

## PARÁMETROS MICROGRÁFICOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE CUATRO ESPECIES DE *Gentianella* MOENCH. (GENTIANACEAE)

MARÍA A. ROSELLA<sup>1</sup>; SILVIA L. DEBENEDETTI<sup>1</sup>; ETILE D.  
SPEGAZZINI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Farmacognosia

<sup>2</sup>Cátedra de Farmacobotánica-LABRAM

Facultad de Cs. Exactas, UNLP. Calle 47 y 115. La Plata, Argentina (CP 1900)

[labram@biol.unlp.edu.ar](mailto:labram@biol.unlp.edu.ar)

**RESUMEN:** El objetivo de la presente contribución fue estudiar, la epidermis de las hojas y los granos de polen de *G. achalensis* (Hieron. ex Gilg) T.N.Ho et S.W.Liu, *G. parviflora* (Griseb.) T.N. Ho, *G. florida* (Griseb.) Holub y *G. cosmantha* (Griseb.) J.S. Pringle a fin de diferenciarlas cuando las mismas se encuentren fragmentadas. Las determinaciones micrográficas fueron realizadas con microscopía óptica (MO) y MEB. Los caracteres de valor diagnóstico para diferenciar los 4 taxones son: patrón de distribución de los estomas, espaciamiento de las estrías cuticulares, estructura de la exina y diámetros polar y ecuatorial, así mismo fueron calculados el índice de estomas y empalizada.

**Palabras clave:** *Gentianella*, análisis micrográfico, epidermis, granos de polen

**SUMMARY:** The aim of the present contribution was to study the epidermis of the leaves and pollen grains of *G. achalensis* (Hieron. ex Gilg) T.N.Ho et S.W.Liu, *G. parviflora* (Griseb.) T.N. Ho, *G. florida* (Griseb.) Holub y *G. cosmantha* (Griseb.) J.S. Pringle., in order to stablish differential characters. The micrographic analysis were carried out with optic microscope (MO) and scanning electronic microscope (MEB). The diagnostic characters considered for the differentiation of the four taxons of *Gentianella* were: distribution pattern of stomata, spacing of the cuticular striations, structure of the exine, polar and equatorial diameters and also stomatal index and palisade ratio were calculated. These features provide a start point to quality control for commercial samples of *Gentianella* spp.

**Keywords:** *Gentianella*, micrographic analysis, epidermis, pollen grains

### INTRODUCCIÓN

El género *Gentianella* Moench (*Gentianaceae*) está representado en Argentina por unas 28 especies que habitan preferentemente en la región andina. (Zuloaga y Morrone, 1999).

Las partes aéreas (vegetativa y floral) de algunas de las especies de *Gentianella* Moench (*Gentianaceae*), procedentes de diferentes provincias del centro y oeste del país, son utilizadas con fines medicinales y en la elaboración de bebidas a base de hierbas denominadas “amargos”. Muchas de ellas son conocidas bajo los mismos

nombres vulgares: “pasto amargo” o “pasto blanco” “agenciana” y se comercializan bajo el nombre de “nencia”.

En la Argentina sólo dos especies de *Gentianella*, *G. multicaulis* (= *G. achalensis*), y *Gentianella parviflora* han sido fitoquímica y farmacológicamente estudiadas (Nadinic et al., 1997; Nadinic, 2000; Rosella, 2008), estableciéndose que las “nencias” comercializadas se corresponden con las características botánicas y fitoquímicas de *G. multicaulis*. Sin embargo, la presencia de otras especies del mismo género en muestras comerciales no ha podido ser descartada, especialmente si tenemos en cuenta la similitud morfológica de todas ellas, que comparten el mismo hábitat y que varias especies de *Gentianella* son conocidas con los mismos nombres vulgares e idénticas propiedades terapéuticas (Hieronimus, 1882; Domínguez, 1928). lo que facilitaría una confusión al momento de la recolección de especies.

Si bien Barboza et al (2001) describieron anatómicamente con MO las hojas y tallos *G. achalensis* y *G. parviflora*. Hasta el momento no existen otros datos botánicos que permitan el reconocimiento o diferenciación de *Gentianella* spp. cuando la droga se encuentra molida o fragmentada para su comercialización.

En la presente contribución se estudió, con microscopio óptico (MO) y microscopio electrónico de barrido (MEB), la epidermis de las hojas y los granos de polen de *G. achalensis* (Hieron. ex Gilg) T.N. Ho et S.W. Liu, *G. parviflora* (Griseb.) T.N. Ho, *G. florida* (Griseb.) Holub y *G. cosmantha* (Griseb.) J.S. Pringle a fin de diferenciarlas cuando ellas se encuentren fragmentadas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### a) Material vegetal

Se analizaron materiales secos provenientes de las siguientes instituciones BAF, LP, LPE y SI.

