surv. India* 14:177-188.
- RAO, M., D. KINGSTON & T. SPITTLER. 1970. Flavonoids from *Flourensia cernua*. *Phytochemistry* 9: 227-228.
- RENISON, D., A. M. CINGOLANI & R. SUAREZ. 2002. Efectos del fuego sobre un bosquecillo de *Polylepis australis* (Rosaceae) en las montañas de Córdoba, Argentina. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 75: 719-727.
- ROSSI MONTEIRO, W., M. CASTRO, S. MAZZONI VIVEIROS & P. MAHLBERG. 2001. Development and some histochemical aspects of foliar glandular trichomes of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bert. Asteraceae. *Rev. Brasil. Bot.* 24: 349-357.
- SCHEFFE, H. 1959. *The Analisis of Variance*. Ed. John Wiley. New York.
- SILVA, M. P., D. LÓPEZ, L. PIAZZA & A. SCOPEL. 2008. Efecto alelopático del extracto acuoso y del aceite esencial de *Flourensia campestris* y *Flourensia oolepis*, sobre germinación y/o crecimiento de lechuga (*Lactuca sativa*). XIII Reunión Latinoamericana y XXVII Reunión Argentina de Fisiología Vegetal.
- SILVA M. P., L. PIAZZA, D. LÓPEZ, M. LÓPEZ RIVILLI, M. TURCO, J. CANTERO, M. TOURN & A. SCOPEL. 2012. Phytotoxic activity in *Flourensia campestris* and isolation of (-)-hamanasic acid a as its active. *Phytochemistry* 77: 140-148.
- SIMON, P., L. KATINAS & A. ARAMBARRI. 2002. Secretory structures in *Tagetes minuta* (Asteraceae, Helianieae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 37: 181-191.
- SOKAL, R. R. & F. ROHLF. 1981. *The Principles and Praticce of Statistic in Biological Research*. Ed. Freeman & Co. San Francisco.
- STACE, C. A. 1965. Cuticular studies as an aid to plant taxonomy. *Bull. Br. Muss. Nat. His.* 4: 62-63.
- TELLES, M., R. ESTELL, E. FREDICKSON & K. HAVSTAD. 1997. Essential oil in *Flourensia cernua* DC. *J. Essent. Oil Res.* 9: 619-624.
- TELLES, M., R. ESTELL, E. FREDICKSON, J. POWELL, D. WEDGE, D., K. SCHRADER & M. KOBASISY. 2001. Extracts of *Flourensia cernua* (L): Volatile

- constituents and antifungal, antialgal, and antitermite bioactivities. *J. Chem. Ecol.* 27: 2264–2273.
- URIBURU, M., J. DE LA FUENTE, J. PALERMO, R. GIL & V. SOSA. 2004. Constituents of two *Flourensia* species. *Phytochemistry* 65: 2039-2043.
 - URIBURU, M., J. DE LA FUENTE, J. PALERMO & V. SOSA. 2005. A Chlorinated dihydrobenzofuran from *Flourensia riparia*. *An. Asoc. Quím. Argent.* 93: 161-164.
 - URIBURU, M., R. GIL, V. SOSA & J. DE LA FUENTE. 2007. Prenylflavonoids from *Flourensia fiebrigii*. *Phytochemistry* 68: 1295-1299.
 - URZÚA, A., R. SANTANDER & J. ECHEVERRÍA. 2007. Analysis of surface and volatile compounds of flower heads of *Flourensia thurifera* (MOL) D.C. *J. Chil. Chem. Soc.* 52: 1244-1245.
 - VACA RUIZ, M. L., A. LACIAR, O. DONADEL, J. SAAD & R. CARRIZO FLORES. 2006. Anti-listerial activity of plant essential oils from western region of Argentina. *Ann. Microbiol.* 56: 369-371.
 - VERZINO, G., J. JOSEAU, M. DORADO, E. GELLERT, S. RODRÍGUEZ REARTES & R. NÓBILE. 2005. Impacto de los incendios sobre la diversidad vegetal, Sierras de Córdoba, Argentina. *Ecología Aplicada* 4: 25-34.
 - VILHALVA D. & B. APPEZZATO DA GLÓRIA. 2006. Morfo-anatomia do sistema subterrâneo de *Calea verticillata* (Klatt) Pruski e *Isostigma megapotamicum* (Spreng.) Sherff – Asteraceae. *Revista Brasil. Bot.* 29: 39-47.
 - VILLAGRA, P. & F. ROING JUÑENT. 1997. Wood structure of *Prosopis alpataco* and *P. argentina* growing under different edaphic conditions. *IAWA* 18: 37-51.
 - VIGNALE, N. & A. GURNI. 1999. Estudio Comparativo de la Epidermis Foliar de Tres Especies de Mutisia (Asteraceae) de la Puna y Prepuna de Jujuy (Argentina). *Acta Farm. Bonaerense* 18: 37-40.
 - WRIGHT, C., B. CHHETRI & W. SETZER. 2013. Chemical Composition and Phytotoxicity of the Essential Oil of *Encelia farinosa* Growing in the Sonoran Desert. *American Journal of Essential Oils and Natural Products.* 1: 18-22.
 - WOODCOCK, D. W., 1994. Occurrence of Woods with a gradation in vessel diameter across the ring. *IAWA* 15: 377-385.

CAPÍTULO 3 : BIOLOGÍA REPRODUCTIVA

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de la biología reproductiva es esencial para la conservación de las especies en peligro de extinción, así como también, en aquellas donde las poblaciones son escasas, como es el caso de las especies endémicas (Holsinger, 1991; Anderson *et al.*, 2000). Además, no hay duda que los caracteres florales son los más utilizados para la clasificación de las Angiospermas, siendo muy importantes en estudios sistemáticos y filogenéticos (Anderson, 1995; Bernardello, 2007).

Las Asteraceae se caracterizan por la presencia de flores dispuestas en un receptáculo, formando inflorescencias especiales denominadas capítulos. Las flores son en general pequeñas, de forma tubular, bilabiada o ligulada y se desarrollan en forma centripeta. Su presencia y disposición en los capítulos varía enormemente entre especies, encontrándose capítulos discoides, ligulados, radiados, etc. Además, las flores pueden ser hermafroditas, femeninas, masculinas o infértiles, por lo que existe una gran diversidad (Jeffrey, 2007; Funk *et al.*, 2009).

Los capítulos son en general llamativos y se consideran la unidad funcional, ya que se desempeñan visualmente como una flor simple. Ejercen una gran atracción sobre los polinizadores, la cual puede ser tanto visual, con colores y patrones en luz visible o ultravioleta, química como los aromas, o nutritiva como el polen o néctar (Jeffrey, 2007).

Este último es la recompensa más importante que la flor ofrece a los visitantes florales. Está formado por una variedad de compuestos químicos entre los que se destacan diversos azúcares y agua, pero también presenta pequeñas cantidades de aminoácidos, ácidos reductores, lípidos y proteínas. Los azúcares más importantes son fructuosa, glucosa y sucrosa (Baker & Baker, 1983; Dafni, 1992; Mani & Saravanan, 1999; Nicolson & Thornburg, 2007). La familia presenta una gran

variabilidad en cuanto a la composición de azúcares de sus néctares. Sin embargo, en las especies que crecen en Argentina se observó que en general es mayor la proporción de hexosa y menor de sucrosa (Torres & Galetto, 2002; Galetto & Bernardello, 2003). La composición del néctar de *F. campestris* ha sido determinada con 53,69% de glucosa, 41,76% de fructosa y 4,53% de sucrosa (Torres & Galetto, 2002).

El color de las flores también es un factor muy importante en la atracción de los polinizadores, ya que es diferente el número de especies de insectos que visitan flores de diferentes colores. Así, las flores blancas son visitadas por una mayor diversidad de insectos, seguidas por las flores amarillas; por último, las menos visitadas son las rosas, lilas, púrpuras y celestes (Torres & Galetto, 2002, 2008).

La presencia de flores del radio también está relacionada directamente con la atracción de los visitantes florales, además de funcionar como un sitio de aterrizaje, siendo una adaptación para aumentar la polinización cruzada (Stuessy *et al.*, 1986; Sun & Ganders, 1990; Lane, 1996; Jeffrey, 2009).

Gracias a todas estas características, los capítulos son visitados por una gran diversidad de insectos, por los que se los considera generalistas. El grupo que más visita los capítulos es el de los Himenópteros, siendo *Apis mellifera* L. la especie más común y abundante. Los Lepidópteros y Dípteros son menos frecuentes y los Coleópteros se observan en menor proporción (Lane, 1996; Torres-Díaz *et al.*, 2007; Torres & Galetto, 2002, 2008).

Se presentan, además, varias características florales que favorecen la transferencia de polen, entre las cuales se destaca el hecho que las flores perfectas son protándricas y presentan las anteras fusionadas formando un anillo, lo cual permite la presentación secundaria del polen. Este proceso produce la reubicación de los granos de polen de las anteras a otro órgano floral, el cual funciona entonces como órgano presentador del polen para la polinización. En Asteraceae, el polen es presentado en la sección terminal del estilo, el cual se carga activamente de granos de polen cuando se elonga atravesando el anillo de anteras. El estilo es bilobado con la superficie estigmática receptiva hacia dentro de las ramas estigmáticas; de esta forma el polen de la misma flor no se deposita en la superficie estigmática,

reduciendo así la probabilidad de autofecundación (Howell *et al.*, 1993; Erbar & Leins, 1995; Torres & Galetto, 2007; Jeffrey, 2007; Jeffrey, 2009).

Sumado a esto, la mayoría de las especies, alrededor del 65%, presentan autoincompatibilidad esporofítica. Este sistema de incompatibilidad está regulado por un solo locus polialélico, de modo que el genotipo del esporófito limita el crecimiento de los tubos polínicos que presentan un alelo igual. Este sistema es precigótico y asegura una gran variabilidad genética en la descendencia (Hiscock & Tabah, 2003; Hiscock *et al.*, 2003; Ferrer & Good-Avila, 2007; Jeffrey, 2009).

En contraste, la autofecundación también es bien conocida, demostrando la gran diversidad existente en esta familia. Este mecanismo asegura la formación de frutos en ausencia de polinizadores, los cuales se producen a partir de la fecundación con el polen de la misma flor. Las especies autocompatibles pueden formar aquenios por libre polinización y autopolinización indistintamente (Sun & Ganders, 1990; Torres & Galetto, 2008). Algunas especies son parcialmente autocompatibles por que son capaces de formar frutos por autofecundación, pero requieren de polen exógeno para alcanzar la máxima producción de semillas viables (Torres-Díaz *et al.*, 2007; Torres & Galetto, 2008; Ferrer *et al.*, 2009).

Los frutos de Asteraceae pueden ser considerados aquenios o cipselas. Richard (1808) *apud* Roth (1977), nombró aquenio a un fruto seco, indehiscente, en el que el tegumento de la semilla se desprende de las paredes. Por otro lado, Mirbel (1813), definió la cipsela como un fruto que se forma a partir de un ovario ínfero, siendo monoespermico y unilocular. Ambos términos son utilizados indiscriminadamente, prácticamente como sinónimos. Algunos autores opinan que cipsela sería correcto, por originarse de un ovario ínfero, en tanto que los aquenios serían solo los derivados de un ovario súpero (Bremen, 1994; Marzinek *et al.*, 2008). Por el contrario, otros autores mantienen la denominación original (Jeffrey, 2007; Kadereit, 2007; Funk *et al.*, 2009). En la presente tesis se ha elegido seguir con este último criterio, utilizando el nombre de aquenio para referirse a los frutos de *Flourensia*.

Los aquenios presentan el cáliz que es persistente y se modifica formando el pappus o vilano. Este puede estar formado por 1-2 o numerosas aristas, escamas, cerdas o pelos simples o plumosos, dispuestos en una o más series, o bien puede estar completamente ausente. Su función está relacionada con la dispersión, la cual

es en general por el viento, en los casos en que el vilano se encuentra desarrollado (Funk *et al.*, 2009).

El porcentaje de germinación en esta familia varía considerablemente. Valencia Días & Montaña (2003) analizaron 112 especies y concluyeron que la germinación de especies de zonas áridas es menor que en las especies de otros ambientes. Además, reportan que el porcentaje de germinación en arbustos de zonas áridas es aún menor que en otras formas de vida.

Con respecto a los requerimientos específicos de temperatura y luz, en general se observa una mejor germinación en presencia de luz y con una temperatura entre los 20 y 25 °C. (Sasaki *et al.*, 1999; Ferreira *et al.*, 2001; Batalha Velten & Souza Garcia, 2005; Galíndez *et al.*, 2009). Una excepción se presenta en *Tagetes minuta* L. en la que se observó mayor porcentaje de germinación en oscuridad, por lo que se considera fotoblástica negativa (Ferreira *et al.*, 2001).

Como ya se ha dicho con anterioridad, Asteraceae es cosmopolita ya que sus especies se encuentran en todos los ecosistemas terrestres. Su gran diversificación y expansión es atribuida a la gran capacidad reproductiva, a las particulares estrategias desarrolladas para la dispersión de los frutos y a la alta germinación de las semillas. A pesar de ello, son numerosas las especies endémicas con distribución restringida, como es el caso de *Flourensia*. En estas, el estudio de la biología reproductiva es fundamental para intentar comprender su escasa expansión, además de aportar información novedosa para su conservación y para su posible utilización como ornamental.

OBJETIVOS

El objetivo general es indagar sobre la biología reproductiva en 6 especies de *Flourensia*, analizando los capítulos, las flores que lo componen y los frutos que originan, para determinar las características e importancia de la reproducción sexual en estas especies.

Objetivos específicos:

- 1) Analizar las características exomorfológicas de los capítulos, las flores y los frutos. Valorar el éxito reproductivo. Determinar el sistema de reproducción y conocer el papel de los visitantes florales en la polinización.
- 2) Estudiar la germinación de las semillas mediante diferentes ensayos, determinando el porcentaje de germinación y la viabilidad de las mismas.
- 3) Analizar la morfoanatomía y ontogenia de las flores perfectas. Indagar sobre el desarrollo de las semillas y los frutos, desde el momento de la fecundación hasta la madurez. Reconocer la naturaleza química de las reservas en las semillas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los estudios de biología reproductiva se realizaron en las seis especies de *Flourensia* del centro de Argentina (ver datos de recolección en Tabla 1).

Se llevaron a cabo observaciones a campo de las características macroscópicas de las plantas y sus capítulos, así como también, de los visitantes florales que entraban en contacto con ellos.

Se recolectaron en los años 2009 y 2010 capítulos con flores y frutos en diferentes estadios de maduración, provenientes de 4 o 5 individuos por especie. Los capítulos jóvenes, desde botones florales hasta aquenios inmaduros, fueron fijados en FAA, mientras que los frutos maduros se secaron y almacenaron en lugar fresco y seco.

Para indagar sobre los caracteres florales se utilizaron capítulos previamente fijados en FAA, con flores tubulares en preantésis y en antésis. Se los tiñó con safranina 50% y se observaron bajo lupa.

Para calcular el éxito reproductivo se utilizaron entre 22 y 34 capítulos, provenientes de 4 o 5 individuos por especie, con frutos inmaduros (debido a que los maduros se desprenden del capítulo), en los que se cuantificó los frutos formados y las flores no fecundadas. Se calculó para cada especie el promedio de flores por capítulo y el porcentaje de fructificación.

Se determinó para cada especie el porcentaje de frutos maduros con y sin semilla. Para esto se eligieron al azar 200 frutos maduros por especie, 50 aquenios de 4 plantas, y se los examinó bajo la lupa. Los frutos considerados viables presentan un cierto volumen, son duros y cilíndricos, mientras que por el contrario, los aquenios que no contienen embrión desarrollado se encuentran vacíos y se consideran inviables. Éstos se abrieron y observaron con lupa para corroborar que no contuvieran embrión.

Las dimensiones de los aquenios fueron tomadas en 30 frutos maduros y sanos, provenientes de 3 individuos de cada especie, se midió el ancho y el largo del cuerpo, sin considerar las aristas, los promedios se calcularon para cada especie.

Se estudió el sistema reproductivo de *F. campestris* y *F. oolepis*, para lo cual se embolsaron numerosos capítulos en los primeros estadios de desarrollo de las flores (en preantesis), éstos fueron cubiertos con pequeñas bolsas de tul, con el fin de impedir que los polinizadores se pongan en contacto con las flores; los frutos de estos capítulos embolsados serían formados solo por autofecundación. La primer prueba comenzó en diciembre de 2008 y en enero de 2009 se recolectaron 155 capítulos de *F. campestris* y 26 *F. oolepis*. Una segunda prueba se realizó en diciembre de 2011 y en febrero de 2012 se recogieron 123 capítulos de *F. campestris* y 35 de *F. oolepis*. Siguiendo las técnicas descritas anteriormente se calculó el promedio de flores por capítulo y el porcentaje de fructificación. Para conocer el porcentaje de frutos sin semillas o vacíos se analizaron 200 aquenios sanos y maduros de cada especie para cada año.

Se calcularon las medias y desvíos estándares y luego se realizaron Análisis de Varianza y Tests de Tukey con el objetivo de determinar si existen diferencias significativas entre las especies (Scheffé, 1959; Sokal & Rohlf, 1981).

Para realizar los estudios de germinación se realizaron recolecciones de frutos entre los meses de Marzo-Abril de 2009 y 2010, para todas las especies se recolectaron aquenios maduros provenientes de cuatro o cinco individuos diferentes elegidos al azar. Se secaron y almacenaron en lugar fresco y seco.

En las pruebas de germinación se utilizaron 30 semillas, tomadas al azar, de cada individuo (4 o 5 individuos por especie, 30 semillas cada uno para cada prueba). Estas se lixiviaron durante 24 hs. con agua corriente y se colocaron en cajas de Petri con papel absorbente (cada caja corresponde a un individuo). Se las mantuvo en cámara con ambiente controlado con 25° C, 12 hs. de luz y 12 hs. de oscuridad, regándolas diariamente con agua destilada.

Se registró la cantidad de semillas germinadas diariamente durante un lapso de 30 días, considerando al menos 5 mm de radícula emergida.

Se llevaron a cabo pruebas de germinación a diferentes edades de las semillas, es decir, el tiempo desde la recolección hasta el momento de la prueba de germinación, con el fin de determinar la viabilidad de las mismas. Con las semillas recolectadas en el año 2009 se realizaron pruebas a los 15 días y 2 meses de edad de las semillas desde la recolección. Con las semillas de 2010 se realizaron pruebas de germinación al mes y a los 3, 19 y 23 meses.

Se estudiaron los requerimientos de ácido giberélico para lo cual se realizaron pruebas de germinación con semillas de *F. campestris* y *F. oolepis* de 2 meses de edad recolectadas en el año 2009. Se siguió la misma metodología para el preparado de los germinadores, con el agregado de ácido giberélico al papel absorbente.

Para cada caja de Petri se calculó el porcentaje de germinación y se indicó el tiempo de germinación (TG) como los días necesarios para alcanzar el máximo porcentaje de germinación. Se calculó la media y el desvío estándar de ambas variables para cada edad de las semillas, para cada especie. Luego, se realizaron Análisis de Varianza y Tests de Tukey (Scheffé, 1959; Sokal & Rohlf, 1981) con el objetivo de determinar si existen diferencias significativas entre las edades y con el agregado de ácido giberélico.

Luego, se comparó estadísticamente el porcentaje de germinación máximo entre especies. Para ello se tomó en cuenta la prueba con mayor porcentaje de germinación de cada especie; para *F. oolepis* se utilizó la prueba realizada con semillas de 3 meses de edad y para las restantes especies la prueba con semillas de 1 mes de edad.

Por último, para cada especie se calculó:

Tiempo inicial de germinación (TIG) como el promedio de días necesario para que se inicie la germinación.

Tiempo de germinación (TG) como el promedio de días necesario para lograr el mayor porcentaje de germinación.

Germinación media diaria (GMD) como el porcentaje de germinación dividido el tiempo de germinación.

Tiempo medio de germinación (TMG) con la fórmula:

$TMG = \frac{\sum (N_i \times D_i)}{\sum N}$ donde D: días desde el inicio de la prueba. N: nº de semillas que germinaron el día D.

Se analizó la morfoanatomía y ontogenia de las flores perfectas, para lo cual se utilizaron botones florales en diferentes estadios de desarrollo, desde pre-antesis

hasta flores abiertas. Además, se estudió el desarrollo de las semillas y los frutos, desde la fecundación hasta la madurez, examinando las características anatómicas en los distintos estadios. Para ello, se realizaron preparados permanentes, de cortes longitudinales y transversales por capítulos con flores y frutos en distintos estadios de desarrollo. El material conservado en FAA se deshidrató en una serie de alcohol etílico y xilol y se lo incluyó en histoplast. Se realizaron cortes microtómicos seriados, los cuales se colorearon con azul astral - fucsina básica y finalmente se montaron con bálsamo de Canadá (Kraus *et al.*, 1998). Los preparados permanentes se observaron con microscopio óptico y se realizaron fotomicrografías con cámara digital.

Con el propósito de determinar la composición química de las reservas de las semillas, se realizaron cortes a mano alzada de aquenios maduros de las seis especies y se sometieron a pruebas histoquímicas (Johansen, 1940); se utilizó yodo yoduro de potasio para determinar almidón, Sudan IV para lípidos y eosina para proteínas.

Todas las variables fueron analizadas estadísticamente con el programa InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2009) y se graficaron los resultados utilizando el mismo programa.

RESULTADOS

CARACTERES FLORALES

Las especies estudiadas florecieron en la estación lluviosa de verano, entre los meses de noviembre y febrero; fructificaron de diciembre hasta abril, siendo necesarios 30-45 días para la formación y maduración de los frutos (Fig. 1).

Los capítulos se observaron solitarios o reunidos en grupos pequeños en *F. hirta*, *F. oolepis* y *F. tortuosa* (Fig. 1 B, E y F), mientras que en las restantes especies formaron agrupaciones cimosas (Fig. 1 A, C y D).

Fueron visitados por una gran variedad de insectos (Fig. 17). El orden Hymenoptera fue el más abundante ya que *Apis mellifera* se observó en gran cantidad en todas las poblaciones. Otros órdenes encontrados fueron Lepidoptera (mariposas y polillas) y Diptera (moscas y tábanos de diferentes tamaños). En baja proporción se encontraron Coleópteros y Arácnidos.

Los capítulos presentaron flores del radio liguladas y estériles, aunque se pudo observar un pistilo rudimentario. Se desarrollaron tempranamente, antes que las flores centrales y se dispusieron en un solo ciclo externo (Fig. 18 A).

En capítulos maduros, el involucre resultó acampanado a semiesférico con brácteas o filarias en 2 o 3 series, color verdoso-amarillento (Fig. 18 B).

Las flores del disco fueron numerosas y se abrieron en forma centrípeta (Fig. 18 C). Son tubulosas, formadas por cinco pétalos fusionados, pentalobadas. El cáliz está representado por dos aristas (Fig. 18 D, F y H). Se observaron acompañadas por una pálea casi incolora (Fig. 18 F y J).

