

Morfología y anatomía de nectarios extraflorales en tres especies de Flacourtiaceae (Salicaceae *sensu lato*)

Cortadi, Adriana¹; Lourdes Pulido García²; Martha A. Gattuso¹; Susana J. Gattuso¹

¹ Cátedra de Botánica. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Suipacha 531, (S2002 LRK) Rosario.

² Departamento de Producción Vegetal y Tecnología Agraria. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad de Castilla La Mancha. Albacete, España.

Autor corresponsal: gattuso_bittel@yahoo.com.ar

► **Resumen** — Cortadi, Adriana; Lourdes Pulido García; Martha A. Gattuso; Susana J. Gattuso. 2014. "Morfología y anatomía de nectarios extraflorales en tres especies de Flacourtiaceae (Salicaceae *sensu lato*)". *Lilloa* 51 (2). En el presente trabajo se estudiaron caracteres morfológicos y anatómicos de los nectarios extraflorales (NEF) en tres especies de Flacourtiaceae: *Banara arguta* Briq., *Banara umbraticola* Arechav. y *Xylosma venosa* N.E. Br., presentes en la provincia de Santa Fe (Argentina). El objetivo del trabajo fue establecer diferencias morfológicas, anatómicas, y de distribución entre los NEF y evaluar su importancia como carácter taxonómico dentro de la familia. En las tres especies estudiadas se estableció la presencia de NEF en diferentes posiciones del limbo foliar (dientes, crenas, ápice foliar) mientras que en el ápice de los pecíolos, los NEF se encontraron solamente en *B. arguta* y en *X. venosa*. Anatómicamente los NEF son similares. Se presenta una clave que permite diferenciar a las especies

Palabras clave: anatomía, Flacourtiaceae, morfología, nectarios extraflorales.

► **Abstract** — Cortadi, Adriana; Lourdes Pulido García; Martha A. Gattuso; Susana J. Gattuso. 2014. "Morphology and anatomy of extrafloral nectaries in three species of Flacourtiaceae (Salicaceae *sensu lato*)". *Lilloa* 51 (2). Morphological and anatomical characters from extrafloral nectaries (EFNs) were studied in three species of Flacourtiaceae, i.e., *Banara arguta* Briq., *Banara umbraticola* Arechav. and *Xylosma venosa* N.E. Br., autochthonous of Santa Fe province (Argentina). The aim of the present work was to establish morphological and anatomical differences among EFNs as well as differences in their distribution. The importance of EFNs as taxonomic characters within the family was also evaluated. In the three species studied the presence of EFNs was established in different positions of the leaf lamina (teeth, crenas, leaf tips), while EFNs were found at the apex of the petioles only in *B. arguta* and *X. venosa*. EFNs are anatomically similar. A key to differentiate the species is presented.

Keywords: anatomy, extrafloral nectaries, Flacourtiaceae, morphology.

INTRODUCCIÓN

En la bibliografía se encuentran diferentes clasificaciones de nectarios extraflorales (NEF) para Angiospermas. En el presente trabajo utilizaremos la de Zimmermann (1932) quien los clasificó desde lo topográfico, morfológico y anatómico, reconociendo distintos tipos: «NEF elevados» aquellos que se sitúan por sobre el órgano en que se

insertan y «NEF planos», los que no sobresalen del órgano donde se encuentran, pudiendo estar la superficie secretora al mismo nivel, hundida o ligeramente elevada, pero sin formar una estructura distinta.

Existen numerosos trabajos referidos a la anatomía de los NEF en diferentes familias los cuales describen esas estructuras secretoras en variadas especies. (Frey-Wyssling, 1955; Elías, 1972; 1983; Bentley y Elías, 1983; Elías *et al.*, 1975; Fahn, 1988, 2000; González, 1996; González y Arbo, 2005;

González y Ocantos, 2006); Thadeo *et al.* 2003, 2004, 2005, 2008; Cardoso, 2010.

La familia Flacourtiaceae (Salicaceae *sensu lato*) se halla distribuida en regiones tropicales y subtropicales de América, África, Asia y Oceanía. Está representada en Argentina por 21 especies y 8 géneros con áreas disyuntas, la mayoría se encuentran en las provincias de Entre Ríos, Santa Fe, Chaco, Tucumán y Catamarca (Novara, 1993). En Santa Fe se encuentran tres especies: *Banara arguta* Briq., *Banara umbraticola* Archav. y *Xylosma venosa* N.E. Br., siendo el área de distribución los departamentos de General Obligado y Vera para el género *Banara* y para *Xylosma* se agregan los departamentos San Javier y La Capital (Pensiero y Gutiérrez, 2006).

Es una familia representada por árboles o arbustos de hojas simples, coriáceas, alternas, frecuentemente glanduloso crenadas o dentadas, con pecíolo los que muestran 2 glándulas redondeadas en relieve (Sleumer, 1953, Novara, 1993, Soloaga *et al.*, 2000). Bentley y Elías (1983) mencionan que es raro encontrar NEF en esta familia y citan la presencia de los mismos para *Paropsia obscura*, *Banara molli* e *Idesia polycarpa*.

