



Morfoanatomía foliar, análisis meiótico y caracterización del marcador ITS2 de *Adesmia incana* var. *incana* (Fabaceae, Papilionoideae)

Leaf morphoanatomy, meiotic analysis and ITS2 marker characterization of *Adesmia incana* var. *incana* (Fabaceae, Papilionoideae)

Ruiz, Ana I.¹; Valeria de los A. Páez²; Aldo R. Andrada^{2*}; María S. Caro^{2,3}; Patricia L. Albornoz^{1,3*}

¹ Instituto de Morfología Vegetal, Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251, (T4000JFE) San Miguel de Tucumán, Argentina.

² Instituto de Genética y Microbiología, Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251, (T4000JFE) San Miguel de Tucumán, Argentina.

³ Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo (U.N.T.). Miguel Lillo 205, (T4000JFE) San Miguel de Tucumán, Argentina.

* Autor correspondiente: <arandrada@lillo.org.ar>, <plalbornoz@lillo.org.ar>

Resumen

Adesmia incana var. *incana* es una especie herbácea, perenne, endémica de Sudamérica, que crece entre 0-1800 m snm. Los objetivos de este trabajo fueron describir la morfoanatomía foliar, analizar la meiosis y caracterizar el marcador molecular ITS2. Se aplicaron técnicas convencionales para estudios citogenéticos y moleculares. Las hojas son compuestas, paripinnadas con venación pinnada, camptódroma, broquidódroma, anfistomática; con estomas anomocíticos, hemibraquiparacíticos y braquiparacíticos; pubescencia en ambas epidermis con tricomas eglandulares y glandulares; mesofilo homogéneo y haces vasculares colaterales. El pecíolo es subcircular en sección transversal con 5 a 7 haces vasculares colaterales abiertos y tubos fenólicos próximos a éstos. El número cromosómico es $n = 4x = 20II$. La secuencia ITS2 de *A. incana* var. *incana* (ser. Bicolores) muestra mayor similitud con la de *A. grandiflora* (ser. Microphyllae). Los elementos de valor diagnóstico para la identificación de la variedad incana son: tipos de estomas y

► Ref. bibliográfica: Ruiz, A. I.; Páez, V. de los Á.; Andrada, A. R.; Caro, M. S.; Albornoz, P. L. 2025. Morfoanatomía foliar, análisis meiótico y caracterización del marcador ITS2 de *Adesmia incana* var. *incana* (Fabaceae, Papilionoideae). *Lilloa* 62 (1): 99-118. doi: <https://doi.org/10.30550/j.lil/1982>

► Recibido: 10 de octubre 2024 – Aceptado: 20 de marzo 2025 – Publicado: 7 de abril 2025.



► URL de la revista: <http://lilloa.lillo.org.ar>

► Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución – No Comercial – Sin Obra Derivada 4.0 Internacional.

tricomas en la lámina, tubos fenólicos en el pecíolo y número cromosómico tetraploide. El presente trabajo da a conocer la morfoanatomía foliar, la secuencia del marcador ITS2 y la estructura secundaria para *A. incana* var. *incana*. Además, se reporta por primera vez este taxón en la provincia de Tucumán, Argentina.

Palabras clave: *Adesmia*; citología; Fabaceae; hoja; ITS2; morfología.

Abstract

Adesmia incana var. *incana* is a herbaceous, perennial plant endemic to South America that grows from 0 to 1800 m a.s.l. This work aimed to describe leaf morphoanatomy, analyze meiosis, and characterize the molecular marker ITS2. Conventional techniques were applied for cytogenetic and molecular studies. The leaves are compound and paripinnate, with camptodromous, brochidodromous venation. The leaflets are amphistomatic with anomocytic, hemibrachyparacytic and brachyparacytic stomata; both epidermises are pubescent, with eglandular and glandular trichomes. The mesophyll is homogeneous and the vascular bundles are collateral. The petiole is subcircular in cross section, consisting of 5 to 7 collateral vascular bundles and phenolic tubes next to them. The chromosome number is $n = 4x = 20II$. The ITS2 sequence of *A. incana* var. *incana* (ser. Bicolores) is notably similar to that of *A. grandiflora* (ser. Microphyllae). The diagnostic features to identify *A. incana* var. *incana* are: types of stomata and trichomes on the lamina, phenolic tubes in the petiole and the tetraploid chromosome number. This paper reports the leaf anatomy, ITS2 marker sequence and secondary structure for *A. incana* var. *incana*. In addition, this taxon is reported for the first time in the province of Tucumán, Argentina.

Keywords: *Adesmia*; cytology; Fabaceae; leaf; ITS2; morphology.

INTRODUCCIÓN

El clado *Adesmia* engloba actualmente cinco géneros, siendo *Adesmia* DC. el más diverso, con aproximadamente 240 especies comprendidas en dos subgéneros: *Acanthadesmia* Burk. y *Adesmia*. Este último es reconocido por su carácter inerme y comprende especies herbáceas, arbustivas o en cojín (Lewis et al., 2005; Ulibarri y Burkart, 2000). Su distribución abarca Perú, Bolivia, Chile, Brasil, Uruguay y Argentina, donde está representado por 56 especies pertenecientes a 25 series (Ulibarri y Burkart, 2000). La serie Bicolores Burk. agrupa seis especies, una de las cuales es *Adesmia incana* Vogel, nativa del centro y noroeste de Argentina, con dos variedades: *A. incana* var. *grisea* (Hook. f.) Burkart y *A. incana* var. *incana*. La primera se caracteriza por presentar indumento homotrico, sin sétulas amarillentas, excepto en el lomento, y folíolos obtusos o mucronulados, mientras que en

la var. *incana* el indumento es heterotrico, con sétulas amarillentas en tallo, hoja, inflorescencia y cáliz, y los folíolos son obtusos (Ulibarri y Burkart, 2000).

Adesmia incana var. *incana* se distribuye en Brasil, en el estado de Río Grande del Sur, en Uruguay y Argentina, donde crece en forma de manchones, en campos de gramíneas, junto a vegetación arbustiva alta, en laderas rocosas o con afloramiento de arenisca (Miotto, 1991), habita desde 0-1800 m snm, en las provincias de Buenos Aires, Catamarca, Córdoba, Entre Ríos, La Pampa, San Luis, Salta y Misiones (Zuloaga y Anton, 2024; Ulibarri y Burkart, 2000; Bianco, 2002) (Fig. 1).

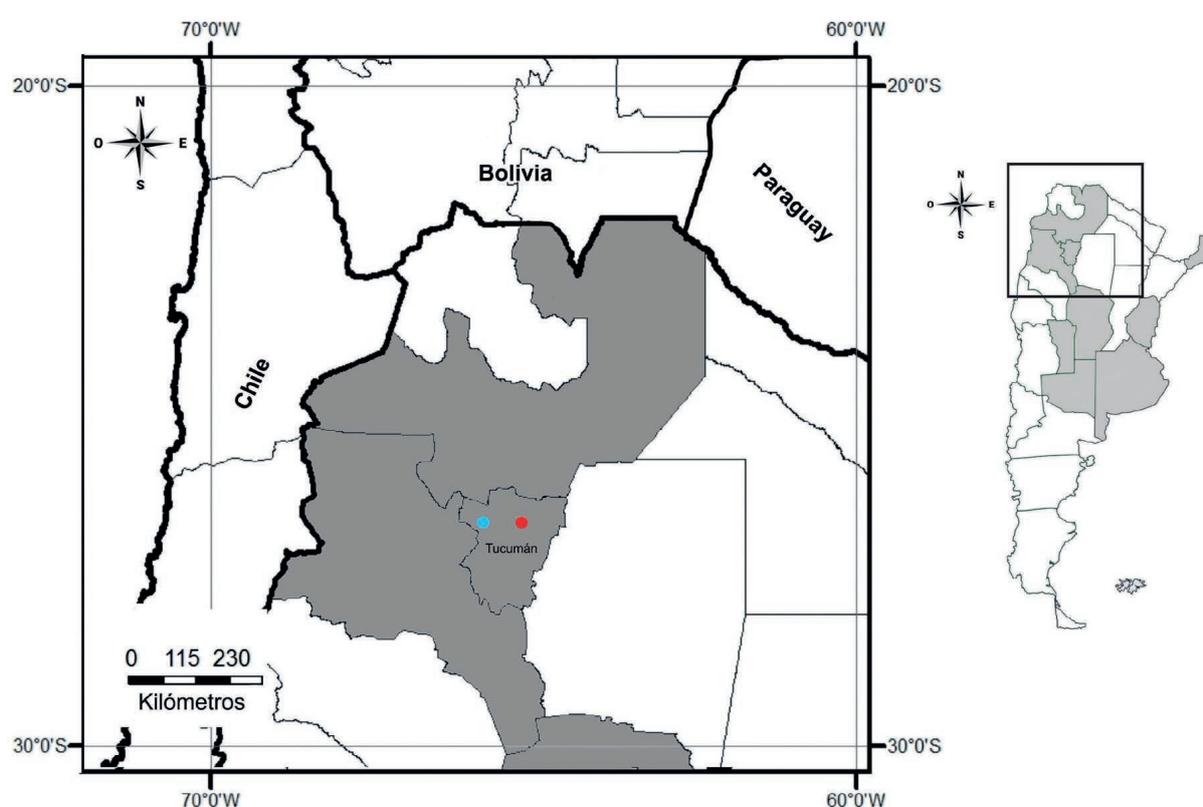


Fig. 1. Mapa de distribución geográfica de *Adesmia incana* var. *incana* en Argentina. En color gris las provincias con registros; el recuadro detalla la zona de estudio en el NOA. El círculo azul indica la localidad de observación de la base de datos GBIF, mientras que el círculo rojo denota la población estudiada en esta investigación.

