

ISSN 1669-6859

Dominguezia

Museo de Farmacobotánica
"Juan A. Domínguez"

Facultad de Farmacia y Bioquímica
Universidad de Buenos Aires



Lantana camara L. (Verbenaceae)

Propietario
Universidad de Buenos Aires
Facultad de Farmacia y Bioquímica

Museo de Farmacobotánica
"Juan Aníbal Domínguez"

Dominguezia

Vol. 29(2) - 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:
***Lantana camara* L. (Verbenaceae)**

Lámina extraída de *Hortus Camdenensis* (1861).

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°. 5091997.

Se terminó de editar en diciembre de 2013.

Índice de contenido

Editorial. Las plantas medicinales en Latinoamérica	5
Martha Gattuso	
Características de identidad y pureza de las hojas de <i>Litsea guatemalensis</i> Mez. (Lauraceae)	7
María E. Chicas, María E. Paredes, Margarita Paz y Armando Cáceres	
Morfoanatomía de las hojas de <i>Lantana camara</i> L. (Verbenaceae), especie medicinal popularmente usada en Guatemala	15
Sonia E. Castellanos, María L. Flores, Sharol S. Reinoso, Armando Cáceres y María E. Paredes	
Caracteres farmacognósticos para el control de calidad de <i>Petiveria alliacea</i>, <i>Lippia graveolens</i> y <i>Tagetes lucida</i>	25
Bonier M. Garrido, Sindy C. Polanco, Isabel C. Gaitán, Armando Cáceres y María E. Paredes	
Estudio anatómico de <i>Baccharis grisebachii</i> Hieron. (Asteraceae). Usada en la medicina tradicional de la Provincia de San Juan, Argentina	41
Martín Hadad, Susana Gattuso, Martha Gattuso, Gabriela Feresin y Alejandro Tapia	

Index

Editorial. Medicinal Plants in Latin America	5
Martha Gattuso	
Characteristics of identity and purity of leaves of <i>Litsea guatemalensis</i> Mez. (Lauraceae)	7
María E. Chicas, María E. Paredes, Margarita Paz, and Armando Cáceres	
Morphoanatomical study of <i>Lantana camara</i> L. (Verbenaceae) leaves, a medicinal species popularly used in Guatemala	15
Sonia E. Castellanos, María L. Flores, Sharol S. Reinoso, Armando Cáceres, and María E. Paredes	
Pharmacognostic characters for the quality control of <i>Petiveria alliacea</i>, <i>Lippia graveolens</i>, and <i>Tagetes lucida</i>	25
Bonier M. Garrido, Sindy C. Polanco, Isabel C. Gaitán, Armando Cáceres, and María E. Paredes	
Anatomical studies of <i>Baccharis grisebachii</i> Hieron. (Asteraceae). Used in folk medicine of San Juan province, Argentina	41
Martín Hadad, Susana Gattuso, Martha Gattuso, Gabriela Feresin, and Alejandro Tapia	

Las plantas medicinales en Latinoamérica

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.

La región de Latinoamérica y el Caribe cuenta con poco más de 2.000 millones de hectáreas de superficie terrestre, que representan el 15 % de la superficie terrestre del planeta, tiene la mayor diversidad de especies y siete de las 25 ecorregiones terrestres biológicamente más ricas del mundo: contienen en conjunto, más de 46.000 especies de plantas vasculares.

El valor de los ecosistemas naturales trasciende el valor económico directo; los servicios que prestan son indispensables para la supervivencia de la humanidad en el planeta: permiten la estabilización climática y atmosférica; regulan el ciclo hídrico y de la humedad mesoclimática; son fuente de productos forestales maderables, farmacéuticos, de la vida silvestre, entre muchas otras y representan un valor paisajístico y turístico creciente. Sin embargo, no existen generalmente, políticas de estado para el manejo sustentable de los recursos naturales. Así, deviene una sobreexplotación de las especies y un empobrecimiento de los ecosistemas.

Desde el punto de vista de la conservación la pérdida de la agrobiodiversidad que comprende genes, especies y ecosistemas, se ha acentuado en las últimas décadas, debido al uso cada vez más intenso, de los recursos naturales y al mal manejo de los ambientes. A pesar de los recientes avances en la química de síntesis y combinatoria y el desarrollo de nuevos fármacos, la población continúa buscando en las plantas medicinales y en los productos derivados una opción para el tratamiento y la prevención de los principales males que le aquejan.

Una evidencia de esta búsqueda es el creciente interés en el uso validado y seguro de las plantas medicinales y, además, la industria de productos fitofarmacéuticos que se desarrolla en todo el mundo. El desarrollo de una cadena productiva de plantas medicinales y aromáticas constituye una oportunidad interesante para la región latinoamericana,

tanto en el sentido económico, como en el social y el ambiental.

A pesar del amplio uso de las plantas medicinales en los países latinoamericanos, se han estudiado pocas plantas con la profundidad que se requiere para la aplicación médica; los datos de seguridad y eficacia están dispersos y disponibles solo para un número reducido, y se carece de metodología que garantice su calidad. Esta situación limita el desarrollo, la producción y la comercialización de estos productos en los mercados nacionales e internacionales.

Las plantas medicinales son importantes para la investigación farmacológica y el desarrollo de medicamentos no solo cuando sus constituyentes se usan directamente como agentes terapéuticos sino también como materiales de base para la síntesis de los medicamentos o como modelos para compuestos farmacológicamente activos. Por consiguiente, la reglamentación de la explotación y la exportación, junto con la cooperación y la coordinación internacionales, son esenciales para su conservación a fin de asegurar su disponibilidad para el futuro.

En este contexto las plantas medicinales representan un campo que vale la pena investigar, ya que constituyen una alternativa terapéutica válida y sustentada por organizaciones internacionales de la salud.

Diversos grupos de investigación de Latinoamérica se ocupan de los aspectos concernientes a la producción de fitofármacos, desde la búsqueda e identificación de principios activos hasta la validación científica de los usos vernáculos de los vegetales con fines medicinales. Por lo tanto, involucra al establecimiento de normas de control de calidad, que conllevan a la obtención de productos confiables que se puedan utilizar con seguridad y eficacia en la atención primaria de la salud.

Para la sistematización de una cadena de valor que involucre a los productos naturales se requiere de una posición multidisciplinaria e intersectorial compuesta por un mínimo de cinco eslabones integrados entre sí

por las buenas prácticas específicas para cada componente: 1. Detección-Identidad. 2. Agrotecnología. 3. Validación. 4. Tecnología Fitofarmacéutica. 5. Uso Racional -Fitoterapia.

Se debe apoyar el desarrollo de acciones interdisciplinarias (botánicas, agronómicas, químicas, de ingeniería) que conduzcan a resultados pasibles de aplicación industrial dado que existen empresas en la región interesadas en trabajar conjuntamente con los grupos de investigación para establecer las normas de calidad de estos productos, y así validar en una forma multicéntrica las metodologías analíticas propuestas para su evaluación. Los resultados de estas evaluaciones podrán servir como base para la elaboración de nuevos productos y, a su vez, contribuir a un mejor aprovechamiento de la flora regional, incrementando el acervo de información en la región acerca de sus recursos y su explotación.

Podemos concluir que el crecimiento de la industria farmacéutica y el desarrollo incesante de nuevos y más eficaces productos medicinales sintéticos y biológicos no ha disminuido la importancia de las plantas medicinales en muchas sociedades. Por el contrario, el aumento de la población en el mundo en desarrollo y el creciente interés en las naciones industrializadas han ampliado enormemente la demanda de las plantas medicinales mismas y sus productos derivados. La reglamentación de los países para la evaluación de la calidad, la inocuidad y la eficacia de las plantas medicinales, y el trabajo realizado por distintos estamentos gubernamentales en apoyo de la preparación de normas en este campo, han sido útiles para fortalecer el reconocimiento de la función que ellas desempeñan en la atención de la salud.

Características de identidad y pureza de las hojas de *Litsea guatemalensis* Mez. (Lauraceae)

María E. Chicas, María E. Paredes, Margarita Paz, Armando Cáceres*

Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), Edificio T-11, Ciudad Universitaria zona 12, Guatemala.

*Autor a quien dirigir la correspondencia: acaceres46@gmail.com.

Resumen

Se realizó una investigación sobre las hojas en diferentes fases fenológicas de *Litsea guatemalensis* (“laurel mexicano”), de tres localidades de Sacatepéquez, Guatemala. Se establecieron las características macroscópicas, organolépticas, anatómicas e histoquímicas que identifican la droga cruda. Se evaluó la presencia de alcaloides, almidones, grasa y aceites, mucílagos, saponinas y taninos. Se completaron los parámetros de calidad con mediciones cuantitativas de cenizas totales y rendimiento de aceite esencial.