Keeler (2008) elabora una lista mundial de plantas con nectarios extraflorales, en Flacourtiaceae (Salicaceae *sensu lato*) refiere al género *Banara* y a las especies *B. guianensis*, *B. ibamguensia*, *B. mexicana* y *B. mollis* y para *Xylosma* a *X. suluense*.

Dado que se ha encontrado escasa bibliografía referida a la morfo-anatomía de NEF para esta familia, el presente trabajo tiene como objetivos: (i) identificar la presencia de NEF en *Banara arguta*, *Banara umbraticola* y *Xylosma venosa*. (ii) establecer diferencias morfológicas, anatómicas y de distribución entre los NEF y (iii) evaluar su importancia como carácter taxonómico dentro de la familia.

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES ESTUDIADOS

Banara arguta.— ARGENTINA. Prov. Santa Fe, Dpto. Gral. Obligado, Pto. Ocampo, 10-

II-1938, *Ragonese* (SF 3232); *ibid.*, 13-II-1939, *Covas y Ragonese* (SF 3604); *ibid.*, 25-I-1941, *Covas y Ragonese* (SF 4675); *ibid.*, 17-XII-1980, *Pire* 720 (UNR 2934). Campo Isla Tacuarendí, 20-X-1979, *Franceschi* 331 (UNR 2363). Dpto. Vera, Loc. Santa Felicia, 27-II-2001, *Lusardi* 32 (UNR).

Banara umbraticola.— ARGENTINA. Prov. Santa Fe, Dpto. Gral. Obligado, a 5 km al N de Arazá, 15-XI-1983, *Stofella* 228 (UNR 5527); *ibid.*, *Prado* 505 (UNR 5490). Dpto. Vera, Laguna La Loca, 15-XI-1979, *Pire* 440 (UNR 2393); Cañada Ombú, 20-X-1979, *Lewis* 915 (UNR 2697); Loc. Ea. Las Aves, 13-I-1989, *Pire* 2644 (UNR 5170); Loc. Las Gamas, 26-II-2001, *Lusardi* 20 (UNR s/n°).

Xylosma venosa.— ARGENTINA. Prov. Santa Fe, Dpto. Gral. Obligado, Campo Isla Tacuarendí, 17-XII-1979, *Franceschi* 402 (UNR 2131); Loc. Florencia, 20-IV-1983, *Pire* 1287 (UNR 4751); Loc. Berna, 20-II-2001, *Lusardi* 23 (UNR s/n°).

Se trabajó con materiales de los herbarios UNR y SF y fresco, de las tres especies, fijado en F. A. A. (alcohol etílico 70°, ácido acético glacial, formaldehído, agua; 50:5:30:15). Los pecíolos y láminas foliares se incluyeron en parafina (Johansen, 1940), se cortaron transversal y longitudinalmente con micrótomos tipo Minot. La coloración empleada fue Safranina-Fast Green (Strittmatter, 1979); las láminas se diafanizaron según Strittmatter (1973). Los taninos se pusieron en evidencia con cloruro férrico y las drusas de oxalato de calcio se analizaron con luz polarizada.

Las fotomicrografías fueron tomadas con un microscopio Zeiss Axiolab, equipado con equipo fotográfico MC 80 y con un estereomicroscopio Nikon SM 2 U.

Las observaciones con Microscopio Laser Confocal de Barrido Invertido Nikon C₁ Japón, utilizando el programa Nikon EZ-C1 versión 3.70, se realizaron sobre material fresco, coloreado con naranja de acridina al 0,1%. Las muestras se excitaban con luz de 488 nm y 543 nm de un láser de argón. Se

