

CAPÍTULO 2**MICROHISTOLOGÍA APLICADA AL ESTUDIO DE LA
COMPOSICIÓN DE LA DIETA DE HERBIVOROS DE LA PUNA****INTRODUCCIÓN**

Conocer la composición botánica de la dieta de los animales herbívoros, tanto silvestres como domésticos, ayuda a identificar estrategias de conservación y manejo de las poblaciones animales, y contribuye a minimizar el impacto del pastoreo sobre la vegetación (Pelliza de Sbriller et al. 1997, Kamler et al. 2003). En este sentido, los estudios de dieta son fundamentales para identificar qué especies componen el forraje consumido por el ganado (Holechek et al. 1982) y es una información útil para formular los programas de suplementación en casos de deficiencias nutricionales; además puede ser una herramienta eficaz para la identificación y cuantificación de especies tóxicas ingeridas por el ganado (Yagueddú et al. 1998, Cid et al. 2003).

La técnica microhistológica ha sido ampliamente utilizada para estudiar la composición de la dieta y puede realizarse a partir de muestras fecales, estomacales o extrusas. Más allá de las ventajas en utilizar una u otra (Holechek et al. 1982, Mohamad et al. 1995, Henley et al. 2001), el uso de heces se recomienda por la facilidad en la obtención de las muestras y porque se considera un método no invasivo ya que no implica manipulación o sacrificio de animales.

La microhistología se basa en la identificación bajo microscopio de fragmentos epidérmicos vegetales, que poseen caracteres diagnósticos que permiten diferenciar las especies vegetales. Actualmente también se ha demostrado la utilidad de algunos tejidos no epidérmicos para la caracterización de las plantas que componen la dieta (Sepúlveda Palma et al. 2004). Los fragmentos encontrados en las heces son comparados con patrones epidérmicos de las plantas del lugar y cuantificados mediante diferentes métodos (Sparks & Malechek 1968, Holechek & Gross 1982). Al respecto, se han desarrollado diversos procedimientos para el tratamiento de las heces (Williams 1969, Scaglia et al. 1981, Arriaga 1986, Dacar & Giannoni 2001, Catán et al. 2003; Castellaro et al. 2007) y todos responden a la necesidad de mejorar el reconocimiento de los fragmentos en la muestra, sin perder exactitud en la cuantificación. Debido a las características de digestibilidad de cada planta, pueden existir especies que se subestimen o sobreestimen en la cuantificación, y por eso algunos autores proponen utilizar criterios de cuantificación o factores de corrección (Johnson & Wofford 1983, David et al. 1983, Barker 1986, Catán et al. 2007). Una revisión completa acerca de esta técnica puede encontrarse en Pelliza de Sbriller (1993). En zonas áridas o semiáridas de Argentina, varios estudios utilizan las técnicas histológicas para la identificación y descripción de las plantas nativas de zonas esteparias o de mallines (Latour & Pelliza Sbriller 1981, Monge 1989, 1995; Martín et al. 1990, Martín & Lagomarsino

1993; Rosati 1991, Arriaga et al. 2005, Feijóo & Arriaga 2004). Sin embargo, son pocos los estudios específicos que describan caracteres epidérmicos de las plantas que se encuentran en ecosistemas puneños o altoandinos (Ancibor 1975, 1980, 1992, Castellaro et al. 2007).

En este capítulo se aborda la cuestión de la técnica microhistológica en tres sentidos: se prueban dos técnicas para el tratamiento de heces de ungulados de la reserva; se identifican los caracteres diagnósticos histológicos de las plantas de Laguna Blanca que puedan utilizarse para comparar con los fragmentos encontrados en las heces de los animales, y se confeccionan claves sencillas de reconocimiento de especies vegetales en heces para su utilización en estudios de dieta en estas áreas.

METODOLOGÍA

Identificación de especies vegetales mediante caracteres histológicos

Para ajustar esta técnica a las heces de animales que se alimentaron de plantas puneñas y lograr la mayor discernibilidad de los fragmentos se pusieron a prueba dos tratamientos luego del lavado molienda y tamizado de las heces: 1) método clásico de Williams (1969) modificado por Latour y Pelliza de Sbriller (1981) y 2) tratamiento con NaOH 5% en caliente por unos minutos (Holechek 1982, Arriaga 1986).

Para realizar los preparados histológicos de plantas se trabajó con material proveniente de hojas o tallos y de semillas o tallo y hojas en forma conjunta (para herbáceas muy pequeñas). Dadas las características de las plantas de la puna y como la mayoría de las plantas se utilizaron luego de varios días de recolección, fue necesario hidratar el material vegetal, lo que se realizó hirviendo el material vegetal en agua con una gota de detergente. La epidermis y otros tejidos vegetales se obtuvieron a partir de una o varias metodologías (D'ambrogio de Argueso 1986, Castellaro et al. 2007), que estuvieron de acuerdo a las características de cada planta:

- 1) Raspado de epidermis de hojas o vainas (preferentemente gramíneas y graminoides). A las gramíneas muy duras se las trató previamente con KOH al 5% (Metcalf 1960).
- 2) Macerado de hoja (especialmente para dicotiledóneas muy frágiles o muy pequeñas que no permitían raspado).
- 3) Diafanizado de algunas dicotiledóneas (especialmente herbáceas) (Stittmatter & Dizeo 1973).
- 4) Tratamiento con NaOH 5% en caliente de una muestra de planta molida. Esto se realizó con muchas de las especies a los fines de evaluar y comparar con el tratamiento de las heces.

5) Macerado y tratamiento con NaOH 5% en caliente especialmente para frutos y semillas (Arriaga 1986).

Luego del tratamiento de las muestras y decoloración con hipoclorito de sodio (excepto para especies con tratamientos 4 y 5) se procedió al montaje usual con glicerina-gelatina (ver detalles del montaje en Castellaro et al. 2007).

Para la identificación de las plantas se utilizaron, entre otros, los siguientes caracteres diagnósticos específicos para cada grupo de plantas (Metcalfe & Chalk 1950, Metcalfe 1960) (Tabla 2.1):

Tabla 2.1. Tabla de características histológicas evaluadas

	Gramíneas	Graminoides	Arbustos e hierbas
Células epidérmicas largas	Forma, tipo de borde, proporción ancho-largo	Forma, tipo de borde, proporción ancho-largo	Forma, tipo de borde, proporción ancho-largo
Células epidérmicas cortas	Forma y ubicación de asociaciones silíceo-suberosas	Características de Células interestomáticas	—
Estomas	Forma, tamaño, ubicación, densidad	Forma, tamaño, ubicación	Forma, tamaño, ubicación. Tipo de arreglo estomático
Papilas	Forma, cantidad, ubicación	—	Forma, cantidad, ubicación
Indumento	Forma, ubicación y densidad de papilas, Micropelos (pelos glandulares), macropelos (pelos largos) y asperezas (ganchos o agujijones)	Forma, ubicación y densidad de papilas, macropelos, micropelos y asperezas	Características de pelos simples o de pelos glandulares.
Otras observaciones	Ancho de las zonas costales (correspondientes a las nervaduras) e intercostales Presencia de cristales	Ancho de las zonas costales e intercostales Presencia de cristales	Grosor de la pared celular, tipo de cutícula Presencia de cristales, nerviación

Se construyeron claves dicotómicas sencillas para cada uno de los 3 grupos de plantas antes mencionados teniendo como base a algunas de los caracteres de diagnóstico identificados.

RESULTADOS***Identificación de especies vegetales mediante caracteres histológicos***

Si bien no se realizaron análisis estadísticos, de manera cualitativa pudo observarse que el tratamiento 1 (realizado en un 10% de las muestras), permitió la identificación de los fragmentos en heces de vacas y burros pero dejó mucho material indiscernible en las muestras de vicuñas, ovejas y cabras. Al exponer las mismas muestras al el tratamiento 2 se mejoró la discriminación de fragmentos en las heces de vicuñas, ovejas y cabras, y no cambió perjudicó la identificación de fragmentos en las heces de vacas y burros. Por lo tanto, se eligió el tratamiento 2 para la preparación y cuantificación de todas las muestras de los animales, y estos preparados fueron los utilizados para la descripción de la dieta de los animales (Borgnia et al. en revisión, Borgnia et al. 2008).

La observación de los patrones histológicos (la mayoría epidérmicos) permitió la descripción de caracteres diagnósticos de las especies vegetales de Laguna Blanca (Tablas 2.2 a 2.5). Para el caso de las gramíneas se discriminaron las características de ambas epidermis foliares (abaxial y adaxial) (Tablas 2.2 y 2.3). En el caso de los arbustos e hierbas (todas las dicotiledóneas y la gimnosperma *Ephedra breana*) se describen los fragmentos encontrados con mayor facilidad y con mejores características identificatorias, sin discriminar entre epidermis abaxial o adaxial (Tabla 2.4). Para gramínoideas se describen las epidermis adaxiales que son las que poseen estomas y por lo tanto poseen mayores caracteres diagnóstico (Tabla 2.5). Los objetivos de este trabajo no fueron realizar una descripción detallada de las estructuras anatómicas de las especies sino caracterizarlas en función de su potencial identificación en las heces de los animales. En algunos casos no se logró la visualización exacta de las células epidérmicas o del arreglo estomático de los fragmentos de dicotiledóneas encontrados en heces, por lo cual la caracterización de los pelos y otras características ayudó a confirmar la identificación específica. Se observaron también algunas características de tejidos no epidérmicos que fueron importantes para la identificación o confirmación de algunas especies (ver las observaciones de las Tablas 2.2 a 2.5). Las microfotografías de las especies más representativas se muestran en las Figuras 2.2 a 2.7.