Fig. 1. Distribution map of *Adesmia incana* var. *incana* in Argentina. The provinces with records are shown in gray; the box details the study area in the NOA. The blue circle indicates the GBIF database observation locality, while the red circle denotes the population studied in this research.

Durante la campaña del año 2016 a la localidad Sierra de Medina (Burrucacú, Tucumán), se registró una población de *A. incana* var. *incana*, la cual no estaba documentada para la provincia de Tucumán (Fig. 1, Fig. 2A). Esta variedad es una planta herbácea estolonífera, con hojas compuestas, paripinnadas, de folíolos opuestos, elípticos-lanceolados de bordes enteros, pubescentes que pueden presentar un mucrón en el ápice (Fig. 2B, C). La inflorescencia es racemosa, con flores amarillas o amarillo-naranjadas, con estrías marrones longitudinales (Fig. 2C). El fruto es un lomento con 1-5 artejos muricados (Fig. 2D). Florece desde septiembre a marzo y fructifica entre febrero y mayo (Miotto, 1991; Bianco, 2002).

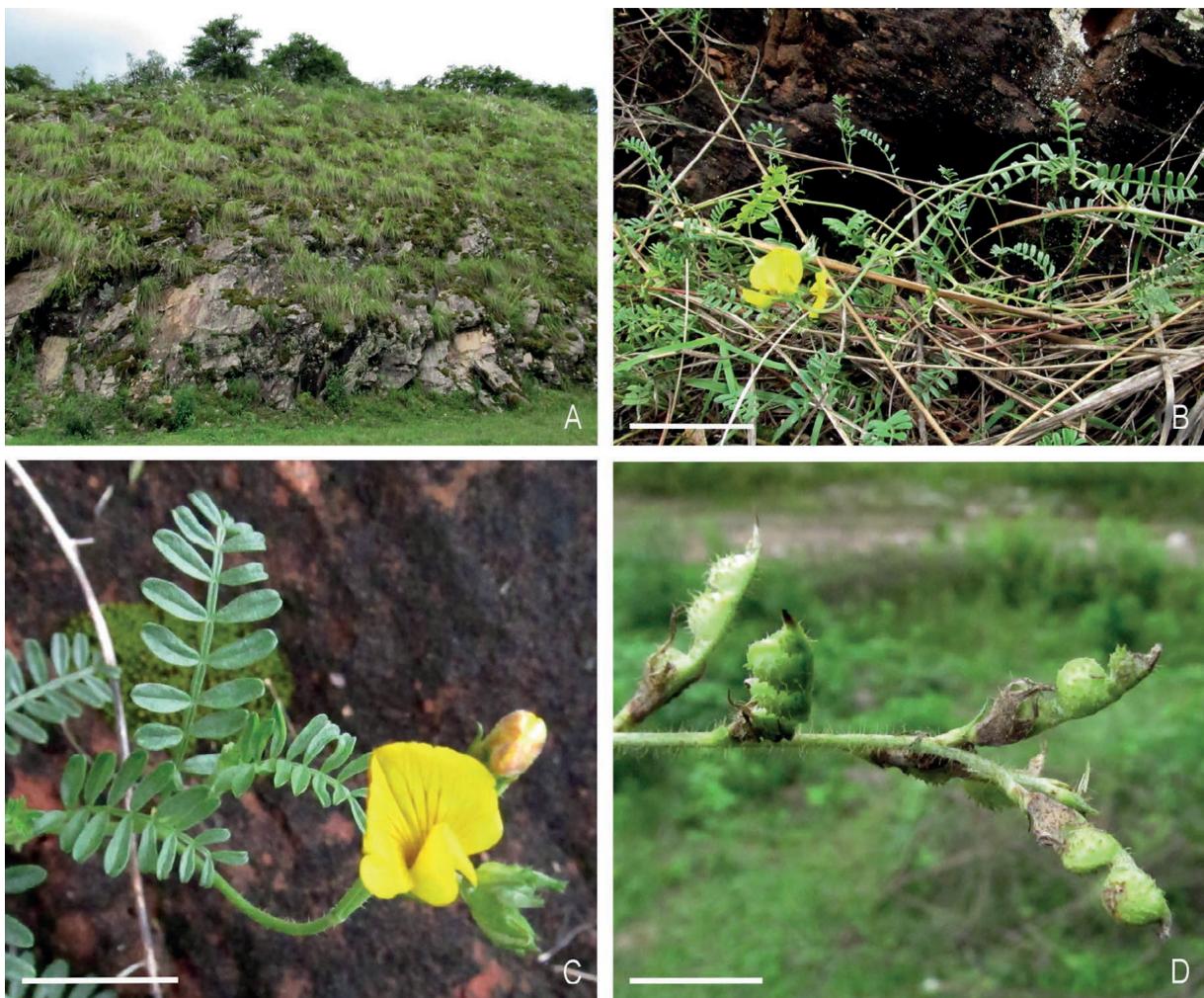


Fig. 2. *Adesmia incana* var. *incana*. A) Ambiente en la localidad de Sierra de Medina. B) Hábito rastrero. C) Detalle de hojas y flor. D) Frutos. Escalas = B, 2 cm; C, D, 1 cm.

Fig. 2. *Adesmia incana* var. *incana*. Morphology. A) Natural environment of Sierra de Medina locality. B) Creeping habit. C) Details of leaves and flower. D) Fruits. Scales = B, 2 cm; C, D, 1 cm.

En relación a los antecedentes anatómicos en general, Solereder (1908), Metcalfe y Chalk (1950) y Ragonese (1969a, 1969b) citan para *Adesmia* la presencia de células mucilaginosas en la epidermis foliar y elementos secretores en la médula y la corteza del tallo. Caro *et al.* (2014, 2016, 2018, 2020), realizaron estudios anatómicos en *A. cordobensis* Burkart, *A. trijuga* Gill. ex Hook. & Arn., *A. schickendantzii* Griseb., *A. cytisoides* Griseb. y *A. inflexa* Griseb., especies que habitan en el Noroeste de Argentina. Los autores mencionan entre los caracteres morfo-anatómicos foliares de valor diagnóstico, el número de folíolos por braquiblasto, la cutícula estriada, la densidad y tipos de estomas y tricomas, la cantidad y posición del tejido de sostén, la venación, la presencia de células buliformes en la epidermis, idioblasto en mesofilo, tubos fenólicos y producción de mucílagos; además de la adhesión de los estambres a la base del estandarte y la dotación cromosómica.

Citogenéticamente, para *Adesmia* se registran recuentos cromosómicos en 23 especies (Fedorov, 1969; Dollenz Alvarez, 1976; Miotto y Forni-Martins; 1995; Tedesco *et al.*, 2002), citándose como número básico para el género $x = 5$ y $x = 10$ (Goldblatt, 1981; Hunziker *et al.*, 1985). Para *A. incana* se mencionan formas diploides y tetraploides, basado en $x = 10$ (Castronovo, 1945; Covas y Schnack, 1946; Covas, 1949; Krapovickas y Krapovickas, 1952; Covas y Hunziker, 1954; Burkart, 1967; Miotto y Forni-Martins, 1994; Coelho, 1996; Coelho y Battistin, 1998; Tedesco *et al.*, 2002). Los primeros recuentos para el género *Adesmia* en el Noroeste de Argentina (NOA) fueron realizados por Caro *et al.* (2014, 2016, 2018, 2020), los cuales concuerdan en que los taxones son típicamente diploides, con $2n = 20$ cromosomas.