Characteristics of identity and purity of leaves of *Litsea guatemalensis* Mez. (Lauraceae)

Summary

Leaves at different phenological phases of *Litsea guatemalensis* (Mexican laurel) from three localities of Sacatepequez, Guatemala, were investigated. Macroscopical, organoleptical, anatomical, and histochemical characteristics were established identifying the crude drug. In addition, the presence of alkaloids, starches, fat and oils, mucilage, saponins and tannins were evaluated. Other quality parameters with quantitative measurements such as total ash and essential oil yields were also assessed.

Introducción

Litsea guatemalensis Mez. (Lauraceae), conocida como “laurel mexicano”, es una especie nativa de Mesoamérica que crece en sitios que están de 1.500 a 3.150 m.s.n.m. en bosques abiertos de pino y matorrales, desde el centro de México y llega hasta Guatemala (Standley y Steyermark, 1952; Cáceres, 1996).

Es intensamente utilizada como planta medicinal por sus amplias propiedades como aromática, antiséptica, astringente, balsámica, carminativa, emenagoga, emoliente, estimulante, espasmolítica, febrífuga y pectoral, en afecciones respiratorias, gastroenteritis, carencia de leche materna e inflamación; también en lavados y baños para reducir el cansancio, reducir ataques epilépticos, y tratar úlceras e inflamación de piernas (Cáceres 2006).

Palabras clave: *Litsea guatemalensis* - hojas - caracteres morfológicos - organolépticos - anatómicos - químicos.

Key words: *Litsea guatemalensis* - leaves - morpho-anatomical characteristics - organoleptic-chemical characteristics.

Por el gran interés e importancia que presenta *L. guatemalensis* como especie medicinal, este estudio tuvo como objetivo establecer los caracteres de identidad y pureza cuando se presenta en estado de droga cruda; esos caracteres son requisitos indispensables para garantizar una materia prima óptima para la elaboración de formas farmacéuticas.

La composición química del aceite esencial de especímenes guatemaltecos demostró una alta variabilidad según las zonas de recolección; dominan tetrahidrolinalol, linalol, 1,8-cineol y carvona (Cruz y col., 2012).

Las principales actividades demostradas experimentalmente son la actividad antiinflamatoria y la antihiperalgnesia, atribuidas principalmente a pinocembrina y escopoletina (Silva y col., 2012).

Materiales y métodos

Materiales

Material vegetal

Se recolectaron aproximadamente 1 kg de hojas de ejemplares procedentes de tres localidades del Departamento de Sacatepéquez; Loc. municipio San Bartolomé Milpas Altas (2.724 m.s.n.m., latitud 14° 35' 50,0" N, longitud 90° 41' 35,4" O, W 693), (N° BIGU 47545 y N° CFEH 1094), Loc. Municipio Magdalena Milpas Altas (1.993 m.s.n.m., latitud 14° 33' 22,0" N, longitud 90° 40' 30,1" O, SW 2 m), (N° BIGU 47543 y N° CFEH 1093) y Loc. Cerro Alux del municipio de San Lucas Sacatepéquez (2.108 m.s.n.m., latitud 14° 36' 42,2" N, longitud 90° 37' 47,1" O, posición ± 6 m) (N° BIGU 47544 y N° CFEH 1092).

La recolección se realizó durante los meses de febrero a mayo de 2009 y, además, se tuvo en cuenta las diferentes fases fenológicas (desarrollo foliar, inicio de floración e inicio de fructificación).

Se confeccionaron ejemplares testigos de herbario, que se encuentran depositados en el Herbario de la Escuela de Biología (BIGUA) de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC) y el Herbario CFEH del Laboratorio de Productos Naturales Farmaya.

La identificación botánica del material se realizó en colaboración con el ingeniero agrónomo Mario Esteban Véliz Pérez del Herbario BIGU y el botánico del herbario CFEH Luis Álvarez.

Métodos

Una porción de aproximadamente 1 g de hojas de la fase de desarrollo foliar de cada localidad fue conservado en cámara húmeda, utilizando bolsas con cierre hermético y se almacenó en refrigeración para su análisis organoléptico, anatómico e histoquímico, mientras que el resto del material colectado fue secado a la sombra para la realización de las pruebas de pureza (cenizas totales) y determinación de aceites esenciales.

Características de identidad

Consistió en la descripción detallada de los caracteres organolépticos, macroscópicos, anatómicos e histoquímicos. Para el estudio anatómico de las hojas algunos ejemplares frescos fueron cortados transversalmente a mano alzada en la porción media de la hoja.

Las hojas se diafanizaron según la técnica de Dizeo de Strittmatter (1973); en las descripciones de la arquitectura foliar se utilizó la terminología propuesta por Hickey (1973) y para los tricomas, la de Üphof y col. (1962). Las coloraciones empleadas fueron safranina en etanol al 80 % y safranina - fast green.

Las características epidérmicas y estructuras foliares se describieron acorde con la terminología de Metcalfe y Chalk (1950, 1979). Las observaciones microscópicas se efectuaron con microscopio óptico Nikon Alphaphot.

Histoquímica

Se efectuaron diversas pruebas histoquímicas a fin de detectar contenidos celulares (Scala, 1912; Johansen, 1940). Para ello se utilizó: sudán IV para lípidos (aceites y sustancias grasas en general), solución de sulfato férrico - formaldehído para taninos, violeta de cresilo para mucílagos, ácido sulfúrico concentrado para saponinas, solución iodo - iodurada para almidón, reacción de Dragendorff para alcaloides.

Características de pureza

Se realizaron ensayos cuantitativos, por triplicado, en el material vegetal seco, de las tres localidades en las diferentes etapas fenológicas. Se determinaron las cenizas totales utilizando una mufla de mesa Thermoline FB1400. Se colocó aproximadamente 1 g de material en estudio en

diferentes crisoles de porcelana, previamente calcinados y a peso constante; las muestras fueron calcinadas a 550 °C hasta obtener cenizas blancas. Se dejaron enfriar los crisoles en un desecador y posteriormente se pesaron y anotaron los resultados.

Por hidrodestilación, mediante un equipo tipo Clevenger, se realizaron tres extracciones para la obtención de los aceites esenciales. Para esta determinación se utilizaron 25 g de material seco de cada localidad en las diferentes etapas fenológicas. Se destiló a temperatura constante durante aproximadamente 2 horas utilizando 500 ml de agua destilada y 2 ml de un disolvente orgánico (pentano), manteniendo un flujo de destilación de 2 - 3 ml por minuto. La caracterización química de los aceites esenciales fue realizada mediante la técnica de cromatografía en capa fina empleando cromatoplasmas de sílica gel Merck® como fase estacionaria, y como fase móvil se empleó tolueno - acetato de etilo (93:7). Como estándares de comparación se utilizaron limoneno, citral y 1,8 cineol (Wagner y Bladt, 1996).

El análisis de la materia vegetal fue llevado a cabo en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT) y en el Laboratorio de Bioensayos del Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la USAC.

Resultados

Caracteres macroscópicos y organolépticos

Los ejemplares de estudio son árboles silvestres de follaje perenne, dioicos, con altura aproximada máxima de 5 m, con ramas delgadas y tallo leñoso de color pardo oscuro. Con un diámetro que oscila entre 35 y 50 cm (Figuras 1, A - C).

Las hojas son simples, discoloras, verde brillante en el haz y verde grisáceas en el envés, lustrosas, aromáticas, con disposición alterna, elípticas - lanceoladas, de 9,8 cm de longitud, ápice agudo y base cuneiforme, margen entero, con peciolo de 1 cm de longitud lanceolado. La venación es pinnada-reticulada.

Las hojas desecadas (droga vegetal) son de color verde oscuro, opaco con olor *sui generis*, no se fragmentan con facilidad (Figura 1, D).

Caracteres microscópicos-anatómicos

La hoja en corte transversal muestra la epidermis adaxial constituida por una hilera de células cubierta por una delgada cutícula. El mesofilo es de estructura dorsiventral, con una hilera de células en empalizada de paredes delgadas y sin espacios intercelulares. El nervio medio está constituido por un haz colateral abierto, que se encuentra completamente rodeado por una conspicua y casi continua capa de fibras perivasculares y, al igual que los nervios marginales, se halla reforzado del lado de la epidermis abaxial, por colénquima angular; la epidermis abaxial tiene células pequeñas, cutícula delgada y en vista superficial muestra las células de paredes tangenciales con tendencia a rectas, con estomas de tipo anomocíticos y tricomas simples unicelulares (Figuras 1 E - I).

Características histoquímicas

Se evidenció reacción positiva para alcaloides, almidones, grasa y aceites, mucílagos, saponinas y taninos.

El tamizaje permitió evidenciar la presencia de alcaloides en poca cantidad en la nervadura central, mientras que en el parénquima se presentan en mayor cantidad. Los almidones de asimilación están distribuidos en el colénquima y en los parénquimas en empalizada y esponjoso.