En las Figuras 2.8, 2.9 y 2.10 se muestran las claves para el reconocimiento microhistológico de las especies más importantes de Laguna Blanca: una para gramíneas, otra para gramínoideas y una tercera para arbustos y dicotiledóneas herbáceas.

Tabla 2.2. Cuadro comparativo de los patrones epidérmicos microhistológicos foliares de las principales gramíneas de Laguna Blanca. Epidermis abaxial.

	Estomas	Células largas	Células cortas^a	Pelos	Asperezas^b	Papilas	Observaciones
<i>Aristida subulata</i>	Abundantes, forma rómbica, de pequeño tamaño, aprox. Mitad de células largas	Bordes ondulados, uniones entre células rectas no oblicuas	En forma de pesa, de distintos tamaños, muy abundantes en zona costal. En zona intercostal son escasos o están ausentes	No presenta	Agujones abundantes en zona costal y ausentes en intercostal	No presenta	Zonas costal e intercostal aproximadamente del mismo ancho
<i>Chondrosium simplex</i>	Abundantes, dispuestos en hileras, forma rómbica a rectangular	Células mucho más largas que anchas, bordes levemente ondulados. Uniones entre células rectas, no oblicuas	En forma cuadrada, solitarios o pareados	Poco abundantes, en zona intercostal, ausentes en zona costal.	No presenta	No presenta	Zonas costal e intercostal del mismo ancho
<i>Cortaderia rudiusscula</i>	Poco abundantes, elípticos a subcirculares. más anchos que las células largas pero de menor tamaño	Bordes lisos y paredes finas. Uniones entre células rectas, no oblicuas.	Forma cuadrada a rectangular, abundantes, en zona costal, solitarios o de a dos en zona intercostals	No presenta	Agujones bicelulares, base cuadrada, en toda la zona intercostal. Ubicados en forma paralela a las células, ausentes en zona costal.	No presenta	Zonas bien diferenciadas, más o menos del mismo ancho En las heces se distinguen bien las hileras de células silíceas, refringentes en las zonas costales. También aparecen fragmentos con "costillas" grandes y fragmentos con aerénquima asociado.

<i>Deyeuxia brevifolia</i>	No presenta	Bordes muy ondulados, casi aserrados. Unión entre células rectas y algunas oblicuas	Forma rectangular, escasas, en zona costal, solitarias o de a pares	No presenta	Aguijones en zona costal, abundantes, dispuestos en hileras paralelas a las células	No presenta	No se distinguen bien las zonas
<i>Deyeuxia cabreræ</i>	No presenta	Células más largas que anchas con paredes delgadas y bordes levemente ondulados	Células cuadradas o rectangulares alargadas en el eje vertical, se disponen de a pares de 3 o de a 4	No presenta	No presenta	No presenta	Uniones rectas entre células, algunas uniones oblicuas.
<i>Distichlis humilis</i>	Forma circular, más anchos que las células largas, 1/4 del tamaño de las mismas, poco abundantes	Células largas y anchas de paredes delgadas y bordes lisos. Uniones rectas entre células	Forma cuadradas ubicadas en zonas costales, abundantes	No presenta	No presenta	Presentes en toda la epidermis, en forma de gota, cubriendo casi toda la célula	Zona intercostal mucho más ancha que la costal En las heces se encuentran fragmentos bien papilosos característicos, muchas veces no permiten identificar estomas o células
<i>Distichlis spicata</i>	Forma rómbica a subcircular, dispuestos en dos hileras, cada una al límite con la zona costal	Forma irregular, ensanchadas en uno de los extremos. Células anchas con bordes muy ondulados y paredes gruesas	En forma alargada o tubular, abundantes en zona costal	No presenta	No presenta	En toda la epidermis, forma redonda, una por célula, en el medio,	Zona intercostal mucho más ancha que la costal
<i>Eragrostis nigricans</i>	Rómbicos y achatados. Abundantes y poco espaciados, en 3 o más hileras por zona intercostal	Paredes finas y bordes levemente ondulados. Uniones rectas entre células	Abundantes en zona costal, forma tubular o cuadrada asociaciones de dos o tres células. Escasos en zona intercostal	Micropelos glandulares cortos, escasos, en zona intercostal	Aguijones poco abundantes, en zona intercostal	No presenta	Zona intercostal mucho más ancha que la costal

<i>Festuca argentinensis</i>	No presenta	Células largas y anchas, rectangulares, de paredes gruesas. Bordes levemente ondulados a lisos	Forma alargada o tubular, abundantes en zona costal	No presenta	No presenta	No presenta	no se distinguen bien las zonas
<i>Festuca chrysophylla</i>	No presenta	bordes levemente ondulados, paredes delgadas, forma poligonal	Forma alargada, tubular o cuadrada, solitarias o de a dos.	No presenta	No presenta	No presenta	no se distinguen bien las zonas
<i>Festuca orthophylla</i>	no presenta	bordes ondulados, forma poligonal más angostas en los extremos	abundantes y uniformes sobre la superficie, solitarias	no presenta	no presenta	No presenta	no se distinguen bien las zonas
<i>Hordeum halophyllum</i>	Pequeños, forma elíptica a subcircular, abundantes y dispuestos en forma alternada	Células largas y anchas con uniones oblicuas y rectas, bordes lisos y paredes delgadas	Rectangulares, abundantes en zona costal.	Macropelos en ambas zonas, abundantes	No presenta	No presenta	Zona intercostal mucho más ancha que la costal
<i>Muhlebergia peruviana</i>	Abundantes, forma subcircular a elípticos. Células subsidiarias muy pequeñas. Dos hileras por zona intercostal	Células más largas que anchas bordes ondulados y paredes delgadas.	Abundantes, en zona costal. Forma semimedialuna, solitarios o de a pares, uno más grande que el otro (forma de sombrero)	No presenta	No presenta	Abundantes y redondas, en ambas zonas, en el centro de cada célula, 1 por célula	Zona intercostal mucho más ancha que la costal

<i>Panicum chloroleucum</i>	Pequeños, forma rómbica. Muy abundantes, dispuestos en hileras, 1 o 2 por zona intercostal	Células mas largas que anchas bordes algo ondulados y paredes delgadas. Uniones rectas entre células	Abundantes, en zona costal, forma nodular a irregular	Micropelos bicelulares escasos. Macropelos largos en zona costal, poco abundantes. Ausentes en zona intercostal,	Ganchos y agujones en zona intercostal, densidad variable	no presenta	Zona intercostal mucho más ancha que la costal
<i>Puccinella frígida</i>	Abundantes, grandes, forma subcircular a elípticos	Bordes lisos y paredes finas. Uniones rectas, nunca oblicuas, células ensanchadas en su parte media	Abundantes en zona costal. Forma redondeadas con polos achatados, solitarios o de a pares	No presenta	Agujones poco abundantes, en zona intercostal y escasos en zona costal.	No presenta	Zonas costal e intercostal aproximadamente del mismo ancho
<i>Sporobolus rigens</i>	Forma cuadrada o rectangular, algunos hexagonales, alargados en el eje vertical. Abundantes, en hileras, en la zona intercostal	Rectangulares no muy largas, bordes ondulados de paredes gruesas	Forma rectangular a cuadrada solitarios o de a pares, en ambas zonas	No presenta	No presenta	No presenta	En las heces se observan los fragmentos bien refringentes, con paredes gruesas.
<i>Stipa frígida</i>	Estomas poco frecuentes, forma elíptica con laterales achatados, en hileras.	Paredes delgadas, bordes muy ondulados, uniones rectas y oblicuas. Otras células de paredes lisas	Poco abundantes, en zona costal. Forma irregular o rectangular, solitarios o de a pares, en ambas zonas	No se observan	Ganchos en toda la zona intercostal, muy abundantes, en forma paralela a las células	No presenta	Zona intercostal mucho más ancha que la costal
<i>Stipa vaginata</i>	Cuadrados, escasos, muchas veces tapados por los ganchos.	Células no tan largas, paredes gruesas y borde levemente ondulado	Forma rectangular y cuadrado dspuestos en grupos de 3 o de a 2 en zona intercostal	Macropelos abundantes, en zona intercostal	Numerosos ganchos pegados a la epidermis, de manera uniforme sobre toda la superficie, en zona intercostal, abundantes	No presenta	En las heces los fragmentos son fácilmente reconocibles porque se observa la gran cantidad de ganchos de aspecto papiloso.

- a. Células silíceas o asociaciones sílico-suberosas
b. Incluye agujones o ganchos que se utilizan aquí de forma indistinta.

Tabla 2.3. Cuadro comparativo de los patrones epidérmicos microhistológicos foliares de las principales gramíneas de Laguna Blanca. Epidermis adaxial.