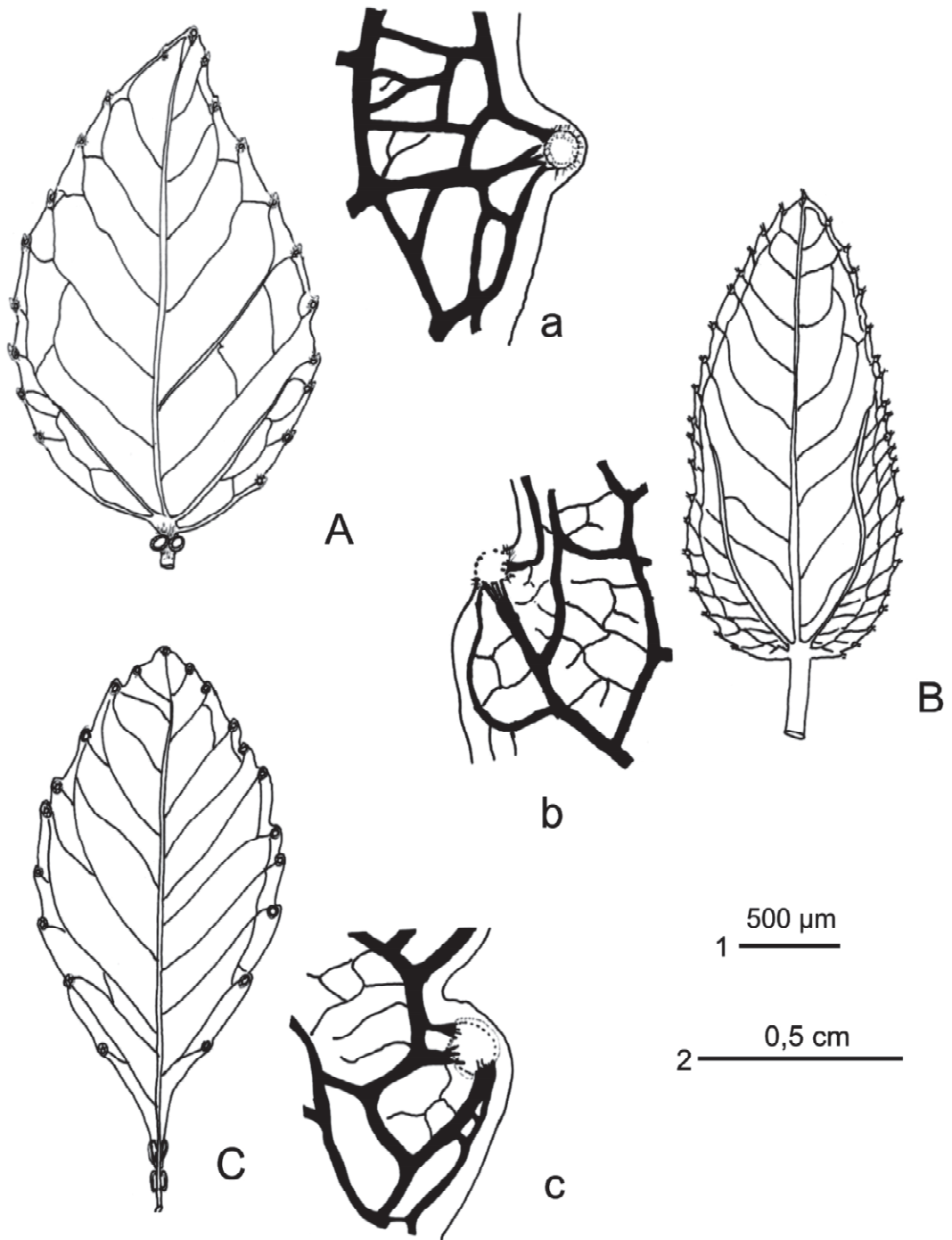


Fig. 1. Ubicación de los NEF en las hojas, vista desde la cara abaxial. A) NEF en el ápice del peciolo y marginales de *B. arguta*. B) NEF marginales de *B. umbraticola*. C) NEF en el ápice del peciolo y marginales de *X. venosa*. a, b y c: detalle de los NEF marginales en *B. arguta*, *B. umbraticola* y *X. venosa* respectivamente. Las escalas corresponden 1: A, B y C; 2: a, b y c.