Son perfectas, epigeas con ovario ínfero (Fig. 18 D-G). Presentan cinco estambres fusionados y el estilo remata en dos ramas estigmáticas (Fig. 18 H-I).

Se encontraron numerosos tricomas, tanto en flores en preantésis como en flores abiertas. Los eglandulares resultaron de dos tipos; los tricomas “Gemelos” se observaron en gran cantidad en el ovario (Fig. 18 D-G), mientras que, los del tipo “Eglandular Cónico Simple” fueron hallados en las páleas y brácteas del involucre en

F. hirta y *F. tortuosa* (Fig. 18 J-K). Los tricomas glandulares fueron los más abundantes, resultaron del tipo “Glandular Vesicular Biseriado – subtipo β ” con una gran cabeza con contenido denso (Fig. 18 L), (ver descripción de tricomas en anatomía floral). Se hallaron en todas las especies en el ovario, la corola, en especial en el ápice, en las aristas del papus, en la pálea y en las brácteas del involucre.

Luego de la fecundación comienza el desarrollo de los aquenios, éstos mantienen las piezas periánticas marchitas y se encuentran protegidos por las páleas que se desarrollan y vuelven verdes. Los frutos maduros pierden estas piezas accesorias, se desprenden de los restos del capítulo y caen (Fig. 19 A y B).

Los aquenios son obovados u obcónicos, ligeramente comprimidos, marrón oscuro. Son velludos, ya que mantienen gran cantidad de tricomas gemelos. Presentan el papus (vilano) formado por dos aristas persistentes. *F. oolepis* se diferencia por presentar dos aristas y pajitas intermedias unidas formando un anillo (Fig. 19 C - D).

ÉXITO REPRODUCTIVO

Se observó entre las especies una gran diferencia en el número de flores tubulares por capítulo (Tabla 7). Los análisis estadísticos mostraron que *F. leptopoda* es la que presentó menor cantidad de flores en promedio, con 13,56 flores por capítulo, notablemente inferior a las restantes especies. Por el contrario, las especies que presentaron un número significativamente mayor son *F. tortuosa* con 70,77 flores por capítulo en promedio y *F. oolepis* con 67,71 flores por capítulo. Cabe destacar, que *F. tortuosa* presentó 5,21 veces la cantidad de flores de *F. leptopoda*. Las restantes especies tuvieron valores intermedios, de 19,89 para *F. campestris*, 20,71 para *F. hirta* y 22,68 para *F. niederleinii*.

Con respecto a la producción de frutos, se observaron altos porcentajes de fructificación en todas las especies, siendo éstos entre 99,63 y 99,9 %, de modo que casi el total de flores fue fecundado y formó aquenios (Tabla 7).

Cabe destacar en este punto que una cantidad considerable de capítulos se encontraron atacados. Se observaron huevos o larvas en los ovarios de las flores, muchas de las cuales se encontraron totalmente dañadas e imposibilitadas de formar frutos. Además, en un gran número de aquenios maduros se observaron pequeñas aberturas circulares, lo que también indica que fueron parasitados por insectos.

Asimismo, se observaron frutos sin semillas en todas las especies, pero en porcentajes variables. El valor más alto y significativamente diferente se presentó en *F. hirta*, en la que el 66,5% de los aquenios se encontraron vacíos. *F. tortuosa* y *F. niederleinii* presentaron valores intermedios, de 48,65 y 35,75% de frutos sin semilla respectivamente. Por último, *F. leptopoda*, *F. campestris* y *F. oolepis* fueron las especies con menor porcentaje de frutos abortivos, de 15,5, 12,25 y 8,75% (Tabla 7).

Con respecto a las dimensiones de los frutos, se observaron diferencias entre las especies (Fig. 19 D). El largo promedio sin considerar las aristas resultó estadísticamente diferente entre las especies, siendo *F. leptopoda* la especie que presentó menor dimensión, de 4,7 mm, mientras que, *F. oolepis* y *F. tortuosa* fueron las especies con mayores dimensiones, de 7,53 y 7,13 mm, respectivamente. En contraste, no se encontraron diferencias significativas en el ancho promedio de los aquenios, siendo los valores entre 2,37 y 3,4 mm. Sin embargo, cabe destacar que *F. leptopoda* también es la especie que presentó menor valor (Tabla 7).

En las pruebas de autofecundación realizadas en *F. campestris* y *F. oolepis* no se encontraron diferencias significativas en la cantidad de flores por capítulo, siendo en promedio $15,8 \pm 2,7$ y $67,5 \pm 17,01$ respectivamente; así como tampoco en el porcentaje de fructificación que fue de 99,99 y 99,98% para cada una. Estos frutos serían producidos sólo por autopolinización, de modo que estas especies son altamente capaces de formar frutos aún en ausencia de polinizadores.

Sin embargo, se observó que la mayoría de los frutos eran de menor tamaño y se encontraban vacíos. En *F. campestris* los porcentajes de frutos maduros pero sin semillas fueron de 93,5 y 82% para los años 2009 y 2012 respectivamente y en *F. oolepis* los porcentajes fueron de 86 y 91% para los mismos años, de modo que a pesar de la gran producción de frutos, solo un muy bajo porcentaje se podrían considerar viables.

TABLA 7. Éxito reproductivo en especies de *Flourensia*: promedio de flores tubulares por capítulo, se indica el desvío estándar entre paréntesis, y porcentaje de fructificación. Frutos sin semilla: porcentaje de frutos vacíos. Dimensiones de los aquenios: promedio del ancho máximo y el largo sin las aristas, desvío estándar entre paréntesis. Test de Tuckey: letras distintas indican diferencias significativas con $p \leq 0,05$.

ESPECIE	ÉXITO REPRODUCTIVO		% FRUTOS SIN SEMILLA	DIMENSIONES DE AQUENIOS (mm)	
	Flores/ Capítulo	%fructific		Ancho	Largo
<i>Flourensia campestris</i>	19,89 (3,15) ab	99,86	12,25 (1,77) c	3,4 (0,51) a	6,27 (0,8) bc
<i>F. hirta</i>	20,71 (4,52) b	99,87	66,5 (1,41) a	2,93 (0,69) a	6,47 (0,63) c
<i>F. leptopoda</i>	13,56 (1,83) a	99,81	15,5 (0,71) c	2,37 (0,32) a	4,7 (0,48) a
<i>F. niederleinii</i>	22,68 (4,25) b	99,9	35,75 (7,42) b	2,5 (0,51) a	5,733 (0,45) b
<i>F. oolepis</i>	67,71 (13,4) c	99,63	8,75 (5,3) c	2,8 (0,41) a	7,533 (0,52) d
<i>F. tortuosa</i>	70,77 (17,62) c	99,76	48,65 (0,21) b	2,5 (0,57) a	7,13 (0,89) d



Figura 17: Visitantes florales de capítulos. A: *Flourensia campestris*. B y C: *F. hirta*. D y E: *F. niederleinii*. F: *F. olepis*. G-I: *F. tortuosa*.

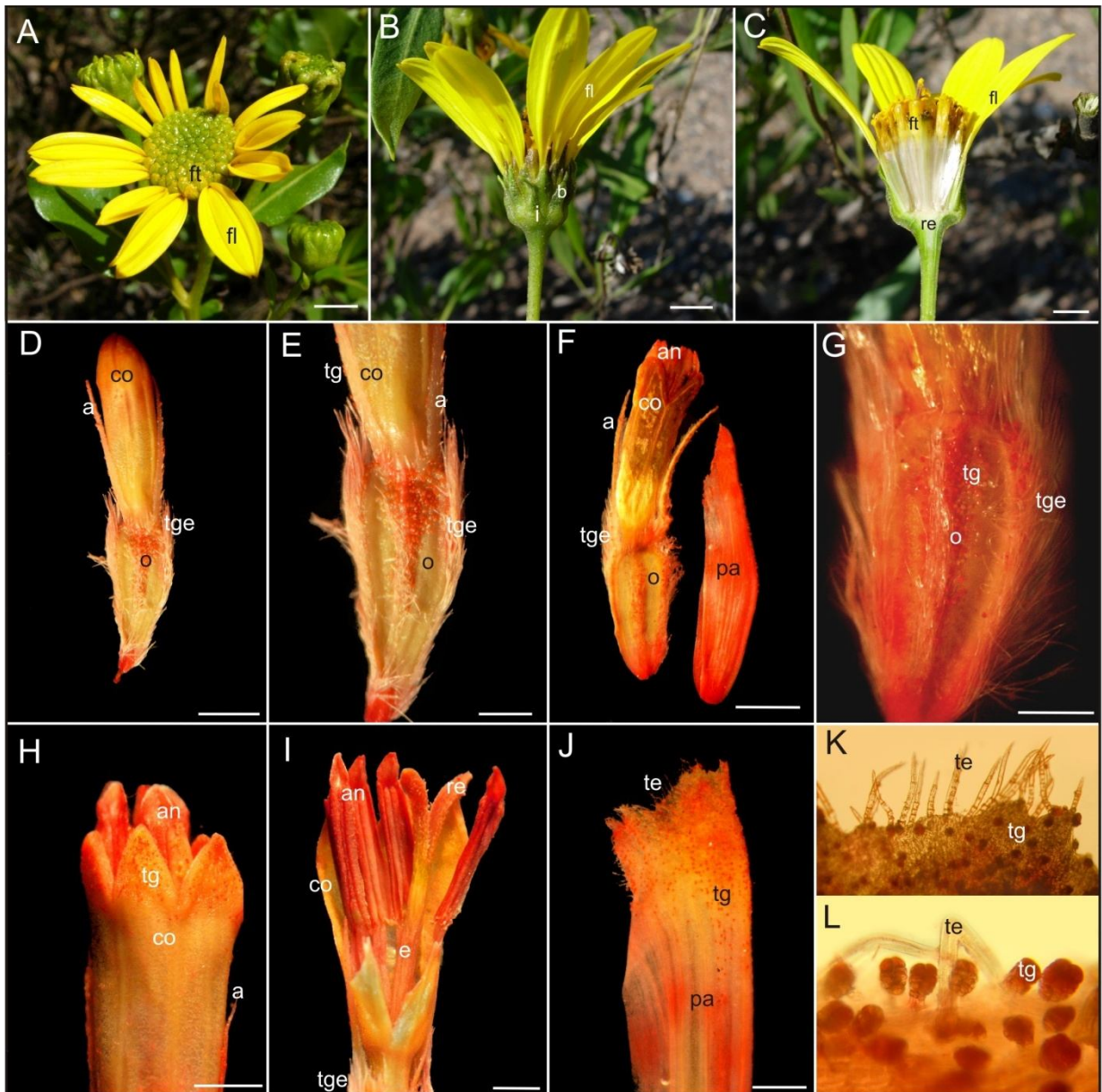


Figura 18. Exomorfoloía de capítulos y flores tubulares. Capítulos *in vivo* (A-C) y flores teñidas con safranina (D-L). **A y H:** *Flourensia oolepis*. **B, C, J y K:** *F. tortuosa*. **D, E, I, y L:** *F. niederleinii*. **F-G:** *F. hirta*. **A:** capítulo joven con flores tubulares en preantésis. **B:** capítulo maduro en vista lateral mostrando las brácteas del involucre. **C:** capítulo maduro en corte longitudinal mostrando las flores tubulares en antésis. **D:** flor en preantésis y **E:** detalle del ovario. **F:** flor en antésis con su pálea, **G:** detalle de ovario y **H:** detalle de zona apical de la corola. **I:** flor diseccionada mostrando las anteras, el estilo y las ramas estigmáticas. **J:** zona apical de la pálea y **K:** detalle de tricomas glandulares y eglandulares. **L:** tricomas glandulares y gemelos del ovario. Abreviaturas: a: arista del papus, an: antera, b: bractea del involucre, co: corola, e: estilo, fl: flor ligulada, ft: flor tubular, i: involucre, o: ovario, r: receptáculo, re: rama estigmática, te: tricoma eglandular, tg: tricoma glandular, tge: tricoma gemelo, pa: pálea. Escalas: A-C: 0,5 cm. D y F: 2 mm. E, G, H-J: 1 mm.

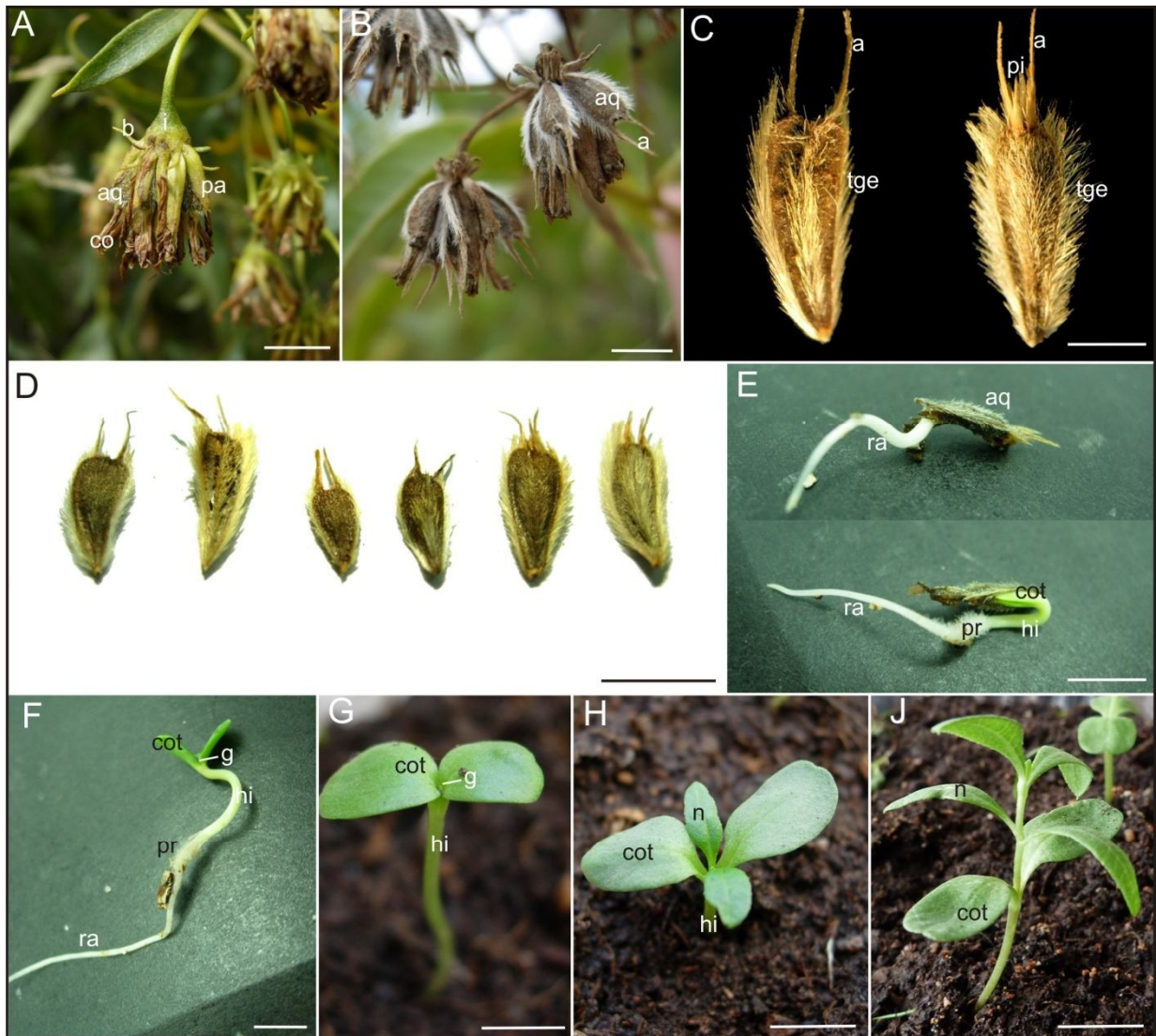


Figura 19. Exomorfoloía de fruto y plántula. A-B, H: *Flourensia campestris*. **E, I:** *F. oolepis*. **F:** *F. hirta*. **G:** *F. leptopoda*. **A:** aquenios en formación y **B:** maduros. **C:** frutos de *F. niederleinii* y *F. oolepis*. **D:** frutos de las seis especies en orden alfabético. **E:** aquenios germinando. **F:** plántula. **G:** plántula con cotiledones. **H:** plántula con cotiledones y primeros nomófilos. **I:** plántula con tres nudos. Abreviaturas: a: aristas, aq: aquenio, b: brácteas del involucro, co: corola, cot: cotiledones, hi: hipocotilo, i: involucro, g: gémula, n: nomofilos, pa: pálea, pi: pajitas intermedias, pr: pelos radicales, ra: radícula, tge: tricomas gemelos. Escala: A, B y D: 5 mm. C y E: 3 mm. F-J: 1 cm.

GERMINACIÓN

En las especies estudiadas la germinación comenzó con la emergencia de una radícula color blanco. La germinación fue epigea, ya que el hipocótilo se alargó elevando los cotiledones, los cuales fueron haustoriales en los primeros estadios de desarrollo (Fig. 19 E); luego, se desprendieron de los restos del aquenio y se volvieron verdes y fotosintéticos (Fig. 19 F y G).

Las primeras hojas, nomofilos, se desarrollaron opuestas a los cotiledones (Fig. 15 H), las hojas de los nudos subsiguientes mantuvieron la disposición verticilada, con dos hojas cada nudo (Fig. 19 J).

En el Gráfico 1 se muestran los porcentajes de germinación y el tiempo de germinación (TG), es decir, los días necesarios para obtener el mayor porcentaje de germinación, para cada edad de la semilla de cada especie.

F. oolepis (Gráfico 1 A) y *F. campestris* (Gráfico 1 B) presentaron una marcada diferencia con respecto a las restantes especies ya que los porcentajes de germinación resultaron notablemente altos.

F. oolepis es la especie que mostró mayores porcentajes de germinación en todas las pruebas (Gráfico 1 A). Las semillas de 3 meses de edad recolectadas en el año 2010 fueron las que más germinaron, con un 92%, resultando esta prueba significativamente diferente. Para las restantes edades de las semillas el porcentaje de germinación fue similar, entre 79 y 72 %, aunque, en la prueba con semillas de 19 meses de edad el porcentaje fue algo menor, de 65.35%. Finalmente, las semillas se vuelven inviables a los 23 meses, ya que no se observaron aquenios germinados en esta prueba. La adición de ácido giberélico mostró una leve disminución en el porcentaje de germinación, en comparación con la misma edad sin la aplicación de ácido giberélico, pero las diferencias no fueron significativas.

Con respecto al tiempo de germinación, todos los resultados fueron relativamente homogéneos, siendo necesarios entre 10 y 15 días para que germinen la mayor cantidad de semillas. Con la adición de ácido giberélico se logró una disminución significativa del tiempo, o dicho de otra manera, se aumentó la velocidad de germinación.

F. campestris mostró altos porcentajes de germinación en todas las pruebas, siendo entre 77 y 68% (Gráfico 1 B). La viabilidad disminuye en las semillas de 19 meses de edad, ya que se observó un porcentaje de germinación significativamente menor, de 37,7%. Finalmente, se vuelven inviables a los 23 meses de edad desde la recolección.

El tiempo de germinación es sensiblemente mayor en semillas de 0,5 meses, siendo necesarios 19 días para que la mayor cantidad de semillas germinen. Luego, en semillas de 1 y 2 meses disminuye a 14 días, hasta que finalmente, a los 3 y 19 meses es de aproximadamente 7 días.

La adición de ácido giberélico no produjo cambios en el porcentaje de germinación, así como tampoco en el tiempo requerido.

En las restantes especies se obtuvieron menores porcentajes de germinación.

F. niederleinii (Gráfico 1 C) mostró un porcentaje de 22% para las pruebas de 0,5 y 1 mes de edad de las semillas. Para las pruebas de 3 y 19 meses, el porcentaje fue levemente menor, de 11,28 y 7,23% respectivamente. Finalmente fue cero para los 23 meses.

El tiempo de germinación requerido fue de entre 9 y 10 días en semillas de 0,5 y 1 mes, y disminuyó con la edad, siendo necesarios entre 5 y 6 días en semillas de 3 y 19 meses de edad.

Para *F. hirta* (Gráfico 1 D) todas las pruebas mostraron un bajo porcentaje de germinación, siendo el porcentaje más alto solo del 12%, sin diferencias significativas entre las edades.

El tiempo de germinación fue mayor para las semillas de 1 mes de edad, de 12 días, mientras que para las restantes pruebas fue de entre 7 y 4 días.

Por último, *F. tortuosa* y *F. leptopoda* mostraron marcadas diferencias entre los diferentes ensayos.

F. tortuosa (Gráfico 1 E) mostró un alto porcentaje de germinación, de 56%, en la prueba realizada con semillas de 1 mes de edad. Para las semillas de 2 meses de

edad el porcentaje bajó significativamente a 13,33% y fue notablemente menor en las restantes pruebas, de aproximadamente 2%.

El tiempo también mostró grandes diferencias, fueron necesarios 22 días para las semillas de 1 mes y solamente entre 2 y 4 días para las restantes edades.

Para *F. leptopoda* (Gráfico 1 F) las semillas de 1 mes de edad obtuvieron un porcentaje de germinación de 26%, estadísticamente diferente de las semillas de 19 meses que mostraron un porcentaje de 17,96%; estas semillas fueron recolectadas en el año 2010. Por el contrario, el porcentaje de germinación fue nulo para todas las pruebas realizadas con semillas del 2009.

El tiempo fue significativamente mayor en semillas de 1 mes, de 13 días, mientras que para las semillas de 19 meses fue de 7 días.

En la Tabla 8 se resumen los datos de las pruebas realizadas con semillas de 1 mes de edad para todas las especies, excepto para *F. oolepis* que se muestran los resultados de semillas de 3 meses, y las pruebas con el agregado de ácido giberélico.

La comparación estadística de los porcentajes de germinación máximos entre especies reafirma las diferencias anteriormente nombradas. La especie que mayor porcentaje de germinación obtuvo fue *F. oolepis*, de 92%. Le siguen *F. campestris* y las pruebas realizadas con el agregado de ácido giberélico, con un porcentaje entre 78 y 74%, y *F. tortuosa* con 56%. Finalmente, *F. leptopoda*, *F. niederleinii* y *F. hirta* se diferencian estadísticamente por sus bajos porcentajes, de entre 12 y 26%.

Con respecto al tiempo, la especie que más rápido comenzó a germinar fue *F. oolepis*, con un tiempo inicial de germinación (TIG) de 4 días; este representa el estado de dormancia de las semillas, ya que se entiende como la cantidad de días necesarios para que comience la germinación. En esta especie también fue menor el tiempo de germinación (TG), de 10 días, es decir los días necesarios para alcanzar el máximo porcentaje de germinación. Además, fue máxima la germinación media diaria (GMD) y menor el tiempo medio de germinación (TMG).

La adición de ácido giberélico en *F. oolepis*, si bien disminuyó levemente el porcentaje de germinación, aceleró el proceso ya que fueron menores los TIG, TG y TMG y mayor la GMD. En contraste, en *F. campestris* no se encontraron diferencias en ninguna variable.

