

ANATOMÍA DE LA LÁMINA FOLIAR DE ESPECIES DE *Lasiocephalus* WILLD. EX SCHLTDL. (ASTERACEAE) Y SUS IMPLICACIONES TAXONÓMICAS

Kelvin Silva-Moure, Pedro Torrecilla y Marlene Lapp

Instituto de Botánica Agrícola, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, Maracay, estado Aragua. ksilvamoure@gmail.com

COMPENDIO

Lasiocephalus Willd. ex Schldtl. (Asteraceae-Senecioneae), presenta diversidad de sus formas de crecimiento, que va desde trepadoras hasta subarbustos de hojas estrechas y subcoriáceas, las cuales guardan una cercana relación con el tipo de ambiente y el hábitat al que pertenecen. La delimitación subgenérica históricamente ha estado en función del biotipo; sin embargo, actualmente se han propuesto caracteres morfológicos reproductivos y moleculares para definirla. Se compararon características anatómicas de la lámina foliar entre especies representativas de estos biotipos, para definir la delimitación infragénica y así complementar las nuevas propuestas morfológicas. El estudio se realizó tomando en consideración a las especies de *Lasiocephalus* presentes en Venezuela, *L. cuencanus* (Hieron.) Cuatrec., *L. doryphyllus* (Cuatrec.) Cuatrec., *L. longipenicillatus* (Sch. Bip. ex Sandwith) Cuatrec., *L. otophorus* (Wedd.) Cuatrec. (presencia dudosa) y *L. patens* (Kunth) Cuatrec. El material vegetal se obtuvo de muestras colectada en campo o de fragmentos de material herborizado tomados de exsiccatas, de las cuales se prepararon láminas con secciones transversales y macerados de la parte media de la lámina foliar, posteriormente fueron observadas, analizadas y fotografiadas. Se evidenció el valor taxonómico para la delimitación subgenérica del carácter ubicación de los estomas (hojas anfiestomáticas o hipoestomáticas). Entre especies se resaltan los caracteres relacionados a los tricomas (número, tamaño y grosor relativo de sus células, además la forma de la ubicada basalmente), el número de capas de parénquima en empalizada y la relación entre este tejido y el parénquima esponjoso. Se presenta una clave artificial basada en caracteres anatómicos foliares para la determinación de especies.

PALABRAS CLAVE

Anatomía laminar comparada, *Lasiocephalus*, Senecioneae, Venezuela.

LEAF-BLADE ANATOMY OF SPECIES OF *Lasiocephalus* WILLD. EX SCHLTDL. (ASTERACEAE) AND TAXONOMIC IMPLICATIONS

ABSTRACT

Lasiocephalus Willd. ex Schldl. (Asteraceae-Senecioneae) present an diversity of growth forms, ranging from climbing to subcoriaceous subshrubs of narrow leaves, which all have a close relationship with the type of environment and habitat to which they belong. The subgeneric delimitation has historically been dependent on the biotype, however, currently reproductive morphological and molecular characters are proposed to define it. Anatomical characteristics of the leaf blade compared between species representative species of these biotypes, to define the infrageneric delimitation and so complement the new morphological proposals. The study was performed taking into consideration *Lasiocephalus* species present in Venezuela, *L. cuencanus* (Hieron.) Cuatrec., *L. doryphyllus* (Cuatrec.) Cuatrec., *L. longipenicillatus* (Sch. Bip. ex Sandwith) Cuatrec., *L. otophorus* (Wedd.) Cuatrec. (doubtful presence) and *L. patens* (Kunth) Cuatrec. The plant material was obtained from specimens collected in the field or fragments taken from herbarium exsiccatae, of which slides of cross sections and material macerated from the middle portion of the blade were prepared, subsequently observed, analyzed, and photographed. The taxonomic value for the subgeneric delimitation with the location of the stomata (amphistomatic or hipostomatic leaves) was verified. Interspecies relation is highlighted by trichome (number, size and relative thickness of the cells, in addition the shape of the basal cell), and the number of layers of palisade parenchyma and its relationship to the spongy parenchyma tissue. An artificial key for species determination is presented.

KEY WORDS

Comparative anatomy, *Lasiocephalus*, Senecioneae, Venezuela.

INTRODUCCIÓN

Lasiocephalus Willd. ex Schldl. está incluida en Asteraceae dentro de la tribu Senecioneae y con una circunscripción mundial de 2 a 3 (*sensu* Nordenstam 1978) hasta aproximadamente 25 especies (*sensu* Cuatrecasas 1978), distribuidas a lo largo de la cordillera de los Andes desde Venezuela hasta Bolivia y Perú, con una mayor diversidad en Ecuador, país que posee gran número de representantes endémicos. En Venezuela, Badillo *et al.* (2008), reconocen cinco especies distribuidas en los estados que incluyen ecosistemas andinos: *L. cuencanus* (Hieron.) Cuatrec. (Mérida), *L. doryphyllus* (Cuatrec.) Cuatrec. (Zulia), *L. longipenicillatus* (Sch. Bip. ex Sandwith) Cuatrec. (Mérida, Táchira y Trujillo), *L. otophorus* (Wedd.) Cuatrec. (Táchira) y *L. patens* (Kunth) Cuatrec. (Mérida, Trujillo). Sin embargo, investigaciones posteriores mencionan que para el caso de *L. otophorus*, su distribución en el país es dudosa (Silva-Moure *et al.* 2013).

Lasiocephalus es particularmente interesante por la diversidad de sus formas de crecimiento, que va desde trepadoras hasta subarborescentes de hojas estrechas y subcoriáceas, las cuales todas tienen una relativa y cercana relación con el tipo de ambiente y hábitat al que pertenecen (Luteyn 1999, Sklenář *et al.* 2010, Dušková *et al.* 2011). En función de lo anterior, Cuatrecasas (1978), propone una clasificación subgenérica conformada por dos grupos: subgen. *Lasiocephalus* Cuatrec. que incluye biotipos arbustivos a subarborescentes erectos con capítulos relativamente grandes; subgen. *Aetheolaena* Cuatrec. que abarca trepadoras y subarborescentes escandentes, con capítulos por lo general más pequeños; resaltando los caracteres relacionados al biotipo en la clasificación.

Resultados del trabajo molecular de Dušková *et al.* (2010), mostraron dos clados coincidentes con las expresiones biotípicas antes señaladas; salvo los casos de *L. longipenicillatus* (subarborescente erecto), que aparece vinculado al de las especies trepadoras propias de los bosques (como por ejemplo: *L. patens* (Kunth) Cuatrec.), y la relación cercana entre *L. lingulatus* Schldl. (subarborescente erecto de capítulos pequeños) y *L. ovatus* Schldl. (subarborescente erecto de capítulos más grandes); estos casos excepcionales pueden ser tomados como evidencia de que los caracteres señalados por Cuatrecasas (1978), no son lo suficientemente consistentes como para brindar una adecuada delimitación subgenérica; aunque hay que tener en cuenta que en el análisis de Dušková *et al.* (2010) no se incluyó una amplia representación de las especies de este género. Es por lo anterior que Silva-Moure *et al.* (2013) partiendo del estudio primario de Schlechtendal (1818), el *sensu* Cuatrecasas (1978) y los resultados obtenidos por Dušková *et al.* (2010), propusieron para la delimitación del subgen. *Lasiocephalus*

Cuatrec. los caracteres: presencia de cálculo escamoso y anteras visiblemente exertas, ubicando en este grupo a *L. doryphyllus*; mientras que para el subgen. *Aetheolaena* Cuatrec. propusieron: cálculo no escamoso y anteras inclusas o al mismo nivel del limbo de la corola, donde se incluyó a *L. cuencanus*, *L. longipenicillatus*, *L. othophorus* y *L. patens*.