#### ***Gentianella multicaulis* (Hieron. ex Gilg) T.N. Ho et S.W. Liu**

Sin.: *Gentiana achalensis* Hieron. ex Gilg

Prov. Córdoba: Department of Córdoba: Suquía, Martino (LPE 992). Department of Punilla: Los Gigantes, Dawson 527 (LP); Sierra Grande, Cuesta de Copina, Hunziker 9504 (LP). Department of San Javier: cerca del pié del Champaquí, alt. 2400 msm., Hunziker 9073 (LP), cumbre del Champaquí, 2800 msm., Hunziker 9046 (LP); Rentzell, Von (SI 15208); Department of San Alberto: Pampa de Achala, Remanso de La loma Quemada, Rentzell, Von (SI 15172); Pampa de Achala, valles más altos, Rentzell, Von (SI 15228); Pampa de Achala, Rentzell Von (SI 15207). Department of Calamuchita: Sierra de Comechingones, entre Villa Alpina y Champaquí, Sayago, ex herb. General Fac. Cs. Ex. , Fis. y Nat. Córdoba 2449 (LP). Department of San Alberto: La Posta, Filippa (LPE 999). Cerro de las Cuevas, Pastore 2023 (SI); Arévalo (LE 991); Departement of Pringles: Estancia Grande, Vignati 580 (LP). Muestra comercial, sin procedencia geográfica, Platario (LPE 935).

Prov. Córdoba: Department of San Javier: Sierra de Achala, Cerro Champaquí, Kurtz 6820 (isocotipo LP). paquí, Kurtz 6820 (isocotipo LP).

***G.cosmantha* (Griseb.)J.S.Pringle**

Prov. Catamarca: Department of. Andalgalá: Cuesta del Clavillo, Filipa 44 (LPE)

***Gentianella florida* (Griseb.)Holub**

Sin.: *Gentiana florida* Griseb.

Prov. Catamarca: Department of. Andalgalá: Andalgalá, elt. 2500 msm., Joergensen 1483 (SI). Prov. Jujuy: Department of Capital: Yala, cerros, Burkart et Troncoso (SI11348). Department of Capital, Sierra de Zapla, alt. 1600-1800 msm, Fabris 8264 (LP). Department of Santa Bárbara: Frangi et al 21706 (LP). Department of Tumbaya: Volcán, Cabrera et al. 20497 (LP), Chulcayoe, Kiesling et al.. 1003 (LP). Prov. Salta: Spegazzini 20830 (LP). Department of Santa Victoria: Los Toldos, cuesta Cerro Bravo, Fabris et Crisci 7378 (LP). Prov. Tucumán: Department of Famaillá: Villa Nogués, alt. 1000 msm., Venturi 1710 (LP, SI).

***Gentianella parviflora* (Griseb.)T.N. Ho,**

Sin.: *Gentiana coerulescens* var. *parviflora* Griseb., *Gentiana galanderi* Hieron, nom. Nud., *Gentiana parviflora* Griseb.

Prov. Córdoba: Department of San Alberto: Pampa de Achala,, Cabrera et al. 24848 (LP); Eskuche , 3/1947 (LP); Fabris 1066 (LP). Department of Punilla: El Cajón, Sayago, ex herb. General Fac. Cs. Ex., Fis. y Nat. Córdoba 915 (LP); Los Gigantes, Sayago, ex herb. General Fac. Cs. Ex., Fis. y Nat. Córdoba 935 (LP); Los Gigantes, Vallecito y cerro de la Cruz, Sayago, ex herb. General Fac. Cs. Ex., Fis. y Nat. Córdoba 1004 (LP). Department of Calamuchita: Sierra de Comechingones, entre Villa Alpina y Champaquí, Sayago, ex herb. General Fac. Cs. Ex., Fis. y Nat. Córdoba 668 (LP); Sierra Grande, cumbre de La Mesilla, Hunziker 9017 (LP).

**b) Microscopía analítica**

**Equipos utilizados:**

Las observaciones se efectuaron con microscopio estereoscópico Iroscope YZ-6 y un microscopio óptico (MO) Olympus CH.

Los diseños originales se realizaron con microscopio óptico (MO) Olympus CH, equipado con tubo de dibujo Iroscope.

Las observaciones y fotomicrografías se efectuaron con un Jeol JSM-T100 del Servicio de Microscopía Electrónica de Barrido del Museo de La Plata.

Se empleó la simbología de Metcalfe et Chalk (1983).

**Observación de epidermis foliar con microscopio óptico (MO):**

**Diafanización y eliminación de cutina**

Las hojas de las especies de *Gentianella* analizadas fueron sometidas a un proceso de diafanización y eliminación de cutina, según la técnica de Carpano *et al* (Carpano *et al.*, 1994; Spegazzini, 1999).

Este procedimiento permitió visualizar las células y obtener los valores numéricos proporcionales correspondientes a los índices de estomas (Salisbury, 1927) y empalizada (Zornig y Weiss, 1925).