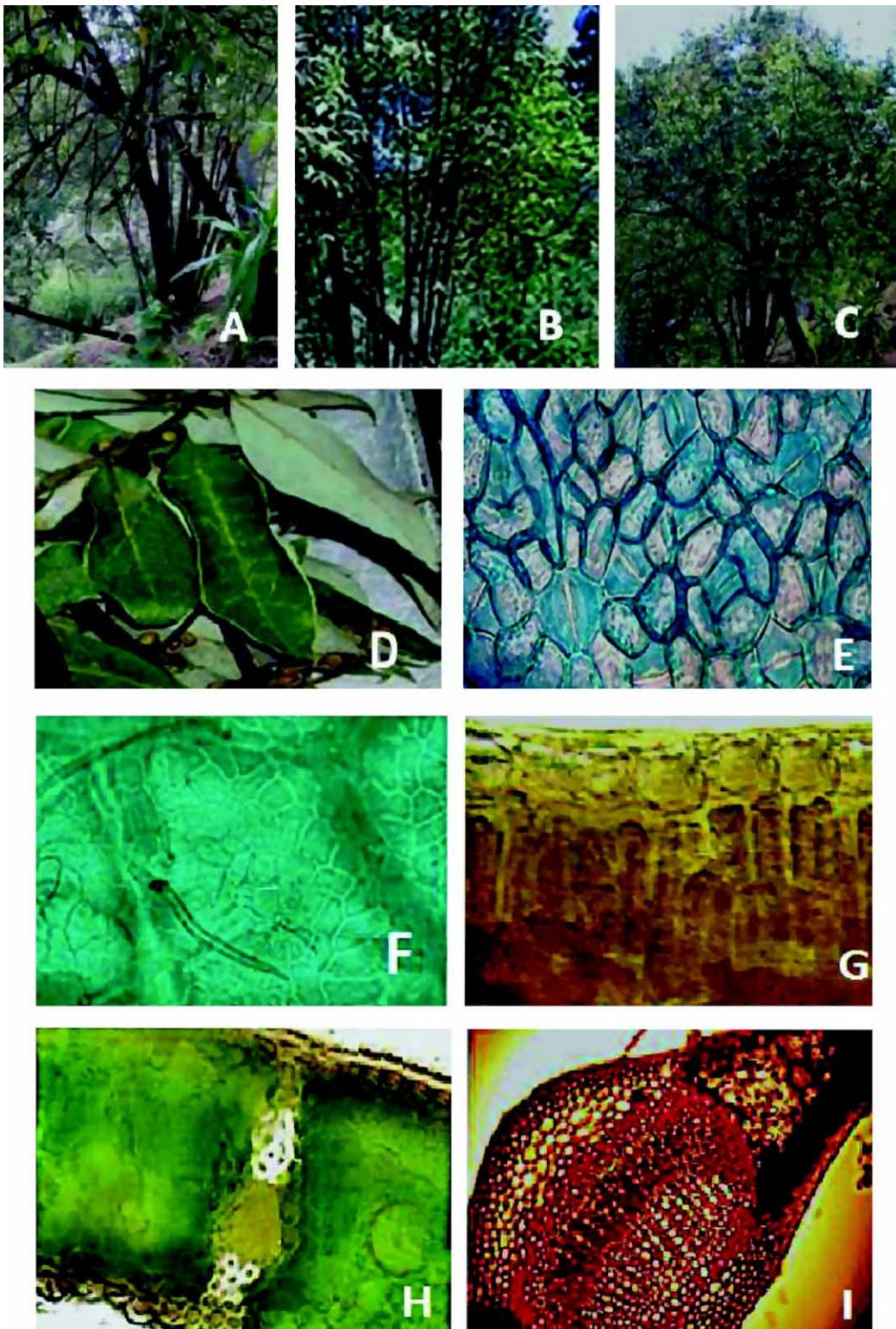
Los depósitos de grasas y aceites son evidentes en la nervadura central y xilema. Los mucílagos y saponinas se encontraron distribuidos en los diferentes tejidos en abundancia, mientras que los taninos se encuentran cerca de las fibras extra xilemáticas de la nervadura central. También presentan poca presencia en el parénquima esponjoso y en el parénquima en empalizada.

Características de pureza

En el análisis de los parámetros de calidad se evidenció que los porcentajes de cenizas totales (Tabla 1) se encuentran dentro de los límites internacionales señalados ($\leq 10\%$) (OMS, 2003).

El porcentaje de rendimiento de aceite esencial durante las fases fenológicas de inicio de floración e inicio de fructificación (Tabla 2), presentaron valores superiores a los informados en otras investigaciones, en las cuales los porcentajes no sobrepasan el 0,85 %, mientras que el porcentaje de rendimiento de la fase de desarrollo foliar fue menor.

Figura 1.- Morfoanatomía de las hojas de *Litsea guatemalensis*



Morfología externa: **A.** Ejemplar de San Bartolomé Milpas Alta; **B.** Ejemplar de Magdalena Milpas Alta; **C.** Ejemplar de cerro Alux; **D.** Droga cruda. Caracteres microscópicos-anatómicos: **E.** Epidermis en vista superficial mostrando estomas anomocíticos; **F.** Tricomas simples unicelulares; **G.** Mesófilo mostrando epidermis y una capa de parénquima en empalizada; **H.** Nervio medio; **I.** Vascularización de la nervadura central.

Tabla 1.- Porcentaje de cenizas totales de hojas de *Litsea guatemalensis*

Localidad muestreada	Fase fenológica	Porcentaje promedio de cenizas totales
San Bartolomé Milpas Altas	Desarrollo foliar	5,20 ± 0,07
	Inicio de floración	4,70 ± 0,13
	Inicio de fructificación	3,90 ± 0,11
Cerro Alux	Desarrollo foliar	5,10 ± 0,25
	Inicio de floración	5,10 ± 0,12
	Inicio de fructificación	4,20 ± 0,38
Magdalena Milpas Altas	Desarrollo foliar	4,30 ± 0,10
	Inicio de floración	4,70 ± 0,55
	Inicio de fructificación	4,30 ± 0,32

Tabla 2.- Porcentaje de rendimiento de aceites esenciales de hojas de *Litsea guatemalensis*

Localidad muestreada	Fase fenológica	Porcentaje promedio de aceites esenciales
San Bartolomé Milpas Altas	Desarrollo foliar	0,50 ± 0,01
	Inicio de floración	1,20 ± 0,25
	Inicio de fructificación	1,30 ± 0,20
Cerro Alux	Desarrollo foliar	0,90 ± 0,16
	Inicio de floración	1,00 ± 0,12
	Inicio de fructificación	1,80 ± 0,29
Magdalena Milpas Altas	Desarrollo foliar	0,70 ± 0,08
	Inicio de floración	1,20 ± 0,32
	Inicio de fructificación	0,80 ± 0,12

Discusión

Los resultados coinciden con la literatura en que las hojas de *L. guatemalensis* contienen alcaloides, saponinas y aceites esenciales; pero además, fue posible evidenciar reacciones positivas para almidones, mucílagos y taninos en todas las muestras estu-

diadas (Cáceres, 2006). La presencia de almidones de asimilación en las hojas del laurel fue informada por Miyake (1902), en un estudio realizado en el jardín botánico de Tokio; encontró que los cloroplastos de las hojas siempre verdes, almacenan almidones de asimilación para favorecer la fotosíntesis en los climas fríos, hace referencia a que

Laurus nobilis L. presenta escasa cantidad de almidones, mientras *Litsea japonica* (Thunb.) Jussieu presenta muy abundante cantidad de almidones de asimilación. Más recientemente Christodoulakis (1993), en un estudio realizado en Grecia, informó que *L. nobilis*, acumula normalmente almidón dentro de los cloroplastos, característica que mantiene aun cuando esté sometido a condiciones desfavorables o de contaminación ambiental, debido a su característica de hojas siempre verdes. Estos informes coinciden con lo encontrado en este estudio para la especie *L. guatemalensis*, tomando en cuenta que se desarrolla preferentemente en climas fríos y que pertenece al mismo género que *L. japonica*. La presencia de almidones de asimilación en hojas ha sido registrada también en diversas especies de cítricos (Esquivel-Chávez y col., 2012).

La intensidad de las reacciones histoquímicas evidenciaron mínimas diferencias en las muestras de las tres localidades, posiblemente debido a fluctuaciones de temperatura, precipitación, luminosidad, altitud y tamaño de partículas del suelo de la zona de cultivo, así como la edad y la fase fenológica de las plantas (Martin y Woodcock, 1983; Ocampo y col., 2007).