En relación con estudios moleculares, se citan trabajos con marcadores nucleares y plastídicos solo para especies de dos series: Microphyllae y Psoraleoides (Ignaci *et al.*, 2013; Mihoc *et al.*, 2006), los cuales establecieron que ambas series serían monofiléticas. El segmento nuclear ITS2 es uno de los marcadores más importantes debido al alto potencial para la identificación de especies (Keller *et al.*, 2009). La estructura secundaria del ITS2 brinda mayor soporte en la construcción de árboles filogenéticos en niveles taxonómicos superiores a especie (Grajales *et al.* 2007; Schultz y Wolf 2009; Chen *et al.*, 2010; Yao *et al.*, 2010). Para *Adesmia* no hay trabajos filogenéticos que soporten la división infragenérica propuesta para el género, la cual actualmente se basa en la morfología, con solapamiento de caracteres entre las series (Monterio, 2021).

Durante el desarrollo de este estudio se registraron poblaciones de *Adesmia incana* var. *incana* en la provincia de Tucumán, Argentina, taxón no mencionado previamente en los trabajos florísticos para la provincia (Burkart, 1967; Ulibarri y Burkart, 2000; Zuloaga y Antón, 2024). El objetivo de este trabajo es estudiar la morfoanatomía foliar, analizar la meiosis y caracterizar el marcador molecular ITS2 de *Adesmia incana* var. *incana*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material estudiado

Las muestras de *Adesmia incana* var. *incana* fueron recolectadas en dos poblaciones naturales de la provincia de Tucumán:

ARGENTINA. Prov. Tucumán, Dpto. Burruyacú, 26°26'42,5"S 65°01'41,5"O, 1070 m snm, 01-XII-2016, *Caro 139* (LIL 618340); 26°26'02,6"S 65°03'06,1"O, 1395 m snm, 01-XII-2016, *Caro 141* (LIL 618341).

Para los estudios morfo-anatómicos y citogenéticos se tomaron en total 15 individuos al azar (10 para morfo-anatomía y cinco para citogenética). Se trabajó con material fresco y fijado en FAA (ácido acético, formol, agua y alcohol 1:2:7:10) (D'Ambrogio de Argüeso, 1986).

Distribución del taxón.— Se realizó una búsqueda de ejemplares *Adesmia incana* var. *incana* en el herbario (LIL) y en la base de datos GBIF.

Análisis morfoanatómico e histoquímico foliar.— Se utilizaron individuos fijados en FAA, de cada uno de ellos se tomaron tres folíolos. Para el análisis de la epidermis y la arquitectura foliar se realizaron técnicas de diafanizado y los materiales fueron teñidos con cristal violeta (Dizeo de Strittmater, 1973). Se realizaron cortes transversales y longitudinales de lámina y pecíolo, a “mano alzada”, los que se tiñeron con una doble coloración de azul astra-safranina (D'Ambrogio de Argüeso, 1986; Zarlavsky, 2014). Los preparados temporarios fueron montados en agua glicerina (1:1). Por otro lado, se realizaron pruebas histoquímicas con cloruro férrico para detectar la presencia de fenoles (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). La arquitectura foliar fue descrita según Lindley (1951) y Hickey (1974); mientras que, para la clasificación de los tipos de estomas se utilizó la terminología propuesta por Dilcher (1974). En la caracterización anatómica se utilizó Fahn (1982). Para cada muestra foliar se analizaron 5 campos ópticos (40x) por hoja/individuo y se calculó largo (μm), ancho (μm) y densidad estomática (estomas/ mm^2).

Las observaciones se efectuaron con microscopio estereoscópico (Olympus, Japón) y óptico (Zeiss, Axiostar Plus, Alemania). Las fotomicrografías se obtuvieron con cámara digital (Canon A620, Power Shot 7,1 MP y Olympus Sp-350 d 8 MP).

Análisis meiótico.— El análisis citológico consistió en el recuento cromosómico a partir de botones florales fijados en alcohol etílico-ácido acético (3:1) durante 24 horas, conservadas en alcohol al 70° a 4°C y coloreadas con hematoxilina propiónica al 2 % (Guerra y de Souza, 2002). Las observaciones se efectuaron con microscopio estereoscópico (Olympus BX43F, Olympus Co., Tokio, Japón). Las fotomicrografías se obtuvieron con cámara digital (Olympus Qcolor 5, 5 MP, Ontario, Canadá).

Extracción y amplificación de secuencias ITS2.— La extracción de ADN total se realizó a partir de hojas de material fresco, siguiendo el método Saghai-Marrof *et al.* (1984); posteriormente el pellet resultante se trató con el kit de extracción DNeasy Blood & Tissue Qiagen.

Las secuencias ITS2 se amplificaron mediante el par de primers universales ITS-2F, 5'-(ATGCGATACTTGGTGTGAAT)-3' y ITS-4R, 5' (TCCTCCGCTTATTGATATGC)-3' (Chen *et al.*, 2010; White *et al.* 1990), los cuales fueron manufacturados por la empresa Invitrogen TM (Buenos Aires, Argentina). Las condiciones de la PCR que se usaron fueron las siguientes; buffer de reacción 10X Highway 2,5 μ l; 0,75 μ l de MgCl₂ 25 mM Thermo Scientific; 0,5 μ L de Primer ITS2F (200 ng/ μ L); 0,5 μ L del Primer ITS4R (200 ng/ μ L); 0,5 μ L de dNTPs 0,5 mM; 0,3 μ L de TAQ T-plus Highway polimerasa 2U; agua bidestilada 18,1 μ L; 2 μ L de ADN total (200 ng/ μ L), con un volumen final de 25 μ l. La amplificación fue realizada en el Termociclador Nyxtechnik ATC 201(San Diego, Estados Unidos); con el programa de PCR: 94 °C por 5 min, seguido 1 ciclo de 95 °C por 45 s, 47 °C por 45 s, 1 min a 72 °C; 1 ciclo de 95 °C por 45 s, 48 °C por 45 s, 1 min a 72 °C; 3 ciclo de 95 °C por 45 s, luego 49 °C por 45 s, 72 °C por 1 min, seguido de 40 ciclos a 95 °C por 45 s, 50°C por 45 s, 72 °C 1 min; y por último 10 min a 72 °C para finalmente mantener en hold a 4°C. Los productos de la amplificación fueron secuenciados en los laboratorios de Macrogen Inc. (Seúl, Corea del Sur).

Análisis de las secuencias ITS2.— Para corroborar la identidad de la secuencia obtenida, se realizó un emparejamiento de similitud con el programa BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Se eliminaron de los amplicones las secuencias ribosomales siguiendo el criterio de Keller *et al.* (2009), a excepción de 15 bases en ambos flancos del fragmento ITS2. Las secuencias de ADN se alinearon automáticamente con el programa Sea-View 4 (Gouy *et al.*, 2010); el alineamiento manual y la comparación de las mismas fueron realizadas con el programa MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013).

Se llevó a cabo el plegamiento de la estructura secundaria del transcrito primario de la secuencia ITS2 mediante el uso del software RANfold (Lorenz *et al.*, 2011). La estructura obtenida se comparó con las del género *Adesmia* depositadas en la base de datos ITS2 Ribosomal RNA (<https://its2.bioapps.biozentrum.uni-wuerzburg.de>) (Merget *et al.*, 2012). Las estructuras secundarias se visualizaron con el software PseudoViewer 3 (Byun y Han, 2009).

RESULTADOS

Análisis morfológico

Arquitectura del folíolo.— Los folíolos presentan lámina entera, simétrica, de forma elíptica-angosta a obovada-oblancoada, ápice mucronado (Fig. 3B), base obtusa y margen entero, textura papirácea. Pecíolos y peciólulos subcirculares. La lámina presenta venación pinnada, camptódroma, broquidódroma con vena primaria de tamaño fuerte y recorrido derecho (Fig. 3A). Venas secundarias de grosor moderado, recorrido curvado abruptamente, con ramificaciones que forman ojales uniéndose a las secundarias superadyacentes en ángulo obtuso y venas intersecundarias compuestas (Fig. 3A). Venas secundarias superiores con ángulo de divergencia agudo-moderado, siendo los ángulos inferiores más agudos que los superiores. Venas terciarias forman un modelo reticulado al azar (Fig. 3B). La venación última marginal es incompleta. Las aréolas con malla bien desarrollada, dispuestas al azar, de forma cuadrangular, pentagonal y poligonal. Las vénulas pueden ser simples, lineares y curvadas, ramificadas una sola vez; además de aréolas sin vénulas (Fig. 3C).