La especie que germinó más lentamente fue *F. hirta*, que necesitó 15 días para que comience la germinación, seguida de *F. leptopoda* que requirió 9 días. El tiempo de germinación (TG) fue máximo en *F. tortuosa*, de 22 días, seguido de *F. hirta* con 19 días.

Para las restantes especies los valores fueron intermedios, los días necesarios para que inicie la germinación rondaron entre 4 y 6 días y la germinación máxima se alcanzó entre los 10 y 14 días.

TABLA 8. Porcentaje de germinación en especies de *Flourensia*: promedio con desvío estándar entre paréntesis; test de Tuckey con $p \leq 0,05$, letras distintas indican diferencias significativas. **AG:** ácido giberélico. **TIG:** tiempo inicial de germinación en días. **TG:** tiempo de germinación en días. **GMD:** germinación media diaria. **TMG:** tiempo medio de germinación.

ESPECIE	% Germinación	TIG	TG	GMD	TMG
<i>Flourensia oolepis</i>	92 (9,75) a	3,6	10,00	9,2	6,54
<i>F. oolepis + AG</i>	78,68 (8,70) ab	1,8	7,4	10,63	4,16
<i>F. campestris</i>	77 (22,53) ab	4,14	13,60	5,66	7,01
<i>F. campestris + AG</i>	74,66 (14,26) ab	4,4	13	5,74	6,9
<i>F. tortuosa</i>	56 (5,48) b	6	22,40	2,66	15,62
<i>F. leptopoda</i>	26 (8,94) c	8,5	13,20	2,5	8,94
<i>F. niederleinii</i>	22 (4,47) c	6,5	9,20	2,39	7,84
<i>F. hirta</i>	12 (2,74) c	15	18,80	0,85	14,83

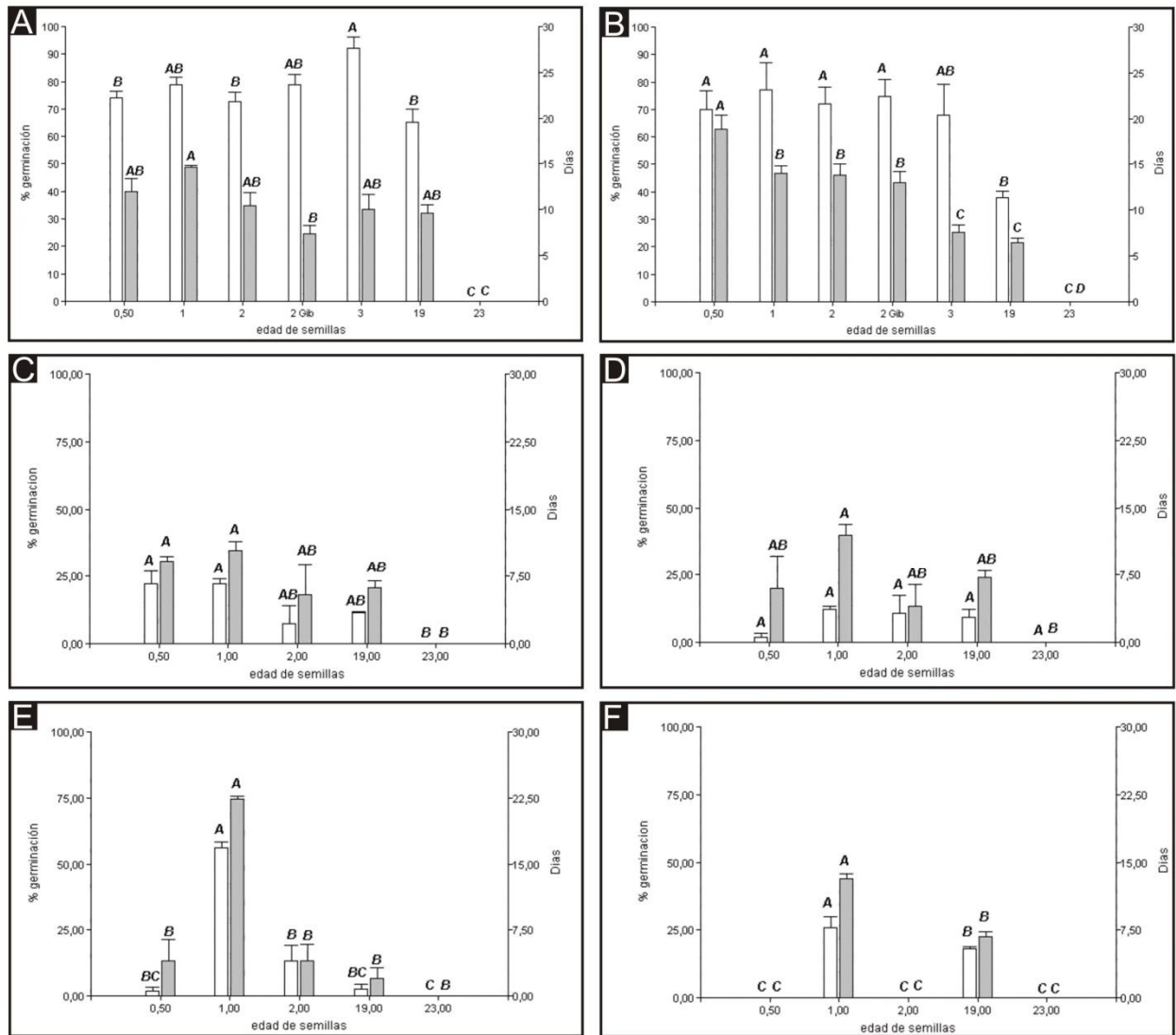


Gráfico 1. Viabilidad de las semillas en especies de *Flourensia*. Porcentaje de germinación y tiempo medio de germinación en diferentes edades de las semillas para **A:** *Flourensia oolepis*, **B:** *F. campestris*, **C:** *F. niederleinii*, **D:** *F. hirta*, **E:** *F. tortuosa*, **F:** *F. leptopoda*.

□ Porcentaje de Germinación, ■ Tiempo Medio de Germinación.

MORFOANATOMÍA FLORAL

En cortes longitudinales por capítulos jóvenes pudo observarse las características generales ya descritas de las flores tubulares centrales. Estas son epigeas de ovario ínfero y presentan un nectario en la base del estilo (Fig. 20 A-B). Son sésiles y se unen al receptáculo por medio del carpopodio, un pequeño pie formado por tejido parenquimático. Cada flor se encuentra rodeada por una pálea la cual se inserta en la carpopodio (Fig. 20 B).

El ovario presentó un óvulo anátropo de placentación basal, formado por un único tegumento, el cual constó de la epidermis externa, estratos intermedios y epidermis interna (Fig. 20 B y E). El endotelio o tapete tegumentario se diferenció en las primeras etapas del desarrollo del saco embrionario, a partir de la epidermis interna del único tegumento del óvulo. Consistió en una capa de células altas, de mayor tamaño que las células circundantes y con núcleos evidentes, rodea al saco embrionario en formación y lo nutre (Fig. 20 B y D; Fig. 21 A). En el momento de apertura de la flor, el saco embrionario se encontró desarrollado y las células que forman el endotelio presentaron contenido denso. Por fuera de este, las células del tegumento del óvulo comenzaron a desorganizarse y se lisaron sus paredes (Fig. 20 E y H; Fig. 21 C).

En flores jóvenes, la pared del ovario presentó una epidermis externa unistratificada con células pequeñas, sus paredes fueron delgadas con una fina cutícula y los núcleos son evidentes. Comenzaron a desarrollarse numerosos tricomas en toda la superficie externa, con mayor proporción en las costillas (Fig. 20 B; Fig. 21 A y B). Al momento de la antésis floral, las células de la epidermis se observaron de mayor tamaño y más altas. La cutícula fue más gruesa y los tricomas gemelos se observaron completamente desarrollados (Fig. 20 E-F; Fig. 21 C-D), constan de 4 células: 2 basales muy reducida y dos células alargadas y muy lignificadas (Fig. 20 F-G).

Inmediatamente por debajo de la epidermis externa se encontró una capa de células denominada hipodermis o tejido subepidérmico, formada por células parenquimáticas con paredes delgadas. En los primeros estadios de desarrollo de la flor las células se observaron similares a las epidérmicas (Fig. 20 B). En flores

maduras esta capa fue más notable, con células de mayor tamaño, núcleos evidentes y contenido denso (Fig. 20 F-G; Fig. 21 D).

La epidermis interna fue unistratificada, con células rectangulares e iguales características que la epidermis externa (Fig. 20 B y E; Fig. 21 A-D).

En el mesofilo se encontraron dos zonas bien diferenciadas, el mesofilo externo fue compacto y estuvo formado por células pequeñas con núcleos evidentes y contenido denso. En cambio, el mesofilo interno resultó considerablemente más laxo, con células de mayores dimensiones y espacios intercelulares (Fig. 20 B, E y F; Fig. 21 B y D).

En corte transversal pudo observarse que el ovario, compuesto por dos carpelos, adopta una forma elíptica con prolongaciones que corresponden a costillas (Fig. 21 A, C y E). Los dos hacecillos dorsales presentaron un gran desarrollo, fueron colaterales cerrados, algunos acompañados por un conducto secretor (Fig. 21 B y E). Los hacecillos marginales fueron dos muy pequeños. En la zona de fusión de los carpelos, la epidermis interna se observó pluristratificada, con numerosas células de tamaño reducido y núcleo evidente (Fig. 21 B-E).

El nectario se ubicó a la altura de la base de la corola, por encima del ovario y rodeando la base del estilo (Fig. 22 A-C). En el corte transversal presentó una forma pentagonal (Fig. 22 D-F). Su estructura fue simple, con una epidermis unistratificada, por debajo de la cual se encontró el parénquima secretor. Antes de la apertura de la flor, el nectario presentó células parenquimáticas con núcleos evidentes (Fig. 22 A y D). En el momento de la antésis floral, las células del parénquima secretor se encontraron llenas de contenido denso (Fig. 22 B y E). Finalmente, luego de la fecundación, el nectario colapsa (Fig. 22 C y F).

El androceo estuvo compuesto por cinco estambres, los filamentos fueron libres e insertos en el tubo corolino (Fig. 20 A). Las anteras fueron ditécicas y se encontraron unidas entre sí formando un tubo alrededor del estilo (Fig. 23 A y E).

El estilo se observó circular en sección transversal, y en él se vieron dos haces vasculares pequeños y un canal estilar central (Fig. 22 D-F). En la zona apical, el estilo se dividió en dos ramas estigmáticas de forma lanceoladas y con ápice subtriangular (Fig. 23 F). En estadios tempranos la epidermis adaxial o interna de cada rama fue unistratificada, con células rectangulares de contenido denso (Fig.

23 A y E), luego estas células epidérmicas desarrollaron numerosas papilas siendo esta zona la receptiva de los granos de polen (Fig. 23 F-G y I-J).

La epidermis abaxial o externa estuvo formada por células pequeñas de forma rectangular (Fig. 23 F) y formaron prolongaciones papilosas hacia el ápice de las ramas estigmáticas (Fig. 23 I y J). Por dentro de la epidermis abaxial se encontró una capa de células notablemente más grandes, que pueden presentar contenido. Finalmente, cada rama estigmática presentó un hacecillo colateral (Fig. 23 I).

Las páleas en corte transversal presentaron estructura similar a una hoja. Ambas epidermis fueron unistratificadas, con células algo rectangulares y con cutícula fina. Entre ellas se observó una a cuatro capas de células parenquimáticas más pequeñas. Los hacecillos fueron colaterales cerrados, uno mayor y numerosos pequeños. Se destacó la presencia de gran cantidad de conductos secretores, en general asociados a los hacecillos (Fig. 21 A y C-D; Fig. 22 D). Los tricomas glandulares también fueron abundantes, en especial en flores jóvenes (Fig. 23 A y E).

Las dos aristas del papus resultaron triangulares en corte transversal, presentaron ambas epidermis unistratificada y entre ellas unas pocas capas de células parenquimáticas. Se observaron en cada una de ellas un pequeño haz vascular y un conducto secretor, además de numerosos tricomas eglandulares y glandulares en su superficie externa (Fig. 22 D y E).

DESARROLLO DE FRUTO Y SEMILLA

Fruto joven

Luego de la fecundación comenzó el desarrollo del embrión, la formación de endosperma y la ontogenia del fruto y la semilla.

En los primeros estadios el embrión fue globular y el endosperma incipiente. El endotelio fue persistente y estuvo formado por una capa de células de contenido denso (Fig. 24 A-C y F). Por fuera de este, el único tegumento del óvulo formó el tegumento seminal, las células más próximas al endotelio se lisaron y parte del tejido se desintegró (Fig. 24 F).

La pared del ovario sufrió cambios importantes hasta que finalmente formó el pericarpo. Las células de la epidermis externa se desarrollaron considerablemente formando el exocarpo, adoptando una forma rectangular con una gruesa cutícula. La hipodermis presentó contenido denso, pero sus células mantuvieron su tamaño. El mesocarpo externo estuvo formado por apenas dos o tres estratos de células pequeñas, con contenido denso y sus paredes se observaron lignificadas. En cambio, las células del mesocarpo interno, junto a las de la epidermis interna se desorganizaron y aparecieron mayores espacios intercelulares (Fig. 20).

Los tricomas fueron muy abundantes, se observaron tricomas gemelos en gran cantidad en especial en las costillas (Fig 24 B-E y G) y tricomas glandulares, que en el caso de *F. hirta* fueron muy abundantes en toda la superficie externa del fruto (Fig. 24 D).

Las paleas y las aristas del papus comenzaron a lignificarse, ya que se observaron grupos de fibras asociadas a los hacecillos y a los conductos secretores (Fig 24 B y D).

En un estadio de desarrollo más avanzado, la hipodermis se observó como una capa de células con un gran contenido denso. Entre la hipodermis y las células del mesocarpo apareció una deposición de material oscuro o fitomelanina, presuntamente secretado por las células de la hipodermis. Las células del mesocarpo externo comenzaron a lignificarse mientras que las del mesocarpo interno colapsaron y el tejido desapareció. En la zona de las costillas, las células del exocarpo fueron pequeñas y mantuvieron una forma rectangular, redondeadas con cutícula fina. Las células circundantes al hacecillo comenzaron a engrosar sus paredes (Fig. 25 A-B).

Cuando el embrión se encontró en estado de torpedo, el endosperma fue escaso y el endotelio recubrió a ambos. El tejido seminal se observó como unas pocas capas de células parenquimáticas (Fig. 25 C). En las costillas se desarrollaron un gran grupo de fibras por fuera del hacecillo dorsal (Fig. 25 C-D). En el pericarpo se observó el exocarpo con cutícula gruesa, por debajo la hipodermis con células con contenido denso, luego una capa oscura de fitomelanina, una capa continua de fibras que corresponden al mesocarpo externo y finalmente el mesocarpo interno colapsado (Fig. 20 D y E).

Fruto maduro

En cortes transversales a mano alzada por aquenio maduro se observó que los tejidos del fruto (pericarpo), como de la semilla (episperma), se deshidratan y endurecen formando un tegumento indivisible. En las costillas se encontró un casquete de considerable tamaño formado por fibras (Fig. 25 F). En toda la superficie del fruto se observó gran cantidad de tricomas gemelos, en especial en las costillas (Fig. 25 F-G).

El embrión fue recto en corte longitudinal, presentó una gémula notable y dos cotiledones voluminosos (Fig. 26 A). En estos se observaron ambas epidermis unistratificadas con células pequeñas, hacia adaxial entre dos y cuatro capas de parénquima en empalizada y hacia abaxial parénquima esponjoso. No se encontraron haces vasculares (Fig. 26 C-D). Se destacaron numerosos conductos secretores, algunos de los cuales se encontraron completamente desarrollados y otros en proceso de formación (Fig. 26 E y F).

Recubriendo el embrión se observó el tegumento de la semilla o episperma, estuvo compuesto por unas pocas capas de células parenquimáticas y el endotelio (Fig. 26 C-D), este último fue uniestratificado y en vista superficial sus células se observaron casi rectangulares (Fig. 26 G).

En el pericarpo se observó el exocarpo formado por células rectangulares en corte transversal, cuadradas en corte longitudinal y con cutícula gruesa. Por debajo, la hipodermis con una o dos capas y finalmente dos o tres capas de fibras (Fig. 26 B-D).

Se detectaron lípidos en el embrión, en especial en los cotiledones, y en las células epiteliales de los conductos. Además, se observaron proteínas en el embrión y en el endotelio o episperma (Fig. 21 G), en tanto que el almidón está ausente.

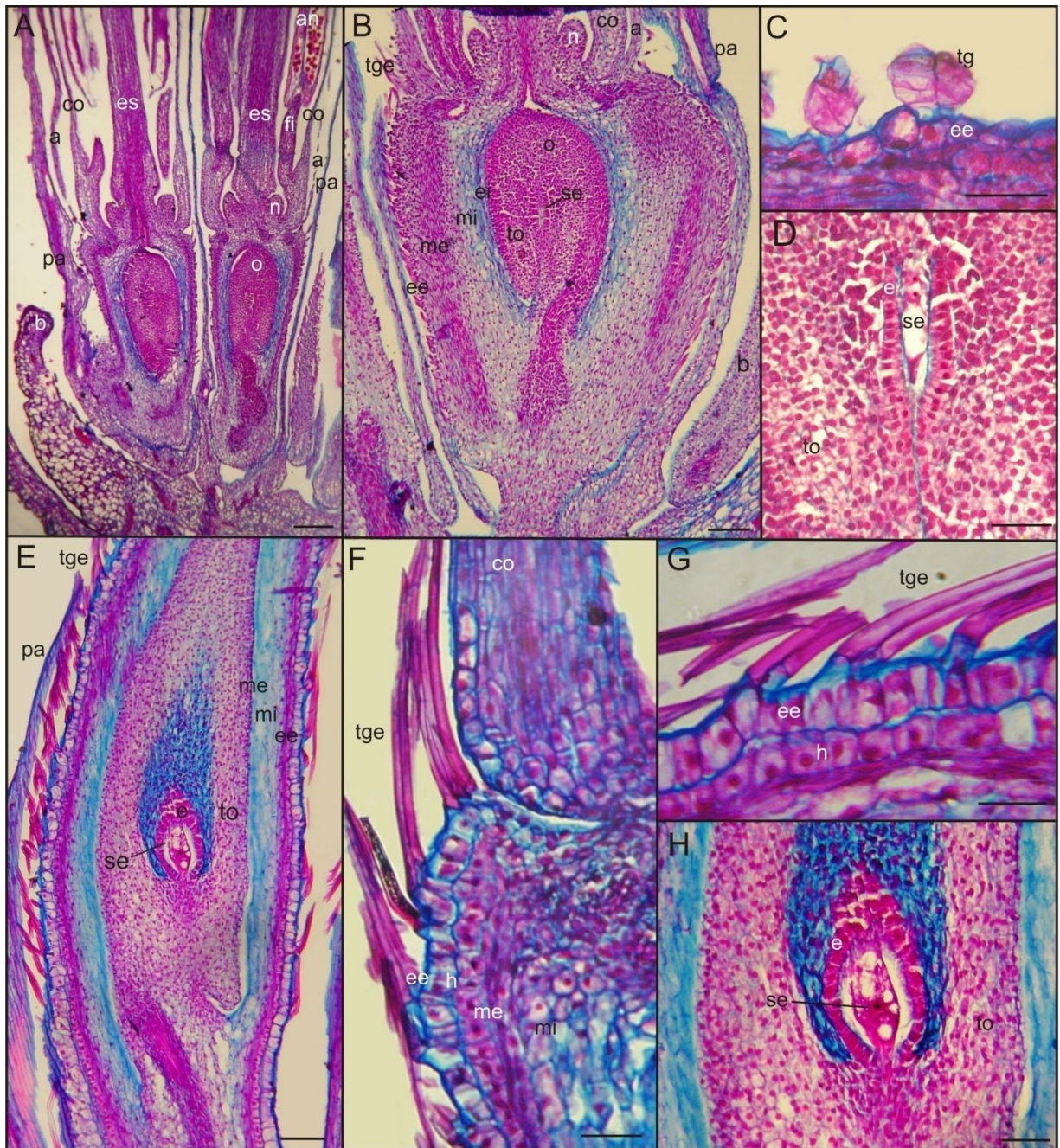


Figura 20. Ontogenia floral. Corte longitudinal por flor tubular en preantésis (A-E) y antésis (F-I) de *Flourensia campestris*. **A:** vista general de dos flores perfectas. **B:** ovario con un óvulo anátropo. **C:** tricomas glandulares. **D:** detalle de saco embrionario en formación. **E:** óvulo con saco embrionario maduro. **F:** pared del ovario con tricomas gemelos. **G:** tricomas gemelos. **H:** saco embrionario maduro. Abreviaturas: a: arista del papus, an: antera, b: bráctea del involucro, co: corola, e: endotelio, ee: epidermis externa, ei: epidermis interna, es: estilo, fi: filamento de antera, h: hipodermis, me: mesofilo externo, mi: mesofilo interno, n: nectario, o: óvulo, pa: pálea, se: saco embrionario, tge: tricoma gemelo, to: tegumento del óvulo, tg: tricoma glandular. Escalas: A: 200 μm . B y E: 100 μm . C, D, F, G y H: 50 μm .