En general, la presencia de estos metabolitos proporcionó presuntivamente una explicación a la información detectada en la literatura para *L. guatemalensis* en cuanto a las propiedades que se le atribuyen, como astringente, posiblemente debida a taninos; estimulante, a causa de la presencia de alcaloides, y antiinflamatoria por la presencia de flavonoides y mucílagos. También su uso con fines terapéuticos en afecciones respiratorias y gástricas conferidas posiblemente por la presencia abundante de mucílagos y saponinas (Martin y Woodcock, 1983; Méndez, 2002; Cáceres, 2006).

El porcentaje de cenizas es un parámetro fisicoquímico que indica el contenido mineral de metales pesados, arcilla y material orgánico presente en la droga vegetal y que según la OMS no debe exceder el 10 %. Duke y Archley (1986) informaron un porcentaje de cenizas totales de 4,9 % para *L. guatemalensis*, mientras que Cruz y col. (2008) de 3,96 %.

En esta investigación fue posible observar que todas las determinaciones de cenizas totales se encontraban dentro de los límites esperados para todas las localidades de estudio, y evidenciaron alta calidad de la materia vegetal. Los porcentajes pro-

medio más bajos se registraron en la fase de fructificación, que fueron: 3,90 % \pm 0,11 para San Bartolomé Milpas Altas, 4,20 % \pm 0,38 para Cerro Alux y 4,30 % \pm 0,32 para Magdalena Milpas Altas (Tabla 1).

En años recientes se registraron en la literatura diferentes porcentajes de rendimiento de aceites esenciales para muestra seca de *L. guatemalensis*, como es el caso del estudio realizado por Cruz y col. (2008) que presentó 0,70 % de rendimiento. En muestra seca, Ortiz (2005) registró para ejemplares colectados de Chimaltenango, San Lucas y San Antonio Aguas Calientes, una media total de 0,85 %.

En esta investigación se registraron porcentajes de rendimientos mayores en todas las localidades en las diferentes fases fenológicas, excepto en la fase de desarrollo foliar de San Bartolomé Milpas Altas (Tabla 2). En el estudio llevado a cabo por Cruz (2011), se realizaron mediciones de ese parámetro a partir de muestras de *L. guatemalensis* (con un período de almacenamiento mayor a un año) procedentes de las localidades de estudio, y se obtuvo un rendimiento de 0,60 % (San Bartolomé Milpas Altas), entre 0,25 a 0,85 % (Cerro Alux) y 0,70 % (Magdalena Milpas Altas), respectivamente (Comunicación personal, Cruz, 2011).

Los porcentajes promedio más elevados de rendimiento de aceites esenciales en el Cerro Alux fueron registrados en la fase de inicio de fructificación, mientras que en Magdalena Milpas Altas el porcentaje más elevado se registró durante la fase de inicio de floración. Tal y como se informa en otras especies vegetales productoras de aceites esenciales, San Bartolomé Milpas Altas no evidenció diferencia entre la fase de inicio de floración e inicio de fructificación (Tabla 2) (Martin, 1983).

En cuanto a los factores que afectan el rendimiento de aceites se puede mencionar el tipo de materia prima, que se refiere a las características genéticas de la planta, que son influidas por el lugar y la época de producción, la maduración o la edad de la planta y las enfermedades que pueda sufrir, como en el caso de San Bartolomé Milpas Altas, donde el ejemplar en estudio presentó menor edad estimada y colonización fúngica.

También influyen en los resultados de las determinaciones el tiempo de secado, las características del equipo de extracción, la cantidad de materia prima utilizada, el volumen y la pureza del disolvente, la cantidad de agua o vapor utilizado, la temperatura

y la presión; el tamaño de la partícula, el tiempo, el número de repeticiones y los métodos de extracción (Martin, 1983).

La caracterización química de los aceites esenciales de las muestras en estudio por el método de cromatografía en capa fina, mostró un alto nivel de coincidencia de Rf con las bandas del estándar de limoneno, pese a que en la literatura y en el estudio realizado por Cruz en 2008, empleando cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas (CG - EM), el 1,8 cineol fue el componente que demostró mayor presencia en el aceite esencial. Este resultado puede haber sido influido por las limitantes propias de la técnica analítica empleada en esta investigación (Domínguez, 1975; Vallverdú y col., 2005).

También se registraron nueve valores de Rf que no presentaron ninguna similitud con los valores de los estándares utilizados, y que no pudieron ser identificados, presuntamente debido a que no fue posible contar con un número mayor de estándares de comparación dentro del procedimiento analítico empleado, incluso se registró la presencia de tres bandas que fueron visibles únicamente con luz UV a 365 nm, que tampoco pudieron ser identificadas.

No fue posible establecer coincidencias entre el estándar de citral y las muestras analizadas, debido a que por causas indeterminadas, las bandas de ese estándar no presentaron el color característico que informa la literatura, azul violeta, al utilizar vainillina - ácido sulfúrico como revelador y tolueno - acetato de etilo (93:7) como fase móvil. Tampoco mostró valores de Rf que permitieran la identificación del citral en las muestras (Wagner y Blatt, 1996).

En conclusión, se evidenció que no existen diferencias en las características organolépticas y anatómicas de la materia vegetal de *L. guatemalensis*, proveniente del Cerro Alux, San Bartolomé y Magdalena Milpas Altas. El mayor porcentaje de rendimiento de aceite esencial se detectó en las fases de inicio de la floración e inicio de la fructificación.

Referencias bibliográficas

Cáceres, A. (1996). *Plantas de uso medicinal en Guatemala*. Editorial Universitaria, Guatemala.

- Cáceres, A. (2006). *Vademécum nacional de plantas medicinales*. Editorial Universitaria, Guatemala.
- Christodoulakis, N.S (1993). "Air pollution effects on the guard cells of the injury resistant leaf of *Laurus nobilis* L.". *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 51:471-478.
- Cruz, S. (2011). *Evaluación química y actividad biológica de aceites y extractos de especies de laurel (Litsea spp.) distribuidas en Guatemala para su aprovechamiento a nivel industrial en la producción de aromas y/o fitomedicamentos*. (Proyecto FODECYT 51-09). Guatemala.
- Cruz, S.; Cáceres, A.; Medinilla, B.; Paredes, M.E.; Orozco, R.; García, E.; Letrán, H. (2008). *Caracterización química y evaluación de la actividad biológica de Bourreriahuanita (Llave & Lex.) Hemsl. (Esquisuchil) y Litsea guatemalensis Mez. (laurel)*. (Informe-2008-087). DIGI-USAC, Guatemala.
- Cruz, S.M.; Mérida, M.; Pérez, F.; Santizo, A.; Cáceres, A.; Apel, M.; Henríquez, A. (2012). "Chemical composition of essential oil of *Litsea guatemalensis* (Mexican bay) from different provenances of Guatemala". *Acta Horticulturae* 964: 47-57.
- Dizeo de Strittmater, C. (1973). "Nueva técnica de diafanización". *Bol. Soc. Arg. Bot.* 15(1): 126-129.
- Domínguez, X. (1975). *Cromatografía en papel y en capa delgada*. Unión Panamericana. Departamento de Asuntos Científicos. Serie Química, Washington.
- Duke, J.A.; Archley, A.A. (1986). *Handbook of Proximate Analysis Tables of Higher Plants*. CRC Press, Boca Raton: 460p.
- Esquivel-Chávez, F.; Valdovinos-Ponce, G.; Mora-Aguilera, G.; Gómez-Jaimes, R.; Velásquez-Monreal, J.J.; Manzanilla-Ramírez, M.A.; Flores Sánchez, J.L.; López-Arroyo, J.I. (2012). "Análisis histológico foliar de cítricos agrios y naranja dulce con síntomas ocasionados por *Candidatus Liberibacter asiaticus*". *Agrociencia* 46: 769-782.
- Hickey, L.J. (1973). "Classification of the architecture of Dicotyledons leaves". *Am. J. Bot.* 60: 17-33.
- Johansen, J. (1940). *Plant microtechnique*. McGraw-Hill. New York-London: 80-87.

