

Ziziphus mistol (Rhamnaceae): Morfo-anatomía y Arquitectura Foliar

Marta N. COLARES y Ana M. ARAMBARRI*

Cátedra de Morfología Vegetal, Departamento de Ciencias Biológicas,
Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, Calle 60 y 119
C.C. 31 - 1900 La Plata, Argentina

RESUMEN. *Ziziphus mistol* Griseb. es un árbol característico de la provincia biogeográfica chaqueña. Tradicionalmente la raíz y la corteza se han empleado como desengrasante y para teñir de color castaño oscuro, con la madera se prepara carbón de leña e implementos de labranza y las hojas se emplean mezcladas con la yerba mate, cuando ésta es insuficiente. Los frutos tienen propiedades laxantes, pectorales y hepatoprotectoras y son consumidos frescos, deshidratados y en alimentos elaborados: “arropé”, “patay” y “bolanchao”. Esta investigación permitió la caracterización foliar de *Ziziphus mistol* contribuyendo a la macro y microidentificación de la especie. Las muestras fueron procesadas mediante microtécnicas estándares para microscopía óptica y electrónica. Los principales caracteres diagnóstico detectados fueron: (1) margen foliar con dientes glandulosos; (2) venación marginal ojalada; (3) areolación bien desarrollada; (4) lámina anfistomática, excepcionalmente hipostomática; (5) estomas anomocíticos, paracíticos, anomostaurocíticos y parahexacíticos-dipolares; (6) valor promedio del índice estomático en la cara adaxial 2,2% y en la abaxial 6,7%; (7) valor promedio del índice de empalizada 6,4%; (8) tricomas eglandulares distribuidos en ambas epidermis; (9) mesofilo dorsiventral con tendencia a indiferenciado en empalizada; (10) presencia de cavidades mucilaginosas, parénquima perivascular tanífero y drusas. La estructura foliar combina caracteres mesomórficos y xeromórficos que son considerados en un contexto ecológico.

SUMMARY. “*Ziziphus mistol* (Rhamnaceae): Leaf Morphology, Anatomy and Architecture”. *Ziziphus mistol* grows in the chaqueña biogeographic province. The root and cork are traditionally used to wash clothes and produce brown color for dye; the wood is used to make charcoal and some field work implements; leaves had been used as substitute of yerba mate. The fruits which have purgative, pectoral and hepatic protector properties are eaten fresh, deshidrated, and also in elaborated foods, e.g. “arropé”, “patay”, and “bolanchao”. This investigation has aimed to carry out the morfo-anatomical diagnosis of *Ziziphus mistol* leaf, contributing to macro and microscopic identification of this species. The samples were prepared according to standard light and scanning microtechniques. The main diagnostic traits were: (1) leaf margin glandular toothed; (2) looped marginal venation; (3) areoles well developed; (4) amphistomatic leaf blade, exceptionally hypostomatic; (5) anomocytic, paracytic, anomostaurocytic and parahexacytic-dipolar stomata types; (6) medial value of adaxial stomatal index 2,2% and abaxial 6,7%; (7) medial value of palisade index 6,4%; (8) non-glandular trichomes distributed on both surfaces; (9) dorsiventral mesophyll trends to homogeneous leaf in which palisade and spongy tissue are not distinguishable from one another; (10) presence of mucilaginous cavities, perivascular tanniferous cells and druses. Leaf structure combines mesomorphic and xeromorphic traits, on that, some ecological considerations are offered.

INTRODUCCIÓN

En la Argentina, el género *Ziziphus* Mill. (Rhamnaceae), está representado por dos especies, de las cuales el “mistol” (*Ziziphus mistol* Griseb.) es un árbol espinoso, de 4-10(-15) m alt., con fuste corto y tortuoso, las ramas jóve-

nes son pubescentes y zigzagueantes, las hojas simples, flores pequeñas y fruto drupáceo, de 1,5 cm diám., pardo rojizo a la madurez con pulpa pastosa y dulce ¹⁻³. El mistol es planta melífera y frutal nativo de las provincias del centro-norte de la Argentina ^{4,5}. Es un árbol ca-

PALABRAS CLAVE: Anatomía, Hoja, Plantas medicinales, Rhamnaceae, *Ziziphus mistol*.

KEY WORDS: Anatomy, Leaf, Medicinal plants, Rhamnaceae, *Ziziphus mistol*.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: E-mail: botgral@ceres.agro.unlp.edu.ar; anaramba@yahoo.com.ar

racterístico de la eco-región de Chaco Seco donde forma parte del estrato arbóreo de los bosques de quebracho colorado y quebracho blanco, área que está sufriendo el avance de los desmontes sometiendo a esta especie al peligro de desaparición^{2,4,6-8}. Desde tiempos remotos se han utilizado la raíz y la corteza como sucedáneo del jabón, y para extraer un colorante que proporciona un color castaño oscuro (café)⁹⁻¹¹. En Formosa se lo conoce como “jabón de palo” y además se obtiene un colorante rosado del cocimiento de las hojas y amarillento de la madera⁴. Si bien es considerada una especie de importancia industrial secundaria, posee aplicación en la elaboración de carbón vegetal y leña para combustible^{3,11}. La corteza en maceración y también las ramas foliosas han sido empleadas para el tratamiento de la caspa. Con las cenizas del incinerado de los tallos se prepara una infusión con propiedades eméticas; con la decocción de las hojas mezcladas con las de *Capparis tweediana* Eichler y *C. speciosa* Griseb. se prepara un té antidisentérico y se ha usado para combatir el “empacho”¹². Los tobas, comen los frutos y un “pan” semejante al bolachao santiagueño¹³ y cuando hay escasez de yerba mate, le agregan hojas de mistol desecadas y molidas sin modificar el sabor⁵. Los frutos son consumidos frescos o secos al sol (pasa de mistol) o hervidos¹¹, la infusión de los mismos tiene propiedades como pectoral y hepático, en especial para el tratamiento de cólicos biliares, también sería un buen antídoto contra las mordeduras de serpientes y las picaduras de insectos venenosos^{4,9,10,12,14,15}. Los Tobas y Wichis beben el jugo liberado por la pulpa de los frutos remojados (añapear) para combatir la constipación y para reducir su efecto laxante lo mezclan con la harina de los frutos del “algarrobo” (*Prosopis* sp.) o “tusca” (*Acacia aroma* Gill.)⁵. En Santiago del Estero son empleados para preparar “bolanchao”, una golosina muy apreciada¹⁶. Con los frutos molidos se elabora “patay” y fermentados con la adición de agua se elabora “aloja” y a partir del destilado de ésta se obtiene el aguardiente de mistol¹¹. Con los frutos también se elabora “arope”, un tipo de dulce casero¹⁷. Desde el punto de vista químico, en el género *Ziziphus* se han identificado alcaloides, saponinas, triterpenos, antraquinonas y esteroides¹⁸. En los análisis químicos practicados sobre los órganos del mistol se ha determinado: en la raíz la presencia de saponinas, taninos, peroxidases, almidón y proteínas; en la corteza de saponinas; en las ramas hojosas, antraquinonas y vestigios