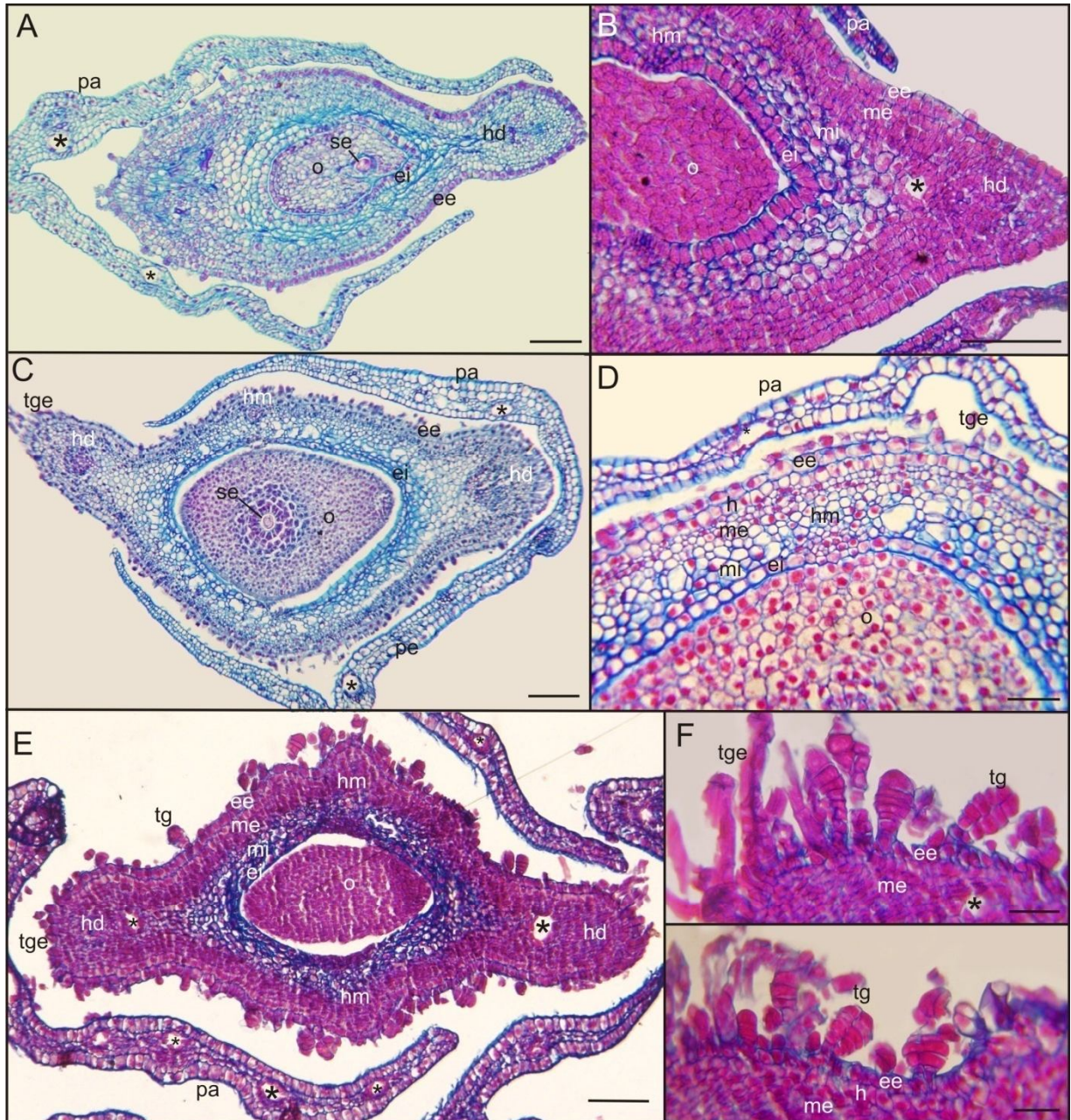


Figura 21. Ontogenia floral. Corte transversal a la altura del ovario de flor tubular en preantésis (A-B) y de flor en antésis (C-F). **A, C-D:** *Flourensia campestris*. **B:** *F. niederleinii*. **E-F:** *F. hirta*. **A:** ovario con saco embrionario en formación. **B:** detalle de hacecillo dorsal con conducto secretor. **C:** ovario con saco embrionario maduro y tricomas gemelos. **D:** detalle de la pared del ovario. **E:** ovario con conductos secretores, tricomas glandulares y tricomas gemelos. **F:** detalle de tricomas glandulares. Abreviaturas: ee: epidermis externa, ei: epidermis interna, h: hipodermis, hd: hacecillo dorsal, hm: hacecillo marginal, me: mesofilo externo, mi: mesofilo interno, o: óvulo, pa: pálea, se: saco embrionario, tge: tricomas gemelos, tg: tricomas glandulares, * conductos secretores. Escalas: A-C y E: 100 μ m. D y F: 50 μ m.

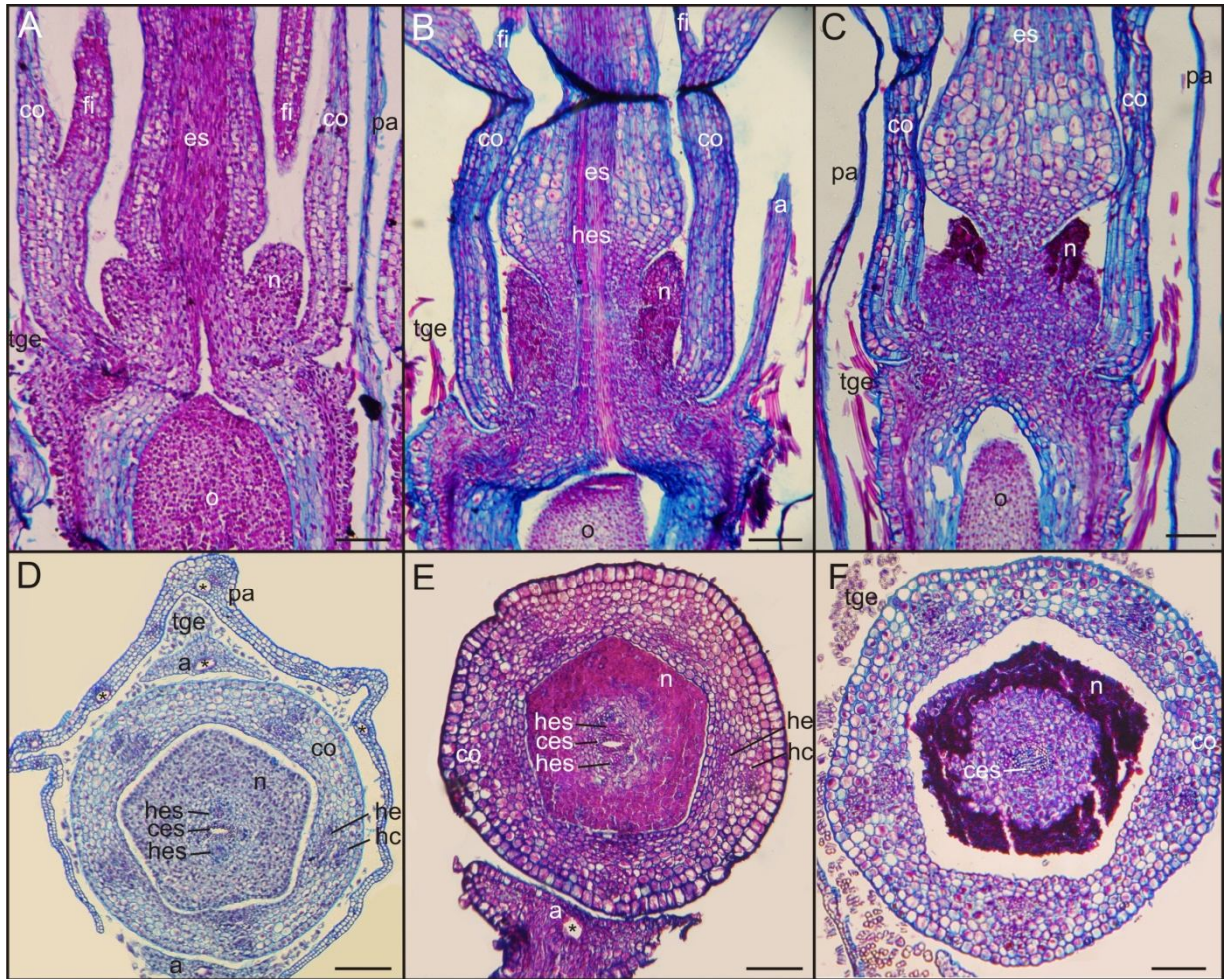


Figura 22. Desarrollo del nectario. Corte longitudinal (A-C) y transversal (E-F) a la altura del nectario de flor tubular de *Flourensia campestris*. **A-D:** flor en preantesis, células parenquimáticas del nectario con núcleos evidentes. **B-E:** flor en antesis, células parenquimáticas con contenido denso. **D-F:** flor fecundada, con células colapsadas. Abreviaturas: a: aristas del papus, co: corola, ces: canal estilar, es: estilo, fi, filamento de la antera, hc: hacecillo de la corola, he: hacecillo del estambre, hes: hacecillo del estilo, n: nectario, o: óvulo, pa: pálea, tge: tricomas gemelos. * conducto secretor. Escalas: 100 μ m.

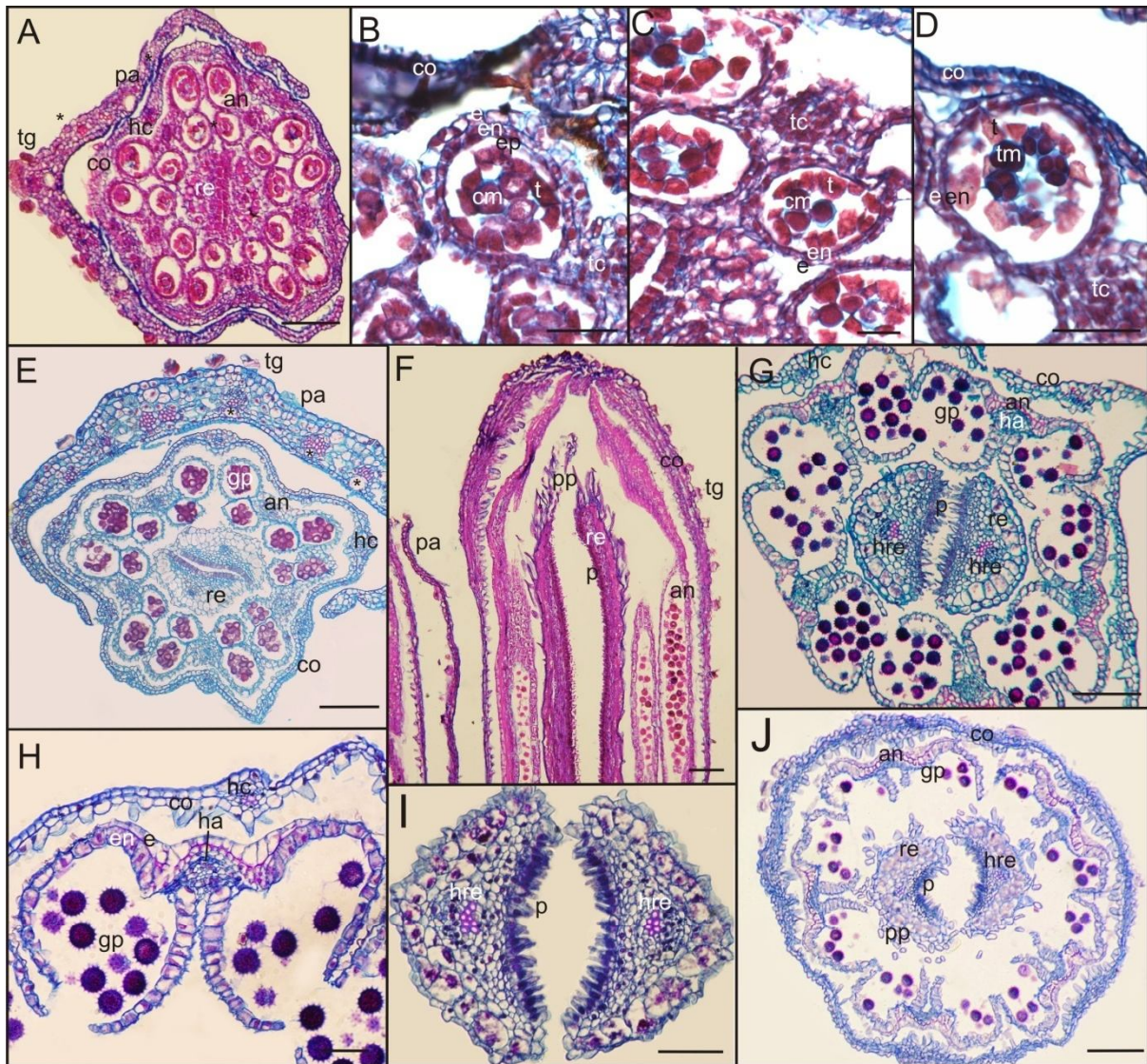


Figura 23. Desarrollo de anteras y ramas estigmáticas. Corte transversal (A-D y G-J) y longitudinal (E) por flor tubular a la altura de las anteras. **A-D:** *Flourensia niederleinii*. **E-H:** *F. campestris*. **I-J:** *F. oolepis*. **A:** flor con antera joven. **B:** detalle de antera con arquésporas, **C:** con células madre de los granos de polen y **D:** con tetrade de micrósporas. **E:** flor con anteras con granos de polen. **F:** vista longitudinal de anteras con granos de polen y ramas estigmáticas. **G:** flor con anteras maduras dehiscentes, **H:** detalle de antera madura dehiscente. **I:** detalle de ramas estigmáticas. **J:** flor en antesis, ramas estigmáticas con prolongaciones apilosas. Abreviaturas: an: antera, cm: célula madre de los granos de polen, co: corola, e: epidermis de la antera, en, estratos parietales, gp: granos de polen, ha: hacecillo de la antera, hc: hacecillo de la corola, hre: hacecillo de la rama estigmática, p: papilas estigmáticas, pa: pálea, pp: prolongaciones papilosas, re: ramas estigmáticas, t: tapete, tc: tejido conectivo, tg: tricoma glangular, tm: tetrade de micrósporas, * conductos secretores. Escalas: A, E-G y J: 100 μm . B-D, H-I: 50 μm .

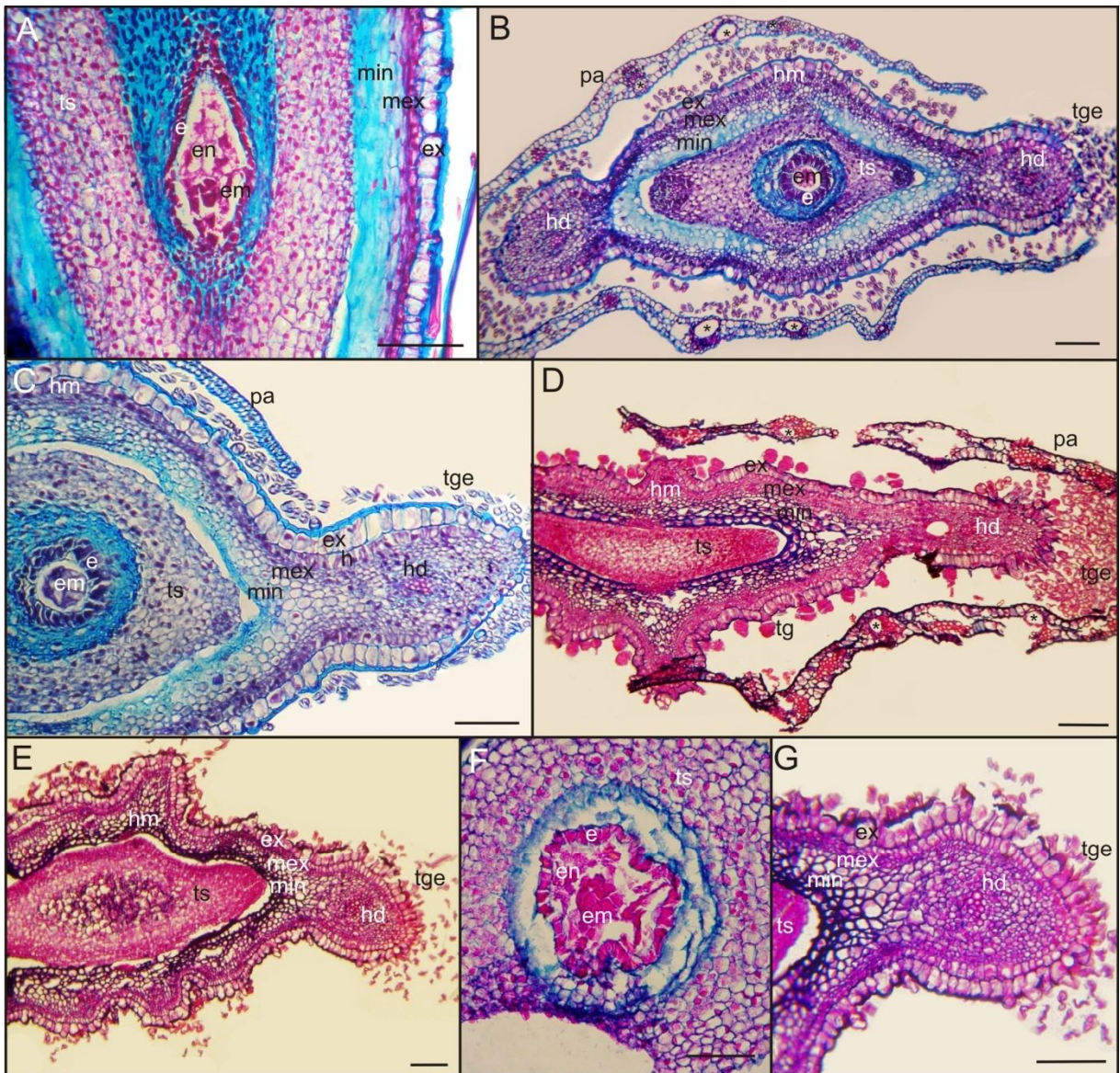


Figura 24. Ontogenia del fruto. Corte longitudinal (A) y transversal (B-G) por fruto joven. **A-C:** *Flourensia campestris*. **D:** *F. hirta*. **E-G:** *F. oolepis*. **A:** fruto con embrión globular y endosperma. **B:** vista general de fruto joven y **C:** detalle del hacillo dorsal. **D:** fruto con paredes onduladas y gran cantidad de tricomas glandulares. **E:** fruto con paredes onduladas y tricomas gemelos, **F:** detalle de embrión globular y endosperma y **G:** detalle de hacillo dorsal. Abreviaturas: e: endotelio, em: embrión, en: endosperma, ex: exocarpo, f: fibras, h: hipodermis, hd: hacillo dorsal, hm: hacillo marginal, mex: mesocarpo externo, min: mesocarpo interno, pa: pálea, tge: tricoma gemelo, tg: tricoma glandular, ts: tegumento seminal, * conducto secretor. Escalas: A: 100 μm . C-G: 150 μm .

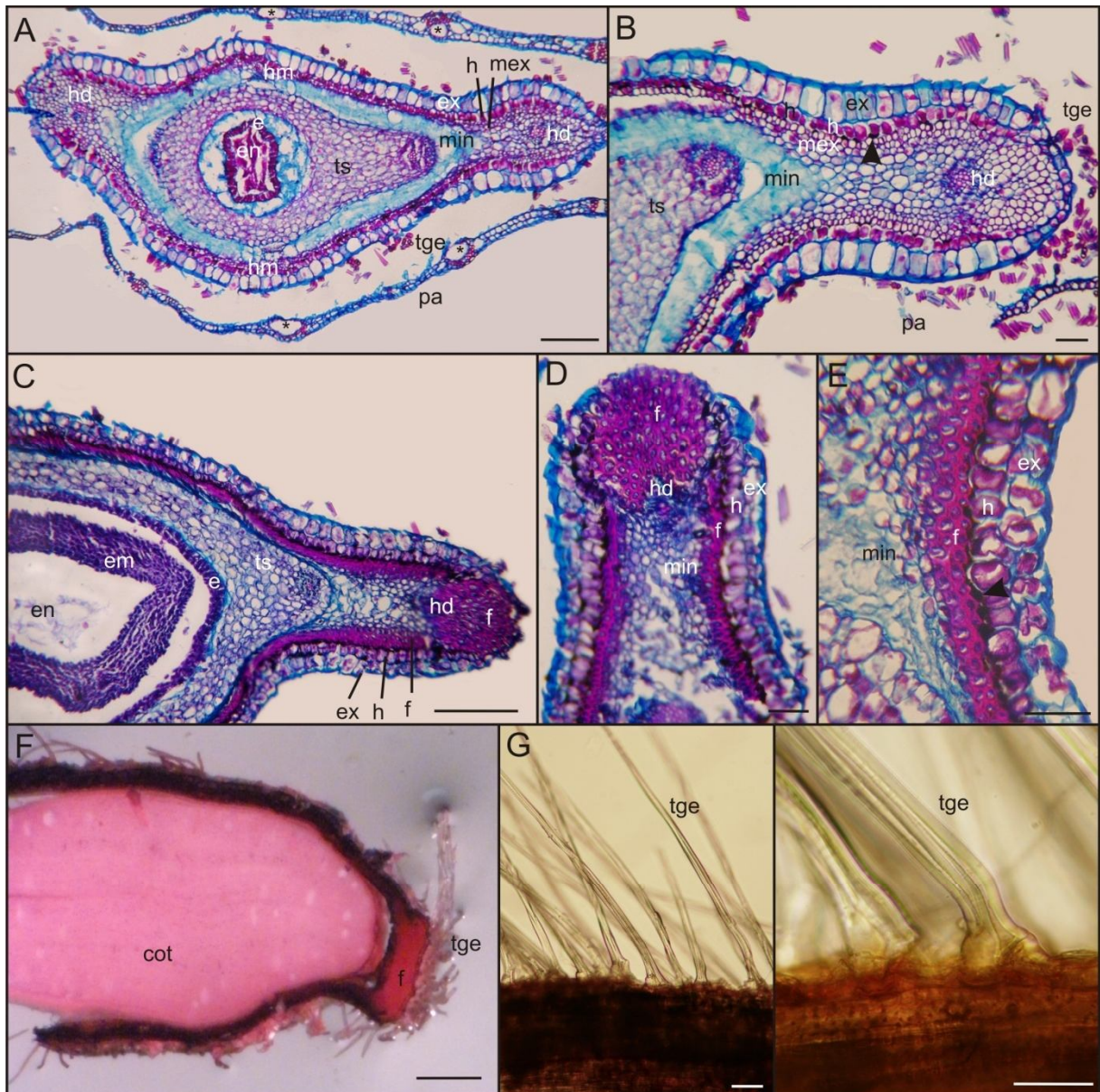


Figura 25. Desarrollo del fruto. Corte transversal por fruto inmaduro (A-E) y fruto maduro en corte a mano alzada (F-G). **A-E:** *Flourensia campestris*. **F-G:** *F. tortuosa*. **A:** vista general de fruto inmaduro y **B:** detalle de hacecillo dorsal, mostrando comienzo de formación de capa oscura. **C:** fruto con embrión torpedado, **D:** detalle de hacecillo dorsal con fibras y **E:** detalle de pared del fruto con capa oscura y fibras. **F:** fruto maduro con dos cotiledones, **G:** tricomas gemelos. Abreviaturas: cot: cotiledones, e: endotelio, em: embrión, en: endosperma, ex: exocarpo, f: fibras, h: hipodermis, hd: hacecillo dorsal, hm: hacecillo marginal, mex: mesocarpo externo, min: mesocarpo interno, pa: pálea, tge: tricoma gemelo, ts: tegumento seminal, * conducto secretor. Escalas: A, C y F: 200 μ m. B, D, E, G y H: 50 μ m.