Anatomía del folíolo.— En vista paradermal ambas epidermis poseen células isodiamétricas a rectangulares con cutícula estriada, principalmente a la altura de los estomas y tricomas; la lámina es anfistomática y presenta estomas de tipo anomocíticos y hemibraquiparacíticos, ocasionalmente se observan braquiparacíticos y estomas gemelos (Fig. 3D, E). Las células oclusivas poseen un promedio de $23 \mu\text{m}$ ($\pm 2,8$) de longitud y $20 \mu\text{m}$ ($\pm 1,9$) de latitud. La densidad estomática es de $153,7 \text{ estomas}/\text{mm}^2$ en la epidermis adaxial y $123,1 \text{ estomas}/\text{mm}^2$ en la epidermis abaxial. Se observan tricomas eglandulares y glandulares. Los primeros son tricelulares uniseriados, la célula de inserción a la epidermis es redondeada, la célula central es corta y rectangular y la célula terminal es larga de extremo aguzado con pared gruesa y cutícula ornamentada. Estos son numerosos, adpresos y antrorsos, se distribuyen en toda la lámina, siendo más abundantes en la superficie abaxial; en la base de estos tricomas, las células epidérmicas se disponen en roseta (Fig. 4A). Los tricomas glandulares son pluricelulares, pluriseriados de base ensanchada, estrechándose hacia el extremo distal terminando en una glándula, son escasos y se encuentran en la cara abaxial a la altura del nervio principal y se disponen perpendicular a la superficie (Fig. 4B).

En sección transversal la lámina tiene forma de “V” abierta, con cutícula gruesa y estriada; ambas epidermis son unistratas con estomas al mismo nivel de la superficie epidérmica; mesofilo homogéneo de 6-7 estratos celulares y parénquima paravenal (Fig. 4C-E). A la altura del nervio principal se observa colénquima laminar subepidérmico hacia la superficie abaxial y un único haz vascular colateral rodeado por una vaina parenquimática con esclerénquima hacia floema (Fig. 4E). Los haces vasculares de menor orden son colaterales con vaina parenquimática (Fig. 4C).

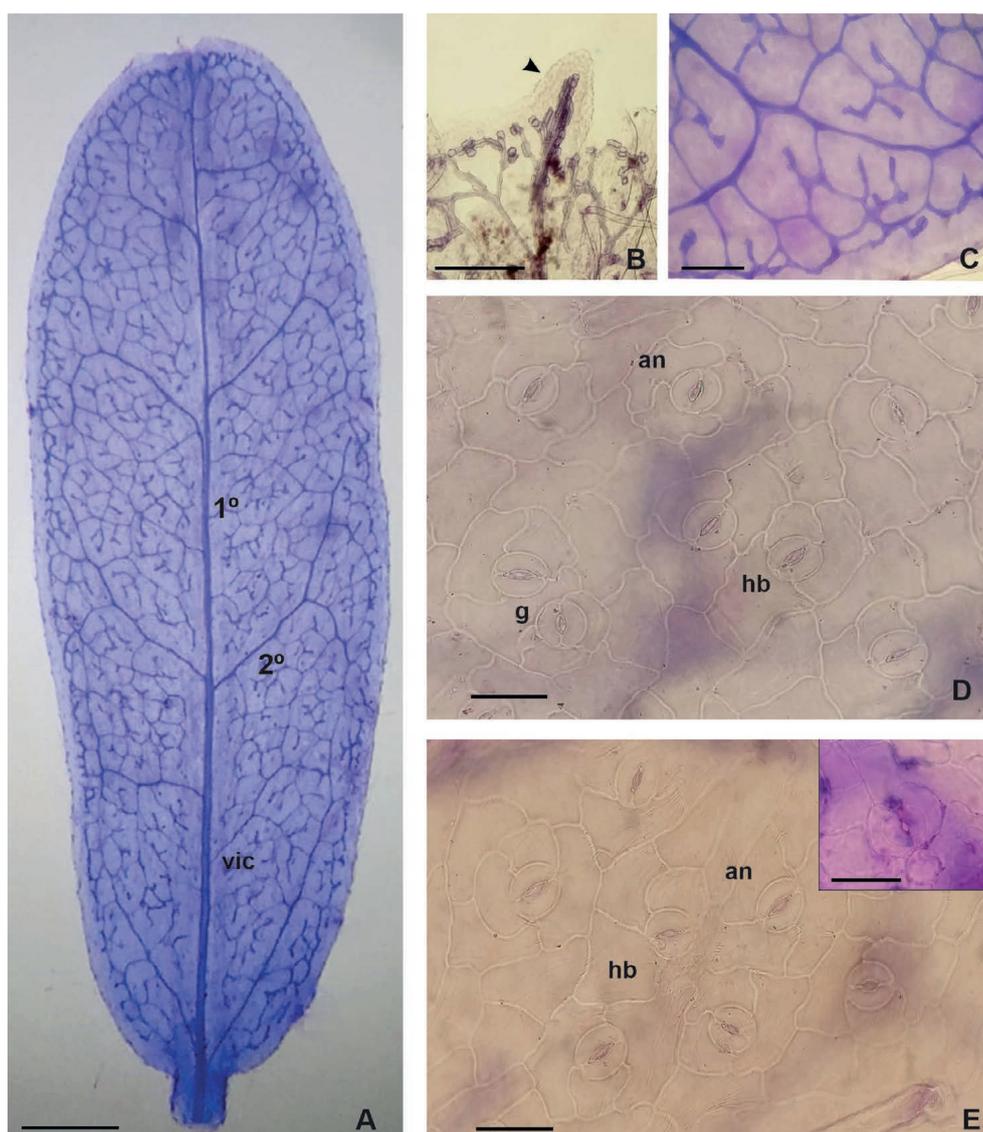


Fig. 3. *Adesmia incana* var. *incana*. A-C) Arquitectura foliolar. A) Venación pinnada. B) Ápice mucronado. C) Venación última marginal incompleta. D-E) Epidermis foliolar. D) Adaxial; estomas anomocíticos, hemibraquiparacíticos y gemelos. E) Abaxial, estoma braquiparacítico en imagen incluida. Abreviaturas: an, estoma anomocítico; g, estomas gemelos; hb, estoma hemibraquiparacítico; vic, vena intersecundaria compuesta; 1°, vena primaria; 2°, vena secundaria. Caro 139, 140 (LIL). Escalas = A, 1 mm; B-C, 200 μ m; D-E e imagen incluida, 30 μ m.

Fig. 3. *Adesmia incana* var. *incana*. A-C) Leaf architecture. A) Pinnate venation. B) Mucronate apex. C) Incomplete last marginal venation. D-E) Foliolar epidermis. D) Adaxial; anomocytic, hemibrachyparacytic and twin stomata. E) Abaxial, brachyparacytic stoma in included image. Abbreviations: an, anomocytic stoma. g, twin stomata. hb, hemibrachyparacytic stoma. vic, compound intersecondary vein 1°, primary vein 2°, secondary vein. Caro 139, 140 (LIL). Scale = A, 1 mm; B-C, 200 μ m; D-E and inserted image, 30 μ m.