	Estomas	Células largas	Células cortas^a	Pelos	Asperezas^b	Papilas	Observaciones
<i>Aristida subulata</i>	Muy abundantes. Dispuestos en 1 hilera en la zona intercostal. Forma circular a romboidal	Más largas que anchas. Bordes muy ondulados y paredes delgadas	Muy abundantes en la zona costal, en 2 o 3 hileras por zona. Forma de pesa de gimnasia	No presenta	En la zona costal. Agujones unicelulares con base redonda, abundantes ubicados en hileras	No presenta	

<i>Chondrosium simplex</i>	Muy abundantes. Dispuestos en 2 hileras por zona intercostal. Forma elíptica	Células más largas que anchas, bordes ondulados con paredes delgadas	Forma alargada rectangular. Presentes en zona costal. Solitarios o en asociaciones de a dos.	No presenta	No presenta	No presenta
<i>Cortaderia Rudiuscula</i>	Poco abundantes. Circulares, dispuestos en hileras, más anchos que las células intercostales	Células bien largas y delgadas, paredes onduladas. Uniones rectas entre células.	Cuerpos silíceos muy abundantes en ambas zonas, forma cuadrada a rectangular, dispuestos de a dos.	No presenta	No presenta	No presenta
<i>Deyeuxia brevifolia</i>	No presenta	Células mucho más largas que anchas, con borde liso. Uniones no rectas entre células	Células de forma rectangular mayormente en zona intercostal	No presenta	Poco abundantes en zona costal	No presenta
<i>Deyeuxia cabreræ</i>	Abundantes en la zona intercostal, forma elíptica a rectangular. Dispuestos en forma alternada en hileras	Células más largas que anchas, de paredes lisas y delgadas. Unión entre células oblicua o recta.	Cuerpos silíceos de forma rectangular, achatados, ubicados en zona costal	Macropelos abundantes en zona costal	Abundantes en zona costal y poco abundantes en zona intercostal	No presenta
<i>Distichlis humilis</i>	Estomas poco abundantes más anchos que las células largas. Forma circular	Células de paredes delgadas y bordes lisos	Células cortas ubicadas en zona costal, abundantes	No presenta	No presenta	Muy abundantes, forma de gota, en ambas zonas, cubriendo la epidermis.
<i>Distichlis spicata</i>	Forma rómbica a subcircular, dispuestos en dos hileras, cada una al límite con la zona costal	Forma irregular. Célula ensanchada en el extremo. Bordes muy ondulados y paredes gruesas	Células silíceas en forma alargada o tubular. Abundantes en zona costal	No presenta	No presenta	En toda la epidermis. Forma redonda, una por célula ubicada en el medio.

<i>Eragrostis nigricans</i>	Estomas poco frecuentes a escasos. Forma elíptica a circular	Células más largas que anchas con paredes delgadas y bordes muy ondulados. Uniones entre células rectas y oblicuas	Presentes en ambas zonas. Forma alargada a rectangular. Poco abundantes en la zona intercostal y abundantes en zona costal. Asociaciones de a dos células	Presencia de pelos bicelulares glandulares, muy escasos, en zona intercostal	Presencia de agujones escasos dispuestos sobre la zona intercostal	No presenta	
<i>Festuca argentinensis</i>	No presenta	Células más largas que anchas con bordes lisos	No pudieron distinguirse	Macropelos abundantes cubriendo toda la epidermis	No presenta	No presenta	En las heces cuesta discriminar la epidermis adaxial de este género. En general se observan más frecuentemente fragmentos costales, muy pilosos.
<i>Festuca orthophylla</i>	Abundantes, en hileras contiguas de manera alternada, forma elíptica a rectangular	Células más largas que anchas, bordes lisos y paredes gruesas	No pudieron distinguirse	Macropelos en toda la epidermis, más abundantes en zona costal	Abundantes en zona costal y poco abundantes en zona intercostal	No presenta	
<i>Festuca chrysophylla</i>	Muy poco frecuentes. Forma cuadrada, más anchos que la célula epidérmica	Células mucho más largas que anchas, paredes gruesas y bordes ondulados. Uniones rectas entre células	Abundantes en zona intercostal. Forma rectangular, solitarios, nunca asociados	No presenta	No presenta	No presenta	
<i>Muhlebergia peruviana</i>	Poco frecuentes a escasos. Forma elíptica o con los laterales achatados. Células subsidiarias angostas	Células mucho más largas que anchas, paredes muy finas y bordes ondulados.	En forma de sombrero. Muy abundantes en la zona costal	No presenta	No presenta	Redondas que no tapan la epidermis. Varias por célula, pequeñas	
<i>Puccinella frigida</i>	Estomas elípticos o con los laterales achatados. Dispuestos en dos hileras, poco abundantes	Células largas y anchas de paredes muy delgadas y bordes lisos. Uniones rectas y oblicuas	Células en zona costal, frecuentes, de forma rectangular o nodular, anchas.	Macropelos cortos, con base ancha. Muy abundantes en ambas zonas	No presenta	No presenta	

<i>Stipa frígida</i>	Estomas alargados a elípticos, achatados. Disposición alternada, abundantes	Células rectangulares angostas, con bordes lisos y paredes muy delgadas, Uniones rectas entre células, algunas oblicuas	No presenta	Macropelos no muy largos, abundantes en ambas zonas	No presenta	No presenta	En las heces se dificulta discriminar las epidermis adaxial de este género, se observan las epidermis pilosas con estomas chicos abundantes.
<i>Stipa vaginata</i>	Abundantes, de forma más bien elíptica achatados. Dispuestos en hileras. Contenido granuloso	Células rectangulares angostas, con bordes lisos y paredes delgadas. Uniones rectas	No presenta	Macropelos no muy largos, abundantes en ambas zonas	No presenta	No presenta	

- c. Células síliceas o asociaciones sílico-suberosas
- d. Incluye aguijones o ganchos que se utilizan aquí de forma indistinta.

Tabla 2.4. Cuadro comparativo de los patrones epidérmicos microhistológicos foliares de las principales hierbas y arbustos de Laguna Blanca.

Especie	células epidérmicas	Aparato estomático	Indumento	Observaciones
<i>Acontholippia salsoloides</i>	Forma poligonal, de distintas formas, de tamaños similares. Bordes lisos. Paredes finas.	Anomocítico. Estomas de tamaño similar a las células epidérmicas, y con paredes más delgadas	Macropelos cortos tipo aguja, algunos curvados en la punta, unicelulares algo ensanchados en la base. Abundantes con orientación indefinida.	En heces se encuentran fragmentos semicirculares, con el borde entero, ya que son hojas reducidas. Los estomas aparecen difusos
<i>Adesmia horrida</i>	Forma poligonal, borde liso, de distintas formas y tamaños. Se observan zonas con más cutícula que en otras	Tipo policítico, con anillo de células rodeando el estoma. Estomas de tamaño similar a las células epidérmicas.	Macropelos largos tipo aguja, curvo, terminado en punta. Base más ancha que el resto y con pared gruesa, más grande o similar al tamaño de los estomas. Existen zonas sin pelos	En las heces muchos pelos aparecen arrancados, en muchos casos sólo se ve la base o la impronta de inserción
<i>Adesmia sp.</i>	Irregulares algo poligonales. Bordes lisos	No pudo distinguirse. Estomas abundantes	Dos tipos de Macropelos. Pelos unicelulares largos muy finos, tipo aguja. Pelos bicelulares, con base grande y muy ancha, en forma de cono.	
<i>Arenaria catamarcensis</i>	Forma irregular, con diferentes tamaños, borde liso.	Anomocítico, 4 a 5 células anexas. Estomas redondeados más chicos que las células, paredes finas.	No presenta	
<i>Astragalus arequipensis</i>	Irregulares con bordes aserrados generalmente más largas que anchas.	Anomocítico. Estomas más chicos que las células epidérmicas	Macropelos muy largos no muy abundantes. Base con forma redondeada, más ancha que la célula distal, terminada en punta y con contenido granuloso.	
<i>Astragalus garbancillo</i>	Irregulares y de distintos tamaños pero tienden a ser poligonales con bordes ondulados	Anomocítico. Estomas más chicos que las células epidérmicas y con paredes finas.	Pelos muy largos y curvados en distintos lugares, muy abundantes. Base circular más grande que los estomas.	
<i>Atriplex sp</i>	No se distinguen las células	En general este género presenta	Pelos glandulares que cubren toda la epidermis. Base angosta corta y cabeza	Los fragmentos diafanizados evidencian una gran cantidad de

	debido a la abundancia de pelos	arreglo anomocítico pero es difícil distinguir los estomas y las células debido a la abundancia de pelos	globosa simple, más grandes que los estomas. Los pelos aparecen deformados o achatados no siempre globosos.	drusas de diferentes tamaños que no siempre aparecen en las heces.
<i>Baccharis acaulis</i>	Penta o hexagonales de paredes lisas y delgadas.	Anomocítico. Estomas muy abundantes de mayor tamaño y con paredes más gruesas que las células epidérmicas. Estomas rodeados de más de 5 células	No presenta	
<i>Baccharis boliviensis</i>	Forma irregular a poligonales, de borde liso	Ciclocítico. Estomas más grandes que las células epidérmicas, un anillo de células paralelas al poro estomático.	Micropelos glandulares abundantes, con base multicelular y cuerpo bicelular globoso	Las células epidérmicas suelen aparecer desdibujadas, se reconocen bien los pelos en las heces.
<i>Baccharis incarum</i>	Paredes lisas, regulares, poligonales. En la parte de la nervadura media son rectangulares en la dirección de la misma.	Cíclicos (uno o más anillos de células). Estomas más grandes que las células epidérmicas. Los estomas se ubican casi siempre todos en la misma dirección.	No presenta	
<i>Baccharis pulchella</i>	Poligonales, bordes lisos, todas de tamaño similar. Presentan cristales.	Ciclocítico. Estomas algo más grandes que las células epidérmicas, dispuestos en diferentes direcciones.	Micropelos pluricelulares, agrupados de a 3 o más. Dispersos en la epidermis y en la zona de la nervadura	
<i>Ephedra breana (tallos)</i>	Células poligonales tipo hexagonales más largas que anchas, borde liso, dispuestas en hileras más o menos uniformes. Cutícula gruesa, coloreada. Algunas células son más grandes y papilosas y se ven más coloreadas.	Estomas hundidos con el poro dispuesto en forma paralela a la hilera de células	No presenta	
<i>Erodium cicutarium</i>	Forma irregular, bordes lisos u ondulados, pared delgada	Anomocítico. Estomas de tamaño similar a las células epidérmicas y paredes delgadas.	Macropelos largos, abundantes, de pared gruesa y verrugosa. Célula basal corta algo curva y más ancha formando un nudo con la célula distal, de tipo aguja.	Presencia de drusas