de saponinas; en las hojas, flavonoides y en los frutos almidón y azúcar¹⁴. Por un lado, el Mistol es un árbol adaptado a ambientes secos, áridos y semiáridos con diversos aprovechamientos como abrigo, alimento y medicinal, que está sometido al peligro de desaparición por la actividad antrópica. Por otra parte, si bien existen trabajos sistemáticos y florísticos de Ramnáceas nativas^{6,7,11,19-21}, no se han encontrado estudios de la anatomía de la hoja del mistol. Los caracteres micromorfológicos foliares son reconocidos como de alto valor diagnóstico en la identificación de las especies^{22,23}. Por lo tanto, el estudio de los mismos en el mistol puede contribuir a mejorar su conocimiento y por ende a su conservación. El objetivo es establecer caracteres foliares con valor diagnóstico que faciliten su identificación macro y micromorfológica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ziziphus mistol Griseb. (*Z. oblongifolius* S. Moore; *Z. weberbaueri* Pilg.)⁶, es conocido popularmente bajo los nombres “azufaito”, “baié”, “juasy’y”, “mistol”, “mistol cuaresmilla”, “naalá”, “nahalá”, “nausá”, “sacha mistol” y “yuyuví”^{13,24}. Para el desarrollo del trabajo se empleó material fresco de un ejemplar cultivado en el Jardín Botánico y Arboretum “C. Spegazzini” de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata (UNLP), provincia de Buenos Aires, el cual luego de herborizado se depositó en el herbario (LPAG). Para las repeticiones se usaron muestras de ejemplares herborizados coleccionados en distintas provincias, los que se encuentran depositados en el herbario (LP), del Museo de Ciencias Naturales de La Plata.

Material examinado

Ziziphus mistol Griseb. ARGENTINA. Buenos Aires. La Plata, 5-V-2007, *Arambarri & Colares* 272 (LPAG). Catamarca. *Capital*, 13-X-1973, *Dimitri* 10644 (LPAG). Chaco austral. *Tapenagá*, XI-1940, *Rodrigo* 2375 (LP). Córdoba. *Yacanto*, I-1927, sin datos (LP 026955). Entre Ríos. *Paraná*, 2-XI-1962, *Burkart, Troncoso & Bacigalupo* 23734 (LP). Formosa. *Ciudad de Formosa*, XI-1953, *Marchionni s.n.* (LP). Jujuy. *Santa Bárbara*, 8-XI-1974, *Cabrera, Deginiani, Gaioti, Kiesling, Zardini & Zuloaga* 25736 (LP). San Luis. *Bajo de los Vélez*, 9-II-1942, *Báez s. n.* (LP). Salta. *La Viña*, 5-XI-1994, *Katinas & Ibarlegui* 152 (LP). Santiago del Estero. Beltrán, 12-XII-1946 *Maldonado s.n.* (LP 528).

Microscopía óptica

Se emplearon hojas en completo estado de

desarrollo. La exomorfolología foliar fue examinada con un microscopio estereoscópico Wild M8. Para el estudio de la anatomía, las hojas se hidrataron en estufa a 30-35 °C durante 24-48 h²⁵. La totalidad del material se guardó en formalina aceto-alcohólica (F.A.A.). Los estudios epidérmicos fueron hechos sobre ambas caras de la lámina, en la parte media del semilimbo y sobre ambos lados de la vena media, empleando las hojas transparentes obtenidas aplicando la técnica de diafanización²⁶. Para establecer el tipo de vascularización y distribución de los estomas y tricomas se analizó la totalidad de ambas caras de la lámina. Las estructuras del pecíolo y lámina se estudiaron en cortes transversales realizados a mano alzada en la parte media de cada uno. Sobre el pecíolo también se practicaron cortes longitudinales. Las secciones logradas fueron decoloradas con hipoclorito de sodio al 50% y lavadas para seguir dos caminos: (1) una parte de las secciones decoloradas se montaron en gelatina-glicerina incolora; (2) otra parte de las secciones se colorearon con verde de iodo y carmín alumbre o con safranina O en solución alcohólica al 80% para luego montarlas en gelatina-glicerina.

En el análisis de la epidermis vista en superficie (VS), los cortes transversales (CT), corte longitudinal del pecíolo y la vascularización, se empleó un microscopio óptico Leitz SM Lux. En el recuento de las células epidérmicas, estomas y tricomas aquellos ubicados en el borde del área de observación y con menos de la mitad dentro del área, no fueron considerados. Los resultados fueron expresados por unidad de área foliar (mm²). El índice estomático fue calculado como [número de estomas / (número de estomas + número de células epidérmicas) x 100] de Salisbury²⁷. El índice de empalizada que expresa la relación numérica que existe entre una célula epidérmica y las células en empalizada que se encuentran por debajo de ella, fue calculado como (número de células en empalizada / cuatro células epidérmicas) Zorning & Weiss²⁸. Las medidas de los estomas (longitud x latitud) y longitud de los tricomas (tomados al azar) se obtuvieron en la parte media del semilimbo, haciendo uso de un microscopio Nikon equipado con ocular micrométrico. Las medidas son producto de no menos de 20 repeticiones. Los resultados se presentan en la Tabla 1. La descripción de la vascularización se realizó siguiendo a Hickey²⁹. La terminología empleada en las descripciones se corresponde con Metcalfe & Chalk^{23,30}. Las imágenes fueron obtenidas con micros-

copio óptico Gemalux equipado con una cámara color PAL CCD, capturadas y digitalizadas por medio del software Photo Express 1.0.

Microscopía electrónica de barrido

Porciones de 1 mm de pecíolo y lámina foliar fueron deshidratadas en alcohol etílico absoluto y secadas al aire. Las muestras montadas sobre un soporte metálico fueron cubiertas con una fina capa conductora de oro-paladio. Se registraron imágenes digitalizadas de las estructuras del pecíolo, lámina y cristales. La determinación de la naturaleza mineral de los cristales se logró con el uso de un microscopio electrónico de barrido Philips 505 equipado con un analizador multicanal EDAX que generó un espectro de rayos X característico del elemento, el que fue trazado con el sistema gráfico Princeton.