Tomando en consideración el *sensu* Cuatrecasas (1978), la conformación de los posibles grupos intragenéricos está en estrecha relación con las adaptaciones a ambientes particulares y las expresiones biotípicas que esto conlleva. Al respecto, Gorčicová (2010), presentó un estudio comparativo de la anatomía de la lámina foliar de *L. patens* y *L. sodiroi* (Hieron.) Cuatrec., correspondiendo a los hábitats de bosque montano y superpáramo respectivamente; obteniendo diferencias en cuanto el grosor del parénquima, abundancia de tricomas visibles y disposición del tejido vascular, caracteres propios de una hoja del tipo xeromórfico en el caso de *L. sodiroi*, como adaptación a las extremas condiciones del superpáramo y en contraposición de *L. patens* que presenta una hoja no xeromórfica propia de ambientes de bosque montano. Azocar (2006), mencionaron que las características xeromórficas corresponden a mecanismos de tolerancia para reducir el impacto de las bajas temperaturas, evidenciadas en especies de páramo pertenecientes a Asteraceae, Scrophulariaceae y Valerianaceae.

Por otra parte, Sklenář *et al.* (2011), mencionaron que posiblemente, *Lasiocephalus* muestra una tendencia evolutiva en la adaptación a la falta de agua. Tales autores afirman que las especies que habitan los bosques montanos permanentemente húmedos, como *L. patens* y *L. involucratus* (Kunth) Cuatrec. tienen un número relativamente mayor de hojas grandes y suaves (no coriáceas), y gracias a una intensa transpiración la amplia red vascular proporciona agua que se irriga por el mesófilo, evaporándose con eficacia previniendo el marchitamiento; sin embargo, la pared de sus células es menos elástica, algo que puede influir negativamente en su capacidad de almacenar agua y en consecuencia llevar a una pérdida de volumen de las hojas ante una pérdida rápida de presión por turgencia. En contraste, las células de las hojas de las especies de páramo (por ejemplo: *L. ovatus* y *L. lingulatus*) que son típicamente pequeñas y coriáceas, poseen paredes celulares elásticas que en plena turgencia pueden contener una mayor cantidad de agua que es liberada para impedir un rápido marchitamiento.

Los estudios anatómicos anteriores sobre especies de *Lasiocephalus*, se orientan en describir las relaciones entre estructura y función ecofisiológica más a estudiar comparativamente las características anatómicas entre los representantes del género que aporten información válida para la delimitación de grupos; con base a lo anterior, se plantea determinar un conjunto de caracteres anatómicos de valor

taxonómico para una adecuada delimitación subgenérica de *Lasiocephalus*; así como, elaborar una clave para identificar las especies presentes en Venezuela y finalmente hacer algunas consideraciones sobre la estructura anatómica y la función en determinados ambientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para esta investigación se consideraron el total de cinco especies de *Lasiocephalus* presentes en el país, según lista suministrada en el Nuevo Catálogo de la Flora Vascular de Venezuela (Badillo *et al.* 2008). Sin embargo, tal como señalan Silva-Moure *et al.* (2013), no existen en los herbarios nacionales exsiccata de *L. othophorus* que muestren especímenes provenientes de colecciones del territorio nacional, por lo cual solo puede presumirse la presencia de esta especie en el país; para remediar esta falta se tomaron muestras de especímenes de esta especie colectadas en Colombia y Ecuador depositados en VEN (Tabla 1).

El material vegetal fue colectado en campo y preservando en frascos de vidrio con Formaldehído-Acido Acético-Etanol 70% o usando fragmentos de material herborizado tomados de exsiccata. Fueron utilizadas tres a cuatro hojas a plena exposición solar de al menos tres individuos de cada especie. Este material se lavó con agua corriente y luego se tomaron porciones correspondientes al tercio medio de la lámina.

Para el tratamiento del material herborizado, se tomaron trozos de la parte media de la lámina foliar, los cuales fueron hidratados en lactofenol, siguiendo el procedimiento descrito por Peña y Saralegui (1982) o hirviéndolos en una solución de agua:glicerina (1:1) por períodos variables de tiempo, dependiendo del grosor de la hoja. Posteriormente el material se trató de igual forma que lo descrito para el material fijado.

Al estudiar la lámina foliar, se efectuaron observaciones tanto en vista frontal, como en secciones transversales. Para la obtención de estas últimas fueron utilizados trozos de material previamente hidratado o fijado, proveniente del tercio medio de la hoja, donde se seleccionó una porción de aproximadamente un centímetro cuadrado, que incluyó la nervadura media; tales porciones fueron seccionados transversalmente a mano alzada, teñidas con azul de toluidina acuosa (1%), montadas en agua:glicerina (1:1) y finalmente selladas con esmalte para uñas, preparando así láminas semipermanentes. El estudio frontal de las epidermis se efectuó luego de obtener éstas con macerados, para ello se colocaron segmentos de hoja en una mezcla 1:1 (V:V) de hipoclorito de sodio comercial y agua a temperatura ambiente en función del material a utilizar

por 5-10 min; al cabo de este tiempo las muestras se colocaron en agua durante dos días; al finalizar este período se separaron las epidermis con ayuda de un pincel; éstas fueron teñidas y montadas en forma semejante a lo expuesto para la preparación en el estudio de las secciones transversales. Ambas metodologías fueron realizadas en base a lo expuesto por Lapp *et al.* (2004) y Lapp *et al.* (2013).

Las láminas semipermanentes para la preparación se estudiaron bajo el microscopio óptico Nikon E200 y adicionalmente, con la ayuda de un ocular micrometrado incorporado al microscopio, se realizaron las siguientes mediciones: grosor de la epidermis adaxial y abaxial más la cutícula (μm); longitud de estomas (μm) y densidad de estomas (estomas/ mm^2); grosor del parénquima en empalizada (μm) y del parénquima esponjoso (μm) de la hoja; con estos últimos valores se calculó la relación parénquima en empalizada/parénquima esponjoso (P.emp/P.esp). Se efectuó un mínimo de 30 medidas en distintas preparaciones escogidas al azar, para calcular posteriormente los valores promedio y la desviación estándar.

Tomando en consideración los resultados obtenidos en la caracterización anatómica y en la definición de caracteres diagnósticos, se elaboró una clave artificial con base en éstos.

Tabla I. Especies y especímenes de *Lasiocephalus* analizados, localidades de colección, colectores y herbarios donde están depositadas las muestras.

| Taxón | Localidad | Altura | Colector y herbario |
|-----------------------------|--|------------------|--|
| <i>L. cuencanus</i> | Edo. Mérida, Dtto. Rangel, cuenca de la quebrada de Las Cañas. | 3.600-2.950 msnm | L. Ruiz-Terán, J. Luteyn y M. Lebrón 15124 (MERF). |
| <i>L. doryphyllus</i> | Edo. Zulia a 1km de la hacienda Buena Vista al norte del cerro Laminado a 5km al norte de Buena Vista, Sierra de Perijá, Dtto. de Péríja. | 3.500-3550 msnm | S. Tillett y K. Höning, s. n. (MY). |
| <i>L. longipenicillatus</i> | Edo. Mérida, vía Piñango, bajando del pico de El Águila, antes de las antenas. | 3.820 msnm | M. Lapp, P. Torrecilla, K. Silva-Moure y T. Ruiz 590 (MY). |
| | Edo. Mérida, llano redondo a orillas de la quebrada Mistafí, afluente más largo de los que forman el río Chama, al norte de San Rafael de Mucuchíes, Dtto. Rangel. | 3.850 msnm | Ruiz-Terán 257 (MER) |

Tabla I. Continuación.

| Taxón | Localidad | Altura | Colector y herbario |
|---------------------|---|------------------|---|
| <i>L. otophorus</i> | COLOMBIA: Dpto. Cundinamarca, municipio de La Calera, Páramo de Palacio. | 3.250-3.500 msnm | Díaz-Piedrahita 300 (VEN) |
| | ECUADOR: Prov. Azuay, The Eastern Cordillera, 1-8 km, north of the village of Sevilla de Oro. | 8,000-9,000 ft | W. Camp. E-4713 (VEN) |
| <i>L. patens</i> | Dtto. Miranda, La Lagunita entre Las Palmas y Las González, páramo de Palmira. | 2.800-3.200 msnm | L. Ruiz-Terán y J. Duarte 12433 (MY) |
| | Cuenca del río Aracay, afluente del Santo Domingo, arriba de Las Piedras. | 2.700-2.550 msnm | L. Ruiz-Terán; M. López-Figueira y S. López-Palacios. 8269 (MY) |

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

EPIDERMIS

Vista frontal

En ambas epidermis y en todas las especies estudiadas, las células presentan formas desde ligeramente redondeadas hasta alargadas (Figs. 1 y 2); de igual manera, se observó una capa de cutícula, la cual recubre y es relativamente más conspicua en *L. doryphyllus* (Figs. 1B y 2B) y *L. otophorus* (Figs. 1D y 2D).

En la Tabla II se muestran las características cualitativas derivadas del estudio de la epidermis en vista frontal, las cuales contribuyen a la caracterización general de los taxa bajo estudio, aunque no son lo suficientemente definidas y contrapuestas como para ser consideradas de valor taxonómico.

Sección transversal

Ambas epidermis son uniestratas; en el caso de la adaxial se presentan células rectangulares, excepto en *L. longipenicillatus* que las posee desde cuadradas hasta rectangulares y en la abaxial, éstas se presentan rectangulares en todas las especies.

Las características cuantitativas registradas en sección transversal de ambas epidermis se encuentran resumidas en la Tabla III.

Estomas

Con respecto al tipo de hoja según la ubicación de los estomas, se observó que en *L. doryphyllus* (Figs. 1B y 2B) es anfiestomática, mientras que en el resto de las especies es hipoestomática, tal carácter ha sido señalado de valor taxonómico para otros géneros en Asteraceae, como *Stevia* Cav. y *Oyedaea* DC. donde ha permitido separar grupos intragénicos (Lapp *et al.* 2004, Arias 2005). Es por lo anterior que es posible delimitar a *L. doryphyllus* del resto.

Los estomas, en todos los casos, son anomocíticos, lo cual no es considerado de valor diagnóstico, ya que éste es un carácter muy común en Asteraceae (Metcalf y Chalk 1950). Los estomas adaxiales de *L. doryphyllus* miden entre 35-40 μm de longitud y se presentan 2 estomas/ mm^2 , mientras que en la abaxial, todas las especies presentan 38-45 μm de longitud y la densidad para *L. doryphyllus* es de 54-86 estomas/ mm^2 , *L. longipenicillatus* y *L. patens* alcanza 80-116 estomas/ mm^2 , *L. otophorus* es de 72-102 estomas/ mm^2 y en *L. cuencanus* está entre 104-135 estomas/ mm^2 .

En sección transversal, la posición de los estomas (Fig. 3) con relación al nivel de las células típicas de la epidermis es variable; en *L. longipenicillatus* (Fig. 3B) se encuentran elevados, mientras que en el resto de las especies estudiadas se presentan al mismo nivel de las células típicas. En todas las especies los estomas presentaron cuernos cuticulares similares.

Tricomas

Todas las especies presentaron tricomas tectores, los cuales se caracterizan por ser pluricelulares con variaciones en el número, tamaño y grosor relativo de sus células, además de la forma de la ubicada basalmente (Tabla IV y Fig. 4). Para *L. otophorus* resalta la presencia de un tipo particular conformado por dos células basales de igual longitud y relativamente pequeñas respecto a una apical extremadamente larga (Fig. 4D), tal estructura ha sido descrita y señalada por Jeffrey (1987), en una lista de descriptores propuesta para Senecioneae, denominándole tricoma apendicular.

Los caracteres epidérmicos antes expuestos pueden ser considerados de valor taxonómico para diferenciar a las especies de *Lasiocephalus*, debido a que son contrastantes, de fácil reconocimiento y constantes en los especímenes estudiados, además han sido usados para delimitar grupos de especies en otros géneros de Asteraceae, tales como *Stevia* Cav. (Eupatorieae), *Pentacalia* Cass. y *Emilia* Cass. (Arias 2005, Adedeji y Jewoola 2008, Lapp *et al.* 2013).

MESOFILO

La hoja es de tipo bifacial en todas las especies bajo estudio (Fig. 5). Hacia la cara adaxial se localiza el parénquima clorofiliano en empalizada (P. emp) y en la abaxial el esponjoso (P. esp). Los resultados referidos al número de capas y grosor de cada tipo de tejido parenquimático, así como la relación P. emp/P. esp, se exponen en la Tabla V.

L. longipenicillatus (Fig. 5C), presenta un mesofilo compacto donde la capa superior de parénquima en empalizada es más regular que las inferiores, en el resto de las especies este tejido es menos compacto, mostrando espacios intercelulares más amplios y capas menos regulares; en cuanto al parénquima esponjoso, *L. longipenicillatus* muestra células tabulares y paralelas a la epidermis abaxial, en *L. patens* (Fig. 5E), *L. doryphyllus* (Fig. 5B) y *L. cuencanus* (Fig. 5A) existen amplios espacios intercelulares, para el primer y último caso las células son redondeadas y en el segundo son rectangulares, y en *L. otophorus* (Fig. 5D) son compactas y redondeadas.