### ***Determinación de valores numéricos o magnitudes proporcionales***

#### ***-Determinación del índice de estomas***

Esta determinación se realizó en base al valor numérico definido por Salisbury (1927)

Se trabajó con 25 muestras de hojas diafanizadas de *Gentianella* spp., para cada una de las cuales se repitió el conteo de estomas y células epidérmicas en diez campos distintos y seleccionados. Los campos observados fueron dibujados mediante el tubo de dibujo en unidades de superficie representadas por cuadrados de 10 cm de lado.

#### ***-Determinación del índice de empalizada***

Veinticinco muestras correspondientes a fragmentos de 5 mm de lado, de las hojas diafanizadas de *Gentianella* spp. fueron examinadas en visión frontal o adaxial. De esta manera, las células en empalizada aparecen como pequeños círculos por debajo de las células epidérmicas.

Se efectuaron observaciones microscópicas de 5 campos para cada muestra, realizándose los diseños correspondientes con el tubo de dibujo, obteniéndose los valores promedio.

Todos los valores obtenidos de cada parámetro se expresaron en rangos, promedio, moda (Mo) y desviación estándar (s).

### ***Observación de epidermis foliar con microscopio electrónico de barrido (MEB)***

Las hojas secas de *Gentianella* spp. previamente hidratadas en agua, a temperatura ambiente, se lavaron con agua destilada clorada y se fijaron en FAA (Etanol al 50% 67 ml, Acido acético glacial 17 ml, Formaldehído puro 16 ml) durante 48 horas.

Con ayuda del microscopio estereoscópico se seccionó un pequeño trozo del material, que fue secado sobre papel de filtro y montado sobre platina de aluminio, donde se terminó el secado mediante la aplicación de luz puntiforme. (Spegazzini, 1999).

Las observaciones y fotomicrografías se efectuaron con un MEB Jeol JSM-T100.

La terminología utilizada para describir la ornamentación de la cutícula se basa en la brindada por Wilkinson (1979).

### ***Observación de los granos de polen de G. parviflora con microscopio óptico (MO)***

Las muestras para la observación con el MO de granos de polen provenientes de las especies en estudio fueron acetolizados según el procedimiento de Erdtman (1952). El montaje se efectuó en gelatina glicerínada, sobre portaobjetos, sellados con parafina, para su observación con MO (Sanabria et al., 2007). La determinación de la forma y medidas se efectuó sobre 60 granos acetolizados, treinta en vista polar y

treinta en vista ecuatorial (Orsini et al., 2006). Se evaluaron las siguientes variables, determinándose para los diámetros ecuatorial y polar, el rango, media, moda (Mo) y desviación estándar (s):

- Diámetro mayor o eje ecuatorial (DE) en vista ecuatorial
- Diámetro o eje polar (DP)
- Dimensiones: expresada como el producto DP x DE (en  $\mu\text{m}$ )
- Ambito o forma del grano en vista polar. (AMB)
- Forma, definida de acuerdo a la relación DP/DE (Erdtman 1952)
- Diámetro de ora, (en la medida de los poros se indica primero el eje polar y luego el ecuatorial).
- Espesor de la exina (en  $\mu\text{m}$ )

Paralelamente, se efectuaron preparados de granos de polen no procesados químicamente, empleando la técnica de Wodehouse (1935), para compararlos con los acetolizados.

La terminología palinológica empleada se ajusta a la de Punt et al. (1994).

### **Observación de granos de polen con microscopio electrónico de barrido (MEB)**

Los granos de polen provenientes de *Gentianella* spp., sin acetolizar, fueron lavados con alcohol absoluto. Posteriormente los materiales se montaron y secaron sobre una platina de aluminio y se cubrieron con una capa de oro/paladio (Au/Pd) en relación 9:1, hasta un espesor aproximado de 15 nm, en una ionizadora Denton Vacuum Desk II, observándose y fotografiándose luego con un MEB ya descrito en 5.2.1 (Orsini et al., 2006)