Ensayos fitoquímicos

Se corroboró la presencia de taninos, saponinas y mucílagos. Para ello se trituraron hojas de mistol y se obtuvo una solución acuosa. Sobre una parte de la misma, se determinaron los supuestos taninos con el agregado de solución acuosa de cloruro férrico al 10%, luego se comprobó la presencia de los taninos por precipitación con gelatina al 1%. Para las saponinas, a otra parte de la solución acuosa de las hojas se le agregó agua hirviendo, se agitó enérgicamente y dejó en reposo 15-20 min y una tercera parte fue usada para determinar los mucílagos, practicando las reacciones de precipitación con alcohol absoluto y coloración con azul de anilina^{25,31,32}.

RESULTADOS

Exomorfolología foliar

Hoja simple peciolada con disposición alterna sobre braquiblastos. Lámina de (1,5-) 2-4(-6) cm long. x 0,5-3 cm lat.; elíptica, oval-elíptica hasta oval oblonga, base aguda a subcordada, ápice redondeado o emarginado, margen minutamente aserrado, hasta ligeramente dentado, dientes glandulosos. Lámina recorrida por tres venas principales impresas en el haz y prominentes en el envés, pubescente en ambas caras, discolora, subcoriácea. Pecíolo de 3-6 mm long, redondeado y pubescente (Fig. 1).

Anatomía

Arquitectura foliar. El estudio de la vascularización dio por resultado la presencia del tipo de venación acródroma basal perfecta. Las venas primarias que son tres, de las cuales la

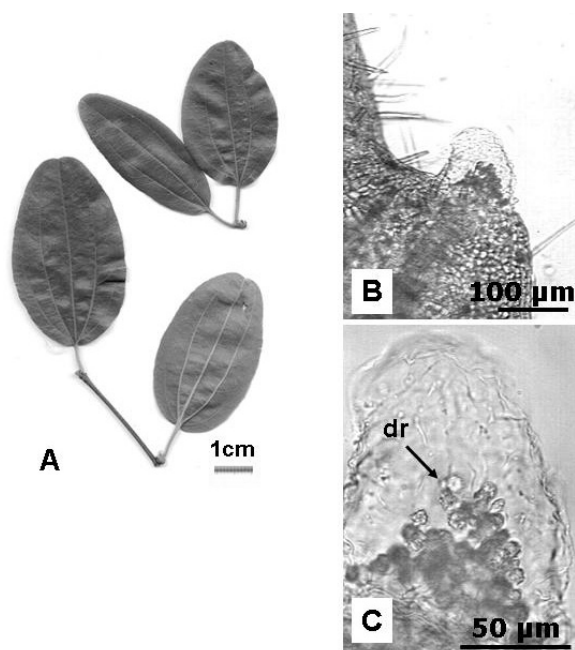


Figura 1. *Ziziphus mistol* Griseb. Exomorfología de la hoja y vista microscópica de los dientes glandulosos del margen foliar. **A**, polimorfismo foliar; **B**, diente marginal; **C**, detalle del contenido de drusas (**dr**) en cada diente marginal.

medial es recta y las dos laterales levemente curvadas, convergen hacia el ápice de la lámina. Sobre cada una de las venas primarias hay 5-10 pares de venas secundarias, moderadamente divergentes hacia el ápice. Las venas secundarias exmediales de las venas primarias laterales se unen a secundarias superadyacentes en ángulos rectos formando arcos broquidódromos. La venación terciaria es reticulada y la cuaternaria está orientada al azar. La venación marginal es ojalada y la areolación está bien desarrollada (Fig. 2).

Epidermis (VS). La *epidermis adaxial* presenta células poligonales con las paredes anticlinales rectas a levemente curvilíneas (Fig. 3A). Los *estomas* de longitud y latitud promedio (23,50 x 15,00 µm), están distribuidos en toda la superficie con orientación variada. La densidad estomática promedio varía entre 7,5 y 318,2 estomas/mm². El *índice estomático* promedio varía entre 0,3 y 4,6%, con un valor promedio de las diez muestras de 2,2%. El *índice de empalizada* tiene un valor promedio para las diez muestras de 6,4% (Fig. 3B). El *indumento* está formado por tricomas eglandulares, que cuando presentes, se encuentran distribuidos en toda la superficie aunque predominan sobre las venas. La densidad de tricomas promedio varía entre 0 y

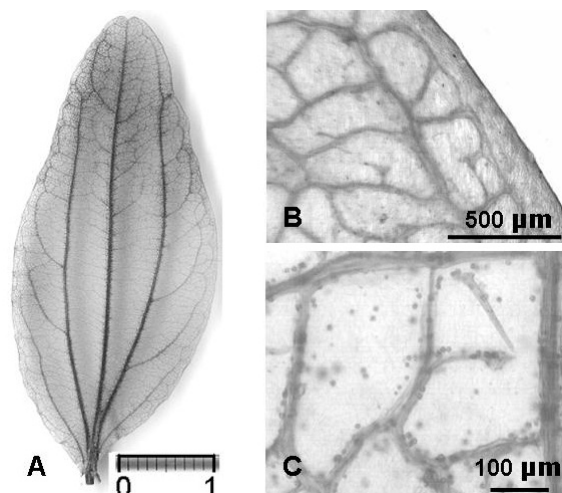


Figura 2. *Ziziphus mistol* Griseb. Fotomicrografía de la hoja diafanizada y detalles. **A**, hoja completa, mostrando la venación acródroma basal perfecta con tres venas principales y las secundarias formando arcos broquidódromos; **B**, venación marginal ojalada; **C**, aréolas.

76,4 con un valor medio para las diez muestras de 26 tricomas/mm². El tamaño promedio varía entre 107,5 y 272 µm con un valor promedio para las diez muestras de 162,8 µm. En la *epidermis abaxial* las células son poligonales, menores que las de la epidermis adaxial y con las paredes anticlinales curvilíneas (Fig. 3C). Los *estomas* de longitud y latitud promedio de (23,00 x 16,00 µm), están distribuidos uniformemente sobre toda la superficie con orientación variada. La densidad estomática promedio varía entre 371,2 y 719,7 estomas/mm². El *índice estomático* promedio varía entre 4,8% y 8,0% con un valor promedio de las diez muestras de 6,7%. El *indumento* está formado por tricomas eglandulares distribuidos en la totalidad de la superficie predominando sobre las venas. La densidad promedio de tricomas varía entre 1,8 y 115,7 con un valor promedio de las diez muestras de (63,2) tricomas/mm². El tamaño promedio de los tricomas varía entre 162,4 y 296,0 µm con valor promedio de las diez muestras de 218,1 µm (Tabla 1).