El sistema vascular está representado por haces vasculares colaterales cerrados, rodeados por una capa de células parenquimáticas de paredes delgadas y en todos los casos están asociados a cavidades secretoras; tales caracteres son considerado por Metcalfe y Chalk (1950), como comunes en Asteraceae.

NERVADURA CENTRAL

El contorno de la nervadura central es cóncavo hacia la cara adaxial en *L. cuencanus* (Fig. 6A), *L. doryphyllus* (Fig. 6B) y *L. patens* (Fig. 6E), plano y estrecho en *L. longipenicillatus* (Fig. 6C) y plano y amplio en *L. otophorus* (Fig. 6D), siendo prominente en todos los casos. En la caracterización anatómica, todas las especies presentan epidermis uniestrata en ambas caras, provista de células redondeadas con paredes relativamente engrosadas, acompañadas por una densa capa de ceras epicuticulares que las cubre, salvo en *L. otophorus*. En general, se observó de una a dos capas de colénquima subepidérmico, excepto en *L. otophorus* que no presenta este tejido. Todos los taxos estudiados, muestran tejido parenquimático de células grandes y paredes delgadas; conteniendo drusas en el caso de *L. otophorus*. El tejido vascular está conformado por tres hasta cinco haces vasculares colaterales cerrados distribuidos en forma de arco, uno principal y el resto secundarios, cada uno con un casquete de fibras floemáticas; en el caso de *L. patens* asociado al haz principal, se detectó un haz más pequeño que los otros haces secundarios, y en *L. doryphyllus* fueron vistos de cuatro a cinco cavidades secretoras rodeando a los haces vasculares.

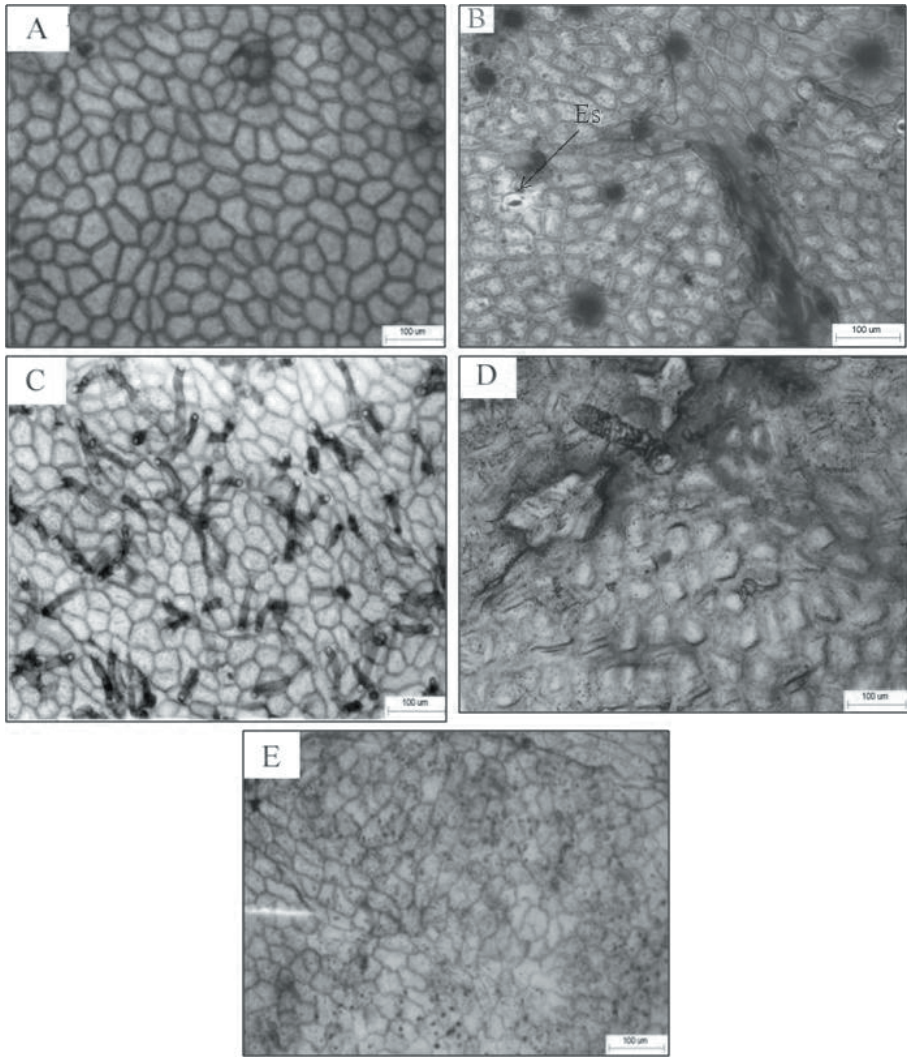


Fig. 1. Vistas frontal de las epidermis adaxiales de especies de *Lasiocephalus* presentes en Venezuela. A. *L. cuencanus*. B. *L. doryphyllus*. C. *L. longipenicillatus*. D. *L. othophorus*. E. *L. patens*.

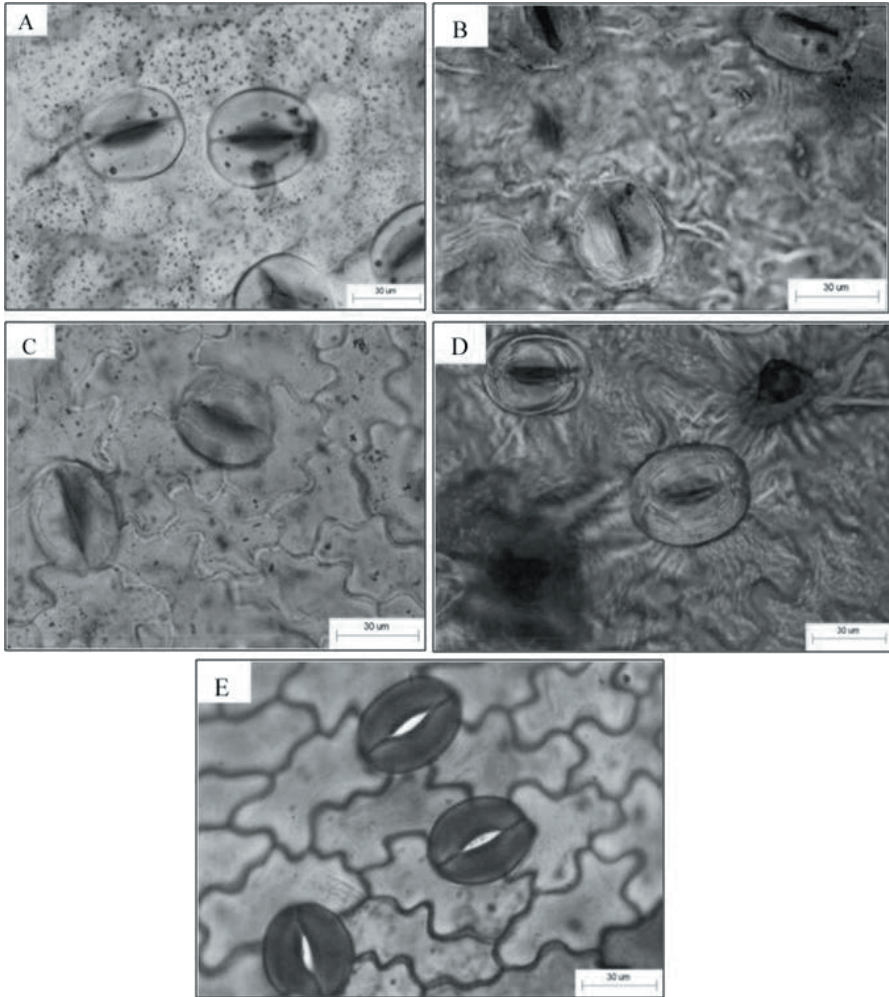


Fig. 2. Vistas frontales de las epidermis abaxiales de especies de *Lasiocephalus* presentes en Venezuela. A. *L. cuencanus*. B. *L. doryphyllus*. C. *L. longipenicillatus*.

Tabla II. Características cualitativas de las epidermis adaxial y abaxial en vista frontal, de las especies de *Lasiocephalus* presentes en Venezuela.

| Especie | Pared celular adaxial | Paredes anticlinales adaxiales | Pared celular abaxial | Paredes anticlinales abaxiales |
|-----------------------------|-----------------------|--------------------------------|-----------------------|--------------------------------|
| <i>L. cuencanus</i> | Gruesas | Rectas | Gruesas | Ligeramente sinuosas |
| <i>L. doryphyllus</i> | Gruesas | Rectas | Gruesas | Muy sinuosas |
| <i>L. longipenicillatus</i> | Delgadas | Ligeramente sinuosas | Delgadas | Ligeramente sinuosas |
| <i>L. otophorus</i> | Gruesas | Ligeramente sinuosas | Delgadas | Muy sinuosas |
| <i>L. patens</i> | Delgadas | Ligeramente sinuosas | Delgadas | Muy sinuosas |

Tabla III. Grosor de las epidermis foliares en especies de *Lasiocephalus* presentes en Venezuela.

| Especie | E. adax + cut. (µm) | E. abax + cut. (µm) |
|-----------------------------|---------------------|---------------------|
| <i>L. cuencanus</i> | 7±1,5 | 6,8±1,5 |
| <i>L. doryphyllus</i> | 24,3±4,2 | 17,3±5 |
| <i>L. longipenicillatus</i> | 37±7 | 18±4 |
| <i>L. otophorus</i> | 26±3 | 19,3±3,3 |
| <i>L. patens</i> | 15,4±5 | 14±2,3 |

E. adax + cut.: grosor de la epidermis adaxial más cutícula; E. abax + cut.: grosor de la epidermis abaxial más cutícula.

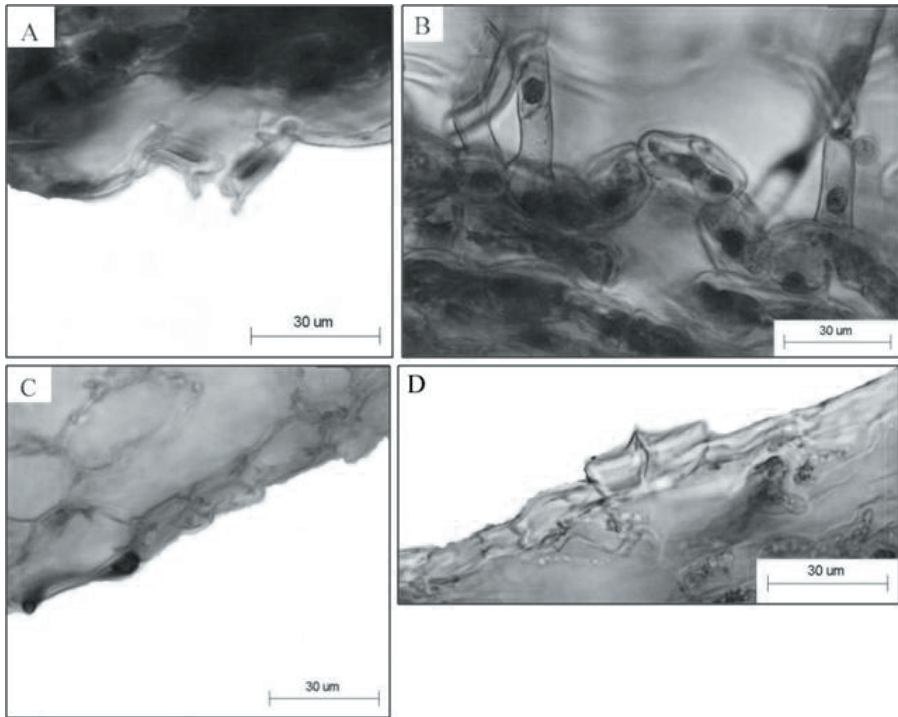


Fig. 3. Secciones transversales de las láminas foliares, mostrando ubicación de estomas en especies de *Lasiocephalus* presentes en Venezuela. A. *L. cuencanus*. B. *L. longipenicillatus*. D. *L. othophorus*. E. *L. patens*.

Tabla IV. Caracteres cualitativos relacionados a los tricomas foliares de las especies de *Lasiocephalus* presentes en Venezuela.

| Especie | N° células | Forma célula basal | Tamaño relativo de las células del tricoma | Grosor relativo del tricoma |
|-----------------------------|------------|--------------------|---|-----------------------------|
| <i>L. cuencanus</i> | Más de 3 | Engrosada y cónica | Cada una es progresivamente más larga que la anterior | Gruesos |
| <i>L. doryphyllus</i> | Más de 3 | Cilíndrica | Cada una es progresivamente más larga que la anterior | Gruesos |
| <i>L. longipenicillatus</i> | Más de 3 | Cilíndrica | Cada una es progresivamente más larga que la anterior | Delgados |
| <i>L. otophorus</i> | 3 | Cilíndrica | Tercera célula más larga que las anteriores | Delgados |
| <i>L. patens</i> | Más de 3 | Cilíndrica | Tercera célula de la misma longitud que la anterior | Gruesos |

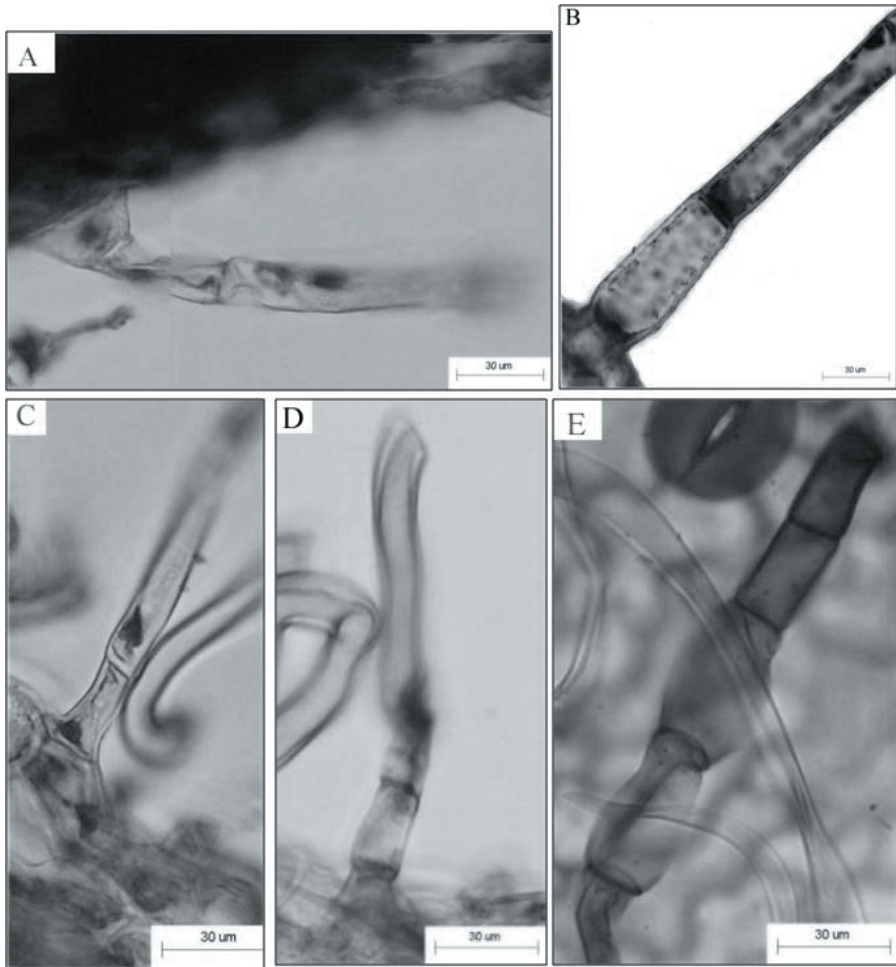


Fig. 4. Trichomas característicos de especies de *Lasiocephalus* presentes en Venezuela A. *L. cuencanus*. B. *L. doryphyllus*. C. *L. longipenicillatus*. D. *L. othophorus*. E. *L. patens*.

Tabla V. Caracteres cuantitativos relacionados al mesofilo foliar de las especies de *Lasiocephalus* presentes en Venezuela.

| Especie | N° capas de | | Grosor | | N° capas de | | Grosor | |
|-----------------------------|-------------|--------|-------------|-------------|-------------|--------|-------------|-------------|
| | P. emp | P. esp | P. emp (µm) | P. esp (µm) | P. emp | P. esp | P. emp (µm) | P. esp (µm) |
| <i>L. cuencanus</i> | 1 | 4 | 30,5±4 | 65±9 | 4 | 4 | 65±9 | 0,46 (<1) |
| <i>L. doryphyllus</i> | 2 | 3-4 | 140±21 | 123±32 | 3-4 | 3-4 | 123±32 | 1,14 (>1) |
| <i>L. longipenicillatus</i> | 2-3 | 4 | 133±17,6 | 99±16 | 4 | 4 | 99±16 | 1,34 (>1) |
| <i>L. otophorus</i> | 1 | 4 | 30,5±4 | 128±13,6 | 4 | 4 | 128±13,6 | 0,53 (<1) |
| <i>L. patens</i> | 1 | 3-4 | 63±10 | 92±11 | 3-4 | 3-4 | 92±11 | 0,67 (<1) |

P. emp: parénquima empalizada; **P. esp**: parénquima esponjoso; **P. emp/P. esp**: Relación entre el parénquima empalizada y el parénquima esponjoso.

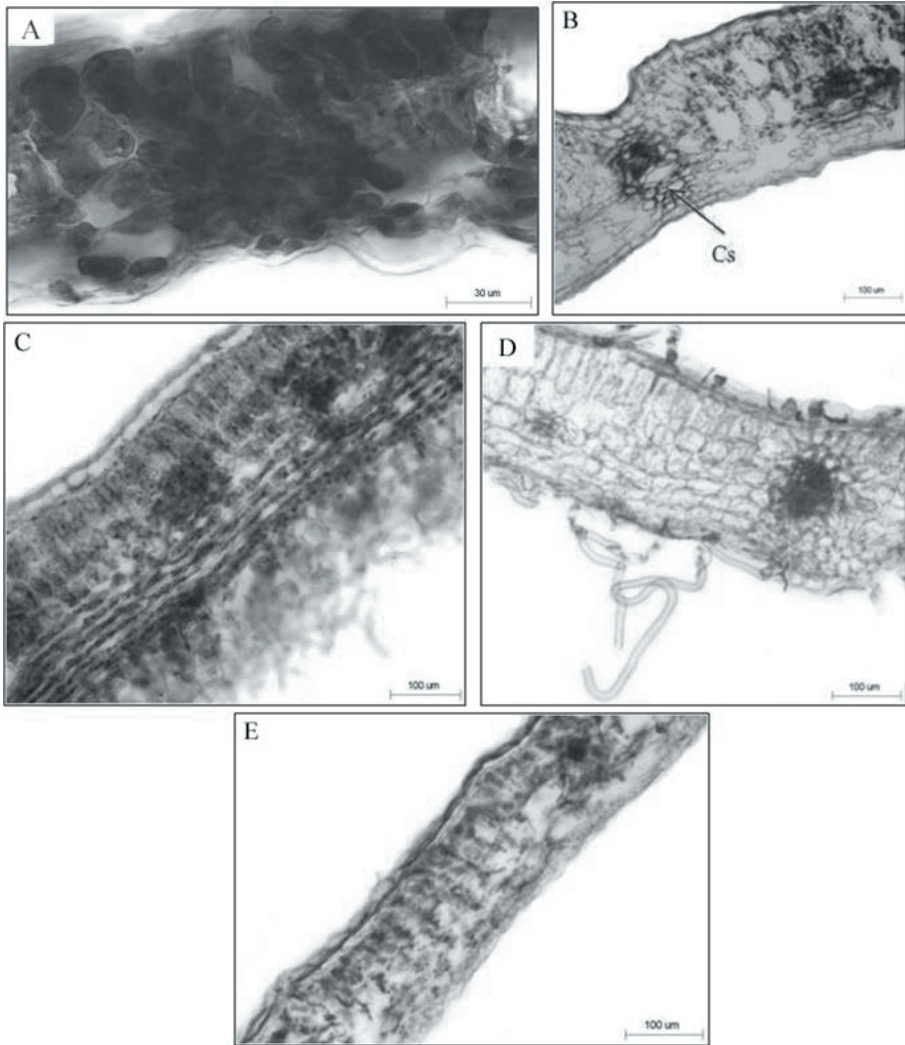


Fig. 5. Cortes transversales de la lámina foliar de especies de *Lasiocephalus* presentes en Venezuela. A. *L. cuencanus*. B. *L. doryphyllus*. C. *L. longipenicillatus*. D. *L. othophorus*. E. *L. patens*.

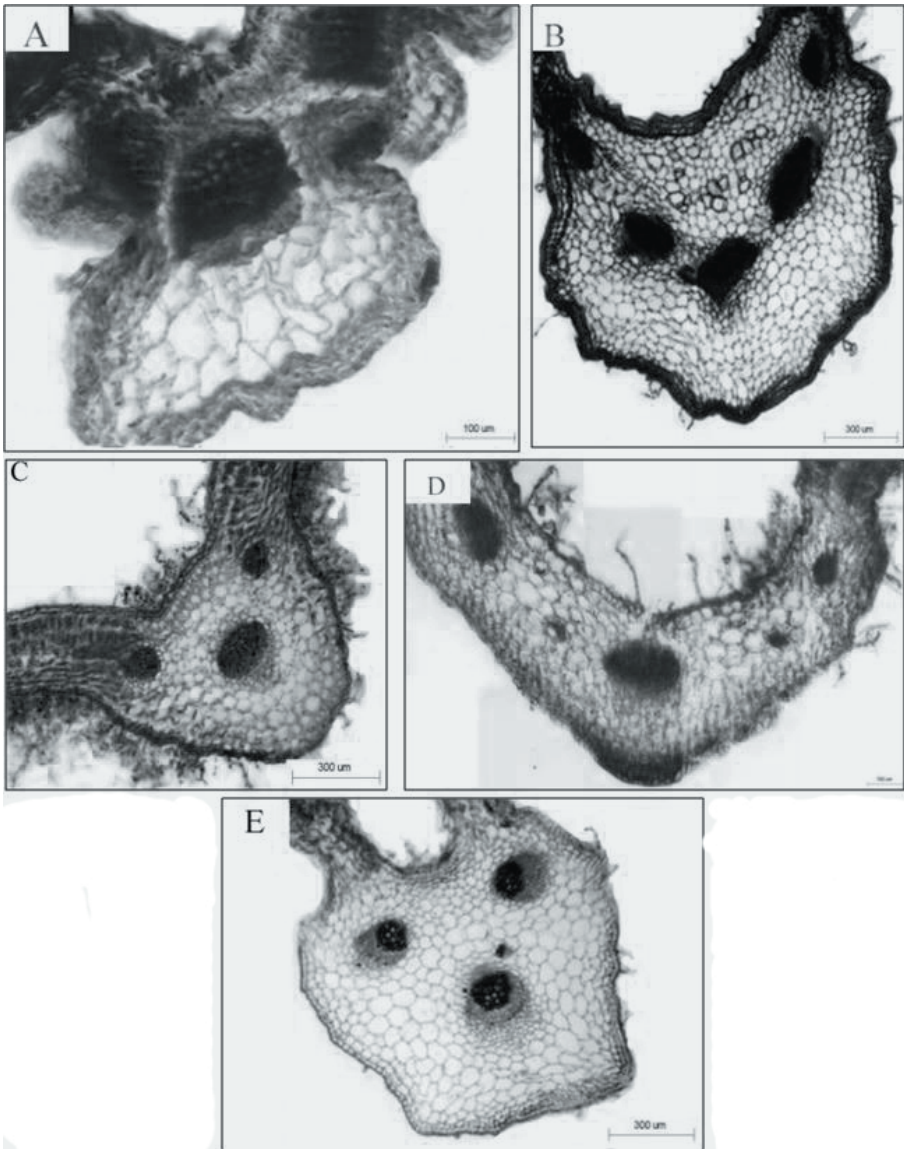


Fig. 6. Cortes transversales de la nervadura media de la lámina foliar de especies de *Lasiocephalus* presentes en Venezuela. A. *L. cuencanus*. B. *L. doryphyllus*. C. *L. longipenicillatus*. D. *L. othophorus*. E. *L. patens*.

ALGUNAS CONSIDERACIONES ECOFISIOLÓGICAS DE LA ESTRUCTURA ANATÓMICA FOLIAR

L. longipenicillatus y *L. doryphyllus*, presentan tricomas pluricelulares en ambas epidermis, los mismos han sido descritos macromorfológicamente por Silva-Moure *et al.* (2013), conformando un indumento aracnoideo, adicionalmente dichas especies muestran hacia su cara adaxial una cutícula gruesa; todas estas características según Ely y Torres (2003), participan en el control de la temperatura y radiación incidente sobre la lámina al reflejar parte de la misma y favorecer el establecimiento de una capa de aire estático en la superficie que actúa como control térmico al reducir el enfriamiento por convección. Además, tales tricomas podrían cumplir una función en la compensación del CO₂, en plantas presentes en altitudes elevadas, donde la concentración atmosférica de este gas es relativamente baja, jugando un papel importante al impedir la difusión de esta molécula al exterior, siendo reabsorbido nuevamente por los estomas. Azócar (2006), señala que esta adaptación se corresponde con el hábitat de páramo en el que medran estas especies; caracterizado por la alta radiación solar, relativa baja disponibilidad de agua (promedio de 798 mm), bajas temperaturas (promedio 2,8°C) y vientos secos y fríos.

Por otra parte, tal como lo observó Luque *et al.* (1999), el mesofilo compacto, como el que se presenta en *L. longipenicillatus* y *L. doryphyllus*, con un parénquima de empalizada con pocos espacios intercelulares, evita que se acumule agua entre las células, por lo que incrementa la resistencia a la congelación.

Coincidiendo con Gorčicová (2010), se obtuvieron diferencias anatómicas entre las especies de páramo (*L. doryphyllus* y *L. longipenicillatus*) y las de bosque propiamente dicho o transicional (*L. cuencanus*, *L. patens* y *L. othophorus*), donde las primeras se caracterizaron por tener características xeromórficas, tales como: una mayor proporción de parénquima en empalizada respecto al parénquima esponjoso (P. emp/P. esp >1) y mayor densidad de tricomas visibles. García *et al.* (2005), brindan una explicación a esto al demostrar que el valor del grosor de la hoja aumenta junto con el gradiente altitudinal, como una adaptación a los niveles altos de insolación, siendo tal carácter producto de la plasticidad estructural, más que ser evidencia para mostrar relaciones filogenéticas. Al respecto Dušková *et al.* (2010), confirmaron bajo un análisis molecular la relación estrecha entre *L. longipenicillatus* y *L. patens*, especies de anatomía foliar contrastante.

CONSIDERACIÓN TAXONÓMICA SOBRE *Lasiocephalus* WILLD. EX SCHLTDL.

Tomando en cuenta los nuevos caracteres morfológicos para la delimitación de los subgéneros en *Lasiocephalus* presentados por Silva-Moure *et al.* (2013), en conjunto al valor taxonómico de la ubicación de los estomas, se adiciona la presencia de hojas anfiestomáticas a la definición del subgen. *Lasiocephalus* e hipoestomáticas para el subgen. *Aetheolaena*.