## **RESULTADOS**

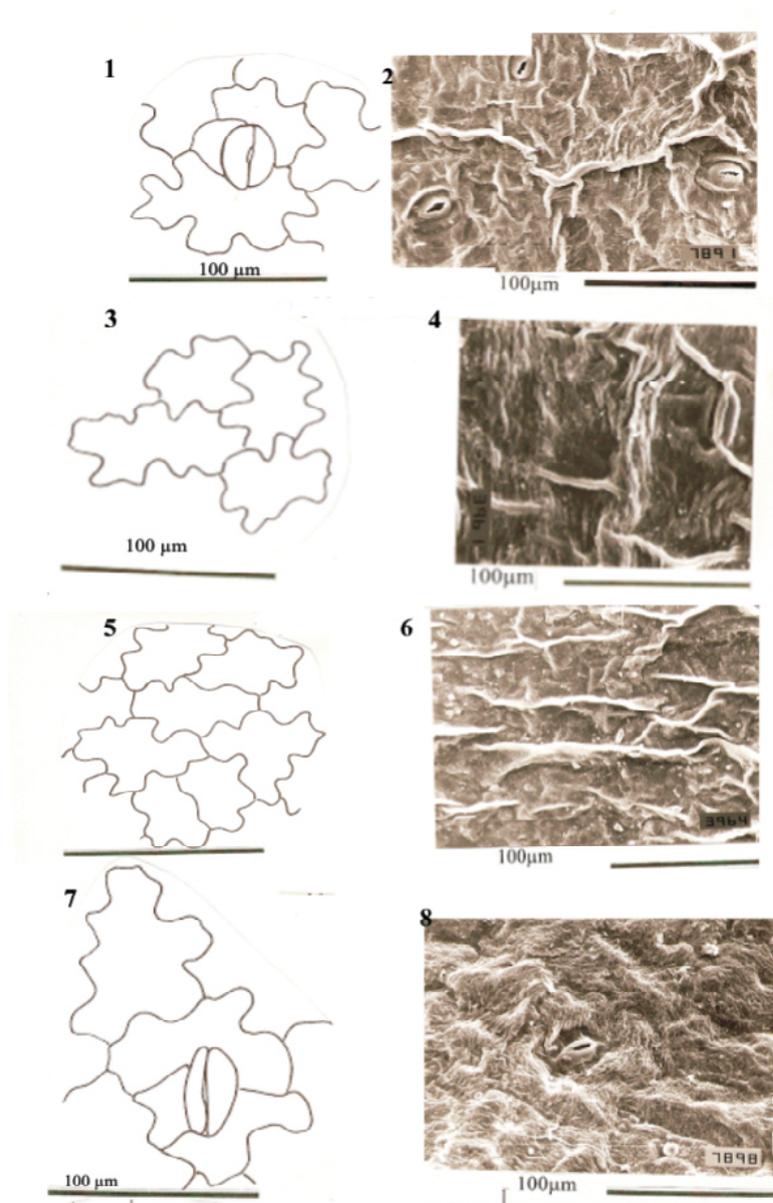
Las características de la epidermis foliar y de los granos de polen, así como las dimensiones y magnitudes proporcionales se resumen en las **Tablas 1 y 2**.

En la **Figura 1** se observa la epidermis adaxial de las hojas de las cuatro especies de *Gentianella*.

La **Figura 2** resume las características de sus epidermis foliares abaxiales.

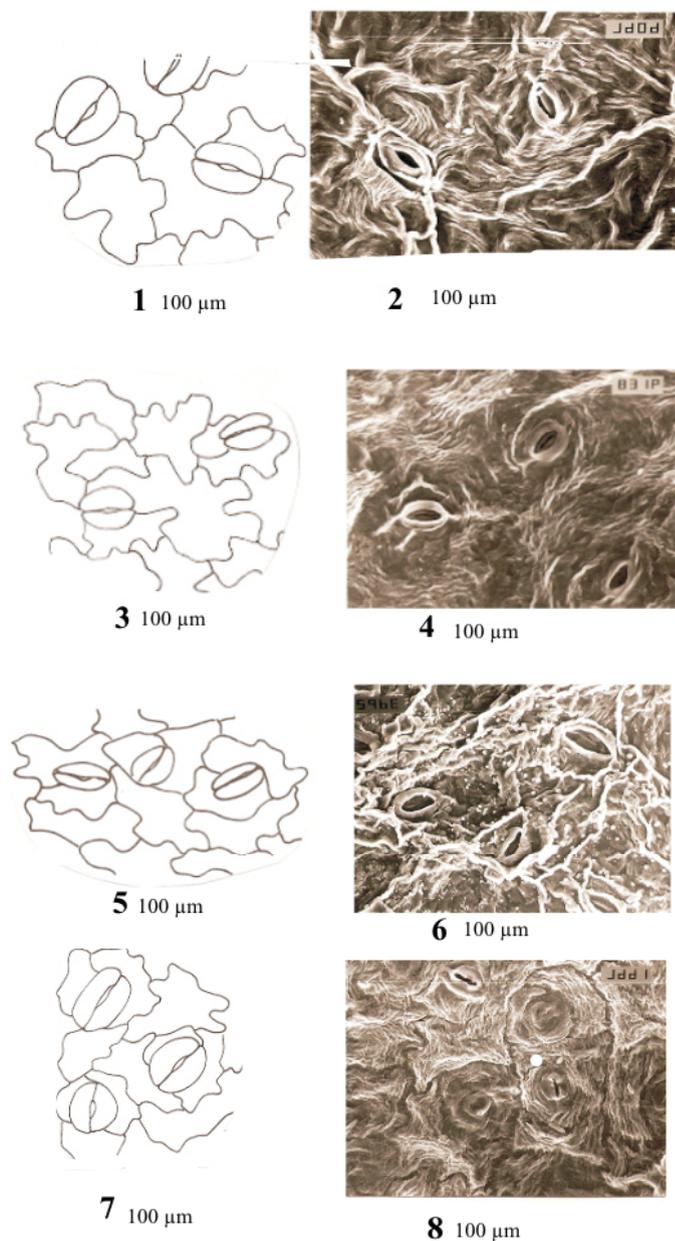
En la **Figura 3** pueden apreciarse los granos de polen, en vista polar y ecuatorial, así como el detalle de la exina observados al MEB.

Los tipos de estomas presentes se esquematizan en las **Figuras 1 y 2**.



**Figura 1. Epidermis adaxial de *Gentianella* spp.**

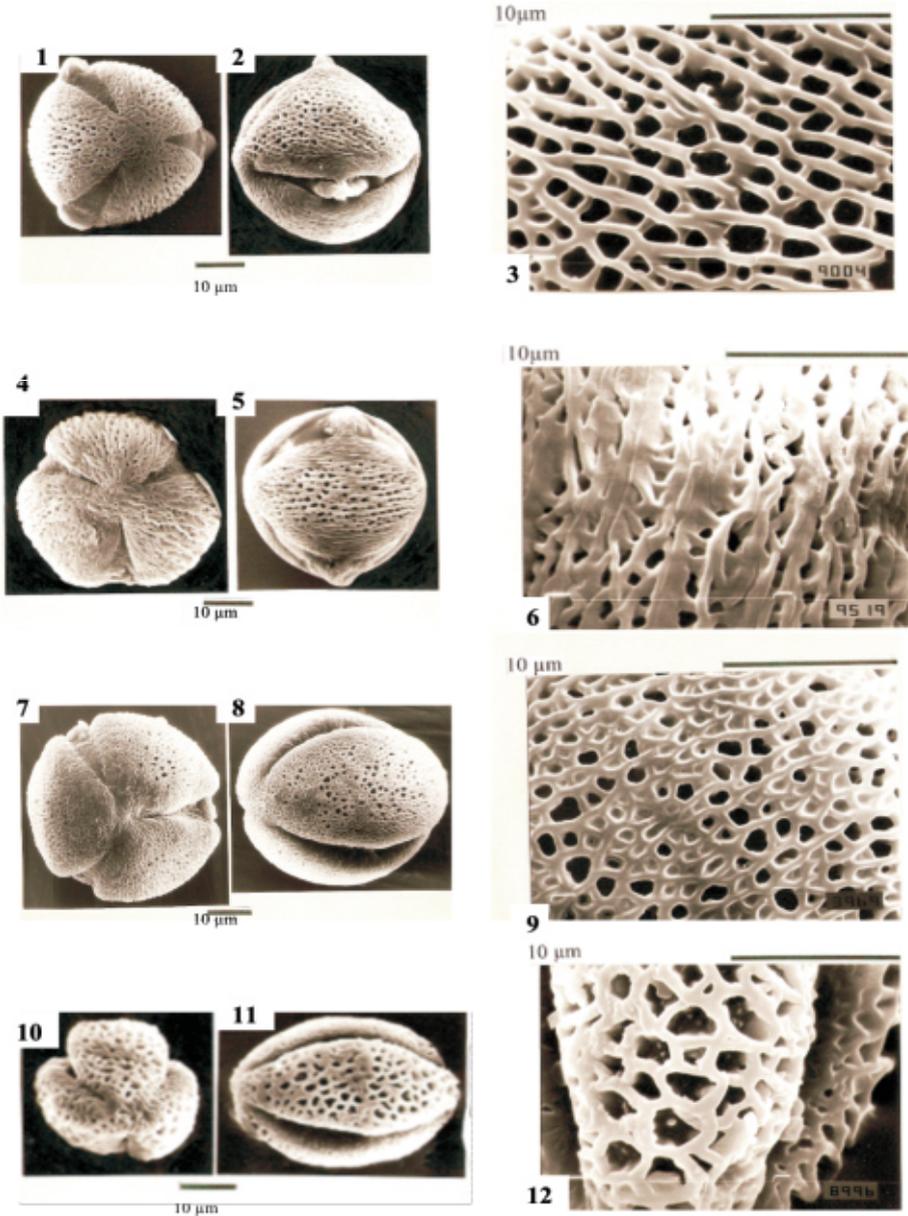
*G. multicaulis*: (1). Obs. M.O.; (2) Obs. MEB - *G. parviflora*: (3) Obs. M.O.; (4) Obs. MEB  
*G. cosmantha*: (5) Obs. M.O.; (6) Obs. MEB - *G. florida*: (7) Obs. M.O.; (8) Obs. MEB



**Figura 2. Epidermis abaxial de *Gentianella* spp.**

*G. multicaulis*: (1). Obs. M.O.; (2) Obs. MEB - *G. parviflora*: (3) Obs. M.O.; (4) Obs. MEB

*G. cosmantha*: (5) Obs. M.O.; (6) Obs. MEB - *G. florida*: (7) Obs. M.O.; (8) Obs. MEB



**Figura 3. Granos de polen de *Gentianella* spp.**

*G. multicaulis*: (1). Vista polar.; (2) vista ecuatorial; (3) Detalle de la exina  
*G. parviflora*: (4). Vista polar.; (5) vista ecuatorial; (6) Detalle de la exina  
*G. cosmantha*: (7). Vista polar.; (8) vista ecuatorial; (9) Detalle de la exina  
*G. florida*: (1). Vista polar.; (10) vista ecuatorial; (11) Detalle de la exina (12)

Tabla 1. Características de la epidermis foliar y magnitudes proporcionales de *Gentianella* spp.

Especie Caracter	<i>G. multicaulis</i>	<i>G. parviflora</i>	<i>G. cosmantha</i>	<i>G. florida</i>
Cutícula (M.O.)	Cutícula ornamentada	Cutícula ornamentada	Cutícula ornamentada	Cutícula ornamentada
Epidermis adaxial (M.O.)	Células de contorno sinuado-angulosas a muy ondulado	Células de contorno sinuoso-anguloso	Células de contorno sinuado-angulosas	Células de contorno recto y curvo a sinuado-angulosas
Epidermis abaxial (M.O.)	Células de contorno sinuado-angulosas a ondulado	Contorno muy sinuoso a sinuoso-angulado	Células de contorno sinuado-angulosas	Células de contorno sinuado-angulosas a muy sinuoso
Distribución y tipo de estomas (M.O.)	Hojas anfistomáticas. Estomas anisocíticos y menos frecuentemente anomocíticos.	Hojas hipostomáticas. Estomas anisocíticos y menos frecuentemente anomocíticos.	Hojas hipostomáticas. Estomas anisocíticos y menos frecuentemente anomocíticos.	Hojas anfistomáticas Estomas anisocíticos y menos frecuentemente anomocíticos.
Observación M.E.B.	Observada con MEB presenta una cutícula con estrias distribuidas al azar y estomas con anillo	La superficie foliar en ambas caras presenta una cutícula ornamentada, con estrias distribuidas al azar. Estomas con anillo.	Observada con MEB, presenta una cutícula con estrias distribuidas al azar. Estomas con anillo distribuidos al azar	Observada al MEB, presenta una cutícula con estrias distribuidas al azar, muy próximas entre sí. Estomas con anillo
Índice de estomas	Adaxial	7.70 (15.00) 26.00 Mo: 14.30	---	9.09 (14.15) 22.60 Mo: 9.50
	Abaxial	13.85 (16.25) 19.00 Mo: 15.25	19.20 (20.70) 29.15 Mo: 22.82	11.90 (18.45) 26.40 Mo: 15.00
Índice de empalizada	3.00 (4.80) 7.75 Mo: 4.75	3.25 (4.00) 4.25 Mo: 4.25	4.25 (5.75) 6.75 Mo: 6.25	3.00 (4.25) 6.00 Mo: 4.25

Tabla 2. Características de los granos de polen de *Gentianella* spp.

Caracter	Especie	<i>G. multicaulis</i>	<i>G. parviflora</i>	<i>G. cosmantha</i>	<i>G. florida</i>
<b>Aberturas</b>		Tricolporados. Colpos largos, con <i>costae colpi</i> . Ora circular	Tricolporados, con colpos largos y Ora circular	Tricolporados, con colpos largos. Ora circular	Tricolporados, con colpos largos, ora circular
<b>Polaridad</b>		Isopolares	Isopolares	Isopolares	Isopolares
<b>Forma (relación Erdtman: DP/DE)</b>		Esféroidales (DP/DE=1,00)	Esféroidales (DP/DE=1.00)	Oblatos-esféroidales (DP/DE=0.93)	Oblatos-esféroidales (DP/DE=0.92)
<b>Tamaño</b>		Mediano	Mediano	Mediano	Mediano
<b>Estructura y ornamentación de exina</b>		Tectada, estriado-reticulada. Muri mesocolpiales de disposición paralela (MEB)	Tectada, ornamentación estriado-reticulada. Muri de disposición paralela en los mesocolpiales (MEB)	Tectada, reticulada a microreticulada. (MEB)	Exina tectada, reticulada con lómenes mayores en los mesocolpiales. Lómenes microgránulos (MEB)
<b>Espesor de la exina</b>		1.85 $\mu\text{m}$ .	2,21-2,60 $\mu\text{m}$ .	1.69 $\mu\text{m}$ .	1.95-2.21 $\mu\text{m}$
<b>AMB (ámbito)</b>		Circular	Circular	Circular	Circular
<b>DP (diámetro polar)</b>		32.50 (35.00) 38.00 $\mu\text{m}$ Mo = 35.00 s = 1.06	31.00 (35,00) 42.00 $\mu\text{m}$ Mo = 33,00 $\mu\text{m}$ , s = 2, 11	33.50 (38.00) 42.00 $\mu\text{m}$ Mo = 39.00 $\mu\text{m}$ , s = 1.61	27.00 (31.00) 34.00 $\mu\text{m}$ Mo = 30.00 $\mu\text{m}$ , s = 1.25
<b>DE (diámetro ecuatorial)</b>		31.00 (35.50) 39.00 $\mu\text{m}$ , Mo = 35.00 $\mu\text{m}$ , s = 1.58	27.00 (35,00) 45.50 $\mu\text{m}$ , Mo = 34,00 $\mu\text{m}$ , s = 3,7	35.00 (41.00) 47.00 $\mu\text{m}$ , Mo = 40.00 $\mu\text{m}$ , s = 1.69	31.00 (33.00) 36.50 $\mu\text{m}$ , Mo = 34.00 $\mu\text{m}$ , s = 0.86;
<b>Diámetro de ora</b>		6.50 x 8.00 $\mu\text{m}$	6,50 x 6,50 $\mu\text{m}$	5.00-9.10 x 5.00-7.80 $\mu\text{m}$	6.50-7.20 x 6.50-7.20 $\mu\text{m}$