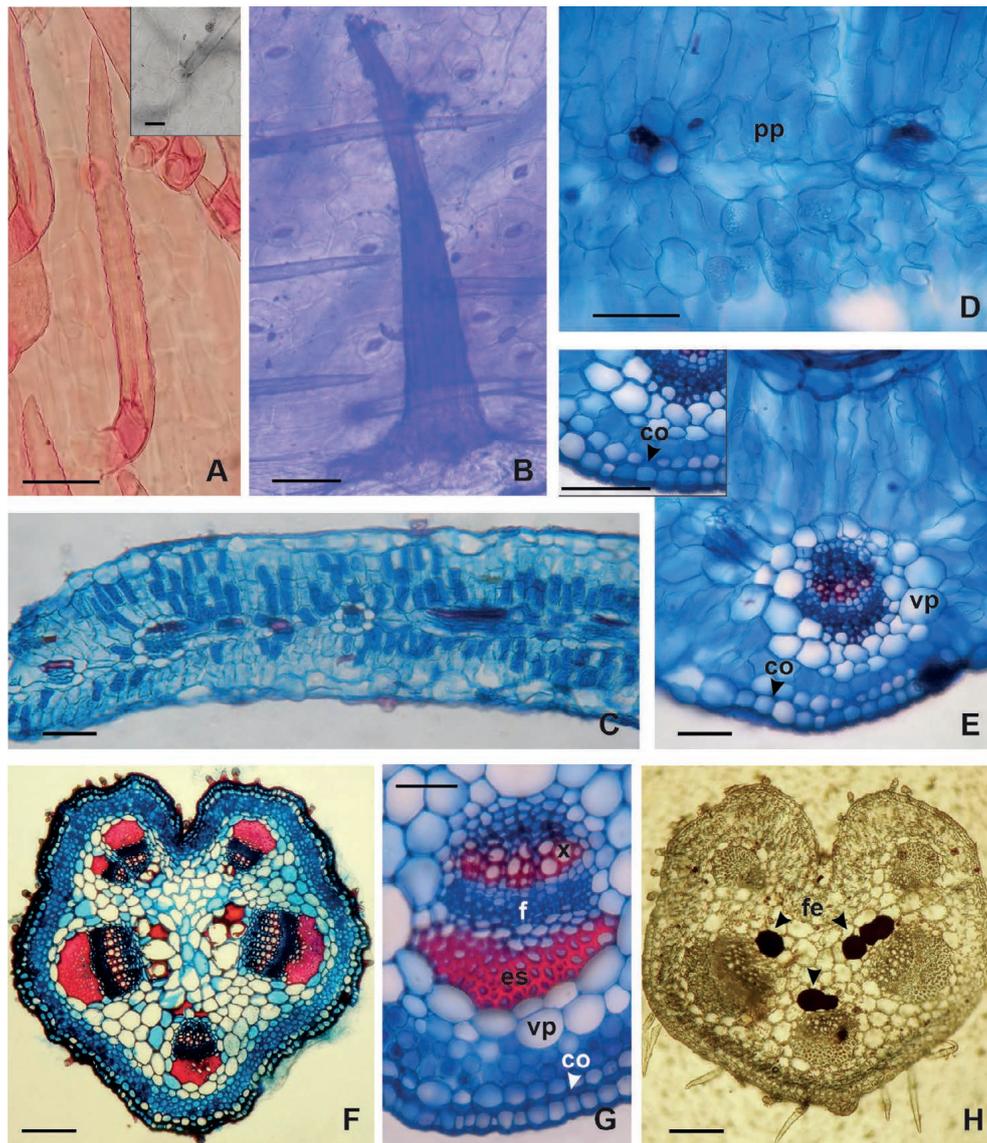


Fig. 4. *Adesmia incana* var. *incana*. A-E) Anatomía de la lámina foliolar. F-H) Anatomía del pecíolo. A) Tricoma eglandular tricelular-uniseriado; inserción del tricoma en imagen incluida. B) Tricoma eglandular pluricelular de base ensanchada. C-E) Corte transversal de lámina. C) Aspecto general. D) Parénquima paravenal. E) Vena primaria, colénquima laminar subepidérmico en imagen incluida. F-H) Corte transversal del pecíolo. F) Pecíolo subcircular. G) Haz vascular colateral. H) Test de cloruro férrico, positivo para fenoles. Abreviaturas: co, colénquima; f, floema; fe, fenoles; pp, parénquima paravenal; vp, vaina parenquimática; x, xilema. Caro 139, 140 (LIL). Escalas = A, 5 μm ; B-H y las imágenes incluidas, 80 μm .

Fig. 4. *Adesmia incana* var. *incana*. A-E) Anatomy of the leaf blade. F-H) Anatomy of the petiole. A) Tricellular-uniseriate eglandular trichome; trichome insertion in included image. B) Multicellular eglandular trichome with a widened base. C-E) Cross section of sheet. C) General appearance. D) Paravenal parenchyma. E) Primary vein, subepidermal lamellar collenchyma in included image. F-H) Cross section of the petiole. F) Subcircular petiole. G) Collateral vascular bundle. H) Ferric chloride test, positive for phenols. Abbreviations: co, collenchyma. f, phloem. fe, phenols. pp, paravenal parenchyma. vp, parenchymatic sheath. x, xylem. Caro 139, 140 (LIL). Scale = A, 5 μm ; B-H and included images, 80 μm .

Anatomía del pecíolo.— En vista paradormal la epidermis está constituida por células rectangulares y poliédricas, de paredes rectas a levemente curvas; presenta estomas del tipo anomocíticos. Se observan numerosos tricomas eglandulares y glandulares similares a los descritos para la lámina.

En sección transversal el pecíolo tiene forma subcircular, de borde irregular, con una concavidad hacia la superficie adaxial, la cual es más notoria en la porción media del mismo (Fig. 4F). La epidermis es unistrata, con cutícula gruesa y estriada; subepidermicamente se presenta colénquima laminar unistrato y 3-4 capas de células parenquimáticas de contorno circular. El sistema vascular se haya inmerso en el parénquima y está formado por 5 a 7 haces vasculares colaterales, con casquete de esclerénquima hacia floema (Fig. 4F, G). Tubos fenólicos se encuentran en el parénquima próximo a los haces vasculares (Fig. 4H).

Análisis meiótico.— La población analizada exhibió como número cromosómico $n = 20II$ (Fig. 5D), en ambas etapas de la división meiótica el comportamiento fue regular y la formación de tétradas fue normal.

Análisis de las secuencias ITS2.— El segmento ITS2 de *Adesmia incana* var. *incana* presentó 220 pares de bases. Al realizar el BLAST en la base de datos del GenBank, se observó una mayor similitud con la secuencia de *A. grandiflora* (Accesion number: MN091825.1), con la que comparte 99,55% de identidad (cobertura 100%). El alineamiento está representado en la Fig. 5A.

La representación gráfica y los detalles de cada componente de la estructura secundaria del transcripto de ARN, se encuentran representados en la Fig. 5C y en la Tabla 1. Es la típica estructura de las angiospermas, con un bucle múltiple central del que sobresalen cuatro hélices denominadas I, II, III y IV. Su estructura se caracteriza por presentar forma de X deprimida, con dos ángulos obtusos entre las hélices I-IV y II-III y dos ángulos agudos entre las hélices I-II y III-IV. La hélice I está conformada por tres bucles y la horquilla se compone por CUCG, mientras que la hélice II exhibe sólo 2 bucles y la horquilla se conforma por la secuencia CUU. La hélice III posee tres bucles y tres protuberancias, con una horquilla cuya secuencia es CGCAAU; por último, la hélice IV tiene una horquilla compuesta por UCU, un bucle y dos protuberancias.

Cabe destacar que las dos poblaciones analizadas presentaron características morfoanatómicas, citogenéticas y moleculares similares.