<i>Fabiana densa</i>	Forma rectangular, borde liso.	Tipo ciclocítico, anillo con células más chicas que el resto. Estomas más grandes que las células epidérmicas, y con contenido celular granuloso.	Micropelos abundantes multicelulares ensanchándose hacia la base y con cabeza tipo hongo,	En las heces suelen aparecer fragmentos de cutícula estriada donde se distinguen bien los estomas. Hay fragmentos de epidermis sin pelos.
<i>Frankenia triandra</i>	Formas irregulares, algunas poligonales, borde liso, pared gruesa.	Anomocítico. Estomas escasos más grandes que la células epidérmicas, redondos de paredes gruesas.	Solamente pelos simples cortos, unicelulares, tipo "dedo" en los bordes de la epidermis.	En las heces las formas de las células aparecen algo desdibujadas pero los estomas son bien distinguibles.
<i>Junellia seriphioides</i>	Forma irregular, asimétrica. Borde ondulado de un lado de la hoja y aserrado del otro lado. Presentan gránulos en las cercanías de las paredes.	Anomocítico. Estomas con contenido granuloso y paredes gruesas.	Macropelos largos, unicelulares, no muy rectos, punta aguzada. Base más chica que los estomas. Abundantes.	En las heces se distingue bien la impronta de los estomas, los pelos y muchas veces se observan las nervaduras gruesas asociadas al tejido o desprendida.
<i>Lilaeopsis macloviana</i>	Más o menos rectangulares de distintos tamaños, bordes lisos, paredes muy delgadas.	Estomas abundantes muy pequeños y más chicos que las células epidérmicas, paredes finas. Dispuestos en la misma dirección, con el poro paralelo a las células epidérmicas.	No presenta	
<i>Lycium chañar</i>	Poligonales, de tamaños similares y paredes delgadas y lisas. Cutícula gruesa muy estriada en los bordes de las células	Anisocítico. Estomas más pequeños que las células epidérmicas.	Macropelos cortos tricelulares en forma de cono invertido, con base estriada. Más grande que las células epidérmicas. Distribución abundante.	
<i>Maihueniopsis spp</i>	Células poligonales, de diversas formas, borde liso, todas de tamaño similar.	Paralelocítico. Estomas más grandes que las células epidérmicas	En general no presentan Se observaron gloquidios desprendidos en planta molida de <i>M. boliviana</i> . En <i>M. ovata</i> se observaron algunos pelos multicelulares muy largos pero no están en toda la epidermis.	En las heces se encuentran con mayor frecuencia, un tejido con muchas drusas y espacios vacíos para la inserción de gloquidios o tejido con células poligonales grandes sin estomas. También se observan los gloquidios desprendidos.

<i>Parastrephia lucida</i>	Forma rectangular, paredes muy finas.	Estomas circulares de igual tamaño que las células epidérmicas. Poro estomático perpendicular al largo de las células epidérmicas	Micropelos con cabeza globosa bicelular, muy cortos y base no fácilmente de las células epidérmicas. Abundantes en toda la epidermis Macropelos no muy largos, muy finos, pluricelulares formando una maraña y ubicados sobre nervaduras.	En las heces no siempre se distinguen las células epidérmicas, pero sí aparece claramente el tejido con los micropelos.
<i>Sarcocornia pulvinata</i>	Poligonales, borde lisas, cutícula más o menos gruesa, papilosa. Células más o menos dispuestas uniformemente. La mayoría presenta una papila que no cubre toda la célula	Arreglo paracítico. Estomas más chicos que las células epidérmicas y de pared más gruesa.	No presentan	
<i>Senecio argophylloides</i>	Paredes lisas, más gruesas que las oclusivas. Asimétricas regulares	Arreglo estaurocítico, estomas redondos, más grandes que el ancho de los pelos	Pelos muy largos, multicelulares. Base alargada tubular, y célula distal larga y curva terminada en un filamento. Abundantes	
<i>Senecio viridis</i>	Células irregulares, algunas poligonales, borde liso, de tamaño similar a los estomas	Arreglo anomocítico. Paredes delgadas, estomas ovales, abundantes	No posee	

Tabla 2.5. Cuadro comparativo de los patrones epidérmicos microhistológicos de los principales gramínoides de Laguna Blanca. Epidermis adaxial.

	Estomas	Células epidérmicas	Observaciones
--	----------------	----------------------------	----------------------

<i>Amphiscirpus nevadensis</i>	Ovalos a circulares, dispuestos en una o dos hileras y separados entre sí por una o dos células. Células anexas pequeñas con respecto al tamaño del estoma células oclusivas con pared engrosada.	Células rectangulares con bordes muy ondulados y pared engrosada. Largo de las células del tamaño de un estoma pero ancho menor	Zonas costales de ancho similar a zonas intercostales y compuestas por tres hileras de células
<i>Ciperácea no identificada</i>	Ovalos dispuestos en hileras no tan uniformes	En zona intercostal células rectangulares con bordes ondulados y paredes finas, algunas células más cortas pero similares. En zonas costales células rectangulares más angostas y bordes muy ondulados	Zonas intercostales con estomas mucho más anchas que las zonas costales
<i>Eleocharis albibracteata</i>	Estomas rectangulares de aspecto achatado, formando hileras de una sola célula, separados entre sí por una o dos células.	Células mucho más largas que anchas con bordes algo ondulados, más largas que los estomas.	En algunas áreas las zonas costales, sin estomas son más anchas que las intercostales
<i>Juncus sp</i>	Estomas muy abundantes, cuadrados algo hexagonales, algunos circulares, separados entre sí por una célula corta. Células anexas más largas que los estomas.	Células rectangulares con bordes ondulados, más largas que los estomas	Zonas no fácilmente distinguibles. Se encontró aerénquima asociado en los fragmentos de heces
<i>Scirpus desertícola</i>	Forma romboide, agrupados en 2 o 3 hileras, separados por una célula corta de borde ondulado.	Células rectangulares con bordes aserrados y paredes finas	Zonas costales e intercostales de tamaño similar
<i>Triglochin palustris</i>	Estomas casi cuadrados, con las células oclusivas en forma de C pero con borde recto. Dispuestos en una hilera y separados entre sí por dos o tres células de tamaño similar al estoma más anchas que el resto de las células epidérmicas	Células mas largas que anchas, algo irregulares, con bordes lisos y paredes delgadas	Zonas costales delgadas formadas por dos o tres hileras de células. En las heces muchas veces se encuentran fragmentos con la epidermis muy diluida, no fácilmente distinguible.

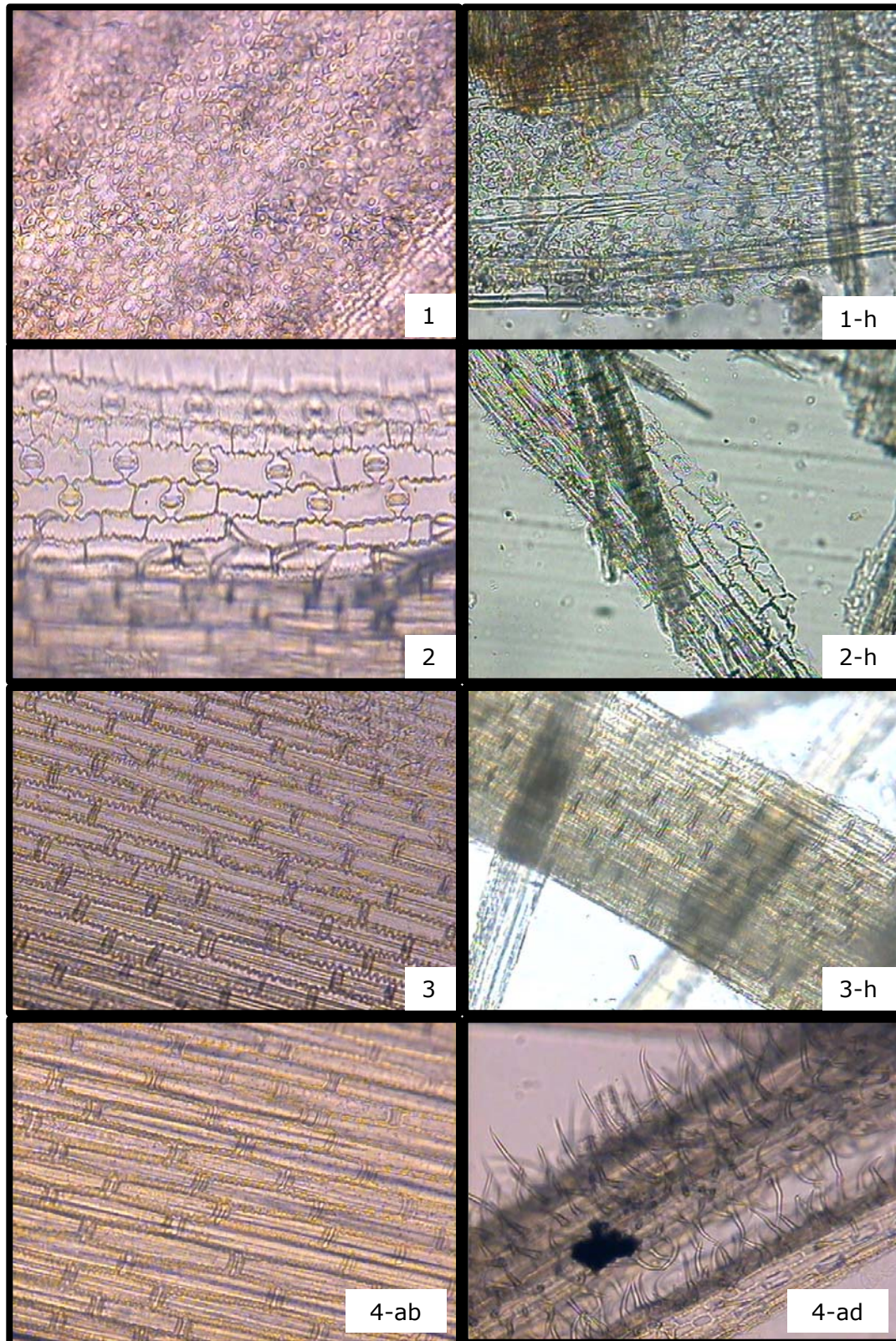


Figura 2.1. Microfotografías de epidermis de gramíneas de Laguna Blanca. Aumento 100x. 1: *Distichlis humilis*; 2: *Panicum chloroleucum*; 3: *Festuca chrysophylla*;

4: *Festuca orthophylla*; ab: cara abaxial, ad: cara adaxial. h, fragmento encontrado en heces.

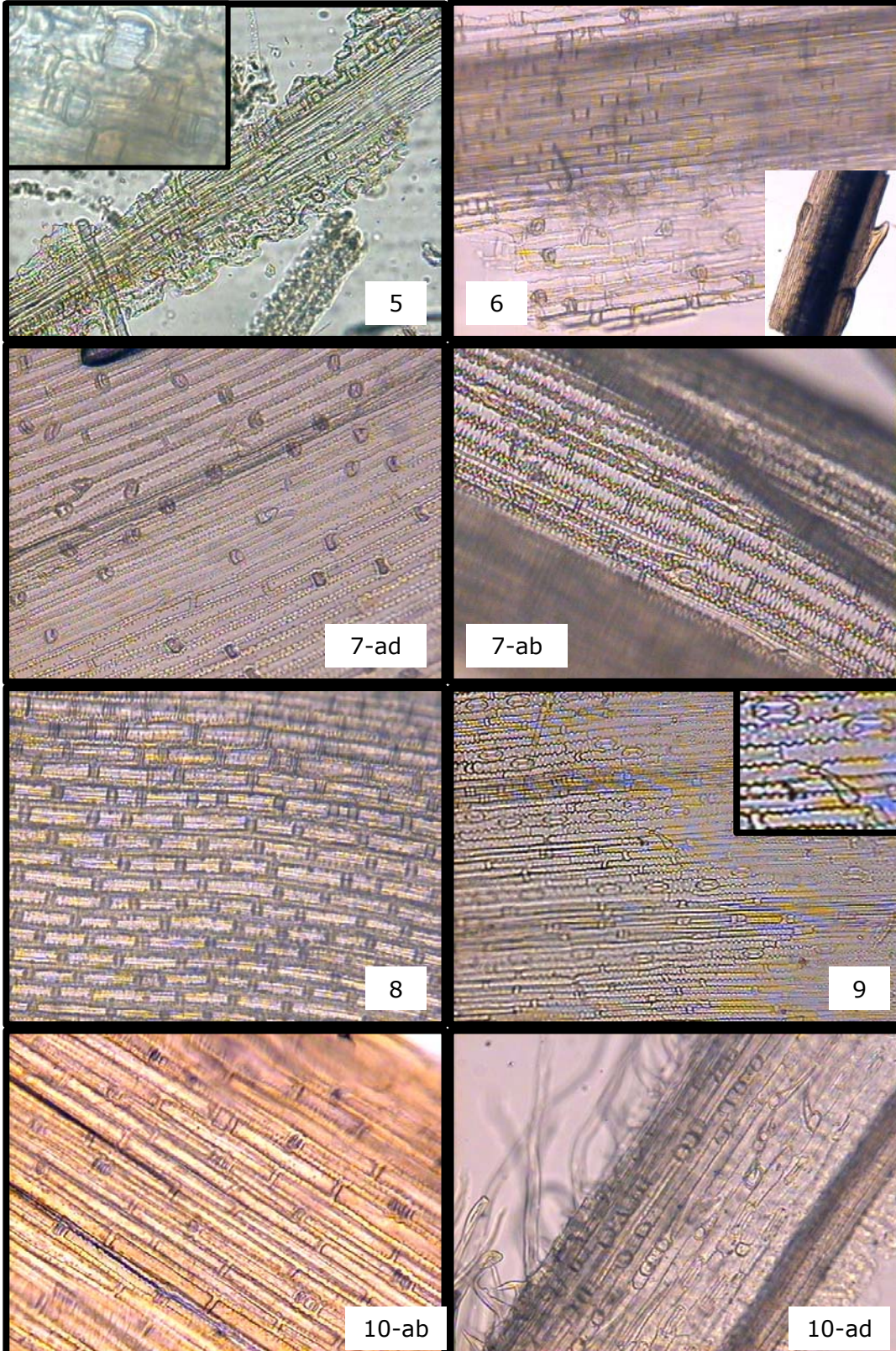


Figura 2.2. Microfotografías de epidermis de gramíneas de Laguna Blanca. Aumento 100x. 5: *Sporobolus rigens* (con detalle de estoma y células silíceas); 6: *Cortaderia rudiuscula* (epidermis y fragmento con costilla, aumento 40x); 7: *Deyeuxia brevifolia*; 8: *Festuca argentinensis*; 9: *Eragrostis nigricans* (con detalle de micropelo); 10: *Deyeuxia cabreræ*. ab: cara abaxial, ad: cara adaxial.