- Martin, H.; Woodcock, D. (1983). *The Scientific Principles of Crop Protection* (7th ed.). London. Edward Arnold.
- Méndez, V. (2002). *Determinación de la actividad cicatrizante de las hojas de Litsea guatemalensis (laurel) en heridas producidas a ratas albinas*. (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.
- Metcalf, C. R. y Chalk, L. (1950). *Anatomy of the Dicotyledons*, Vol. I y II. Clarendon Press. Oxford: 254, 439, 759, 1009.
- Metcalf, C. R. y Chalk, L. (1979). *Anatomy of the Dicotyledons*. (2nd ed.) Vol. I. Clarendon Press. Oxford: 40, 54, 63.
- Miyake, K. (1902). "On the starch of evergreen leaves and its relation to photosynthesis during the Winter". *Botanical Gazette* 33(5): 321-340.
- Ocampo, R.A.; Martínez, J.V.; Cáceres, A. (2007). *Manual de Agrotecnología de plantas medicinales nativas, proyecto de desarrollo de tecnología de cultivo de plantas medicinales y productos fitoterápicos*. OEA, Sanabria, San José: 140p.
- Organización Mundial de la Salud (2003). *Directrices de la OMS sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales*. Ginebra.
- Ortiz, C. (2005). *Obtención y comparación fisicoquímica a nivel de laboratorio del aceite esencial de laurel de dos diferentes especies (L. guatemalensis Mez. y L. glaucescens HBK.) colectadas en tres diferentes lugares* (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.
- Scala, A.C. (1912). *Manual de Manipulaciones de Botánica*. Tomo III. Biblioteca de Difusión Científica del Museo de La Plata. U.N.L.P.: 110-147.
- Silva, K.A.B.S.; Klein-Junior, L.C.; Cruz, S.M.; Cáceres, A.; Quintão, N.L.M.; DelleMonache, F.; Cechinel-Filho, V. (2012). "Anti-inflammatory and anti-hyperalgesic evaluation of the condiment laurel (*Litsea guatemalensis* Mez.) and its chemical composition". *Food Chemistry* 132: 1980-1986.
- Standley, P.C.; Steyermark, J.A. (1952). "Flora of Guatemala". *Fieldiana: Botany* 24(3): 316.
- Üphof, J. C.; Hummel, K. y Staesche, K. (1962). "Plant hairs" en: Linsbauer, K. (ed.) *Handbuch der Pflanzenanatomie*. 4(5) GebrüderBorntraeger, Berlin: 1-292.
- Vallverdú, C.; Villa, R.; Cruz, S.; Cáceres, A.; Cañigüeral, S. (2005). "Composition of the essential oil from leaves of *Litsea guatemalensis*". *Flavour and Fragrance Journal*. 20(4): 415-418.
- Wagner, H.; Bladt, S. (1996). *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas*. Springer-Verlag, Berlin.

Morfoanatomía de las hojas de *Lantana camara* L. (Verbenaceae), especie medicinal popularmente usada en Guatemala

Sonia E. Castellanos, María L. Flores, Sharol S. Reinoso,
Armando Cáceres, María E. Paredes*

Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Edificio T-12, Ciudad Universitaria, Zona 12, Guatemala.

*Autor a quien dirigir la correspondencia: maruparedess@yahoo.com.

Resumen

Se realizó un estudio descriptivo de las hojas frescas y secas de *Lantana camara* L. (Verbenaceae), nativa de América tropical y conocida popularmente como “siete negritos”, con el objeto de identificar las características anatómicas y micromorfológicas útiles para establecer la identidad botánica en su control de calidad, cuando no se cuente con órganos reproductivos o se la halle seca y fragmentada. La especie en estado fresco se caracteriza por ser un arbusto fuertemente aromático con hojas simples, pecioladas de margen dentado, superficie áspera, rugosa y ondulada en el haz, y tomentosa en el envés; presenta inflorescencias axilares capituliformes con flores tubulosas de color anaranjado y amarillo. En su estado seco las hojas enteras se enrollan, y conservan su olor fuerte y fétido; los porcentajes de humedad y cenizas se encontraron dentro de los intervalos establecidos por la OMS. El estudio identificó características diagnósticas de las hojas, como nerviación abierta y reticulada, hojas hipostomáticas con estomas sobre elevado de tipo anomocíticos y diacíticos, mesófilo dorsiventral con dos capas de células de parénquima en empalizada, diferentes variedades de pelos, glandulares de pie unicelular o pluricelular con cabeza aplanada o cabeza 1-2 celular y pelos no glandulares, simples, verrucosos, pelos con cistolitos, todos insertos en diversas bases, y se observan abundantes pelos sobre elevado. Todos los parénquimas presentan cristales prismáticos solitarios de oxalato de calcio y en el interior de algunos pelos se observan cristales de carbonato cálcico.

Morphoanatomical study of *Lantana camara* L. (Verbenaceae) leaves, a medicinal species popularly used in Guatemala

Summary

A descriptive study of fresh and dried *Lantana camara* L. (Verbenaceae) leaves, native from tropical America, and popularly known as “siete negritos”, was carried out in order to establish anatomical and micro-morphological characteristics with the purpose of establishing the botanical identity of the species to be used in quality control analysis, especially when reproductive organs are absent or when leaves are dried and fragment material is available. The fresh shrub is strongly aromatic, plain and petiolate leaves are observed with dentate margins and asperous, rugose and undulated upper surface and tomentose at the under surface. Axillary and capituliform inflorescences with orange and yellow tubular flowers can be present. When dried, the whole leaves look curled-up and preserve their strong and fetid smell. The moisture and ashes

Palabras clave: *Lantana camara* - exo y endomorfología foliar - control de calidad.

Key words: *Lanta camara* - foliar exo and endomorphology - quality control.

percentages were within those established by the WHO. This study identified, in the leaves, diagnostic characters like open and reticulate venation, anomocytic and diacytic stomata on the lower epidermis, bifacial mesophyll, double sheet of palisade parenchyma cells, different varieties of hairs, glandular ones, with unicellular or multicellular feet and flat or 1-2 cellular blunt heads, and plains, verrucous and cystolith non-glandular hairs all with diversity of bases. Prismatic solitary calcium oxalate crystals were observed in the parenchyma cells and calcium carbonate crystals inside some hairs.

Introducción

En la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), se han realizado numerosos estudios orientados a la validación del uso popular de diversas plantas medicinales nativas, en los cuales se trata de establecer las actividades descritas por estudios etnobotánicos previos. Este interés se debe a que las plantas nativas de cada región constituyen un importante recurso natural con potencial para coadyuvar al mantenimiento de la salud de sus pobladores (Acosta, 2012; Avello y Cisternas, 2010; Milaneze-Gutierrez y col., 2003).

La identificación de una planta específica, previamente a su uso para estudios de validación o para ser empleada como materia vegetal por la población, se basa en estudios etnobotánicos, descripción botánica, composición química y usos medicinales, entre otras aplicaciones (Solís y col., 2003). Sin embargo, cuando las plantas se obtienen de expendedores comerciales, su procedencia no se limita a huertos familiares o cultivos controlados, sino en muchos casos, son recolectadas en forma silvestre, o corresponden a diferentes proveedores, en cuyo caso se pueden incluir plantas con diversos grados de calidad, y se mezclan plantas frescas y viejas, limpias y sucias, correctas e incorrectas. La adulteración o la falsificación intencional o no intencional de plantas medicinales, puede ocasionar tanto deficientes efectos curativos, como posibles efectos adversos, y la consiguiente pérdida de confianza en su actividad terapéutica (Acosta, 2001; Spegazzini, 2007).

El valor terapéutico reconocido para las plantas medicinales hace necesario aplicar criterios y métodos científicos para comprobar características de calidad e inocuidad; asimismo, establece normas y especificaciones internacionales de identidad, pureza y actividad de los productos derivados de plantas medicinales en países donde no se han ordenado (Cañigual y col., 2003).

El control de calidad desempeña un papel fundamental y básico que los medicamentos a base de plantas deben cumplir. Su importancia se centra en que una vez que la materia prima utilizada cumple con todos los requisitos; será mucho más fácil seguir los pasos para su transformación industrial (Cortella y Pochettino, 1994).

Es así que para la estandarización de los medicamentos herbarios se debe comenzar desde la misma planta, porque el material vegetal es, en definitiva, el que va a definir la potencia y la calidad del producto final. La baja calidad del material vegetal o su inconsistencia hará imposible cualquier control de calidad significativo, durante el proceso de elaboración de los productos fitoterapéuticos, o será también imposible asegurar la calidad uniforme del producto final (Acosta, 2001).

En el caso de *Lantana camara* L. (Verbenaceae), en un estudio realizado en Colombia, Pardo y col. (2011) demostraron su actividad antifúngica. Por su parte, Lara y col. (2010), mencionan que esta planta es utilizada en la medicina popular guatemalteca para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales, dérmicas y reumáticas; en Guatemala únicamente se ha confirmado su actividad biocida. En el mismo estudio se confirmó la presencia de metabolitos, como: alcaloides, flavonoides y saponinas, los cuales podrían ser responsables de las propiedades medicinales que se le atribuyen.

Este estudio se llevó a cabo con la finalidad de contribuir al adecuado control de calidad de la especie, especialmente cuando el material se encuentra seco o fragmentado y no se cuenta con órganos reproductivos para su identificación. Así, su objetivo fue establecer características micromorfológicas y microquímicas diagnósticas, y caracteres organolépticos que contribuyan a la correcta identificación del material vegetal constituido por hojas de *L. camara*.

Materiales y métodos

Materiales

El material fresco de *L. camara* se obtuvo de la Colección y Huerto Productivo de Plantas Medicinales y Aromáticas, de la Facultad de Agronomía, USAC, localizado en la capital de Guatemala. La identificación botánica del material se realizó en colaboración con el personal del Herbario BIGU de la Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC, donde fue depositado el ejemplar herborizado con el N° 59157.