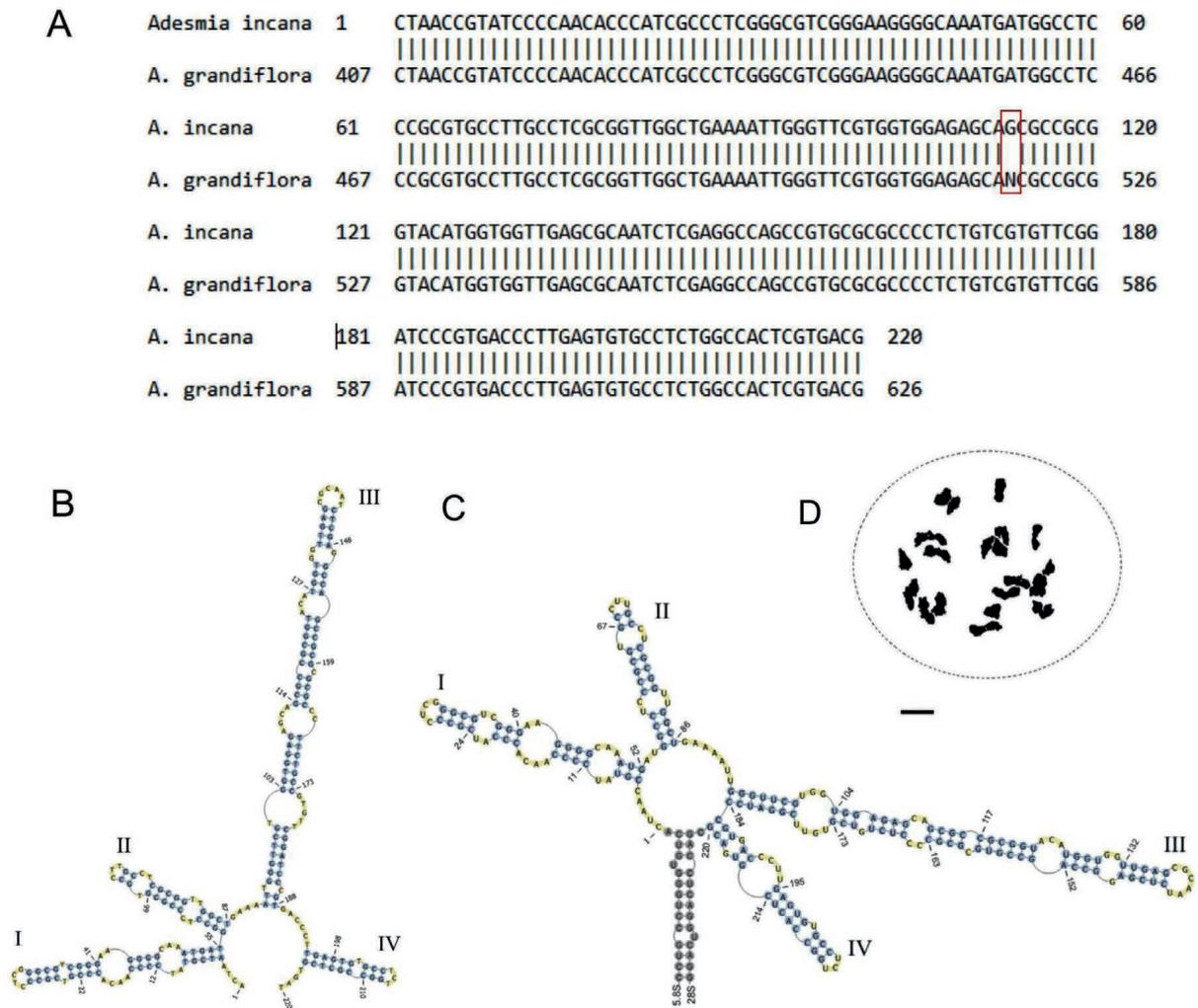


Fig. 5. Representación gráfica de la estructura secundaria de la secuencia ITS2 visualizadas con el software PseudoViewer 3. A) alineamiento resultante de BLAST entre *Adesmia incana* var. *incana* y *A. grandiflora*. B) *Adesmia ovobata* obtenida de la base de datos ITS2 Ribosomal RNA. C) *Adesmia incana* var. *incana* construida con el software RNAfold. D) Representación gráfica de la diacinesis $n = 20$. El recuadro en color rojo indica un sitio variable. Las hélices se encuentran numeradas de I-IV. Las bases coloreadas en gris corresponden a los ARNr 5,8S y 28S; el anillo central, los bucles, las protuberancias y las horquillas se muestran en color beige. Los números internos en las estructura indican las posiciones de las bases.

Fig. 5. Graphic representation of the secondary structure of the ITS2 sequence visualized with the PseudoViewer 3 software. A) Alignment resulting from BLAST between *Adesmia incana* var. *incana* and *A. grandiflora*. B) *Adesmia ovobata* obtained from the ITS2 Ribosomal RNA database. C) *Adesmia incana* var. *incana* built with RNAfold software. D) Graphical representation of the dikinesis $n = 20$. The red box indicates a variable site. The propellers are numbered I-IV. The bases colored in gray correspond to the 5.8S and 28S rRNAs; The center ring, loops, bumps and hairpins are shown in beige. The internal numbers in the structures indicate the positions of the bases.

Tabla 1. *Adesmia incana* var. *incana*: detalles de la estructura secundaria del transcrito primario de ARN del segmento ITS2.

Table 1. *Adesmia incana* var. *incana*: details of the secondary structure of the primary RNA transcript of the ITS2 segment.

Hélice	Estructura	Posición	Secuencia
I	Bucle	9-10/47-49	AU/CAA
		15-18/41-42	AACA/AA
		22-23/36-37	UA/UC
	Protuberancia	---	---
	Horquilla	28-31	CUCG
II	Bucle	59-60/81-82	UC/UU
		66/74-75	U/CU
	Protuberancia	---	---
	Horquilla	69-71	CUU
III	Bucle	101-103/174-177	UGG/UGUU
		111-112/164-165	CA/ CC
		130-131/148	GG/G
	Protuberancia	123-125	ACA
		159	C
		170	G
Horquilla	137-142	CGCAAU	
IV	Bucle	188/217	G/G
	Protuberancia	191-194	CCUU
		200	U
	Horquilla	204-206	UCU

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Este trabajo contribuye con la descripción morfoanatómica foliar, la caracterización de la meiosis y de la secuencia ITS2 de *Adesmia incana* var. *incana*; además, se amplía el área de distribución citándose por primera vez su presencia en la provincia de Tucumán. Cabe destacar que en las colecciones del Herbario Fanerogámico LIL no se encontró material de esta variedad para Tucumán; mientras que en la base de datos GBIF se menciona un registro para el departamento de Tafí del Valle (Fig. 1). Los numerosos viajes de recolección realizados, por nuestro grupo de investigación al departamento de Tafí del Valle, nos permitieron confeccionar un listado de las especies de *Adesmia* de la zona y, a la fecha, no registramos ejemplares de la variedad *incana*. Sin embargo, en la zona citada por el GBIF se encuentra *Adesmia muricata*, especie afín debido a su gran similitud morfológica con la variedad *incana*.

En relación con la anatomía foliar, se cita para las Fabaceae-Papilionoideae la presencia de diferentes tipos de estomas, células tánicas y tricomas glandulares y glandulares, caracteres que fueron encontrados en *Adesmia incana* var. *incana*; sin embargo, se menciona la presencia de papilas, las cuales no fueron observadas previamente en esta variedad (Solereeder, 1908;

Metcalfé y Chalk, 1950). Caro *et al.* (2014, 2016, 2018, 2020) describieron la anatomía foliar y de la espina de *A. cordobensis* var. *cordobensis* (serie Muri-catae), *A. schickendantzii* (serie Subterranea), *A. cytisoides* (serie Coluteoides), *A. inflexa* y *A. trijuga* (serie Microphyllae), estas especies comparten con la aquí estudiada el poseer láminas anfiestomáticas, mesofilo equilateral, tricomas eglandular tricelular y pecíolo con cinco haces vasculares. Con respecto a los tricomas glandulares *A. schickendantzii* y *A. trijuga* comparten el tipo pluricelular biseriado en la porción basal con una glándula terminal; además, desde el punto de vista histoquímico se observa la presencia de fenoles en todas las especies incluida la variedad *incana*, excepto en *A. cordobensis* var. *cordobensis*.

En la variedad estudiada, los folíolos son anfiestomáticos, con una densidad mayor en la epidermis adaxial. Según Fahn (1990) y Fahn y Cutler (1992), la presencia de estomas en ambas superficies de la lámina es un carácter común en plantas que viven en ambientes xerófitos, ya que permite el rápido intercambio de gases durante el poco tiempo que están abiertos, evitando así la pérdida de agua por transpiración. La densidad estomática aquí observada es coincidente con lo mencionado por Leegod (1993) y Evert (2008) para otras especies del mismo hábitat. El tamaño de los estomas, en *A. incana* var. *incana* es pequeño (22,85 μm de long.) en relación con una célula vegetal (10 a 100 μm de long.) (Fahn, 1990). Esta particularidad es un factor clave frente al estrés hídrico, ya que existe una relación inversa entre el tamaño de los estomas y la resistencia a la sequía (Strasburger *et al.*, 1986; Aasaman *et al.*, 2001). Ragonese (1969b) menciona que la mayoría de las especies del subgénero *Adesmia*, presentan estomas de tipo anisocíticos y cita estomas ciclocíticos en algunas especies de ambos subgéneros. En este trabajo se observan estomas de tipo anomocíticos y hemibraquiparacíticos.

La variedad estudiada presenta tricomas eglandulares y glandulares, los primeros cubren densamente los folíolos, principalmente la superficie abaxial. Esto responde a una adaptación de estas plantas al ambiente en el que habitan, debido a prolongadas sequías. Los tricomas influyen en la economía del agua y contribuyen a disminuir el movimiento del aire en la superficie que rodea la epidermis, permitiendo así concentrar el vapor de agua y evitar la excesiva transpiración (Fahn y Cutler, 1992). La abundante pubescencia en la superficie abaxial permitiría regular la temperatura mediante la reducción de la absorción de energía radiante o por reflexión desde el sustrato arenoso hacia la lámina (Fahn, 1982; Lindorf *et al.*, 1991; Roth, 1992), esto podría explicar la mayor densidad de estomas en la superficie adaxial. Ragonese (1969b) cita la presencia de sólo tricomas glandulares para el subgénero *Adesmia*.

La presencia de taninos en las hojas es considerada un elemento de valor adaptativo a condiciones áridas (Fahn y Cutler, 1992). Por lo tanto, la presencia de tubos fenólicos (taninos) en el pecíolo de la variedad estudiada estaría en concordancia con lo antes mencionado. Los compuestos fenólicos están relacionados con la protección contra la herbivoría, además de

presentar funciones microbianas y brindar protección contra la radiación ultravioleta (Monteiro, 2021).