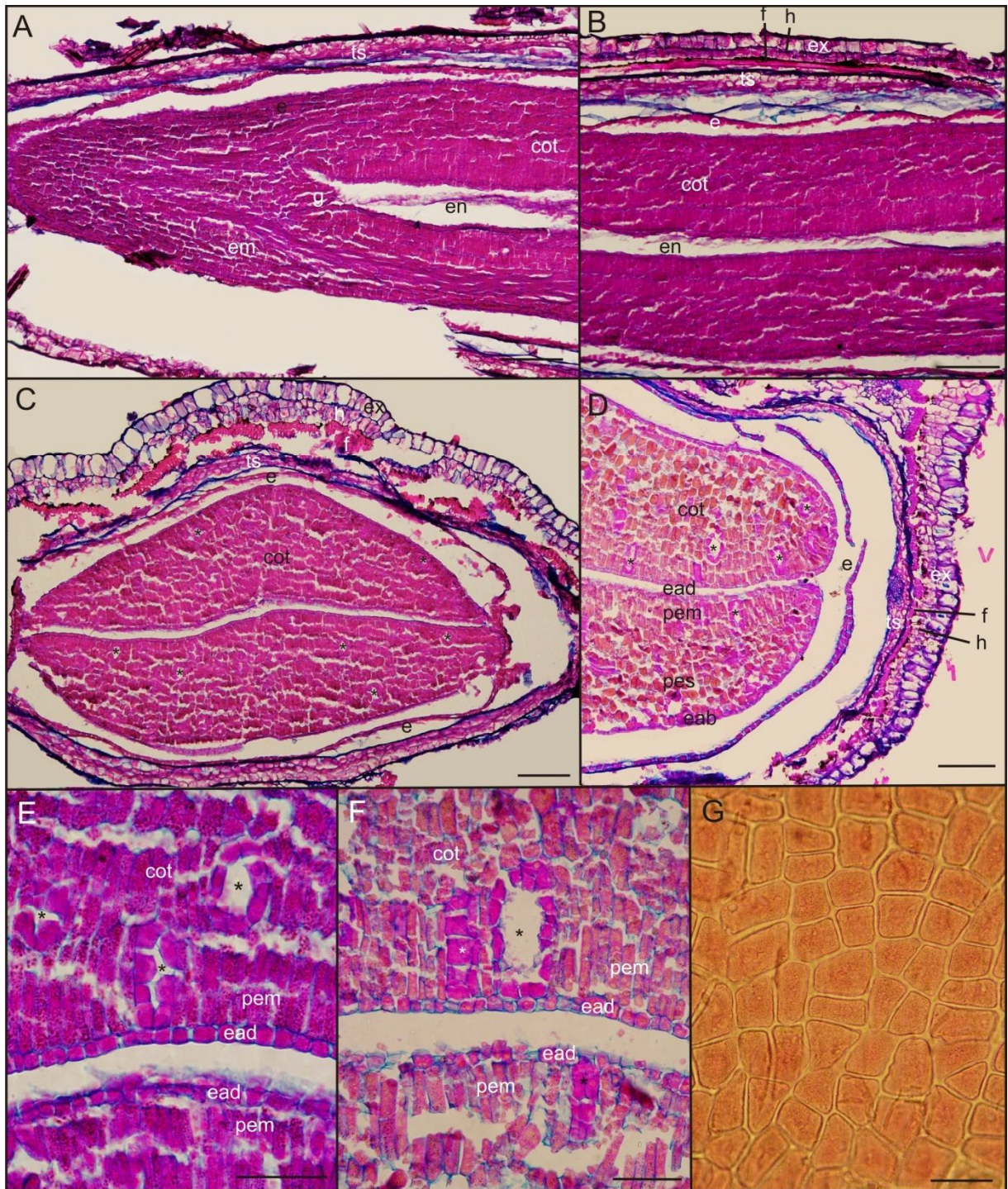


Figura 26. Anatomía de fruto maduro. Corte longitudinal (A-B) y corte transversal (D-G) por fruto maduro. **A-C y E:** *Flourensia campestris*. **D-F-G:** *F. oolepis*. **A:** vista general y **B:** detalle de pericarpo. **C:** vista general y **D:** detalle de pericarpo. **E - F:** detalle de conductos secretores de los cotiledones. **G:** endotely en vista superficial. Abreviaturas: e: endotely, eab: epidermis abaxial, ead: epidermis adaxial, en: endosperma, em: embrión, ex: exocarpo, cot: cotiledones, f: fibras, g: gémula, h: hipodermis, pem: parénquima en empalizada, pes: parénquima espinjoso, ts: tegumento seminal, * conductos secretores. Escala: A-D: 100 μ m. E-G: 50 μ m.

DISCUSIÓN

Las especies de *Flourensia* estudiadas presentaron capítulos radiados muy vistosos, los cuales pueden ser solitarios, reunidos en pequeños grupos o formando cimas, lo cual aumenta su complejidad.

Resultaron atractivos para una gran cantidad de visitantes florales, en especial *Apis mellifera* que fue muy abundante en los períodos de floración de todas las especies. Otros órdenes encontrados fueron Lepidópteros y Dípteros, y en baja proporción Coleópteros y Arácnidos. Nuestras observaciones concuerdan con lo reportado anteriormente en *F. campestris*, en la que se vio que el 67% de las visitas son realizadas por *A. mellifera*; el porcentaje restante fueron visitas de otros Himenópteros y en baja proporción por Dípteros y Coleópteros (Torres & Galetto, 2002, 2008).

Se encontraron marcadas diferencias en cuanto al número de flores tubulares perfectas por capítulos. *F. tortuosa* y *F. oolepis* son las que presentaron mayor cantidad de flores, mientras que, *F. leptopoda* es la especie con menor número. Esta característica cobra gran importancia taxonómica, ya que las discrepancias encontradas entre las especies son fundamentales para su diferenciación y reconocimiento.

La mayoría de las especies de este género posee capítulos vistosos, entre ellas, la especie chilena *F. thurifera* presenta capítulos muy atractivos y perfumados, de entre 8 y 10 cm de diámetro y también es visitada por una gran cantidad de insectos (Urzúa *et al.*, 2007). Una excepción se presenta en la especie mexicana *F. cernua* la cual no posee capítulos atractivos, ya que son pequeños y sin flores del radio. Además, se ha observado que esta especie no es polinizada por insectos sino por el viento (Dillon, 1984).

Todas las especies estudiadas presentaron una gran capacidad reproductiva ya que se observaron altos porcentajes de fructificación, es decir la mayoría de las flores formaron aquenios. Sin embargo, una cantidad significativa de ellos se encontraron atacados por insectos o estaban vacíos, sin embrión desarrollado. En

algunas especies el porcentaje de frutos infértiles fue muy importante, llegando a ser del 66,5% en *F. hirta*.

El parasitismo de flores y frutos ha sido reportado en otras especies del género. Por ejemplo, en *F. thurifera* existe un parasitismo específico, ya que las hembras de *Trupanea thurifera* (Díptera) aviponen sus huevos solo en sus flores y las larvas se desarrollan en los ovarios (Frías, 1985). En *F. cernua* los frutos son atacados o parasitados por larvas de Dípteros y Coleópteros (Valencia-Díaz & Montaña, 2003). Sumado a esto, gran cantidad de semillas se encuentran vacías, con las mismas características que las descritas en el presente trabajo (Richerson & Boldt, 1995; Valencia-Díaz & Montaña, 2003). En esta especie se encontró una relación directa entre la calidad de las semillas y la temperatura ambiente. Las plantas florecen y fructifican en invierno, entre los meses de Noviembre y Febrero, y se observó que en los años en que la temperatura mínima de esos meses fue baja (entre -5° y -3° centígrados), la proporción de semillas vacías fue mayor. Por el contrario, cuando la temperatura mínima fue más alta (entre -1° y 0°), la proporción de semillas viables resultó significativamente mayor (Valencia-Díaz & Montaña, 2003).

La baja producción de aquenios fértiles también ha sido reportada en otras especies de esta familia. Por ejemplo, en especies de *Eremanthus* Less. (tribu Vernonieae) entre el 73 y 91% de los frutos no posee embrión (Batalha Velten & Souza Garcia, 2005), en *Eupatorium* L. cerca del 50% de los aquenios no se desarrollan (Maluf & Wizentier, 1998; Byers, 1995) y en *Vernonia* Schreb. solo el 15% de los aquenios posee embrión (Sasaki *et al.*, 1999; Cesarino & Zaidan, 1998).

Este fenómeno podría deberse a múltiples causas, entre las más importantes se cita la existencia de mecanismos de autoincompatibilidad de los granos de polen. Además, puede verse aumentado por una baja variabilidad genética, en especial cuando se trata de poblaciones pequeñas con reproducción asexual, ya que en estas es menor el flujo génico. Otro factor importante podría estar relacionado con la cantidad y calidad de polen que es transferido por parte de los visitantes florales (Byers, 1995; Batalha Velten & Souza Garcia, 2005). Por otro lado, la producción de frutos con semillas vacías o sin semillas puede ser considerada como una adaptación que disminuye el parasitismo y la predación tanto por insectos como por aves. Estos no serían capaces de discriminar entre los frutos engañosos y los que contienen semillas llenas por lo que en consecuencia la proporción de semillas

viables depredadas es menor (Zangerl *et al.*, 1991; Traveset, 1993; Fuentes & Schupp, 1998; Verdú & García-Fayos, 2001).

Con respecto al sistema de incompatibilidad, las especies aquí estudiadas pueden considerarse autoincompatibles, ya que si bien formaron frutos a partir del propio polen en los experimentos de capítulos embolsados, estos resultaron inviables. Los resultados demuestran que la reproducción sexual en estas especies depende íntimamente de la eficiencia con que los visitantes florales transportan el polen de una planta a otra. Iguales resultados fueron reportados en *F. campestris* (Torres & Galetto, 2008) y otras 10 especies de Asteráceas del centro de Argentina. *F. cernua* es considerada parcialmente autoincompatible ya que el 51% de los individuos son totalmente autoincompatibles, siendo el resto compatible en diferentes grados (Ferrer *et al.*, 2009).

En *Flourensia* los aquenios son pequeños y no presentan adaptaciones específica para la dispersión por el viento, ya que el papus está formado por dos aristas, salvo *F. oolepis* que además posee un anillo de pajitas más cortas. Iguales observaciones se llevaron a cabo en *F. thurifera* y varias especies de *Encelia*, en las cuales se clasificaron sus frutos como secos, pequeños (menor de 20 mm) y no plumosos o alados, concluyendo que no serían dispersados por el viento (Hoffmann *et al.*, 1989).

Sumado a esto, en *F. cernua* se observó que los aquenios se encuentran en el suelo a no más de a 3-5 m de distancia de la planta madre y las nuevas plantas no se desarrollan a más de 4,5 m de un adulto, por lo que se concluyó que en esta especie las semillas no se dispersan a grandes distancias, en cambio solamente caen y permanecen debajo o cerca de la planta progenitora (Montaña *et al.*, 1990; Mauchamp *et al.*, 1993). Esta limitación en la dispersión de las semillas podría estar relacionada con el modo de distribución de estas especies, ya que generalmente se disponen en manchones o áreas densas donde son dominantes.

Los estudios de germinación de semillas son importantes para la conservación, propagación y regeneración de las especies vegetales, así como también, para su producción a escala comercial. En las especies estudiadas el porcentaje de germinación resultó diferente para cada una de ellas.

En *F. campestris* y *F. oolepis* se obtuvieron altos porcentajes de germinación en todas las pruebas. Galíndez *et al.* (2009) también realizaron pruebas de germinación en estas dos especies y sus resultados muestran un mayor porcentaje que los encontrados en este trabajo, de 91-93% y 89-91% para cada especie respectivamente, el primer porcentaje corresponde a 8 hs. de luz y 16 hs. de oscuridad a 20 °C y el segundo porcentaje a 8 hs. de luz a 25 °C y 16 hs. de oscuridad a 10 °C. Además los autores concluyen que las especies no presentan requerimientos específicos con respecto a la luz. Las diferencias encontradas podrían deberse al medio utilizado (agar 1%).

Por otro lado, *F. oolepis* ha sido ampliamente estudiada con el propósito de producirla como planta ornamental. Delbón & Eynard (2006) reportaron que las semillas necesitan condiciones relativamente constantes de temperatura y humedad para germinar. El porcentaje de germinación encontrado fue bajo, de 33 % pero la supervivencia de las plántulas en invernadero fue alta, de 94%. Por otro lado, Eynard *et al.* (2009) observaron que sería factible conservar las semillas *ex situ* en un Banco de Germoplasma, dado que la estratificación fría no afecta negativamente el poder germinativo. Estos últimos autores concluyen que la domesticación de *F. oolepis* es viable y recomendable para evitar la presión de extracción del recurso desde poblaciones silvestres.

Nuestros resultados apoyan esta conclusión, y suman a *F. campestris* como candidata para su producción como planta ornamental. Esto es positivo ya que, por un lado, contribuye a la conservación de estas especies nativas, y por el otro, ayuda a reducir la fuente de propágulos de las especies no nativas utilizadas en jardinería y que pueden ser potenciales invasoras. Además, consideramos a ambas especies como adecuadas para la reforestación de aéreas degradadas o quemadas, ya que en ecosistemas boscosos la reforestación con especies nativas puede desempeñar un papel importante para la recuperación de su estructura, riqueza y diversidad florística (Dobson, 1997; Aide *et al.*, 2000).

En contraste, *F. niederleinii* y *F. hirta* resultaron con muy bajo porcentaje de germinación, siendo los máximos solamente de 22% y 12% respectivamente. En las restantes especies se observaron grandes diferencias entre las pruebas. *F. tortuosa* presentó un porcentaje de germinación intermedio, de 56%, solo en un ensayo, con semillas de 1 mes de edad, mientras que para las restantes pruebas fue

sensiblemente menor. En *F. leptopoda* las pruebas realizadas con semillas de 1 y 19 meses presentaron un bajo porcentaje de germinación, mientras que las restantes no presentaron germinación alguna. Estas últimas se consideran inviables y la causa podría relacionarse con una inmadurez del embrión que imposibilita su emergencia.

Por otro lado, se observó que el porcentaje máximo de germinación se alcanzó a los 30 días de edad de las semillas desde su recolección, con excepción de *F. oolepis* que fue a los 3 meses. Además, las semillas comenzaron a germinar como máximo a los 15 días de iniciada la prueba de germinación; mientras que, el tiempo necesario para alcanzar el máximo de semillas germinadas fue de entre 10 y 22 días. Estos datos demuestran que estas semillas no presentan una marcada dormancia, lo cual es ecológicamente muy importante ya que las semillas se dispersan en la estación lluviosa de verano y pueden germinar inmediatamente o en los meses subsiguientes gracias las óptimas condiciones de temperatura y humedad.

Valencia-Diaz & Montaña (2003) estudiaron la germinación de *F. cernua* y observaron que los porcentajes de germinación siempre fueron muy bajos, con un máximo de 38,2% y concluyeron que era consecuencia de una gran presión endogámica. Además, observaron un gran periodo de dormancia, ya que el porcentaje de germinación fue bajo inmediatamente después de la dispersión de las semillas, período que corresponde a la estación seca de invierno. Pero luego de 5 a 8 meses, periodo correspondiente a la estación lluviosa de verano, el porcentaje aumenta (Valencia-Diaz & Montaña, 2005). En esta especie, la dormancia juega un papel ecológico fundamental y se entiende como una característica adaptativa que optimiza la distribución de la germinación en el tiempo (Bewley, 1997).

La viabilidad de las semillas se mantiene relativamente constante por aproximadamente un año y medio, para luego decaer completamente cerca de los dos años. Estos resultados concuerdan con los reportados para *F. cernua*, en la que la viabilidad de las semillas decreció luego de los 18 meses de edad de las mismas (Valencia-Diaz & Montaña, 2003).

Las especies estudiadas presentan una escasa distribución y abundancia (Dillon, 1984; Ariza Espinar, 2000; Villamil *et al.*, 2000), este hecho podría explicarse teniendo en cuenta las características de su biología reproductiva, como su sistema

de incompatibilidad, la baja producción de aquenios fértiles, su escasa dispersión, los bajos porcentajes de germinación y la corta viabilidad de las semillas. *F. hirta*, *F. leptopoda* y *F. niederleinii* serían las más vulnerables ya que son las especies menos abundantes, pertenecen a la categoría 5 de PlaEAR (Villamil *et al.*, 2000), y son las que mostraron menor éxito reproductivo. Por el contrario, *F. oolepis* y *F. campestris* resultaron con menor la cantidad de frutos inviábiles y mayor la germinación, lo cual se podría relacionar a su mayor abundancia.

En estas dos últimas especies se comprobó un fuerte sistema de incompatibilidad, por lo que su reproducción depende exclusivamente de los insectos polinizadores. Si inferimos que en las restantes 4 especies el sistema es similar, el bajo éxito reproductivo que se observó en ellas podría deberse a una falta de visitantes florales efectivos, que transporten la cantidad y calidad de polen necesario. Por otro lado, producción de frutos inviábiles puede ser entendida como una estrategia para reducir la predación de semillas, lo cual se compensa por la gran cantidad de frutos que forman las especies a lo largo de su vida reproductiva (Zangerl *et al.*, 1991; Traveset, 1993; Fuentes & Schupp, 1998; Verdú & García-Fayos, 2001). En este sentido, creemos que es necesario ampliar las investigaciones.

Con respecto a la morfoanatomía de las flores tubulares, las especies de *Flourensia* mostraron características comunes de la familia, como son, 5 pétalos soldados, 5 estambres con anteras connadas y filamentos libres y ovario ínfero.

Se observó un nectario ubicado en la base del ovario, rodeando al estilo. La presencia de nectarios se encuentra bien documentada en Asteraceae en general (Mani & Saravanan, 1999; Visintin & Bernardello, 2005; Bernardello, 2007) y en particular en la tribu Heliantheae (Wist & Davis, 2006).

Según Fahn (1979) el nectario es estilar ya que se encuentra rodeando la base del estilo. Sin embargo, varios autores postulan que esta glándula está más relacionada con la parte superior del ovario que con el estilo, por lo que la clasifican como asociada al gineceo (Galetto, 1995; Visintin & Bernardello, 2005). El nectario presenta numerosos estomas modificados en la zona apical, a través de los cuales se secreta el néctar (Visintin & Bernardello, 2005; Wist & Davis, 2006).

Los tricomas resultaron muy abundantes en las especies estudiadas. Los glandulares fueron los más frecuentes, ya que se los encontró tanto en las flores tubulares, como en las páleas, flores liguladas y brácteas de involucre. Los tricomas eglandulares fueron más raros y se los encontró solo en las páleas y aristas. Ambos tipos resultaron iguales que los descritos en los órganos vegetativos.

La presencia de tricomas glandulares en el ovario no es común en la familia. Ciccarelli *et al.* (2007) estudiaron 34 especies, de diferentes subfamilias, y solo en 7 observaron tricomas con diferentes morfologías; los autores concluyen que es un carácter de gran importancia taxonómica. Iguales observaciones realizaron Marzinek & Oliveira (2010) en especies de Eupatorieae, en ellas encontraron 5 tipos de tricomas, con diferentes ubicaciones según las especies, pero solo algunas presentaron tricomas glandulares en el ovario y/o en el fruto.

Los tricomas gemelos se observaron en el ovario de las flores tubulares, permaneciendo en el fruto maduro. Contaron de cuatro células, dos basales pequeñas y dos largas y lignificadas. Estos tricomas son característicos de los aquenios de las Asteraceae y su ontogenia ha sido exhaustivamente estudiada (Freire & Katinas, 1995; Sancho & Katinas, 2002). Su desarrollo comienza con una célula epidérmica madre que se divide anticlinalmente y origina dos células, luego cada una de ellas se vuelve a dividir, de forma anticlinal u oblicua, formando cuatro células, de las cuales dos quedan como basales y las restantes se elongan formando el pelo.

Además de este patrón básico, existe una gran variación en cuanto a la morfología de los tricomas gemelos, aunque, todos muestran igual ontogenia. Asimismo, su ubicación también puede diferir, ya que se los ha encontrado en la corola en algunas especies de *Encelia* (Carpenter & Clark, 1999; Carpenter, 1999) y en numerosas especies de la tribu Mutisieae (Sancho & Katinas, 2002). En la mayoría de los casos los tricomas se encontraron adpresos contra la superficie de la corola y con la punta hacia el ápice de la flor. La función de los tricomas tanto en el fruto como en la corola estaría relacionada con la absorción y retención de agua (Sancho & Katinas, 2002). Pese a la gran afinidad de estos grupos con *Flourensia*, en especial de *Encelia*, en las especies estudiadas no se han encontrado tricomas gemelos en la corona.

En la ontogenia del óvulo se destacó la presencia y persistencia del endotelio. Este fue definido como la epidermis interna del tegumento, la cual rodea al saco embrionario en formación y se mantiene durante su desarrollo. Además de acumular nutrientes, metabolizarlos y transferirlos al embrión, puede actuar como barrera restrictiva (Sundara Rajan, 1973; Fahn, 1990).

En el desarrollo del fruto se encontraron 5 zonas diferentes en el pericarpo. Por fuera el exocarpo rodea todo el fruto, hacia dentro una capa (raramente dos) de hipodermis, luego el mesocarpo externo que finalmente se lignifica, en tanto que el mesocarpo interno se desintegra junto al endocarpo. Además, entre la hipodermis y el esclerénquima se observó una capa de fitomelanina.

La cantidad de capas diferentes del pericarpo varía entre las especies de la familia, pero además, su denominación no es consensuada entre los investigadores. Al respecto, Dos Santos & Trombert Oliveira (2009) estudiaron la ontogenia del pericarpo de dos especies de *Bidens* L. encontrando cinco regiones de células distintas. Arias Galastri & Trombert Oliveira (2010) en *Vernonia platensis* (Spreng.) Less. reportaron cuatro regiones sin deposición de fitomelanina, en tanto que Marzinek & Trombert Oliveira (2010) en numerosas especies de Eupatorieae también observaron cuatro capas pero con fitomelanina. En todos estos trabajos se reportó que por debajo de la epidermis externa se observaban varias capas de células, las cuales fueron consideradas como una región distinta del mesocarpo.

En cambio, Dillon (1981) nombra a esta capa como hipodermis multistratificada. En el presente trabajo concordamos con este último autor y denominamos hipodermis a la capa por debajo del exocarpo, ya que esta se diferencia notablemente del mesocarpo externo, tanto en frutos jóvenes como maduros.

La presencia de una capa de fitomelanina es una particularidad importante de la tribu Heliantheae, y se la considera como una capa dura, oscura y resistente (Pandey & Dhakal, 2001; Jeffrey, 2009). Este carácter es sinapomórfico y ha sido utilizado para delimitar un clado de más de 5.000 especies denominado *Phytomelanin Cypselae Clade*. Su presencia es muy común en Heliantheae, Helenieae y Eupatorieae (Pandey & Dhakal, 2001; Panero, 2007). Pero también, es usual en Senecioneae y se la ha encontrado en algunas especies de Millerieae (Jana & Mukherjee, 2012).

Dillon (1981) llama a esta capa oscura o de carbón y plantea que se podría formar por lisis de las células de la hipodermis o por una secreción de las mismas. En tanto que Pandey & Dhakal (2001), afirman que se debe a la secreción de sustancias producidas por las células de la hipodermis, las cuales se acumulan en los espacios intercelulares esquizógenos, situados entre la hipodermis y la capa de fibras que se halla por dentro. En este trabajo concluimos que se produce por el segundo proceso, es decir que la hipodermis secreta la sustancia, ya que sus células no se ven alteradas.

El desarrollo de esta capa puede considerarse como una defensa contra el ataque de insectos, ya que vuelve al fruto duro y resistente. Por otro lado, se ha planteado que funcionaría como una barrera contra la luz, la cual protege al embrión (Pandey & Dhakal, 2001; Jeffrey, 2009).