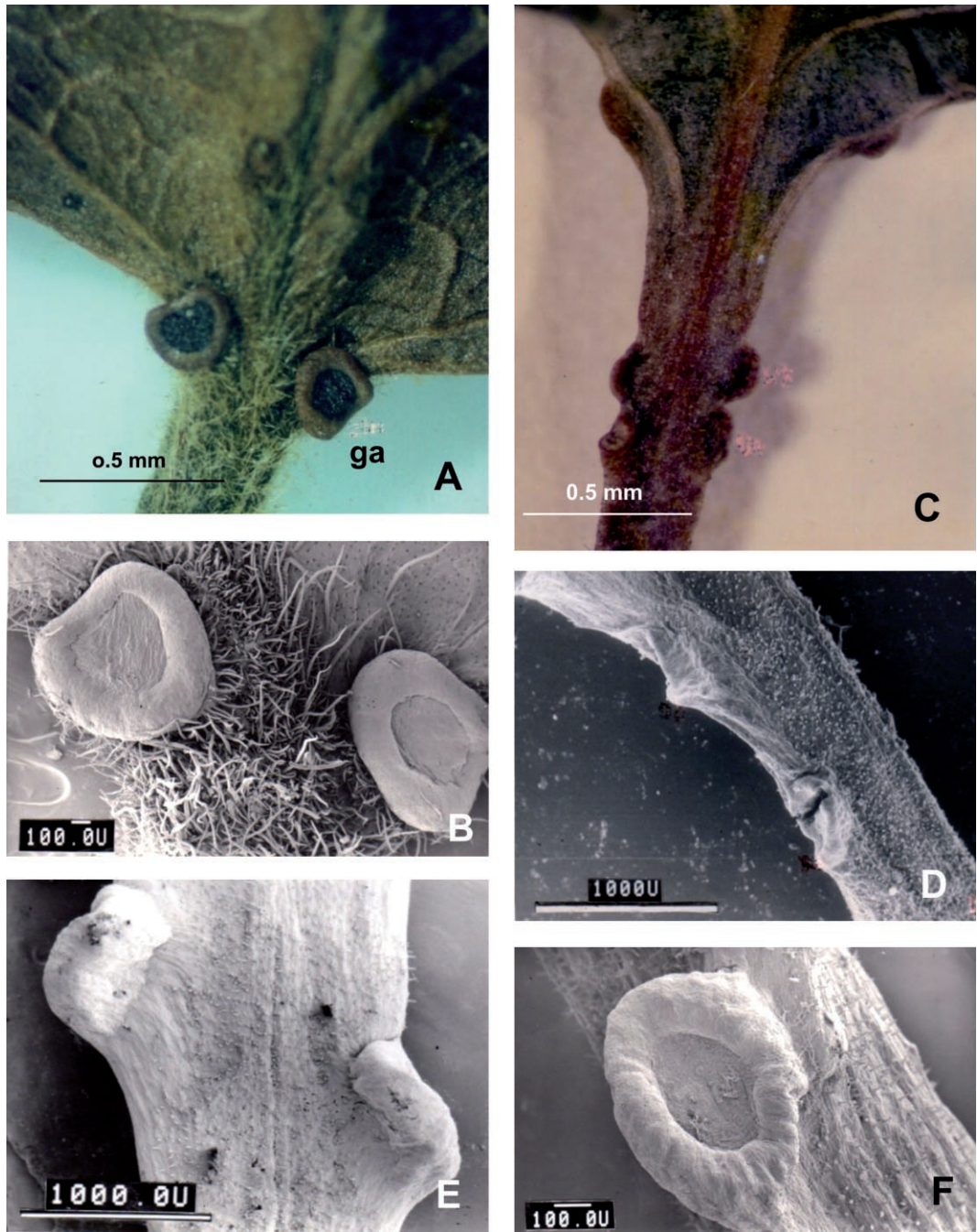


Fig. 2. Nectarios de los pecíolos. A y C, observados con lupa: A) en el ápice del pecíolo de *B. arguta*. C) *X. venosa*, dos en la base de la lámina decurrente y dos en el ápice del pecíolo, dispuestos lateralmente en *X. venosa*. B, D-F, observados con MEB: B) en el ápice del pecíolo de *B. arguta*; D-F) *X. venosa*; D, glándula partida, E-F, detalle de las glándulas.

trabajó con un Microscopio Laser Confocal de Barrido Invertido

Para las observaciones con Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) se procedió a deshidratar el material (limbo y pecíolo) en alcoholes ascendentes (O'Brien y McCully,

1981), luego se secó en punto crítico y posteriormente se lo cubrió con un baño de oro-paladio. Las fotografías se obtuvieron con un microscopio JEOL 35-CI del Centro Regional de Investigaciones Básicas de Bahía Blanca.