Estomas. Se identificaron cuatro tipos de estomas: anomocíticos, anomoestaurocíticos, parahexacíticos-dipolares y paracíticos. Los *anomocíticos* están rodeados de células epidérmicas no diferenciadas de las restantes; los *paracíticos* presentan células anexas cuyo eje longitudinal es paralelo al de las células oclusivas (Fig. 3C, a, p); los *anomoestaurocíticos* están rodeados por

| Provincias | Buenos Aires | | | Catamarca | | | Chaco | | | Córdoba | | | Entre Ríos | | |
|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----|-----|----------------------------|-----|-----|
| | adx | abx | abx | adx | abx | abx | adx | abx | abx | adx | abx | abx | adx | abx | abx |
| Células epidérmicas por mm ² | 4227-4485 (4356,0) | 4030-6757 (5977,0) | 8424-8939 (8601,8) | 8121-8818 (8469,7) | 3924-4651 (4287,9) | 5257-5561 (5409,1) | 5333-5970 (5651,5) | 8833-9727 (9280,3) | 6394-6667 (6530,3) | 8757-8803 (8780,3) | | | | | |
| Estomas por mm ² | 0-15 (7,5) | 364-576 (479,5) | 106-197 (151,5) | 409-454 (431,8) | 121-151 (136,4) | 348-364 (371,2) | 61-106 (83,3) | 500-530 (515,1) | 288-348 (318,2) | 651-788 (719,7) | | | | | |
| Estomas longitud (µm) | 20-30 (25,2) | 20-27 (24,9) | 20-25 (22,6) | 20-25 (22,6) | 25-30 (26,9) | 20-30 (26,4) | 20-25 (22,7) | 20-25 (24,0) | 20-25 (20,8) | 15-25 (20,7) | | | | | |
| Estomas latitud (µm) | 15-20 (18,2) | 15-20 (16,7) | 15-20 (17,5) | 15-22 (18,2) | 10-20 (14,9) | 15-20 (16,3) | 10-20 (14,5) | 15-20 (16,2) | 10-15 (11,5) | 15-20 (15,9) | | | | | |
| Tricommas longitud (µm) | 90-440 (254,0) | 60-620 (296,0) | 100-600 (272,0) | 80-640 (246,5) | 0 | 140-240 (172,0) | 60-160 (107,5) | 100-340 (212,8) | 100-440 (232,0) | 80-240 (165,0) | | | | | |
| Tricommas por mm ² | 0 - 30 (2,4) | 0 - 76 (25,5) | 0 - 91 (30,3) | 0 - 136 (48,5) | 0 | 0 - 15 (1,8) | 15-91 (46,1) | 30-136 (83,8) | 0 - 15 (3,0) | 0-45 (7,9) | | | | | |
| Índice estomático (%) | 0,3-0,3 (0,3) | 7,0-8,1 (7,4) | 1,2-2,1 (1,7) | 4,7-4,9 (4,8) | 2,8-3,4 (3,1) | 6,2-6,2 (6,2) | 1,1-1,7 (1,4) | 5,0-5,5 (5,3) | 4,3-4,9 (4,6) | 6,9-8,2 (7,6) | | | | | |
| Índice de empalizada (%) | 5,0-10,2 (7,3) | | 2,5-3,7 (3,2) | | 4,0-9,0 (6,7) | | 4,7-8,0 (6,3) | | 5,7-9,7 (7,0) | | | | | | |
| Provincias | Formosa | | | Jujuy | | | San Luis | | | Salta | | | Santiago del Estero | | |
| Células epidérmicas por mm ² | 4076-4167 (4121,2) | 6697-7833 (7265,1) | 4954-5561 (5257,6) | 6621-6924 (6772,7) | 8106-8151 (8128,5) | 9454-9954 (9704,0) | 4621-5197 (4909,1) | 5000-5606 (5303,0) | 3106-4288 (3696,9) | 7409-7818 (7613,6) | | | | | |
| Estomas por mm ² | 15-61 (37,9) | 500-515 (507,6) | 61-76 (68,2) | 485-530 (507,6) | 227-242 (234,5) | 530-803 (666,5) | 136-151 (143,9) | 439-485 (462,1) | 76-106 (90,9) | 500-530 (515,2) | | | | | |
| Estomas longitud (µm) | 20-25 (23,1) | 20-25 (21,4) | 20-25 (23,0) | 15-30 (22,1) | 15-22 (19,6) | 20-25 (24,0) | 20-25 (22,3) | 17,50-25 (19,5) | 15-25 (21,7) | 20-25 (22,8) | | | | | |
| Estomas latitud (µm) | 10-17 (12,9) | 15-17 (15,6) | 10-20 (12,9) | 10-20 (14,4) | 10-15 (12,6) | 15-20 (18,0) | 10-15 (12,7) | 10-16 (13,6) | 10-15 (12,4) | 14-20 (16,4) | | | | | |
| Tricommas longitud (µm) | 0 | 90-540 (229,2) | 100-320 (196,0) | 80-360 (223,6) | 80-200 (136,4) | 80-300 (162,4) | 80-300 (182,9) | 60-600 (236,8) | 100-280 (147,3) | 80-360 (237,2) | | | | | |
| Tricommas por mm ² | 0 - 45 (20,5) | 30-136 (75) | 15-151 (76,4) | 30-181 (115,7) | 0 - 106 (51,5) | 61-212 (127,9) | 0 - 61 (24,2) | 30-121 (79,4) | 0 - 30 (6,1) | 30-121 (66,7) | | | | | |
| Índice estomático (%) | 0,4-1,5 (0,9) | 6,1-7,1 (6,6) | 1,2-1,3 (1,2) | 6,8-7,1 (6,9) | 2,7-2,9 (2,8) | 5,0-7,8 (6,4) | 2,5-3,2 (2,8) | 7,9-8,1 (8,0) | 1,7-3,3 (2,5) | 6,0-6,7 (6,3) | | | | | |
| Índice de empalizada (%) | 6,5-9,0 (8,1) | | 5,7-9,0 (7,1) | | 4,2-7,2 (5,5) | | 5,2-8,2 (6,8) | | 4,8-5,8 (5,2) | | | | | | |

Tabla 1. Características micromorfológicas de la hoja de *Ziziphus mistol* Griseb. Ref.: adx = adaxial; abx = abaxial.