Por último, cabe destacar la presencia de conductos secretores esquizógenos en los cotiledones, en aquenios maduros. Estos resultan raros ya que se los encontró en algunas especies de Senecioneae (Jeffrey, 2007) y en dos especies de la subtribu Millerieae (Jana & Mukherjee, 2012). Además, se han observado conductos en los capítulos, en las brácteas del involucre, en las páleas y en las aristas del papus.

En general, la producción de sustancias, tanto por los conductos, como por los tricomas glandulares, se relaciona directamente con la protección contra herbívoros y patógenos (Fahn, 1979; 1988; 2002). En este sentido, la presencia de estructuras secretoras en las flores y en los frutos, cobra gran importancia ya que jugaría un rol fundamental en la protección de los órganos reproductivos y de la descendencia.

Además, su presencia en los capítulos podría estar relacionada con la atracción de insectos polinizadores, ya que, en los capítulos de *F. thurifera*, se hallaron grandes cantidades de compuestos químicos volátiles, los cuales les otorgan su característico aroma agradable (Urzúa *et al.*, 2007).

CONCLUSIONES

Las especies de *Flourensia* estudiadas presentaron capítulos radiados muy vistosos, con abundantes flores tubulares, en número variable según la especie.

Un alto porcentaje de flores formó frutos. Sin embargo, se observaron frutos inviábiles, ya sea por parasitismo de insectos o por no poseer embrión desarrollado. Estos frutos se hallaron en todas las especies, en diferentes porcentajes, siendo mayor en *F. hirta*.

Los aquenios no presentaron modificaciones que favorezcan la anemocoria, por lo que los frutos no se dispersan a grandes distancias.

El porcentaje de germinación fue alto en *F. oolepis* y *F. campestris* y muy bajo en las restantes especies. En todas ellas la viabilidad de las semillas se perdió completamente a los dos años desde su recolección.

F. oolepis y *F. campestris* resultaron autoincompatibles ya que los frutos formados por autofecundación no fueron viables, por lo que estas especies requieren polinizadores efectivos para su reproducción.

La baja dispersión, germinación y viabilidad de los aquenios de estas especies, así como su sistema de incompatibilidad, podrían explicar la escasa distribución y abundancia que presentan. *F. hirta*, *F. leptopoda* y *F. niederleinii* serían las más vulnerables ya que son las especies menos abundantes y son las que mostraron menor éxito reproductivo. Por el contrario, *F. oolepis* y *F. campestris* resultaron con menor la cantidad de frutos inviábiles y mayor la germinación, lo cual se podría relacionar a su mayor abundancia.

Con respecto a la morfoanatomía de las flores y los frutos, se destaca la presencia de características relacionadas con la protección contra herbívoros o patógenos, como son la presencia de tricomas glandulares y conductos secretores. Además, se observaron gran cantidad de tricomas gemelos tanto en el ovario como en el fruto maduro, los cuales estarían relacionados con la absorción y retención de agua. Por último, el desarrollo una capa de fitomelanina en los frutos puede considerarse como una defensa contra el ataque de insectos o como una barrera contra la luz, la cual protege al embrión.

BIBLIOGRAFÍA

- ANDERSON G. J. 1995. Systematic and reproductive biology. In: HOCH P. C. & A. G. STEPHENSON (eds.) *Experimental and molecular approaches to plant biosystematics*, Monogr. Syst. Bot. 53, pp. 263-272. Missouri Botanical Garden, St. Louis.
- AIDE, T., J. ZIMMERMAN, J. PASCARELLA, L. RIVERA & H. MARCANO-VEGA. 2000. Forest regeneration in a chronosequence of tropical abandoned pastures: implications for restoration ecology. *Restoration Ecology* 8:328–338.
- ANDERSON G. J., G. BERNARDELLO, P. LOPEZ, D. J. CRAWFORD & T. F. STUESSY. 2000. Reproductive biology of *Wahlenbergia* (Campanulaceae) endemic to Robinson Crusoe Island (Chile). *Plant Syst. Evol.* 223:109-123.
- ARIAS GALASTRI, N & M. D. TROMBERT DE OLIVEIRA. 2010. Morfoanatomia e ontogênese do fruto e semente de *Vernonia platensis* (Spreng.) Less. (Asteraceae). *Acta Bot. Bras.* 24: 73-83.
- BAKER, H. G. & I. BAKER. 1983. A brief historical review of the chemistry of floral nectar. In: BENTLEY, B & T. S. ELIAS (eds.). *The Biology of nectarines*. pp. 126-152. Columbia University Press. New York.
- BATALHA VELTEN, S. & Q. SOUZA GARCIA. 2005. Efeitos da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Eremanthus* (Asteraceae), ocorrentes na Serra do Cipó, MG, Brasil. *Acta Bot. Bras.* 19: 753-761.
- BERNARDELLO, G. 2007. A systematic survey of floral nectaries. In: NICOLSON, S. W., M. NEPI & W. PACINI. (eds.) *Nectaries and nectar*. pp. 19-128. Dordrecht: Springer-Verlag.
- BEWLEY, D. 1997. Seed Germination and Dormancy. *The Plant Cell*. 9:1055-1066.
- BREMER, K. 1994. Asteraceae: cladistics and classification. Timber Press, Portland.
- BYERS, D. L. 1995. Pollen quantity and quality as explanations for low seed set in small populations exemplified by *Eupatorium* (Asteraceae). *Am. J. Bot.* 82:1000-1006.
- CARPENTER, K. J. 1999. Comparative morphology of disk floret trichomes of *Encelia* (Asteraceae: Heliantheae). Unpublished MSc Thesis, California State Polytechnic University.
- CARPENTER, K. J. & C. CLARK. 1999. Comparative morphology of disk floret trichomes of *Encelia* (Asteraceae). *Abstracts XVI International Botanical Congress*, Saint Louis, Missouri, USA, p. 362.
- CESARINO, F. & L. ZAIDAN. 1998. *Vernonia cognata* Less. (Asteraceae): armazenamento e viabilidade dos aquênios. *Hoehnea* 25: 59-70.
- CICCARELLI, D., F. GARBARI & A. PAGNI. 2007. Glandular hairs of the ovary: a helpful character for Asteroideae (Asteraceae) taxonomy?. *Ann. Bot. Fennici* 44: 1-7.

- DAFNI, A. 1992. Pollination ecology. A practical approach. In: Rickwood, D & B. D. Hames (eds.) *The practical approach series*. pp. 165-201. Oxford University Press. London.
- DELBÓN, N. & C. EYNARD. 2006. Cultivo de *Flourensia oolepis* (Asteraceae). Libro de Resúmenes de la II Jornadas Nacionales de Flora Nativa y III Encuentro de Cactáceas.
- DILLON, M. O. 1981. Three new species of *Flourensia* (Asteraceae-Heliantheae) from South America. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 68: 105-111.
- DILLON, M. O. 1984. A systematic study of *Flourensia* (Asteraceae, Heliantheae). *Fieldiana Bot.* 16: 1-67.
- DI RIENZO, J. F. CASANOVES, M. BALZARINI, L. GONZALEZ, M. TABLADA & C. ROBLEDO. InfoStat, versión 2009. Grupo InfoStat, F. C. A (UNC). Córdoba, Argentina.
- DOBSON, A. P. 1997. Hopes for the future: restoration, ecology and conservation. *Biology Science* 277:515-522.
- DOS SANTOS J. & M. D. TROMBERT OLIVEIRA. 2009. Morfoanatomia comparada e ontogênese do pericarpo de *Bidens gardneri* Baker e *B. pilosa* L. (Asteraceae). *Revista Bras. Bot.* 32:109-116.
- EYNARD C., JAUSORO M. Y PERAZZOLO D. 2009. Domesticación de *Flourensia oolepis* (Asteraceae): especie endémica del centro de Argentina con potencial uso como pesticida natural. II Reunión de Biotecnología aplicada a plantas medicinales y aromáticas (REDBIO Internacional-CONICET-Mincyt). Córdoba.
- ERBAR, C. & P. LEINS. 1995. Portioned pollen release and the syndromes of secondary pollen presentation in the Campanulales–Asterales complex. *Flora* 190:323-338.
- FAHN, A. 1979. *Secretory tissues in plants*. Academic Press. London.
- FAHN, A. 1988. Secretory tissues in vascular plants. *New Phytol.* 108:229-257.
- FAHN, A. 1990. *Plant Anatomy*. Pergamon Press. Oxford.
- FAHN, A. 2002. Functions and location of secretory tissues in plants and their possible evolutionary trends. *Isr. J. Plant. Sci.* 50: 59-64.
- FERREIRA, A., B. CASSOL, S. TAYLOR DA ROSA, T. SALES DA SILVEIRA, A. STIVAL, A. ANDREOLI SILVA. 2001. Germinación de semillas de Asteraceae nativas no Rio Grande Do Sul, Brasil. *Acta Bot. Bras.* 15: 231-242.
- FERRER, M., S. GOOD-AVILA, C. MONTAÑA, C. DOMINGUEZ & L. EGUIARTE. 2009. Effect of variation in self-incompatibility on pollen limitation and inbreeding depression in *Flourensia cernua* (Asteraceae) scrubs of contrasting density. *Ann. Bot.* 1 -13.
- FERRER, M. & S. GOOD-AVILA. 2007. Macrophylogenetic analyses of the gain and loss of self-incompatibility in the Asteraceae. *New Phytologist* 173: 401-414.
- FRÍAS, D. 1985. Cuatro nuevas especies chilenas del género *Trupanea* Srank (Diptera Tephritidae). *Revista Brasileira de Zoología* 2: 363-381.
- FREIRE, S. E. & L. KATINAS. 1995. Morphology and ontogeny of the cypsela hairs of Nassauviinae (Asteraceae, Mutisieae). In: HIND D., C. JEFFREY & G. POPE.

- (eds.). *Advances in Compositae Systematics*. pp. 107-143. Kew: Royal Botanic Gardens.
- FUENTES M. & E. SCHUPP. 1998. Deceptive fruits reduce seed predation by birds in *Juniperus osteosperma*. *Evolutionary Ecology* 12: 823-827.
 - FUNK, A., A. SUSANNA, T. STUESSY & H. ROBINSON. 2009. Classification of Compositae. In: FUNK, V. A., A. SUSANNA, T. F. STUESSY & R. J. BAYER (eds.). *Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae*. pp. 171-192. Sheridan Books, Inc., Ann Arbor, Michigan.
 - GALETTO, L. 1995. Estudios sobre el néctar y los nectarios en *Hyaloseris rubicunda* y *Barnadesia odorata* (Asteraceae-Mutisieae). *Darwiniana* 33: 127-133.
 - GALETTO, L., & G. BERNARDELLO. 2003. Nectar sugar composition in angiosperms from Chaco and Patagonia (Argentina): an animal visitor's matter? *Plant Systematics and Evolution* 238: 69-86.
 - GALÍNDEZ, G., P. ORTEGA-BAES, M. DAWA, A. SCOPEL & H. PRITCHARD. 2009. Seed mass and germination in Asteraceae species of Argentina. *Seed Science and Technology* 39:786-790.
 - HISCOCK, S., S. MCINNIS, D. TABAH, C. HENDERSON & A. BRENNAN. 2003. Sporophytic self-incompatibility in *Senecio squalidus* L. (Asteraceae) - the search for S. *Journal of Experimental Botany* 54: 169-174.
 - HISCOCK, S. J. & D. A. TABAH. 2003. The different mechanisms of sporophytic selfincompatibility. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 358: 1037-1045.
 - HOLSINGER K. 1991. Conservation of genetic diversity in rare and endangered plants. In: DUDLEY E. C. (ed.) *The unity of evolutionary biology: the proceedings of the fourth. International Congress of systematic and evolutionary biology*. Dioscorides Press, Portland, pp. 626-633.
 - HOFFMANN, A., S. TEILLIER & E. FUENTES. 1989. Fruit and seed characteristics of woody species in mediterranean-type regions of Chile and California. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 62: 43-60.
 - HOWELL, G., A. SLATER, R. KNOX. 1993. Secondary pollen presentation in Angiosperms and its biological significance. *Australian Journal or Botany* 41:417-438.
 - JANA, B. & S. MUKHERJEE. 2012. Comparative morphological and anatomical studies of cypselas or some members of the tribe Millirieae. *Bidyut.* 1: 317-330.
 - JEFFREY, C. 2007. Compositae. Introduction with key to tribes. In: KADEREIT, J. W. & C. JEFFREY (eds.), *Families and Genera of Vascular Plants*, vol. VIII, Flowering Plants, Eudicots, Asterales, pp. 391-395. Springer-Verlag, Berlin.
 - JEFFREY C. 2009. Evolution of Compositae flowers. In: FUNK, V. A., A. SUSANNA, T. F. STUESSY & R. J. BAYER (eds.). *Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae*. pp. 131-138. Sheridan Books, Inc., Ann Arbor, Michigan.
 - KADEREIT, J. W. 2007. Asterales: Introduction and Conspectus. In: KADEREIT, J. W. & C. JEFFREY (eds.). *Families and Genera of Vascular Plants*, vol. VIII, Flowering Plants, Eudicots, Asterales, pp. 391-395. Springer-Verlag, Berlin.

- LANE, M. A. 1996. Pollination biology of Compositae. In: CALIGARI, P. & D. HIND. (eds). *Compositae: Biology & Utilization*. Proceedings of the International Compositae Conference, Kew, 1994. (vol. 2, pp. 61-80. Royal Botanic Gardens, Kew.
- MALUF, A. M. & B. WIZENTIER. 1998. Aspectos fenológicos egerminação de sementes de quatro populações de *Eupatorium vauthierianum* DC. (Asteraceae). *Revista Bras. Bot.* 21: 247-251.
- MANI, M. S. & J. M. SARAVANAN. 1999. *Pollination ecology and evolution in Compositae (Asteraceae)*. Science Publishers, Inc., Enfield.
- MARZINEK, J., O. CAVALARI DE PAULA & D. TROMBERT OLIVEIRA. 2008. Cypsela or achene? Refining terminology by considering anatomical and historical factors. *Revista Brasil. Bot.* 31: 549-553.
- MARZINEK, J. & D. TROMBERT OLIVEIRA. 2010. Structure and ontogeny of the pericarp of six Eupatorieae (Asteraceae) with ecological and taxonomic considerations. *An. Acad. Bras. Cienc.* 82: 279-291
- MAUCHAMP, A., C. MONTAÑA, J. LEPART & S. RAMBLA. 1993. Ecotone dependent recruitment of a desert shrub, *Flourensia cernua*, en vegetation stripes. *Oikos* 68:107-116.
- MIRBEL, M. 1813. Nouvelle classification des fruits. *Nouveau Bulletin des Sciences* 3:313-319.
- MONTAÑA, C., L. LOPEZ-PORTILLO & A. MAUCHAMP. 1990. The response of two woody species to the conditions created by a shifting ecotone in an arid ecosystem. *J. Ecol.* 79: 789-798.
- NICOLSON, S. W. & R. W. THORNBURG. 2007. Nectar chemistry. In: NICOLSON, S. W., M. NEPI & W. PACINI. (eds.) *Nectaries and nectar*. pp. 215-264. Dordrecht: Springer-Verlag.
- PANDEY, A. K. & M. R. DHAKAL. 2001. Phytomelanin in Compositae. *Current Science* 80:933-940.
- PANERO, J. L. 2007. Compositae: key to the tribes of the Heliantheae Alliance. In: KADEREIT, J. W. & C. JEFFREY (eds.), *Families and Genera of Vascular Plants*, vol. VIII, Flowering Plants, Eudicots, Asterales, pp. 391-395. Springer-Verlag, Berlin.
- RICHERSON, J. & P. BOLDT. 1995. Phytophagous insect fauna in *Flourensia cernua* (Asteraceae, Heliantheae) in Trans-Pecos Texas and Arizona. *Environmental Entomology* 24: 588-594.
- ROTH, I. 1977. *Fruits of Angiosperms*. Gebrüder Borntraeger, Berlin.
- SANCHO, G. & L. KATINAS. 2002. Are the trichomes in corollas of Mutisieae (Asteraceae) really twin hairs? *Botanical Journal of the Linnean Society* 140: 427-433.
- SASSAKI, R. M., J. N. RONDON, L. ZAIDAN & G. FELIPPE. 1999. Germination of seeds from herbaceous plants artificially stored in cerrado soil. *Revista Brasileira de Biologia* 59: 271-279.
- SCHEFFE, H. 1959. *The Analysis of Variance*. Ed. John Wiley. New York.

- SOKAL, R. & F. ROHLF. 1981. *The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. Ed. Freeman and Co. San Francisco.
- STUESSY, T. F., D. SPOONER & K. EVANS. 1986. Adaptive significance of ray corollas in *Helianthus gorsseserratus* (Compositae). *American Midland Naturalist* 115:191-197.
- SUN, M. & F. GANDERS. 1990. Outcrossing rates and allozyme variation in rayed and rayless morphs of *Bidens pilosa*. *Heredity* 64:139-143.
- SUNDARA RAJAN, S. 1973. Embriological studies in Compositae. *Proceedings of Indian Academy of Science* 267-283.
- TORRES, C. & L. GALETTO. 2002. Are nectar sugar composition and corolla tube length related to the diversity of insects that visit Asteraceae flowers? *Plant Biology* 4: 360-366.
- TORRES, C. & L. GALETTO. 2007. Style morphological diversity of some Asteraceae species from Argentina: systematic and functional implications. *Journal of Plant Research* 120:359-364.
- TORRES, C. & L. GALETTO. 2008. Importancia de los polinizadores en la reproducción de Asteraceae de Argentina central. *Acta Botánica Venezuelica* 31:473-494.
- TORRES-DÍAZ, C., L. CAVIERES, C. MUÑOZ-RAMÍREZ & M. ARROYO. 2007. Consecuencias de las variaciones microclimáticas sobre la visita de insectos polinizadores en dos especies de *Chaetanthera* (Asteraceae) en los Andes de Chile central. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 80: 455-468.
- TRAVESET A. 1993. Deceptive fruits reduce insect seed predation in *Pistacia terebinthus* L. *Evolutionary Ecology* 7: 357-361.
- URZÚA, A., R. SANTANDER & J. ECHEVERRÍA. 2007. Analysis of surface and volatile compounds of flower heads of *Flourensia thurifera* (MOL) D.C. *Journal of the Chilean Chemical Society* 52: 1244-1245.
- VALENCIA-DÍAZ, S. & C. MONTAÑA. 2003. Effects of seed age, germination substrate, gibberelic acid, light and temperature on seed germination in *Flourensia cernua* (Asteraceae), a Chihuahuan desert shrub. *The Southwestern Naturalist* 48:1-13.
- VALENCIA-DÍAZ, S. & C. MONTAÑA. 2005. Temporal variability in the maternal environment and its effect on seed size and seed quality in *Flourensia cernua* DC. (Asteraceae). *Journal of Arid Environments* 63: 686-695.
- VERDÚ M. & P. GARCÍA-FAYOS. 2001. The effect of deceptive fruits on predispersal seed predation by birds in *Pistacia lentiscus*. *Plant Ecology* 156: 245-248.
- VILLAMIL, C. B., A. E. DE VILLALOBOS & R. L. SCOFFIELD. 2010. Plantas endémicas de Argentina. www.lista-planear.org.
- VISINTIN, A & G. BERNARDELLO. 2005. Morfología y Anatomía floral de *Tagetes minuta* L. (Asteraceae). *Arnaldoa* 12: 8-15.
- WIST, T. & A. DAVIS. 2006. Floral Nectar Production and Nectary Anatomy and Ultrastructure of *Echinacea purpurea* (Asteraceae). *Ann. Bot.* 97: 177-193.

- ZANGERL A. R., M. BERENBAUM & J. NITAO. 1991. Parthenocarpic fruits in wild parsnip: decoy defence against a specialist herbivore. *Evolutionary Ecology* 5: 136-145.

CAPÍTULO 4: ESTUDIOS CARIOLÓGICOS

INTRODUCCIÓN

Los cromosomas son parte de un sistema dinámico que está moldeando el proceso evolutivo, su variación se expresa a través de características analizables, como número, forma y tamaño (Poggio, 1996).

Los recuentos cromosómicos proveen información sobre el número mínimo de grupos de ligamiento (número básico) y cuántas veces éstos se repiten. Los cambios en ambas características se pueden producir por rearrreglos estructurales y/o poliploidía. Además, el número cromosómico puede ser variable entre individuos o poblaciones de una misma especie, mediante eventos de disploidía, situación que no necesariamente se refleja en cambios en el fenotipo (Poggio, 1996).

Por ello, los estudios citogenéticos han probado ser importantes en sistemática, así como también, para dilucidar procesos y patrones de evolución (Jones, 1970; Stebbins, 1971; Levin & Wilson, 1976; Greilhuber & Ehrendorfer, 1988). Las características cariotípicas han sido utilizados para entender la diversificación en muchos grupos de angiospermas (e.g., Bernardello *et al.*, 1994; Shan *et al.*, 2003; Urdampilleta *et al.*, 2005; Moyetta *et al.*, 2013), incluyendo en las Asteraceae (e.g., Vanzela *et al.*, 2002; Weiss-Schneeweiss *et al.*, 2009; Moreno *et al.*, 2012).

Esta familia presenta un gran rango de números cromosómicos que va desde $2n=4$ hasta $2n=ca. 432$, siendo el más frecuente $2n=18$. El número básico también es variable, entre $x=2$ y $x=11$ pero además, existe una gran cantidad de números básicos secundariamente derivados, lo cual aumenta la diversidad. Sumado a esto, el 58,3% de los géneros son poliploides, con niveles de hasta $48x$. Pese a esta gran heterogeneidad, se considera que el número básico ancestral de la familia es $x=9$ (Semple & Watanabe, 2009; Vallés *et al.*, 2013).

Por otro lado, la mayoría de los genomas de la familia son considerados muy pequeños ($1C \leq 1,4$ pg) o pequeños ($1C \leq 3,5$ pg), lo cual se relaciona directamente con especies de vida corta y r estrategias (Vallés *et al.*, 2013).

En la tribu Heliantheae existe una gran diversidad de números de cromosomas que va desde $n = 3$ hasta ca. 50, con unas pocas especies con un mayor número. Sin embargo, la mayoría de las especies presenta un número n de entre 17 y 19 (e.g. Solbrig *et al.*, 1972; Robinson *et al.*, 1981; Panero, 2007a, b; Baldwin, 2009).

En *Flourensia* son escasos los estudios citológicos, si bien se conoce el número cromosómico de 24 especies, siendo $n=18$ o ca. 18 (Turner & Johnston, 1961; Dillon, 1979, 1981, 1984, 1986; Di Fulvio, 1977; Weedon & Powell, 1980; Robinson *et al.*, 1981; Molau, 1986; Strother, 1983; Powell, 1984; Waisman *et al.*, 1986; Wulff *et al.*, 1996; Carr *et al.*, 1999).

