







MORFO-ANATOMÍA E HISTOQUÍMICA DE ÓRGANOS VEGETATIVOS DE *LYCIUM HUMILE* (SOLANACEAE): RASGOS ADAPTATIVOS A HUMEDALES SALINOS DE ALTURA

Mariana Leal¹ , M. Inés Mercado^{2,*} , A. Soledad Cuello¹ , I. Catiana Zampini¹ ,
Graciela I. Ponessa²  & M. Inés Isla^{1,*} 

¹ Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRON), Instituto de Bioprospección y Fisiología Vegetal (INBIOFIV-CONICET), Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo, Universidad Nacional de Tucumán, San Lorenzo 1469, 4000 San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina; * misla@csnat.unt.edu.ar (autora corresponsal).

² Instituto de Morfología Vegetal, Área Botánica, Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251, 4000 San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina; * mimercado@lillo.org.ar (autora corresponsal).

Abstract. Leal, M.; M. I. Mercado, A. S. Cuello, I. C. Zampini, G. I. Ponessa & M. I. Isla. 2023. Morpho-anatomy and histochemistry of vegetative organs of *Lycium humile* (Solanaceae): adaptative traits to high altitude saline wetlands. *Darwiniana*, nueva serie 11(2): 466-484.

Lycium humile Phil., is an extreme halophyte plant, endemic to Argentina, Bolivia, and Chile, which grows between 2000 and 4000 m a.s.l. in saline wetlands environments. The aim of this work is to identify morpho-anatomical and histochemical adaptive characteristics of the vegetative organs of *L. humile* linked to its tolerance to extreme environments of high altitude saline wetlands, in order to evaluate its potential as source of metabolites with commercial value or as source of resistance genes related to abiotic stress tolerance. To carry out the analysis, during the period of February 2018, samples were obtained from plants belonging to 4 populations of the species (5 individuals per population) located at the departments of Antofagasta de la Sierra, Santa María and Ambato, province of Catamarca, Argentina. Leaf and stems were studied using histochemical tests, conventional histological preparations and optical microscopy. Different foliar tissues were analyzed by scanning electron microscopy coupled to elemental X-ray diffraction spectroscopy (EDS). The leaves and stems of the analyzed populations showed uniform anatomical and histochemical features. It was stated for the first time that the succulence of the leaf is reached by the folding of the tissues evidenced in a tridimensional venation pattern. The presence of isolateral-radial mesophyll and aquifer parenchyma is highlighted as a unique feature characteristic for the species. The glandular trichomes and palisade parenchyma revealed complex contents of phenols, flavonoids, proteins, lipids, terpenes, and alkaloids; while the outer layer of the cuticles presented phenolic, terpenic and lipidic deposits. The EDS analysis showed crystalliferous idioblasts with high contents of Ca²⁺ and Na⁺. The stems exhibited hypodermis and air chambers formed in the cortical and medullary layers. These anatomical and histochemical characteristics of *L. humile* represent adaptive traits to saline high-altitude wetland environments. Its functionality in relation to the environment and its potential as source of resistance genes and metabolites interesting for the cosmetic and pharmaceutical industries are discussed.

Keywords. Adaptation strategy; anatomy; histology; *Lycium*; morphology.

Resumen. Leal, M.; M. I. Mercado, A. S. Cuello, I. C. Zampini, G. I. Ponessa & M. I. Isla. 2023. Morfo-anatomía e histoquímica de órganos vegetativos de *Lycium humile* (Solanaceae): rasgos adaptativos a humedales salinos de altura. *Darwiniana*, nueva serie 11(2): 466-484.

Lycium humile Phil., es una planta halófila extrema, endémica de Argentina, Bolivia y Chile, que crece entre los 2000 y 4000 m s.m. en humedales salinos. El objetivo del presente trabajo es identificar caracteres adaptativos, morfo-anatómicos e histoquímicos de órganos vegetativos de *L. humile*

relacionados a su tolerancia a ambientes extremos de humedales salinos de altura, con el fin de evaluar su potencial como fuente de metabolitos de interés comercial o de genes relacionados a la tolerancia a factores abióticos. Para llevar a cabo el análisis, durante el periodo de febrero 2018, se obtuvieron muestras de plantas pertenecientes a 4 poblaciones (5 individuos por población) ubicadas en los departamentos de Antofagasta de la Sierra, Santa María y Ambato en la provincia de Catamarca, Argentina. Hojas y tallos se estudiaron mediante técnicas histológicas convencionales y análisis histoquímicos para microscopia óptica. Se realizaron también estudios de composición elemental de diferentes tejidos foliares mediante microscopia electrónica de barrido acoplada a espectroscopia elemental de difracción de rayos X (EDX). Las hojas y tallos de las poblaciones estudiadas mostraron características anatómicas e histoquímicas uniformes. Se describe por primera vez cómo se alcanza la succulencia de las hojas por el plegamiento de los tejidos evidenciado en un patrón de venación tridimensional. Se destaca la presencia de mesófilo isolateral-radial y parénquima acuífero como caracteres únicos para la especie. Se evidencian tricomas glandulares y parénquima en empalizada con contenidos complejos de fenoles, flavonoides, proteínas, lípidos, terpenos y alcaloides; así como depósitos de fenoles, lípidos y terpenos en la capa externa de la cutícula. El análisis EDX mostró idioblastos cristalíferos ricos en contenidos de Ca^{2+} y Na^+ . Los tallos se caracterizaron por presentar hipodermis y cámaras de aire en los estratos corticales y medulares. Estos caracteres anatómicos e histoquímicos de *L. humile* representan rasgos adaptativos a ambientes salinos de humedales de altura. Se discute su función en relación al ambiente y su potencial como fuente de genes de resistencia y de metabolitos interesantes para la industria cosmética y farmacéutica.

Palabras clave. Anatomía; estrategia adaptativa; histología; *Lycium*; morfología.

INTRODUCCIÓN

El género *Lycium* L. (tribu Lycieae Hunz., subfam. Solanoideae, Solanaceae), comprende aproximadamente 97 especies leñosas de ambientes áridos, semiáridos y salobres alrededor del mundo (Levin et al., 2011), algunas ampliamente reconocidas por sus usos alimenticios y medicinales (Yao et al., 2018). De estas especies, 27 se encuentran en Argentina (Bernardello, 2013). Una de estas especies, *Lycium humile* Phil., es conocida por varios nombres populares como bálsamo finito, chámpita, tomatillo, wicha, jume, sacha uva o waycha. Se trata de un sub-arbusto de hasta 20 cm de alto, que puede formar densas matas con flores blancas pentámeras solitarias y frutos negros, de tipo baya, que pueden ser consumidos como alimento (Rojas, 1991; Bahamonde et al., 2012; Bernardello, 2013; Bernardello, 2015; Cordero et al., 2020; Palchetti et al., 2021a).

Lycium humile es una especie halófila extrema, endémica del altiplano en las regiones de Puna y Prepuna de los Andes Centrales, donde crece entre los 2000 y 4000 m s.m. en las provincias Argentinas de Jujuy, Catamarca y Salta, en Bolivia y en Chile (Bahamondes et al., 2012; Palchetti et al., 2021). Se encuentra casi exclusivamente en vegas próximas a salares de altura, constituyendo un componente importante del ecosistema, en ambientes con alto

grado de salinidad, fluctuaciones de temperatura extremas, escasas precipitaciones y alta radiación ultravioleta (Cabrera, 1957; Tálamo et al., 2010; Bahamondes et al., 2012; Fernández et al., 2016; Carilla et al., 2018; Palchetti et al., 2020, 2021a, 2021b).

Los miembros del género *Lycium*, entre ellos *L. humile*, se caracterizan por presentar adaptaciones al xerofitismo y halofitismo (Bernardello, 2013). Metcalfe & Chalk (1972) citan para *Lycium* antecedentes generales sobre la anatomía foliar y caular. Por otra parte, Bernardello (1982), describió la anatomía de hojas y tallos de 29 especies del género que habitan la República Argentina y Chile, mencionando tallos con sifonostelas anfifloicas, parénquima rico en arenas de cristales, hojas generalmente anfiestomáticas con diversos tipos de estomas, mesófilo dorsiventral u homogéneo y cutícula foliar más gruesa en especies que viven en zonas secas y salitrosas. En tanto, Figueroa & Giménez (2015) señalaron para tallos de *L. athium* Bernardello, especie endémica de la provincia de Formosa, algunas adaptaciones al xerofitismo como elementos del xilema de pequeñas dimensiones y abundantes fibras. Finalmente, Palchetti et al. (2015, 2021b) y Rahman et al. (2021), describieron para *L. humile* la acumulación de ácido abscísico y prolina en el mesófilo y el desarrollo de parénquima acuífero

como caracteres adaptativos al medio salino, sugiriendo que se trata de una de las especies de Solanaceae más tolerante a la sal.

El cambio climático y el calentamiento global han acelerado la frecuencia y severidad de factores de estrés abiótico como la sequía, la salinidad, la radiación ultravioleta y las altas temperaturas (Liu et al., 2022). Se ha estimado que aproximadamente el 70% de la reducción del rendimiento de cultivos importantes se debe al impacto de estos factores ambientales (Wild, 2003). Este hecho, sumado al crecimiento de la población mundial por el cual se estima que para el año 2050 se necesitará un 70% más de provisión de alimentos (Tilman et al., 2011), ha alertado sobre la necesidad de encontrar alternativas que permitan realizar cultivos tradicionales bajo condiciones extremas de altas temperaturas, con poco riego, ampliando las superficies de cultivo a suelos empobrecidos, salinizados y poco favorables. En este contexto, especies adaptadas a ambientes extremos xéricos y salinos, como *L. humile*, que desarrollan estrategias anatómicas y fisiológicas para prosperar bajo condiciones de hipersalinidad, con déficit hídrico, temperaturas extremas, baja presión parcial de gases y alta radiación UV (Fhan & Cutler, 1992; Hashemm & Mohamed, 2020), se presentan como modelos para comprender

los mecanismos fisiológicos, morfológicos y moleculares de las respuestas al estrés, y como fuentes para la selección de genes que permitan mejorar la tolerancia de cultivos económicamente importantes (Ben Saad et al., 2010; Wani et al., 2017; Carrar & Di Iorio, 2022). Así, el objetivo del presente trabajo es identificar caracteres morfo-anatómicos y fitoquímicos de órganos vegetativos de *L. humile* asociados a la tolerancia a ambientes extremos de humedales salinos, a fin de evaluar su potencial como fuente de genes de resistencia para cultivos de importancia agronómica, así como para la obtención de metabolitos de interés comercial para la industria farmacéutica y cosmética.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

El material vegetal de *L. humile* fue colectado en febrero de 2018 en 4 poblaciones provenientes de las localidades de La Quebradita (población 682) departamento Ambato, Loro Huasi (693) departamento de Santa María y de las vegas próximas al salar de Antofalla en las localidades de Antofalla (población 703) y Botijuela (población 711) departamento de Antofagasta de la Sierra, en la provincia de Catamarca, Argentina (Fig. 1).