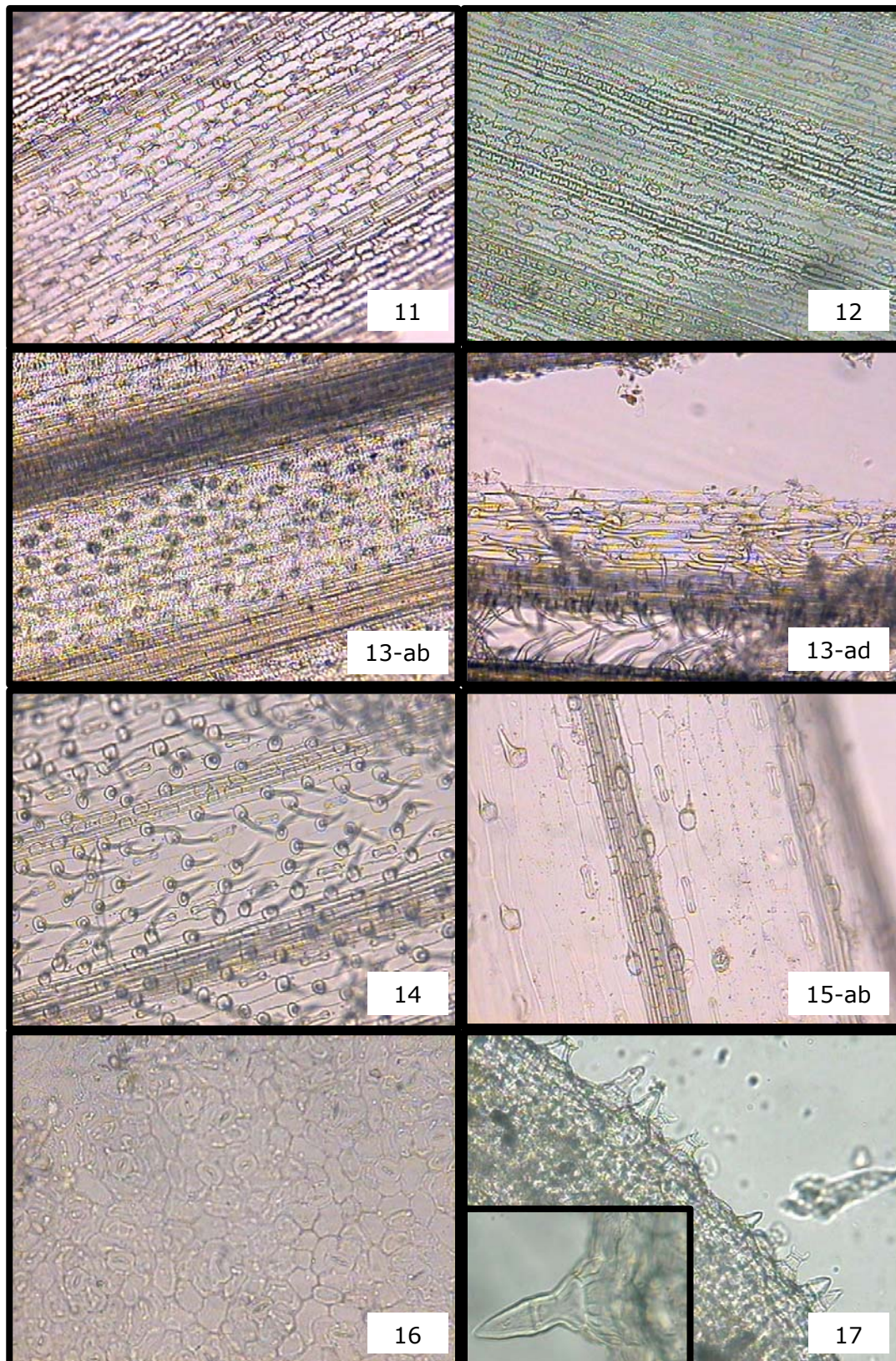


Figura 2.3. Microfotografías de epidermis de gramíneas y arbustos de Laguna Blanca. Aumento 100x. 11: *Muhlebergia peruviana*; 12: *Aristida subulata*; 13: *Stipa vaginata*; 14: Gramínea no identificada; 15: *Puccinellia frigida*; 16 y 17: arbustos, 16: *Senecio viridis*; 17: *Lycium chañar* (con detalle de macropelo). ab: cara abaxial, ad: cara adaxial.

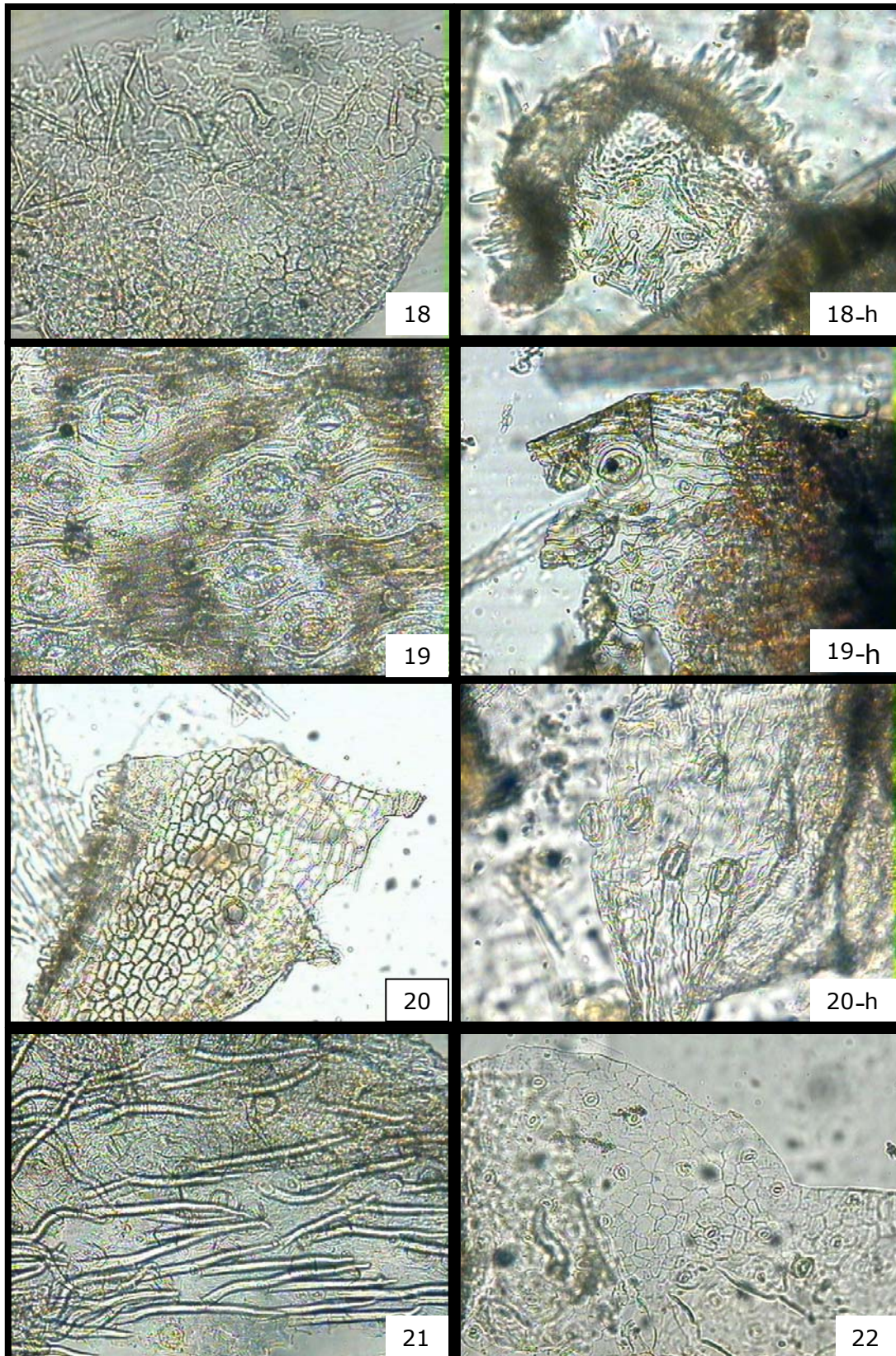


Figura 2.4. Microfotografías de epidermis de arbustos de Laguna Blanca. Aumento 100x. 18: *Acantholippia salsoloides*; 19: *Fabiana densa* (con detalle de micropelo); 20: *Frankenia triandra*; 21: *Junellia seriphioides*; 22: *Adesmia horrida* (zona con y sin pelos). h, fragmento encontrado en heces.