## DISCUSIÓN

Para lograr la identificación botánica de una especie, se recurre a la observación de diversos caracteres macro y microscópicos y a la determinación cuantitativa de distintas variables (magnitudes proporcionales), analizándolos luego en forma complementaria.

Los distintos caracteres morfológicos, tales como la distribución de los estomas en una o ambas superficies foliares, tipo de estomas, contorno de las células epidérmicas, presencia de cutícula tienen también un importante valor diagnóstico.

Respecto al análisis palinológico, las características de los granos de polen, en especial de la exina, constituyen un importante carácter diagnóstico.

Tradicionalmente se ha hecho hincapié en el número de aberturas, estructura y ornamentación de la exina, forma y tamaño del grano y ancho de los mesocolpios. Es conveniente destacar que las observaciones cualitativas de granos no acetolizados al MEB complementan el análisis cuantitativo de granos acetolizados y observados al MO; las diferencias en el tratamiento para ambos tipos de observaciones, hacen que las medidas de los dos métodos no sean comparables (Orsini *et al.*, 2006).

Respecto a la ornamentación de la exina, en nuestro caso nos interesa especialmente la reticulada, definiendo un retículo como un patrón tipo red, cuyas aristas (*muri*) encierran espacios de diferente tamaño y forma (*lumina*); El retículo simple es una red única donde cada *lumen* puede ser perforado (en granos semitectados) o no (en granos tectados).

Otros aspectos a tener en cuenta en el análisis del polen, son la polaridad, la determinación de los diámetros polar y ecuatorial, las características de las aberturas presentes, la forma, definida por la relación DP/DE, y el tamaño (Mercado Gómez, 2008).

La cutícula de las hojas es ornamentada en todos los casos. El tipo de hojas permite diferenciar *G. multicaulis* (= *G. achalensis*) y *G. cosmantha*, ambas anfiestomáticas, de *G. parviflora* y *G. florida*, que presentan hojas hipostomáticas. (Rosella *et al.*, 2007a y 2007 b).

Los índices estomático y de empalizada han mostrado ser caracteres estables, en especial el índice de empalizada. Si bien, no permiten por sí solos establecer la identidad de estas especies, son útiles para complementar los datos morfológicos. Los resultados muestran que son un carácter diagnóstico de interés, concordando con las observaciones de Zorning y Weiss, 1925 y con las de otros autores como Spegazzini, (1999), Gatelli, (2007) y Colares y Arambarri, (2008). En este caso, *G. parviflora* muestra un índice de estomas netamente diferente de las otras tres especies.

La presencia de granos de polen de forma esferoidal y presencia de *costae colpi* caracteriza a *G. multicaulis*. La forma esferoidal y ausencia de *costae colpi* permite diferenciar a *G. parviflora* de las otras tres especies (Rosella *et al.*, 2003; Rosella *et al.*, 2007a y 2007 b). La forma oblato esferoidal y la presencia de lúmenes con microgránulos en *G. florida*, la diferencia de *G. cosmantha* y de las otras dos especies.

## CONCLUSIONES

Con el nombre vulgar de “pasto amargo” son conocidas una serie de especies pertenecientes al género *Gentianella*, utilizadas como hepatoprotectores y también en la elaboración de bebidas a base de hierbas conocidas como “amargos”.

Botánicamente, las cuatro especies de *Gentianella* pueden ser identificadas por la combinación de cuatro caracteres: tipo de hojas, índice de estomas, índice de empalizada y características de los granos de polen.

Si tenemos en cuenta que se utilizan las partes aéreas en flor de estas especies, la observación microscópica de las hojas y de la exina en el grano de polen son características diferenciales importantes en su reconocimiento. La observación de los caracteres diagnósticos mencionados y la determinación de las magnitudes proporcionales son fundamentales en la identificación de estas especies, ya sea en forma individual o cuando se hallan en mezcla.