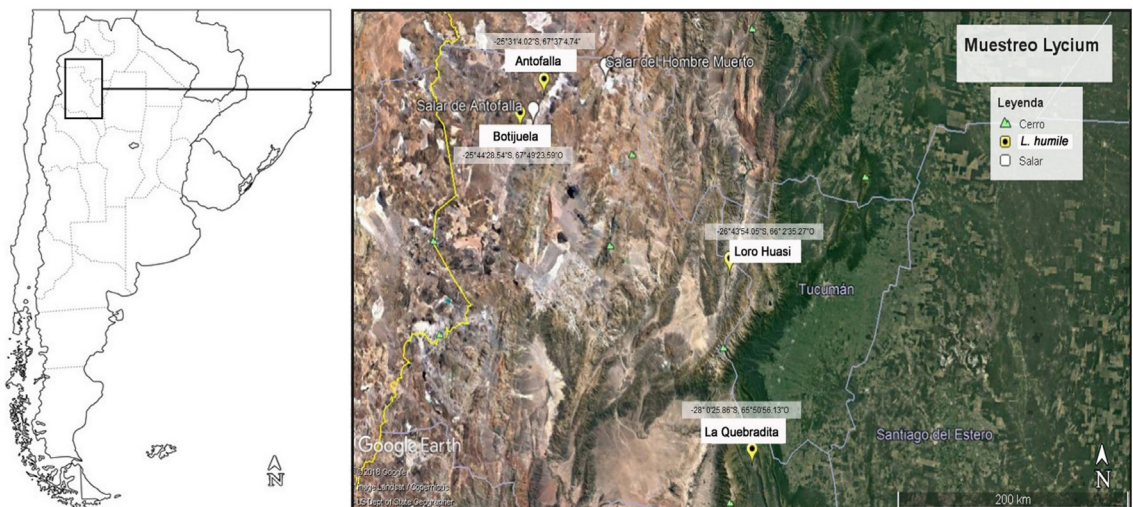


Fig. 1. *Lycium humile*. A, sitios de muestreo de diferentes poblaciones. Adaptado de Google Earth, image Landsat/Copernicus, Us Dept of State Geographer, ©Google. Figura en color en la versión en línea <https://www.ojs.darwin.edu.ar/index.php/darwiniana/article/view/1151/1313>

Las dos últimas localidades son consideradas como ambientes hipersalinos por su proximidad al salar.

De cada población se muestrearon 5 individuos incluyendo ejemplares de referencia que fueron depositados en la colección del INBIOFIV.

ARGENTINA. **Catamarca.** Depto. Ambato, Loc. La Quebradita (28° 0' 25,86"S, 65° 50' 56, 13" O, 3300 m s.m.), 22-II-2018 (fl), *Cuello 682* (INBIOFIV). Depto. Santa María, Loc. Loro Huasi (26° 43' 54,05" S, 66° 2' 35,27" O, 3300 m s.m.), 22-II-2018 (fl), *Cuello 693* (INBIOFIV). Depto. Antofagasta de la Sierra, Loc. Antofalla (25° 31' 4,02" S, 67° 37' 4,74" O, 3300 m s.m.), 20-II-2018 (fl), *Cuello 703* (INBIOFIV). Loc. Botijuela (25° 44' 28,54" S, 67° 49' 23,59" O, 3400 m s.m.), 20-II-2018 (fl), *Cuello 711* (INBIOFIV).

Estudios morfo-anatómicos e histoquímicos.

Microscopía óptica y fluorescencia

De los individuos de cada población se tomaron muestras de hojas y tallos aéreos. Parte de las muestras se fijaron en FAA (formol, alcohol etílico, ácido acético, agua, 100:300:50:35, V/V), en tanto otra parte del material se secó bajo sombra en un cuarto con ventilación o se utilizó fresco para el estudio histoquímico.

Para estudios epidérmicos y de arquitectura foliar, cinco hojas maduras de cada ejemplar fueron diafanizadas (Dizeo de Strittmatter, 1973), posteriormente teñidas con Violeta de Cresil y montadas en agua glicerina (1:1, V/V) (D'Ambrogio de Argüeso, 1986; Zarlavsky, 2014). Las descripciones para establecer la arquitectura foliar, vascularización, distribución y tipo de estomas se realizaron utilizando la terminología de Hickey (1979) y Ellis et al. (2009).

Para la caracterización anatómica, del material fijado en FAA se realizaron cortes con micrótopo rotativo Microm HM 315 utilizando soportes de cera odontológica (Mercado & Ponessa, 2021). Las secciones obtenidas se decoloraron con hipoclorito de sodio 50%, se lavaron sucesivas veces con agua destilada, se tiñeron con coloración doble sucesiva Azul Astra - Safranina y se montaron en agua:glicerina (1:1, V/V) (D'Ambrogio de Argüeso, 1986; Zarlavsky, 2014).

Para visualizar diferentes grupos químicos, se realizaron cortes de material fresco o seco previamente rehidratado en agua destilada

durante 10 min. Para la detección de flavonoides y ácidos hidroxicinámicos, las secciones se trataron con reactivo de Neu (2-aminoetil-difenillborinato, Sigma) 1% en MeOH absoluto (Neu, 1956) y KOH 10% (Liakopoulos, 2001), respectivamente. Los diferentes compuestos fueron detectados por su fluorescencia diferencial (Merck, 1980; Wagner & Bladt, 1996).

Para visualizar compuestos fenólicos y taninos, las secciones se trataron con FeCl₃ 10% en EtOH (Zarlavsky, 2014) y Vainillin ácido clorhídrico (Tapia Torres et al., 1999), respectivamente. Para la detección de lípidos se utilizó Sudan IV (D'Ambrogio de Argüeso, 1986) y para la identificación de terpenos y aceites esenciales el reactivo de Nadi (David & Carde, 1964). Mucilagos, almidón y azúcares libres fueron identificados por su tinción diferencial con Azul de Toluidina O (Heslop-Harrison & Heslop-Harrison, 1981), Lugol (IKI) y el reactivo de Schiff (PAS) (Ruzin, 1999), respectivamente. Finalmente, fucsina ácida y ácido pícrico se utilizaron para la detección de proteínas (Johansen, 1940) y el reactivo de Dragendorff para la identificación de alcaloides (Zarlavsky, 2014). Secciones de material fresco o rehidratado sin ningún tipo de tratamiento se utilizaron con fines comparativos como control.

Los preparados se observaron en un microscopio estereoscópico Olympus SZ, un microscopio óptico Karl Zeiss Axiostar plus con filtro de luz polarizada y cámara fotográfica Zeiss Axiocam ERc 5s adosada, y un microscopio óptico de fluorescencia Nikon Optiphot UV-1A: filtro de excitación 365 nm y filtro de barrera 400 nm.

Las mediciones de área y de espesores de tejidos se realizaron utilizando el software AxiostarPlus 4.8.2 (Carl Zeiss Ltd, Herts, UK), considerando n = 30 por individuo para cada parámetro cuantificado.

Microscopía electrónica de barrido (MEB) y espectroscopia elemental de difracción de rayos X (EDX)

Para la observación de las superficies epidérmicas y el análisis elemental se trabajó con material seco sin recubrimiento. Muestras de hojas enteras y cortes gruesos de 5 mm de espesor realizados a mano alzada, sin ningún tipo de tratamiento fueron adheridas a soportes de aluminio utilizando discos adhesivos de cinta de carbono.

Las observaciones y espectros EDX se realizaron en un microscopio electrónico de barrido ZEISS SUPRA-55VP (Carl Zeiss NTS GmbH, Germany) acoplado a un detector elemental de dispersión de rayos X (SiLi model INCA PentaFETx3Oxford Instrument), utilizando el software INCA SUITE V.4.13 en el Centro de Investigación y Servicios de Microscopía Electrónica (CIME), CONICET-UNT. Se trabajó a una distancia de 8 mm y la adquisición se realizó a 20Kv. La cuantificación elemental se calculó automáticamente por el software en base a estándares previamente incorporados.

Los análisis de EDX fueron repetidos para tres individuos por población, calculando los porcentajes de composición elemental para puntos seleccionados de los tricomas glandulares a nivel de la cabeza secretora, en el parénquima acuífero y en los idioblastos cristalíferos de transcortes de las hojas. Se utilizaron los porcentajes de masa elemental normalizada para realizar la comparación dentro y entre las muestras considerando siempre el mismo conjunto de elementos.

Análisis estadísticos

Para los parámetros cuantificados se calcularon los valores promedio y desvío estándar considerando cada población. Se realizaron análisis de la varianza y test de Tukey para comparaciones múltiples con un nivel de significación $\alpha = 0.05$, utilizando el paquete estadístico Infostat (versión 1.1) (Di Rienzo et al., 2015).

RESULTADOS

Lycium humile es un sub-arbusto de hasta 20 cm de alto, que puede encontrarse formando densas matas. Presenta tallos amarillo grisáceos, inermes, glabros, ramificados, con ramas aéreas atenuadas hacia el ápice (Fig. 2A-B) y otras ramas subterráneas estoloníferas.

Las hojas son leptófilas de aspecto terete, con dimensiones uniformes entre las poblaciones analizadas (Tabla 1), simples alternas a veces fasciculadas, carnosas, obovadas, simétricas, con bases simétricas cuneada o convexa, margen entero y ápice convexo redondeado (Fig. 3A-B).

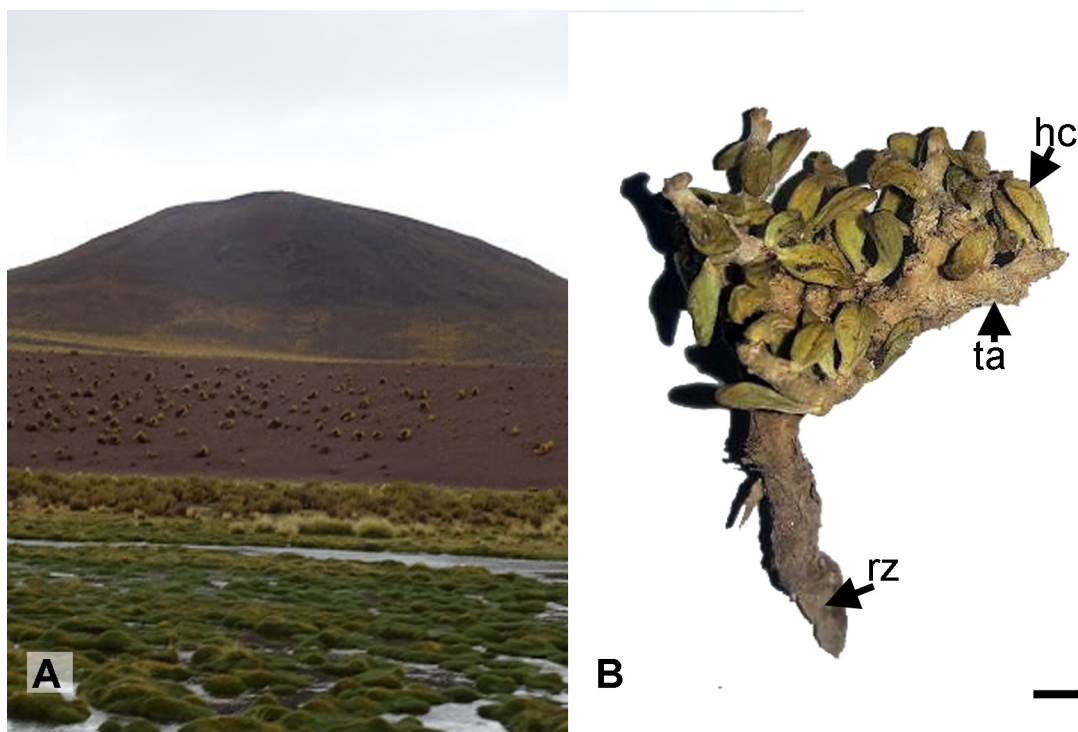


Fig. 2. *Lycium humile*. **A**, aspecto de vega en el Salar del Hombre Muerto, Antofalla (Catamarca). **B**, detalle de la rama en estado vegetativo. Referencias: hc, hoja carnosa; ta, tallo aéreo; rz, rizoma. Escala: 1 cm. Figura en color en la versión en línea <https://www.ojs.darwin.edu.ar/index.php/darwiniana/article/view/1151/1313>