Métodos

En el departamento de Citohistología de la Escuela de Química Biológica (USAC) se llevó a cabo, sobre material fresco, la identificación micrográfica; y en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT-USAC) se realizó, sobre material seco, las pruebas de pureza.

Del material seco, droga, se elaboró una muestra testigo que se almacenó en recipientes adecuados y se depositó en el Departamento de Citohistología.

Análisis del material vegetal

Se realizó la descripción macroscópica y organoléptica de la especie; los aspectos morfológicos se compararon con lo descrito en la *Flora de Guatemala* (Standley y Steyermark, 1958) a fin de establecer las características mínimas necesarias para su identificación. Se prepararon láminas de referencia del material fresco, empleando los métodos de cortes transversales a mano alzada, diafanizado y disociado.

Para los cortes a mano alzada se seleccionaron hojas completamente desarrolladas y sin señales de enfermedad: se colocó un trozo del material fresco de la región central de la hoja entre dos láminas de duroport; se deslizó entre ambas láminas una hoja de afeitar nueva, para la obtención de un corte y se seleccionaron los más delgados y parejos (Gattuso y Gattuso, 1999; Solís y col., 2003).

A fin de estudiar las características epidérmicas y la arquitectura foliar se diafanizaron las hojas según los métodos convencionales (Gattuso y Gattuso, 1999; Solís y col., 2003).

Para el estudio de los elementos celulares se aplicó el método de disociado débil (Gattuso y Gattuso, 1999; Solís y col., 2003).

Las características epidérmicas y estructuras foliares se describieron acorde con la terminología de Metcalfe y Chalk (1950, 1972).

Las observaciones microscópicas se efectuaron con microscopio óptico Fisher Scientific Micromaster II.

Pruebas de pureza

El porcentaje de humedad del material vegetal seco fue determinado por el método de termogravimetría (Solís y col., 2003).

El porcentaje de cenizas totales fue realizado por el método de incineración (Solís y col., 2003).

Resultados

Caracteres macroscópicos

L. camara es un arbusto de aproximadamente 1 a 3 m de altura, de tallo cuadrangular, hirsuto, fuertemente aromático. Las hojas son simples, pecioladas, decusadas, ovadas u oblongas, de 4 a 12 cm de largo y 5 cm de ancho, de ápice agudo, margen dentado, superficie áspera, rugosa y ondulada, de color verde oscuro en el haz y verde más claro y tomentosa en el envés. Las inflorescencias de 2,5 a 3,8 cm de ancho, son axilares capituliformes, presentan flores tubulosas, anaranjadas y amarillas.

Droga vegetal

Está constituida por las hojas desecadas, se las encuentra enteras, algunas se enrollan, mientras que otras permanecen planas, tienen olor fuerte y fétido, sabor dulce y picante; y se la comercializa asociada a fragmentos cortos de pecíolos, que son rugosos y tomentosos.

Caracteres micromorfológicos

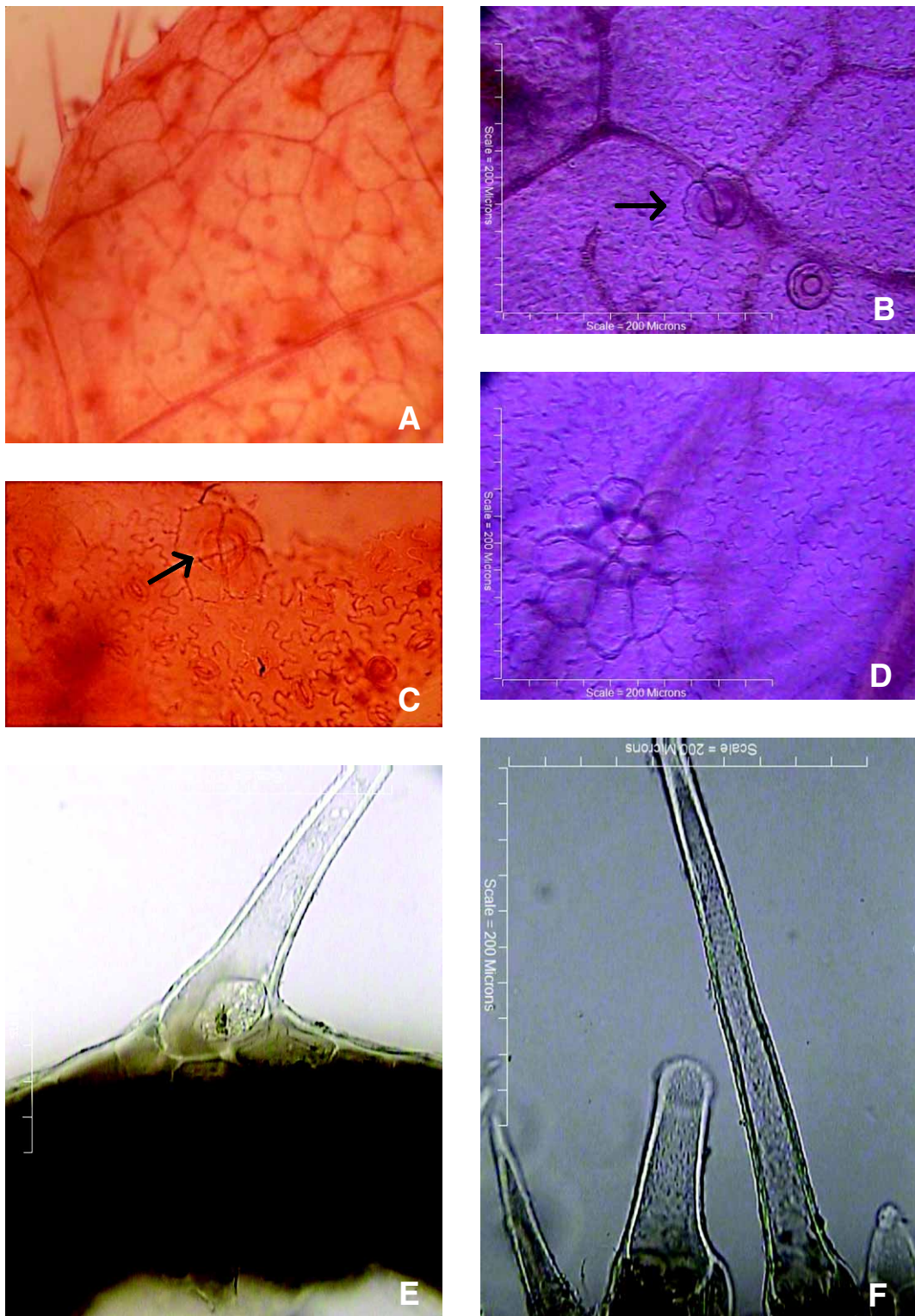
Hoja

1-Lámina

Vista superficial

a-Arquitectura: craspedódroma (Figura 1, A), venas marginales con terminaciones libres, areolas cuadrangulares con terminaciones vasculares simples y curvas.

Figura 1.- Caracteres micromorfológicos de *Lantana camara*



Vista superficial. **A.** Detalle de arquitectura foliar craspedódroma. Epidermis inferior de paredes anticlinales marcadamente sinuosas. **B.** Base de tricoma de dos células, tricoma glandular de pie unicelular con cabeza unicelular. **C.** Base de tricoma de cuatro células, tricoma de pie corto bicelular con cabeza unicelular globosa, estomas diacíticos y anomocíticos. **D.** Base de tricoma de ocho células. **E.** Tricoma con cistolito. **F.** Tricoma de paredes verrucosas.

b- Epidermis: la cutícula es lisa. Las células epidérmicas son semejantes en ambas caras. Las paredes anticlinales en ambas epidermis son marcadamente sinuosas (Figuras 1, B-D). Los estomas están ubicados sobre elevados en la epidermis inferior, son de tipo anomocítico y diacítico (Figura 1, C). El indumento piloso del hipofilo se halla constituido por diferentes pelos glandulares y no glandulares (Figuras 1, E, F; Figuras 2, A-D).

Pelos no glandulares:

-Cónicos, simples, verrucosos, 1-celulares, con el extremo agudo (Figura 1, F; Figura 2, A).

-Simples, insertos entre 2 a 8 células basales voluminosas. (Figuras 1, B-D).

-Simples, de paredes gruesas, su porción basal globosa con cistolito (Figura 1, E; Figura 2, D).

Pelos glandulares:

-Pie corto 1-celular con cabeza aplanada. (Figura 2, A).

-Pie corto 1-celular con cabeza 1-2-celular (Figura 1, B; Figura 2, D).

-Pie pluricelular con cabeza 1-celular (Figura 2, C).

-Pie pluricelular con cabeza 2-celular (Figura 2, B).