Además, se ha estudiado la meiosis en algunas especies, reportándose para *F. blakeana* M. O. Dillon, *F. laurifolia* DC, *F. suffrutescens* (R.E. Fries) Blake y *F. tortuosa* ca. 18II, mientras que en un individuo de *F. blakeana* y en *F. fiebrigii* Blake se observó un cuadrivalente, por lo que su configuración meiótica fue 16II + 1 IV (Wulff *et al.*, 1996; Carr *et al.*, 1999).

Sin embargo, no existen estudios cariotípicos para ninguno de sus representantes, por lo que se plantea el estudio cromosómico de seis especies centro-argentinas, con el fin de aportar información novedosa y útil en taxonomía y sistemática.

OBJETIVOS

El objetivo general es estudiar los cromosomas mitóticos, realizando un análisis cualitativo y cuantitativo de sus cariotipos, con el fin de aportar datos que permitan una mayor comprensión de sus relaciones filogenéticas.

Objetivos específicos

- 1) Determinar el número diploide de cromosomas a partir de raicillas obtenidas de la germinación de semillas.
- 2) Confeccionar cariogramas de células de cada una de las muestras, calculando las siguientes variables:
 - Largo total de cada par cromosómico.
 - Posición del centrómero de cada par cromosómico, en base al índice braquial
 - Largo total del genoma haploide.
 - Largo cromosómico promedio.
 - Índice braquial promedio.
 - Razón entre el cromosoma mayor y el menor del complemento (Índice Rz).
 - Índices de asimetría intracromosómica e intercromosómica.
- 3) Identificar y clasificar los satélites presentes.
- 4) Confeccionar los cariotipos de cada una de las especies a partir de no menos de 10 cariogramas en cada caso.
- 5) Comparar estadísticamente las variables obtenidas entre las especies analizadas con el objeto de determinar si existen diferencias significativas entre ellas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los análisis cariológicos se efectuaron en semillas provenientes de las siguientes poblaciones:

Flourensia campestris, Delbón 7, 21-III-2010. *F. hirta*, Barboza 2460, 20-III-2010. *F. leptopoda*, Barboza 2438, 18-III-2010. *F. niederleinii*, Barboza 2450, 19-III-2010. *F. oolepis*, Delbón 8, 21-III-2010. *F. Tortuosa*, Barboza 2462, 20-III-2010 (Ver datos completos en Tabla 2).

Las semillas se lixiviaron durante 24 horas con agua corriente y se colocaron en cajas de Petri con papel de filtro húmedo. Se las mantuvo en cámara con ambiente controlado con 25°C, 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, regándolas diariamente con agua destilada. Los ápices radicales fueron cortados cuando las raíces tuvieron 5-10 mm. Se realizó un pretratamiento con una solución saturada de para-dicloro-benceno durante 3 horas a temperatura ambiente (Mayer, 1945), luego se lavaron las raíces con agua destilada y se las fijó en una mezcla 3:1 de alcohol etílico absoluto:ácido acético glacial, preparada en el momento de usar, durante 24 horas a temperatura ambiente.

Se realizó la coloración de Feulgen (Jong, 1997) con el siguiente procedimiento: lavado de las raíces con agua destilada 5-10 minutos, hidrólisis en ácido clorhídrico 5N, 40 minutos a temperatura ambiente, lavado con agua destilada 5 minutos, secado de raíces en papel de filtro, coloración con Reactivo de Schiff en oscuridad 2 horas a temperatura ambiente y realización del preparado en un portaobjetos con una gota de ácido acético 45%. Los preparados se hicieron permanentes removiendo el cubreobjetos por congelamiento con nitrógeno líquido y montando con Euparal.

Los cariogramas de cada célula se realizaron a partir de fotomicrografías tomadas en microscopio con contraste de fases Zeiss Axiophot y cámara digital Leica DFC300FX. Las variables calculadas fueron: índice braquial ($r = l/s$ donde l = largo del brazo mayor, s = largo del brazo menor; Levan *et al.*, 1964), largo total (c) de cada par cromosómico, largo cromosómico promedio (C), largo total del genoma haploide (lt), índice braquial promedio (R), razón entre el cromosoma mayor y el

menor del complemento (Rz). Los índices de asimetría se calcularon según Romero Zarco (1986), como sigue:

Índice de asimetría intracromosómica: $A_1 = 1 - \Sigma b_1 : b_2 / n$

siendo n = número de pares de cromosomas homólogos, b1= largo promedio de brazos cortos en todos los pares de cromosomas homólogos, b2= largo promedio de brazos largos en todos los pares de cromosomas homólogos. Esta ecuación está formulada para obtener valores bajos cuando los cromosomas tienden a ser metacéntricos.

Índice de asimetría intercromosómica: $A_2 = s / x$

siendo s = desviación estándar y x = el promedio de largo cromosómico para cada muestra. Este índice refleja la asimetría debida a la variabilidad de las longitudes de todos los cromosomas del complemento.

Se empleó también la clasificación de categorías de asimetría de Stebbins (1971) y los satélites se clasificaron según Battaglia (1955). Los cariogramas se construyeron organizando los cromosomas en grupos de acuerdo a su índice braquial, ordenándolos luego por largo decreciente dentro de cada categoría. Finalmente, se los numeró consecutivamente usando este mismo esquema. Con el programa InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2009) se compararon las variables C, It, Rz, R, A₁ y A₂ con ANAVA y Test de Tukey (Scheffé, 1959; Sokal & Rohlf, 1981) con el objetivo de determinar si existen diferencias significativas entre las especies.

RESULTADOS

Las especies de *Flourensia* estudiadas presentaron $2n=36$. En la Fig. 27 se muestran fotomicrográficas de células en metafase y en la Fig. 28 se representan los idiogramas para cada especie. Los datos obtenidos para las variables analizadas se presentan en las Tablas 9.

Las fórmulas cariotípicas se informan por primera vez y resultan de interés ya que variaron entre las especies. *F. campestris*, *F. leptopoda* y *F. tortuosa* compartieron la fórmula con 14 pares $m + 4 sm$, mientras que *F. hirta*, *F. niederleinii* y *F. oolepis* presentaron 12 pares $m + 6 sm$ (Tabla 9, Fig. 28).

Con respecto al tamaño cromosómico, *F. hirta* y *F. leptopoda* mostraron la mayor longitud promedio, con $2,97 \pm 0,39$ y $2,86 \pm 0,14 \mu\text{m}$ respectivamente, con diferencias significativas con respecto a los restantes taxones. El menor valor fue para *F. campestris* con $2,11 \pm 0,13 \mu\text{m}$. El largo total del genoma haploide fue concordante con lo antes citado, siendo mayor en *F. hirta* con $53,42 \pm 7,08 \mu\text{m}$, y menor en *F. campestris*, con $37,95 \pm 2,35 \mu\text{m}$ (Tabla 9).

Los índices de asimetría muestran que *F. campestris* es la especie más simétrica, mientras que, *F. niederleinii* y *F. oolepis* son las más asimétricas. Cabe aclarar que solo en el índice de asimetría intracromosómica A_1 y en el índice R se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las especies (Tabla 2). Por último, *F. hirta* y *F. niederleinii* mostraron mayor índice de asimetría intercromosómica A_2 y mayor índice R_z , aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 9).

. La clasificación de Stebbins (1971) resultó A_2 para todos los taxones analizados.

Los satélites se encontraron en todas las especies, menos en *F. campestris*, que fue la única en la que no se visualizaron. Para las restantes, variaron en número y ubicación. *F. leptopoda* y *F. tortuosa* presentaron un satélite en el segundo par de cromosomas sm . En *F. hirta* y *F. niederleinii* se encontraron dos satélites, en el primer y tercer par sm . Por último, en *F. oolepis* se observó un satélite en el primer par sm (Fig. 28). Todos resultaron microsátélites según la clasificación de Battaglia (1955), con $0,3 \mu\text{m}$ de longitud en promedio y estuvieron ubicados en posición

terminal en un brazo corto (Fig. 27 y 28). Su visualización fue poco constante ya que se han observado en un bajo porcentaje de células (Tabla 10).

TABLA 9. Cariotipos de especies de *Flourensia* ($2n = 36$). **C:** largo cromosómico en micras, entre paréntesis el rango (longitud del cromosoma menor-longitud del cromosoma mayor), **Lt:** largo total del genoma haploide en micras, **Rz:** razón entre las longitudes del cromosoma mayor y el menor del complemento, **R:** índice braquial, **A₁:** índice de asimetría intracromosómica, **A₂:** índice de asimetría intercromosómica. Todas las variables expresadas como promedio en $\mu\text{m} \pm$ desvío estándar. Anova con $p \leq 0,05$ y 5 grado de libertad. * = variable con diferencias significativas entre las especies. Diferentes letras muestran diferencias significativas para el Test de Tukey.

ESPECIE	Fórmula Cariotípica	C *	lt *	Rz	R *	A ₁ *	A ₂
<i>Flourensia campestris</i>	14 m + 4 sm	2,11 ± 0,13 c (2,02-2,34)	37,95 ± 2,35 c	1,68 ± 0,16 a	1,41 ± 0,06 c	0,24 ± 0,03 c	0,13 ± 0,02 a
<i>F. hirta</i>	12 m + 6 sm	2,97 ± 0,39 a (2,56-3,43)	53,42 ± 7,08 a	1,93 ± 0,34 a	1,54 ± 0,03 ab	0,3 ± 0,01 ab	0,16 ± 0,03 a
<i>F. leptopoda</i>	14 m + 4 sm	2,86 ± 0,14 a (2,9-3,71)	51,5 ± 2,47 a	1,82 ± 0,15 a	1,5 ± 0,02 ab	0,3 ± 0,01 ab	0,14 ± 0,02 a
<i>F. niederleinii</i>	12 m + 6 sm	2,83 ± 0,24 ab (2,52-3,1)	50,95 ± 4,33 ab	1,89 ± 0,15 a	1,59 ± 0,04 a	0,33 ± 0,01 a	0,16 ± 0,02 a
<i>F. oolepis</i>	12 m + 6 sm	2,69 ± 0,31 ab (2,41-3,13)	48,41 ± 5,59 ab	1,79 ± 0,21 a	1,59 ± 0,04 a	0,32 ± 0,01 a	0,14 ± 0,01 a
<i>F. tortuosa</i>	14 m + 4 sm	2,33 ± 0,13 bc (1,63-2,86)	41,92 ± 2,27 bc	1,78 ± 0,07 a	1,47 ± 0,07 bc	0,27 ± 0,04 bc	0,14 ± 0,02 a

TABLA 10. Porcentaje de células con satélites en especies de *Flourensia*. **N:** número de células observadas por especie.

ESPECIE	% sin satélite	% con 1 satélite	% con 2 satélites	% con 3 satélites	% con 4 satélites	N
<i>Flourensia campestris</i>	100	-	-	-	-	23
<i>F. hirta</i>	75	15	10	-	-	20
<i>F. leptopoda</i>	64	27	9	-	-	11
<i>F. niederleinii</i>	63	15	11	4	7	27
<i>F. oolepis</i>	67	25	8	-	-	24
<i>F. tortuosa</i>	75	8	17	-	-	12

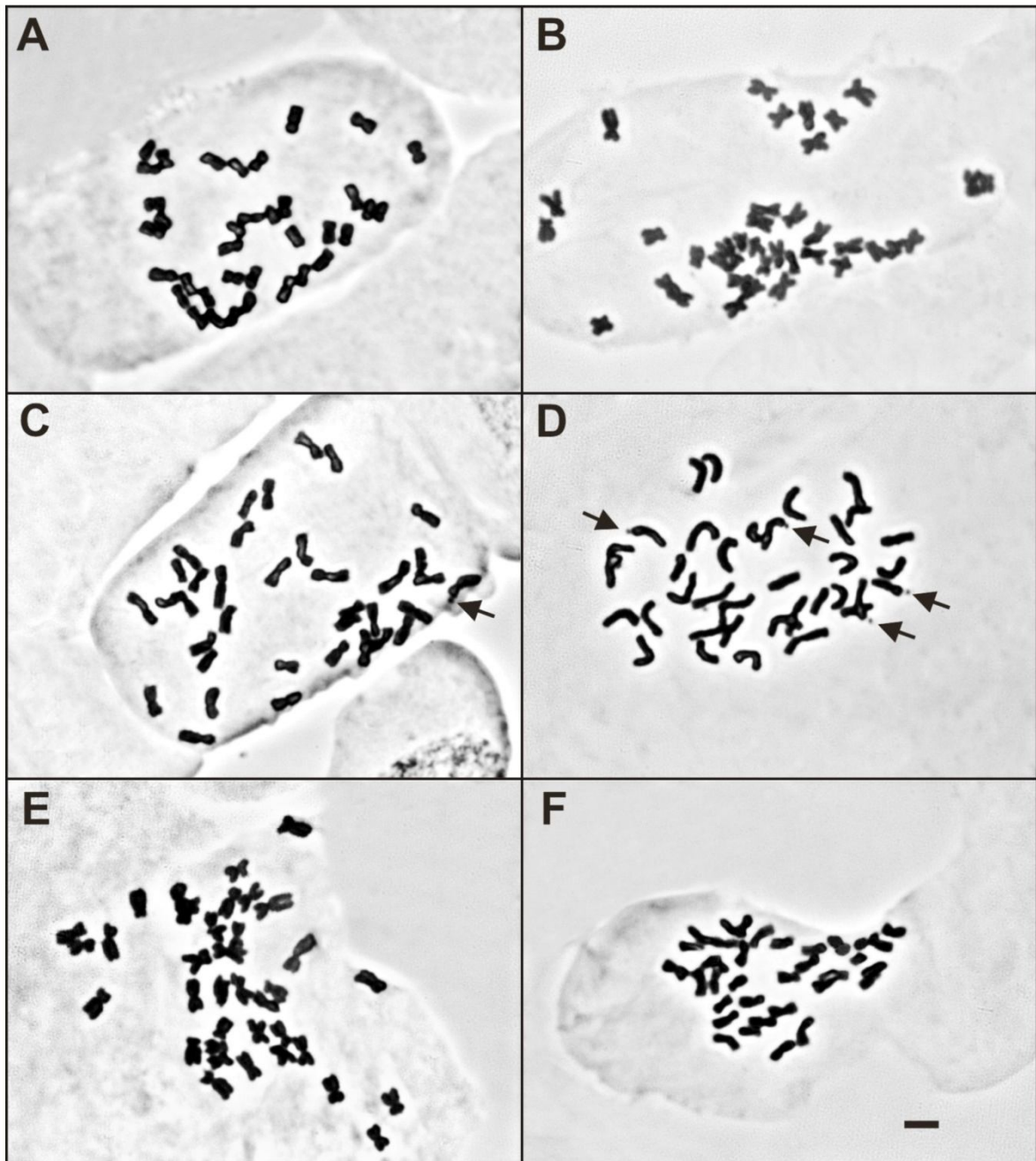


Fig. 27. Metafasas mitóticas de especies de *Flourensia*. A: *F. campestris*, B: *F. hirta*, C: *F. leptopoda*, D: *F. niederleinii*, E: *F. oolepis*, F: *F. tortuosa*. Flechas indican satélites. Escala = 3 μ m, todas a la misma escala.

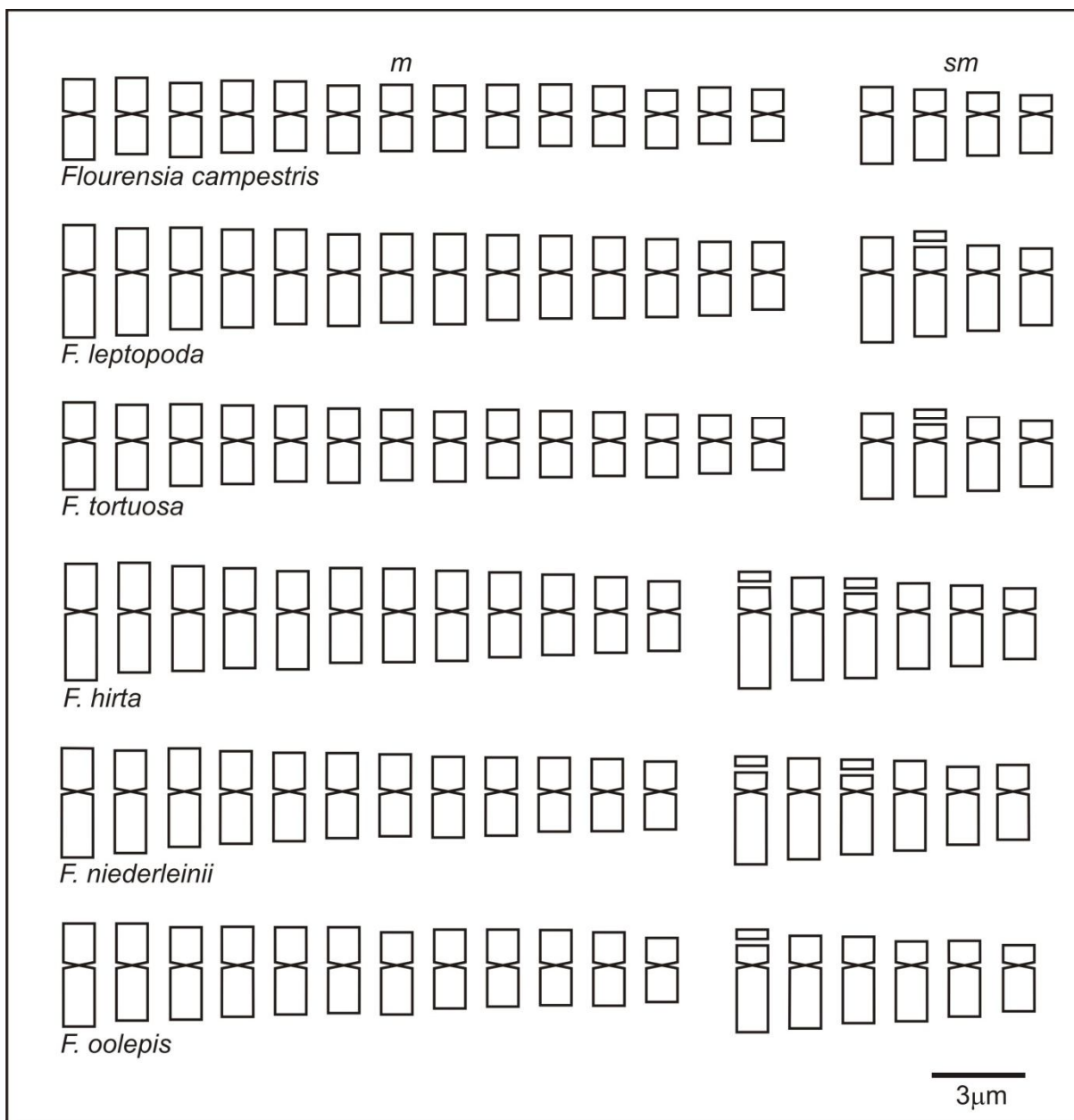


Fig. 28. Ideogramas de especies de *Flourensia*. Basado en los valores medios. *m*: metacéntico, *sm*: submetacéntico. Escala = 3 μm, todas a la misma escala.

DISCUSIÓN

Las especies de *Flourensia* estudiadas presentaron $2n=36$, lo cual concuerda con lo informado para estas especies por otros autores en material de otras procedencias (Dillon, 1979, Di Fulvio, 1977; Wulff *et al.*, 1996).

Cabe destacar la gran homogeneidad que se observa en este género, ya que en que todas las especies estudiadas y en todas las poblaciones analizadas, se encontró el mismo número cromosómico (Turner & Johnston, 1961; Dillon, 1981, 1984, 1986; Weedín & Powell, 1980; Robinson *et al.*, 1981; Molau, 1986; Strother, 1983; Powell, 1984; Waisman *et al.*, 1986; Carr *et al.*, 1999).

Sin embargo, se ha reportado una excepción a esta regla. En un estudio de ADN del género *Helianthus* L., se tomó como control a un individuo de *F. cernua*, proveniente de una población de Estados Unidos, para la cual se reportó un número cromosómico de $n=17$ (Sossey-Alaoui *et al.*, 1998). Para esta especie existen otros dos estudios, con poblaciones del mismo país y de México, que reportan $n=18$ (Dillon 1979; Weedín & Powell, 1980). Frente a esta situación, se puede inferir que se cometió un error o, por el contrario, que realmente existen poblaciones con diferentes números cromosómicos, lo cual merece ser corroborado con nuevas investigaciones.

El número cromosómico también es relativamente constante en los otros géneros que comprenden la subtribu Encelinieae (Panero, 2005; Panero, 2007b).

Geraea presenta sus dos especies con $n=18$, habiéndose estudiado varias poblaciones, de modo que este también es un género homogéneo (e.g. Solbrig *et al.*, 1972; Keil & Pinkava, 1976). Lo mismo ocurre en *Helianthella*, en la que sus ocho especies presentan $n=15$, igual en todas las poblaciones analizadas (e.g. Weber, 1952; Keil & Pinkava, 1976).

En cambio, en *Encelia* y *Enceliopsis* el número es algo variable. Las 4 especies de este último presentan $n=18$, aunque en dos poblaciones de *E. nudicaulis* (A. Gray) Nelson se observó $n=17$ (e.g. Solbrig *et al.*, 1972; Keil & Pinkava, 1976; Reveal & Styer, 1974). El género *Encelia* es el más diverso de la subtribu. De las especies estudiadas, 10 presentan $n=18$, de las cuales 2 también tuvieron poblaciones con

$n=17$, en tanto que 3 especies presentan solamente $n=17$ (e.g. Solbrig *et al.*, 1972; Robinson *et al.*, 1981; Allan *et al.*, 1997; Clark, 1998; Fehlberg & Ranker, 2007).

Por otra parte, *Zaluzania* y *Espeletia*, relacionados por medio de análisis cladísticos con caracteres morfológicos, pero que no conforman la subtribu Encelinieae, presentan $x=17$ y $x=19$ respectivamente (e.g. Solbrig *et al.*, 1972; Robinson *et al.*, 1981).

En todos estos géneros los cambios en los números cromosómicos se habrían debido a eventos de disploidía crecientes o decrecientes, sin que se produzcan poliploidías, aunque no hay estudios cariotípicos comparativos para ninguno de ellos.

Lo contrario ocurrió, por ejemplo, en *Helianthus*, uno de los más numerosos de la tribu Helaintheae y el más estudiado citológicamente, por su importancia económica. Presenta una gran variedad de números cromosómicos, aunque la mayoría de las especies, incluida *H. annuus* L., presenta $2n=2x=34$ con 4 pares *st* y 13 *m* a *sm* (Schrader *et al.*, 1997; Vanzela *et al.*, 2002). Otras especies son tetraploides con $2n=4x=68$ y hexaploides con $2n=6x=102$, pero, a pesar de esto, en todas ellas el número básico es $x=17$ y los cromosomas presentan similares características en cuanto a la posición del centrómero. Los investigadores concluyeron que para este grupo la poliploidía fue muy importante en la evolución del cariotipo (Vanzela *et al.*, 2002).