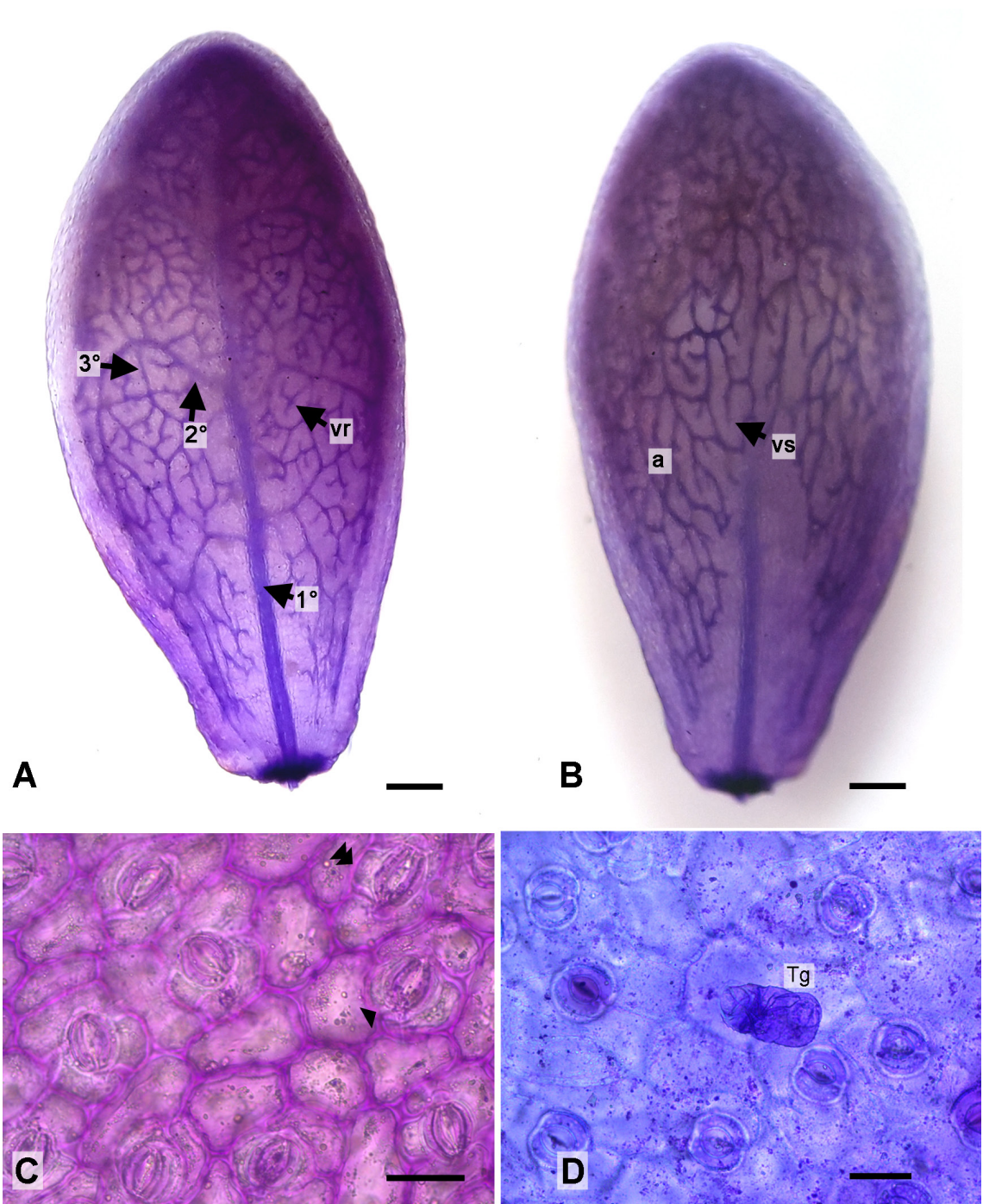


Fig. 3. *Lycium humile*. **A-B**, diafanizado de hoja en haz y envés, respectivamente. **C**, epidermis superior. **D**, epidermis inferior. Referencias: 1°, vena primaria; 2°, vena de segundo orden; 3°, vena de tercer orden; a, areola; punta de flecha, estoma anisocítico; punta de flecha doble, estoma hemibraquiparacítico; Tg, tricoma glandular; vs, venula simple; vr, venula ramificada. Escalas: A-B, 500 µm; C-D, 50 µm. Figura en color en la versión en línea <https://www.ojs.darwin.edu.ar/index.php/darwiniana/article/view/1151/1313>

Tabla 1. Dimensiones foliares de diferentes poblaciones de *Lycium humile*.

Población	Longitud (mm)	Ancho (mm)
682	7,27 ± 1,08 ^a	2,94 ± 0,51 ^a
693	6,23 ± 1,00 ^a	2,90 ± 0,37 ^a
703	6,33 ± 1,30 ^a	1,92 ± 0,05 ^a
711	6,09 ± 0,92 ^a	2,82 ± 0,72 ^a

Medias con igual letra no presentan diferencias significativas ($p > 0,05$). Los valores expresan media ± desvío estándar. La Quebradita (población 682), Loro Huasi (población 693), Antofalla (población 703) y Botijuela (población 711).

La venación primaria es pinnada reticulodroma, en la cual las venas secundarias se ramifican en un retículo de venas de menor orden. La vena primaria es única y masiva, nace en la base de la lámina y presenta un recorrido recto hacia el ápice. Se observan 6-8 venas secundarias que se unen a la vena primaria formando ángulos rectos a agudos, sin llegar al margen. Las venas secundarias acompañan el plegamiento involuto de la hoja. La venación terciaria, constituye el menor orden de venación, presenta un patrón reticulado irregular que se pliega de forma revoluta hacia la epidermis inferior. Se anastomosan en variados ángulos con otras terciarias, dando lugar a la formación de areolas poligonales irregulares, de desarrollo moderado, completas e incompletas con una, dos

o más vénulas simples o ramificadas hasta dos veces (Fig. 3A-B).

En vista paradermal, las hojas son anfiestomáticas, con células epidérmicas poliédricas isodiamétricas, cuadrangulares de paredes anticlinales rectas a ligeramente curvadas, engrosadas en la epidermis superior con respecto a la inferior. Presentan estomas anomocíticos de dimensiones y tamaños poco variables entre las poblaciones analizadas, siempre en mayor densidad sobre la epidermis superior (Tabla 2, Fig. 3C-D). Ambas epidermis muestran tricomas glandulares, escasos sobre la lámina y más frecuentes hacia la base de la hoja, formados por un pie uni- a bicelular y una cabezuela pluricelular biseriada de hasta tres pares de células (Fig. 3D y 4H).

En transcorte, la hoja muestra contorno oval a subtriangular con cutículas delgadas ($6,83 \pm 3,83 \mu\text{m}$). En la sección basal de la hoja la epidermis es uniestrata, mientras que, en la sección media y apical se encuentra acompañada por una hipodermis también uniestrata (Fig. 4A-E). Las células epidérmicas son poliédricas de aspecto cuadrangular de mayores dimensiones que las del estrato hipodérmico (Tabla 3, Fig. 4F). Se observan estomas ligeramente elevados respecto de la superficie epidérmica, con células oclusivas con un marcado reborde cuticular (Fig. 4G) y tricomas glandulares (Fig. 4H).

Tabla 2. Caracteres epidérmicos foliares de diferentes poblaciones de *Lycium humile*.

Población	Epidermis superior			Epidermis inferior			
	Densidad Estomas /mm ²	Longitud Estomas (μm)	Ancho Estomas (μm)	Densidad Estomas mm ²	Longitud Estomas (μm)	Latitud Estomas (μm)	Densidad Tricomas /mm ²
682	109,42 ± 31,40 ^{ab}	36,15 ± 2,64 ^{bc}	31,59 ± 3,54 ^b	71,52 ± 14,51 ^{ab}	40,93 ± 3,25 ^a	34,38 ± 3,02 ^a	3,81 ± 4,57 ^a
693	109,64 ± 30,96 ^{ab}	31,90 ± 5,11 ^a	29,65 ± 3,45 ^a	84,08 ± 23,88 ^b	35,19 ± 3,24 ^a	34,78 ± 3,38 ^a	3,36 ± 3,85 ^a
703	119,28 ± 30,54 ^b	38,10 ± 4,39 ^c	34,72 ± 4,31 ^c	78,70 ± 22,49 ^{ab}	42,79 ± 4,92 ^a	36,28 ± 4,27 ^a	3,81 ± 4,21 ^a
711	90,58 ± 30,97 ^a	34,90 ± 3,59 ^b	33,19 ± 4,21 ^{bc}	67,04 ± 20,24 ^a	35,67 ± 3,99 ^a	34,29 ± 4,00 ^a	4,04 ± 5,14 ^a

Medias con igual letra no presentan diferencias significativas ($p > 0,05$). Los valores expresan media ± desvío estándar. La Quebradita (población 682), Loro Huasi (población 693), Antofalla (población 703) y Botijuela (población 711).

Tabla 3. Espesor de tejidos en transcorte de lámina de diferentes poblaciones de *Lycium humile*.

Población	Espesor de lámina (mm)	Epidermis (μm)	Hipodermis (μm)	Empalizada (μm)
682	1,45 ± 0,29 ^a	49,86 ± 5,21 ^a	31,44 ± 5,76 ^a	224,00 ± 58,45 ^a
693	2,04 ± 0,41 ^a	74,07 ± 17,92 ^b	32,49 ± 6,61 ^{ab}	252,21 ± 42,56 ^a
703	1,68 ± 0,32 ^a	47,33 ± 9,40 ^a	38,23 ± 4,54 ^b	210,46 ± 24,58 ^a
711	1,82 ± 0,51 ^a	42,97 ± 6,54 ^a	28,26 ± 6,02 ^a	249,83 ± 70,76 ^a

Medias con igual letra no presentan diferencias significativas ($p > 0,05$). Los valores expresan media ± desvío estándar. La Quebradita (población 682), Loro Huasi (población 693), Antofalla (población 703) y Botijuela (población 711).