De acuerdo al análisis de la estructura del folíolo de la variedad *incana*, es interesante destacar los caracteres xerófitos que se relacionan directamente al ambiente en el que habita: aspecto estolonífero, microfilia, abundante pubescencia, folíolos anfistomáticos y tubos fenólicos. Sin embargo, presenta otros caracteres que no se relacionan con la xerofilia como la densidad estomática adaxial elevada, el escaso desarrollo de esclerénquima y los estomas que se ubican al mismo nivel de las células epidérmicas. En este sentido, Cutler (1987) y Laskowski (1996) indicaron que las adaptaciones no siempre son evidentes a nivel morfológico, pudiendo existir además adaptaciones fisiológicas y bioquímicas ante situaciones de déficit hídrico y altas temperaturas.

Los resultados citogenéticos en poblaciones de la provincia de Tucumán, corroboran el número $n = 20II$ registrado en poblaciones tetraploides (Castronovo, 1945; Hunziker *et al.*, 1985; Miotto y Forni-Martins, 1995; Coelho y Battistin, 1998; Tedesco *et al.*, 2002).

La estructura secundaria del transcripto primario ITS2 de la variedad *incana*, posee un bucle múltiple central y cuatro hélices, concuerda con la estructura típica observada en los eucariotas (Coleman, 2003, 2007; Müller *et al.*, 2007) y con las que exhiben otras especies de *Adesmia*, registradas en la base de datos ITS2 Ribosomal RNA. A pesar de que *A. incana* var. *incana* (serie Bicolores) pertenece al subg. *Adesmia*, no hay concordancia con las estructuras de otras especies de este subgénero; las topologías de las hélices I, II y III muestran mayor similitud con las de *A. obovata* (serie Microphyllae) del subg. *Acanthadesmia* (Fig. 5B), mientras que la estructura de la hélice IV tiene rasgos particulares, ya que presenta un bucle G/G y una protuberancia CCUU (en posiciones 186/217 y 220-223, respectivamente). Sin embargo, al llevar a cabo el plegamiento en *A. grandiflora*, la especie más afín a la variedad *incana*, presentan idénticas estructuras salvo en la posición 119, donde se encuentra N en lugar de G. Si bien en este trabajo y en la base de datos se utilizó el software RNAfold, las diferencias observadas probablemente se deben a que los fragmentos ITS2 de la base de datos presentan sitios o caracteres ambiguos o multiestados que dificultan el correcto plegamiento de la molécula. Otra explicación puede atribuirse a la carencia de la hélice doble o tallo imperfecto de ARN (Keller *et al.*, 2009), en la secuencia de la base de datos. Este segmento híbrido de aproximadamente 15 pares de bases, correspondientes a los ARN 5,8S y 28S, respectivamente; anteceden y suceden a las secuencias ITS2. Según los autores antes mencionados, ese tallo es esencial para la detección exitosa de la maquinaria de procesamiento preribosómica, como así también para el correcto plegamiento del transcripto de ARN. Las estructuras elaboradas en este trabajo se realizaron añadiendo estos segmentos híbridos (Fig. 5C).

Mihoc (2012) argumentó que la diversificación de especies en el género *Adesmia* se habría generado por el rápido levantamiento de los Andes y,

debido a ello, estas especies presentarían pocas innovaciones morfológicas, que aquí se ven reflejadas en los datos anatómicos. Además, esta autora aludió que los caracteres neutros como los moleculares servirían para elaborar ordenamientos jerárquicos. Por lo tanto, las diferencias de los microcaracteres y de las estructuras secundarias del ARN obtenido para ITS2, podrían utilizarse para identificar las especies en este grupo polimórfico.

Para *Adesmia incana* var. *incana* se describe por primera vez la anatomía foliar, la secuencia ITS2 y su estructura secundaria en individuos de la población de la provincia de Tucumán.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

- Aasaman, K., Sober, A. y Rahi, M. (2001). Leaf anatomical characteristic associated with shoot hydraulic conductance, stomatal conductance and stomatal sensitivity to changes of leaf water status in temperate deciduous trees. *Functional Plant Biology* 28: 765-774. <http://dx.doi.org/10.1071/PP00157>
- Bianco, C. A. (2002). Growth forms, taxonomy, distribution, and uses of the *Adesmia* species (Leguminosae) in Central Argentina. *Dissertationes Botanicae* 356: 1-157.
- Byun, Y. y Han, K. (2009). PseudoViewer3: generating planar drawings of large-scale RNA structures with pseudoknots. *Bioinformatics* 25: 1435-1437. <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btp252>
- Burkart, A. (1967). Sinopsis del género sudamericano de Leguminosas *Adesmia* DC. (Contribución al estudio del género *Adesmia*, VII). *Darwiniana* 14: 463-568.
- Caro, M. S., Ruiz, A. I. y Albornoz, P. L. (2014). Morfología, anatomía foliar y aporte citológico de *Adesmia cordobensis* var. *cordobensis* (Fabaceae) del Noroeste argentino. *Lilloa* 51: 141-150. <http://www.lillo.org.ar/journals/index.php/lilloa/article/view/343>
- Caro, M. S., Ruiz, A. I. y Albornoz, P. L. (2016). Exomorfología, anatomía vegetativa y citología de *Adesmia schickendanzii* (Fabaceae-Papilionoideae) del Noroeste argentino. *Lilloa* 53: 3-11. <http://www.lillo.org.ar/journals/index.php/lilloa/article/view/117>
- Caro, M. S., Ruiz, A. I., Andrada, A. R. y Albornoz, P. L. (2018). Morfología vegetativa y floral, anatomía foliar y de la espina caulinar y primeros recuentos cromosómicos de *Adesmia cytisoides* y *A. inflexa* (Fabaceae, Papilionoideae) del Noroeste Argentino. *Lilloa* 55: 17-29. <https://doi.org/10.30550/j.lil/2018.55.2/3>

- Caro, M. S., Ruiz, A. I., Páez, V. A. y Albornoz, P. L. (2020). Morfología, parámetros micrográficos vegetativos, histoquímica y citogenética de *Adesmia trijuga* (Fabaceae, Papilionoideae) en el noroeste argentino. *Lilloa* 57: 110-124. <https://doi.org/10.30550/j.lil/2020.57.2/3>
- Castronovo, A. (1945). Estudios cariológicos de doce especies de leguminosas argentinas. *Darwiniana* 7 (1): 38-57.
- Chen, S., Yao, H., Han, J., Liu, C., Song, J., Shi, L., Zhu, Y., Ma, X., Gao, T., Pang, X., Luo, K., Li, Y., Li, X., Jia, X., Lin, Y. y Leon, C. (2010). Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species. *Plos One* 5: e8613. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0008613>
- Coelho, L. G. M. (1996). Citogenética e qualidade de forragem de espécies de *Adesmia* DC nativas no Rio Grande do Sul. *Ciência Rural* 27: 367. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84781997000200034>
- Coelho, L. G. M. y Battistin, A. (1998). Meiotic behavior of *Adesmia* DC. (Leguminosae Faboideae) species native to Rio Grande do Sul, Brazil. *Genetics and Molecular Biology* 21: 403-406. <https://doi.org/10.1590/S1415-47571998000300020>
- Coleman, A. W. (2003). ITS2 is a double-edged tool for eukaryote evolutionary comparisons. *Trends in Genetics* 19: 370-375. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-9525\(03\)00118-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-9525(03)00118-5)
- Coleman, A. W. (2007). Pan-eukaryote ITS2 homologies revealed by RNA secondary structure. *Nucleic Acids Research*. 35: 3322-3329. <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkm233>
- Covas, G. (1949). Estudios cariológicos em antófitas. III Parte. *Darwiniana* 9: 158-162.
- Covas, G. y Hunziker, J. H. (1954). Estudios cariológicos em antófitas. IV Parte. *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 8: 249-253.
- Covas, G. y Schnack, B. (1946). Numero de cromosomas em antófitas de la región Cuyo (Republica Argentina). *Revista Argentina de Agronomía* 13: 153-166.
- Cutler, D. F. (1987). Anatomía vegetal aplicada. Ed. Mosaico, Argentina.
- Evert, R. F. (2008). Esau anatomía vegetal meristemas, células y tejidos de las plantas: su estructura, función y desarrollo. (3ªEd) Barcelona. Omega.
- D'Ambrogio de Argüeso, A. (1986). Manual de técnicas de histología vegetal. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires, 83 pp.
- Dilcher, D. L. (1974). Approaches to the identification of angiosperm leaves. *The Botanical Review* 40: 1-157.
- Dizeo de Strittmater, C. (1973). Nueva técnica de diafanización. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 15: 126-129.
- Dollenz Alvarez, O. (1976). Números cromosómicos de *Verbena tridens* Lag., *Baccharis patagonica* Hook. et Arn. y *Adesmia boronoides* Hook. f. *Anales del Instituto de la Patagonia, Serie Ciencias Naturales* 7:163-167.
- Fahn, A. (1982). Anatomía Vegetal. (4ªEd.) Pergamon Press, Oxford.