## BIBLIOGRAFÍA

- Carpano, S. M., Spegazzini, E. D., Nájera, M. T., (1994). Nueva técnica de eliminación de cutina de órganos foliares. *Rojasiana* 2: 9-12.
- Colares, M.N. y Arambarri A.M (2008) *Ziziphus mistol* (Rhamnaceae): Morfoanatomía y Arquitectura. *Lat. Am. J. Pharm.* 27 (4): 568-77.
- Domínguez, J.A. (1928) “*Contribuciones a la Materia Médica Argentina (Primera Contribución)*” Trabajos del Instituto de Botánica y Farmacología (Fac. de Cs. Médicas de Bs. As.), N° 44, Buenos Aires, p 114.
- Erdtman, G., 1952. *Pollen Morphology and Plant taxonomy, Angiospermae*. Almquist and Wiksell, Stockholm.
- Gatelli, E.B.R. (2007) *Sistemática, morfología y ensayos biológicos de Celtis iguanaea (Jacquin) Sargent, Celtidaceae. Planta autóctona de la selva marginal de Punta Lara. Tesis de Maestría en plantas medicinales, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata.*
- Hieronimus, J., (1882) *Bol. Acad. Nac. Cienc. Cord.*, 373.
- Mercado Gómez, Jorge. (2008). *Introducción a la palinología*. Universidad de Pamplona, Colombia. <http://jdmercadog.googlepages.com> Recuperado 25/04/2008
- Metcalf, C.R.; Chalk, L. (1983). *Anatomy of dicotyledons*, vol II. Clarendon Press, Oxford, UK.
- Nadinic, E.; Saveedra, C.; Di Leo Lira, P.; Bandoni, A.; Debenedetti, S. (1997), *Int. J. Of Pharmacognosy*, 35 (5): 1-3.
- Nadinic, J., (2000) Estudio farmacognóstico de una planta medicinal argentina conocida como “nencia”: *Gentianella achalensis* (Gilg.) Ho & Liu.

- Orsini, G.; Rinaldi, M. y Velazquez, D. (2006). Estudio palinológico de los géneros *Hyptis* y *Salvia* (Lamiaceae) en el parque nacional “El avila”, Venezuela. *ERNSTIA* 16(1): 1-30.
- Rosella María A.; Spegazzini, E.D. y Debenedetti S.L. (2007 b). Parámetros micrográficos y fitoquímicos para el reconocimiento de dos especies de *Gentianella*, (Gentianaceae). IX Simposio Argentino y XII Simposio Latinoamericano de Farmacobotánica. Tucumán, junio 2007.
- Rosella María, Nadinic, E., Spegazzini, E. y Debenedetti, S.. (2007 a). *Gentianella parviflora* y *G. multicaulis* (Gentianaceae): Análisis comparativo por microscopía analítica cuali-cuantitativa y HPLC-DAD. XVI Congreso Italo-Latinoamericano de Etnomedicina - SILAE (Sociedad Italo Latinoamericana de Etnomedicina) La Plata, Argentina, 4-8 septiembre de 2007.
- Rosella, M.A., (2008) Estudio farmacognóstico de ‘pasto amargo’: *Gentianella parviflora* (Griseb.) T.N. Ho (Gentianaceae) Tesis Doctoral. Fac- Cs. Exactas, UNLP
- Rosella, MA; E. Filippa; G. Barboza; S. Aquila; E. Spegazzini; P. Lopez y S. Debenedetti. (2003). *Gentianella cosmantha* (Griseb) J.S. Pringle (Gentianaceae): Analisis fitoquimico y micrografico.. XII Congresso Italo-Latinoamericano de Etnomedicina “Nuno Alvares Pereira”. Río de Janeiro, 8-12 septiembre de 2003.
- Salisbury, E. J., (1927). On the causes and ecological significance of stomatal frequency with special reference to the woodland flora. *Phil. Trans. Roy. Soc. London*, 216B: 1-65.
- Sanabria, M.E.; Maciel, N.; Cumana, L.J.; Delgado, R.E. (2007). Estudio del grano de pollen en especies del género *Heliconia* L. bajo el microscopio óptico. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 24:22-33.
- Spegazzini, Etilde D: (1999) “Análisis foliar, por micrografía analítica cuali-cuantitativa, de los adulterantes cogenéricos argentinos de *Ilex paraguariensis* St. Hil. Var. *Paraguariensis* (Aquifoliaceae) n.v. “yerba mate” Tesis Doctoral- Fac. Cs. Exactas, UNLP.
- Wilkinson, H. P., (1979). The Plant Surface (Mainly Leaf). Part V The Cuticle. I: 140-165, en: Metcalfe, C. R., Chalk, L. (eds.), *Anatomy of the Dicotyledons*. Clarendon Press, Oxford.
- Wodehouse, R.P., (1935). *Pollen grains*. Mc. Graw-Hill, New York
- Zorning, H. y Weiss, G. (1925) *Compositern-Drogen Beitrage Zur Anatomie des Laubblattes offziner und Pharmázeutisch gebráuchlicher*.
- Zuloaga, F.; Morrone, O. (1999) *Catálogo de las plantas vasculares de la República Argentina* II, Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, pp. 749-755.