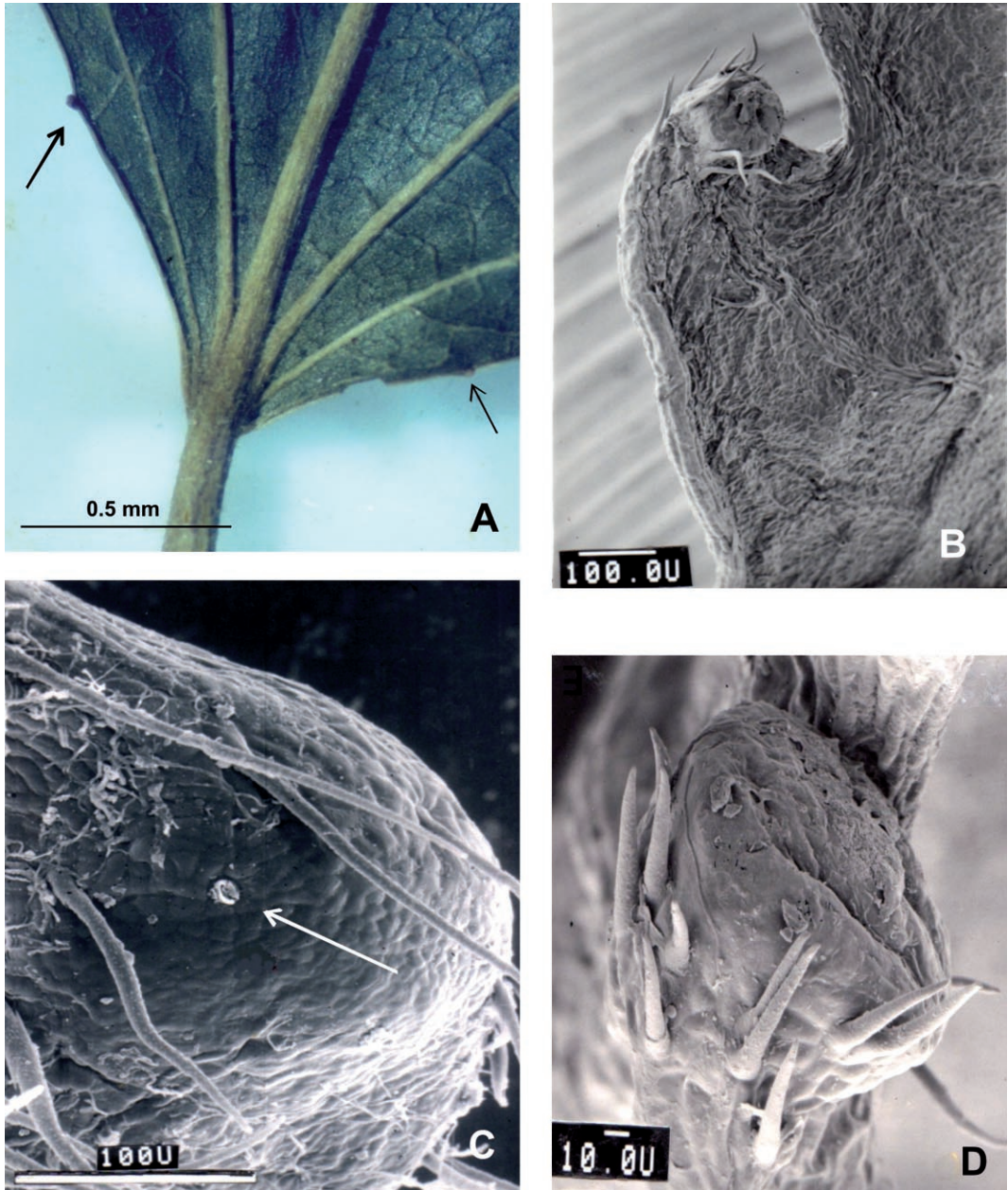


Fig. 3. Nectarios de las márgenes foliares. A-C) *B. umbraticola*; A, observado con lupa sólo presentes en el margen, ausentes en el pecíolo; B-D, observado con MEB en el extremo de un diente. D) *B. arguta*; en el diente desplazado sobre el cara abaxial de la lámina.

Los nectarios extraflorales fueron analizados considerando su localización peciolar y laminar; se midió su diámetro máximo en vista superficial con microscopio óptico, en hojas diafanizadas, en no menos de 5 glándulas de 3 ó más hojas, en un total de 15 individuos.

RESULTADOS

Ubicación de los nectarios peciolares.— En las especies estudiadas los nectarios, cuando están presentes, se ubican sobre la superficie abaxial de la hoja. En *B. arguta* se localizan en el ápice del pecíolo, de a pares, uno a

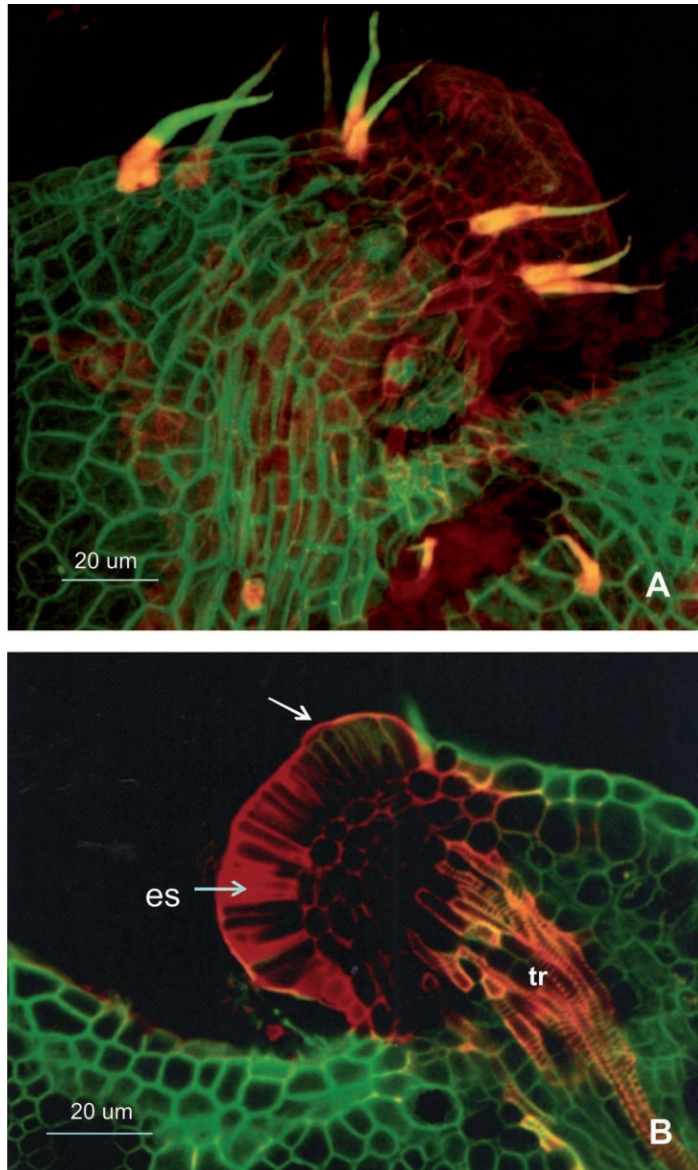


Fig. 4. Nectarios de los dientes foliares en *B. umbraticola* observados con Microscopio Confocal: A) NEF en vista dorsal, mostrando los pelos. B) NEF donde se observa el epitelio secretor con la cutícula desprendida (flecha) y traqueidas llegando al tejido glandular. es, epitelio secretor, tr, traqueidas.