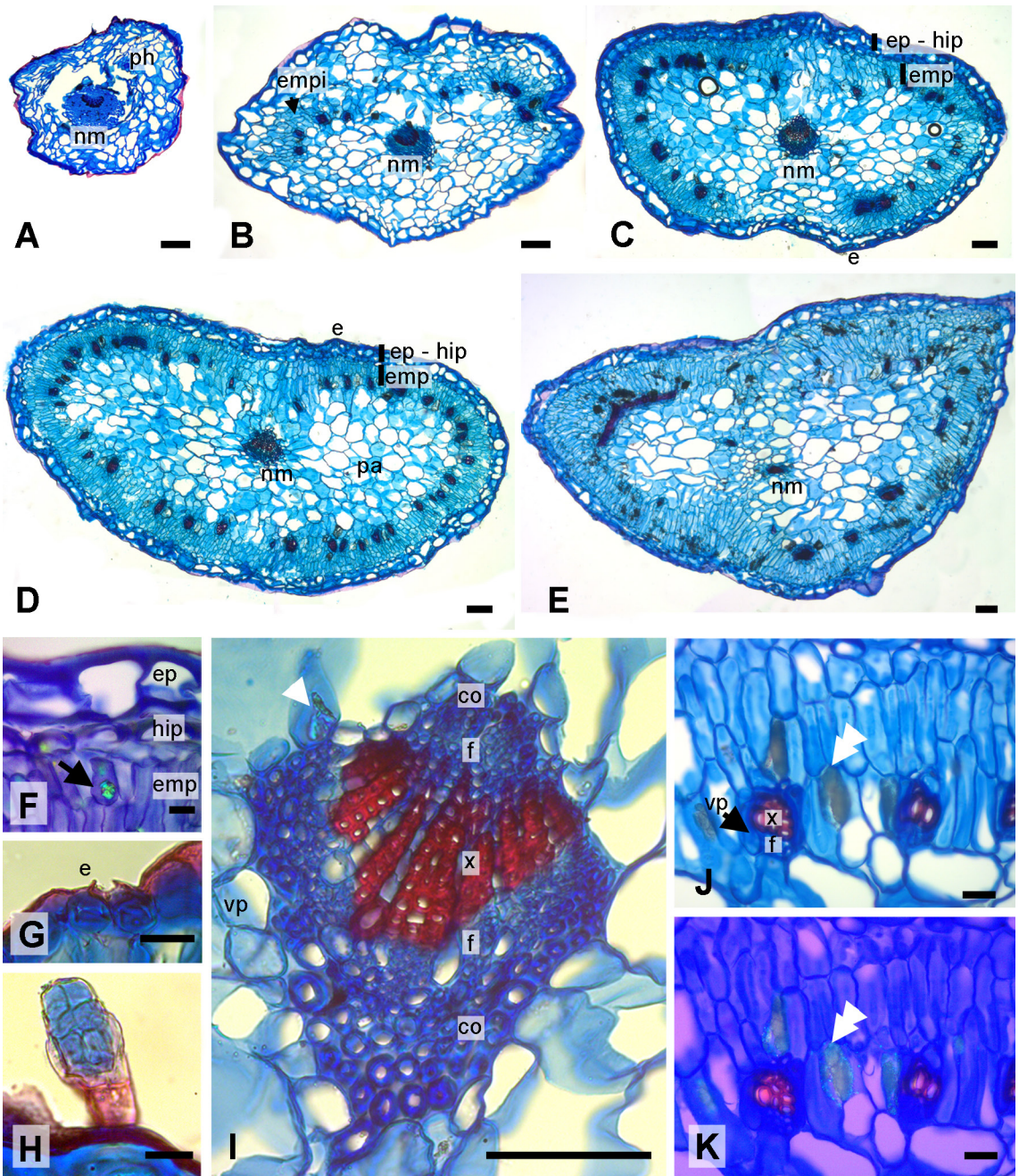


Fig 4. *Lycium humile*. Transcorte de hoja. **A-C**, región basal. **D**, sección media. **E**, sección apical. **F**, epidermis e hipodermis bajo luz polarizada. **G**, estoma. **H**, tricoma glandular. **I**, haz vascular del nervio medio. **J-K**, nervios de menor orden y arenas de oxalato de calcio bajo luz blanca y polarizada respectivamente. Referencias: co, colénquima; doble punta de flecha; idioblasto cristalífero; emp, empalizada; empi, empalizada incipiente; ep, epidermis; f, floema; flecha, grano de almidón; hip, hipodermis; pa, parénquima acuífero; ph, parénquima homogéneo; punta flecha, cristales de oxalato de calcio; vp, vaina parenquimática; x, xilema. Escalas: A-E, I, 100 μ m; F-H, J-K, 20 μ m. Figura en color en la versión en línea <https://www.ojs.darwin.edu.ar/index.php/darwiniana/article/view/1151/1313>

En la base de la hoja, el mesófilo es homogéneo formado por células parenquimáticas con paredes delgadas (Fig. 4A) o con un parénquima en empalizada incipiente hacia la cara adaxial (Fig. 4B). Hacia la región media se evidencia un plegamiento involuto de los tejidos internos y una mayor diferenciación de los tejidos del mesófilo con un parénquima en empalizada bi- a triestrato, conformado por células cortas de disposición periférica, entorno a un parénquima acuífero central. El parénquima en empalizada es continuo en los márgenes y se halla interrumpido adaxial y abaxialmente a nivel del nervio medio (Fig. 4C). Finalmente, en la sección media y apical de la lámina foliar el plegamiento es completo, el parénquima en empalizada forma un anillo continuo o solo interrumpido adaxialmente (Fig. 4D-E).

El nervio medio, de posición central, presenta una vaina parenquimática en torno a un único haz biclateral con casquetes de colénquima hacia ambos polos floemáticos, siendo de mayor desarrollo

el abaxial (Fig. 4I). Los haces menores colaterales que también presentan vaina parenquimática, se disponen linealmente o curvados hacia la epidermis inferior en la base de la hoja (Fig. 4A-C y J); mientras que, en la sección media y apical de la hoja se acomodan periféricamente con polos xilemáticos exoscópicos equidistantes siguiendo el plegamiento involuto de los tejidos (Fig. 4D-E).

En el parénquima en empalizada se intercalan idioblastos cristalíferos con arenas cristalinas y cristales de oxalato de calcio de forma variable (Fig. 4F, I y J-K).

En resumen, para los caracteres anatómicos cuantificados, solo se observaron diferencias en los espesores de la epidermis e hipodermis, no así en el espesor de lámina y del tejido en empalizada calculado para la sección media de la hoja (Tabla 3), indicando una alta uniformidad morfológica.

La Tabla 4 muestra los resultados de los ensayos histoquímicos realizados en los tejidos foliares, los cuales fueron idénticos para las diferentes poblaciones.

Tabla 4. Histoquímica en transcurso de hoja de *L. humile*. En el caso de la autofluorescencia + indica presencia y - indica ausencia. En tanto para los test histoquímicos + indica positivo, ++ indica positivo con mayor intensidad en la reacción o coloración y - indica negativo en comparación con el control no tratado. *indica fluorescencia débil o secundaria enmascarada por la co-ocurrencia con otros compuestos.

Reactivo/ Colorante	Compuesto detectado	Tejidos foliares					
		Tricoma glandular	Cutícula Epidermis	Hipodermis	Vasos xilemáticos	Empalizada	Parénquima acuífero
Autofluorescencia	Clorofilas (rojo)	-	-	-	-	+	-
	Ácidos hidroxycinámicos (azul)	+	+	+	+	-	-
	Flavonoides/flavonas (amarillo-anaranjado)	+	-	-	-	-	-
KOH 5%	Ácidos hidroxycinámicos (azul intenso)	+	++	+	+	-	-
	Ácidos hidroxycinámicos (azul)	+	+	+	+	-	-
Reactivo de Neu's	Flavonoides/ flavonas (amarillo-anaranjado)	++	++	-	++	-	-
FeCl ₃	Fenoles	+	+	-	-	-	-
Vainillin HCl	Taninos	-	-	-	-	-	-
Sudan IV	Lípidos	-	+	-	-	+	-
NADI	Terpenos	+	+	-	-	+	-
Azul de Toluidina O	Polisacáridos y mucilagos	-	-	-	-	-	-
PAS	Azúcares libres	-	-	-	-	-	-
Lugol	Almidón	-	-	-	-	+	-
Fucsina ácida/ ácido picrico	Proteínas	+	-	-	-	+	-
Dragendorff	Alcaloides	+	-	-	-	+	-

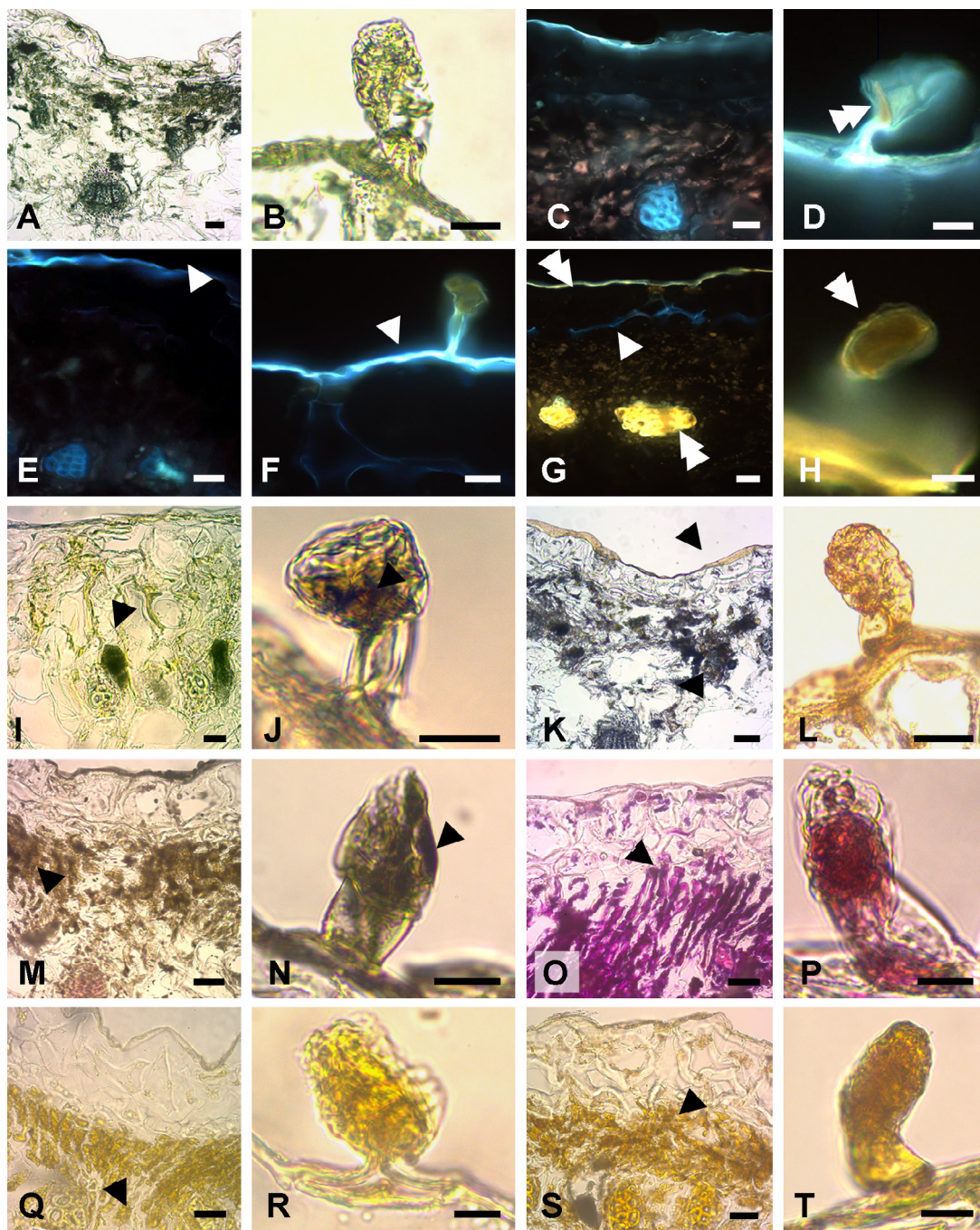


Fig. 5. *Lycium humile*. Histoquímica foliar. Mesófilo (A, C, E, G, I, K, M, O, Q, R) y Tricoma glandular (B, D, F, H, J, L, N, P, R, T). **A-B**, tejido fresco control. **C-D**, autofluorescencia bajo luz UV. **E-F**, fluorescencia luego de tratamiento con KOH 5% para la detección de ácidos hidroxicinámicos. **G-H**, reactivo de Neu para la detección de flavonoides (doble punta de flecha) y otros compuestos fenólicos (punta de flecha). **I-J**, reacción con FeCl_3 para la identificación de fenoles. **K-L**, coloración con Sudan IV para lípidos. **M-N**, reactivo de NADI para la identificación de terpenos y aceites esenciales. **O-P**, fucsina ácida para la detección de proteínas. **Q-R**, ácido pícrico, indicador de proteínas. **S-T**, reactivo de Dragendorff para evidenciar alcaloides. Referencias: punta de flecha, reacción positiva. Escalas: A, C, E, G, I, K, M, O, Q, R, 50 μm ; B, D, F, H, J, L, N, P, R, T, 20 μm . Figura en color en la versión en línea <https://www.ojs.darwin.edu.ar/index.php/darwiniana/article/view/1151/1313>

El tejido fresco es verde, característico de la clorofila presente en las células del parénquima en empalizada y con contenido ámbar-amarillento en los tricomas glandulares y sobre las cutículas (Fig. 5A-B). Bajo luz UV se evidencia auto fluorescencia rojiza de la clorofila y azul en las cutículas, paredes tangenciales externas de las células hipodérmicas (como fluorescencia secundaria), paredes de los vasos xilemáticos y en parte del contenido de los tricomas glandulares (Fig. 5C-D). Estos últimos fluorescen ligeramente amarillo-anaranjado a nivel de la cabeza secretora (Fig. 5D). En presencia de KOH hay un ligero aumento en la fluorescencia azul en los diferentes tejidos (Fig. 5E-F), en tanto el reactivo Neu acentuó la fluorescencia amarillo-anaranjada de los tricomas glandulares, reflejó un cambio a amarillo en las cutículas y paredes de los vasos xilemáticos con una ligera fluorescencia secundaria azul, y realzó la fluorescencia azul de las paredes tangenciales externas de la hipodermis (Fig. 5G-H). La reacción para fenoles con FeCl_3 reveló resultados positivo en la capa externa de la

cutícula, en los idioblastos cristalíferos próximos a los haces vasculares y en parte del contenido del tricoma glandular (Fig. 5I-J). No se detectó la presencia de taninos (Tabla 4). Se reveló la presencia de compuestos lipídicos y terpénicos en las cutículas, como gotas contenidas en las células del parénquima en empalizada, y en parte del contenido de los tricomas glandulares (Fig. 5K-N). Polisacáridos y otros azúcares reductores no fueron evidenciados, no obstante, algunos granos de almidón aislados se encontraron dispersos en el parénquima en empalizada. Proteínas (Figs. 5O-R) y alcaloides (Figs. 5S-T) fueron detectados en el parénquima en empalizada y en los tricomas glandulares.

Los análisis elementales de los diferentes sitios de colección permitieron determinar la presencia de Na^+ y Ca^{2+} en los idioblastos cristalíferos, en menor medida en el parénquima acuífero y en los tricomas glandulares, sin mayores diferencias en cuanto a la acumulación de estos elementos entre las poblaciones bajo estudio (Tabla 5, Fig. 6A-E).

Tabla 5. Espectros EDX de tejidos foliares de diferentes poblaciones de *L. humile*.

Tejido	Población	C	O	Na	Mg	Si	P	S	Cl	K	Ca
Parénquima –acuífero	682	73,64 ± 12,03 b	11,95 ± 8,39 a	1,29 ± 1,23 a	1,13 ± 0,81 a	nd	0,04 ± 0,05 a	1,09 ± 1,17 a	8,64 ± 9,08 a	0,53 ± 0,64 a	1,24 ± 1,34 a
	693	35,72 ± 7,13 ab	40,5 ± 1,46 bc	2,23 ± 2,99 a	3,25 ± 0,55 b	0,02 ± 0,03 a	0,02 ± 0,03 a	2,53 ± 2,44 a	8,73 ± 3,11 a	1,21 ± 0,61 a	4,60 ± 3,95 a
	703	77,00 ± 14,42 b	14,46 ± 13,27 ab	1,37 ± 0,62 a	1,05 ± 0,53 a	0,09 ± 0,09 a	0,01 ± 0,02 a	0,96 ± 0,25 a	3,71 ± 1,86 a	0,44 ± 0,10 a	0,62 ± 0,60 a
	711	24,96 ± 35,30 a	43,12 ± 14,95 c	3,13 ± 0,03 a	4,31 ± 0,69 b	0,17 ± 0,24 a	0,06 ± 0,08 a	2,89 ± 1,22 a	17,84 ± 16,62 a	1,31 ± 1,20 a	2,23 ± 1,82 a
Idioblasto cristalífero	682	62,92 ± 19,05 a	13,20 ± 20,40 a	7,47 ± 8,38 a	0,31 ± 0,48 a	nd	0,04 ± 0,07 a	2,69 ± 3,65 a	9,39 ± 9,57 a	0,06 ± 0,07b	3,05 ± 4,08 a
	693	10,82 ± 12,55 a	39,56 ± 13,43 a	3,54 ± 1,60 a	1,17 ± 1,47 a	nd	0,06 ± 0,12 a	8,77 ± 10,62 a	2,78 ± 2,35 a	0,95 ± 0,92 a	33,31 ± 15,58 a
	703	41,96 ± 35,89 a	17,18 ± 18,18 a	8,48 ± 13,45 a	0,23 ± 0,14 a	0,02 ± 0,03 a	nd	1,26 ± 2,37 a	15,20 ± 21,98 a	0,09 ± 0,06 a	15,24 ± 22,01 a
	711	26,17 ± 32,04 a	22,15 ± 24,46 a	10,29 ± 12,72 a	0,21 ± 0,25 a	0,03 ± 0,06 a	0,02 ± 0,04 a	0,37 ± 0,24 a	21,75 ± 29,80 a	0,12 ± 0,12 a	18,58 ± 21,45 a
Tricoma	682	65,61 ± 10,87 b	26,03 ± 6,34 a	0,95 ± 0,62 a	0,73 ± 0,28 a	0,32 ± 0,23 a	0,16 ± 0,10 a	0,53 ± 0,34 a	4,20 ± 2,73 a	0,4 ± 0,22 ab	0,69 ± 0,26 a
	693	43,35 ± 19,15 ab	34,63 ± 4,88 a	0,38 ± 0,06 a	0,69 ± 0,37 a	0,75 ± 0,69 a	0,37 ± 0,34 ab	1,63 ± 0,89 a	7,00 ± 4,88 ab	0,41 ± 0,30 ab	8,25 ± 9,61 ab
	703	70,19 ± 4,53 b	24,42 ± 4,59 a	0,93 ± 0,13 a	0,42 ± 0,08 a	0,88 ± 0,39 a	0,04 ± 0,04 a	0,38 ± 0,04 a	1,37 ± 0,22 a	0,17 ± 0,06 a	0,95 ± 0,48 ab
	711	18,42 ± 23,78 a	41,86 ± 12,61 a	1,13 ± 0,51 a	3,59 ± 1,44 b	8,72 ± 4,58 b	0,72 ± 0,23 b	2,52 ± 1,61 a	11,57 ± 2,26 b	0,78 ± 0,22 b	8,48 ± 2,87 b

Los valores de los elementos se expresan como promedios de porcentajes de masa elemental normalizada. Medias con igual letra indican diferencias no significativas ($p > 0,05$) entre las poblaciones. Los valores expresan media ± desvío estándar. La Quebradita (población 682), Loro Huasi (población 693), Antofalla (población 703) y Botijuela (población 711).

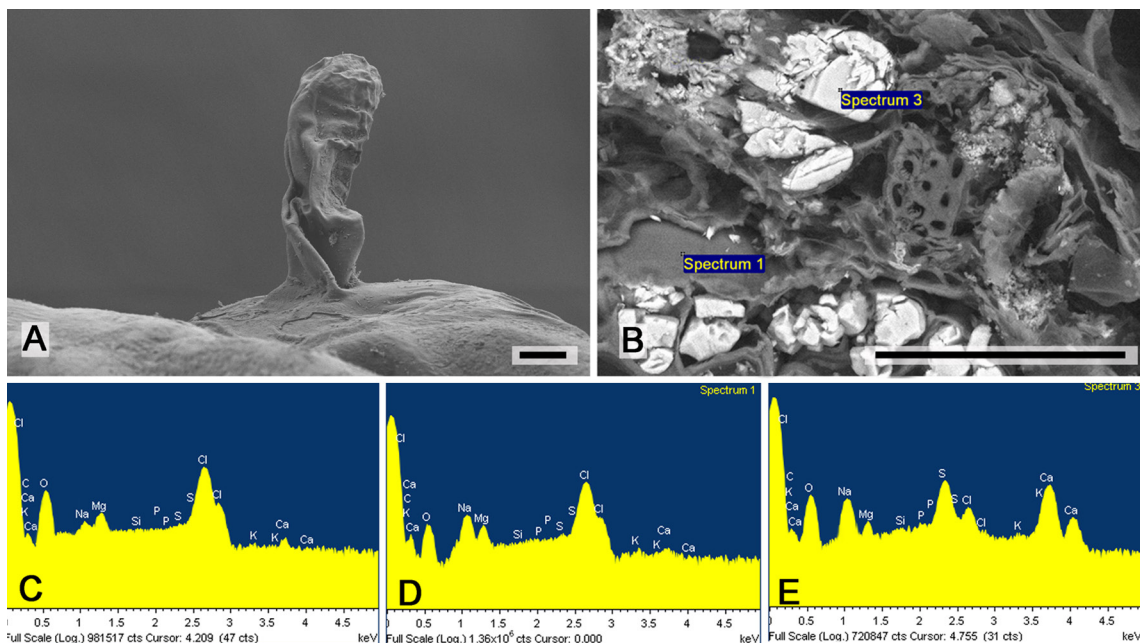


Fig. 6. *Lycium humile*. MEB (A, B) y EDX (C, D, E) de tejidos foliares. **A, C**, tricoma glandular. **B**, mesófilo con parénquima acuífero e idioblastos cristalíferos. **D, E**, espectros EDX del parénquima acuífero e idioblastos cristalíferos. Escalas: A, 10 μm ; B, 100 μm . Figura en color en la versión en línea <https://www.ojs.darwin.edu.ar/index.php/darwiniana/article/view/1151/1313>

Los tallos presentaron sección circular con crecimiento secundario temprano (Fig. 7A). La epidermis uniestrata es frágil membranacea con tricomas glandulares y escasos estomas anomocíticos, restringidos a los segmentos jóvenes del tallo, se evidencia una hipodermis conformada por células de mayores dimensiones que las de la epidermis subyacente (Fig. 7B-C). Cortex con 3-5 estratos de aerénquima con cámaras de aire, 6-7 estratos de parénquima acuífero de disposición radial de células con paredes delgadas, de grandes dimensiones en relación al resto de las células corticales y 9-12 estratos de parénquima aerénquimático que forma un segundo nivel de cámaras de aire (Fig. 7A). A partir de este último estrato se desarrollan ramificaciones laterales (Fig. 7D) y la peridermis en las secciones basales del tallo. El sistema vascular se encuentra conformado por una estela anfifloica, en la que el floema externo e interno presentaron abundante parénquima y polos aislados de elementos de conducción. A continuación del floema externo se observa un anillo cambial, xilema continuo formando un anillo con abundantes

fibra y elementos de vaso de $10,71 \pm 8,53 \mu\text{m}$ de diámetro, sin diferencias significativas entre las poblaciones estudiadas. La médula aerénquimática mostró aspecto similar al cortex interno (Fig. 7E). Gran cantidad de idioblastos cristalíferos con arenas de cristales de oxalato de calcio se evidenciaron en el aerénquima interno, en el floema y la médula.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Lycium humile es considerada una especie halófila que habita ambientes extremos, hipersalinos, de alta montaña caracterizados por una intensa radiación ultravioleta, baja presión parcial de oxígeno, déficit hídrico y temperaturas diarias extremas (Farías, 2020; Palchetti et al., 2021a). Muestra un hábito de crecimiento postrado formador de matas con hojas suculentas (Bahamonde et al., 2012; Bernardello, 2013; Bernardello, 2015; Palchetti et al., 2021a).