- Fahn, A. (1990). *Plant Anatomy*. (3^o Ed.) Pirámide, Madrid
- Fahn, A. y Cutler, F. D. (1992). Xerophytes—*Encyclopedia of Plant Anatomy*. Borntraeger, Berlin Stuttgart.
- Fedorov, A. A. (1969). *Chromosome Numbers of Flowering Plants*. Otto Koeltz Science Publishers, Koenigstein, Sajonia.
- Goldblatt, P. (1981). *Index to Plant Chromosome Numbers 1975-1978*. Monographs in Systematic Botany 5. Missouri Botanical Garden Timber press, Oregon.
- Gouy, M., Guindon, S. y Gascuel, O. (2010). SeaView version 4: A multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Molecular Biology and Evolution* 27: 221-4. <http://dx.doi.org/10.1093/molbev/msp259>
- Grajales, A., Aguilar, C. y Sanchez, J. A. (2007). Phylogenetic reconstruction using secondary structures of Internal Transcribed Spacer 2 (ITS 2, rDNA): findings the molecular and morphological gap in the Caribbean gorgonian corals. *BMC Evolutionary Biology* 7: 90. <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/7/90>
- Guerra, M. y de Souza, M. J. (2002). *Como observar cromosomas: Um Guia de Técnicas em Citogenética Vegetal, Animal e Humana*. Ribeirão Preto, SP: Fundação de Pesquisas Científicas de Ribeirão Preto. Ed. FUNPEC.
- Hickey, L. (1974). Clasificación de la arquitectura de las hojas de Dicotiledóneas. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 16: 1-26.
- Hunziker, H., Xiferda, C. C. y Wulff, A. F. (1985). Estudios cromosómicos en angiospermas de Sudamérica. *Darwiniana* 26: 7-14.
- Ignaci, J. R. V., Miotto, S. T. S., Souza-Chies, T. T., Särkinen, T. E., Simpson, B. B., Simon, M. F. y Pennington, R. T. (2013). Diversification history of *Adesmia* ser. *Psoraleoides* (Leguminosae): Evolutionary processes and the colonization of the southern Brazilian highland grasslands. *South African Journal of Botany* 89: 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.06.016>
- Krapovickas, A. y Krapovickas, A. M. (1952). Notas citológicas sobre leguminosas. *Darwiniana* 9: 612-613.
- Keller, A., Schleicher, T., Schultz, J., Müller, T., Dandekar, T. y Wolf, M. (2009). 5.8S–28S rRNA interaction and HMM-based ITS2 annotation. *Gene* 430: 50-57. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2008.10.012>
- Laskowski, L. (1996). *Selección, propagación y anatomía del semeruco*. Tesis de grado. Posgrado de Horticultura. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Venezuela
- Leegod, R. (1993). Carbon dioxide concentrating mechanisms. In: *Plant biochemistry and molecular biology* (Lea, P. J. & R.C. Leegod, eds.). John Wiley & Sons, Ltd. Chichester.
- Lewis, G., Schrire, B., Mackinder, B. y Lock, M. (2005) *Legumes of the World*. Richmond, U.K. Royal Botanical Gardens, Kew.

- Lorenz, R. S., Bernhart, S. H., Hönerzu-Siederdisen, C., Tafer, H., Flamm, C., Stadler, P. F. y Hofacker, I. L. (2011). ViennaRNA Package 2.0. *Algorithmis of Molecular Biology* 6: 1-14. <https://doi.org/10.1186/1748-7188-6-26>
- Lindley, J. (1951). Glosología o de los términos usados en Botánica. Fundación Miguel Lillo. *Miscelánea* 15.
- Lindorf, H., de Parisca, L. y Rodríguez, P. (1991). Botánica: Clasificación, Estructura, Reproducción. Universidad Central de Venezuela Ediciones de la Biblioteca. Caracas.
- Merget, B., Koetschan, C., Hackl, T., Förster, F., Dandekar, T., Müller, T., Schultz, J. y Wolf, M. (2012). The ITS2 Database. *Journal of Visualized Experiments* 12: 3806. <https://doi.org/10.3791/3806>
- Metcalf, C. R. y Chalk, L. C. (1950). Anatomy of the Dicotyledons. Editora Clarendon Press, Oxford.
- Mihoc, M. A. K., Morrone, J. J., Negritto, M. A. y Cavieres, L. A. (2006). Evolución de la serie *Microphyllae* (*Adesmia*, Fabaceae) en la Cordillera de los Andes: una perspectiva biogeográfica. *Revista Chilena de Historia Natural* 79: 389-404. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2006000300009>
- Mihoc, M. A. K. (2012). Biogeografía Histórica del subgénero *Acanthadesmia* Burkart (*Adesmia*, Fabaceae). Tesis de Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas, Área Botánica. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. <http://repositorio.udec.cl/handle/11594/5569>
- Miotto, S. T. S. (1991). O gênero *Adesmia* DC. (Leguminosae–Faboideae) no Brasil. Ph.D. Thesis. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Miotto, S. T. S. y Forni-Martins, E. R. (1994). Numero cromossomico em especies brasileiras de *Adesmia* DC (Leguminosae, Faboideae). *Acta Botanica Brasilica* 8: 3-9. <https://doi.org/10.1590/S0102-33061994000100001>
- Monteiro, T. C. (2021). Revisão taxonômica e estudos filogenéticos e anatômicos em táxons de *Adesmia* subg. *Adesmia* séries Bicolores, Subnuda, Muricatae (Leguminosae). Tesis de Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas. Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. Instituto de Biociências de Botucatu.
- Müller, T., Philippi, N., Dandekar, T., Schultz, J. y Wolf, M. (2007). Distinguishing species. *RNA* 13: 1469-1472. <http://dx.doi.org/10.1261/rna.617107>
- Ragonese, A. M. (1969a). Vascularización de la base foliar y pecíolo de algunas especies de *Adesmia*. *Darwiniana* 15: 143-149.
- Ragonese, A. M. (1969b). Anatomía del género *Adesmia* (Leguminosae). *Darwiniana* 15: 150-182.
- Roth, I. (1992). Leaf structure: coastal vegetation and mangroves of Venezuela. Gebrüder Borntraeger, Berlin.
- Saghai-Marrof, M. A., Soliman, K., Jorgensen, R. A. y Allard, R. W. (1984). Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: mendelian

- inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Science* 81: 8014-8018. <https://doi.org/10.1073/pnas.81.24.8014>
- Schultz, J. y Wolf, M. (2009). ITS2 sequence-structure analysis in phylogenetics: a how-to manual for molecular systematics. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 52: 520-523. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.01.008>
- Solereder, H. (1908). Systematic anatomy of the Dicotyledons. Oxford at the Clarendon Press, London.
- Strasburger, E., Noll, F., Schenck, H. y Schimper, A. (1986). Tratado de Botánica. Barcelona, España, E. M. Marin.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipowski, A. y Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis versión 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725-2729. <http://dx.doi.org/10.1093/molbev/mst197>
- Tedesco, S. B., Schifino-Wittmann, M. T. y Dall'Agnol, M. (2002). Meiotic behaviour and pollen fertility in the seventeen Brazilian species of *Adesmia* DC. (Leguminosae). *Caryologia* 55: 341-347. <http://dx.doi.org/10.1080/00087114.2002.10797885>
- Ulibarri, E. A. y Burkart, A. (2000). Sinopsis de las especies de *Adesmia* (Leguminosae, Adesmieae) de la Argentina. *Darwiniana* 38: 59-126
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. y Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, en M. A. Innis, D. H. Gelfand; J. J. Sninsky & T. J. White (eds.) PCR Protocols: a guide to methods and applications. San Diego: Academic Press.
- Yao, H., Song, J., Liu, C., Luo, K., Han, J., Li, Y., Pang, X., Xu, H., Zhu, Y., Xiao, P. y Chen, S. (2010). Use of ITS2 region as the universal DNA barcode for plants and animals. *PLoS ONE* 5: e13102. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0013102>
- Zarlavsky, G. E. (2014). Histología vegetal: Técnicas simples y complejas. Sociedad Argentina de Botánica, Buenos Aires.
- Zuloaga F. O. y M. A. Anton. (2024). Flora Argentina. Recuperado de <http://www.floraargentina.edu.ar/>