Sección Transversal

La epidermis superior es uniestratificada, de paredes periclinales delgadas y convexas, presenta pelos glandulares y no glandulares, no tiene estomas y se halla cubierta por una cutícula lisa. El mesófilo hipostomático, es de estructura dorsiventral, con dos capas de células de parénquima en empalizada de paredes delgadas y sin espacios intercelulares; el parénquima esponjoso está constituido por 3 a 4 capas de células compactas. El nervio principal se halla constituido por 4 a 5 haces colaterales abiertos, formando un arco, y reforzados por una vaina de esclerénquima hacia la cara abaxial. En posición subepidérmica a la altura del nervio medio se observa colénquima de tipo angular. Las células parenquimáticas presentan cristales solitarios de oxalato de calcio. La epidermis inferior presenta cutícula más delgada que la superior y se destacan abundantes pelos sobre elevado y estomas (Figura 2, E). Algunos pelos presentan en su interior cristales prismáticos o de tipo cistolítico (Figura 1, E).

2- Pecíolo

En corte transversal, es de contorno plano convexo, presenta una epidermis unistrata con células redon-

deadas y regulares, con estomas y pelos como los de la lámina, el colénquima angular rodea todo el perímetro del pecíolo; en el parénquima fundamental aparece enclavado el cilindro vascular constituido por numerosos haces colaterales abiertos dispuestos en arco, muy similar al de la lámina. (Figura 2, F).

Determinación de humedad y cenizas totales

Para la materia prima, utilizada en este estudio, se estableció un valor de humedad en el rango de 8,76 a 9,39 %, mientras que las cenizas totales se encontraron en el rango de 6,25 a 6,66 %.

Discusión

En el estudio realizado se determinó que *L. camara* presenta diferentes características en los niveles macro y microscópico, que pueden ser utilizadas para la identificación, tanto del material fresco, como cuando este se encuentre seco o fragmentado. Se determinaron además, los porcentajes de humedad y cenizas, para asegurar la calidad del material vegetal utilizado en el estudio; un porcentaje de humedad menor del 10 %, garantiza el proceso de secado y las cenizas nos aportan información sobre el contenido de minerales del material en estudio (Solís y col., 2003).

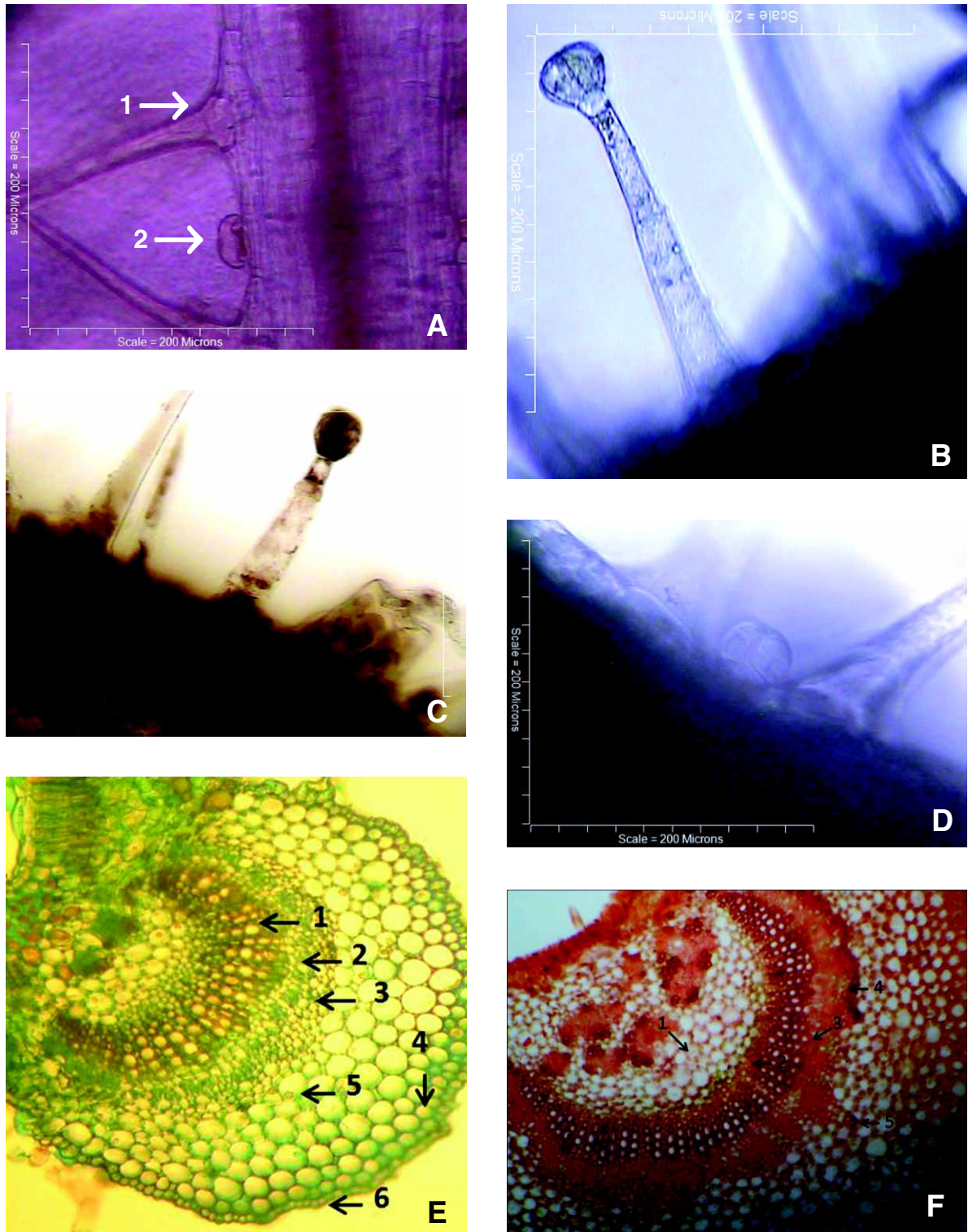
La droga seca, constituida por hojas, tiene un olor fuerte y desagradable, similar al que se encuentra en otras especies del mismo género (Matienzo y col., 2003).

Para la identificación del material seco es necesario recurrir a técnicas histológicas, ya que no se cuenta con órganos reproductores, y muchas veces se encuentra fragmentada (González-Tejero y Casares-Porcel, 1996).

En el estudio microscópico se estableció que la anatomía del pecíolo presenta un haz colateral en forma de arco, característica que ha sido identificada en otras especies de *Lantana* (Passos y col., 2009).

La lámina en corte transversal presenta cutícula gruesa en la superficie adaxial, que concuerda con lo informado por Passos y col. (2009); el grosor de la cutícula está directamente relacionado con la intensidad de la luminosidad a la que la planta está expuesta (Albrecht y col., 2007).

Figura 2.- Caracteres micromorfológicos de *Lantana camara*



Sección transversal. **A.** Tricomas simples unicelular (1) y glandular de pie corto unicelular con cabeza unicelular (2). **B.** Pie pluricelular con cabeza bicelular. **C.** Pie bicelular con cabeza unicelular. **D.** Pie corto unicelular con cabeza bicelular. **E.** Nervio medio de la lámina: xilema (1), floema (2), esclerénquima (3), colénquima (4), cristales solitarios (5), epidermis (6). **F.** Pecíolo: parénquima (1), xilema (2), floema (3), esclerénquima (4), cristales solitarios (5).

Además puede interpretarse como una estrategia adaptativa que debe ser considerada en las intervenciones destinadas a la lucha química contra las plantas denominadas malezas, ya que protege a la planta del ataque con herbicidas (Ferreira y col., 2007). Ambas consideraciones se aplican a *L. camara*, que prefiere ambientes soleados y que en sí constituye una maleza. Se observó además, un mesófilo dorsiventral, característico de la familia Verbenaceae (Metcalf y Chalk, 1972). La presencia de dos capas de parénquima en empalizada y varias capas de parénquima esponjoso, concuerda con estudios anteriores, tanto para *L. camara*, procedente de otras localidades geográficas, como para otras especies de Verbenaceae. El espesor del mesófilo también está relacionado con la exposición a la luz solar (Albrecht y col., 2007; Andersen y col., 2006; Milaneze-Gutierrez y col., 2003). La disposición de los tejidos en el transcurso de la nervadura central, encontrada en este estudio, también ha sido informada por varios investigadores; Metcalf y Chalk (1972) comentan que los haces vasculares de las venas de las especies de *L. camara* suelen ir acompañados de esclerénquima enclavado en el mesófilo. La presencia de colénquima en relación con ambas epidermis es un rasgo característico de la familia Verbenaceae y el género *Lantana*. Sin embargo, la disposición de los haces vasculares en un arco de mucha profundidad y acompañada por dos haces accesorios, puede representar una característica distintiva de la especie (Metcalf y Chalk, 1950; Passos y col., 2009).