Iguals conclusiones fueron obtenidas en el género *Bidens* L. (Coreopsideae), para el cual se han reportado gran cantidad de números cromosómicos. Pero además, en *Bidens pilosa* L. se han encontrado diferentes números para distintas poblaciones, así, para esta especie se reportó $2n= 24, 36, 48, 54, 72$ y 96 , lo cual demuestra una alta diversidad (Fachinetto *et al.*, 2008 y literatura ahí citada). En *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni (Eupatorieae) se reportó $2n= 22, 33$ y 44 . Además, para esta especie tan importante económicamente, se encontró una relación positiva entre el nivel de ploidía y las características anatómicas que mostraron las diferentes poblaciones (Oliveira *et al.*, 2004).

Como se ha dicho con anterioridad, se considera que el número básico de la familia Asteraceae es $x= 9$ (Semple & Watanabe, 2009). En contraste, en a la

Alianza Heliantheae, existen al menos dos posturas sobre el posible número básico. Baldwin *et al.* (2002) proponen a $x_2=18$ como ancestral, en tanto que Semple & Watanabe (2009) plantean que $x_2=19$ sería basal, por encontrarse en la mayoría de las tribus de la Alianza. Estos últimos autores señalan que $x_2=18$, 17, 15 y 11 serían derivados por disploidía decreciente. El número básico de la tribu Heliantheae también sería $x_2=19$.

En cuanto al origen del número cromosómico de *Flourensia* ($2n=36$), Wulff *et al.* (1996) postuló que serían diploides con $x=18$, pero plantea que, teniendo en cuenta el número básico de la familia ($x=9$), se trataría de tetraploides. En contraste, si aceptamos que el número básico de la Alianza y de la tribu es $x_2=19$, el género habría sufrido un evento de disploidía decreciente, el cual disminuyó el número $x_2=19$ a $x_2=18$.

En Eupatorieae, otra tribu de la Alianza, el número cromosómico $n=18$ aparece en unas pocas subtribus basales, filogenéticamente cercanas a Heliantheae; en contraste, la mayor cantidad de especies presenta $n=10$, seguida en importancia por $n=17$. Este último sería el número básico de la tribu y la evolución del número cromosómico habría avanzado en una dirección descendente (Watanabe *et al.*, 1995).

Tanto en Eupatorieae (Watanabe *et al.*, 1995), como en Heliantheae (Baldwin, 2009), se ha observado una relación entre la cantidad de cromosomas y el hábito de los taxones. De modo que la presencia de números cromosómicos altos se ha relacionado con hábitos arbustivos y arborescentes que habitan ambientes estables. Por el contrario, la reducción en el número cromosómico se asocia con un hábito herbáceo, en plantas anuales o bianuales, lo cual podría fomentar la explotación de hábitats con recursos efímeros. En este sentido, las especies de *Flourensia* seguirían este patrón general, ya que son perennes y con elevado número cromosómico.

Los datos obtenidos tienen valor taxonómico ya que se han encontrado diferencias entre casi todas las especies. Según las fórmulas cariotípicas, es posible discriminar dos grupos, los cuales difirieron por la cantidad de cromosomas *sm*. Por otro lado,

se encontraron diferencias estadísticas en la mayoría de las variables analizadas, excepto R_z y A_2 . Así, *F. campestris* se diferenció de las demás especies por presentar los menores valores en longitud cromosómica promedio y largo total del genoma haploide; asimismo, fue la especie más simétrica y no presentó satélites. Por el contrario, las especies que resultaron con mayores valores de longitud son *F. hirta* y *F. leptopoda*, mientras que *F. niederleini* y *F. oolepis* fueron las más asimétricas. El número y la posición de los satélites variaron entre las especies que los ostentan.

Estas diferencias se corresponden, en parte, con los datos de distribución geográfica (Ariza Espinar, 2000), así como también con los referidos a exomorfología y anatomía de órganos vegetativos reportados con anterioridad (Delbón *et al.*, 2007a, b) y en esta tesis.

F. hirta, *F. leptopoda* y *F. niederleini* presentan una distribución acotada que se restringe a pequeñas poblaciones en las Provincias de La Rioja, Catamarca y San Juan (Ariza Espinar, 2000) y pertenecen a la categoría 5 de PlaEAR (Villamil *et al.*, 2000). Desde el punto de vista morfoanatómico son consideradas mejor adaptadas al ambiente xérico en que habitan, ya que tienen menor tamaño foliar, reducción en la cantidad de hacecillos foliares y mayor frecuencia estomática, entre otras características. En concordancia, estas especies son las que presentaron mayor largo cromosómico promedio.

F. campestris, *F. oolepis* y *F. tortuosa* son las especies consideradas menos adaptadas al ambiente xérico (Delbón *et al.*, 2007a, b), lo cual se puede relacionar con su amplia distribución geográfica y su mayor abundancia (Ariza Espinar, 2000) ya que pertenecen a las categorías 4 y 3 de PlaEAR; estas especies son, además, las que presentaron menor largo cromosómico.

Finalmente, se puede concluir que las diferencias cariotípicas encontradas sugieren que la especiación en estos taxones fue acompañada por pequeños cambios en los cromosomas, causados probablemente por inversiones y/o translocaciones de segmentos de diferentes longitudes, lo cual requiere técnicas moleculares para su determinación.

CONCLUSIONES

Todas las especies analizadas presentaron $2n=36$: tres de ellas con 14 pares m + 4 sm y las restantes con 12 pares m + 6 sm .

La longitud cromosómica promedio varió entre 2,11 y 2,97 μm , habiéndose encontrado diferencias estadísticas en las variables C, Lt, R y A_1 . La clasificación de Stebbins resultó A2 para todos los taxones analizados.

Excepto en *F. campestris*, se encontró uno o dos pares de satélites que variaron en su ubicación. Todos resultaron microsátélites y se hallaron en posición terminal en un brazo corto. Su visualización fue poco constante ya que se han observado en un bajo porcentaje de células.

Las diferencias encontradas entre las especies se corresponden, en parte, con los datos de distribución geográfica, así como también con los referidos a exomorfología y anatomía de órganos vegetativos.

Los datos obtenidos tienen valor taxonómico ya que se han encontrado diferencias entre casi todas las especies; además, sugieren que su especiación habría sido acompañada por pequeños cambios cromosómicos causados por inversiones y/o translocaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- ALLAN, G. J., C. CLARK & L. H. RIESBERG. 1997. Distribution of parental DNA markers in *Encelia virginensis* (Asteraceae: Heliantheae), a diploid species of putative hybrid origin. *Plant Syst. Evol.* 3: 205-221.
- ARIZA ESPINAR, L. 2000. Familia Asteraceae. Tribu Heliantheae. *Pródromo de la Flora Fanerogámica de Argentina Central* 2: 1-111. Museo Botánico, Córdoba.
- BALDWIN, B., B. WESSA & J. PANERO. 2002. Nuclear rDNA evidence for major lineages of Helenioid Heliantheae (Compositae). *Syst. Bot.* 27: 161-198.
- BALDWIN, B. 2009. Heliantheae alliance. In: FUNK, V. A., A. SUSANNA, T. F. STUESSY & R. J. BAYER (eds.), *Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae*, pp. 689-711. Sheridan Books, Inc., Ann Arbor, Michigan.
- BATTAGLIA, E. 1955. Chromosome morphology and terminology. *Caryologia* 8: 179-187.
- BERNARDELLO, G., C. B. HEISER & M. PIAZZANO. 1994. Karyotypic studies in *Solanum* section *Lasiocarpa* (Solanaceae). *Amer. J. Bot.* 81: 95-103.
- CARR, G., R. KING, A. POWELL & H. ROBINSON. 1999. Chromosome numbers in Compositae. XVIII. *Amer. J. Bot.* 86: 1003-1013.
- CLARK, C. 1998. Phylogeny and adaptation in the Encelia Alliance (Asteraceae, Heliantheae). *Aliso* 17:89-98.
- Di FULVIO, T. E. 1977. Recuentos cromosómicos en Angiospermas Argentinas. III. *Kurtziana* 10: 69-72.
- DILLON, M. O. 1979. In LOVE, A. (ed.), IOPB chromosome number reports. LXIII. *Taxon* 28: 278-279.
- DILLON, M. O. 1981. Three new species of *Flourensia* (Asteraceae-Heliantheae) from South America. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 68: 105-111.
- DILLON, M. O. 1984. A systematic study of *Flourensia* (Asteraceae, Heliantheae). *Fieldiana Bot.* 16: 1-67.
- DILLON, M. O. 1986. A new species of *Flourensia* (Asteraceae: Heliantheae) from northern Peru. *Brittonia* 38: 32-34.
- DI RIENZO, J., F. CASANOVES, M. BALZARINI, L. GONZALEZ, M. TABLADA & C. ROBLEDO. InfoStat, versión 2009. Grupo InfoStat, F. C. A. U.N.C., Córdoba.
- DELBÓN, N., M. T. COSA & N. DOTTORI. 2007a. Anatomía de órganos vegetativos en *Flourensia campestris* y *F. oolepis* (Asteraceae), con especial referencia a las estructuras secretoras. *Arnaldoa* 14: 61-70.
- DELBÓN, N., M. T. COSA, N. DOTTORI & L. STIEFKENS. 2007b. Estudio de la epidermis foliar en *Flourensia campestris* y *F. oolepis* (Asteraceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 42: 245-250.
- FACHINETTO, J., H. D. LAUGHINGHOUSE IV, A. FERREIRA DA SILVA & S. BOSIO TEDESCO. 2008. Variability of the chromosomal number and meiotic

- behavior in populations of *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) from southern Brazil. *Caryologia* 61: 164-169.
- FEHLBERG, S. D. & T. A. RANKER. 2007. Phylogeny and biogeography of *Encelia* (Asteraceae) in the Sonoran and peninsular deserts of based on multiple DNA sequences. *Syst. Bot.* 31: 692-699.
 - GREILHUBER, J. & F. EHRENDORFER. 1988. Karyological approaches to plant taxonomy. *ISI Atlas of Science: animal and plant sciences.* 289-297.
 - JONES, K. 1970. Chromosome changes in plant evolution. *Taxon* 19: 172-179.
 - JONG, J. 1997. *Laboratory manual of plant cytological techniques.* Ed. Royal Bot. Garden, Edinburgh.
 - KEIL, D. J. & D. J. PINKAVA. 1976. Chromosome counts and taxonomic notes for Compositae from the United States and Mexico. *Amer. J. Bot.* 63:1393-1403.
 - MAYER, J. R. 1945. Prefixing with paradichlorobenzene to facilitate chromosome study. *Stain. Technol.* 20: 121-125.
 - MOLAU, U. 1986. In: DILLON, M. O. A new species of *Flourensia* (Asteraceae: Heliantheae) from northern Peru. *Brittonia* 38: 32-34.
 - MORENO, N., L. STIEFKENS, M. L. LAS PEÑAS, A. BARTOLI, R. TORTOSA & G. BERNARDELLO. 2012. Molecular cytogenetic studies of the "Xanthocephalum group" (Asteraceae). *Plant Syst. Evol.* 298:1503-1514.
 - MOYETTA, N., L. STIEFKENS & G. BERNARDELLO. 2013. Karyotypes of South American species of the Morelloid and Dulcamaroid clades (Solanum, Solanaceae). *Caryologia* (en prensa).
 - LEVAN, A., K. FREDGA & A. SANDBERG. 1964. Nomenclature for centomeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220.
 - LEVIN, D. L., & A. C. WILSON. 1976. Rates of evolution in seed plants: net increase in diversity of chromosome numbers and species through time. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 73: 2086-2090.
 - OLIVEIRA V. M., E. FORNI-MARTINS, P. MAGALHÃES & M. ALVES. 2004. Chromosomal and morphological studies of diploid and polyploid cytotypes of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni (Eupatorieae, Asteraceae). *Genet. Mol. Biol.* 27: 215-222.
 - PANERO, J. L. 2005. New combinations and infrafamilial taxa in the Asteraceae. *Phytologia* 87: 1-14.
 - PANERO, J. L. 2007a. Key to the tribes of the Heliantheae Alliance. In: KADEREIT, J. W. & C. JEFFREY (eds.), *Families and Genera of Vascular Plants*, vol. VIII, Flowering Plants, Eudicots, Asterales, pp. 391-395. Springer-Verlag, Berlin.
 - PANERO, J. L. 2007b. Compositae: tribe Heliantheae. In: KADEREIT, J. W. & C. JEFFREY (eds.), *Families and Genera of Vascular Plants*, vol. VIII, Flowering Plants, Eudicots, Asterales, pp. 440-477. Springer-Verlag, Berlin.
 - POGGIO, L. 1996. Algunos aportes a la citogenética y especiación vegetal. *Anal. Acad. Nac. Cs. Ex. Fís. y Nat.*, Buenos Aires, Argentina, 48: 79-92.
 - POWELL, A. M. 1984. In: DILLON, M. O. A systematic study of *Flourensia* (Asteraceae, Heliantheae). *Fieldiana Bot.* 16: 1-67.

- REVEAL, J. L. & E. L. STYER. 1974. Miscellaneous chromosome counts of western American plants. I. *Southw. Naturalist* 18: 397-401.
- ROMERO ZARCO, C. 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. *Taxon* 35: 526-230.
- ROBINSON, H. 1981. A Revision of the Tribal and Subtribal Limits of the Heliantheae (Asteraceae). *Smithsonian Contr. Bot.* 51.
- ROBINSON, H., A. POWELL, R. KING & J. WEEDIN 1981. Chromosome numbers Compositae XII: Heliantheae. *Smithsonian Contrib. Bot.* 52: 1-28.
- SCHEFFE, H. 1959. *The Analysis of Variance*. John Wiley, New York.
- SCHRADER, O., R. AHNE, J. FUCHUS & I. SCHUBERT. 1997. Karyotype analysis of *Helianthus annuus* using Giemsa banding and fluorescence *in situ* hybridization. *Chrom. Res.* 5: 451-456.
- SEMPLE, J. C & K. WATANABE. 2009. A review of chromosome numbers in Asteraceae with hypotheses on chromosomal base number evolution. In: FUNK, V. A., A. SUSANNA, T. F. STUESSY & R. J. BAYER (eds.), *Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae*, pp. 61-72. Sheridan Books, Inc., Ann Arbor, Michigan.
- SHAN F., G. YAN & J. A. PLUMMER. 2003. Karyotype evolution in the genus *Boronia* (Rutaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 142: 309-320.
- SOKAL, R. & F. ROHLF. 1981. *The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. Freeman and Co., San Francisco.
- SOLBRIG, O., D. KYHOS, M. POWELL & P. RAVEN. 1972. Chromosome numbers in Compositae VII: Heliantheae. *Ann. J. Bot.* 59: 869-878.
- SOSSEY-ALAOUI, K., H. SERIEYS, M. TERSAC, P. LAMBERT, E. SCHILLING, Y. GRIVEAU, F. KAN & A. BERVILLE. 1998. Evidence for several genomes in *Helianthus*. *Theor. Appl. Genet.* 97: 422-430.
- STEBBINS, G. L. 1971. *Chromosomal evolution in higher plants*. E. Arnold, London.
- STROTHER, J. L. 1983. More chromosome studies in Compositae. *Amer. J. Bot.* 70: 1217-1224.
- TURNER, B. L. & M. JOHNSTON. 1961. Chromosome numbers in the Compositae. III. Certain Mexican species. *Brittonia* 13: 64-69.
- URDAMPILLETA, J. D., M. S. FERRUCCI & A. VANZELA. 2005. Karyotype differentiation between *Koelreuteria bipinnata* and *K. elegans* ssp. *formosana* (Sapindaceae) based on chromosome banding patterns. *Bot. J. Linn. Soc.* 149: 451-455.
- VALLÉS, J., M. CANELA, S. GARCIA, O. HIDALGO, J. PELLICER, I. SÁNCHEZ-JIMÉNEZ. 2013. Genome size variation and evolution in the family Asteraceae. *Caryologia* (en prensa).
- VANZELA, A., C. RUAS, M. OLIVEIRA & P. RUAS. 2002. Characterization of diploid, tetraploid and hexaploid *Helianthus* species by chromosome banding and FISH with 45S rDNA probe. *Genetica* 114: 105-111.
- VILLAMIL, C. B., A. E. DE VILLALOBOS & R. L. SCOFFIELD. 2010. Plantas endémicas de Argentina. www.lista-planear.org.

- WAISMAN, C. E., E. ROZENBLUM & J. HUNZIKER. 1986. Estudios cariológicos en Compositae. III. *Darwiniana* 27: 179-189.
- WATANABE, K., R. KING, T. YAHARA, M. ITO, J. YOKOYAMA, T. SUZUKI & D. CRAWFORD. 1995. Chromosomal, Cytology and Evolution in Eupatorieae (Asteraceae). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 82: 581-592.
- WEBER, W. A. 1952. The genus *Helianthella* (Compositae). *Amer. Midl. Naturalist.* 48: 1-35.
- WULFF, A. F., J. H. HUNZIKER & A. ESCOBAR. 1996. Estudios cariológicos en Compositae. VII. *Darwiniana* 34: 213-231.
- WEEDIN, J. F. & A. M. POWELL. 1980. In LOVE, A. (ed.), IOPB chromosome number reports. LXIX. *Taxon* 29: 716-718.
- WEISS-SCHNEEWEISS, H., T. F. STUESSY & J. L. VILLASEÑOR. 2009. Chromosome numbers, karyotypes and evolution in *Melapodium* (Asteraceae). *Int. J. Plant Sci.* 170: 1168-1182.

CONCLUSIONES FINALES

Las especies de *Flourensia* estudiadas están preparadas para sobrevivir y desarrollarse en el ambiente en que habitan, con condiciones desfavorables como la sequía, altas temperaturas, alta irradiación solar y frecuencia de fuego. Esto es posible ya que han desarrollado una gran cantidad de adaptaciones consideradas xeromórficas.

Entre las más importantes se destacó la presencia de tricomas glandulares, eglandulares de diferentes tipos y conductos secretores esquizógenos en todos los órganos de todas las especies. Se los observó tanto en los vegetativos, en hoja, tallo, raíz y xilopodio, como en los reproductivos, en los capítulos, flores y frutos. Sus funciones se relacionan con la prevención del ataque de herbívoros y patógenos y además, con el balance hídrico, por estar implicados en la absorción y retención de agua. Sumado a esto se observaron en las hojas abundantes estomas y gran desarrollo del parénquima en empalizada. En el leño numerosos vasos, de diámetro pequeño y dispuestos en grupos.

Al respecto, *F. hirta*, *F. leptopoda* y *F. niederleinii* son consideradas mejor adaptadas al ambiente xérico en que habitan, ya que tienen menor tamaño foliar, reducción en la cantidad de hacecillos foliares y mayor frecuencia estomática, entre otras características.

En el sistema radical se observó el desarrollo de un xilopodio, y se pudo constatar que su función es regenerar la planta, por formación de yemas nuevas, luego de un incendio. Esta característica es de vital importancia en las zonas serranas donde habitan ya que la frecuencia de fuego es alta, en especial en la provincia de Córdoba.

En las flores y frutos, se destacó la presencia de tricomas gemelos y en el pericarpo de los aquenios se observó el desarrollo de una capa de fitomelanina. Esta última funcionaría como una defensa contra el ataque de insectos o como una barrera contra la luz, la cual protege al embrión.

A pesar de todas estas adaptaciones, las especies estudiadas presentan una escasa distribución y abundancia. Esto podría explicarse teniendo en cuenta las características de su biología reproductiva, como su sistema de incompatibilidad, la baja producción de aquenios fértiles, su escasa dispersión, los bajos porcentajes de germinación y la corta viabilidad de las semillas.

F. hirta, *F. leptopoda* y *F. niederleinii* serían las más vulnerables ya que son las especies menos abundantes, pertenecen a la categoría 5 de PlaEAR, y son las que mostraron menor éxito reproductivo. Por el contrario, *F. oolepis* y *F. campestris* resultaron con menor la cantidad de frutos inviábiles y mayor la germinación, lo cual se podría relacionar a su mayor abundancia.

En estas dos últimas especies se comprobó un fuerte sistema de incompatibilidad, por lo que su reproducción depende exclusivamente de los insectos polinizadores. Si inferimos que en las restantes 4 especies el sistema es similar, el bajo éxito reproductivo que se observó en ellas podría deberse a una falta de visitantes florales efectivos, que transporten la cantidad y calidad de polen necesario. Sin embargo, creemos que es necesario ampliar las investigaciones al respecto.

Los resultados obtenidos sobre la biología reproductiva son fundamentales para plantear posibles planes de conservación y manejo de estas especies endémicas, así como también, para la reforestación de zonas degradadas o quemadas, para su cultivo como plantas ornamentales o por su interés farmacobotánico.

Con respecto a los estudios cariológicos, se corroboró el número cromosómico de $2n=18$, se observaron 3 especies con 14 pares $m + 4 sm$, mientras que las restantes presentaron 12 pares $m + 6 sm$ y se encontraron diferencias en las variables C, It, R y A_1 y en la cantidad y ubicación de los satélites. Las discrepancias se corresponden, en parte, con los datos de distribución geográfica, morfoanatomía y biología reproductiva ya que *F. hirta*, *F. leptopoda* y *F. niederleinii* son las que presentaron mayor largo cromosómico promedio. Por último, las variaciones encontradas sugieren que la especiación en estos taxones habría sido acompañada por pequeños cambios cromosómicos, causados por inversiones y/o translocaciones.

Finalmente, las características más importantes que permitieron diferenciar las especies fueron: tamaño foliar y cantidad de flores por capítulo, frecuencia estomática y cantidad de hacecillos de conducción en la vena media y el pecíolo, densidad de vasos del leño, fórmula cariotípica, largo promedio de los cromosomas, índice de simetría y presencia y posición de los satélites. Concluimos que estos caracteres pueden ser utilizados en taxonomía y sistemática.

Esta tesis sienta las bases para futuras investigaciones, entre las cuales se pueden mencionar:

- Realizar estudios sobre distribución y abundancia de las poblaciones, con el fin de conocer el estado de conservación actual de estas especies.
- Estudiar la ontogenia y desarrollo de los frutos sin embrión e indagar en su posible función adaptativa. Ampliar las pruebas de germinación, utilizando diferentes poblaciones, mayor cantidad de individuos y diferentes ensayos, con el fin de dilucidar las estrategias reproductivas.
- Realizar estudios complementarios de los cromosomas, utilizando las técnicas de FISH y de bandeo CMA/DAPI, así como también, estudiar los cromosomas de otras especies del mismo género, con el fin de dilucidar las relaciones filogenéticas entre ellas.

AGRADECIMIENTOS

A mi directora María Teresa Cosa y mi Co-director Gabriel Bernardello por guiarme y apoyarme. A Laura Stiefkens por su gran ayuda.

Al laboratorio de Morfología Vegetal del Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal por proveerme las instalaciones y el equipamiento.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas y a la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Córdoba por el financiamiento.

A mi familia, amigos y compañeras de laboratorio.

A Ale por tantos años de cariño y a Alma por llenarnos la vida de alegría.