En el presente aporte se describe por primera vez la arquitectura foliar de *L. humile* con venas

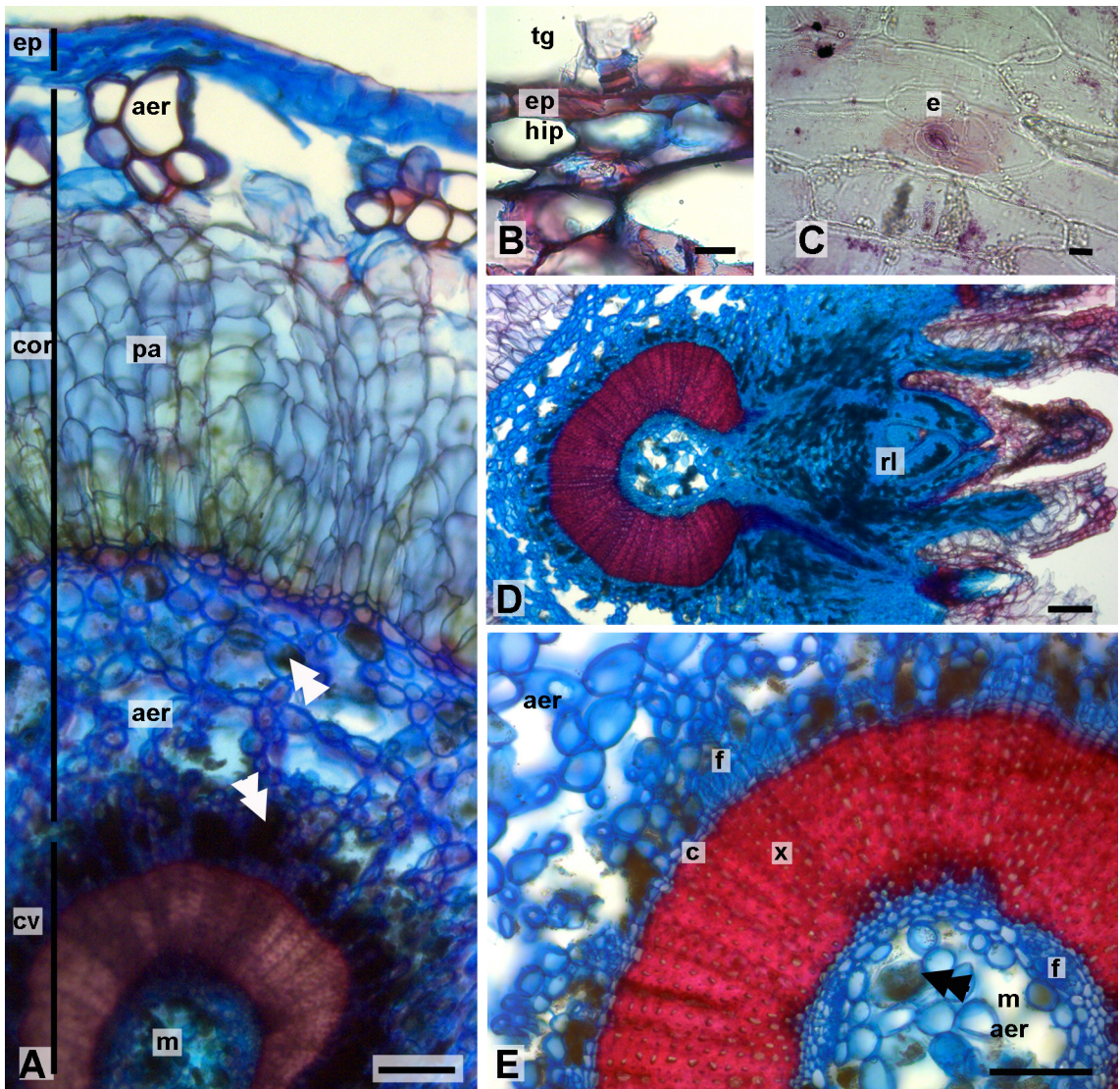


Fig. 7. *Lycium humile*. Transcorte de tallo. **A**, aspecto general. **B**, epidermis en transcorte con tricoma glandular. **C**, vista superficial de la epidermis con estoma anomocítico. **D**, ramificación lateral originada a partir del cortex interno. **E**, cilindro vascular. Referencias: aer, aerénquima; cor, cortex; cv, cilindro vascular; doble punta de flecha; arenas cristalinas; e, estoma; ep, epidermis; f, floema; hip, hipodermis; m, medula; pa, parénquima acuífero; rl, ramificación lateral; tg, tricoma glandular; x, xilema. Escalas: A, C, E, 100 μ m; B-C, 20 μ m. Figura en color en la versión en línea <https://www.ojs.darwin.edu.ar/index.php/darwiniana/article/view/1151/1313>

secundarias acompañando un plegamiento involuto de la hoja necesario para alcanzar la succulencia. Esta venación en tres dimensiones, con haces vasculares perisféricos exoscópicos (con el xilema siempre de disposición externa), equidistantes, formando un anillo en el cual el nervio medio participa, responde a un patrón de vascularización

tridimensional de hojas succulentas de tipo III según la clasificación de Melo-de-Pinna et al. (2014 y 2016) y Hernández-Lopes et al. (2016). Este sistema, en el que las venas están en más de un plano de la hoja, permitiría aumentar la succulencia manteniendo una mayor conectividad hidráulica de los tejidos periféricos (Ogburn & Edwards, 2018).

La variación en la morfología y las estrategias desplegadas para alcanzar la succulencia en las hojas de numerosas plantas refleja la diversidad de linajes en los que este carácter ha evolucionado, sin embargo, poco se conoce sobre la regulación molecular de dicho carácter (Heyduk, 2021). Las observaciones disponibles se limitan a relativamente pocos taxones dentro de las Asteraceae, Oxalidaceae, Portulacaceae, Aizoaceae Caryophyllales, y en varias familias de monocotiledóneas como Agavaceae, Iridaceae, Orchidaceae y Xanthorrhoeaceae, donde el desarrollo de la venación tridimensional parece variar según el grupo taxonómico (Heyduk et al. 2016; Melo-de-Pinna et al., 2014, 2016; Hernandez-Lopes et al., 2016; Ogura et al., 2018; Ogburn & Edwards, 2018; Heyduk, 2021).

En cuanto al número y distribución de estomas, en las poblaciones analizadas se observó una mayor densidad de estomas en la epidermis superior. Bernardello (1982) menciona que dentro del género las especies suelen ser anfiestomáticas con mayor densidad de estomas en la cara inferior, aunque según este autor el tipo y número de estomas no revisten de valor taxonómico. Palchetti et al. (2021a) informaron para *L. humile* un índice estomático idéntico para la epidermis superior con respecto a la inferior, diferencia que podría deberse a una disminución en el tamaño y aumento en el número de células de la epidermis inferior con respecto a la superior resultando en un índice estomático similar, pero con diferencias en términos de densidad.

Si bien Bernardello (1982) sugirió que especies de *Lycium* que viven en zonas secas y salitrosas presentan cutículas foliares más gruesas, *L. humile* mostró cutículas delgadas en comparación a los esquemas presentados por este autor para *Lycium infaustum* Miers, como principal ejemplo.

El mesófilo isolarial-radial con parénquima acuífero central de *L. humile* constituye una característica única diferente a los mesófilos dorsiventrals y homogéneos descriptos para otras especies del género (Bernadello, 1982; Metcalfe & Chalk, 1972). La succulencia de las hojas debida al parénquima acuífero, antes citado por Palchetti et al. (2021a) y el aerénquima en tallos aéreos de *L. humile*, son rasgos asociados a la tolerancia al ambiente de humedales salinos de altura. El parénquima acuífero además de funcionar como una reserva de agua, secuestraría

el exceso de Na^+ que tiende a acumularse a nivel celular en los tejidos (Grigore & Toma, 2017) y compartimentalizaría estos iones en las vacuolas para mantener su concentración en el citoplasma a niveles tolerables (Flowers & Colmer, 2015). Sin embargo en el presente trabajo se detectó una mayor presencia de Na^+ y Ca^{2+} en los idioblastos cristalíferos, los cuales acumularon sales o cristales de estos elementos, que aunque estuvieron presentes en el parénquima acuífero, parecen estar diluidos o menos concentrados.

Mediante histoquímica se detectó la presencia de proteínas, fenoles y flavonoides en hojas. Palchetti et al. (2021a) y Rahman et al. (2021) citan para *L. humile*, al igual que para otras Solanaceae como la papa (*Solanum tuberosum* L.), el tomate (*Solanum lycopersicum* L.), el pimiento (*Capsicum* spp); y para otras especies de *Lycium* como *L. barbarum* L. (Zhang et al., 2019; Li et al., 2022) y *L. ruthenicum* Murr (Li et al., 2019, 2022) la presencia de prolina, proteína asociada a mecanismos de tolerancia a ambientes salinos. Este aminoácido, junto a los fenoles y flavonoides, actuaría como agente antioxidante secuestrador de especies reactivas del oxígeno causantes de daño oxidativo y como osmoprotector (Ozgun et al., 2013; Flowers & Colmer, 2015; Slama et al., 2015; Ahammed et al., 2018; Alam et al., 2019; Reginato et al., 2019). Además, los fenoles y flavonoide son reconocidos filtros naturales frente a la radiación ultravioleta (Li et al., 2023) y cumplen numerosas funciones de defensa frente a organismos patógenos y otros factores abióticos de estrés (Kumar et al., 2020).

Los cristales de oxalato de calcio parecen ser un carácter común en el género y la familia (Metcalfe & Chalk, 1972; Bernardello, 1982), pero no fueron anteriormente descritos para esta especie. Es importante destacar que la formación de cristales de calcio es también considerada como un mecanismo de osmo-regulación interna de sales, encontrándose una relación positiva entre la salinidad y el desarrollo de cristales de esta naturaleza (Rains, 1972; Poblete et al., 1991; Apóstolo, 2005; Grigore & Toma, 2008).

Poblete et al. (1991) menciona la presencia de glándulas de sal foliares en *L. humile*, mientras que contradictoriamente, Palchetti et al. (2021a) citan ausencia de tricomas de cualquier tipo para ejemplares de la misma especie.

En el presente trabajo se describen tricomas glandulares (posiblemente los observados por Poblete et al., 1991) y se demuestra que sintetizan y acumulan fenoles, proteínas, alcaloides y aceites esenciales; y parecerían no estar relacionados de forma directa con la acumulación de Na^+ . No se observaron glándulas de sal propiamente dichas, tricomas ramificados ni otros tipos de tricomas glandulares mencionados por Metcalfe & Chalk (1972) y Bernadello (1982) para otras especies del género.

Los alcaloides y terpenos detectados en *L. humile* son un carácter común de la familia Solanaceae y del género *Lycium* (Qian et al., 2017), encontrándose este tipo de metabolitos con potencial medicinal, alimenticio y para la industria cosmética (Heinrich et al., 2021; Xavier et al., 2023) en *L. barbarum* (Gonçalves et al., 2018), *L. chinense* Mill. (Youn et al., 2013) y *L. europaeum* L. (Bendjedou et al., 2021), entre otros.

Por otra parte, el tallo presenta características similares a las descriptas para *L. chinense* (Metcalfe & Chalk, 1972), con la particularidad de poseer parénquima acuífero y aerénquima, ambos tejidos característicos de especies adaptadas a ambientes xéricos y salinos (Fahn & Cutler 1992; Jáuregui et al., 2019; Mumtaz et al., 2021). El diámetro de los elementos de vasos fue considerablemente menor al descrito para otras especies de *Lycium*, en las cuales oscilaba entre los 125-150 μm (Bernadello, 1982), indicando su adaptaciones al xerofitismo, con la presencia de elementos de pequeñas dimensiones poco numerosos y acompañados de abundantes fibras (Baas & Carlquist, 1985), previamente identificados en *L. athium* Bernadello (Figuerola & Giménez, 2015). La presencia de abundantes fibras con paredes lignificadas se mencionó como una adaptación al ambiente salino en los tallos y raíces de *Juncus gerardi* Loisel. y *Halophytum ameghinoi* (Speg.) Speg. estos elementos otorgarían resistencia a la presión osmótica a la que se encuentra sometida la planta (Fernández et al., 2016; Grigore & Toma, 2008).

La uniformidad observada en los caracteres anatómicos cuantificados para las diferentes poblaciones de *L. humile* bajo estudio podría indicar una fuerte adaptación al ambiente hipersalino palustre con poca influencia del ambiente en la expresión del fenotipo o una baja diversidad genética entre poblaciones en relación a la proximidad geográfica de las mismas.

En tanto, *L. ruthenicum* como *L. chinense* (Zhao et al., 2010; Liu et al., 2012) presentaron una moderada a baja diferenciación genética entre poblaciones. Las especies del género *Lycium* presentan polinización anemófila o por insectos dípteros, himenópteros y lepidópteros (Galletto et al., 1998) y dispersión de semillas por pequeños animales, lo que promueve la exogamia y el flujo de genes entre poblaciones (Levin & Miller, 2005). Esto explicaría la presencia de altos niveles de diversidad genética dentro de una población y una menor diversidad entre poblaciones (Hamrick & Godt, 1996). Cabe destacar que la diversidad genética es de vital importancia para que una especie mantenga su potencial evolutivo frente a un entorno en constante cambio; la pérdida de diversidad genética o la uniformidad a menudo se asocia con una aptitud física reducida, por ello el mantenimiento de la variabilidad es un objetivo importante dentro de los planes de conservación de una especie (Liu et al., 2012). La información obtenida en este estudio proporciona valiosos datos de referencia que deben ser confirmados por estudios moleculares incluyendo un mayor número de muestras de poblaciones distribuidas en un rango geográfico más grande, que serán de importancia para futuros planes de conservación de esta especie endémica con un gran potencial como fuente de genes de tolerancia a factores abióticos.

En conclusión, las poblaciones de *L. humile* estudiadas, presentaron una alta consistencia en los caracteres anatómicos e histoquímicos desarrollados como respuesta al ambiente extremo del humedal salino de altura, se destacan: la succulencia foliar, el despliegue de mecanismos de osmorregulación para la acumulación de sales de Na^+ y Ca^{2+} principalmente en idioblastos cristalíferos, la reserva de agua en parénquimas acuíferos, la síntesis de proteínas y metabolitos secundarios como flavonoides y otros fenoles con propiedades antioxidantes y fotoprotectoras, y el desarrollo de tallos con vasos de pequeñas dimensiones, abundantes fibras y aerénquima cortical. Estas características señalarían a la especie como un excelente prospecto para la búsqueda de genes relacionados a la tolerancia a importantes factores de estrés como la sequía, la salinidad, temperaturas extremas y la radiación ultravioleta; y para el aislamiento de metabolitos con potencial farmacológico y/o cosmético.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto B-0001-1 Fundación Miguel Lillo. Proyecto PUE 0011 CONICET. Al Dr. Juan A. González por la lectura y aportes.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahammed, G. J.; Y. Li, X. Li, W. Y. Han & S. Chen. 2018. Epigallocatechin-3-gallate alleviates salinity-retarded seed germination and oxidative stress in tomato. *Journal of Plant Growth Regulation* 37: 1349-1356. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9849-0>
- Ahmad, K. J. 1964 a. Cuticular studies in Solanaceae. *Canadian Journal of Botany* 42: 793-863. DOI: <https://doi.org/10.1139/b64-071>
- Alam, P.; T. H. Albalawi, F. H. Altalayan, M. A. Bakht, M. A. Ahanger & V. Raja. 2019. 24-Epibrassinolide (EBR) confers tolerance against NaCl stress in soybean plants by up-regulating antioxidant system, ascorbate-glutathione cycle, and glyoxalase system. *Biomolecules* 9(11): 640. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom9110640>
- Apóstolo, N. M. 2005. Caracteres anatómicos de la vegetación costera del Río Salado (Noroeste de la provincia de Buenos Aires, Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 40 (3-4): 215-227.
- Baas, P. & S. Carlquist. 1985. A comparison of the ecological wood anatomy of the floras of Southern California and Israel. *IAWA Journal* 6: 349-353. DOI: <https://doi.org/10.1163/22941932-90000961>
- Bahamondes, P.; P. Medina & J. Mella 2012. *Guía de Campo: Flora y Fauna en Michilla, El Tesoro y Esperanza*, en F. F. Novoa & M. Contreras (eds.), Ediciones del Centro de Ecología Aplicada Ltda. Chile.
- Ben Saad, R.; N. Zouari, W. Ben Ramdhan, J. Azaza, D. Meynard, E. Guiderdoni & A. Hassairi. 2010. Improved drought and salt stress tolerance in transgenic tobacco overexpressing a novel A20/AN1 zinc-finger "AISAP" gene isolated from the halophyte grass *Aeluropus litoralis*. *Plant Molecular Biology* 72: 171-190. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11103-009-9560-4>
- Bendjedou, H.; L. Barboni; F. Maggi; M. Bennaceur & H. Benamar. 2021. Alkaloids and sesquiterpenes from roots and leaves of *Lycium europaeum* L. (Solanaceae) with antioxidant and anti-acetylcholinesterase activities. *Natural Product Research* 35(16): 2784-2788. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1666386>
- Bernardello, G. 2013. *Lycium*. en F. Zuloaga, M. Belgrano & A. Anton (eds) *Flora Argentina*: Vol 13, Solanaceae. IBODA-IMBIV, CONICET, San Isidro, pp. 47-75.
- Bernardello, L. M. 1982. Estudios en *Lycium* (Solanaceae). I. Anatomía de hoja y tallo, y sus diferencias con *Grabowskia*. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 21: 153-185.
- Cabrera, A. L. 1957. La vegetación de la Puna argentina. *Revista de Investigaciones Agrícolas* 4: 317-412.
- Carilla, J.; A. Grau & A. S. Cuello. 2018. Vegetación de la Puna Argentina, en H. R. Grau; M. J. Babot; A. E. Izquierdo & A. Grau (eds) *La Puna argentina: Naturaleza y cultura. Serie Conservación de la Naturaleza* 24. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina.
- Carraro, E., & A. Di Iorio. 2022. Eligible strategies of drought response to improve drought resistance in woody crops: a mini-review. *Plant Biotechnology Reports* 16: 265-282. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11816-021-00733-x>
- Cordero, S.; F. Gálvez & L. Abello. 2020. Usos tradicionales de la flora de Chile. Volumen I, Nativas. Ediciones Botánicas, Editorial Planeta de Papel Ltda. Valparaíso, Chile.
- D'Ambrogio de Argüeso, A. 1986. Manual de Técnicas en Histología Vegetal. Editora Hemisferio Sur S. A., Buenos Aires, Argentina.
- David, R. & J. P. Carde. 1964. Coloration différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du Pin maritime au moyen du reactif Nadi. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences* 258: 1338-1340.
- Di Rienzo, J. A.; F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. Gonzalez; M. Tablada & C. W. Robledo. 2015. InfoStat versión 2015. Grupo InfoStat. FCA, Universidad Nacional de Córdoba. <https://www.infostat.com.ar>
- Dizeo de Strittmatter, C. G. 1973. Nueva técnica de diafanización. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 15 (1): 126-129.
- Ellis, B. D.; C. Daly, L. J. Hickey, H. R. Johnson, J. D. Mitchell, P. Wilf & S. L. Wing. 2009. Manual of leaf architecture. Cornell University Press, USA.
- Fahn, A. & Cutler, D. 1992. Xerophytes. Encyclopedia of plant anatomy. Gebruder, Borntraeger, Berlin.
- Fariás, M. E. 2020. Microbial ecosystems in Central Andes extreme environments. Springer, Cham. Springer Nature Switzerland. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-36192-1>
- Fernández, R. D.; O. Varela & P. L. Albornóz. 2016. Anatomía de hoja, tallo y raíz de *Halophytum ameghinoi* (Halophytaceae), especie endémica de Argentina. *Lilloa* 53(1): 23-31. <https://www.lilloa.org.ar/journals/index.php/lilloa/article/view/119>

- Fernández, Y. T.; O. Díaz, E. Acuña, M. Casanova, O. Salazar & A. Masaguer. 2016. Phytostabilization of arsenic in soils with plants of the genus *Atriplex* established *in situ* in the Atacama Desert. *Environmental Monitoring and Assessment* 188: 235. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5247-x>
- Figueroa, M. E. & A. M. Giménez. 2015. Consideraciones ecológicas sobre una población de *Lycium athium* (Solanaceae) y ampliación de su área de distribución. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 50 (1): 79-91.
- Flowers, T. J. & T. D. Colmer. 2015. Plant salt tolerance: adaptations in halophytes. *Annals of Botany* 115 (3): 327-331. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcu267>
- Galetto, L.; G. Bernardello & C. A. Sosa. 1998. The relationship between floral nectar composition and visitors in *Lycium* (Solanaceae) from Argentina and Chile: what does it reflect?. *Flora* 193: 303-314. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0367-2530\(17\)30851-4](https://doi.org/10.1016/S0367-2530(17)30851-4)
- Gonçalves, L. C. 2018. Avaliação do potencial genotóxico e antigenotóxico de *Lycium barbarum* (goji berry), nutracêutico usado como citoprotetor e antioxidante. Tesis doctoral, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita filho". Disponible en: <https://hdl.handle.net/11449/153539>
- Grigore, M. N. & C. Toma. 2008. Ecological anatomy investigations related to some halophyte species from Moldavia. *4th WSEAS international conference on mathematical biology and ecology (MABE'08)* Acapulco, Mexico: 25-27.
- Grigore, M. N. & T. Constantin. 2017. Succulence, en M. N. Grigore & T. Constantin (eds), *Anatomical Adaptations of Halophytes*. Springer, Cham. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-66480-4_3
- Hagemeyer, J. 1997. Salinization a problem of global scale, en: M. Prasad (ed), *Plant ecophysiology*, John Wiley y Sons Inc., New York.
- Hamrick, J. L. & M. W. Godt. 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 351: 1291-1298. DOI: <https://doi.org/10.1098/rstb.1996.0112>
- Hashem, H. A., & Mohamed, A. H. (2020). Strategies for drought tolerance in xerophytes. *Plant ecophysiology and adaptation under climate change: mechanisms and perspectives I: general consequences and plant responses*, 269-293. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-15-2156-0_9
- Heinrich, M.; J. Mah & V. Amirkia. 2021. Alkaloids used as medicines: Structural phytochemistry meets biodiversity - An update and forward look. *Molecules* 26: 1836. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26071836>
- Hernandes-Lopes, J.; M. A. Oliveira-Neto & G. F. A. Melo-de-Pinna GFA. 2016. Different ways to build succulent leaves in Portulacineae (Caryophyllales). *International Journal of Plant Sciences* 177: 198-208. DOI: <https://doi.org/10.1086/684178>
- Heslop-Harrison, J. & Y. Heslop-Harrison. 1981. The pollen-stigma interaction in the grasses. 2. Pollen-tube penetration and the stigma response in Secale. *Acta Botanica Neerlandica* 30: 289-307. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1981.tb00410.x>
- Heyduk, K. 2021. The genetic control of succulent leaf development. *Current Opinion in Plant Biology* 59: 101978. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2020.11.003>
- Heyduk, K.; M. R. McKain, Lalani F. & J. Leebens-Mack. 2016. Evolution of CAM anatomy predates the origins of Crassulacean acid metabolism in the Agavoideae (Asparagaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 105: 102-113. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.08.018>
- Hickey, L. J. 1979. A revised classification of the architecture of dicotyledonous leaves, en C. Metcalfe & L. Chalk L. (eds), *Anatomy of the Dicotyledons*, Clarendon Press, Oxford.
- Jáuregui, D.; M. Castro, T. Ruiz-Zapata & M. Lapp. 2019. Estructura anatómica de los órganos vegetativos de *Blutaparon vermiculare* (Amaranthaceae) y *Funastrum glaucum* (Apocynaceae), especies que crecen en las zonas costeras venezolanas. *Rodriguésia* 70: e02582017.
- Johansen, D. A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill, New York, NY, USA.
- Kumar, S.; M. M. Abedin, A. K. Singh & S. Das. 2020. Role of phenolic compounds in plant-defensive mechanisms. *Plant Phenolics. Sustainable Agriculture* 1: 517-532. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-15-4890-1_22
- Levin, R. A. & J. S. Miller. 2005. Relationships within tribe Lycieae (Solanaceae): paraphyly of *Lycium* and multiple origins of gender dimorphism. *American Journal of Botany* 92: 2044-2053. DOI: <https://doi.org/10.3732/ajb.92.12.2044>
- Levin, R. A.; G. Bernardello, C. Whiting & J. S. Miller. 2011. A new generic circumscription in tribe Lycieae (Solanaceae). *Taxon* 60(3): 681-690. DOI: <https://doi.org/10.1002/tax.603005>
- Li, L.; L. Chong, T. Huang, Y. Ma, Y. Li & H. Ding. 2023. Natural products and extracts from plants as natural UV filters for sunscreens: A review. *Animal Models and Experimental Medicine* 6: 183-195. DOI: <https://doi.org/10.1002/ame2.12295>
- Li, W.; S. Rao, C. Du, L. Liu, G. Dai & J. Chen J. 2022. Strategies used by two goji species, *Lycium ruthenicum* and *Lycium barbarum*, to defend against salt stress. *Scientia Horticulturae* 306: 111430. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111430>

- Li, Y.; T. Zhang, Z. Zhang & K. He. 2019. The physiological and biochemical photosynthetic properties of *Lycium ruthenicum* Murr in response to salinity and drought. *Scientia Horticulturae* 256: 108-530. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.05.057>
- Liakopoulos, G. 2001. Analysis of epicuticular phenolics of *Prunus persica* and *Olea europaea* leaves: evidence for the chemical origin of the UV-induced blue fluorescence of stomata. *Annals of Botany* 87: 641-648. DOI: <https://doi.org/10.1006/anbo.2001.1387>
- Liu, L.; X. Wang & C. Chang. 2022. Toward a smart skin: Harnessing cuticle biosynthesis for crop adaptation to drought, salinity, temperature, and ultraviolet stress. *Frontiers in Plant Science* 13: 961829. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.961829>
- Liu, Z.; Q. Shu, L. Wang, M. Yu, Y. Hu, H. Zhang, T. Yanduo & Y. Shao. 2012. Genetic diversity of the endangered and medically important *Lycium ruthenicum* Murr. revealed by sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers. *Biochemical Systematics and Ecology* 45: 86-97. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2012.07.017>
- Melo-de-Pinna, G. F. A.; A. S. Ogura, E. C. P. Arruda & C. Klak. 2014. Repeated evolution of endoscopic peripheral vascular bundles in succulent leaves of Aizoaceae (Caryophyllales). *Taxon* 63: 1037-1052. DOI: <https://doi.org/10.12705/635.8>
- Melo-de-Pinna, G. F. A.; J. Hernandez-Lopes, A. S. Ogura, L. K. Santos, D. C. Silva & T. Haevermans. 2016. Growth patterns and different arrangements of vascular tissues in succulent leaves. *International Journal of Plant Sciences* 177: 643-660. DOI: <https://doi.org/10.1086/688258>
- Mercado, M. I. & G. I. Ponessa. 2021. Nuevo soporte para la obtención de cortes de material vegetal en micrótopo rotativo. *Revista Dominguezia* 37(1): 29-35.
- Merck, E. 1980. Reactivos de coloración para cromatografía en capa fina y en papel. Darmstadt, Germany.
- Metcalfe, C. R. & L. Chalk. 1972. Anatomy of the dicotyledons. Leaves, stem, and wood in relation to taxonomy. With Notes on Economic Uses, Oxford University Press, Oxford.
- Mumtaz, S.; M. H. Saleem, M. Hameed, F. Batool, A. Parveen, S. F. Amjad, A. Mahmood, M. Arfan, S. Ahmed, H. Yasmin, A. A. Alsahli & M. N. Alyemeni. 2021. Anatomical adaptations and ionic homeostasis in aquatic halophyte *Cyperus laevigatus* L. Under high salinities. *Saudi Journal of Biological Sciences* 28 (5): 2655-2666. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.03.002>
- Neu, R. 1956. A new reagent for differentiating and determining flavones of paper chromatograms. *Naturwissenschaften*, Germany.
- Ogurn, R. M. & E. J. Edwards. 2013. Repeated origin of three-dimensional leaf venation releases constraints on the evolution of succulence in plants. *Current Biology* 23: 722-726. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.03.029>
- Ogura, A. S.; J. Hernandez-Lopes & G. F. A. Melo-De-Pinna. 2018. A new anatomical interpretation for abaxialization in unifacial leaf blade of stone plants (Aizoaceae, Caryophyllales). *Brazilian Journal of Botany* 41: 751-764. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40415-018-0480-x>
- Ozgur, R.; B. Uzilday, A. H. Sekmen & I. Turkan. 2013. Reactive oxygen species regulation and antioxidant defense in halophytes. *Functional Plant Biology* 40: 832-847. DOI: <https://doi.org/10.1071/FP12389>
- Palchetti, M. V.; A. Llanes, M. Reginato, G. E. Barboza, V. Luna & J. J. Cantero. 2020. Germination responses of *Lycium humile*, an extreme halophytic Solanaceae: Understanding its distribution in saline mudflats of the southern Puna. *Acta Botanica Brasílica* 34: 540-548. DOI: <https://doi.org/10.1590/0102-33062020abb0034>
- Palchetti, M. V.; J. J. Cantero, V. Morales-Fierro, G. E. Barboza & A. Moreira-Muñoz. 2021a. Living in extreme environments: distribution of *Lycium humile* (Solanaceae), an endemic halophyte from the Altiplano-Puna region, South America. *PhytoKeys* 185: 1-15. DOI: <https://doi.org/10.3897/phytokeys.185.71377>
- Palchetti, M. V.; M. Reginato, A. Llanes, J. Hornbacher, J. Papenbrock, G. E. Barboza, V. Luna & J. J. Cantero. 2021b. New insights into the salt tolerance of the extreme halophytic species *Lycium humile* (Lycieae, Solanaceae). *Plant Physiology and Biochemistry* 163: 166-177. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.03.054>
- Palchetti, V.; G. E. Barboza & J. J. Cantero. 2015. Solanaceae ¿está representada en las principales floras halófilas del noroeste de la Argentina?. *Libro de resúmenes XXXV Jornadas Argentinas de Botánica*. Salta, Argentina.
- Poblete, V.; V. Campos, L. González & G. Montenegro. 1991. Anatomic leaf adaptations in vascular plants of a salt marsh in the Atacama desert (Chile). *Revista Sociedad Chilena de Historia Natural* 64: 65-75.
- Qian, D.; Y. Zhao, G. Yang & L. Huang. 2017. Systematic Review of Chemical Constituents in the Genus *Lycium* (Solanaceae). *Molecules* 22: 911. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules22060911>
- Rahman, M. M.; M. G. Mostofa, S. S. Keya, M. N. Siddiqui, M. U. Ansary, K. Das, M. A. Rahman & L. S. Tran. 2021. Adaptive mechanisms of halophytes and their potential in improving salinity tolerance in plants. *International Journal of Molecular Sciences* 22: 10733. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms221910733>

- Rains, D. W. 1972. Salt transport by plants in relation to salinity. *Annual Review of Plant Physiology* 23: 367-388.
- Reginato, M. A.; A. E. Turcios, V. Luna & J. Papenbrock. 2019. Differential effects of NaCl and Na₂SO₄ on the halophyte *Prosopis strombulifera* are explained by different responses of photosynthesis and metabolism. *Plant Physiology and Biochemistry* 141: 306-314. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.05.027>
- Rojas, G. 1991. Posibilidades de alimentación vegetal del hombre de Cuchipuy. *Revista chilena de antropología* 10: 25-35.
- Ruzin, S. E. 1999. Plant microtechnique and microscopy. Oxford, New York: Oxford University Press.
- Slama, I.; C. Abdelly, A. Bouchereau, T. Flowers & A. Savouré. 2015. Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress. *Annals of Botany* 115: 433-447. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcu239>
- Tálamo, A.; J. Tolaba, C. Trucco & E. Acuña. 2010. Vegetation units and floristic composition in areas of the northwestern Altiplano, Argentina. I. Steppe environments. *Ecología en Bolivia* 45(1): 4-19.
- Tapia Torres, N. A.; C. P. Pérez Olvera, A. Román Guerrero, A. Quintanar Isaías, E. García Márquez & F. Cruz Sosa. 2014. Histochemistry, total phenolic content and antioxidant activity in leaf and wood of *Litsea glaucescens* Kunth (Lauraceae). *Madera y Bosques* 20(3): 125-137.
- Tilman, D.; C. Balzer, J. Hill & B. L. Belfort. (2011). Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108: 20260-20264. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1116437108>
- Wagner, H. & S. Bladt. 1996. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. Springer Science & Business Media, Berlin. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-642-00574-9>
- Waisel, Y. 1972. Biology of halophytes. Academic Press, New York and London.
- Wani, S. H.; T. Dutta, N. R. R. Neelapu & C. Surekha. 2017. Transgenic approaches to enhance salt and drought tolerance in plants. *Plant Gene*, 11: 219-231. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2017.05.006>
- Wild, A. 2003. Soils, land and food: managing the land during the twenty-first century. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Xavier, V.; R. Spréa, T. C. Finimundy, S. A. Heleno, J. S. Amaral, L. Barros & I. C. Ferreira. 2023. Terpenes. In: Caroch, M.; S. A. Heleno & L. Barros (eds) Natural Secondary Metabolites. Springer Cham., International Publishing. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-031-18587-8_5
- Yao, R.; M. Heinrich & C. S. Weckerle. 2018. The genus *Lycium* as food and medicine: A botanical, ethnobotanical and historical review. *Journal of ethnopharmacology* 212: 50-66. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.10.010>
- Youn U. J.; Y-S. Kil, J-W. Nam, Y. J. Lee, J. Kim, D. Lee, J. H. Lee & E-K. Seo. 2013. New pyrrole alkaloids with bulky N-Alkyl side chains containing stereogenic centers from *Lycium chinense*. *Helvetica* 96 (8): 1482-1487. DOI: <https://doi.org/10.1002/hlca.201200608>
- Zarlavsky, G. 2014. Histología Vegetal. Técnicas simples y complejas, Buenos Aires, Argentina.
- Zhang, Z.; H. Kangning, T. Zhang, D. Tang, L. Runjie & J. Shaofeng. 2019. Physiological responses of Goji berry (*Lycium barbarum* L.) to saline-alkaline soil from Qinghai region, China. *Scientific Reports* 9: 12057. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48514-5>
- Zhao, W. G.; J. W. Chung, Y. I. Cho, W. H. Rha, G. A. Lee, K. H. Ma, S. H. Han, K. H. Bang, C. B. Park, S. M. Kim & Y. J. Park. 2010. Molecular genetic diversity and population structure in *Lycium* accessions using SSR markers. *Molecular biology and genetics* 333: 793-800. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crv.2010.10.002>