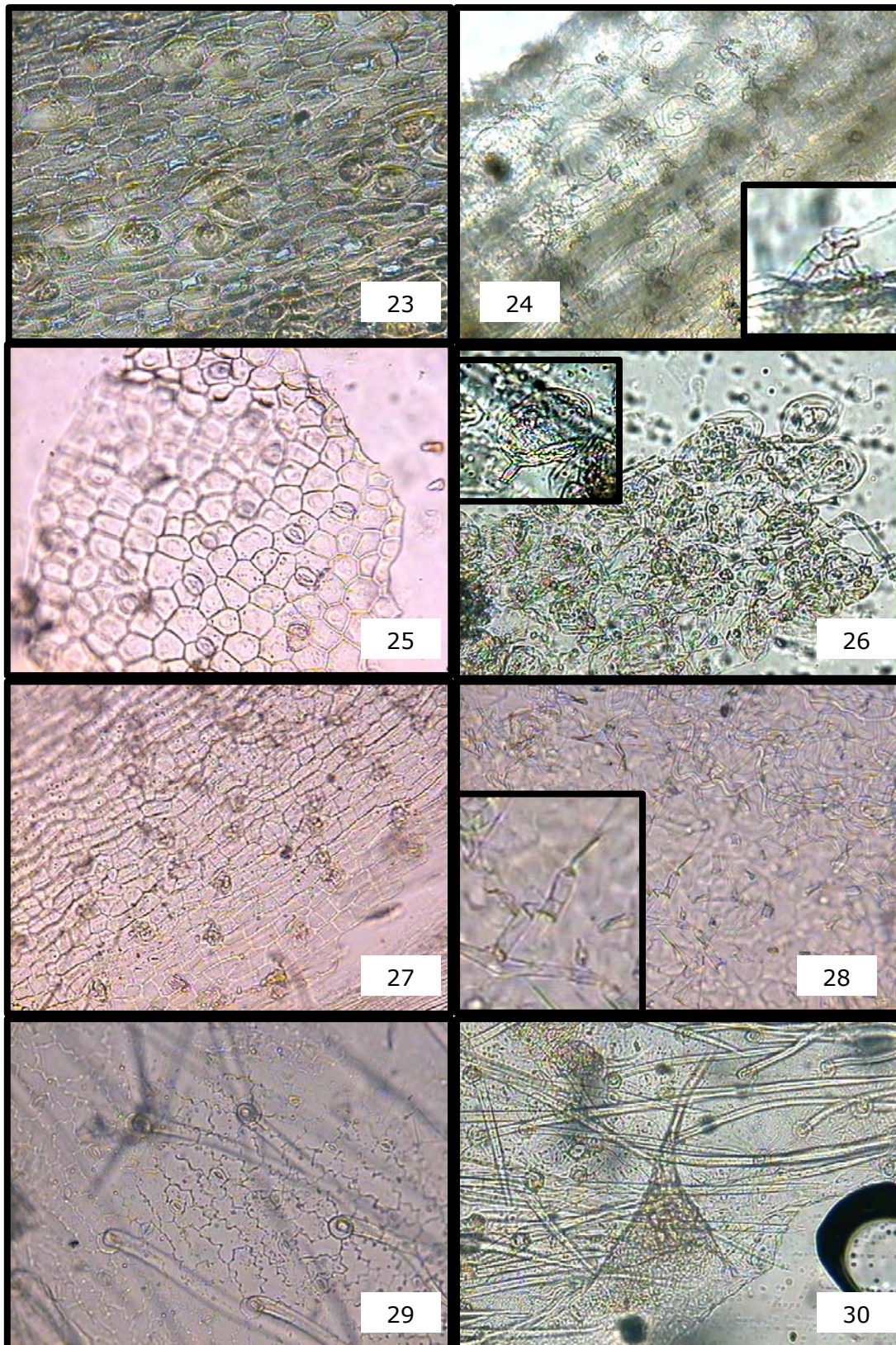


Figura 2.5. Microfotografías de epidermis de arbustos e hierbas de Laguna Blanca. Aumento 100x. 23: *Ephedra breana*; 24: *Baccharis boliviensis*; 25: *Sarcocornia pulvinata*; 26: *Atriplex* sp; 27: *Parastrephia lucida*; 28: *Senecio argophylloides*; 29: *Astragalus arequipensis*; 30: *Adesmia* sp. Los detalles corresponden a pelos glandulares o pelos largos.

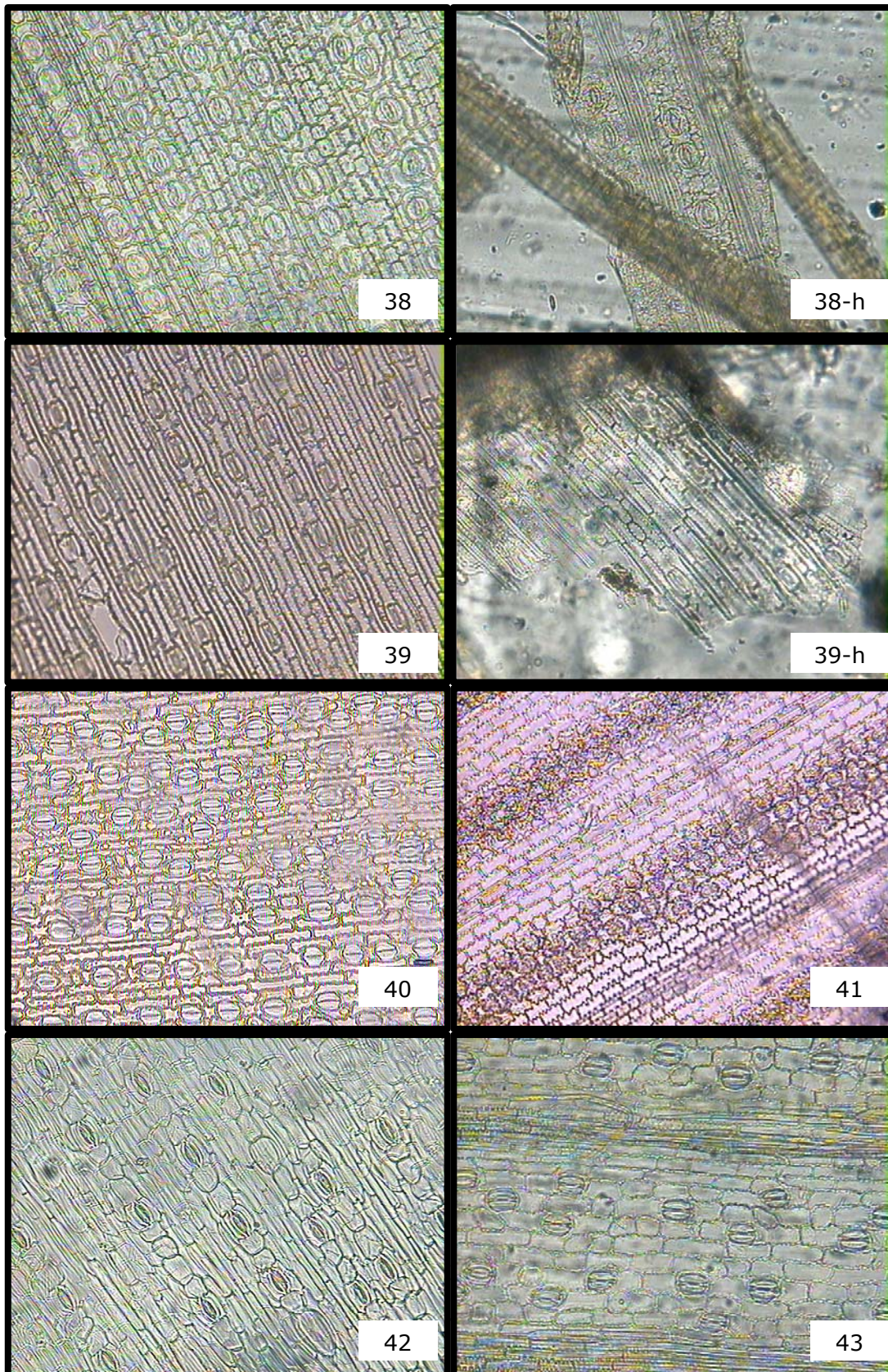


Figura 2.6. Microfotografías de epidermis de dicotiledóneas y algas de Laguna Blanca. Aumento 100x. 31: Alga chlorophyta; 32: Alga rodophyta; 33: *Maihueniopsis* spp (a, epidermis; b, gloquidio; c, tejido no epidérmico con drusas); 34: *Baccharis acaulis*; 35: *Baccharis incarum*; 36: *Baccharis pulchella*; 37: *Arenaria catamarcensis*.

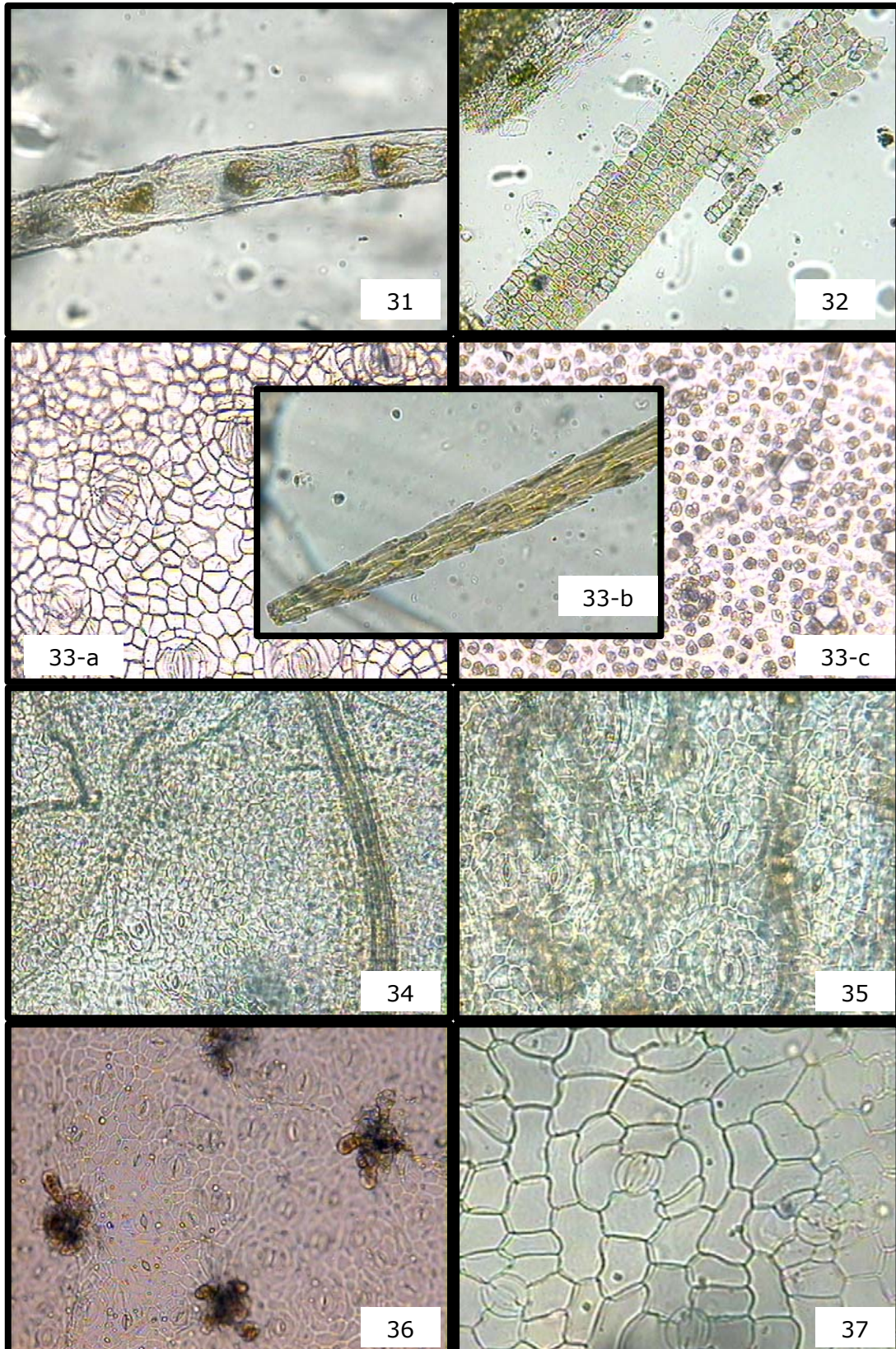


Figura 2.7. Microfotografías de epidermis de graminoides de Laguna Blanca. Aumento 100x. 38: *Amphiscirpus nevadensis*; 39: *Eleocharis alibracteata*; 40: *Juncus sp*; 41: *Scirpus deserticola*; 42: *Triglochin palustris*; 43: Ciperácea no identificada. h, fragmento encontrado en heces.