La presencia de abundantes y variados tipos de pelos encontrada en las hojas de *L. camara*, ha sido informada por varios investigadores (Albrecht y col., 2007; Bonzani y col., 1997; O'Leary y col., 2007; Passos y col., 2009). Si bien la presencia de pelos se asocia con funciones tales como, proteger a las plantas de la radiación, el viento y los herbívoros, se ha establecido que el reconocimiento de los diferentes tipos de pelos observados, más que su presencia o ausencia, tiene un importante valor para la identificación de las especies. (Khokhar y col., 2012; Rendón-Carmona y col., 2006).

Los tipos de pelos glandulares y no glandulares observados en este estudio, correlacionan con lo informado para *L. camara* de otras localidades geográficas; por ejemplo, los pelos no glandulares elevados sobre una base epidérmica, fueron informados por Bonzani y col. (1997), pero ellos no infor-

man la variedad de pelos glandulares encontrados en este estudio; estos datos correlacionan más con lo informado por Andersen y col. (2006), quienes además informan los pelos simples cistolíticos, que acorde con Santamarina Siurana y col. (2005), son una clase de pelos especializados. Sobre la base de los resultados obtenidos, se puede sugerir que la ocurrencia y la variedad de pelos glandulares y no glandulares puede considerarse una característica importante y distintiva para *L. camara*.

En este estudio se determinó que las hojas de *L. camara* son hipostomáticas, lo cual difiere de lo informado por Passos y col. (2009), que informaron hojas anfistomáticas. El tipo de estomas sí correlaciona, ya que ellos también informaron de tipo anomocítico y diacítico, que además coincide con Metcalf y Chalk (1950) quienes sostienen que el tipo más común de estomas en la familia Verbenaceae son anomocíticos, pero también se pueden encontrar de tipo paracíticos y diacíticos. Al igual que lo informado por Passos y col. (2009), los estomas se observaron sobre elevados pero al mismo nivel del resto de células epidérmicas, lo cual difiere de lo informado por Bonzani y col. (1997), que informan estomas elevados de tipo mameliforme.

Se encontraron cuerpos cistolíticos de carbonato de calcio y escasos cristales prismáticos de oxalato de calcio en las células parenquimáticas y en los pelos. Los cristales de oxalato de calcio constituyen un carácter valioso para diferenciar especies, y la presencia de cistolitos es aún más característica por su escasa aparición en otras familias; estos hallazgos coinciden con lo informado por Albrecht y col. (2007) y Bonzani y col. (1997).

Se puede concluir que este estudio permitió establecer características farmacobotánicas para el control de calidad de *L. camara*. En el nivel macroscópico la especie en estado fresco se caracteriza por ser un arbusto fuertemente aromático con hojas simples pecioladas de margen dentado, superficie áspera, rugosa y ondulada en el haz y tomentosa en el envés; puede presentar inflorescencias axilares capituliformes con flores tubulosas de color anaranjado y amarillo. En su estado seco las hojas enteras se enrollan, y conservan su olor fuerte y fétido. El estudio identificó características diagnósticas en nivel microscópico útiles cuando la droga se encuentra seca y fragmentada, tales como la presencia de estomas sobre elevados de tipo anomocítico y

diacítico, las variedades de pelos, glandulares de pie unicelular o pluricelular con cabeza aplanada o cabeza 1-2 celular y pelos no glandulares, simples, verrucosos, pelos con cistolitos, diversas bases de 2 a 8 células globosas, así como la presencia de cristales prismáticos de oxalato de calcio y de cistolitos en el interior de algunos pelos y células parenquimáticas.

Además, se concluye que es necesario continuar el estudio de la flora medicinal guatemalteca que ofrece un recurso terapéutico muy importante para la población y seguir haciendo aportes para establecer un adecuado control de calidad de las plantas que se comercializan secas o fragmentadas.

Agradecimientos

Al Laboratorio de Investigación en Productos Naturales (LIPRONAT), al Laboratorio de Bioensayos, Departamento de Citohistología, Escuela de Química Biológica y al Herbario BIGU, Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC; y al Centro Experimental de Docencia de Agronomía (CEDA) y Colección y Huerto Productivo de Plantas Medicinales y Aromáticas, Facultad de Agronomía, USAC.

Referencias bibliográficas

Acosta de la Luz, L.L. (2001). "Producción de plantas medicinales a pequeña escala: Una necesidad de la comunidad". *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 2: 63-66.

Acosta de la Luz, L.L. (2012). "Plantas medicinales en un proyecto de desarrollo humano". *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 17(4): 446-451.

Albrecht, R.; Gurni, A.; Bassols, G. (2007). "Estudio micrográfico de tres especies de la familia Verbenaceae empleadas en medicina popular argentina". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 6(5): 179-180.

Andersen, A.; Lucchini, F.; Moriconi, J.; Fernández, E.A. (2006). "Variabilidad en la morfo-anatomía foliar de *Lippia turbindinata* (Verbenaceae) en la provincia de San Luis (Argentina)". *Phyton* 75: 137-143.

Avello, M.; Cisternas, I. (2010). "Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile". *Revista Médica de Chile* 138: 1288-1293.

Bonzani, N.E.; Filipa, E.M.; Barboza, G.E. (1997). "Particularidades epidérmicas en algunas especies de Verbenaceae". *Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica* 68(2): 47-56.

Cañigueral, S.; Dellacassa, E.; Bandoni A. (2003). "Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo?". *Latin American Journal of Pharmacy* 22(3): 265-78.

Cortella, A.; Pochettino, L. (1994). "Starch grain analysis as a microscopic diagnostic feature in the identification of plant material". *Economic Botany* 48(2): 171-181.

Ferreira, E.A.; Ventrella, M.C.; Santos, J.B.; Barbosa, M.H.P.; Silva, A.A.; Procópio, S.O.; Silva, E.A.M. (2007). "Leaf blade quantitative anatomy of Sugarcane cultivars and clones". *Planta Daninha* 25(1): 25-34.

Gattuso, M.A.; Gattuso, J.S. (1999). Manual de procedimientos para análisis de drogas en polvo. Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de Rosario.

González-Tejero, M.R.; Casares-Porcel, M. (1996). "La anatomía vegetal como método de identificación en etnobotánica". *Monografías del Jardín Botánico de Córdoba* 3: 33-37.

Khokhar, A.L.; Rajput, M.T.; Tahir, S.S. (2012). "Toxonomic study of the trichomes in the some members of the Genus *Convolvulus* (Convolvulaceae)". *Pakistan Journal of Botany* 44(4): 1219-1224.

Lara, O.; Farfán, C.; Jayes, P.; Mérida, M.; Cruz, S.M.; Pérez, F. (2010). "Estudio sobre los aceites esenciales y metabolitos secundarios en las especies *Lantana camara* L., *Lantana hispida* HBK y *Lantana trifolia* L., de la Familia Verbenaceae". *Revista científica del Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas* 19(2): 7-15.

Matienzo, Y.; Ramos, B.; Rijo, E. (2003). "Revisión bibliográfica sobre *Lantana camara* L. una amenaza para la ganadería". *Fitosanidad* 7(4).

Metcalf, C.R.; Chalk, L. (1950). *Anatomy of Dicotyledons*. Vol. I. Clarendon Press, Oxford: xi-xxi.

Metcalf, C.R.; Chalk, L. (1972). *Anatomy of Dicotyledons*. Vol. II. Clarendon Press, Oxford: 1030-1041.

- Milaneze-Gutierrez, M.A.; Mello, J.C.P.; Delaporte, R.H. (2003). "Efeitos da intensidade luminosa sobre a morfo-anatomia foliar de *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold. (Verbenaceae) e sua importancia no controle de qualidade da droga vegetal". *Revista Brasileira de Farmacognosia* 13(1): 23-33.
- O'Leary, N.; Múlgura, M.E.; Morrone, O. (2007). "Revisión taxonómica de las especies del género *Verbena* (Verbenaceae): Serie Pachystachyae". *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94(3): 571-621.
- Pardo, A.K.; Arenas, J.J.; Gómez, M.; Lora, F.M.; Gómez, J.E. (2011). "Determinación de la actividad antifúngica de extractos de *Lantana camara* frente a *Candida spp.*" *Infectio* 15(4): 235-242.
- Passos, J.L.; Meira, R.M.S.A.; Barbosa, L.C.A. (2009). "Foliar anatomy of the species *Lantana camara* and *L. radula* (Verbenaceae). *Planta Daninha* 27(4): 689-700.
- Rendón-Carmona, N.; Ishiki-Ishihara, M.; Terrazas, T.; Nieto-López M.G. (2006). "Indumento y tricomas en la caracterización de un grupo de nueve especies del género *Mortonioidendron* (Tilaceae)". *Revista Mexicana de Biodiversidad* 77: 169-176.
- Santamarina Siurana, M.P.; García Breijo, F.J.; