

Dominguezia

Museo de Farmacobotánica
"Juan A. Domínguez"

Facultad de Farmacia y Bioquímica
Universidad de Buenos Aires



Croton tiglium L. –Euphorbiaceae–

Dominguezia

Vol. 29(1) - 2013

Director Responsable:

Dr. Alberto Ángel Gurni

Comisión Redactora:

Farm. Carlos Agosto
Dr. Arnaldo L. Bandoni
Dr. Gustavo C. Giberti
Dr. Alberto A. Gurni
Dr. Marcelo L. Wagner

Comisión Científica Asesora:

Dr. Pastor Arenas (Instituto de Botánica Darwinion, Argentina)
Dr. Néstor Caffini (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)
Dra. María T. Camargo (Universidad de San Pablo, Brasil)
Dr. Rodolfo Campos (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. Salvador Cañigual Folcará (Universidad de Barcelona, España)
Dr. Eduardo Dellacassa Beltrame (Universidad de la República, Uruguay)
Dra. Martha Gattuso (Universidad Nacional de Rosario, Argentina)
Dr. Héctor Alejandro Keller (Universidad Nacional del Nordeste, Argentina)
Dr. José Luis López (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. José María Prieto-García (University of London, Gran Bretaña)
Dr. Rafael A. Ricco (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. Lionel G. Robineau (Universidad de las Antillas y de la Guyana)
Dra. Etilé Spegazzini (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)
Dr. Carlos Taira (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. María L. Tomaro (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. E. C. Villaamil (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Comisión Científica Honoraria:

Dr. Ramón A. de Torres (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. Marta Nájera (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)
Dr. Otmaro Rosés (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Editores Científicos:

Dr. José María Prieto-García
Dra. Catalina M. van Baren
Dr. Marcelo Luis Wagner

Editora Asociada:

María Cristina Ratto de Sala

Secretaría, Edición electrónica y *Websmaster*:

Fernando Gabriel Ranea

Edición patrocinada por la Secretaría de Extensión Universitaria
de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA)
y financiada por la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires

Dominguezia se distribuye por canje con otras publicaciones dedicadas a temas afines.

This publication is sent to individuals or institutions by exchange with similar ones,
devoted to Pharmacobotany or related subjects.

Lámina de Tapa:
***Croton tiglium* L. –Euphorbiaceae–**

Lámina extraída de
Kölher's Medizinal-Planzen (1887).

Incluida en el Directorio de LATINDEX
por el Centro Argentino de Información Científica y Tecnológica (CAICYT - CONICET)
con el número de Folio 2787 Dominguezia,
y en Electronic Sites of Leading Botany, Plant Biology and Science Journals.
Providing links to the world's electronic journals.

Registro de la Propiedad Intelectual N° 4984926.

Se terminó de editar en julio de 2013.

Índice de contenido

Editorial. Micrografía analítica y la farmacobotánica	5
Martha Gattuso	
Caracteres morfoanatómicos y micrográficos de la corteza de <i>Croton urucurana</i> Baillon (Euphorbiaceae)	7
Oswaldo A. Di Sapio y Martha A. Gattuso	
Parámetros micrográficos para la identificación de hojas, corteza y leño de <i>Picrasma crenata</i> (Vell.) Engl. (Simaroubaceae)	17
María N. Campagna, Oswaldo Di Sapio y Martha Gattuso	
Caracteres micrográficos analíticos de hojas, tallos, inflorescencias-flores de <i>Tagetes lucida</i> Cav. (Asteraceae - Helenieae)	29
María L. Martinez, Gabriel Bettucci, Martha Gattuso, Adriana Cortadi	
Estandarización micrográfica de especies de <i>Baccharis</i> L. (Asteraceae)	39
María V. Rodriguez, Susana J. Gattuso y Martha A. Gattuso	

Index

Editorial. Analytical micrographic and Pharmacobotany	5
Martha Gattuso	
Morphoanatomical and micrographic parameters of <i>Croton urucurana</i> Baillon bark (Euphorbiaceae)	7
Oswaldo A. Di Sapio y Martha A. Gattuso	
Micrographic parameters for the identification of <i>Picrasma crenata</i> (Vell.) Engler (Simaroubaceae)	17
María N. Campagna, Oswaldo Di Sapio y Martha Gattuso	
Analytical micrographic characters of leaves, stems, inflorescences- flowers of <i>Tagetes lucida</i> Cav. (Asteraceae - Helenieae)	29
María L. Martinez, Gabriel Bettucci, Martha Gattuso, Adriana Cortadi	
Micrographic standarization of <i>Baccharis</i> L. species (Asteraceae)	39
María V. Rodriguez, Susana J. Gattuso y Martha A. Gattuso	

Micrografía analítica y la farmacobotánica

Martha Gattuso

Farmacobotánica. Área Biología Vegetal. Facultad Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. Suipacha 531, Rosario (S2002LRK) Santa Fe, Argentina. Correo electrónico: marthagattuso@fibertel.com.ar.

Ante el resurgimiento actual del empleo de plantas medicinales debemos anteponer el concepto del *uso racional de los medicamentos elaborados a base de plantas*. Según las estadísticas de la OMS, el 80 % de la población en vías de desarrollo depende del empleo de las plantas medicinales para la atención primaria de la salud (APS) (Farnsworth y colaboradores, "Medicinal Plants in therapy", en el *Bull. World Health Organ* 63(6): 965-981, 1985). Asimismo, el consumo de plantas medicinales y suplementos minerales en los países desarrollados, ha aumentado considerablemente en los últimos 12 años (World Health Organization 2008 "Traditional Medicine", en línea). El uso racional de la fitoterapia solamente será posible si se cuenta con medicamentos fitoterápicos que reúnan condiciones de calidad, seguridad y eficacia evaluadas.

La *calidad* es un requisito básico de los medicamentos, no solamente por su significación intrínseca, sino también porque constituye la base en la que se apoya la reproducibilidad de los parámetros de *seguridad y eficacia*. La primera fase para garantizar la *calidad* es la *identificación* o aseveración de genuinidad de las especies vegetales; con ese fin durante las últimas décadas se desarrollaron métodos analíticos considerados entonces sofisticados, pero que actualmente se aceptan como técnicas estándares para la identificación de muchos materiales vegetales. Sin embargo, la aplicación previa de la *micrografía analítica* en la identificación de las especies vegetales y, en consecuencia, de las drogas que de ellas derivan, se establece como un criterio útil y confiable.

La micrografía constituye un método riguroso de análisis aplicable a las drogas vegetales, basado en el reconocimiento y las valoraciones cualitativa y cuantitativa de caracteres diagnósticos que se averiguan mediante el estudio de sus tejidos y

se complementa con reacciones histoquímicas. Con los datos obtenidos se confeccionan las cartillas micrográficas, que constituyen los patrones micrográficos. Los caracteres que se deben tener en cuenta para identificar la droga varían según los órganos utilizados.

La micrografía analítica es particularmente aplicable al examen de mezclas cuando los componentes individuales resultan fácilmente identificables, mientras otros métodos analíticos, como por ejemplo, la cromatografía, informan resultados menos satisfactorios. La micrografía analítica también tiene las ventajas que requiere solo pequeñas cantidades del material, y una vez que se ha adquirido la técnica, se puede obtener muy rápidamente la conclusión en cuanto a si la muestra es o no, genuina.

En todo el mundo hay un notable aumento de la popularidad y la aceptación de los medicamentos a base de hierbas; en contraste, hay una disminución notable en el número de analistas capaces de utilizar las ventajas de la microscopía analítica moderna y su clásica herramienta de control: la micrografía analítica. Se necesitan con urgencia expertos en el análisis y la evaluación de la calidad de productos vegetales, drogas crudas, medicamentos fitoterápicos, alimentos, plantas aromáticas, plantas tóxicas, ya que todos son utilizados por grandes segmentos de la población.

En la segunda mitad del siglo XX la disminución del número de monografías farmacopeicas sobre plantas medicinales en las Farmacopeas oficiales de los distintos países fue notable; esta tendencia se está invirtiendo en los albores del siglo XXI, y las farmacopeas modernas, por ejemplo, la Farmacopea Argentina, 8ª edición (2011) y la Farmacopea Brasileira, 5ª edición (2010), editan nuevas monografías farmacopeicas sobre plantas medicinales, incluida su caracterización microscópica.

Hay que reconocer, y con razón, que la *microscopía analítica* ha desempeñado y desempeña un importante papel en la autenticación y evaluación de las plantas medicinales. Las monografías farmacopeicas y los trabajos de

investigación basados en la aplicación de esta metodología ponen en evidencia su importancia como herramienta de evaluación de calidad. Este hecho ayudará a preservar y revitalizar esta importante disciplina científica analítica.

Caracteres morfoanatómicos y micrográficos de la corteza de *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae)

Oswaldo A. Di Sapio* y Martha A. Gattuso

Farmacobotánica. Área Biología Vegetal. Facultad Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad de Nacional Rosario. Suipacha 531 (S2002LRK) Rosario, Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: odisapio@fbioyf.unr.edu.ar.

Resumen

Croton urucurana Baillon (Euphorbiaceae) es una especie de amplia distribución en regiones tropicales y subtropicales de las Américas. En la corteza caulinar tiene células productoras de un látex que es ampliamente utilizado en la medicina tradicional para tratar afecciones de la piel, y también como antidiarreico, antioxidante, inmunomodulador y analgésico. Numerosos estudios validan su uso etnomedicinal, pero los estudios anatómicos y ecológicos son escasos. El objetivo de este trabajo fue analizar por medio de transcorte y maceración, los caracteres morfoanatómicos y micrográficos de la corteza de *C. urucurana*, para su aplicación como material de referencia en el control de calidad de la droga cruda, entera o fragmentada. Se concluyó que la especie aquí estudiada puede ser identificada mediante una combinación de caracteres cualitativos, morfológicos y micrográficos.

Morphoanatomical and micrographic parameters of *Croton urucurana* Baillon bark (Euphorbiaceae)

Summary

Croton urucurana Baillon (Euphorbiaceae), is a widely distributed species in tropical and subtropical regions of the Americas. In the stem bark it has cells that produce a latex which is widely used in traditional medicine to treat skin disorders, and as antidiarrheal, antioxidant, immunomodulator and analgesic. Pharmacologic studies have validated its ethnomedicinal uses, but anatomical and ecological studies are scarce. The aim of this work was to analyze the morphoanatomical and micrographic characters of *C. urucurana* bark by means of microtone cuts and maceration, so they can be used as reference material in the quality control of the raw drug, entire or fragmented. It was concluded that the species studied can be identified through a combination of qualitative, morphological and micrographic characters.

Introducción

Croton urucurana Baillon, especie arbórea perteneciente a la familia *Euphorbiaceae*, y conocida como “sangre de drago”, “tupucharó”, se halla ampliamente distribuida en las regiones tropicales y

subtropicales de América. Crece en suelos calcáreos, rocas ígneas y en una amplia gama de temperaturas y niveles de humedad que le permiten formar parte de varios tipos de vegetación. En la Argentina crece en el nordeste del país, principalmente en Misiones y también en las islas y las costas del río Uruguay.

Palabras clave: *Croton urucurana* - Euphorbiaceae - corteza - micrografía - morfoanatomía.

Key words: *Croton urucurana* - Euphorbiaceae - bark - micrography - morphoanatomy.

Es un árbol monoico que alcanza de 8 a 10 m de altura de copa alargada; está provisto de una corteza caulinar generalmente lisa, de color verde claro; las hojas son simples, alternas, cordiformes y pubescentes en la cara inferior (Figuras 1A, 1B, 1E, 1F).

Sus flores se disponen en racimos espiciformes, de color blanquecino; las flores femeninas son 3-pistiladas y las masculinas están ubicadas en la parte distal de la inflorescencia; tienen una corola de 5 pétalos y numerosos estambres (Figuras 1C, 1D).

El fruto es una cápsula tricoca; las semillas tienen un ápice romo y la base apiculada (Figura 1G) (Dimitri, 1988; Del Arco Aguilar y Smith, 1996; Bacigalupo, 2005).

Una característica notable de *C. urucurana*, y de algunas otras especies del género *Croton*, es la presencia de células laticíferas en la corteza caulinar, con látex que se torna rojizo y de olor acre cuando está en contacto con el aire al efectuarse incisiones en ella (Figura 1H) (Rudall, 1987, 1994; Roth, 2005; Farías y col., 2009). Dentro de los usos etnomedicinales, el látex es utilizado por vía externa como astringente y cicatrizante, para aliviar picaduras de insectos y también en casos de aftas y llagas bucales (Martínez Crovetto, 1981). Asimismo, se menciona su empleo en la preparación de pastas dentales (Ratera y Ratera, 1980).

La mayoría de los estudios fitoquímicos se realizaron en el látex, aunque también existen investigaciones realizadas en los tallos foliáceos y en la corteza.

Los componentes mayoritarios que fueron aislados de la “sangre de drago” son: catequina, galocatequina, epigalocatequina (monómeros de flavan-3-oles) y proantocianidinas de diferentes grado de polimerización; entre los compuestos minoritarios se encuentran el alcaloide taspina, un lignano denominado dimetilcedrusina, y diterpenos varios como ácido hardwickiico, bicantriol, crolequinol, ácido crolequínico, korberina A y korberina B. Además, están presentes β -sitosterol y β -sitosterol-3-O- β -D-glucopiranosido; 1,3,5-trimetoxibenceno; 2,4,6-trimetroxifenol; 3,4-dimetoxifenol, alcohol 3,4-dimetoxibencílico, alcohol 1,4-hidroxifenílico y un gran número de aceites volátiles (Noldin y col., 2003; Salatino y col., 2007). La goma del látex contiene el polisacárido fucoarabinogalactano como principal componente, conformado por 1 % de proteínas y

93,7 % de azúcares: fucosa, arabinosa y galactosa, mayoritariamente (Milo y col., 2002).

Numerosos estudios científicos basados en ensayos farmacológicos avalan los usos tradicionales del látex empleado por vía externa como astringente, cicatrizante, antimicrobiano, y por vía interna, como antihemorrágico, antidiarreico, antiulceroso gástrico, antioxidante, inmunomodulador, antiinflamatorio y analgésico (Peres y col., 1997, 1998; Gurgel y col., 2002, 2005; Esmeraldino y col., 2003, 2005; Gupta y col., 2008; Wolf Cordeiro y col., 2012).

Hasta el momento no se realizaron ensayos clínicos con esta especie.

Escasos estudios anatómicos de la corteza de las numerosas especies del género *Croton* fueron abordados por Solereder (1908), Metcalfe y Chalk (1957) y Farías y col. (2009).

Este trabajo tiene como objetivo analizar los caracteres morfoanatómicos y micrográficos de la corteza del tallo de *C. urucurana*, para su uso como material de referencia en el control de calidad de la droga cruda, entera o fragmentada.

Materiales

Material vegetal estudiado

Argentina. Prov. de Santa Fe: - Dpto. Rosario. Rosario, zona norte del Parque Hospital Provincial del Centenario, 16-XII-1992, Di Sapio 41.

Material de herbario de referencia estudiado

Argentina. Prov. de Santa Fe: - Dpto. Gral. Obligado. Pto. Piracuacito, Franceschi 2508 (UNR). *Prov. de Entre Ríos*: - Dpto. Paraná. Villa Urquiza, 24-I-1980, Muñoz 625 (ERA); - Dpto. Uruguay. Concepción del Uruguay, islas del río Uruguay cerca de Cupalén, Lorentz 1769 (BAF).

Para la identificación del material vegetal estudiado se consultaron las claves taxonómicas de: *Flora vascular de la provincia de Santa Fe* (Pensiero y col., 2005) y *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería* (Dimitri, 1988).

Métodos

Se procesaron “tacos” de corteza del tallo obtenidos *in situ*; fueron ablandados en agua con detergente y se realizaron cortes histológicos en

Figura 1.- *Croton urucurana*. Exomorfología



A-B: aspecto general de individuos adultos; C: ramas con inflorescencias; D: flores masculinas; E: corteza; F: hojas; G: semillas; H: polvo concreto del látex.

secciones transversales, longitudinales radiales y tangenciales, de 10-15 μm de espesor, con microtomo de deslizamiento. Todas las secciones se tiñeron con Safranina Fast-Green (Dizeo de Strittmatter, 1979) y se montaron con Bálsamo de Canadá.

Otros trozos de cortezas se maceraron aplicando la técnica de Boodle (1916) y las preparaciones histológicas se montaron en forma semipermanente, usando gelatina glicerizada. La descripción macroscópica de las cortezas se realizó utilizando la terminología de Junikka (1994), mientras que para la descripción microscópica se utilizó la terminología propuesta por Trockenbrodt (1990). Las observaciones microscópicas se efectuaron con microscopio óptico Nikon Alphaphot YS equipado con tubo de dibujo, y con microscopio estereoscópico Nikon Type 104.

La presencia de granos de almidón y cristales diversos de oxalato de calcio se puso en evidencia con luz polarizada. Los dibujos son originales y fueron realizados utilizando un tubo de dibujo Optiphot en combinación con un microscopio óptico Nikon Alphaphot.

En las representaciones esquemáticas se emplearon los signos convencionales de Metcalfe y Chalk (1972). Las fotomicrografías observadas con microscopio óptico se obtuvieron con PM-10ADS Olympus Automatic Photomicrographic System y con microscopio Zeiss Axiolab equipado con equipo fotográfico MC 80. Se realizaron determinaciones cuantitativas de las dimensiones de los diferentes tipos celulares observados (longitud y latitud) utilizando un microscopio óptico Olympus CH30-LB System equipado con ocular micrométrico y tubo de dibujo BH2-DA.

Resultados

Caracteres exomorfológicos

La superficie externa de la corteza del tallo y de las ramas laterales desarrolladas es de color pardo grisáceo, es poco rugosa y tiene finas estrías longitudinales y algunas transversales, espaciadas (Figura 1E). Tiene abundantes lenticelas suberificadas y es muy poco desprendible. Su espesor, según la madurez del tallo, varía entre 2-12 mm. La superficie interna es de color castaño amarillento y su-

vemente estriada longitudinalmente. Presenta fractura entera, es de olor aromático y de sabor ligeramente amargo.

Caracteres endomorfológicos

a) *Corteza externa*

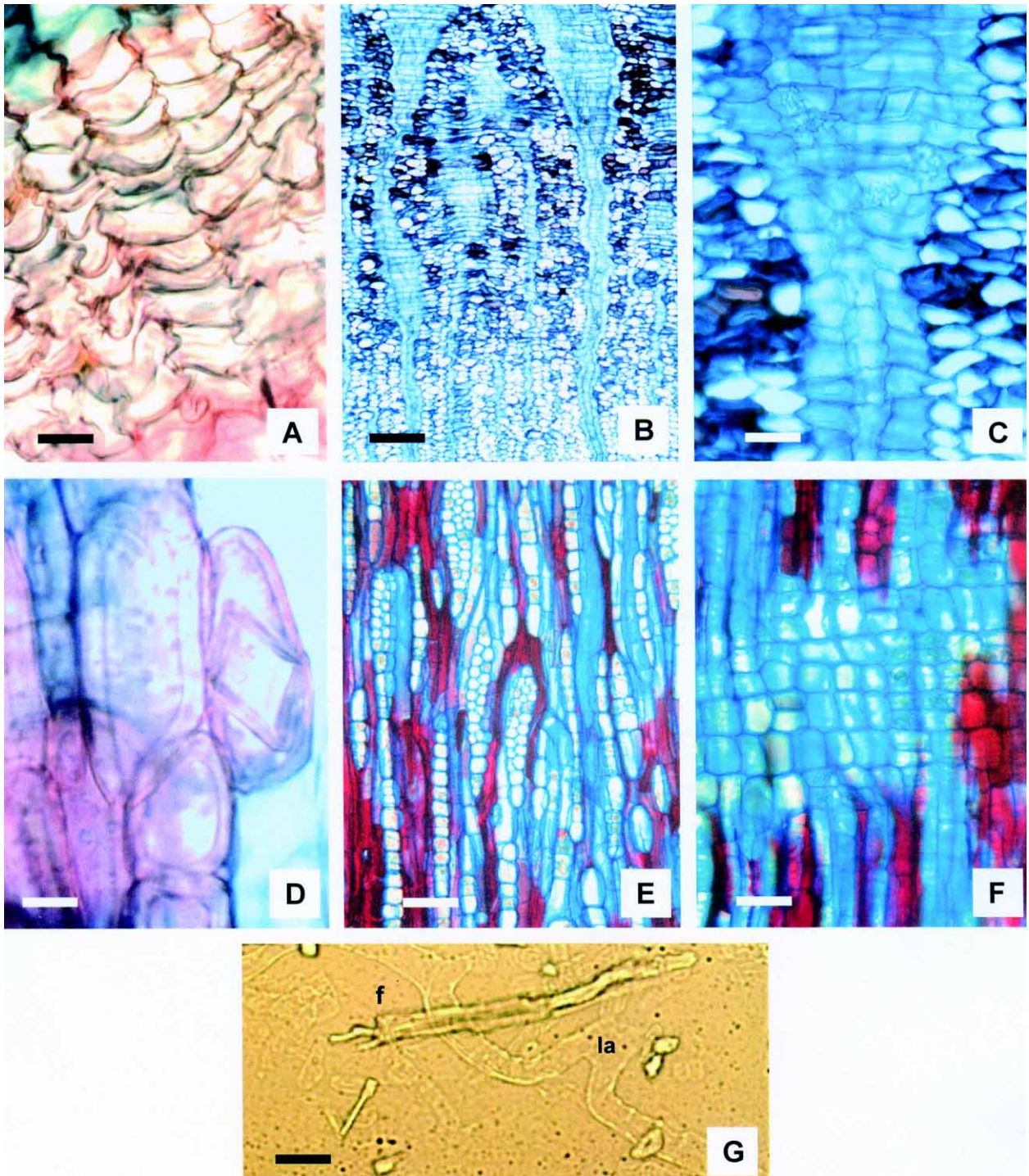
El ritidoma de la corteza desarrollada está constituido por 3-5 peridermis dispuestas en forma escamosa o imbricada, y cada una está formada por 3-10 estratos de células suberosas de diferentes dimensiones que alternan con tejido parenquimático cortical y escaso floema no funcional. Su espesor varía entre 3-5 mm. Las células del súber son homogéneas, comprimidas radialmente y de paredes con muy escaso engrosamiento (Figuras 2A y 3A). La felodermis se observa poco definida y está constituida por 1-3 capas de células rectangulares, grandes, con paredes delgadas.

b) *Corteza interna*

El parénquima cortical está bien desarrollado, es de espesor variable y constituido, en su mayoría, por células de morfología diversa, y aplanadas tangencialmente. Contiene drusas, cristales poliédricos y numerosos grupos heterogéneos y de dimensiones variables de fibras, braqui y macroesclereidas, algunas provenientes de células parenquimáticas que se esclerosan, e incluyen cristales romboédricos (Figuras 2B, 2C y 2D).

El floema funcional tiene una disposición difusa, presenta escasas fibras sin orientación determinada o apenas estratificada y es atravesado por radios 1-2-(5)-seriados con notable dilatación de su extremo distal. Las células radiales, de tamaño desigual, tienen paredes delgadas y espacios intercelulares; contienen abundantes drusas y cristales poliédricos de oxalato de calcio (Figura 2C). Esta especie se caracteriza por sus células laticíferas conspicuas dadas por su tamaño y el color rojo; sus paredes son más gruesas que las de las células del parénquima circundante, y tienen bordes irregulares y derivaciones intrusivas (Figuras 2E, 2F y 3H). Son variables en número, 29-45 por mm^2 , pueden observarse parcial o totalmente llenos de látex rojo y se hallan dispersos en toda la corteza.

Respecto de la orientación y la distribución de las células secretoras de látex o laticíferos, no se observa un patrón específico, aunque son más numerosos en la región del floema secundario de la

Figura 2.- *Croton urucurana*

Sección transversal: **A:** súber; **B:** corteza interna; **C:** detalle de radio con cristales; **D:** detalle de esclereidas con cristales incluidos. Sección longitudinal: **E:** tangencial; **F:** radial. Elementos macerados: **G:** laticífero (**la**) y fibra (**f**). Escalas: **A-D:** 10 µm; **B, C, F y G:** 50 µm; **E:** 100 µm.

corteza interna. El espesor de la corteza interna varía entre 5 y 7 mm (Figura 3A).

c) *Macerado de corteza*

En el análisis del material macerado, se ponen de manifiesto los siguientes tipos celulares:

1. Células de súber

Tienen forma poligonal, cuadrangular y rectangular en la sección transversal y engrosamiento leve y homogéneo en sus paredes celulares (Figuras 2A y 3E); sus dimensiones promedio son de $30,00 \pm 0,28$ μm de lado, las cuadrangulares, y $40,00 \pm 1,43$ μm x $10,00 \pm 0,22$ μm , las rectangulares. En la superficie, las células suberosas se observan poligonales, perfectamente trabadas entre sí y con un diámetro que oscila entre $20,00 \pm 7,35$ μm y $40,00 \pm 3,12$ μm .

2. Parénquima axial

Comprende las células del parénquima floemático; son alargadas longitudinalmente con morfología variada y campos de puntuaciones (Figura 3F). Sus dimensiones oscilan entre $10,70 \pm 1,64$ μm x $50,30 \pm 4,33$ μm y $20,00 \pm 2,67$ μm x $100,30 \pm 3,81$ μm .

3. Radios floemáticos

Se hallan constituidos por células parenquimáticas procumbentes, de paredes poco engrosadas y con escasos espacios intercelulares. Son homogéneos, uniseriados en la proximidad del cambium, y tangencialmente dilatados en la región distal. Contienen cristales poliédricos, microcristales y drusas de oxalato de calcio (Figuras 2C y 3G). La altura de los radios oscila entre 3-20 células en los unicelulares, y 5-40 células en los pluricelulares; el ancho varía entre 1-5 células. Las dimensiones promedio de sus células varían entre: $20,00 \pm 7,58$ μm x $60,00 \pm 4,33$ μm y $15,00 \pm 4,38$ μm x $35,00 \pm 3,13$ μm .

4. Idioblastos cristalíferos

Se hallan distribuidos escasamente en el parénquima cortical y floema secundario, y muy abundantes en el parénquima radial. Incluyen oxalato de calcio en forma de drusas (Figura 3C), con tamaños entre $10,00 \pm 0,25$ y $20,00 \pm 1,22$ μm , y cristales poliédricos de $40,00 \pm 10,34$ μm (Figura 3B).

5. Elementos esclerenquimáticos

Numerosas braquiesclereidas y macroesclereidas

pueden observarse aisladas, agrupadas entre sí, o a veces, asociadas a las fibras. Las braquiesclereidas alcanzan un diámetro de $40,00 \pm 2,18$ μm y las macroesclereidas longitudes de $80,00 \pm 10,76$ y $160,00 \pm 8,45$ μm . Están concentradas principalmente en la corteza y escasamente distribuidas en el floema secundario; con frecuencia estas células contienen uno o dos cristales poliédricos (Figura 3D). Las fibras libriformes se observan aisladas o reunidas en pequeños grupos y muestran diferentes aspectos y tamaños, la mayoría son muy finas y largas, con paredes medianamente delgadas, puntuaciones simples y dimensiones entre $1.000,00 \pm 84,30$ μm y $2.500,00 \pm 96,03$ μm de longitud x $20,00 \pm 2,32$ μm de latitud (Figura 3I).

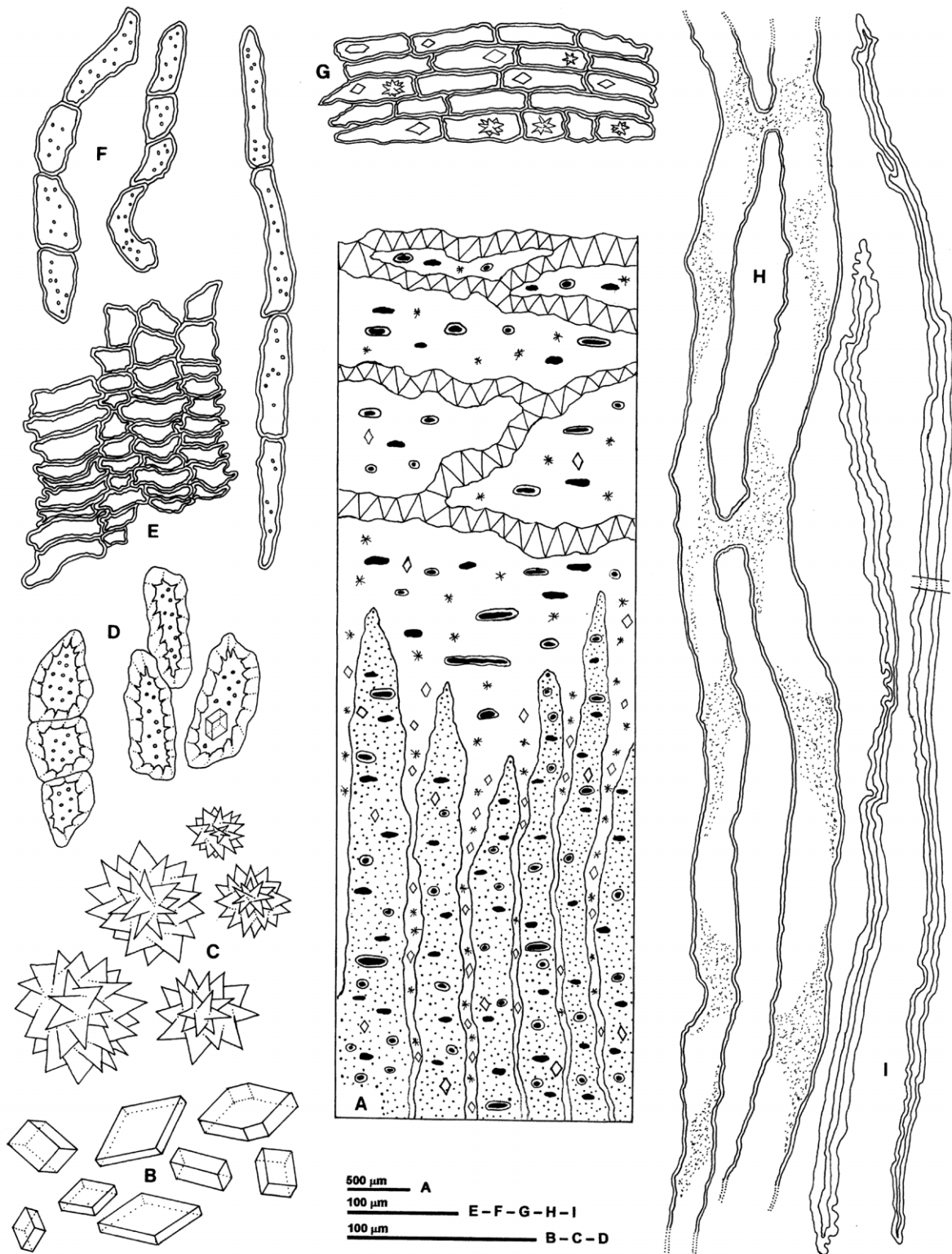
6. Células secretoras

Son laticíferos no articulados, ramificados. Su diámetro promedio varía entre 30-40 μm (Figuras 2G y 3H).

Discusión y conclusión

El género *Croton* cuenta en América con unas 400 especies, de las cuales 5 producen látex color rojizo: *C. lechleri* Müll. Arg., *C. sordidus* Benth., *C. urucurana* Baill., *C. draco* Schltdl. y *C. xalapensis* Kunth. La mayor extracción de látex se obtiene entre la madrugada y las primeras horas de la mañana a través de incisiones efectuadas en la corteza de árboles adultos (mayores a 10-12 años) cuyos tallos deben tener como mínimo unos 35 cm de diámetro (Forero Pinto y col., 2000). El espesor de la corteza es un carácter propio de la especie y está altamente influenciado por los factores ambientales. El número de peridermis acumuladas en el ritidoma es indicativo de algunas condiciones del medio; cuando el vegetal requiere de una mayor protección ante condiciones extremas, se acumulan mayor número de capas protectoras de súber, hasta un límite característico de cada especie (Roth, 1981).

Con referencia a los cambios cuantitativos durante el desarrollo de la corteza, se destaca el aumento continuo de la corteza total con la edad, hasta alcanzar un máximo. La corteza externa o muerta se incrementa en espesor con la edad al igual que la corteza total, por estar altamente correlacionadas (Roth, 1981; Trockenbrodt, 1994; Roth y Giménez Bolzón, 1997).

Figura 3.- *Croton urucurana*

Sección transversal de la corteza: **A:** representación esquemática según Metcalfe & Chalk. Macerado de corteza: **B-C:** drusas y cristales poliédricos de oxalato de calcio; **D:** braqui y macrosclereidas; **E:** súber en sección transversal; **F:** parénquima axial; **G:** parénquima de radio; **H:** laticíferos no articulados ramificados; **I:** fibras floemáticas.

En general, la producción de células de súber supera ampliamente a la de las células felodérmicas; las primeras pueden ser muy variables en la constitución de sus paredes.

En *C. urucurana* se observan estratos celulares con escaso depósito de material graso y ceras en sus paredes. La felodermis, como carácter común, es pluriestratificada, poco diferenciable del parénquima cortical y probablemente, de acuerdo

con lo informado por Martin y Crist (1970), brinda cierta protección contra agentes patógenos, el calor y la desecación. La corteza viva o el floema activo es poco variable durante la vida del vegetal; ello se interpreta como una respuesta a la necesidad de un volumen de tejido floemático determinado para realizar el movimiento de azúcares. Se observó en *C. urucurana* una disposición triangular del floema secundario, con sus vértices orientados hacia el

Tabla 1.- *Croton urucurana*. Cuadro de caracteres cualitativos, morfológicos y micrográficos

<i>Caracteres exomorfológicos</i>	
<p>Superficie externa de la corteza del tallo y de las ramas laterales desarrolladas de color pardo grisáceo, poco rugosa, con finas estrías longitudinales. Tiene abundantes lenticelas suberificadas; es muy poco desprendible. Superficie interna de color castaño amarillento, suavemente estriada longitudinalmente. Presenta fractura entera, olor aromático y sabor ligeramente amargo. Espesor total: (depende de la madurez del tallo) varía entre 2-12 mm.</p>	
<i>Caracteres endomorfológicos</i>	
Corteza externa	<p>Constituida por 3-5 peridermis dispuestas en forma escamosa o imbricada y formadas, cada una, por 3-10 estratos de células suberosas de diferentes dimensiones, que alternan con tejido parenquimático cortical y escaso floema no funcional. Células de súber homogéneas, comprimidas radialmente y de paredes con muy escaso engrosamiento. Dimensiones promedio: $30 \pm 0,28 \mu\text{m}$ de lado las cuadrangulares; $40 \pm 1,43 \mu\text{m} \times 10 \pm 0,22 \mu\text{m}$ las rectangulares. En superficie, diámetro promedio entre $20 \pm 7,35 \mu\text{m}$ y $40 \pm 3,12 \mu\text{m}$. Felodermis única y pluriestratificada. Espesor: 3-5 mm.</p>
Corteza interna	<p>Parénquima axial. Células del parénquima cortical y floemático, alargadas longitudinalmente con morfología variada y campos de puntuaciones. Sus dimensiones oscilan entre: $10,7 \pm 1,64 \mu\text{m} \times 50,3 \pm 4,33 \mu\text{m}$ y $20 \pm 2,67 \mu\text{m} \times 100,3 \pm 3,81 \mu\text{m}$.</p> <p>Radios floemáticos. Células parenquimáticas procumbentes, de paredes poco engrosadas y escasos espacios intercelulares. Radios homogéneos, uniseriados en la proximidad del cambium y tangencialmente dilatados en la región distal. Contienen cristales poliédricos y drusas de oxalato de calcio. Altura de los radios: 3-20 células en los unicelulares, y 5-40 células en los pluricelulares; el ancho varía entre 1-5 células. Dimensiones promedio de sus células: $20 \pm 7,58 \mu\text{m} \times 60 \pm 4,33 \mu\text{m}$ y $15 \pm 4,38 \mu\text{m} \times 35 \pm 3,13 \mu\text{m}$.</p> <p>Idioblastos cristalíferos. Distribuidos escasamente en el parénquima cortical y floema secundario, y muy abundantes en el parénquima radial. Incluyen drusas de oxalato de calcio cuyos tamaños oscilan entre $10 \pm 0,25$ y $20 \pm 1,22 \mu\text{m}$, y cristales poliédricos de $40 \pm 10,34 \mu\text{m}$.</p> <p>Elementos esclerenquimáticos. a. Braquiesclereidas y macrosclereidas aisladas, agrupadas entre sí o asociadas a las fibras. Las primeras alcanzan un diámetro de $40 \pm 2,18 \mu\text{m}$ y las segundas, longitudes de $80 \pm 10,76$ y $160 \pm 8,45 \mu\text{m}$. Se localizan en la corteza y escasamente distribuidas en el floema secundario; con frecuencia contienen uno o dos cristales poliédricos. b. Fibras libriformes aisladas o reunidas en pequeños grupos, con diferentes aspectos y tamaños, paredes medianamente delgadas, puntuaciones simples y dimensiones entre $1.000 \pm 84,30 \mu\text{m}$ y $2.500 \pm 96,03 \mu\text{m}$ long. $\times 20 \pm 2,32 \mu\text{m}$ lat.</p> <p>Células secretoras. Laticíferos no articulados, ramificados, bordes irregulares y derivaciones intrusivas. Número variable: 29-45/ mm^2; parcial o totalmente llenos de látex rojo, dispersos en toda la corteza, sin patrón definido de orientación, abundantes en el floema secundario. Diámetro promedio: 30-40 μm.</p> <p>Espesor: 5-7 mm</p>

exterior debido a una marcada proliferación celular, producida por divisiones periclinales y anticlinales de las células parenquimáticas de los radios primarios, sobre todo en las porciones distales, comprimiendo gradualmente al floema funcional que conforma la corteza interna.

En sus estudios acerca de la estructura anatómica de la corteza de árboles tropicales, Roth (1981) reconoce la disposición de las fibras como el criterio de mayor valor diagnóstico, especialmente en lo concerniente a las secciones transversales, un carácter que es sumamente útil, incluso desde su exomorfología utilizando microscopios estereoscópicos. En el floema funcional de *C. urucurana* se observó una estratificación discontinua y tangencial de los elementos esclerenquimáticos, fibras y esclereidas. Con respecto a las drusas y los cristales poliédricos de oxalato de calcio, se observaron apenas dispersos en el parénquima cortical, mientras que se destacan como muy abundantes solo en los radios. Sus laticíferos o células secretoras de látex de color rojo, llenas parcial o totalmente, son característicos de esta especie.

Farías y col. (2009) informó diferencias significativas en el número de laticíferos en *C. draco* según el sitio (tallo vs. ramas) donde se localizan, pero no observaron variantes respecto de su diámetro.

Rudall (1994) informó que la cantidad de laticíferos varía ampliamente en el género *Croton*; indicó que son menos abundantes en los tallos añosos que en los jóvenes y señala además, que esa variación puede verse influenciada por el entorno.

Nuestros resultados coinciden con estas observaciones, ya que las cortezas de las ramas tienen densidades más altas de laticíferos que las de los tallos, y también se mantienen esos valores para individuos de zonas más tropicales: humedad, precipitación y temperatura mayores con respecto a los hallados en los bosques semidecíduos. Dado que el diámetro de los laticíferos se mantiene constante, una densidad alta aumenta la producción de látex en la corteza de las ramas. En vista de estas diferencias, sería conveniente analizar esos parámetros en otras estructuras (hoja, raíz, flor) para complementar los resultados presentados aquí, para la corteza.

Del análisis de los resultados obtenidos se concluye que la especie aquí estudiada puede ser identificada mediante una combinación de caracteres cualitativos, morfológicos y micrográficos según se detallan en la tabla 1.

Referencias bibliográficas

- Bacigalupo, N.M. (2005). "*Euphorbiaceae*" en: Burkart, A. (ed.) *Flora Ilustrada de Entre Ríos (Argentina)* Tomo VI, Parte IVb. Colec. Científica INTA. Buenos Aires: 131-135.
- Boodle, L. (1916). "A method of macerating fibres". *Roy. Bot. Gard., Kew. Bull. Misc. Inform.* 4: 108-110.
- Del Arco Aguilar, M.J. y Smith, B.A. (1996). "Systematic distribution of foliar trichome types in *Croton* (Euphorbiaceae)". *Bot. J. Linn. Soc.* 121: 41-57.
- Dimitri, M.J. (1988). *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. Tomo I, Vol. 2°. Acme, Buenos Aires: 684-685.
- Dizeo de Strittmater, C. G. (1979). "Modificación de una coloración Safranina Fast Green". *Bol. Soc. Arg. Bot.* 18: 121-122.
- Esmeraldino, L.E.; Veronese, E.; Ticli, F.; Franco, J.; Cintra, A.; Sampaio, S. (2003). "Inhibition of *Bothrops jararacá* venom hemorrhagic activity by fraction EA2MB from *Croton urucurana* Baillon". *J. Venom. Anim. Toxins* 9: 489.
- Esmeraldino, L.E.; Souza, A.M.; Sampaio, S.V. (2005). "Evaluation of the effect of aqueous extract of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae) on the hemorrhagic activity induced by the venom of *Bothrops jararaca* using new techniques to quantify hemorrhagic activity in rat skin". *Phyto-medicine* 12: 570-576.
- Farías, F.; Simpson Williamson, J.; Valdés Rodríguez, S.; Angeles, G.; Olalde Portugal, V. (2009). "Bark anatomy in *Croton draco* var. *draco* (Euphorbiaceae)". *Am. J. Bot.* 96(12): 2155-2167.
- Forero Pinto, L.E.; Chávez Rodríguez, J.F.; Yesid Bernal, H. (2000). Agrotecnología para el cultivo de sangre de grado. En: *Fundamentos de Agrotecnología de Cultivo de Plantas Medicinales Iberoamericanas*. Martínez A., Yesid Bernal H., Cáceres A. (Eds.). Publicación del Convenio Andrés Bello (CAB) y el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED). Subprograma X. Santafé de Bogotá, D.C.: 172-186.
- Gupta, D.; Bleakley, B.; Gupta, R.K. (2008). "Dragon's blood: Botany, chemistry and therapeutic uses". *J. Ethnopharmacol.* 115: 361-380.

- Gurgel, L.; Martins, D.; Mattos, P.; Rao, V. (2002). "Estudo da atividade do latex do *Croton urucurana* Baill. sobre o trânsito gastrointestinal de camundongos". *Rev. Bras. Farmacogn.* 12: 42-44.
- Gurgel, L.; Sidrim, J.; Martins, D.; Cechinel Filho, V.; Rao, V. (2005). "In vitro antifungal activity of dragon's blood from *Croton urucurana* against dermatophytes" *J. Ethnopharmacol.* 97: 409-412.
- Junikka, L. (1994). "Survey of English macroscopic bark terminology". *IAWA Journal* 15: 3-45.
- Martin, R.E.; Crist, J. B. (1970). Elements of bark structure and terminology. *Wood Fiber* 2: 269-279.
- Martínez Crovetto, R. (1981). *Plantas utilizadas en medicina popular en el NO de Corrientes*. Fund. M. Lillo. Ministerio Cultura y Educación. Tucumán, Argentina: 64.
- Metcalf, C.R.; Chalk, L. (1957). *Anatomy of the Dicotyledons*. Vol. II. Clarendon Press, Oxford: 1207-1235.
- Metcalf, C.R.; Chalk, L. (1972). *Anatomy of the Dicotyledons*. Vol. I. Clarendon Press, Oxford.
- Milo, B.; Risco, E.; Vila, R.; Iglesias, J.; Cañigual, S. (2002). "Characterization of a fucoarabino-galactan, the main polysaccharide from the gum exudate of *Croton urucurana*". *J. Nat. Prod.* 65: 1143-1146.
- Noldin, V.; Martins, D.; Lima, J.; Delle Monache, F.; Cechinel Filho, V. (2003). "Análise dos constituintes químicos do látex de *Croton urucurana* Baill". Abstract P-122. IV Jornada Catarinense de Plantas Mediciniais. Itajaí, S.C., Brasil.
- Pensiero, J.F.; Gutiérrez, H.F.; Luchetti, A.M.; Exner, E.; Kern, V.; Brnich, E.; Oakley, L.; Prado, D.; Lewis, J.P. (2005). *Flora vascular de la provincia de Santa Fe. Claves para el reconocimiento de familias y géneros. Catálogo sistemático de especies*. Ediciones UNL. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe: 115, 249.
- Peres, M.T.L.P.; Delle Monache, F.; Bella Cruz, A.; Pizzolatti, M.G.; Yunes, R.A. (1997). "Chemical composition and antimicrobial activity of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae)". *J. Ethnopharmacol.* 56(3): 223-226.
- Peres, M.T.L.P.; Delle Monache, F.; Pizzolatti, M.G.; Santos, A.; Beirith, A.; Calixto, J.; Yunes, R.A. (1998). "Analgesic compounds of *Croton urucurana* Baillon. Pharmac-chemical criteria used in their isolation". *Phytotherapy Res.* 12: 209-211.
- Ratera, E.L.; Ratera, M.O. (1980). *Plantas de la Flora argentina empleadas en Medicina Popular*. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 143.
- Roth, I. (1981). *Structural Patterns of Tropical barks*. Encyclopedia of Plant Anatomy. 609 pp.
- Roth, I. (2005). "Estructura anatómica de la corteza de algunas especies arbóreas venezolanas de Euphorbiaceae". *Acta Botanica Venezuelica* 28: 461-502.
- Roth, I.; Giménez Bolzon, A. (1997). Argentine Chaco Forests. Dendrology, tree structure, and economic use. 1-The Semid-arid Chaco. *Encyclopedia of Plant Anatomy*. Gerbruder Borntraeger, Berlin, Stuttgart. 180 pp.
- Rudall, P. (1987). "Laticifers in Euphorbiaceae-A conspectus". *Bot. J. Linn. Soc.* 94: 143-163.
- Rudall, P. (1994). "Laticifers in Crotonoide (Euphorbiaceae): Homology and evolution". *Ann. Missouri Bot. Garden* 81: 270-282.
- Salatino, A.; Faria Salatino, M.L.; Negri, G. (2007). "Traditional uses, Chemistry and Pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae)". *J. Braz. Chem. Soc.* 18(1): 11-33.
- Solereder, H.P. (1908). *Systematic anatomy of the Dicotyledons*. Vol. II. Clarendon Press, London: 1047-1053.
- Trockenbrodt, M. (1990). "Survey and discussion of the terminology used in bark anatomy". *IAWA Bull., new series* 11: 141-166.
- Trockenbrodt, M. (1994). "Quantitative change of some anatomical characters during bark development in *Quercus robur*, *Ulmus glabra*, *Populus tremula* and *Betula pendula*". *IAWA Bull.* 15(4): 3.
- Wolf Cordeiro, K.; Pinto, L.A.; Nazari Formagio, A.S.; Faloni de Andrade, S.; Leites Kassuya, C.A.; de Cassia Freitas, K. (2012). "Antiulcerogenic effect of *Croton urucurana* Baillon bark". *Journal of Ethnopharmacology* 143(1): 331-337.

Parámetros micrográficos para la identificación de hojas, corteza y leño de *Picrasma crenata* (Vell.) Engler. (Simaroubaceae)

María N. Campagna^{1*}, Osvaldo Di Sapio¹ y Martha Gattuso¹

¹ Cátedra de Botánica, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Suipacha 531 (S2002LRK) Rosario, Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: mcampagn@fbioyf.unr.edu.ar.

Resumen

Picrasma crenata (Vell.) Engler (Simaroubaceae) es un árbol de bajo porte conocido popularmente como “palo amargo” o “quina brava”, que habita en el noreste de la Argentina, principalmente en la provincia de Misiones. En la medicina tradicional el leño se emplea en forma de infusión, como antimalárico, antipalúdico, antisifilítico y tónico; se lo utiliza también como insecticida en la elaboración de tinturas alcohólicas como sustituto de *Quassia amara*, para el tratamiento de la pediculosis. El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio morfoanatómico de la corteza, el leño y las hojas de *P. crenata* con el fin de obtener caracteres de valor diagnóstico que permitan una correcta identificación de la especie. Se efectuaron cortes transversales y longitudinales de material fresco que fue incluido en parafina de los tres órganos de la planta, y se colorearon con Safranina-Fast Green y Violeta de Cresilo. Los resultados mostraron que: la corteza se halla constituida por 5-7 peridermis de disposición imbricada, el floema se halla interrumpido por numerosos radios muy sinuosos y torsionados; el leño, de color blanco amarillento, tiene crecimiento semianular a anular con porosidad difusa no uniforme; las hojas son compuestas, sus folíolos oval elípticos, alternos, presentan mesófilo dorsiventral, estomas anomocíticos solo en la epidermis inferior, tricomas simples y una cavidad esquizolisígena en el parénquima central del nervio medio.

Micrographic parameters for the identification of *Picrasma crenata* (Vell.) Engler (Simaroubaceae)

Summary

Picrasma crenata (Vell.) Engler (Simaroubaceae) is a small tree popularly named as “palo amargo” or “quina brava”; it grows in the Northeast of Argentina, mainly in Misiones Province. In folk medicine, wood’s infusion is used against malaria, paludism, syphilis, and as a tonic. It is also used as *Quassia amara*’s substitute in the elaboration of hidroalcoholics solutions for the treatment of pediculosis. The aim of the present work was to make a morphoanatomic study of *P. crenata*’s leaves, bark and wood, in order to provide characters of diagnostic value which will allow a correct identification of the species. Longitudinal and transversal cuts were made with fresh and paraffin included materials. The cuts were stained with Safranin-Fast Green and Cresyl Violet. The results were: rhytidome composed of 5 to 7 overlapping periderms; non-collapsed phloem disrupt by many 1 to 5 seriates rays, very sinuous: heartwood yellow-whitish, wood ring porous with growth

Palabras clave: *P. crenata* - Simaroubaceae - micrografía.

Key words: *P. crenata* - Simaroubaceae - micrography.

ring boundaries distinct; leaves composed, oval to elliptical leaflets alternate, dorsiventral mesophyll; anomocytic stomata confined to the lower epiderm, unicellular trichomes and a secretory cavity in the central parenchyma of median nerve.

Introducción

Picrasma crenata (Vell.) Engl. es un árbol de bajo porte, de 2 a 6 m de altura, de corteza castaña y rugosa. Pertenece a la familia Simaroubaceae, caracterizada por la presencia de compuestos amargos en sus leños y cortezas; de allí la etimología del nombre de género *Picrasma*: del griego *picrasmos*, alude al sabor amargo de la madera. El género originario de Asia y América tropical, está constituido por 12 especies. En la Argentina se encuentra una especie: *P. crenata* (Pirani, 1987; Xifreda y Seo, 2006).

Es conocido popularmente como “palo amargo” o “quina brava” y crece en la Provincia Biogeográfica Paranaense (Misiones), entre los 0 y 500 m sobre el nivel del mar, y se extiende por América tropical, en Bolivia, Brasil y Paraguay.

Este árbol, de corteza rugosa con gran cantidad de lenticelas, tiene hojas compuestas, con 9 a 19 folíolos, de 4 a 10 cm, opuestos, alternos, membranáceos, oval-elípticos con el margen ligeramente crenado o aserrado.

Sus inflorescencias son axilares, corimbosas. Las flores son verduscas, con 4 a 5 sépalos libres, oblongos, de 1 mm de longitud, 4 a 5 pétalos oblongos con un ápice agudo. Las flores estaminadas tienen 4 a 5 estambres alternipétalos, con filamentos subulados, insertos en la base de un ginóforo 4 a 5 lobulado, con 4 a 5 pistilodios rudimentarios. Las flores pistiladas tienen 4 a 5 estaminodios cortos; carpelos 2 a 5 sobre un ginóforo anular, unidos por los estilos, con estigmas libres y divergentes, con un óvulo basal en cada carpelo.

El fruto es una drupa con 1 a 2 o 3 carpidios situados en el ginóforo desarrollado, engrosado y ennegrecido, carpidios ovoides, de color castaño, y de aspecto rugoso cuando están secos (Pirani, 1987; Xifreda y Seo, 2006).

En la medicina tradicional argentina, el leño se emplea en forma de infusión, como antimalárico, antipalúdico, antisifilítico y tónico (Toursarkissian, 1980). Es localmente utilizado como sustituto de *Quassia amara* y *Picrasma exelsa* en la elabora-

ción de tinturas alcohólicas para el tratamiento de la pediculosis (Di Sapio y col., 2012).

En las obras clásicas de la bibliografía consultada sobre la anatomía de los órganos vegetativos de las Dicotiledóneas (Solereeder, 1908; Metcalfe y Chalk, 1972) no se hallaron datos de la especie aquí estudiada, si se menciona el género *Picrasma*. La anatomía del leño de las Simaroubáceas ha sido estudiada por varios autores, como Solereeder en 1908, y posteriormente, Webber en 1936, que realizó un exhaustivo estudio taxonómico basado en caracteres anatómicos del leño de diferentes especies de la familia usando la clasificación de Engler y Prantl (1931). O’ Donnell (1937) describió caracteres específicos del leño de tres Simaroubáceas argentinas: *Castela coccinea*, *Alvaradoa amorphoides* (*A. subovata*) y *Picraena* “palo amargo” (*P. crenata*). Heimsch (1942) y Metcalfe y Chalk (1950; 1972) describieron características anatómicas de los leños y las cortezas de distintos géneros de la familia Simaroubaceae –entre ellos, *Picrasma*– pero sin especificar la especie. Wheeler (1989) trabajó con los leños de distintas especies de *Picramnia*, *Castela* y *Picrasma*, y desarrolló una base de datos con sus caracteres anatómicos.

Respecto a los caracteres microscópicos de las cortezas, Solereeder (1908) y Metcalfe y Chalk (1950), solo se circunscriben a la especie *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle de la familia Simarubaceae, sobre la base de las descripciones de Müller (1908). Existen micrografías analíticas del leño de *P. crenata* (Oliveira y col., 1991) pero carecen de estudios analíticos de la corteza y las hojas. Es de destacar que son escasas las especies vegetales nativas de la Argentina, y aun de Latinoamérica, que hayan sido estudiadas desde este punto de vista morfoanatómico, y faltan también estudios micrográficos, requisito indispensable para las farmacopeas herbarias de todo el mundo, que permitan un correcto control de calidad de la droga vegetal.

Si bien el órgano usado tradicionalmente es el leño, recientes trabajos de investigación informan distintas actividades biológicas para extractos de la hoja y la corteza de especies pertenecientes a la

familia, especialmente de *Quassia amara*, como es el caso de las actividades larvicida y antimalárica informada para extractos etanólicos de hojas (Evans y Raj, 1991; Ajaiyeoba, 1999), la actividad antiviral VIH y como protector gástrico de extractos acuosos de corteza (Abdel-Malek y col., 1996; Badilla y col., 1998), y las actividades antiedematogénica, analgésica y antiulcerogénica de extractos etanólicos de corteza de *Q. amara* (Toma y col., 2002; 2003).

En trabajos previos realizados con *Picrasma crenata* (Campagna y col., 2011) se evaluaron las actividades antiparasitarias y antioxidantes de extractos de hoja, corteza y leño; resultó que el extracto de corteza es tan activo como el de leño frente a *Tripanosoma cruzi*; el extracto de hojas demostró tener gran capacidad antioxidante.

Por lo previamente expuesto, y dada la importancia de *Picrasma crenata* como sustituto de *Quassia amara*, y a su gran potencial biológico como insecticida (Rodríguez y col., 2008; 2011), antimalárico (De Benedetti y col., 2002) y tónico gástrico (Novello y col., 2008), se hace necesario establecer parámetros micrográficos de análisis, identificación y estandarización, no solo de la parte utilizada en medicina tradicional, sino también de las hojas y la corteza por su potencial como fuente de metabolitos con actividad biológica.

Materiales

Material vegetal

Se examinó material fresco y de los herbarios BAA, MCNS, SF, SI y UNR, que son citados conforme a las siglas respectivas (Holmgren y col., 1990).

Material recolectado y estudiado

Argentina. Prov. Misiones: Dpto. Guaraní. Loc. San Vicente. De cultivo Holman s/n.º; cultivo Establecimiento Platario S.A. 02-I-10; Dpto. Gral. Manuel Belgrano, Loc. Colonia Integración, 15-X-09, Holman; Dpto. Gral. Manuel Belgrano, Loc. Colonia Integración, 20-XII-2009, Holman, B. s/n.º.

Material de herbario de referencia

Argentina. Prov. Misiones: Dpto. Guaraní, (26° 54' 00" S, 54° 18' 00" O), 03-XI-99, Tressens *et al.* 6473 (SI). Dpto. Guaraní, s/fecha, Keller 3812 (Corrientes), Dpto. Iguazú, 21-II-X-10, Rodríguez-1, 27 (SI).

Métodos

Se utilizó material fresco y de herbario; el material fresco se fijó en FAA (alcohol etílico 70°, ácido acético glacial, formaldehído y agua 50:5:30:15) y se hidrató el material de herbario.

Para el estudio de las hojas, se cortaron las láminas, transversalmente en la parte media con micrótopo tipo Minot, previa inclusión en parafina (Gattuso y Gattuso, 2002). Para el análisis de las epidermis, la venación y la micrografía cuantitativa, las láminas foliares se diafanizaron (Strittmatter, 1973) y se determinaron los siguientes parámetros: índice de estomas (Salisbury, 1927), estomas por milímetro cuadrado (Timmerman, 1927), índice de empalizada (Zorning y Weiss, 1925) y pelos simples por milímetro cuadrado; para todas estas medidas se trabajó con objetivo de 40x con un ocular de 10x.

Para la descripción de la arquitectura foliar se utilizó la terminología de Hickey (1973), y para los pelos, Úphof y col. (1962).

Las cortezas y los leños se ablandaron con agua hirviendo adicionada con unas gotas de detergente comercial; luego se cortaron con xilótomo en forma transversal y longitudinal (radial y tangencial) y se maceraron aplicando la técnica de Boodle (1916). Se midió con ocular micrométrico la longitud y el diámetro de los elementos vasales y también la longitud y la latitud de las fibras.

Las coloraciones empleadas fueron Safranina alcohólica 80°, Safranina-Fast-green (Strittmatter, 1979) y Violeta de Cresyl (Strittmatter, 1980). La distribución de los cristales de oxalato de calcio fue analizada utilizando luz polarizada. Para la descripción de los elementos del leño se usó IAWA Committee (1989), y para la corteza, Junika (1994). Las ilustraciones son originales y fueron realizadas con microscopio óptico (MO) Nikon Alphaphot, con tubo de dibujo.

Para los esquemas se siguió la simbología de Metcalfe y Chalk (1950). Las fotomicrografías fueron obtenidas con Microscopio Carl Zeiss Axiolab y el equipo fotográfico, con *software* Scopephoto 3.0 ®. Los detalles de las epidermis en la superficie, las cortezas y los leños fueron observados con microscopio electrónico de barrido (MEB) Leitz AMR 1000.

En el caso de las láminas foliares las muestras fueron fijadas en glutaraldehído al 4% deshidratadas en alcoholes ascendentes; se aplicó punto crítico y

finalmente se metalizó con oro paladio (O'Brien y McCully, 1981). Las observaciones morfológicas se efectuaron con microscopio estereoscópico Nikon SMZ-U ZOOM1:1 con tubo de dibujo.

Para los caracteres anatómicos cuantitativos se calcularon las medias aritméticas (\bar{x}) con su correspondiente desvío estándar sobre 10 campos. Se acondicionaron los ejemplares para la incorporación a los herbarios UNR y de la Cátedra de Farmacobotánica de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (UNR). Las preparaciones histológicas se hallan depositadas en la histoteca de la Cátedra.

Resultados

Descripción macroscópica de la droga

Hojas

Las hojas tiene un pecíolo de 2 a 9 cm, con 9 a 19 folíolos, de 4 a 10 cm, opuestos, alternos, membranáceos, oval-elíptico con el margen ligeramente crenado o aserrado (Figuras 1A, 3A y 3B).

Corteza

La superficie externa de la corteza de ramas jóvenes es de color pardo grisáceo con finas estrías longitudinales (Figura 1B). En las ramas laterales

con crecimiento secundario y añosas, el ritidoma se halla muy desarrollado, poco desprendible, lo que origina una superficie irregular formada por placas rectangulares de tamaños diversos, de color castaño oscuro y escaso depósito de líquenes. La superficie interna es de color pardo amarillento, con leves estrías longitudinales. Presenta fractura fibrosa, es inodora y de sabor amargo.

Leño

En la sección transversal el leño es de color blanco amarillento o amarillo (Figura 1C), con anillos de crecimiento visibles con lupa, delimitados por la formación de bandas tangenciales más claras, correspondientes al parénquima xilemático y frecuentemente mencionados como "falsos" anillos anuales. La porosidad es anular en los tallos añosos, y difusa con tendencia semicircular en los tallos jóvenes. No se observa diferencia entre duramen y albura; el tejido medular es escaso.

Descripción microscópica de la droga

Hojas

-Lámina en vista superficial

La epidermis adaxial presenta células poligonales de paredes anticlinales de contorno sinuoso. No se observan estomas. Presenta escasos pelos simples

Figura 1.- *Picrasma crenata* (Vell.) Engl.



A: hoja; B: corteza; C: leño.

unicelulares que se ubican con mayor densidad sobre las nervaduras y bordes de la lámina (Figuras 2I, 3D y F). La epidermis abaxial tiene cutícula estriada y células de contorno más sinuoso y menor tamaño que las de la epidermis adaxial. Se observan estomas del tipo anomocitos y pelos simples con características similares a los de la epidermis adaxial (Figuras 2A, 2B, 2H, 3E).

-Arquitectura foliolar

La venación es camptódroma, broquidódroma. Tiene de 4 a 5 órdenes de venas, las secundarias son pinadas, mientras que las de orden superior son reticuladas. Las venas marginales forman ojales cerrados con terminaciones vasculares libres. Las areolas son poligonales dispuestas al azar, y coexisten terminaciones vasculares simples y ramificadas, rectas y curvas. La red vascular es de densidad intermedia (Figuras 2C; 3B, C).

Lámina en corte transversal

La epidermis adaxial es uniestratificada, de células rectangulares; por sectores se observa una segunda capa de células de mayor tamaño, constituyendo una epidermis biestratificada discontinua, con cutícula gruesa y lisa (Figuras 2F, 2G, 3H, 3I).

La hoja es hipoestomática. El mesófilo es de estructura dorsiventral, con una hilera de parénquima en empalizada de células cortas y mucilaginosas. El

parénquima esponjoso tiene células dispuestas laxamente que originan amplios espacios intercelulares (Figuras 2F, 2G, 3G, 3I). Se observan a través de todo el mesófilo numerosos idioblastos cristalíferos que contienen drusas y cristales poliédricos de oxalato de calcio. En posición subepidérmica la vena media se halla reforzada por colénquima laminar.

El nervio medio está constituido por 14-15 haces colaterales abiertos dispuestos circularmente y rodeados por una prominente vaina de fibras (Figuras 2D, 3G). En la región parenquimática central se observa un espacio esquizolisígeno y drusas de oxalato de calcio en el parénquima floemático (Figuras 2D, 2E, 2G, 3G).

La epidermis adaxial es uniestratificada y biestratificada por secciones.

El pecíolo en sección transversal es de contorno circular. La epidermis es uniestratificada con cutícula delgada. En posición subepidérmica se observan de 2 a 4 hileras de colénquima laminar. El nervio medio está constituido por numerosos haces vasculares abiertos dispuestos en círculo y rodeados por una vaina de fibras. En el parénquima medular existe un espacio esquizolisígeno y numerosos cristales de oxalato de calcio (Figura 3J).

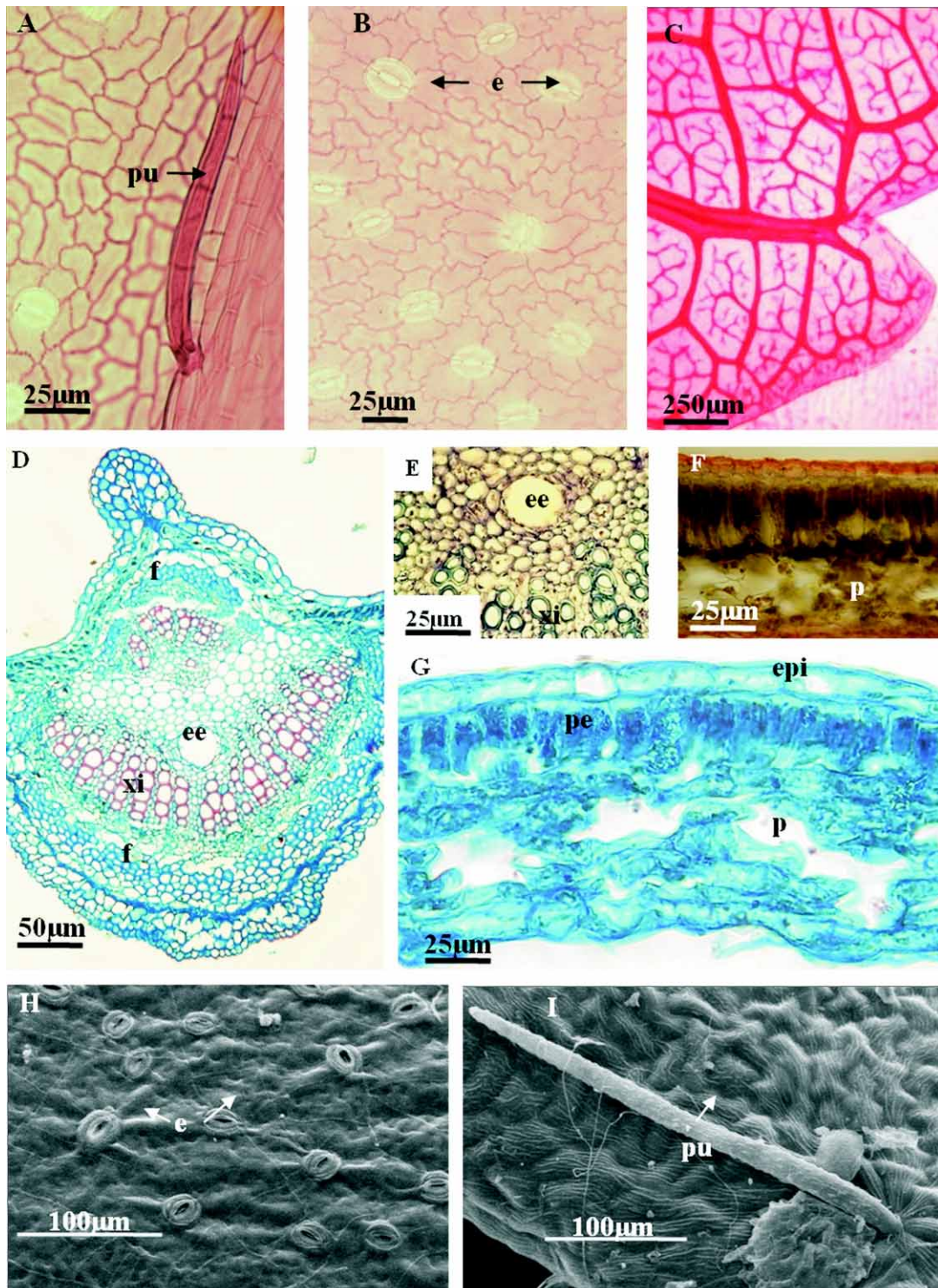
Los caracteres cuantitativos de valor diagnóstico para los folíolos se presentan en la tabla 1.

Tabla 1.- Caracteres cuantitativos de las hojas, corteza y leño de *P. crenata*

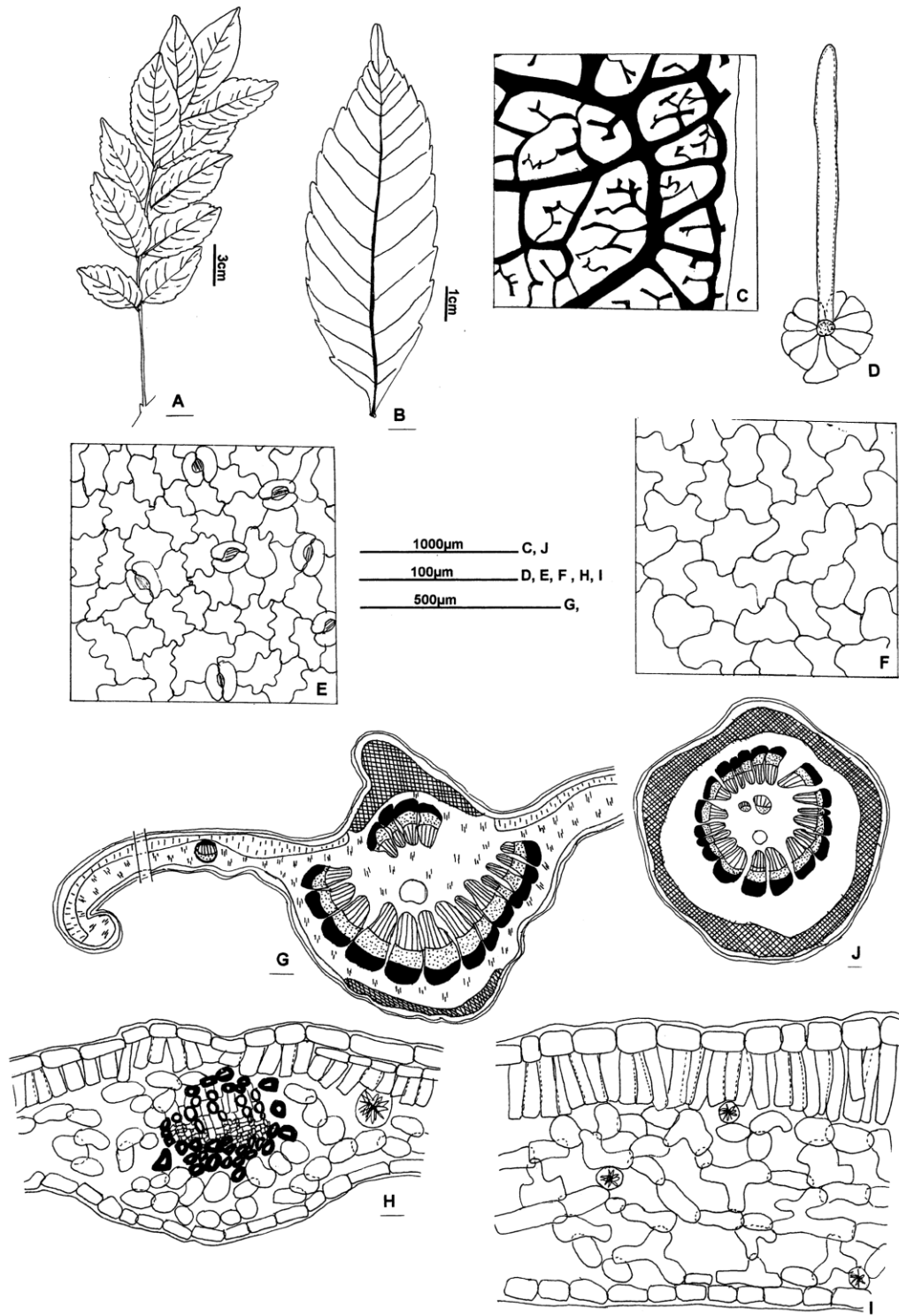
Hojas		Corteza		Leño	
Índice de estomas	13,2 ± 2,3	Latitud cel. súber en transcorte (µm)	15,6 ± 5,3	Longitud elementos del vaso (µm)	280,4 ± 17,1
Estomas por mm ²	270,7 ± 37,5	Long. cel. súber en transcorte (µm)	34,6 ± 7,8	Diámetro elementos del vaso (µm)	28,3 ± 3,4 a 79,4 ± 14,0
Índice de empalizada	6,4 ± 0,8	Diámetro cel. Súber (µm)	32 ± 8	Longitud fibras (µm)	745,6 ± 63,8 a 986,6 ± 50,0
Pelos simples (mm ²)	47,8 ± 5,9		48% 853,0 ± 56,3 (800 - 980)	Latitud de fibras (µm)	18,5 ± 3,6
				Vaso por mm ²	783 ± 128
Longitud de pelos simples (µm)	250,8 ± 59,6	Long. fibras	52% 1123,0 ± 94,8 (1000 - 1280)	Unicel.	7 ± 2
				Pluricel.	20 ± 7

Los resultados se expresan como: porcentaje presente en la muestra, valor promedio y su correspondiente desvío estándar y valores mínimos y máximos obtenidos.

Figura 2.- Fotomicrografía de hoja de *Picrasma crenata*

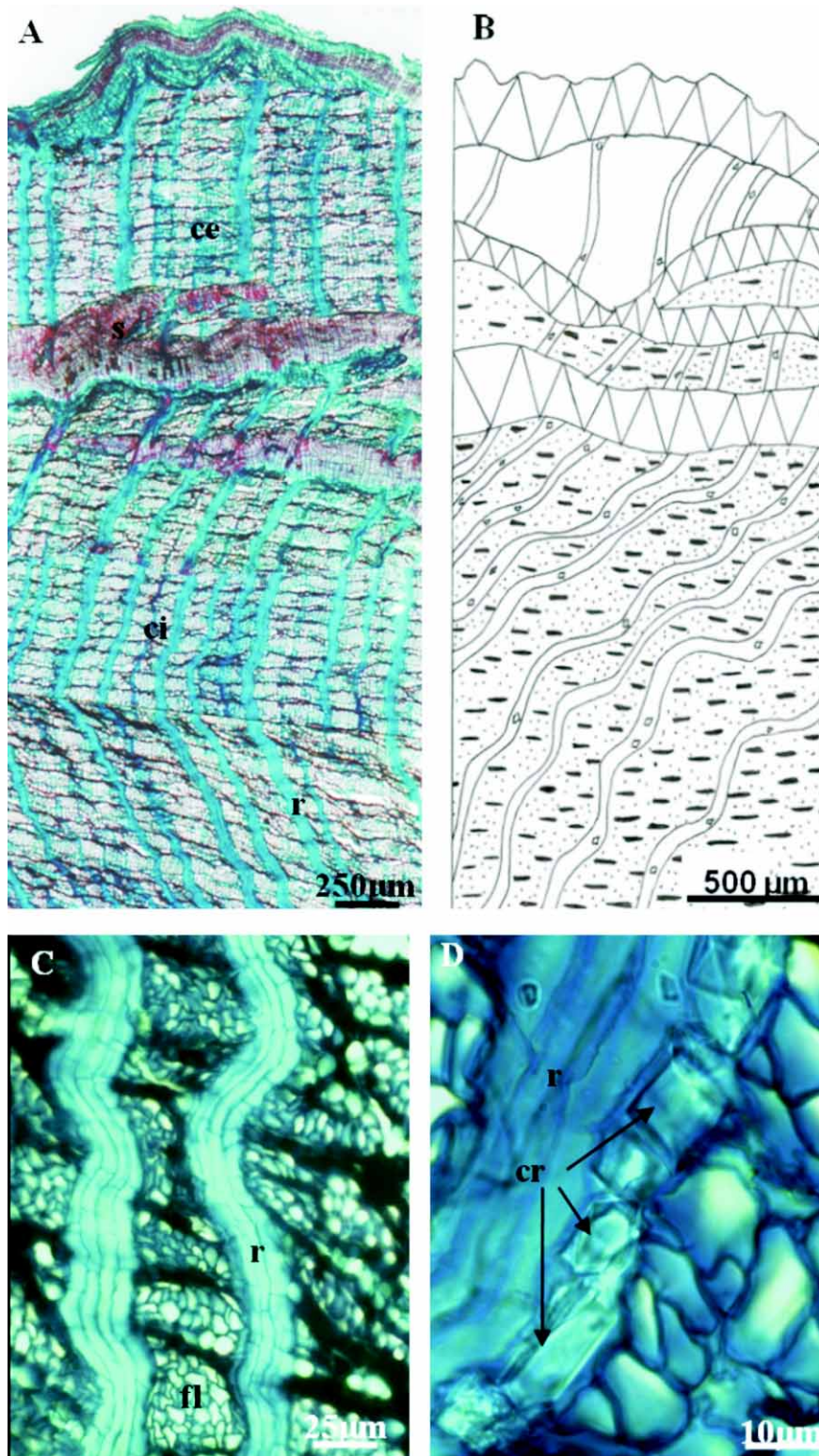


A-G: observación con MO; A-C: vista superficial, A y B: epidermis abaxial, C: arquitectura foliolar; D-G: sección transversal del folíolo; D: nervio medio, E: detalle espacio esquizolisigeno, F: semilimbo, tinción con Sudan IV; G: semilimbo, H-I: observación con MEB, H: epidermis abaxial; I: epidermis adaxial. cu: cutícula; e: estoma; ee: espacio esquizolisigeno; epi: epidermis; f: fibras; p: parénquima esponjoso; pe: parénquima en empalizada; pu: pelo unicelular; xi: xilema.

Figura 3.- Micrografía de hoja de *Picrasma crenata*

A y B: representación esquemática: **A:** hoja; **B:** folíolo; **C-F:** vista superficial: **C:** arquitectura foliolar; **D:** detalle de pelo simple unicelular; **E:** epidermis abaxial; **F:** epidermis adaxial; **G-I:** sección transversal; **G:** representación esquemática del folíolo según Metcalfe y Chalk; **H:** detalle de la porción del semilimbo indicada en G; **I:** detalle de la porción del semilimbo indicada en G; **J:** representación esquemática del pecíolo según Metcalfe y Chalk.

Figura 4.- Fotomicrografía de corteza de *Picrasma crenata*



A-C y D: sección transversal, observación con MO; **A:** vista panorámica; **B:** representación esquemática según Metcalfe y Chalk de la sección transversal; **C y D:** detalle de **A** en corteza interna. **ce:** corteza externa; **ci:** corteza interna; **cr:** cristales de oxalato de calcio; **fl:** floema; **r:** radio floemático; **s:** súber.

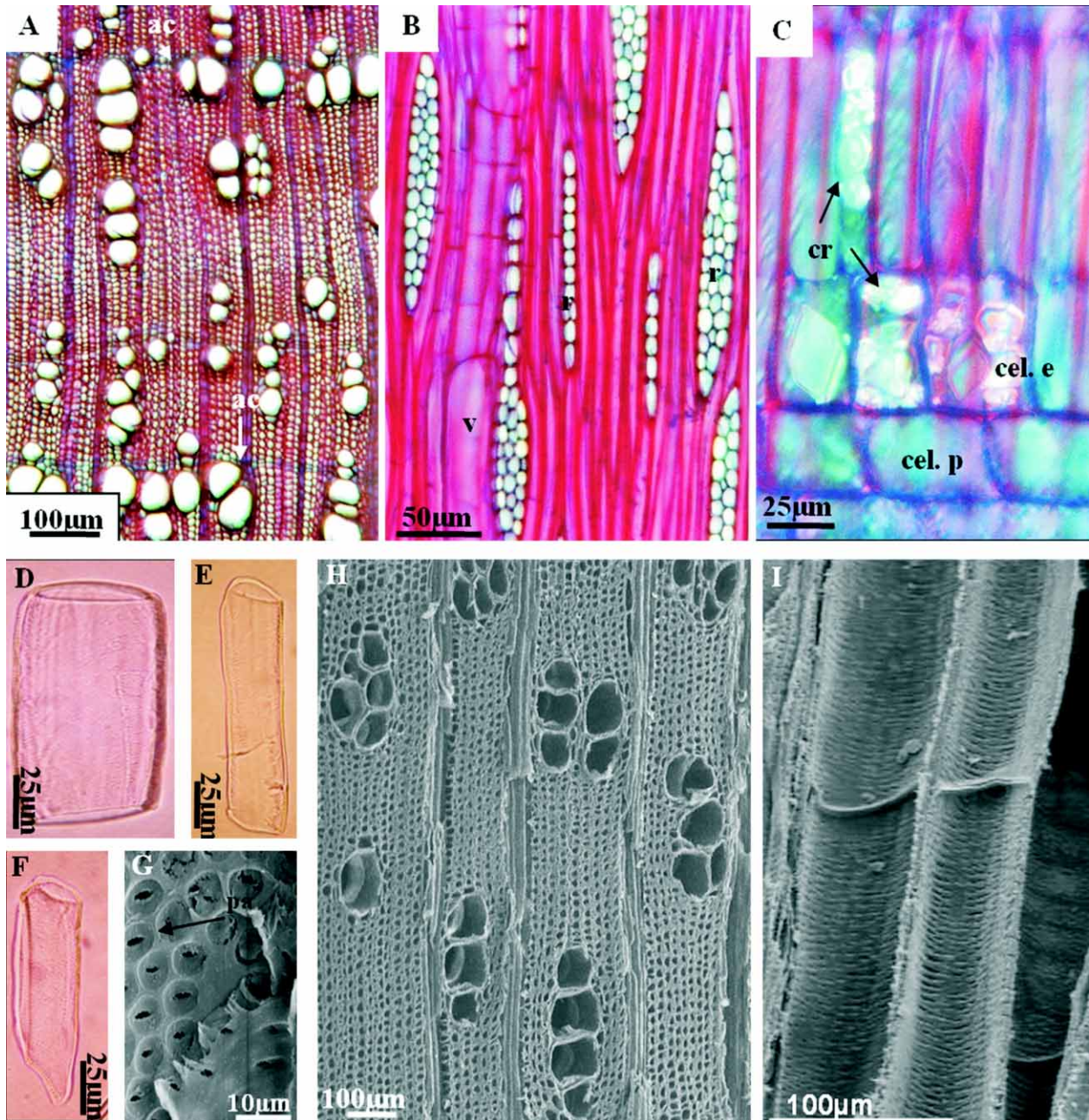
Corteza

-Corteza externa

El ritidoma se halla constituido por 5 a 7 peridermis de disposición escamosa o imbricada, cada una formada por 15 a 40 hileras de células suberosas. Las

células del súber en sección transversal son cuadrangulares a rectangulares con paredes homogéneas, poco engrosadas. En vista superficial son poligonales. La felodermis es pluriestratificada (Figuras 4A, 4B).

Figura 5.- Fotomicrografía del leño de *Picrasma crenata*



A-F: observación con MO. A: sección transversal; B: sección longitudinal tangencial; C: sección longitudinal radial; D-F: material disociado, miembros del vaso; G-H: observación con MEB. G: sección longitudinal, puntuaciones intervasculares areoladas alternas; H: sección transversal; sección longitudinal, vasos. ac: anillos de crecimiento; cel. e: células erectas; cel. p: células procumbentes; cr: cristales de oxalato de calcio; r: radios; v: vaso.

-Corteza interna

El floema funcional se halla interrumpido por numerosos radios, 1 a 7 seriados, muy sinuosos y torsionados (Figuras 4A, 4C). Las fibras floemáticas son escasas, sin orientación determinada o apenas estratificadas.

El parénquima axial contiene drusas de oxalato de calcio dispuestas en series de parénquima septado. El parénquima radial está constituido por células de distintos tamaños, con paredes sin engrosamiento que dejan espacios intercelulares y tienen gran cantidad de cristales poliédricos de oxalato de calcio (Figura 4D). Los caracteres cuantitativos de valor diagnóstico para la corteza se presentan en la tabla 1.

Leño

La porosidad es anular difusa, no uniforme. El crecimiento es semianular a anular (Figuras 5A, H). Los vasos son de contorno circular con placa de perforación simple apenas inclinada, con apéndices inconspicuos y puntuaciones intervasculares areoladas alternas con apertura de la puntuación incluida (Figuras 5D, 5G, I). En el leño temprano los vasos se disponen con distribución radial en su mayoría, solitarios, geminados, racemiformes y múltiples cortos de 2 a 6, y escasos con distribución oblicua. En el leño tardío predominan los vasos solitarios o geminados de menor diámetro (Figuras 5A, 5H).

Las fibras xilares, traqueidas vasicéntricas y fibrotraqueidas interradales presentan paredes laterales, medianamente engrosadas. Las fibras xilares libriformes del tejido mecánico son fusiformes, con puntuaciones simples y de disposición no estratificada.

El parénquima axial se observa en sección transversal como metatraqueal que originan bandas tangenciales estratificadas interrumpidas, con 2 a 4 células por banda de parénquima; o bien, como paratraqueal confluyente, formado por células subrectangulares de paredes de grosor mediano. Contienen cristales poliédricos de oxalato de calcio. El sistema radial es heterogéneo, está compuesto por radios 1 a 5 seriados, con células que contienen abundantes cristales de oxalato de calcio de morfología diversa; las más abundantes son en células procumbentes (Figuras 5B, 5C). Los caracteres cuantitativos de valor diagnóstico para el leño se presentan en la tabla 1.

Discusión

Considerando las observaciones morfoanatómicas realizadas se han podido determinar caracteres morfoanatómicos y micrográficos con valor diagnóstico en leño, corteza y hojas de *Picrasma crenata*. Las hojas son de estructura dorsiventral, hipoestomáticas, con numerosos estomas anomocíticos, rodeados de 4 a 10 células epidérmicas de iguales características que las restantes células epidérmicas, en coincidencia con lo expuesto por Solederer (1908) y Metcalfe y Chalk (1972) para el género. El parénquima esponjoso tiene células dispuestas laxamente que originan amplios espacios intercelulares; Metcalfe y Chalk lo refieren como un parénquima ligeramente lagunar. Se destaca la presencia de un espacio esquizolisígeno en la región parenquimática central del nervio medio y en el pecíolo.

El carácter más sobresaliente de la corteza es la presencia de numerosos radios floemáticos muy sinuosos y torcidos, con gran cantidad de cristales poliédricos y drusas de oxalato de calcio. Como Metcalfe y Chalk, observamos que los radios son 1 a 3 seriados. El mismo autor describe para la familia células de súber con paredes fuertemente engrosadas, pero para *P. crenata* observamos que las células de súber tienen paredes con poco engrosamiento.

Con respecto al leño, la porosidad es de anular a difusa, el crecimiento semianular a anular, y los vasos son de contorno circular con placa de perforación simple y puntuaciones intervasculares areoladas alternas coincidiendo con lo expuesto por O'Donnell (1937) para esta especie.

El parénquima axial se observa como paratraqueal confluyente, con cristales poliédricos de oxalato de calcio y de tipo abundante, como también describe Heimsch (1942). Este autor hace referencia a la gran variabilidad de tipos de radios xilemáticos presentes en la familia, la mayoría de más de 7 células de ancho, pero no destaca la presencia de cristales poliédricos y drusas de oxalato de calcio en las células radiales, a diferencia de lo observado durante este trabajo donde los cristales en las células erectas y en mayor proporción en las procumbentes, son muy numerosos y de gran tamaño. Oliveira y col. (1991) en su micrografía del leño de *P. crenata*, describen la presencia de radios xilemáticos 1 a 3 seriados y de 9 a 11 células

de alto; durante este trabajo se amplió su descripción al considerar la presencia –entre otras características– de radios unicelulares con 5 a 9 células de altura y pluricelulares, con 13 a 27 células de altura.

Conclusión

Los caracteres anatómicos de las hojas, la corteza y el leño de *P. crenata* obtenidos en este trabajo permitirían no solo una correcta identificación morfológica, sino también micrográfica de la especie, facilitando su identificación, aun cuando se encuentre en forma molturada.

Referencias bibliográficas

- Abdel-Malek, S.; Bastien, J.W.; Mahler, W.F.; Jia, Q.; Reinecke, M.G.; Robinson, W.E. Jr.; Shu, Y.H.; Zalles-Asin, J. (1996). “Drug Leads from the Kallawaya Herbalists of Bolivia. 1. Background, rationale, protocol and anti-HIV activity”. *J. Ethnopharmacol.* 50(3): 157-166.
- Ajaiyeoba, E.O., Abalogu, U.I.; Krebs, H.C.; Oduela, A.M.J. (1999). “*In vivo* antimalarial activities of *Quassia amara* and *Quassia undulata* plant extracts in mice”. *J. Ethnopharmacol.* 67(3): 321-325.
- Badilla, B.; Miranda, T.; Mora, G.; Vargas, K. (1998). “Actividad gastrointestinal del extracto acuoso bruto de *Quassia amara* (Simarubaceae)”. *Rev. Biol. Trop.* 46(2): 203-210.
- Boodle, L.A. (1916). “A method of macerating fibres”. *Roy. Bot. Gard., Kew. Bull. Misc. Inform.* 4: 108-110.
- De Benedetti, S.; Muschietti, L.; van Baren, C.; Clavin, M.; Broussalis, A.; Martino, V.; Houghton, P.J.; Warhurst, D.; Steele, J. (2002). “*In vitro* antiplasmodial activity of extracts of Argentinian plants”. *Journal of Ethnopharmacol.* 80: 163-166.
- Di Sapio, O.; Campagna, M.N.; Rodríguez, M.V.; Martínez, M.L.; Gattuso, S.; Cortadi, A.; Gattuso, M. (2012). “Parámetros micrográficos para la identificación de leño, corteza y hoja de *Quassia amara* L. (Simarubaceae)”. *Bol. Lat. y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 11(2): 172-187.
- Evans, D.A.; Raj, R.K. (1991). “Larvicidal efficacy of *Quassia* against *Culex quinquefasciatus*”. *Indian J. Med. Res.* 93: 324-327.
- Gattuso, M.; Gattuso, S. (2002). *Conocimientos Básicos de Técnicas Histológicas en Material Vegetal*. Ed. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas UNR: 62-74.
- Heimsch, T. (1942). “Comparative anatomy of the secondary xylem in the Gruinales and Terebinthales of Wettstein with reference to taxonomic grouping”. *Lilloa* 8: 83-199.
- Hickey, L.J. (1973). “Classification of the architecture of Dicotyledons leaves”. *Am. J. Bot.* 60: 17-33.
- Holmgren, P.K.; Holmgren, N.H.; Barnett, L.C. (eds.) (1990) *Index Herbariorum*. Ed. New York Botanical Garden, New York.
- Junika, L. (1994). “Survey of English Macroscopic Bark Terminology”. *IAWA* 15(1): 3-45.
- Metcalfe, C.R.; Chalk, M. (1972). *Anatomy of the Dicotyledons*. Vol. II Clarendon Press, Oxford, II: 317-326.
- Metcalfe, C.; Chalk, L. (1950). *Anatomy of the Dicotyledons*. Vol. I Clarendon Press, Oxford, London: 317-326.
- Müller, R. (1908). “Zur Anatomie der *Ailanthus*-Rinden”. *Pharm. Praxis* 7: 261-263.
- Novello, C.; Barbosa Bazotte, R.; Bersani-Amado, C.; Marques, L.; Cortez, D. (2008). “Toxicological and Pharmacological Studies of *Picrasma crenata* (Vell.) Engler (Simaroubaceae) in Mice and Rats”. *Lat. Am. J. Pharm.* 27(3): 345-8.
- O’Brien, T.; Mc Cully, M. (1981). *The study of plant structure, principles and selected methods*. Termarcaphi Pty Ltd., Melbourne, Australia: 321.
- O’Donell, C. (1937). “Anatomía comparada del leño de tres Simarubáceas argentinas”. *Lilloa* 1: 263-282.
- Oliveira, F.; Akisue, G.; Kubota Akisue, M. (1991). *Farmacognosia* Ediciones Atheneu Rio de Janeiro: 322-325.
- Pirani, J. (1987). “Simaroubaceae”. *Flora de Paraguay*. Ed. Missouri Botanical Garden. Sant Louis: 7-28.
- Rodríguez, S.; Regonata, M.; Carrizosa, P.; Meilána, J.; Wagner, M.L.; Gurni, A. (2011). “Activity of nonpolar extracts from *Picrasma crenata* (Simaroubaceae) against *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae)”. *Rev. Latinoamer. Quím.* 39: 3-6.

- Rodríguez, S.M.; Moreira, M. I.; Rosana, A.; Giménez, R.A.; Russo, S.; Márquez, A.M.; Ricco, R.A.; Gurni, A.A.; Wagner, M.L. (2008). "Acción insecticida de extractos de *Picrasma crenata* (Vell.) Engl. (Simaroubaceae) en el gorgojo del arroz, *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera, Curculionidae)". *Dominiquezia* 24(2).
- Salisbury, M. (1927). En: Wallis, T.E., 1965. *Manual de Farmacognosia*. De Continental. México: 138.
- Solereder, H.O. (1908). *Systematic anatomy of the Dicotyledonns I*. Claredon Press, London: 857-859.
- Strittmater, C. (1973). "Nueva técnica de diafanización". *Bol. Soc. Arg. Bot.* 15(1): 126 -129.
- Strittmater, C. (1979). "Modificación de una coloración Safranina Fast Green". *Bol. Soc. Arg. Bot.* 18(3-4): 121-122.
- Strittmater, C. (1980). "Coloración con Violeta de Cresyl". *Bol. Soc. Arg. Bot.* 19(1-2): 273-276.
- Timmerman, H.A. (1927). "Stomatal numbers". *Pharm. J. Ser. 4*: 735-742.
- Toma, W.; Gracioso, J. de S.; Andrade, F.D.P. de; Hiruma-Lima, C.A.; Vilegas, W.; Souza Brito, A.R.M. (2002). "Antiulcerogenic activity of four extracts obtained from the bark wood of *Quassia amara* L. (Simaroubaceae)". *Biol. Pharm. Bull.* 25: 1151-1155.
- Toma, W.; Gracioso, J. de S.; Hiruma-Lima, C.A.; Andrade, F.D.P. de; Vilegas, W.; Souza Brito, A.R.M. (2003). "Evaluation of the analgesic and antiedematogenic activities of *Quassia amara* bark extract". *J. Ethnopharmacol.* 85: 19-23.
- Toursarkissian, M. (1980). *Plantas Medicinales Argentinas*. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires: 128.
- Üphof, J.C.; Hummel, K.; Staesche, K. (1962). *Plant hairs*. En: K. Linsbauer (ed.), *Hnadbuch der Pflanzenanatomie* 4(5): 1-292. Gebrüder Borntraeger, Berlín.
- Webber, I.E. (1936). "Systematic anatomy of the woods of the Simarubaceae". *Am. Journal of Botany* 23: 577-587.
- Wheeler, E.A.; Pearson, R.G.; La Pasha, C.A.; Zack, T.; Hatley, W. (1986). "Computer-Aided Wood Identification". *N. Carolina Agricult. Res. Service Bull.* 474.
- Wheeler, E.A.; Baas, P.; Gasson, P.E. (1989). "List of microscopic features for hardwood identification". *IAWA Bull.* 10: 219-332.
- Xifreda, C.; Seo, M. (2006). "138. Simaroubaceae". *Flora Fanerogámica Argentina*, Fascículo 99, Proflora-CONICET: 1-13.
- Zorning, H.; Weiss, G. (1925). "Anatomy of leaves Compositae". *Arch. Pharm. Berl.* 263: 451-470.

Caracteres micrográficos analíticos de hojas, tallos, inflorescencias-flores de *Tagetes lucida* Cav. (Asteraceae – Helenieae)

María L. Martínez, Gabriel Bettucci, Martha Gattuso*, Adriana Cortadi

Farmacobotánica. Área Biología Vegetal. Facultad Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. Suipacha 531, Rosario (S2002LRK), Santa Fe, Argentina.

* Correo electrónico: mgattuso@fbioyf.unr.edu.ar.

Resumen

Tagetes lucida Cav. (Asteraceae) es una especie nativa de América tropical, comúnmente usada en medicina vernácula y también como medicamento fitoterápico. La infusión se emplea como tónico para combatir la tos, dolores de cabeza, fiebre, cólicos, dolores abdominales, enfermedades gastrointestinales, dolor corporal y como emenagoga. Los extractos etanólicos de hojas de *T. lucida* presentan actividad bactericida. El objetivo de este trabajo fue realizar la micrográfica analítica de las partes usadas de esta especie a los fines de la estandarización de la droga cruda. Para ello, se estudió la morfología foliar, la epidermis de la hoja, los estomas, la arquitectura foliar, la estructura interna de hojas, tallos, inflorescencias y flores. En los tallos se han determinado dos tipos de estructuras secretoras coexistentes, conductos y cavidades secretoras de origen esquizógeno; mientras que en las hojas y brácteas involucrales solo encontramos cavidades. Los conductos secretores se caracterizan por presentar escaso diámetro, epitelio secretor uniestratificado y vaina parenquimática. En tanto, las cavidades secretoras son de diámetro conspicuo y epitelio secretor pluriestratificado sin la vaina parenquimática. Esta información es requerida no solo para los procedimientos de identificación que garanticen la utilización de la droga vegetal, sino para el control de calidad exigido en la producción de medicamentos fitoterápicos.

Analytical micrographic characters of leaves, stems, inflorescences-flowers of *Tagetes lucida* Cav. (Asteraceae – Helenieae)

Summary

Tagetes lucida Cav. (Asteraceae) is a native species from Tropical America, commonly used in vernacular medicine, as well as in the form of phytotherapeutic medicines. The infusion of *T. lucida* is used as a tonic, as a remedy for coughs, headaches, fevers, colic abdominal pain, gastrointestinal ailments, body ache and emmenagogue. The presence of bactericidal activity has already been reported for ethanolic extracts of leaves of *T. lucida*. Pharmacognosy studies are required to determine the morphoanatomical and micrographic features for identification and quality control purposes. Several microscopic parameters including leaf epidermis, stomata, leaf architecture and internal structure of leaves, stems, inflorescences-flowers,

Palabras clave: *Tagetes lucida* - caracteres micrográficos - hojas - inflorescencias-flores.

Key words: *Tagetes lucida* - micrographic characters - leaves - inflorescences-flowers.

should be considered. The aims of this work are to establish the macroscopic features and the analytical micrographic characters of the parts used as phytomedicines, aiming to the identification, analysis and standardization of raw drugs. This information is required not only for the identification procedures which assure the use of the vegetal drug, but also for the quality control required for the production of phytotherapeutic medicines.

Introducción

Tagetes lucida Cav. (*T. florida* Sweet; *T. schiedeana* Less.) es una especie perteneciente a la familia Asteraceae, (Tribu Helenieae); nativa de América tropical desde México a Honduras; se la encuentra en bosques de encino y laderas de 1.000 a 2.000 m.s.n.m. Es abundante en la época de lluvia, y desaparece en períodos secos (Nash, 1976). Ha sido también introducida en África occidental, India y la Península Ibérica. Es conocida con el nombre vulgar de “pericón”, “jolomocox”, “ucá”, “i’yá” (Guatemala), “anisillo”, “curucumín”, “hierba anís”, “hierba de San Juan”, “periquillo”, “yiauthli” (México) y “estragón de invierno” (Colombia).

Es una planta herbácea, perenne, de hasta 1 m de alto, con fuerte olor anisado al estrujarse. Sus tallos son erectos, poco ramificados desde la base; las hojas son opuestas simples, sésiles, de base connada, lanceoladas, agudas o atenuadas en el ápice, el margen es finamente serrulado con numerosas glándulas diminutas. Las inflorescencias se disponen en cimas corimbosas terminales. Los involucros son cilíndricos y presentan glándulas. Las flores son liguladas en número de 3, las lígulas son de color amarillo intenso, brillante. Las flores del disco se disponen en número de 5 a 8, las corolas son amarillas y son estrechamente tubulares, infundibuliformes y glabras. Los estambres son exertos. Las ramas estilares son de 1,5 a 2,0 mm de largo. Las flores liguladas y las tubulosas tienen papus. Los aquenios son de 5,0 a 6,0 mm de largo (Figura 1) (Nash, 1976).

En México la infusión de las hojas, tallos aéreos y flores se emplea como tónico para combatir la tos, dolores de cabeza, fiebres, trastornos gastrointestinales, dolor corporal y emenagoga (Browner, 1985; Bye, 1986). También se la usa como insecticida y como planta ornamental. En Guatemala extractos de *T. lucida* se venden como infusión, tintura y elixir (Cáceres, 1996). Estos productos son usados para dolor de estómago, gastritis, y se le

atribuyen propiedades emenagogas (Girón y col., 1991). Se ha demostrado su actividad antimicrobiana y antifúngica (Cáceres y col., 1993a; Capunzo y col., 2003; Céspedes y col., 2006), y actividad gastrointestinal y espasmolítica (Cáceres, 1990; Cáceres y col., 1993b).

En los tejidos secretores de las hojas y las flores se produce un aceite esencial en el que se han identificado 53 constituyentes, y los que se encuentran en mayor proporción son estragol, anetol y metileugenol (Bicchi y col., 1973). Las hojas y las flores de *T. lucida* contienen limoneno, 16,5 %; β -ocimeno, 14 %; β -cariofileno, 28 %; mirceno, 4-5 %; anetol, y alilanisol; alcaloides cuaternarios, flavonoides (quercetagetina, patuletina), saponinas, taninos, leucoantocianinas, ácido gálico, glucósidos cianogénicos, cumarinas (herniarina, dimetil aliléter de 7-hidroxycumarina, 6,7,8-trimetoxicumarina) (Rodríguez y Mabry, 1975; Guzmán, 1987; Glasby, 1991).

De las partes aéreas de las plantas recolectadas en la Argentina, Abdala (1999) identificó cuatro flavonoides glicósidos; de las plantas recogidas en Guatemala, Aquino y col. (2002) identificaron flavonol glicósidos y dos nuevos ácidos fenólicos. La actividad biológica de *T. lucida* se atribuye a los componentes químicos α -tierterilo y herniarina (7-metoxicumarina) que se encuentran en las flores y las hojas (Neher, 1968; Ortiz, 1989).

Existen datos anatómicos de Asteraceae en obras clásicas sobre anatomía de órganos vegetativos en Dicotiledóneas (Solereder, 1908; Metcalfe y Chalk, 1972). En particular, los tejidos secretores de las Asteraceae están mencionados en varios trabajos, entre los que podemos citar los de Carlquist (1957, 1959). La ontogenia y las estructuras secretoras de *Tagetes minuta* fueron abordadas en distintas investigaciones (Del Fueyo, 1986; Simon y col., 2002). En tanto, en años recientes, Visintin y Bernardello (2005) se ocuparon de la morfología y la anatomía floral de la misma especie, poniendo especial énfasis en el análisis de la vasculatura floral.

De *T. lucida* se han llevado a cabo un notable número de investigaciones etnobotánicas, químicas, de actividades biológicas y farmacológicas, como así también aplicaciones en la obtención de medicamentos fitoterápicos.

El objetivo de este trabajo es establecer caracteres analíticos micrográficos a los fines de la estandarización de la droga cruda. Esta información es requerida no solo para los procedimientos de identificación que garanticen la utilización de la droga vegetal, sino para el control de calidad exigido en la producción de medicamentos fitoterápicos.

Figura 1.- *Tagetes lucida* Cav. –Asteraceae–



Materiales

Material vegetal estudiado

El material vegetal que se estudió procedía de Guatemala, Provincia de Suchitepequez, Ciudad de Mazatenanco, Municipio de Samayac por Armando Cáceres y Susana Gattuso (1530, UNR).

Métodos

Para el estudio botánico se trabajó con las hojas, los tallos, las flores y los frutos de plantas en cultivo. Los preparados histológicos se hallan depositados

en la Histoteca del Área Biología Vegetal, especialidad Farmacobotánica de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la Universidad Nacional de Rosario, Argentina.

El material se incluyó en parafina. Se realizaron cortes transversales y longitudinales de 10 - 15 µm de espesor con micrótopo tipo Minot (O'Brain y col., 1981). Para la tinción se aplicó la técnica de coloración Safranina Fast-Green (Dizeo Strittmater, 1979). Los cortes coloreados se deshidrataron y montaron con Bálsamo de Canadá. Las hojas y las flores se diafanizaron (Dizeo Strittmater, 1973). Las sustancias lipofílicas se pusieron en evidencia con Sudán III y los cristales por su dilución con ácido clorhídrico diluido (1:1) y por análisis con luz polarizada (Johansen, 1940; Ruzin, 1999).

Las observaciones se realizaron con microscopio óptico Zeiss MC 80 Axiolab equipado con cámara fotográfica, microscopio óptico Nikon Alphaphot YS equipado con luz polarizada y tubo de dibujo y un microscopio estereoscópico Nikon Type 104.

Los dibujos son originales; se realizaron con tubo de dibujo, y en las representaciones esquemáticas se emplearon los símbolos internacionales de Metcalfe y Chalk (1972).

Resultados

Descripción macroscópica de la droga

Hojas

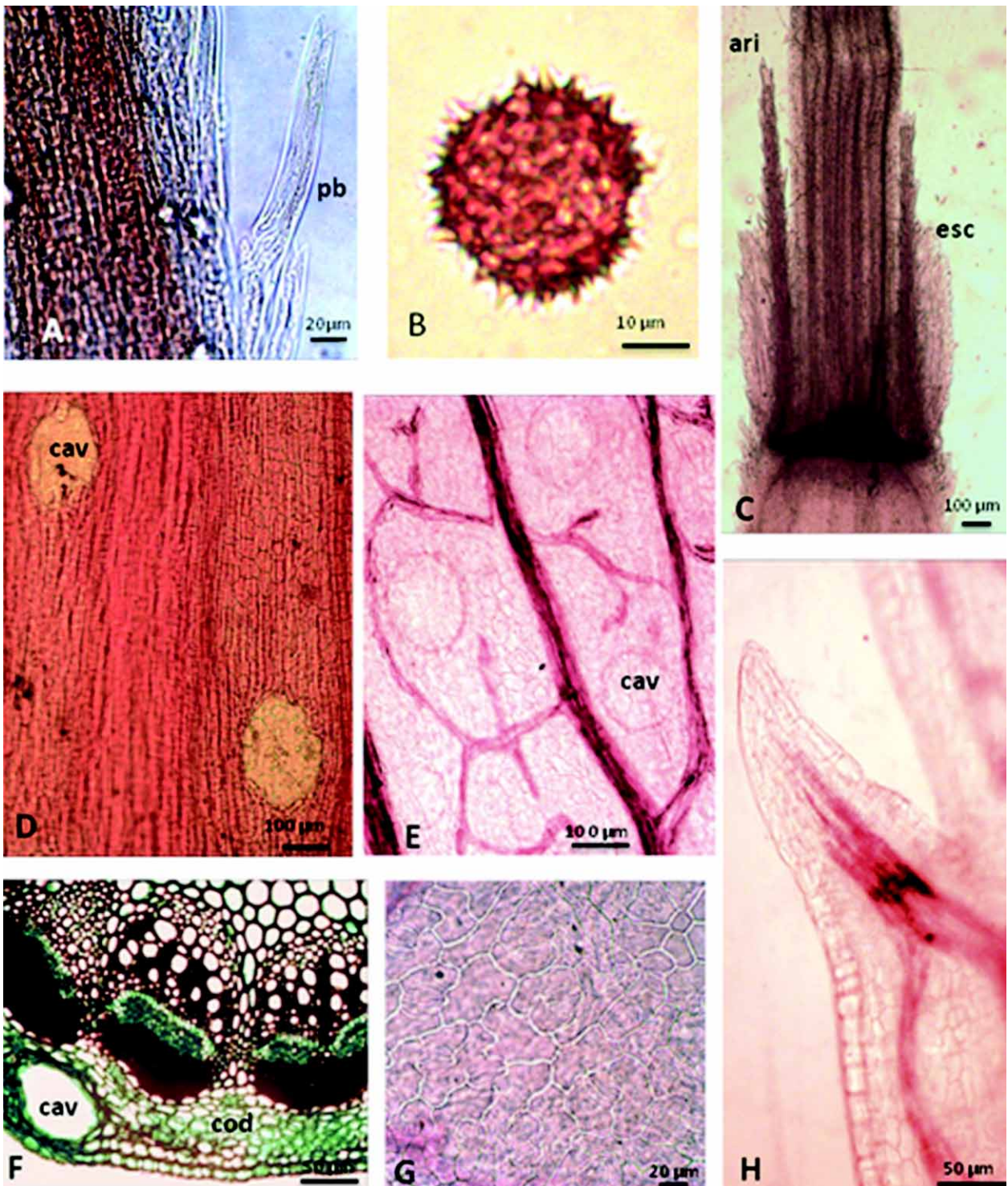
Simples, de color verde intenso, lanceoladas, de 4 a 10 cm de largo y 0,5 a 2,0 cm de ancho, de ápice agudo a obtuso, la base atenuada, el margen serrulado, con gran número de glándulas localizadas en la proximidad del diente foliar y en toda la superficie de la hoja. Las glándulas son traslúcidas y de forma circular. (Figuras 1, 2E y 2H; 3A y 3B).

Tallos

De escaso diámetro, poco ramificados, de color verde claro.

Inflorescencias. Cabezuelas desecadas agrupadas en cimas corimbosas terminales, estos capítulos son radiados, se pueden presentar enteros o ligeramente fragmentados, de color amarillo intenso con involucro de brácteas uniseriado de 7 a 10 mm de largo.

Figura 2.- Fotomicrografía de *Tagetes lucida*



A: pelos simples unicelulares y pelos biseriados de extremos agudos, situados en la base del ovario; B: grano de polen; C: flor tubulosa, mostrando el vilano; D: cavidad esquizógena en diafanizado del involucre de brácteas; E: cavidad esquizógena en diafanizado de hoja epidermis abaxial con estomas anisocítico; F: Ct. del tallo mostrando cavidad y conductos esquizógenos de secreción; G: epidermis abaxial de hoja con estomas anisocítico; H: borde de la hoja; Ct.: corte transversal; ari: aristas; esc: escamas; cav: cavidad; cod: conducto; pb: pelos biseriados.

Flores

Las flores liguladas, usualmente 3, de 3 a 5 mm de largo, son imperfectas, femeninas, presentan limbo orbicular, entero extendido, amarillo claro a amarillo-anaranjado. Las flores tubulosas, en número de 5 a 8 de 6 a 7 mm de largo, presentan perianto de color amarillo-naranja intenso. Las flores están acompañadas por el vilano y las flores tubulosas pueden estar acompañadas por los frutos –aquenios– que son oscuros, fusiformes, con callo basal conspicuo y están acompañados por el vilano.

Toda la droga cruda, las hojas, los tallos y las inflorescencias-flores presentan olor a anís al estrujarlas debido a la presencia del aceite esencial presente en las glándulas.

Descripción microscópica de la droga

Hojas

Vascularización pinatinervia, camptódroma, reticulódroma. La vena primaria es notable y resistente, de recorrido derecho; y las venas secundarias son gruesas y también de recorrido derecho. La venación última marginal es ojalada. Las vénulas son escasas, simples y curvadas. Las areolas están bien desarrolladas y dispuestas al azar, son cuadrangulares y poligonales (Figuras 3A y 3B).

Epidermis en vista superficial

Las epidermis adaxial y abaxial presentan células con paredes anticlinales levemente onduladas y engrosadas. Los estomas presentes en ambas epidermis son de tipo anisocítico; el índice estomático es de 15 % para la epidermis adaxial y de 21 % para la epidermis abaxial (Figuras 2G, 3C y 3D).

Limbo

El corte transversal del limbo muestra que la hoja es anfiestomática. Las epidermis adaxial y abaxial están constituidas por células rectangulares aplanadas, mostrando pelos simples pluricelulares, (Figuras 3C y 3D). La cutícula es fina y lisa. El mesófilo presenta estructura isobilateral con parénquima en empalizada dispuesto en una hilera junto a ambas epidermis. En el parénquima esponjoso se localizan grandes cavidades esquizógenas, limitadas por epitelio pluriestratificado de secreción de aceites esenciales, que miden $120 \pm 30 \mu\text{m}$ de diámetro. El nervio principal consta de un haz vascular colateral cerrado (Figuras 3E y 3F).

Tallo

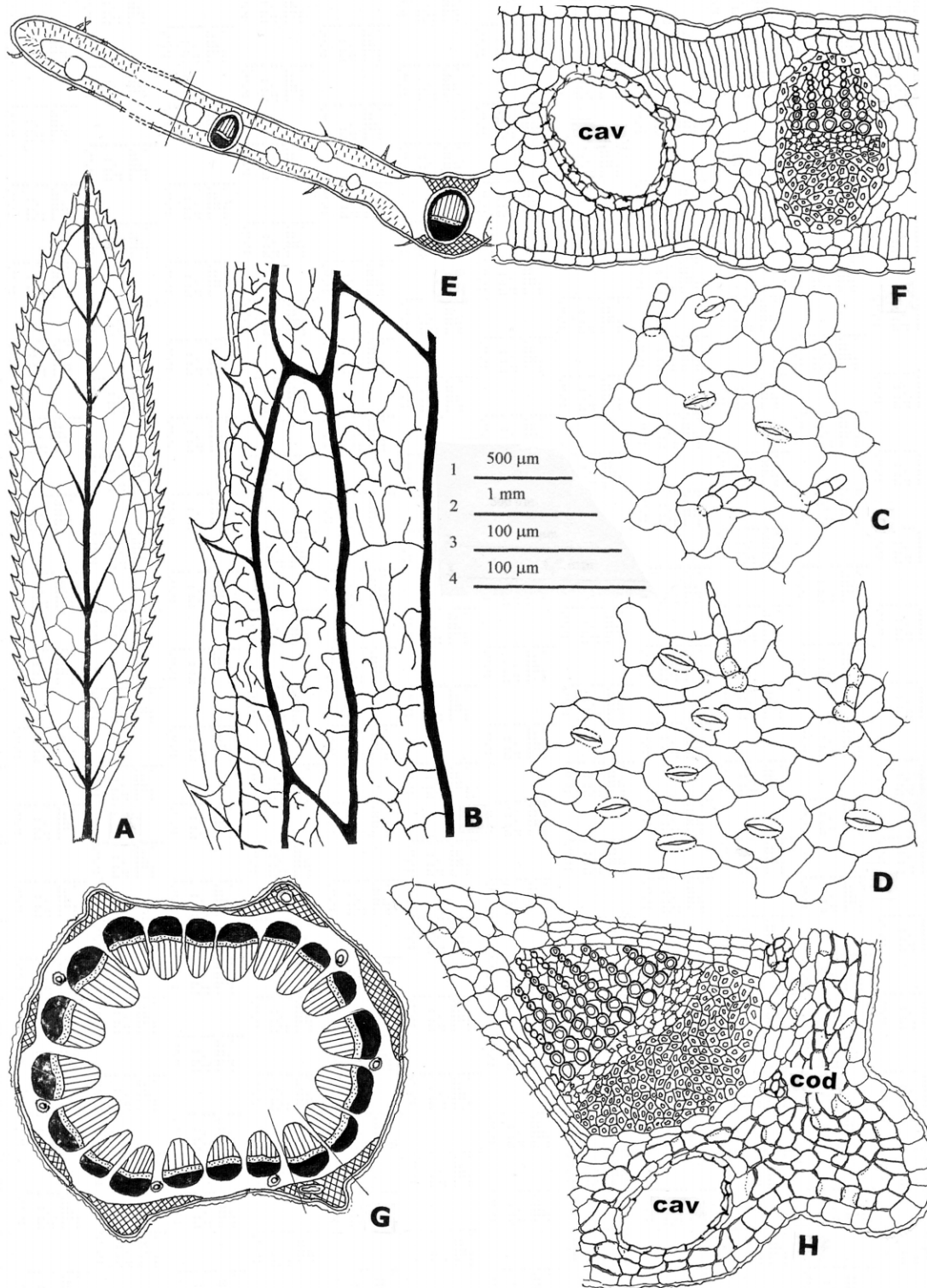
El corte transversal es de contorno circular, con costillas. La epidermis con estomas se halla constituida por células rectangulares aplanadas. En el nivel de las costillas y en posición subepidérmica encontramos de 3 a 4 hileras de colénquima laminar. Los haces vasculares son colaterales abiertos, se disponen constituyendo una eustela y se encuentran reforzados por casquetes de fibras esclerenquimáticas. En el parénquima cortical localizamos cavidades esquizógenas de secreción de $100 \pm 20 \mu\text{m}$ de diámetro similares a las descritas para la hoja. También encontramos conductos de secreción de $16\text{-}20 \mu\text{m}$ de diámetro limitado por un epitelio secretor uniestratificado. Estos conductos se localizan alternando con el floema y asociado al tejido esclerenquimático (Figuras 2F, 3G y 3H).

Inflorescencias. Flores

Los capítulos presentan el receptáculo glabro con un involucro uniseriado de brácteas soldadas, de forma cilíndrico-acampanado, de 7 a 10 mm de largo, las brácteas, en número de 5 a 8, están unidas totalmente hasta el ápice. La porción apical de cada bráctea está constituida por dientes translúcidos, de bordes hialinos (Figura 4A). En la superficie externa de las brácteas se observan series longitudinales de cavidades esquizógenas de secreción alargadas, que se disponen en número de 5 a 7 en la parte media de cada bráctea o en el área de unión de dos de ellas. El diámetro mayor de estas cavidades es de $200 \pm 50 \mu\text{m}$, (Figuras 2D y 4A).

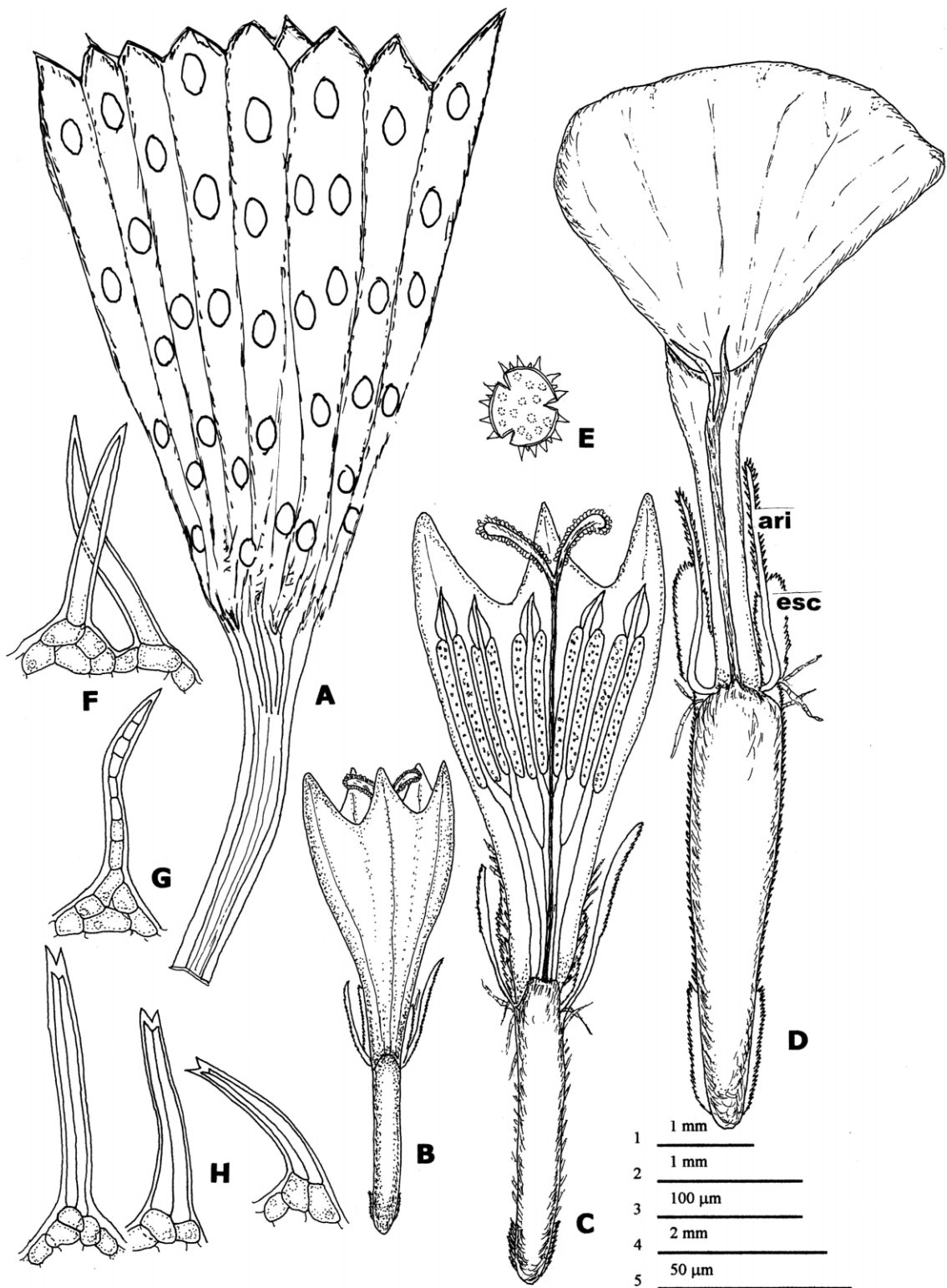
Las flores, liguladas, presentan un limbo orbicular, entero extendido, amarillo claro a amarillo-anaranjado; en su inserción con el ovario se observan pelos simples pluricelulares, (Figura 4D y 4G). Las flores tubulosas (Figura 4B y 4C) son perfectas, la corola muestra, en superficie, células isodiamétricas a alargadas, la base de la corola en su inserción con el ovario presenta pelos simples pluricelulares (Figura 4G). Las anteras se presentan obtusas en la base. Las flores perfectas presentan el estilo dividido en dos ramas estigmáticas largas, de 2 mm, con ápice truncado y el dorso papiloso (Figuras 4B y 4C). En la superficie y la base del ovario se puede determinar la presencia de pelos simples unicelulares de paredes engrosadas (Figuras 2A y 4F) y pelos rígidos constituidos por 2 células dispuestas en forma biseriadas; el extremo de las células es agudo y de paredes fuertemente engrosadas, (Figuras 2A y 4H).

Figura 3.- *Tagetes lucida*



A-D: hoja en vista superficial. A: silueta; B: arquitectura foliar, bordes, areolas; C: epidermis adaxial; D: epidermis abaxial. E-F: sección transversal de la hoja. E: esquema representativo del limbo; F: detalle de lo indicado en E. G-H: sección transversal del tallo. G: esquema representativo del entrenudo; H: detalle de lo indicado en G; **cav**: cavidad esquizógena de secreción; **cod**: conducto esquizógeno de secreción. Las escalas corresponden 1 a E y G; 2 a C, D y H; 3 a B.

Figura 4.- Flores de *Tagetes lucida*



A: involucre uniseriado 6-8 brácteas soldadas; **B:** flor tubulosa; **C:** flor tubulosa en corte longitudinal; **D:** flor ligulada; **E:** grano de polen; **F:** tricomas simples unicelulares; **G:** tricomas simples pluricelulares; **H:** tricomas biseriados; **ari:** aristas; **esc:** escamas. Las escalas corresponden 1 a B; 2 a C y D; 3 a F, G y H; 4 a A; 5 a E.

El papus o vilano de las flores tubulosas y liguladas está constituido por 4 a 6 escamas cortas, hialinas de 1 a 2 mm de largo y 2 aristas de 3 a 5 mm de largo presentando pelos rígidos unicelulares de paredes muy engrosadas. (Figuras 2C, 4C y 4D). Los granos de polen son abundantes, tricóporados, oblados-esferoidales, el diámetro ecuatorial es de 25 a 30 μm , la exina es equinada con espinas de 5 a 8 μm de alto (Figuras 2B; 4E).

Discusión y conclusiones

Tagetes lucida es una especie cuyo potencial económico radica en ser fuente de aceites esenciales, que son usados como medicamentos, para la fabricación de perfumes y fragancias, como condimento y como repelente de insectos (Neher, 1968).

En este trabajo se han determinado dos tipos de estructuras secretoras que coexisten en *T. lucida*: conductos secretores y cavidades secretoras o glándulas. La estructura de los conductos secretores se caracteriza por presentar escaso diámetro, epitelio secretor uniestratificado y vaina parenquimática similar al descripto para *T. minuta* por Simon y col. (2002). En tanto, las cavidades secretoras se caracterizan por presentar diámetro conspicuo y epitelio secretor pluriestratificado sin la vaina parenquimática, este aspecto es coincidente con lo observado para *T. minuta* (Del Fueyo, 1986; Simon y col., 2002). En el caso particular de *T. lucida*, coexisten en el tallo conductos y cavidades de secreción, y en las hojas y las brácteas involucrales, solo encontramos cavidades esquizógenas de secreción. Con respecto a los conductos y las cavidades secretoras, debe señalarse que son de origen esquizógeno, reaccionaron positivamente a los ensayos de compuestos lipofílicos mostrando el carácter secretor del epitelio. La secreción interna de terpenos y otras sustancias ayudarían a proteger a la planta de los animales herbívoros y microorganismos patógenos, ya que solo saldrían al exterior si la planta fuese herida, además de contribuir al balance hídrico (Fahn, 1979).

Los estudios botánicos descriptivos, macro y microscópicos obtenidos en el trabajo, son herramientas útiles para determinar parámetros micrográficos, considerados como características propias de la especie estudiada. Esta información es requerida no solo para los procedimientos de identificación que garanticen la utilización de material crudo apropiado,

sino también para el control de calidad exigido por la legislación sanitaria para la producción de medicamentos fitoterápicos.

Referencias bibliográficas

- Abdala, R.A. (1999). "Flavonoids of the aerial parts from *Tagetes lucida* Asteraceae". *Biochemical Systematic and Ecology* 27: 753-754.
- Aquino, R.; Cáceres, A.; Morelli, S.; Rastrelli, L. (2002). "An extract of *Tagetes lucida* and its phenolic constituents as antioxidants". *J. Nat. Prod.* 65: 1773-1776.
- Bicchi, C.; Fresia, M.; Rubiolo, P.; Monti, D.; Franz, C.; Goehler, L. (1997). "Constituents of *Tagetes lucida* Cav. ssp *lucida* essential oil". *Flavour and Fragrance Journal* 12: 47-52.
- Browner, C.H. (1985). "Plants used for reproductive health in Oaxaca, México". *Econ. Bot.* 39: 482-504.
- Bye, R.A. (1986). "Medicinal Plants of the Sierra Madre: Comparative study of *Tarahumara* and Mexican Market Plants". *Econ. Bot.* 40: 103-134.
- Cáceres, A.; Girón, L.M.; Freire, A.V. (1990). "Plantas de uso medicinal en Guatemala I. Detección etnobotánica y bibliográfica". *Rev. USAC.* 9: 55-77.
- Cáceres, A.; Torres, M.; Ortiz, S.; Cano, F.; Jáuregui, E. (1993). "Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. IV. Vibriocidal activity of five American plants used to treatment infection". *J. Ethnopharmacol.* 39: 73.
- Cáceres, A.; Fletes, L.; Aguilar, L.; Ramirez, O.; Figueroa, L.; Taracena, A.M.; Samayoa, B. (1993). "Plants used in Guatemala for the treatment of the gastrointestinal disorders. III Confirmations of activity against enterobacteria of 16 plants". *J. Ethnopharmacol.* 31: 31-38.
- Cáceres, A. (1996). "Plantas de uso Medicinal en Guatemala". Editorial Universitaria, Guatemala: 305-307.
- Carlquist, S. (1957). "Leaf anatomy and ontogeny in *Argyroxiphium* and *Wilkesia* (Compositae)". *Amer. J. Bot.* 44: 695-705.
- Carlquist, S. (1959). "Glandular structures of *Holocarpa* and their ontogeny". *Amer. J. Bot.* 46: 300-308.
- Céspedes, C.; Avila, J.; Martínez, A.; Serrato, B.; Calderón-Mugica, J.; Salgado-Garciglia, R.

- (2006). "Antifungal and Antibacterial Activities of Mexican Tarragon (*Tagetes lucida*)". *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 3521-3527.
- Capunzo, M.; Brunetti, L.; Cavallo, P.; Boccia, G.; De Caro, F.; Ieluzzi, M. (2003). "Antimicrobial activity of dry extracts os *Tagetes lucida* from Guatemala". *Journal of Preventive Medicine and Hygiene* 44: 85-87.
- Del Fueyo, G.M. (1986). "Ontogenia de glándulas de *Tagetes minuta* (Compositae)". *Bol. Soc. Arg. Bot.* 24(3-4): 403-410.
- Dizeo de Strittmater, C. (1973). "Nueva técnica de diafanización". *Bol. Soc. Arg. Bot.* 15(1): 126-127.
- Dizeo de Strittmater, C. (1979). "Modificación de una técnica de coloración Safranina Fast green". *Bol. Soc. Arg. Bot.* 18(3-4): 121-122.
- Fahn, A. (1979). *Secretory tissues in plants*. Academic Press, London.
- Johansen, D.A. (1940). *Plant microtechnique*. Mac Graw Hill. New York: 84-202.
- Girón, L.M.; Freire, V.; Alonso, A.; Cáceres, A. (1991). "Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by the Carib of Guatemala". *J. Ethnopharmacol.* 34: 173-187.
- Glasby, J.S. (1991). *Dictionary of plants containing secondary metabolites*. Taylor & Francis, London: 314.
- Guzmán, N. (1987). "Determinación de los componentes mayoritarios del extracto de hojas y flores de *Tagetes lucida* Cav. (Pericón), soluble en éter de petróleo mediante el uso de cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas". (Tesis) Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC.
- Metcalfe, C.R.; Chalk, L. (1972). *Anatomy of the Dicotyledons*. Vol I. (2nd ed.). Clarendon Press Oxford, London: 471-476.
- Nash, D.L. (1976). "Tribe VI Helianae" en: Nash, D.L. & Williams L.O. (Eds.). *Flora de Guatemala Parte XII Fieldiana: Botany* 24(12): 361-386, 571-580.
- Neher, R.T. (1968). "The ethnobotany of *Tagetes*". *Econ. Bot.* 22: 317-325.
- O' Braien, T.P.; Mc Cully, M.E. (1981). *The study of plant structure principles and selected methods*. Ed. Termarcaphi Pty Ltd. Melbourne. 5: 1-5, 14.
- Ortiz, S.D. (1989). "Elucidación del principio active antiespasmódico en el extracto n-hexano de pericón (*T. lucida*)". *Rev. Cient. Fac. de CCQQ Farmacia* 7: 9-10.
- Rodríguez, E.; Mabry T.J. (1975). "Tagetae-Chemical Review". *Biol. Chem. Compos.* London, Engl, Academic. 2: 785-797.
- Ruzin, E.E. (1999). *Plant microtechnique and microscopy*. Oxford University Press.
- Simon, P.M.; Katinas, L.; Arambarri, M. (2002). "Secretory structures in *Tagetes minuta* (Asteraceae, Helianae)". *Bol. Soc. Arg. Bot.* 37(3-4): 181-191.
- Solereder, H.O. (1908). *Systematic anatomy of the Dicotyledonns I* Claredon Press, London: 456-469.
- Visintin, A.M.; Bernardello, G. (2005). "Morfolo-gía y anatomía floral de *Tagetes minuta* L. (Asteraceae)". *Arnaldoa* 12(1-2): 8-15.

Micrographic standarization of *Baccharis* L. species (Asteraceae)

María V. Rodríguez*, Susana J. Gattuso y Martha A. Gattuso

Farmacobotánica. Área Biología Vegetal. Facultad Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. Suipacha 531 (S2002LRK) Rosario, Argentina.

* Correo electrónico: mrodrigu@fbioyf.unr.edu.ar.

Summary

Controversies still exist regarding the differentiation of some *Baccharis* sect. Caulopterae species known as “carqueja”. In the present work we studied anatomically five of these species: *Baccharis articulata* (Ba), *Baccharis crispa* (Bc), *Baccharis gaudichaudiana* (Bg), *Baccharis microcephala* (Bm) and *Baccharis trimera* (Bt). Ba and Bc are considered official in Argentinean Pharmacopeia and Bt in the Brazilian Pharmacopeia. Bg and Bm are considering possible substitutes. The qualitative and quantitative variables for each one were determined, emphasizing the importance of anatomic characters as taxonomically useful. Analytical micrographs of the studied species were elaborated as reference standards for quality control of the raw drug.

Estandarización micrográfica de especies de *Baccharis* L. (Asteraceae)

Resumen

Aún existen controversias con respecto a la correcta diferenciación de las especies de *Baccharis* de la sección Caulopterae conocidas como “carqueja”. En este trabajo se estudió anatómicamente a cinco de estas especies: *Baccharis articulata* (Ba), *Baccharis crispa* (Bc), *Baccharis gaudichaudiana* (Bg), *Baccharis microcephala* (Bm) y *Baccharis trimera* (Bt). Las especies Ba y Bc son consideradas oficiales en la Farmacopea Argentina y Bt en la Farmacopea Brasileña. Bg y Bm son consideradas posibles sustituyentes de las anteriores. Se determinaron las variables cualitativas y cuantitativas para cada una, resaltando la importancia de la anatomía en la obtención de caracteres taxonómicos para poder diferenciarlas. Con los datos obtenidos se elaboraron las micrografías analíticas de las especies estudiadas, para que puedan ser utilizadas como patrones de referencia para el control de calidad de la droga cruda.

Introduction

Baccharis L. is the most numerous genus in the Astereae tribe, with a geographical distribution restricted to America, from Canada to Southern Argentina and Chile (Fielding, 2001).

Several authors have contributed to the infrageneric classification of *Baccharis* (Lessing, 1831; De Candolle, 1836; Weddell, 1855, 1856; Baker, 1882, 1884; Heering, 1904; Cuatrecasas, 1967; Ariza Espinar, 1973; Barroso, 1976). It was De Candolle (1836) who first subdivided the genus

Key words: Anatomy - Asteraceae - *Baccharis* - carqueja - micrography - sect. Caulopterae.

Palabras clave: Anatomía - Asteraceae - *Baccharis* - carqueja - micrografía - sección Caulopterae.

into sections (sect.), based mainly on leaf morphology. More recently, Giuliano (2001) subdivided the 96 Argentine *Baccharis* species into 15 sect. Among them, sect. Caulopterae DC is characterized by the presence of species with winged stems. Species of this sect. are known popularly as “carqueja” and two of them, i.e., *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. and *Baccharis crispa* Spreng. are included in the Farmacopea Nacional Argentina Ed. VI (1978) and a third one, *Baccharis trimera* (Less.) DC. in the Farmacopéia Brasileira Ed. IV (2002).

They are used as hepatic, stimulating to bile secretion, diuretic drugs, for ulcer healing and as external antiseptics, in infusions or decoctions. (Hieronymus, 1882; Sorarú and Bandoni, 1978; Toursarkissian, 1980; Martínez Crovetto, 1981; Correa, 1985).

Although there is abundant information about the genus in the literature, there are many controversies regarding the correct nomenclature as many synonyms exist especially in sect. Caulopterae DC. (Ariza Espinar, 1973; Lonni *et al.*, 2005; Simões-Pires *et al.*, 2005; Müller, 2006).

The species in sect. Caulopterae that have been most studied anatomically are *B. articulata*, *B. crispa* and *B. trimera* (Metcalf and Chalk, 1972; Ariza Espinar, 1973; Cortadi *et al.*, 1999; Barboza *et al.*, 2001; Müller, 2006; Freire *et al.*, 2007).

Müller (2006) differentiated *Baccharis genistelloides* subsp. *crispa* (here: *B. trimera*), that contains tufts of 3-7-celled clavate uniseriate hairs, from *B. articulata*, that contains tufts of 4-6-celled flagellate hairs. In contrast, Freire *et al.* (2007) reported that the trichomes of four species of the Caulopterae sect., *B. articulata*, *B. gaudichaudiana* DC., *B. microcephala* (Less.) DC. and *B. trimera*, are bulbiferous flagellate with triangular apical cells; however *B. trimera* differed from the other three species due to its anisocytic stomata.

Several authors also reported this type of stomata in *B. articulata* (Ariza Espinar, 1973; Cortadi *et al.*, 1999; Barboza *et al.*, 2001). In addition to these diverse studies, it is important to take in account that Baker (1882; 1884) considered that *B. gaudichaudiana* was the same species as *B. articulata*. Ariza Espinar (1973) studied the anatomy of the two official Argentine species (*B. articulata* and *B. crispa*) and Cortadi *et al.*, (1999) reported on the anatomy of the winged

stems of three species of the Caulopterae sect., *B. articulata*, *B. crispa* and *B. trimera*, finding some differences between them.

Another study aimed to discriminate two or three *Baccharis* species of the Caulopterae sect. by using micrographic characters or chemical composition of vouchers, only involved the presence or absence of isolated metabolites (Gianello *et al.*, 2000, Rodríguez *et al.*, 2008).

However, the information from these studies is incomplete and therefore they are inconclusive about the proper differentiation of some species of the Caulopterae sect. and so, there is a general consensus that a complete morphoanatomical examination of the some winged stem species to obtain both the qualitative and quantitative variables is needed.

Therefore the aim of this work is to perform a morphoanatomical exhaustive study of three official “carqueja” species: *B. articulata*, *B. crispa* and *B. trimera* and two possible substituents: *B. gaudichaudiana* and *B. microcephala* to achieve micrographic standardization of them.

Materials

Plant material

Specimens from the following herbaria: UNR, SI, CTES, BAF and LP (abbreviations according Holmgren *et al.*, 1990), or fresh material collected by the authors during five collecting campaigns in 2004, 2005, 2006, 2007 and 2008, were examined; all materials were collected with flowers and/or fruits to enable identification, checked by the authors and stored in the UNR herbarium (Table 1).

Methods

Morphoanatomy

Fresh material was fixed in F.A.A. (70° ethanol, glacial acetic acid, formaldehyde and water 50:5:30:15). The herbarium material was hydrated in boiling water with added drops of detergent.

Zeiss MC 80 Axiolab light microscope equipped with a photographic camera and Nikon Alphaphot YS light microscope with polarized light and a Nikon Type 104 stereoscopic drawing tube were used for the microscopic examination.

Table 1.- Data of analysed samples of *Baccharis* species

	Site	Date	Voucher
<i>Baccharis accharis</i>	<i>Prov. of Misiones</i>		
	Dpto. Cainguas, Loc. Campo Grande, Ruta Nac. 8	1/VIII/1987	Vanni <i>et al.</i> 976 (CTES)
	Dpto. Apóstoles	X/1977	Cabrera 28469 (SI)
	<i>Prov. of Entre Ríos</i>		
	Dpto. Federación, Loc. Santa Ana	24/IX/1961	Burkart 22823 (SI)
	Dpto. Colón, Loc. Colón, Parque Nacional El Palmar	11/II/2006	Gattuso S. 770 (UNR)
	Dpto. Uruguay, Loc. Pronunciamiento	VIII/ 2005	Gattuso S. 807 (UNR)
	Dpto. Uruguay, Loc. Pronunciamiento	11/II/2006	Gattuso S.769 (UNR)
	<i>Prov. of Chaco</i>		
	Dpto. Sgto. Cabral, Parque Nacional Chaco	23/XI/1991	Fortunato 2593 (SI)
	<i>Prov. of Santa Fe</i>		
	Dpto. Capital, Loc. Santa Fe	VIII/ 2005	Gattuso M. 189 (UNR)
	Dpto. Capital, Loc. Santa Fe	13/XII/2005	Gattuso M. 190 (UNR)
	Dpto. Belgrano, Loc. Las Rosas	15/IX/2005	Gattuso M. 186 (UNR)
	Dpto. Rosario, Loc. Rosario	18/I/2007	Gattuso S. 854 (UNR)
	Dpto. Rosario, Loc. Rosario	18/I/2007	Gattuso S. 855 (UNR)
	Dpto. Rosario, Loc. Arroyo seco	VIII/ 2007	Mc Cargo J. 29 (UNR)
	<i>Prov. of Buenos Aires</i>		
	Pergamino, cruce de Rutas 188 y 18 camino a Bavio	2/V/2006	Gattuso M. 222 (UNR)
		30/III/1975	Zardini 592 (SI)
	<i>Prov. of Tucumán</i>		
	Villa Nougues	12/VII/1907	Lizer 55 (SI)
	Villa Nougues	X/1966	Esk 02513 (SI)
	<i>Prov. of Córdoba</i>		
	Dpto. Punilla, Loc. Ongamira, Paraje: "Las dos Lunas"	25/II/2006	Gattuso S. 789 (UNR)
	Dpto. Punilla, Loc. Asconchinga, "Potrero de los peones"	25/II/2006	Gattuso S. 790 (UNR)
	Dpto. Punilla, Loc. La Cumbre	I/2007	Gattuso S. 856 (UNR)
	Dpto. Calamuchita, camino a Atos Pampa, a 1 km de la Ruta Villa Gral. Belgrano y La Cumbrecita	19/IV/2005	Gattuso M. 183 (UNR)
	Dpto. Calamuchita, Loc. Yacanto de Calamuchita	11/I/2006	Gattuso M. 191 (UNR)
	Dpto. Calamuchita, Loc. El Durazno	4/III/2006	Gattuso S. 799(UNR)
	Dpto. Calamuchita, Loc. El Durazno	4/III/2006	Gattuso S. 800 (UNR)
	Dpto. Calamuchita, Loc. El Durazno	4/III/2006	Gattuso S. 801 (UNR)
	Dpto. Calamuchita, Loc. El Durazno	4/III/2006	Gattuso S. 802 (UNR)
	Dpto. Calamuchita, Loc. El Durazno	4/III/2006	Gattuso S. 803 (UNR)
	Dpto. Calamuchita, Loc. El Durazno	4/III/2006	Gattuso S. 804 (UNR)
	<i>Prov. of Buenos Aires</i>		
	Tandil, en el cerro Albión	3/III/1946	Krapovickas 2989 (SI)
	<i>Prov. of Córdoba</i>		
	Dpto. Punilla, Loc. Ascochinga, "Potrero de los peones"	25/II/2006	Gattuso S. 791 (UNR)
	Dpto. Punilla, 5 km al O de Capilla del Monte	19/III/2005	Gattuso M.156 (UNR)
	Dpto. Punilla, 5 km al O de Capilla del Monte	19/III/2005	Gattuso M.157 (UNR)
	Dpto. Calamuchita, Loc. Los Reartes, puente San Ignacio de Loyola	11/III/2006	Gattuso M. 208 (UNR)
Dpto. Calamuchita, Loc. Yacanto de Calamuchita	18/IV/2005	Gattuso M.153 (UNR)	
Dpto. Calamuchita, Loc. Mina Clavero	III/1940	Valencia 2376 (SI)	
<i>Prov. of San Luis</i>			
Dpto. Cnel. Pringles, camino a la Mina Carolina	28/IV/1986	Volponi 939 (SI)	
Dpto. La Capital, Loc. El Volcán	1/IV/1983	Agiglia 6486 (SI)	
<i>Prov. of Mendoza</i>			
Dpto. Las Heras, Loc. Potrerillos, Salto	15/I/2006	Gattuso S. 778 (UNR)	
Dpto. Luján de Cuyo, Loc. Luján, "Las Chacritas"	20/III/1944	Covas 2038 (SI)	
Dpto. Tupungato, a 5 km al O de la estancia "La Selva"	17/IV/1986	Leuenberger & Arroyo 3571 (SI)	
Dpto. Tunuyán, entre Tunuyán y El Manzano	10/III/1945	Covas (SI)	

Table 1.- Data of analysed samples of *Baccharis* species (cont.)

	Site	Date	Voucher
<i>Baccharis gaudichaudiana</i>	<i>Prov. of Misiones</i>		
	Dpto. San Ignacio, Loc. Jardín América	20/II/2006	Gattuso, M. 209 (UNR)
	Dpto. San Ignacio, Loc. San Ignacio	12/X/2005	Gattuso M. 177 (UNR)
	Dpto. San Ignacio, Loc. San Ignacio	12/X/2005	Gattuso M.179 (UNR)
	Dpto. San Ignacio, Loc. San Ignacio	11/III/2005	Gattuso M. 181 (UNR)
	Dpto. San Ignacio, Loc. San Ignacio	20/II/2006	Gattuso, M. 210 (UNR)
	Dpto. San Ignacio, Loc. San Ignacio, camino de Loreto a San Ignacio	11/X/1975	Zardini <i>et al.</i> 658 (SI)
	Dpto. Candelaria, Loc. Santa Ana	3/IX/1912	Rodríguez 539 (SI)
	Dpto. Leandro N. Alem, Loc. Cerro Azul	11/III/2005	Gattuso, M. 182 (UNR)
	<i>Prov. of Jujuy</i>		
Dpto. Santa Bárbara, Loc. Abra de los Morteros	IX/1976	Cabrera 27975 (SI)	
Dpto. Capital, Loc. Capilla	22/IX/1981	Ahumada 4324 (SI)	
<i>Baccharis microcephala</i>	<i>Prov. of Misiones</i>		
	Dpto. Candelaria, Loc. Loreto	II/1945	Montes s. n. (SI)
	Dpto. Apóstoles, Ruta 14, al NE del cruce a San José	20/II/2006	Gattuso M. 212 (UNR)
	<i>Prov. of Corrientes</i>		
	Dpto. Ituzaingó, Ruta Nac. 12 a 10 km de Ituzaingó	25/I/1976	Romancksuk <i>et al.</i> 367 (SI)
	Dpto. Mercedes, Bañado del Ayuí	20/X/2005	Gattuso M. 185 (UNR)
	Dpto. Mercedes, Cuenca del Ayuí	20/X/2005	Gattuso M. 184 (UNR)
	Dpto. Monte Caseros, km 173, Campo Gral. Ávalos	21/2/1979	Schinini <i>et al.</i> 17491 (CTES)
	<i>Prov. of Entre Ríos</i>		
	Dpto. Uruguay, Loc. Concepción del Uruguay	6/X/1950	Hunziker 4384 (SI)
	Dpto. Paraná, Paracao, barrancas frente a cuarteles	31/X/1962	Boelcke & Correa 9137 (BAA)
	Delta del Paraná, Arroyo Martínez	13/X/1944	Boelcke 942 (SI)
	<i>Prov. of Formosa</i>		
Dpto. Laishi, Reserva "El Bagual"	17/II/2006	Gattuso M. 211 (UNR)	
<i>Prov. of Santa Fe</i>			
Dpto. Rosario, Loc. Rosario	27/X/2005	Gattuso S. 768 (UNR)	

The wings were dehydrated with increasing concentrations of alcohol and coated with gold-palladium. Observations were made using a JEOL scanning electron microscope, model 35-CI.

Surface view of epidermis

The wings of the stems were diaphanised according to Strittmatter's technique (1973) when KOH 10% was used to remove the resin layer.

Cross-sections of winged stems

The material was dehydrated in increasing ethanol concentrations, then with ethanol/xylene and xylene and lastly embedded in paraffin (Gattuso and Gattuso, 2002). Cuts were performed manually with a Minot microtome, obtaining 12 µm thick sections. Diluted Safranin and Safranin-Fast green were used for staining (Strittmatter, 1979). The material was also dehydrated in increasing acetone concentrations,

acetone/propylene oxide and propylene oxide and embedded in Spurr's epoxy resin (Union Carbide International Co.). The stem segments were cut into 1 µm sections obtained with an ultramicrotome, equipped with a diamond knife. Toluidine Blue 1% and Acid Fuchsin 1% were used for staining (D'Ambrogio, 1986).

Crystals were observed using weak diluted acid and polarized light analysis (Johansen, 1940).

Results and discussion

Alate stems anatomy – Qualitative and Quantitative variables

Table 2 summarizes the differential anatomical qualitative variables of five species of *Baccharis* with winged stems.

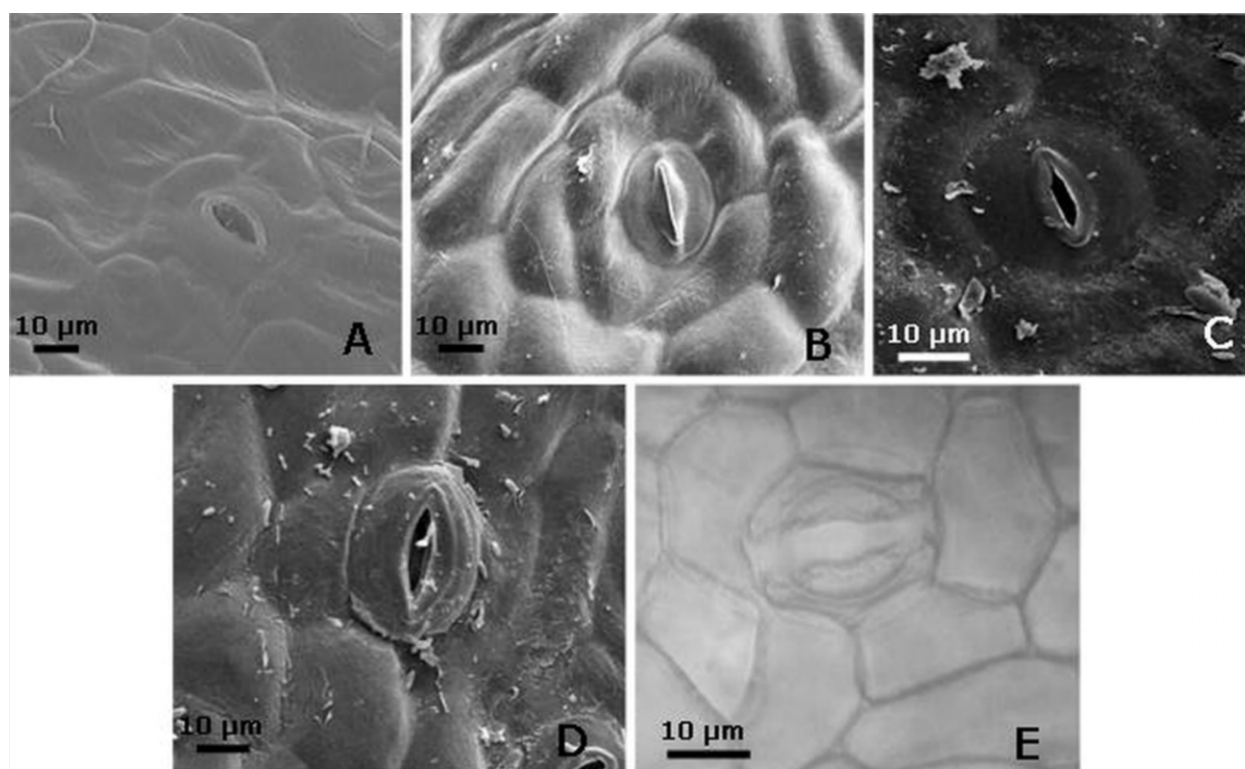
Table 1.- Data of analysed samples of *Baccharis* species (cont.)

	Site	Date	Voucher
<i>Baccharis trimera</i>	<i>Prov. of Misiones</i>		
	Dpto. Guaraní, Ruta Prov. 21, camino de Paraíso a Moconá, a 23 km de la Ruta Nac. 14	28/IV/1997	Morrone <i>et al.</i> 2177 (SI)
	<i>Prov. of Corrientes</i>		
	Dpto. Mercedes, Loc. Mercedes	8/VII/2005	Gattuso M. 187 (UNR)
	Dpto. Mercedes, Loc. Mercedes	2/II/2006	Gattuso M. 213 (UNR)
	Dpto. Paso de Los Libres, Estancia "El Recreo", costa del Río Uruguay	19/II/1979	Schinini 17333 (SI)
	Loc. Bonpland	13/III/2005	Gattuso M. 152 (UNR)
	Loc. Bonpland	13/III/2005	Gattuso M. 166 (UNR)
	Dpto. Alvear, ruta 14 entre Santo Tomé y Alvear	22/II/2006	Gattuso M. 244 (UNR)
	<i>Prov. of Entre Ríos</i>		
	Dpto. Federación, Loc. Colonia La Argentina	3/II/1983	Guaglianone <i>et al.</i> 1238(SI)
	Loc. Isthilart, camino a Calchaquí	18/I/1977	Troncoso 1562 (SI)
	Dpto. Colón, Parque Nacional El Palmar	14/III/2005	Gattuso M. 148 (UNR)
	Dpto. Colón, Parque Nacional El Palmar	14/III/2005	Gattuso M. 150 (UNR)
	Dpto. Colón, Parque Nacional El Palmar	11/II/2006	Gattuso S 772 (UNR)
	Dpto. Colón, Parque Nacional El Palmar	11/II/2006	Gattuso S. 773 (UNR)
	Dpto. Uruguay, Loc. Pronunciamiento	11/XII/2004	Gattuso M. 154 (UNR)
	Dpto. Uruguay, Loc. Pronunciamiento	11/II/2006	Gattuso S. 771 (UNR)
	Dpto. Uruguay, Loc. Pronunciamiento	11/II/2006	Gattuso S. 774 (UNR)
	Dpto. Uruguay, Loc. Pronunciamiento	11/II/2006	Gattuso S. 780 (UNR)
	Dpto. Uruguay, Loc. Pronunciamiento	22/III/2006	Gattuso S. 808 (UNR)
	Dpto. Uruguay, Loc. Pronunciamiento	22/III/2006	Gattuso S. 809 (UNR)
	Dpto. Uruguay, Colonia Dolores	11/XII/2004	Gattuso M. 155 (UNR)
	Dpto. Uruguay, Loc. Concepción del Uruguay, Colonia Elías	22/III/2006	Gattuso S. 816 (UNR)
	<i>Prov. of Buenos Aires</i>		
	Pergamino, cruce de Rutas 188 y 18	2/V/2006	Gattuso M. 223 (UNR)
	Elizalde, Praderas	14/III/1940	Cabrera 6337 (SI)
	Berisso, Ruta 11, km 11	8/IV/2006	Gattuso M. 220 (UNR)
Punta Lara	3/III/2002	Lara (BAF)	
Batolomé Bavio	IV/2003	Rivas (BAF)	
Tronquist, Sierra de la Ventana	3/III/1984	Hunziker & Wulff 12055 (SI)	
<i>Prov. of Santa Fe</i>			
Dpto. Rosario, Loc. Rosario	27/X/2005	Gattuso S. 767 (UNR)	
Dpto. Rosario, Loc. Rosario	IX/1997	Reyna (LP)	
San Marcos	16/II/1941	Nicora 17735 (SI)	
<i>Prov. of Salta</i>			
Dpto. Santa Victoria, Loc. Los Toldos, Río Toldos, frente a la Quebrada del Astillero	30/X/1987	Novara 7129 (SI)	
<i>Prov. of Catamarca</i>			
Dpto. Andalgalá, Loc. El Condado	4/V/1916	Jorgensen 1418 (SI)	

Table 3 summarizes the anatomical quantitative variables of the same species and table 4 shows the quantitative variables that differ between these five species.

Anomocytic stomata are present in the five studied species and this coincides with the reports of Metcalfe and Chalk (1972) for the Asteraceae; Cortadi *et al.* (1999) for *B. articulata*, *B. crispa*

and *B. trimera* and Freire *et al.* (2007) for *B. microcephala*. Cyclocytic stomata in *B. articulata* and anisocytic stomata in *B. trimera* were previously reported by Pertusi (1987). Other authors also reported anisocytic stomata in *B. trimera* (Cortadi *et al.*, 1999; Freire *et al.*, 2007) and *B. crispa* (Ariza Espinar, 1973; Cortadi *et al.*, 1999; Barboza *et al.*, 2001; Freire *et al.*, 2007).

Figure 1.- Stomata type present in the five studied species

A-D: Scanning electron micrograph; **E:** light micrograph. **A-B:** ciclocytic stomata of *B. gaudichaudiana* and *B. articulata*, respectively; **C:** anisocytic stomata of *B. trimera*; **D-E:** anomocytic stomata of *B. crispa* and *B. microcephala*, respectively.

Table 2.- Differential anatomical qualitative variables of five species of sect. Caulopterae with winged stems

	Wings				
	<i>Ba</i>	<i>Bc</i>	<i>Bg</i>	<i>Bm</i>	<i>Bt</i>
ST	Anomocytic Ciclocytic	Anomocytic Anisocytic	Anomocytic Ciclocytic	Anomocytic	Anomocytic Anisocytic
UTT	3-4 basal cells, acutely curved, terminal cell not very long, with the subterminal cell larger than other cells and terminal cell narrower than remaining cells of the trichome (flagellate trichomes)	2-3 basal cells wider than long. Terminal cell is acute at apex and presents thick cell wall, which gives a smooth appearance to its surface (armed trichomes)	3-4 basal cells, acutely curved, terminal cell not very long, with the subterminal cell larger than other cells and terminal cell narrower than remaining cells of the trichome (flagellate trichomes)	3-4 basal cells, acutely curved terminal cell not very long, with the subterminal cell larger than other cells and the terminal cell narrower than remaining cells of the trichome (flagellate trichomes)	3-4 basal cells, curve triangular terminal cell, not very long, shaped "nails", with thin cell walls, giving it a rough appearance on the surface, with subterminal cell as wide as the terminal cell and not longer than the others. (clavate trichomes).
MB	Presence of laminar collenchyma	Absence of laminar collenchyma	Presence of laminar collenchyma	Presence of laminar collenchyma (only 1 or 2 rows)	Absence of laminar collenchyma

MB: marginal bundles; **ST:** stomata type; **UTT:** uniseriate trichome type.

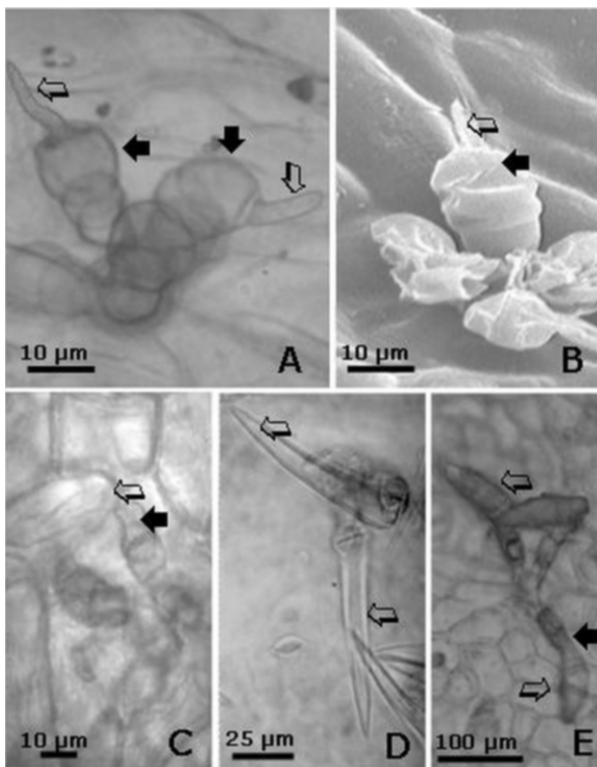
Anisocytic stomata were also reported in *B. articulata* by Ariza Espinar (1973), Cortadi *et al.* (1999) and Barboza *et al.* (2001), but in our study no anisocytic stomata were observed for this species. Freire *et al.* (2007) observed cyclocytic stomata in *B. articulata* and *B. gaudichaudiana*, in agreement with our results (Figure 1).

With regard to the uniseriate type of trichome, we distinguished at least three different types of uniseriate trichomes in the five studied species (Figure 2). Müller (2006) reports tufts of 3-7-celled clavate uniseriate hairs in *Baccharis genistelloides* subsp. *crispa*. In our investigation we observed this type of trichome in *B. trimera*, but not in *B. crispa*, which presented the trichome type described as a whip by Ariza Espinar (1973), or 1-armed trichome by Freire *et al.* (2007), and Metcalfe and Chalk (1972). Freire *et al.* (2007) described the bulbiferous flagellate tri-

chome type for *B. articulata*, *B. gaudichaudiana*, *B. microcephala* and *B. trimera*. In our study, we observed this trichome type in the first three species mentioned but not in *B. trimera*. Ariza Espinar (1973) reports the whip trichome type in most species of *Baccharis* with different lengths of the terminal cell according to the species and uniseriate glandular and whip trichomes in tufts of *B. articulata*.

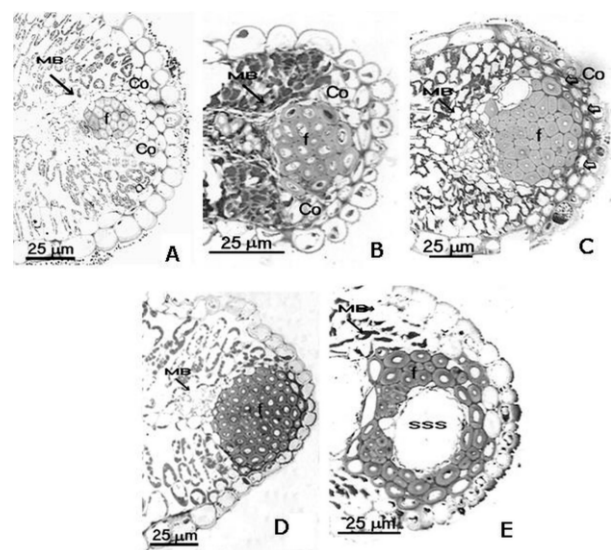
There is collenchyma in the wing margins of *B. articulata* and *B. gaudichaudiana*, which make these species different from *B. crispa* and *B. trimera*, that have a conspicuous cap of sclerenchyma fibres replacing the collenchyma in this position. *B. microcephala* presents only 1-2 rows of collenchyma in the wing margins. We propose that the presence of subepidermal collenchyma in the wing margin is a differential character between some of the species (Figure 3).

Figure 2.- Uniseriate type of trichome



A, C-E: Light micrograph and **B:** scanning electron micrograph. **A-C:** flagellate trichomes of *B. articulata*, *B. gaudichaudiana* and *B. microcephala*, respectively; **D:** armed trichomes of *B. crispa*; **E:** clavate trichomes of *B. trimera*. Arrows indicate terminal cells (white) and sub-terminal cells (black).

Figure 3.- Light micrograph of a wing transverse section



A-B: Presence of collenchyma in the wing margin of *B. articulata* and *B. gaudichaudiana*, respectively; **C:** Presence of 1-2 rows of collenchyma in the wing margin of *B. microcephala*; **D-E:** Absence of collenchyma in the wing margin of *B. crispa* and *B. trimera*, respectively (**Co:** collenchyma; **f:** fibres; **MB:** marginal bundle; **SSS:** secreting schizogenous structures).

Table 3.- Quantitative variable's mean and standard error of *B. articulata*

		<i>Ba</i>	<i>Bc</i>	<i>Bg</i>	<i>Bm</i>	<i>Bt</i>
Stem (cross-section)	Perimeter (mm)	2.14 ± 0.46	3.00 ± 0.62	3.17 ± 0.66	3.55 ± 0.31	3.10 ± 0.84
	Number of SSS	3.00 ± 1.00	1.00 ± 1.00	8.00 ± 2.00	1.00 ± 1.00	8.00 ± 3.00
	Number of SSS per Stem (mm)	1.23 ± 0.38	0.35 ± 0.30	2.51 ± 0.59	0.28 ± 0.18	2.77 ± 1.44
	SSS length (µm)	17.00 ± 5.33	24.80 ± 8.67	51.67 ± 13.29	25.50 ± 10.75	58.83 ± 14.08
	SSS width (µm)	28.33 ± 7.20	14.80 ± 5.76	34.00 ± 14.42	12.50 ± 3.00	29.33 ± 10.86
Wings (cross-section)	Wings width	0.8 ± 0.23	1.74 ± 0.87	2.94 ± 0.62	1.14 ± 0.47	2.60 ± 1.12
	Number of SSS	3.00 ± 1.00	2.00 ± 2.00	11.00 ± 3.00	1.00 ± 1.00	9.00 ± 4.00
	Number of SSS per Wing (mm)	3.73 ± 1.86	1.31 ± 1.12	3.60 ± 1.13	0.53 ± 0.51	3.50 ± 0.86
	SSS length (µm)	40.67 ± 20.42	22.80 ± 4.38	83.71 ± 26.26	46.43 ± 17.27	106.67 ± 30.55
	SSS width (µm)	33.00 ± 10.49	17.00 ± 5.83	48.00 ± 17.17	23.43 ± 3.09	54.50 ± 20.43
Wings (diaphanised)	Stomata density	47.00 ± 7.00	119.00 ± 29.00	48.00 ± 10.00	82.00 ± 5.00	138.00 ± 29.00
	Stomata index	7.03 ± 0.97	13.00 ± 1.42	5.00 ± 0.51	6.54 ± 1.00	13.83 ± 1.86
	Stomata length (µm)	53.27 ± 3.68	29.70 ± 0.74	58.54 ± 3.95	40.12 ± 5.63	31.93 ± 2.27
	Stomata width (µm)	41.03 ± 3.21	25.83 ± 1.18	49.00 ± 6.37	31.76 ± 3.72	28.97 ± 2.89
	Tuft of trichomes density	22.00 ± 5.00	28.00 ± 4.00	34.00 ± 18.00	20.00 ± 10.00	16.00 ± 7.00

Ba: *B. articulata*; **Bc:** *B. crispa*; **Bg:** *B. gaudichaudiana*; **Bm:** *B. microcephala*; **Bt:** *B. trimera*; SSS: schizogenous secreting structure.

Table 4.- Summary of quantitative variables that differ between sect. Caulopterae species with winged stems in Argentina

	<i>Ba</i>	<i>Bc</i>	<i>Bg</i>	<i>Bm</i>	<i>Bt</i>
<i>Ba</i>	Density, index, length and width of stomata, Stem number of SSS, Stem length SSS		Width wing, Wing number of SSS	Density, length and width of stomata, Number of SSS per wing	Density, index, length and width of stomata, Stem number of SSS, Stem length SSS, Width wing, Wing number of SSS, Wing length SSS
<i>Bc</i>		Density, index, length and width of stomata, Stem number of SSS, Number of SSS per Stem, Wing number SSS, Wing length SSS		Stomata index	Stem number of SSS, Number of SSS per Stem, Stem length SSS, Wing number SSS, Number of SSS per wing, Wing length SSS, Wing width SSS
<i>Bg</i>				Density, length and width of stomata, Stem number of SSS, Number of SSS per Stem, Wing number of SSS, Number of SSS per Wing	Density, index, length and width of stomata
<i>Bm</i>					Density, index and length of stomata, Stem number of SSS, Number of SSS per Stem, Stem length SSS, Wing number SSS, Number of SSS per wing, Wing length SSS
<i>Bt</i>					

Quantitative variables show statistically significant differences between the species ($p < 0.05$).

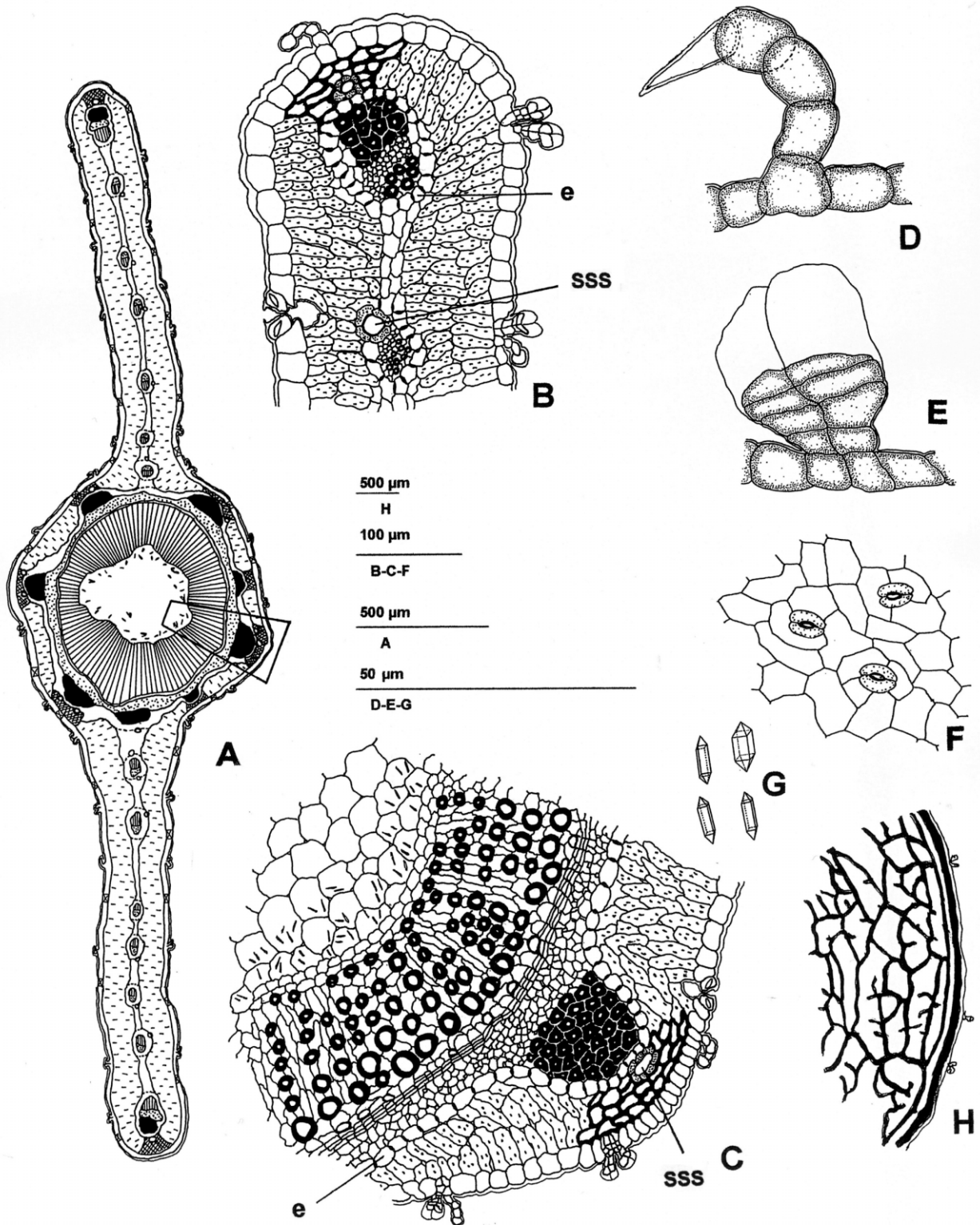
The presence of subepidermal collenchyma in the wing margin for *B. articulata* has been previously reported (Ariza Espinar, 1973; Müller, 2006). It is interesting to note that Müller (2006) also reported the presence of collenchyma in *B. genistelloides* in this position; however our results are not in agreement with previous reports as we did not observed any collenchyma in *B. crispa* and *B. trimera*. Cortadi *et al.* (1999) reported the presence of 1 row of collenchyma in *B. trimera* and its absence in *B. crispa*.

Conclusion

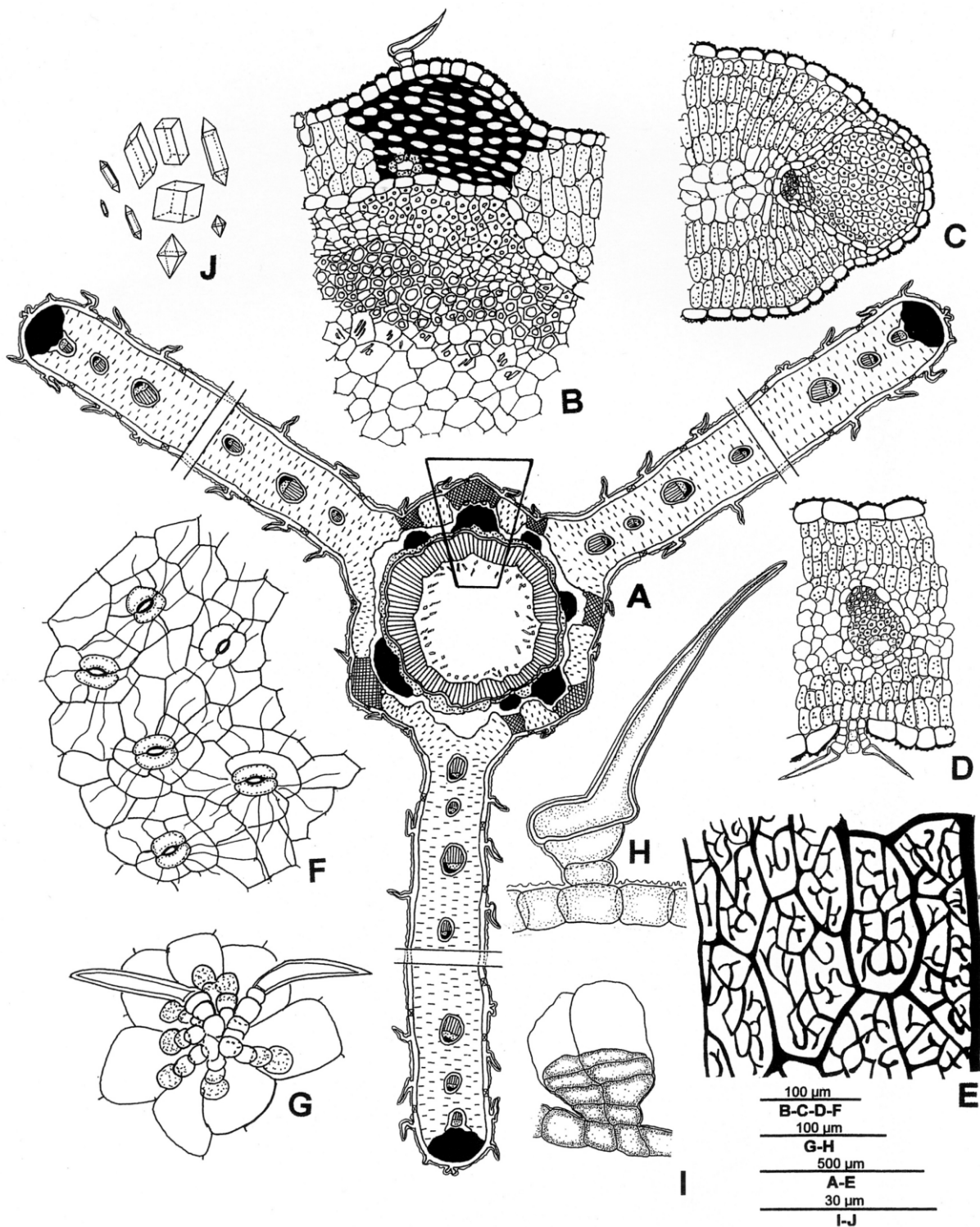
According to these results, we conclude that we can characterize the five winged stem species of sect. Caulopterae using the selected qualitative and quantitative variables determined in this study.

As part of quality control of herbal medicines, five micrographic monographies of the studied species were elaborated (Figures 4, 5, 6, 7 and 8).

Figure 4.- *Baccharis articulata*

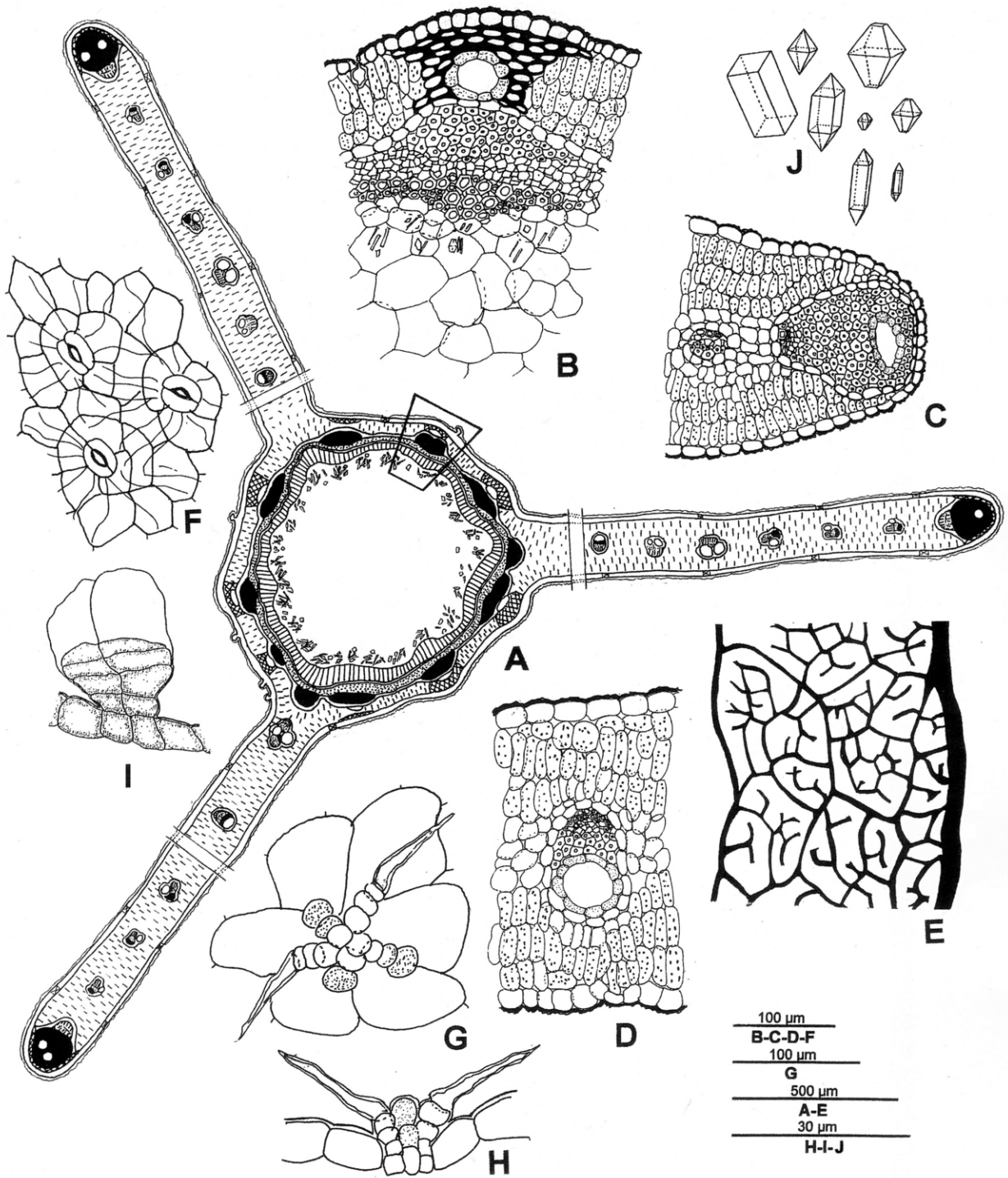


A: 2-winged stem representative diagram; B: detail of the wing margin with collenchyma and a secreting schizogenous structure; C: Stem detail, as indicated in A, with a secreting schizogenous structure; D-E: trichomes, D: non-glandular; E: glandular. F: Surface view of the wing epidermis showing anomocytic stomata; G: polyhedral crystals of calcium oxalate; H: wing vascularization; e: endodermis; sss: secreting schizogenous structure.

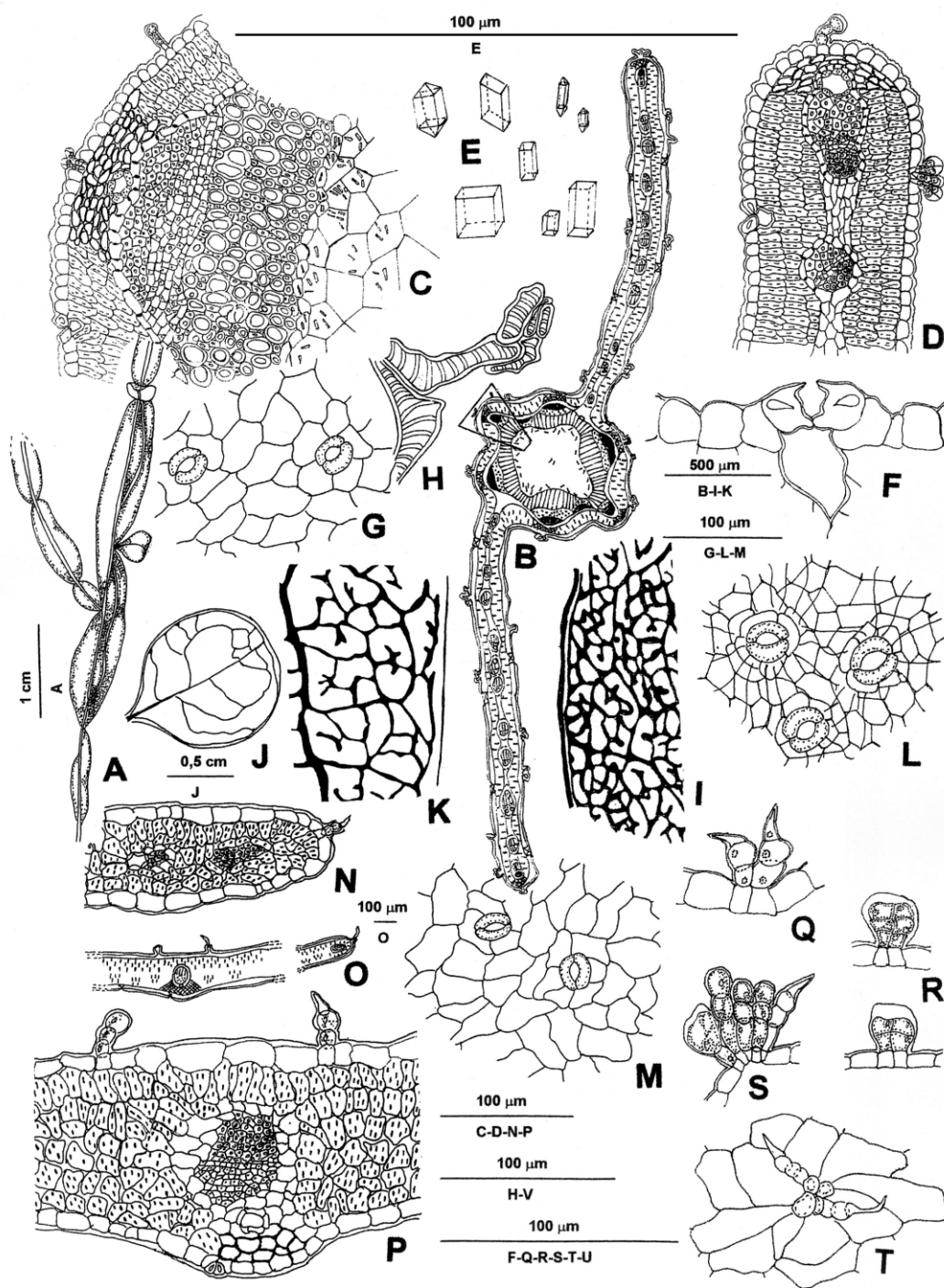
Figure 5.- *Baccharis crispera*

A: 3-winged stem representative diagram; **B:** Stem detail, as indicated in A, with a secreting schizogenous structure; **C:** detail of the wing margin with fibres and a secreting schizogenous structure; **D:** detail of wing vascular bundles with a secreting schizogenous structure; **E:** wing vascularization; **F:** Surface view of the wing epidermis showing aniscytic stomata and striated cuticle; **G:** Surface view of glandular and non-glandular tuft of trichomes; **H:** non-glandular trichome; **I:** glandular trichome; **J:** crystals of calcium oxalate.

Figure 6.- *Baccharis trimera*

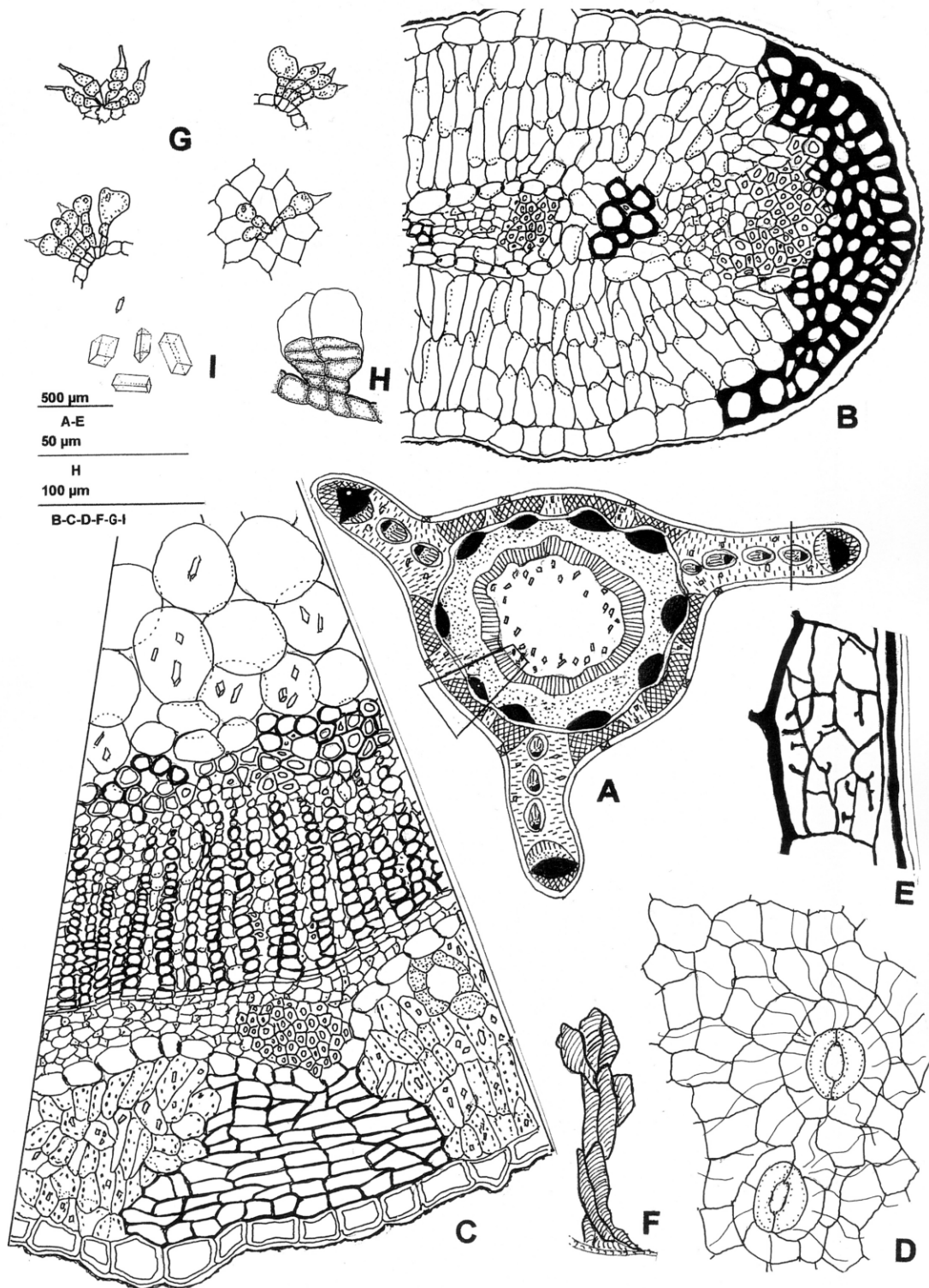


A: 3-winged stem representative diagram; B: Stem detail, as indicated in A, with a secreting schizogenous structure; C: detail of the wing margin with fibres and a secreting schizogenous structure; D: detail of wing vascular bundles with a secreting schizogenous structure; E: wing vascularization; F: Surface view of the wing epidermis showing aniscytic stomata; G: Surface view of glandular and non-glandular tuft of trichomes; H: cross section of G; I: glandular trichome; J: crystals of calcium oxalate.

Figure 7.- *Baccharis gaudichaudiana*

A: exomorphology of winged stem; B, C, D, F: winged stem cross section; B: 2-winged stem representative diagram; C: stem detail, as indicate in B, with a secreting schizogenous structure; D: wing margin detail, as indicate in B, with a secreting schizogenous structure; F: raised estomata; G-H: wing surface view; G: epidermis with anomocytic stomata; H: vascular endings with dilated tracheids; I: wing vascularization; J-P: leaf; J: external morphology; K-P: internal morphology; K-M: surface view; K: architecture; L-M: epidermis; L: adaxial; M: abaxial, both with anomocytic stomata; N-P: cross section; N: margin detail; O: lamina, representative diagram; P: middle nerve detail; Q-T: trichomes; Q: non-glandular; R-T: glandular; E: polyhedral crystals of calcium oxalate.

Figure 8.- *Baccharis microcephala*



A: 3-winged stem representative diagram; **B:** wing margin detail with collenchyma, as indicate in A; **C:** stem detail, as indicate in A, with a secreting schizogenous structure; **D-F:** wing surface view; **D:** epidermis with anomocytic stomata and striated cuticle; **E:** wing vascularization; **F:** dilated vascular endings detail; **G:** glandular and non-glandular tuft of trichomes; **H:** glandular trichome; **I:** polyhedral crystals of calcium oxalate.

References

- Ariza Espinar, L. (1973). "Las especies de *Baccharis* (Compositae) de Argentina Central". *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias de Córdoba* 50: 1-305.
- Baker, J.G. (1882-1884). "Compositae III. Asteroideae, Inuloideae. IV. Heliathoideae, Anthemideae, Senecionideae, Cynaroideae, Ligulatae, Mutisiaceae" in: Martius, C.F. and Eichler, A.W. (eds) *Flora brasiliensis: enumeratio plantarum*. F Fleischer, Leipzig, Munich: 1-100.
- Barboza, G.E.; Bonzani, N.; Filippa, E.M.; Luján, M.C.; Morero, M.; Bugatti, M.; Decolatti, N.; Ariza Espinar, L. (2001). *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. En: *Atlas Histomorfológico de Plantas de Interés Medicinal*. Universidad Nacional de Córdoba: 32-35.
- Barroso, G.M. (1976). "Compositae, Subtribu Baccharidinae Hoffman. Estudo das espécies ocorrentes no Brasil". *Rodriguésia* 28: 3-273.
- Cortadi, A.; Di Sapio, O.; Mc Cargo, J.; Scandizzi, A.; Gattuso, S.; Gattuso, M. (1999). "Anatomical studies of *Baccharis articulata*, *Baccharis crispa* and *Baccharis trimera*, 'Carquejas' used in folk medicine". *Pharmaceutical Biology* 37: 357-365.
- Correa, M.P. (1985). *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. IBDF, Rio de Janeiro.
- Cuatrecasas, J. (1967). "Revisión de las especies colombianas del género *Baccharis*". *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas* 13: 5-102.
- D'Ambrogio, A. (1986). *Manual de Técnicas en Histología Vegetal*. Hemisferio Sur, Buenos Aires. De Candolle, A.P. (1836). "Compositae: *Baccharis*". In: *Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis* 5: 398-429.
- Farmacopea Nacional Argentina VI ed. (1978). *Codex Medecamentarius Argentino*. Buenos Aires.
- Farmacopéia Brasileira IV Edição. (2002). Atheneu Editora S. A. Sao Paulo.
- Fielding, R.R. (2001). "*Baccharis*: A genus of the Asteraceae new to Canada". In: Payne S.H (ed.) *Proceedings of the Nova Scotian Institute of Science*. Halifax, Nova Scotia: 214-215.
- Freire, S.E.; Urtubey, E.; Giuliano, D.A. (2007). "Epidermal characters of *Baccharis* (Asteraceae) species used in traditional medicine". *Caldasia* 29: 23-38.
- Gattuso, M.A.; Gattuso, S.J. (2002). *Técnicas Histológicas en Material Vegetal*. UNR Editora, Rosario.
- Gianello, J.C.; Ceñal, J.P.; Giordano, O.S.; Tonn, C.E.; Petenatti, M.E.; Petenatti, E.M.; Del Vitto, L.A. (2000). "Medicamentos Herbarios en el Centro-Oeste Argentino. II. 'Carquejas': Control de Calidad de las Drogas Oficiales y Sustituyentes". *Latin American Journal of Pharmacy* 19: 99-103.
- Giuliano, D.A. (2001). "Clasificación Infragenérica de las especies argentinas de *Baccharis* (Asteraceae, Astereae)". *Darwiniana* 39: 138-154.
- Heering, W.C. (1904). "Die *Baccharis*-Arten des Hamburger Herbars". *Jahrbuch der Hamburgischen Wissenschaftlichen Anstalten* 21: 1-46.
- Hieronymus, J. (1882). *Plantae Diaforicae, Florae Argentinae*". *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias de Córdoba* 4: 159-160.
- Holmgren, P.K.; Holmgren, N.H.; Barnett, L.C. (1990). *Index Herbariorum*. New York Botanical Garden, New York.
- Johansen, D.A. (1940). *Plant microtechnique*. MacGraw-Hill, New York.
- Lessing, C.F. (1831). "Synanthereae: Molins-Alatae". *Linnaea* 6: 83-170.
- Lonni, A.A.S.G.; Scarminio, I.S.; Silva, L.M.C.; Ferreira, D.T. (2005). "Numerical Taxonomy Characterization of *Baccharis* Genus Species by Ultraviolet-Visible Spectrophotometry". *Analytical Science* 21: 235-239.
- Martínez Crovetto, R. (1981). "Plantas utilizadas en medicina en el NO de Corrientes". *Fundación Miguel Lillo*, Tucumán.
- Metcalf, C.R.; Chalk, R. (1972). *Anatomy of the Dicotyledons*. Clarendon Press, Oxford, London.
- Müller, J. (2006). "Systematics of *Baccharis* (Compositae, Astereae) in Bolivia, including an overview of the genus". *The American Society of Plant Taxonomists*, Michigan.
- Pertusi, L.A. (1987). "Caracteres foliares de especies de *Baccharis* (Compositae) tóxicas para el ganado, de la cuenca del arroyo Sauce Corto (Partido de Coronel Suárez, Provincia de Buenos Aires)". *Revista del Museo de La Plata* 93: 119-191.
- Rodríguez, M.V.; Gattuso, S.J.; Gattuso, M.A.

- (2008). “*Baccharis crispa* and *Baccharis trimera* (Asteraceae): A Review and New Contributions for their Micrographic Normalization”. *Latin American Journal of Pharmacy* 27: 387-397.
- Simões-Pires, C.A.; Debenedetti, S.; Spegazzini, E.; Mentz, L.A.; Matzenbacher, N.I.; Limberger, R.P.; Henriques, A.T. (2005). “Investigation of the essential oil from eight species of *Baccharis* belonging to Sect. *Caulopterae* (Asteraceae, Astereae): a taxonomic approach”. *Plant Systematics and Evolution* 253: 23-32.
- Sorarú, S.B.; Bandoni, A.L. (1978). *Plantas de la Medicina Popular Argentina*. Albatros, Buenos Aires.
- Strittmatter, C. (1973). “Nueva Técnica de Diafanización”. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 15: 126-129.
- Strittmatter, C. (1979). “Modificación de una técnica de coloración Safranina-Fast Green”. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 18: 121-122.
- Toursarkissian, M. (1980). *Plantas Medicinales de la Argentina*. Hemisferio Sur S. A., Buenos Aires.
- Weddell, H.A. (1855-1856). *Chloris andina*. P. Bertrand, Paris.

Dominguezia

Índice acumulado

Dominguezia 27(2) 2011

Etnobotánica médica de las “ligas” (Loranthaceae *sensu lato*) entre indígenas y criollos de Argentina (GUSTAVO F. SCARPA y MARÍA C. MONTANI)

Caracterización de harinas de chía (*Salvia hispanica* L.) comercializadas en Rosario (Santa Fe, Argentina) (CARLOS PÉRIGO, MARCOS CASES, MIRIAN BUENO, OSVALDO DI SAPIO, HÉCTOR BUSILACCHI y CECILIA SEVERIN)

Smilax campestris Griseb. –Smilacaceae–: variaciones en la producción de polifenoles en hojas sanas y atacadas por la oruga de la mariposa *Agraulis vanillae* L. –Heliconidae– (ANA Z. RUGNA, RAFAEL A. RICCO, ALBERTO A. GURNI y MARCELO L. WAGNER)

Evaluación farmacopeica de la calidad de drogas vegetales y productos relacionados. Estado actual en las farmacopeas argentina y brasilera (ARNALDO L. BANDONI)

Herbario de plantas usuales del Paraguay y nordeste argentino atribuido a Domingo Parodi Museo de Farmacobotánica “Juan A. Domínguez” (GUSTAVO C. GIBERTI)

Dominguezia 28(1) 2012

Acerca del “quintral” (ALBERTO A. GURNI)

Aspectos anatómicos del leño y composición de los aceites esenciales de especies arbustivo-leñosas del ecotono y la estepa del noroeste de la Provincia del Chubut (PEDRO E. GUERRA, SILVIA B. GONZÁLEZ, HELGA J. KIRNER, DAIANA S. RETTA, PAOLA DI LEO LIRA y MARIANO F. GÓMEZ)

El baile de máscaras de los significados (ALICIA M. ZORRILLA)

Dominguezia 28(2) 2012

Hojas de olivo (*Olea europaea* –Oleaceae–) como adulterante en oréganos (*Origanum* spp. –Lamiaceae–) comercializados en la Ciudad de Buenos Aires, Argentina (BEATRIZ G. VARELA y RAFAEL A. RICCO)

Variación en la composición de polifenoles en *Schinus longifolius* (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) en respuesta a la infestación por *Cecidoses eremita* Curtis (Lepidoptera - Cecidosidae) (IGNACIO J. AGUDELO y RAFAEL A. RICCO)

Búsqueda de compuestos antiprotozoarios en especies de la flora medicinal argentina (VALERIA P. SÜLSEN)

Problemática sanitaria y social de la enfermedad de Chagas. Aporte de la medicina tradicional argentina (VIRGINIA S. MARTINO)

III Jornadas Nacionales de Plantas Aromáticas Nativas y sus Aceites Esenciales. Resúmenes