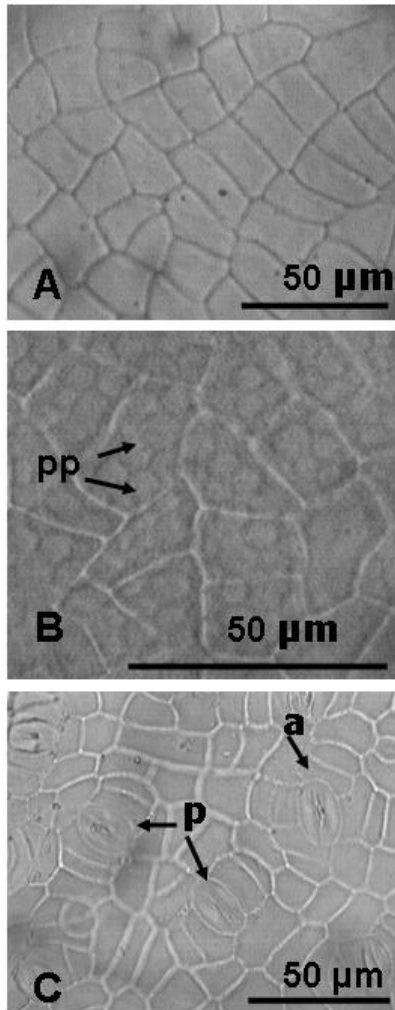


Figura 3. *Ziziphus mistol* Griseb. Fotomicrografías de epidermis vista en superficie. **A**, epidermis adaxial, paredes anticlinales ligeramente curvilíneas; **B**, parénquima en empalizada (**pp**) debajo de cada célula epidérmica; **C**, epidermis abaxial, paredes anticlinales curvilíneas, estomas anomocíticos (**a**) y paracíticos (**p**).

células anexas diferenciadas de las restantes células epidérmicas por la coloración, dispuestas de manera irregular y algunas de estas células poseen sus paredes anticlinales en ángulo recto a las células oclusivas (Fig. 4A); el *parahexácitico-dipolar* es un tetracítico con cuatro células anexas: dos ubicadas en los polos y dos laterales, al que en este caso, se adiciona otro par de células anexas en posición lateral (Fig. 4B).

Tricomas. Los tricomas son eglandulares, simples, uniseriados, con 1-10 células, predominando los unicelulares, más o menos rígidos y con la superficie lisa; en su base presentan una roseta de células altamente cutinizadas y coloreables y aquellos ubicados en las áreas intervernosas están rodeados por 6-9 células epidérmicas

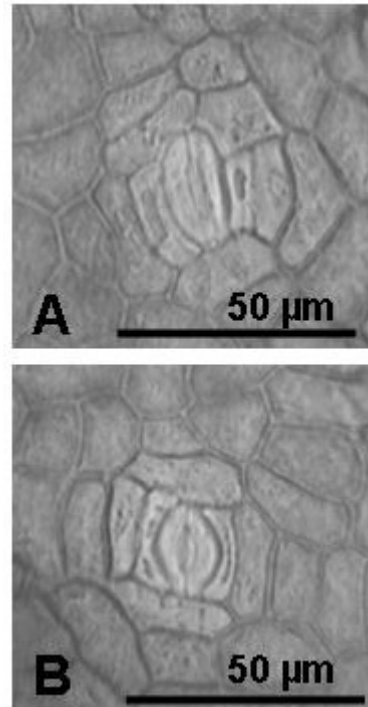


Figura 4. *Ziziphus mistol* Griseb. Fotomicrografías de tipos de estomas. **A**, estoma anomocítico; **B**, estoma parahexácitico dipolar.

cas basales dispuestas de manera radiada. Ocasionalmente se encontraron tricomas flexuosos.

Lámina (CT). La epidermis adaxial uniestratificada, está formada por células rectangulares con cutícula de 1-5 µm. En algunas muestras se encuentra una hipodermis discontinua, formada por extensiones de la vaina parenquimática. Los estomas se ubican a nivel con respecto a las restantes células epidérmicas. La epidermis abaxial presenta células cuadrangulares menores que las de la cara adaxial y los estomas se hallan ubicados a nivel o ligeramente hundidos con respecto a las restantes células epidérmicas. La vena media es convexa a plano-convexa en la cara adaxial. El sistema vascular está formado por un haz vascular en forma de arco con escasas fibras floemáticas y xilemáticas. Los radios parenquimáticos del floema están ocupados por pequeñas drusas. En el parénquima de la vena media se encuentran idioblastos taníferos, células cristalíferas conteniendo drusas y cavidades mucilagíferas. Hacia las epidermis hay colénquima angular, el cual está formado por 2-5(-7) estratos celulares hacia la cara adaxial y 2-4 estratos hacia la cara abaxial (Fig. 5A). El mesofilo es dorsiventral con 1-2(-3) capas de células alargadas, irregulares formando el parénquima en empalizada adaxial; la capa externa es compacta y las internas más o menos laxas pasando gra-

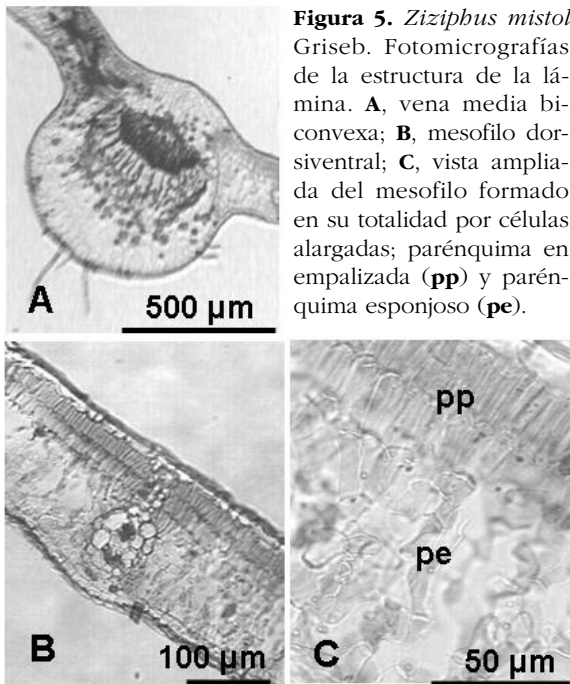


Figura 5. *Ziziphus mistol* Griseb. Fotomicrografías de la estructura de la lámina. **A**, vena media biconvexa; **B**, mesofilo dorsiventral; **C**, vista ampliada del mesofilo formado en su totalidad por células alargadas; parénquima en empalizada (**pp**) y parénquima esponjoso (**pe**).

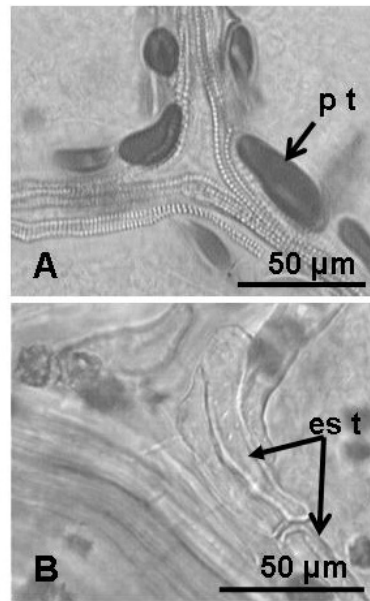


Figura 6. *Ziziphus mistol* Griseb. Fotomicrografías del parénquima asociado a las venas. **A**, parénquima tanífero (**pt**); **B**, esclereidas taníferas (**es t**).

dualmente a formar las 6-8 capas de parénquima esponjoso abaxial (Figs. 5B, 5C). En algunas muestras el mesofilo aparece subindiferenciado con escasa variación entre la compacidad de las capas ubicadas hacia la cara adaxial y la laxitud de las ubicadas hacia la cara abaxial. En el parénquima del mesofilo hay drusas comparativamente mayores que las del floema. Cada haz vascular está rodeado por células parenquimáticas taníferas (Fig. 6A) que frecuentemente se transforman en esclereidas taníferas (Fig. 6B).

Pecíolo (CT). La sección es de contorno semicircular a redondeado. La epidermis es uniestratificada y está formada por células cuadrangulares con cutícula e indumento similar al descrito para la lámina. La corteza está formada por 6-7 estratos celulares de parénquima colenquimatoso discontinuo e igual número de estratos celulares de parénquima interno. El clorénquima está limitado a cuatro pequeños sectores adaxiales. En la corteza se visualizan drusas, células taníferas y cavidades mucilaginíferas. En el parénquima medular se encuentra el tejido vascular formando un arco de xilema adaxial y floema abaxial, a veces acompañado por algunas fibras floemáticas. Las drusas en la corteza están distribuidas al azar, mientras que son comparativamente pequeñas y están ordenadas de manera radiada en el parénquima floemático. Las cavidades mucilaginíferas, de origen esquizógeno,

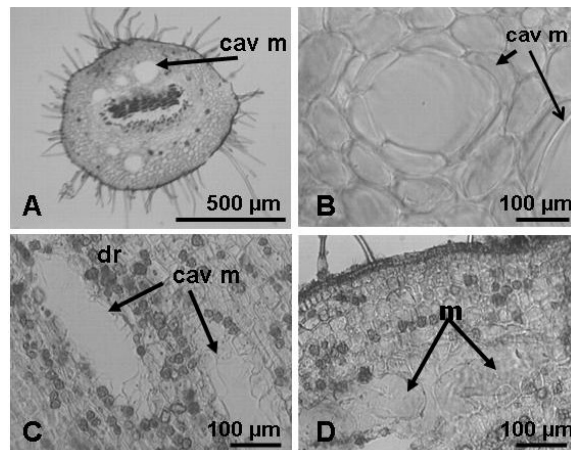


Figura 7. *Ziziphus mistol* Griseb. Fotomicrografías del pecíolo y cavidades mucilaginíferas. **A**, pecíolo en corte transversal con cavidades mucilaginíferas (**cav m**); **B**, cavidad esquizógena mucilaginífera (**cav m**) en corte transversal; **C**, vista de drusas (**dr**) y cavidades (**cav m**) en corte longitudinal; **D**, vista del mucílago (**m**) en las cavidades.

están rodeadas por un epitelio uniestrato. Estas cavidades son alargadas en sentido longitudinal (Figs. 7A-7D).

Cristales

El microanálisis con MEB de los cristales presentes en el parénquima foliar mostró la presencia únicamente del catión calcio formando la sal del ácido oxálico (Figs. 8A, 8B).

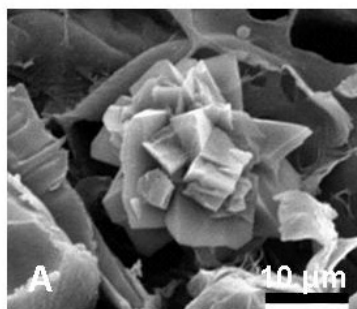
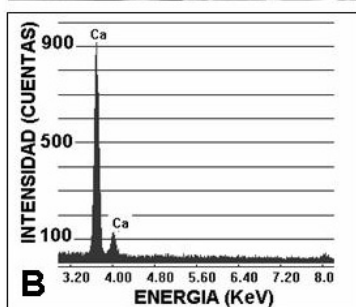


Figura 8. *Ziziphus mistol* Griseb. Fotomicrografía con microscopio electrónico de barrido. **A**, drusa; **B**, trazo del espectro de rayos X para el catión calcio.



Compuestos químicos

Las reacciones tendientes a determinar en las hojas la presencia de taninos, saponinas y mucílagos fueron en su totalidad positivas. Los taninos dieron coloración con tan solo una gota de cloruro férrico y precipitaron con la gelatina. Las saponinas formaron una columna de no menos de 4 cm de espuma y los mucílagos precipitación visible con alcohol absoluto y coloración con azul de anilina. Estos resultados pusieron de manifiesto la elevada proporción existente de los dos primeros tipos de sustancias.

DISCUSION

Las características exomorfológicas fueron coincidentes con las descripciones previas^{1-4,7,11}. Si bien se ha citado que ocasionalmente se pueden presentar hojas con cinco venas principales esto no fue hallado en ninguno de los ejemplares estudiados.

Arquitectura foliar

El sistema vascular descrito de acuerdo con Hickey²⁹ se corresponde con el palmado convergente con venación intercostal ascendente³³. *Ziziphus mistol* mostró similitud en la arquitectura foliar con los géneros *Discaria* Hook., *Retanilla* (DC.) Brongn. y *Talguenea* Miers. ex Endl., en especial con *Discaria trinervis* (Hook. & Arn.) Reiche³⁴ y *Retanilla trinervia* (Gill. & Hook) Hook. & Arn.²² y *Talguenea quinquenervia* (Gill. et Hook.) Johnst.³⁵, mientras que se observó menos similitud con los géneros *Adolphia* Meisn., *Colletia* Comm. ex Juss.³⁶ y *Condalia megacarpa* Cast.³⁷.

Epidermis

Las paredes anticlinales de las células epidérmicas son curvilíneas, característica meso-xeromórfica, propia de las especies que crecen en ambientes relativamente secos o soleados. En la cutícula no se observaron ornamentaciones cuticulares ni ceras epicuticulares, correspondiendo a una estructura mesomórfica³⁸. La presencia de células epidérmicas mucilagíniferas ha sido escasa a nula, variabilidad que ya fue registrada en otros géneros de la familia^{22,36}. Junto a la epidermis adaxial se observó una hipodermis discontinua. La presencia de hipodermis ha sido previamente notada en el género *Discaria*³⁴. Sin embargo, no resultó un carácter constante, ya que no se observó ningún vestigio de ésta en la muestra que crecía en lugar sombreado y húmedo. Esto coincide con la supuesta importancia que tiene la existencia de una o varias capas hipodérmicas como estructura de defensa frente a condiciones climáticas extremas o adversas³⁹.

Estomas

Se encontraron estomas de los tipos anomocítico y paracítico previamente citados para la familia^{30,35,36}. En este trabajo se adicionan dos nuevos tipos de estomas: anomoestaurocíticos y parahexacíticos-dipolares. En cuanto a la distribución de los estomas en la epidermis es al azar, no observándose la orientación transversal al eje longitudinal de la lámina mencionada como carácter xeromorfo³⁶. Las hojas fueron anfistomáticas, pero la muestra del Jardín Botánico y Arboretum "C. Spegazzini", donde el árbol se encuentra en un ambiente húmedo y sombreado, presentó solo unos pocos estomas en la proximidad de la vena media. Es conocido que la presencia de estomas en la cara adaxial es un carácter que varía con las condiciones ambientales donde la planta crece⁴⁰. La presencia de estomas en la cara adaxial es considerada una adaptación higromórfica o de hojas de sombra³⁸. Los resultados aquí presentados son contradictorios en este aspecto. Sin embargo, hay quienes atribuyen la variación de la densidad estomática a diferencias en la concentración de CO₂ en la atmósfera⁴¹ o a la humedad ambiental⁴². Se puede hipotetizar, que un factor importante es la luminosidad, pero también se sabe que otros factores por ejemplo: (i) la posición de la hoja en la planta y (ii) la edad o más aún el grado de madurez de la hoja afectan la presencia y densidad de estomas^{40,43}. Posiblemente los factores ambientales interactúen sobre este carácter incluyendo la diferente reacción que cada especie tiene frente a los mismos factores ambientales.

Índices

Los índices estomático y de empalizada han mostrado ser caracteres estables, en especial el índice de empalizada. Los resultados muestran que el último es un carácter diagnóstico de interés, concordando con las observaciones de Zorning & Weiss²⁸ y más recientemente Spegazzini⁴⁴ y Gatelli⁴⁵.

Tricomas

Se hallaron tricomas eglandulares con estructura constante, distribuidos sobre ambas epidermis, formando un indumento de densidad variable. Esto es concurrente con lo expresado por Metcalfe & Chalk²³ sobre estructura y densidad de los tricomas. Ocasionalmente se observaron tricomas sinuosos, los cuales previamente fueron citados para los géneros *Discaria*³⁴ y *Retanilla*²².

Mesofilo

Es dorsiventral con tendencia a indiferenciado de tipo empalizada coincidente con la estructura subisolateral ilustrada para *Retanilla patagonica* (Speg.) Tort.²². Este tipo de mesofilo sería una adaptación xeromórfica a hábitats xerofíticos en relación con la altitud (m.s.n.m.) o condiciones de baja humedad ambiental o insuficiencia de agua en el suelo⁴⁶. En el mesofilo de la hoja y en la corteza del pecíolo se encuentran gran cantidad de idioblastos taníferos y cristalíferos que ya han sido hallados dentro de la familia^{22,34}. En *Ziziphus mistol*, se observó que en ejemplares que estuvieron creciendo en clima seco o de altura, las células del parénquima asociado a las venas donde se encuentran los taninos se transforman en esclereidas taníferas. Los taninos actúan como un protector efectivo contra la radiación ultravioleta³⁹, y tanto su presencia como la de esclerénquima serían caracteres xeromórficos que ya han sido observados en otras especies de ambientes xerofíticos⁴⁷. En los parénquimas de la hoja se estableció que los llamados receptáculos mucilaginosos³⁰ son largas cavidades mucilaginosas.

Composición química

Entre los compuestos químicos estudiados se pudo determinar la presencia de mucílagos y de abundantes taninos y saponinas en las hojas. Se tienen datos sobre la presencia de este último compuesto en las hojas del mistol¹².

CONCLUSION

La hoja de *Ziziphus mistol* tiene la lámina con dientes glandulosos en el margen, la venación es acródroma basal con tres venas principales, venación marginal ojalada y areolación

bien desarrollada. La epidermis es uniestratificada con cutícula lisa. Los estomas con un tamaño promedio de 23-24 x 15-16 micrómetros son anomocíticos, paracíticos, anomoestaurocíticos y parahexacíticos-dipolares; se encuentran distribuidos al azar, siendo más abundantes en la cara abaxial que en la adaxial. Consideradas las 10 muestras analizadas, el valor de índice estomático promedio en la cara adaxial es de 2,2% y en la cara abaxial de 6,7%. El índice de empalizada promedio tiene un valor de 6,4%. Los tricomas son eglandulares, uni-pluricelulares y están distribuidos en ambas epidermis. El mesofilo es dorsiventral con tendencia a indiferenciado en empalizada. En la vena media y en el pecíolo se encuentran largas cavidades mucilaginosas y en la totalidad del parénquima foliar hay drusas, las cuales son notablemente pequeñas y se encuentran ordenadas y radialmente distribuidas en el parénquima del floema. Las saponinas y taninos se encuentran en abundancia. Estos últimos en la vaina parenquimática de los haces vasculares, cuyas células frecuentemente están esclerificadas. Los caracteres histológicos resultan útiles en el análisis microscópico de esta planta de múltiples aplicaciones. La especie presenta en sus hojas una mezcla de rasgos mesomórficos y xeromórficos variando la microestructura foliar con el hábitat de crecimiento. Esto implica gran capacidad de adaptación a diferentes ambientes, coincidentemente con la amplitud de su distribución geográfica.

Agradecimientos. Las autoras expresan su reconocimiento a los Curadores de los herbarios LP y LPAG y al personal del servicio de microscopía electrónica del Centro de Investigación y Desarrollo en Procesos Catalíticos (CINDECA-CONICET).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tortosa, R.D. (2005) "*Rhamnaceae*", en "Flora ilustrada de Entre Ríos" (A. Burkart, dir., continuada por N. Bacigalupo), Colec. Cientif. INTA 4: 242-50.
2. Digilio, A.P. & P.R. Legname (1966) *Opera Lilloana* 15: 73 (fig. 73).
3. Peña-Chocarro, M.C., J. De Egea Juvinel, M. Vera, H. Maturro & S. Knapp (2006) "*Guía de árboles y arbustos del Chaco Húmedo*" (ed. J. De Egea y M. Peña-Chocarro). The Natural History Museum, Guyra, Paraguay, Fundación Moisés Bertoni y Fundación Hábitat y Desarrollo Asunción, Paraguay.
4. Demaio, P., U.O. Karlin & M. Medina (2002) "*Árboles nativos del centro de Argentina*". L.O.L.A. (Literature of Latin America), Buenos Aires.

5. Arenas, P. (2003) "*Etnografía y alimentación entre los Toba-Ñachilamo'le'ek y Wichí-lbuku'tas del Chaco Central (Argentina)*" (P. Arenas, ed.). Buenos Aires: Latín Gráfica S.R.L.
6. Tortosa, R.D. (1999) "*Rhamnaceae*", en "Catálogo de las plantas vasculares de la República Argentina II" (F.O. Zuloaga & O. Morrone, eds.), Saint Louis: Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 74, págs. 1269.
7. Tortosa, R.D. (1995) "*Rhamnaceae*", en Flora Fanerogámica Argentina (A.T. Hunziker, dir.) Córdoba: Proflora C.O.N.I.C.E.T., Fasc. 9.
8. del Valle Perea, M., G. Pedraza & J. del Valle Luceros (2007) "*Relevamiento de flora arbórea autóctona en la provincia de Catamarca*". Consejo Federal de Inversiones, Ciudad Autónoma de Buenos Aires y Gobierno de la provincia de Catamarca.
9. Hieronymus, G. (1882) "*Plantae diaphoricae florum argentinae*". 1. Ed. Guillermo Kraft, Buenos Aires, págs. 63-404.
10. Amorín, J.L. (1988) *Revista de Inf. Fcia. y Bioq.* (INFYB), Buenos Aires, Nº 703.
11. Tortosa, R.D. & L.J. Novara (1992) "*Rhamnaceae*", en "Flora del valle de Lerma" (L.J. Novara, dir.), Aportes botánicos de Salta, ser. *Flora* 1(13): 1-16.
12. Alonso J. & C. Desmarchelier (2005) "*Plantas medicinales autóctonas de la Argentina*". Ed. L.O.L.A. (Literature of Latin America), Buenos Aires.
13. Martínez Crovetto, R. (1964) *Bonplandia* 1: 279-333.
14. Dominguez, J.A. (1928) "*Contribuciones a la materia médica argentina*". Ed. Peuser, Buenos Aires.
15. Toursarkissian A. (1980) "*Plantas medicinales de la Argentina*". Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
16. Di Lullo, O. (1944) "*El folklore de Santiago del Estero. Medicina y alimentación*". 1. Santiago del Estero.
17. Haene, E. & G. Aparicio (2004) "*100 árboles argentinos*". Ed. Albatros, Buenos Aires.
18. Barboza, G.E., J.J. Cantero, C.O. Núñez & L. Ariza Espinar (eds.) (2006) "*Flora medicinal de la provincia de Córdoba (Argentina)*". Museo Botánico de Córdoba. Gráficamente ediciones, Córdoba.
19. Tourn, G.M. (1985) *Bol. Soc. Argent. Bot.* 24: 71-9.
20. Tourn, G.M., D. Medán & R.D. Tortosa (1989) *Kurtziana* 20: 101-11.
21. Tourn, G.M., R.D. Tortosa & A. Bártoli (1990) *Bol. Soc. Argent. Bot.* 26: 215-20.
22. Mantese, A. & D. Medán (1992) *Darwiniana* 31: 253-59.
23. Metcalfe, C.R. & L. Chalk (1979) "*Anatomy of the Dicotyledons*", 2nd ed., Clarendon Press, Oxford, Vol. 1.
24. De la Peña, M.R. & J.F. Pensiero (2004) "*Plantas argentinas. Catálogo de nombres vulgares*". L.O.L.A., (Literature of Latin America), Buenos Aires.
25. D'Ambrogio de Argüeso A. (1986) "*Manual de técnicas en histología vegetal*". Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
26. Dizeo de Strittmatter, C. (1973) *Bol. Soc. Argent. Bot.* 15: 126-9
27. Salisbury, E. (1927) *Phil. Trans. R. Soc. Lond., Ser B*, 216: 1-65.
28. Zorning, H. & G. Weiss (1925) *Beitrage Zur Anatomie des Laubblattes offzineller und Pharmazeutisch gebräuchlicher*. Compositern-Drogen
29. Hickey, L.J. (1974) *Bol. Soc. Argent. Bot.* 16: 1-26.
30. Metcalfe, C.R. & L. Chalk (1950) "*Anatomy of the Dicotyledons*", Clarendon Press, Oxford, Vol. 1.
31. Johansen, D.A. (1940) "*Plant microtechnique*". Mc Graw-Hill Book Co., New York
32. Pujiula, J. (1957) "*Citología práctica - Técnica y observación microscópica*". Ed. Tip. Cat. Casals, Barcelona.
33. Klucking, E.P. (1995) "*Leaf venation patterns. The classification of leaf venation patterns*" Vol. 7. J. Cramer. Berlin. Stuttgart, págs. 96, plates 120.
34. Medan, D. (1986) *Kurtziana* 18: 133-51.
35. Medán, D. & A. Mantese (1989) *Kurtziana* 20: 95-100.
36. Mantese, A. & D. Medán (1993) *Darwiniana* 32: 91-7.
37. Tortosa, R.D. & D. Medan (1979) *Kurtziana* 12-13: 83-99.
38. Roth, I. (1984) "*Stratification of tropical forests as seen in leaf structure*". Junk Publ., The Hague, Boston, Lancaster.
39. Roth, I. (1995) "*Leaf structure: montane regions of Venezuela with an excursion into Argentina*". (I. Roth, ed.). Encyclop. Plt. Anat., Gerbrüder Borntraeger, Berlin.
40. Stace, C.A. (1965) *Bull. Br. Mus. (Nat. Hist.) Bot.* 4: 1-78.
41. Woodward, F.I. & F.A. Bazzaz (1988) *J. Exp. Bot.* 39: 1771-8.
42. Bravo, S.J. & A.Grau (1992) *Lilloa* 38: 39-45.
43. Ashby, E. (1948) *New Phytol.* 47: 177-95.
44. Spegazzini, E.D. (1999) "*Análisis foliar, por micrografía analítica cuali-cuantitativa de los adulterantes cogenéricos argentinos de Ilex paraguariensis St. Hill. var. paraguariensis - Aquifoliaceae- n.v. yerba mate*". Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata.
45. Gatelli, E.B.R. (2007) "*Sistemática, morfología y ensayos biológicos de Celtis iguanaea (Jacquin) Sargent, Celtidaceae. Planta autóctona de la selva marginal de Punta Lara*". Tesis de Maestría en plantas medicinales, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata.
46. Bernardello, L.M. (1982) *Bol. Soc. Argent. Bot.* 21: 153-85.
47. Perrotta, V.G, S.A. Stenglein & A.M. Arambarri (2007) *Kurtziana* 33: 17-25.