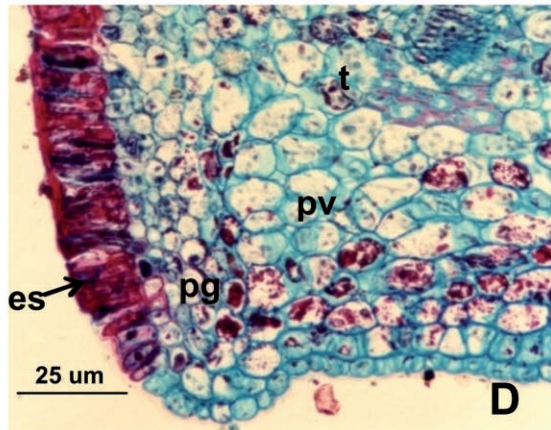
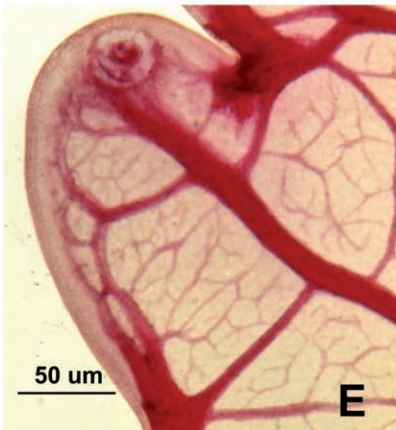
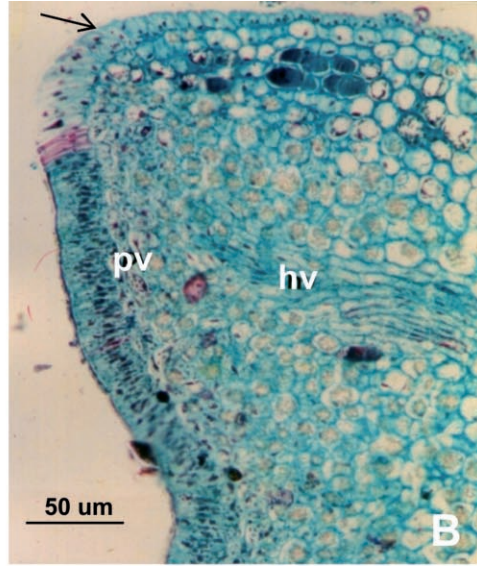
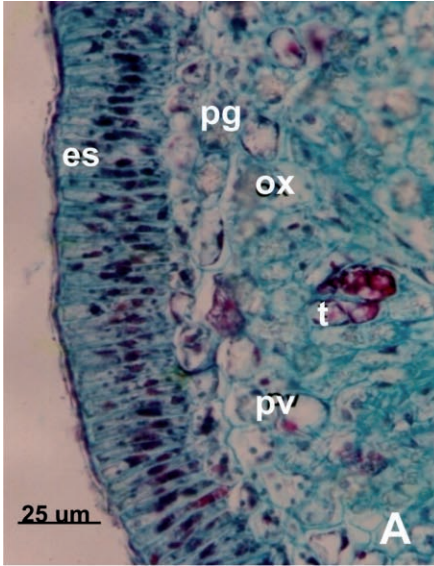


Fig. 5 [página anterior]. NEF en transcurso: *B. arguta*: A) mostrando, epidermis secretora (es), idioblastos con drusas de oxalato de calcio (ox) y con taninos (t), parénquima glandular (pg) y parénquima vacuolado (pv); B) similar a A, mostrando el haz vascular (hv) y el reborde de células cuadrangulares (flecha). C) *B. umbraticola*: diafanizado de un diente, mostrando la epidermis secretora (es) y los idioblastos con drusas de oxalato de calcio (ox). D-E) *X. venosa*: D) NEF del ápice del peciolo, mostrando la epidermis secretora (es), 3-4 hileras de células parénquima subepidérmico glandular (pg), parénquima vacuolado (pv), idioblastos con drusas de oxalato de calcio (ox) y de taninos (t) y reborde de células cuadrangulares (flecha); E) diafanizado de una crena, vista desde la cara abaxial de la lámina.

cada lado (Fig. 1A; Fig. 2A, 2B); en *X. venosa* se encuentran, dos en la base de la lámina decurrente, en contacto con dos ubicados en el ápice del peciolo, en posición lateral (Fig. 1C; Fig. 2C, 2E, 2F), *B. umbraticola* carece de ellos (Fig. 1B; Fig. 3A).

Ubicación de los nectarios marginales del limbo.— Teniendo en cuenta los márgenes y ápice de la lámina en *B. umbraticola* se ubican en el extremo de los dientes, orientados hacia la cara abaxial de la lámina (Fig. 1B, 1b; Fig. 3B, 3C; Fig. 5C), mientras que en las otras dos especies lo hacen sobre la superficie abaxial de la lámina, en cada diente en *B. arguta* (Fig. 1A, 1a; Fig. 3D) y en cada crena en *X. venosa* (Fig. 1C, 1c, Fig. 5E).

Caracteres morfológicos.— Los NEF peciolares y del limbo en *B. arguta* y *X. venosa* como así también los del limbo en *B. umbraticola*, pueden ser de contorno más o menos circular (Fig. 2A, 2B) o algo elípticos (Fig. 2D, 2E), la superficie secretora es plana o ligeramente cóncava (Fig. 2B, 2E), todos poseen un reborde marcado, de glabro (Fig. 2D, 2E) a piloso (Fig. 2B; Fig. 4A); miden entre 0,5 y 1 mm los del ápice del peciolo y de 0,1 a 0,2 mm de diámetro, los que se ubican en dientes y crenas, siendo más pequeños los que se encuentran cercanos al ápice.

Caracteres anatómicos comunes.— A pesar que los NEF del peciolo y de los márgenes difieren en cuanto a tamaño, anatómicamente son semejantes. Se caracterizan por presentar, en sección longitudinal, una epidermis secretora y un parénquima glandular. La

epidermis secretora, es uniestratificada, está constituida por células alargadas dispuestas en empalizada, de paredes delgadas, núcleo grande central, citoplasma denso muy vacuolado (Fig. 5A, 5B, 5C), las que se hallan cubiertas por una cutícula lisa y delgada, la que se observa elevada y separada de las células epidérmicas secretoras, cuando el nectario está activo (Fig. 4B). El parénquima subepidérmico es glandular, está constituido por 3-5 estratos de células de citoplasma denso y paredes delgadas hasta el que llegan los haces vasculares, constituidos por elementos traqueales anillados o helicados, (Fig. 4B, 5B, 5C) y llegan hasta 3-4 capas debajo de la epidermis secretora (Fig. 5B, 5C). En el límite con el parénquima clorofiliano se observa gran cantidad de cristales de oxalato de calcio en forma de drusas (Fig. 5A, 5C). El reborde está formado por células epidérmicas no secretoras de sección cuadrangular (Fig. 5B).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los NEF estudiados corresponden a la categoría de elevados (Zimmermann, 1932). Se ubican marcadamente elevados sobre la porción foliar que los sostiene, son cupuliformes, de superficie secretora ligeramente cóncava y reborde conspicuo.

La anatomía de los nectarios es similar en todos los casos estudiados, tanto para los nectarios del ápice del peciolo como los marginales, coincidiendo con lo observado por Elías (1972) quien considera a los NEF de *Pithecellobium macradenium* como órganos anatómicamente muy especializados, acordando también con Frey-Wyssling

(1955) quien en su trabajo sobre la evolución de los nectarios foliares sugiere que los nectarios más primitivos consisten de áreas glandulares invadidas por el floema de los haces vasculares próximos.

La epidermis secretora se encuentra ligeramente elevada con respecto a la epidermis foliar, es uniestratificada coincidiendo con lo observado por Thadeo *et al.* (2003, 2004, 2008) para *Prockia crucis*, en la misma no se observaron divisiones periclinales, coincidiendo con los mencionado para varias especies en otras familias (Elías *et al.*, 1975; González, 1996; González y Arbo, 2005; González y Ocanto, 2006).

B. arguta y *B. umbraticola* poseen pelos en el reborde del NEF, mientras que *X. venosa* no los posee. Cuando en esta especie los nectarios están inactivos se fracturan.

Las tres especies estudiadas presentan idioblastos con drusas de oxalato de calcio en la zona entre el parénquima glandular y el clorofiliano como así también taninos.

En todos los casos los NEF son del tipo vascularizado (Bentley y Elías, 1983), ya que los últimos elementos anillados del xilema, al igual que los últimos elementos del floema, llegan hasta 3-4 capas del parénquima glandular.

En la siguiente clave dicotómica se indican las características diferenciales:

- 1 Glándulas presentes en el ápice del pecíolo. Glándulas marginales sobre los dientes y crenas y ápice de la lámina, desplazadas sobre la cara abaxial de la lámina 2
- 2 Glándulas en el ápice del pecíolo, circulares, cupuliformes, pilosas, con superficie secretora plana a ligeramente cóncava ubicadas en la cara abaxial del pecíolo *Banara arguta*
- 2' Glándulas algo elípticas, glabras, con superficie secretora plana a ligeramente cóncava, dos de las cuales decurrentes en la base de la lámina, en contacto con otras dos orientadas lateralmente en el ápice del pecíolo *Xylosma venosa*
- 1' Glándulas ausentes en el ápice del pecíolo. Glándulas marginales en los dientes y ápice de la lámina, no desplazadas hacia cara abaxial *Banara umbraticola*

De las tres especies estudiadas, *Banara arguta*, *Banara umbraticola* y *Xylosma venosa*, solo *B. umbraticola* carece de NEF en el ápice del pecíolo. Todas presentan en el limbo NEF marginales y apicales, en *B. umbraticola* se ubican en el extremo de cada diente y en el ápice de la lámina, mientras que en *B. arguta* y en *X. venosa* se encuentran en cada diente y crena en el envés de la lámina.

Este trabajo brinda una serie de caracteres morfológicos y anatómicos que pueden aportar datos, que contribuirán a un futuro análisis filogenético, cuando se concluyan los estudios de las restantes especies presente en Argentina.

BIBLIOGRAFÍA

- Bentley B., Elías T. 1983. The biology of nectaries. Columbia University Press, New York, pp. 174-203.
- Cardoso P. R. 2010. Estruturas secretoras em órgãos vegetativos aéreos de *Passiflora alata* Curtis e *P. edulis* Sims (Passifloraceae) com ênfase na localizacão *in situ* dos compostos bioativos. Tese de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Elías T. S. 1972. Morphology and anatomy of foliar nectaries of *Pithecellobium macradenium* (Leguminosae). Botanical Gazette 133: 38-42.
- Elías T. S., Rozich W. R., Newcombe L. 1975. The foliar and floral nectarines of *Turnera ulmifolia* L. American Journal of Botany 62: 570-576.
- Elías T. S. 1983. Extrafloral nectaries: Their structure and distribution. In Bentley B. and Elías T. (editores) Biology of Nectaries. New York: Columbia University Press, pp.174-203.
- Fahn A. 1988. Secretory tissues in plants. Transley Review 14. New Phytologist 108: 229-257.
- Fahn A. 2000. Structure and function of secretory cells. Advances in Botanical Research 31: 37-75.
- Frey-Wyssling A. 1955. The phloem supply to the nectarines. Acta Botánica Neerlandica 4: 358-369.
- González A. M. 1996. Nectarios extraflorales en *Turnera*, serie Canaligeræe y Leiocarpæe. Bonplandia 9: 129-143.
- González A. M., Arbo M. M. 2005. Anatomía de algunas especies de Turneraceae. Acta Botanica Venezuelica 28: 369-394.

- González A. M., Ocanto M. N. 2006. Nectarios extraflorales en *Piriqueta* y *Turnera* (Turneraceae). Boletín Sociedad Argentina de Botánica 41: 269-284.
- Johansen D. A. 1940. Plant microtechnique. Mc Graw-Hill, New York. pp. 126-154.
- Keeler K. H. 2008. World list of plants with extrafloral nectaries. <http://www.biosci-labs.unl.edu/Emeriti/keeler/extrafloral/Cover.htm>.
- Novara L. 1993. *Flacourtiaceae*. Flora del Valle de Lerma. Aportes Botánicos de Salta. Ser. Flora. Vol. 2. Nº 8. U.N. Salta. pp.1-13.
- O'Brian T. P., Mc Culley M. E. 1981. The study of plant structure, principles and selected methods. Termocarphi Pty, Ltd. Melbourne, Australia. p. 321.
- Pensiero J. F., Gutiérrez H. 2006. Flora vascular de la provincia de Santa Fe. Ediciones UNL. Argentina. p. 265.
- Soloaga M., Cottier E., Spichige R. 2000. *Flacourtiaceae*. Flora del Paraguay 32.Ed. 60. Conservatoire et Jardin Botaniques de la Ville de Geneve and Missouri Botanical Garden. pp. 7-10; 44-46.
- Sleumer H. 1953. Las Flacourtiáceas Argentinas. Lilloa 26:5-56.
- Strittmatter C. 1973. Nueva técnica de diafanización. Boletín Sociedad Argentina de Botánica 15: 126-129.
- Strittmatter C. 1979. Modificación de una técnica de coloración de Safranina Fast.green. Boletín Sociedad Argentina de Botánica 18: 121-122.
- Thadeo M., Meira R., Azevedo A., Araújo J. 2003. Morfo-anatomía foliar de *Prockia cruci* P. Browne ex L. (Flacourtiaceae), com enfase nas estruturas secretoras. Resúmen del 54 Congreso Nacional de Botânica. Balém. Brasil.
- Thadeo M., Meira R., Azevedo A., Araujo J. 2004. Anatomia foliar de quatro espécies do gênero *Casearia* Jacq. (Flacourtiaceae). En: Resumos do 55º Congresso Nacional de Botânica.
- Thadeo M., Meira R., Azevedo A., Araújo J. 2005. Caracterização histoquímica da lâmina foliar de *Casearia sylvestris* Sw. (Flacourtiaceae), com ênfase nos ductos secretores. En: I Simpósio Brasileiro de Biologia Celular Vegetal, Teresópolis. Anais do I Simpósio Brasileiro de Biologia Celular Vegetal. Brasília: Sociedade Brasileira de Biologia Celular. pp. 57-58.
- Thadeo M., Cassino M., Vitarelli N., Azevedo A., Araújo J., Valente V., Meira R. 2008. Anatomical and histochemical characterization of extrafloral nectarines of *Prockia cruci* (Salicaceae). American Journal of Botany 95: 1515-1522.
- Zimmermann J. G. 1932. Über die Extrafloralen Nektarien der Angiospermen. Beihefte zum botanischen Zentralblatt 49 A: 99-196.