A pesar de que existen diferencias en los valores de las medias que describen las características cuantitativas para las especies los rangos que toman los mismos valores suelen solaparse entre si, por lo tanto no son recomendables para la determinación específica en las mismas en una clave artificial. En relación a estos caracteres García *et al.* (2005), mencionan que los valores que se obtienen son producto de la plasticidad estructural, variando en determinadas condiciones ambientales. Sin embargo, es posible incluir tales características cuantitativas en la clave artificial cuando éstas toman valores discretos, tales como el número de capas de parénquima en empalizada y el rango que toma la relación P.emp/P.esp que ser mayor o menor a uno.

Al nivel interespecífico resaltan por su valor taxonómico y consistencia los caracteres propios de los tricomas y el nivel de los estomas, los cuales son usados para delimitar las especies. El tricoma apendicular es característico de *L. otophorus* dentro del subgen. *Lasiocephalus* y en el caso de *L. cuencanus*, la forma de la célula basal permite diferenciarlo de *L. longipenicillatus* y *L. patens*, y ambas se diferencian entre sí de forma consistente, gracias a la ubicación de los estomas en relación a las células epidérmicas típicas y al número de capas de parénquima clorofiliano y rango de la relación P.emp/P.esp.

CLAVE ARTIFICIAL ANATÓMICA PARA LAS ESPECIES DE *Lasiocephalus* WILLD. EX SCHLTDL. PRESENTES EN VENEZUELA

- 1a. Hoja anfiestomática. *L. doryphyllus* (Subgen. *Lasiocephalus*)
- 1b. Hoja hipoestomática. 2 (Subgen. *Aetheolaena*)
- 2a. Tricomas con tres células, siendo la apical extremadamente larga respecto a la subapical (apendicular) *L. otophorus*
- 2b. Tricomas con más de tres células, siendo la apical de longitud semejante respecto a la subapical (no apendicular) 3
- 3a. Célula basal de los tricomas ancha y cónica. *L. cuencanus*

- 3b. Célula basal de los tricomas estrecha y cilíndrica. 4
- 4a. Estomas a nivel de las células epidérmicas típicas, una capa de células de parénquima en empalizada de la lámina y la relación P.emp/P.esp<1.
..... *L. patens*
- 4b. Estomas sobre el nivel de las células epidérmicas típicas, dos a tres capas de células de parénquima en empalizada de la lámina y la relación P.emp/P.esp>1. *L. longipenicillatus*

CONCLUSIONES

El carácter tipo de hoja según la ubicación de los estomas es usado para la delimitación de los subgéneros de *Lasiocephalus*; el estado de éste carácter es definido para el subgen. *Lasiocephalus* como anfiestomática y para el subgen. *Aetheolaena* como hipoestomática, estos caracteres anatómicos complementan los rasgos morfológicos reproductivos y moleculares previamente propuestos. Es reconocido el valor taxonómico de los caracteres asociados a los tricomas y al grosor del mesofilo (número de capas de parénquima en empalizada y la relación P.emp/P.esp) para la delimitación de las especies.

AGRADECIMIENTOS

Al Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT) de la República Bolivariana de Venezuela por el financiamiento del presente trabajo, mediante el proyecto PEII N° 201100224. También a D. Jáuregui y a N. Garcés por su asesoramiento en microtecnia vegetal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arias, J. 2005. Revisión taxonómica del género *Stevia* Cav. (Asteraceae-Eupatorieae) en Venezuela. Trabajo de grado de *Magíster Scientiarum* en Botánica Agrícola. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay. 240 p.
- Azocar, C. 2006. Relación entre anatomía foliar, forma de vida y mecanismos de resistencia a temperaturas congelantes en diferentes especies en el Páramo de Piedras Blancas. Trabajo de grado para obtener el título de Lic. Biología. Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. 64 p.

- Badillo, V., Díaz-Piedrahita y C.E. Benítez. 2008. Asteraceae. *In*: Hokche, O., P. Berry y O. Huber (Eds.). Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela. 226-265. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas, Venezuela. 859 p.
- Cuatrecasas, J. 1978. Studies in Neotropical Senecioneae, Compositae. I. Reinstatement of genus *Lasiocephalus*. *Phytologia* 40: 307-312.
- Dušková, E., F. Kolář, P. Sklenář, J. Rauchová, M. Kubešová, T. Fér, J. Suda and K. Marhold. 2010. Genome size correlates with growth form, habitat and phylogeny in the Andean genus *Lasiocephalus* (Asteraceae). *Preslia* 82: 127-148.
- Ely, F. y F. Torres. 2003. Adaptaciones anatómico-estructurales foliares de *Chaetolepis lindeniana* (Naud.) Triana a lo largo de un gradiente altitudinal en el Páramo del Parque Nacional Sierra Nevada de Mérida (Venezuela). *Plantula* 3: 101-115.
- García, M. y M. Lapp. 2005. Anatomía foliar en especímenes de *Oyedaea verbesinooides* DC. (Asteraceae) creciendo en tres ambientes distintos. *Ernstia* 15: 129:143.
- Gorčicová, B. 2010. Anatomie a funkční ekologie tropických alpínských rostlin Jižní Ameriky. Trabajo de grado para obtener el título de Lic. en Biología. Cátedra de Botánica, Universidad Carolina de Praga. Rep. Checa. 28 p.
- Jeffrey, C. 1987. Developing descriptors for systematic analyses of Senecioneae (Compositae). *Bot. Jahrb. Syst.* 108: 201-211.
- Lapp, M., D. Jáuregui y T. Ruiz-Zapata. 2004. Anatomía foliar de ocho especies venezolanas del género *Oyedaea* DC. (Asteraceae-Heliantheae). *Acta Bot. Venez.* 27: 1-16.
- Luque, R.A., N.L. Menezes y J. Semir. 1999. Anatomía foliar de *Lychnophora* Mart. (Vernonieae: Asteraceae). *Plantula* 2: 141-152.
- Metcalf C. and L. Chalk. 1950. Anatomy of the dicotyledons. Vol. II. 2nd. Edition. Clarendon Press. Oxford, Great Britain. 1500 p.
- Nordenstam, B. 1978. Taxonomic studies in the tribe Senecioneae (Compositae). *Opera Bot.* 44: 1-83.

Peña, E. y H. Saralegui. 1982. Técnicas de anatomía vegetal. Universidad de La Habana. Cuba. 99 p.

Silva-Moure, K., P. Torrecilla y M. Lapp. 2013. Taxonomía del género *Lasiocephalus* Willd. ex Schltdl. (Asteraceae) en Venezuela. *Ernstia* 23: 91-118.

Sklenář, P., E. Dušková and H. Balslev. 2010. Tropical and temperate: Evolutionary history of páramo flora. *Bot. Rev.* 77: 71-108.

Sklenář, P., A. Kučerová, P. Macek, J. Macková, A. Soukup. 2011. Rostliny zpod vrcholků rovníkových And 4. Adaptace rostlin párama. *Živa* 4/2011: 164-168.