A. Epidermis abaxial con estomas	B.
B. Presencia de papilas	C.
C. Papilas en forma de gota que tapan casi toda la célula Células sílico-suberosas cuadradas	<i>Distichlis humilis</i>
CC. Papilas redondas que no cubren la célula epidérmica Células sílico-suberosas de a dos, una con forma de medialuna	<i>Muhlebergia peruviana</i>
BB. Ausencia de papilas	D.
D. Presencia de micropelos	<i>Sporobolus rigens</i>
E. Estomas cuadrados. Paredes celulares gruesas	F.
EE. Estomas rómbicos	<i>Panicum chloroleucum</i>
F. Presencia de macropelos en zona costal largos	FF. Ausencia de macropelos. Estomas chicos, achatados
FF. Ausencia de macropelos. Estomas chicos, achatados	<i>Eragrostis nigricans</i>
DD. Ausencia de micropelos	G.
G. Ganchos abaxiales, abundantes en zonas intercostales	<i>Stipa spp.</i>
GG. Presencia de asperezas en alguna de las zonas	H.
H. Agujones en la zona costal. Células silíceas en forma de pesa Estomas rómbicos, pequeños	<i>Aristida subulata</i>
HH. Ganchos en la zona intercostal paralelos a las células Abundantes células cortas cuadradas en zonas costales	<i>Cortadera rudiusscula</i>
AA. Epidermis abaxial sin estomas	I.
I. Ausencia de asperezas	J.
J. Epidermis con aspecto de empalizada de ladrillos Células cortas solitarias o de a pares en zona intercostal	<i>Festuca spp</i>
JJ. Células cortas de a dos o de a tres abundantes paredes celulares gruesas	<i>Dexeuyia cabreræ</i>
II. Presencia de agujones regulares, adyacentes a una célula corta	<i>Deyeuxia brevifolia</i>

Figura 2.8. Clave de reconocimiento de las principales gramíneas de Laguna Blanca.

A. Ausencia de pelos	B.
B. Estomas en hileras generalmente de a dos formando franjas regulares Células poligonales y papilosas	<i>Ephedra breana</i>
BB. Estomas ubicados homogéneamente en casi toda la epidermis	C.
C. Arreglo estomático no anomocítico	D.
D. Células epidérmicas papilosas. Arreglo paracítico	<i>Sarcocornia pulvinata</i>
DD. Células no papilosas	E.
E. Arreglo estomático cíclico Estomas dispuestos casi siempre en la misma dirección	<i>Baccharis incarum</i>
EE. Arreglo paralelocítico. Estomas más grandes que las células epidérmicas	<i>Mahihueniopsis spp.</i>
CC. Arreglo estomático anomocítico	F.
F. Estomas escasos mucho más grandes que las células epidérmicas Células epidérmicas poligonales de paredes gruesas	<i>Frankenia triandra</i>
FF. Estomas abundantes similares o más chicos que las células epidérmicas	G.
G. Células poligonales. Estomas abundantes rodeados por más de cinco células	<i>B. acaulis</i>
GG. Células irregulares	H.
H. Estomas redondos rodeados por cuatro o cinco células Células epidérmicas más grandes que los estomas	<i>Arenaria catamarcensis</i>
HH. Estomas ovales muy abundantes de tamaño similar a las células.	<i>Senecio viridis</i>
AA. Presencia de pelos	I.
I. Epidermis con macropelos no glandulares	J.
J. Un solo tipo de pelos	K.
K. Arreglo estomático anomocítico	L.
L. Pelos unicelulares muy largos no curvos. Células epidérmicas con bordes ondulados	<i>Astragalus arequipensis</i>
LL. Pelos unicelulares más bien cortos y generalmente L.	M.
M. Pelos con orientación indefinida. Células poligonales Estomas de paredes delgadas	<i>Acantholippia salsoloides</i>
MM. Células irregulares. Estomas de paredes gruesas	<i>Junellia seriphioides</i>

Figura 2.9. Clave de reconocimiento de los principales arbustos e hierbas de Laguna Blanca. Primera parte.

KK. Arreglo estomático no anomocítico	N.
N. Pelos unicelulares tipo aguja. Arreglo policítico	<i>Adesmia horrida</i>
NN. Pelos no unicelulares	O.
O. Arreglo anisocítico. Macropelos cortos, tricelulares, en forma de cono y base estriada	<i>Lycium</i>
OO. Otro arreglo estomático	P.
P. Arreglo ciclocítico Micropelos agrupados de a tres o más, pluricelulares y cortos	<i>Baccharis pulchella</i>
PP. Arreglo staurocítico Pelos muy largos, enmarañados, con base tubular y terminados en un filamento	<i>S. argophylloides</i>
JJ. Dos tipos de pelos Pelos largos tipo aguja y pelos con base ancha en forma de cono	<i>Adesmia sp</i>
II. Epidermis con pelos glandulares o micropelos	Q.
Q. Un solo tipo de pelos	R.
R. Pelos glandulares globosos grandes que cubren la epidermis y tapan las células epidérmicas	<i>Atriplex</i>
RR. Micropelos que no tapan las células epidérmicas. Arreglo ciclocítico	S.
S. Micropelos multicelulares más anchos en la base y con cabeza en forma de hongo, no están en toda la epidermis. Estomas muy grandes con contenido granuloso	<i>Fabiana densa</i>
SS. Micropelos glandulares abundantes, base multicelular y cabeza bicelular globosa.	<i>Baccharis boliviensis</i>
QQ. Dos tipos de pelos. Micropelos abundantes muy cortos con cabeza globosa bicelular Macropelos largos y enmarañados, muy finos y pluricelulares ubicados en las nervaduras	<i>Parastrephia lucida</i>

Figura 2.9. Continuación.

A.	Células epidérmicas con borde liso Estomas en hileras separados por dos o tres células	<i>Triglochin palustris</i>
A.	Células epidérmicas con borde no liso	B.
B.	Estomas rómbicos, agrupados en franjas Células con bordes aserrados.	<i>Scirpus desertícola</i>
BB.	Estomas no rómbicos	C.
C.	Epidermis sin distinción clara de zonas costales Estomas cuadrados a circulares, células con borde muy ondulado y de paredes gruesas	<i>Juncus sp.</i>
CC.	Epidermis con distinción de zonas costales	D.
D.	Estomas dispuestos en hileras	E.
E.	Estomas rectangulares Células mucho más largas que anchas zonas costales e intercostales angostas	<i>Eleocharis bonariensis</i>
EE.	Estomas ovales Células no tan largas y anchas	<i>Amphiscirpus nevadensis</i>
DD.	Estomas dispuestos en forma no homogénea Zonas intercostales anchas	<i>Ciperácea no identificada</i>

Figura 2.10. Clave de reconocimiento de los principales gramínoides de Laguna Blanca.

DISCUSIÓN

Las descripciones epidérmicas de las plantas de Laguna Blanca son un valioso aporte como herramienta para futuros estudios de dieta de animales herbívoros dentro de la reserva. Y complementan además otros estudios acerca de las características histológicas de la vegetación en zonas puneñas (Ancibor 1975, 1980, 1992, Castellaro et al. 2007).

Las claves dicotómicas en algunos casos sólo permitieron la identificación a nivel de género, como en las gramíneas *Stipa spp* o *Festuca spp*. Si bien es posible encontrar diferencias epidérmicas por ejemplo entre *Stipa vaginata* y *S. frígida*, o entre *Festuca chrysophylla* y *F. othophylla*, es difícil su reconocimiento en los preparados de heces (Borgnia datos no publicados). La asignación de los fragmentos a alguna especie en particular puede requerir de información adicional respecto a qué especies se encontraron en el lugar de recolección de las heces. Para la identificación de las especies de dicotiledóneas, un carácter diagnóstico importante es el tipo de tricomas que poseen las plantas (Arriaga et al. 2005) y en algunos casos fue el único elemento reconocible en los fragmentos de heces, como por ejemplo, los pelos glandulares de *Atriplex sp*.

Si bien en este estudio se ha puesto el énfasis en las características epidérmicas básicas de hojas y tallos, futuros estudios más detallados podrían utilizarse para discriminar la diversidad de plantas de zonas puneñas y altoandinas. En este sentido, es necesario profundizar en el análisis de elementos diagnóstico de tejidos no epidérmicos, y también en tejidos reproductivos (flores y frutos), con el objetivo de permitir una mejor interpretación y descripción de la dieta de los animales.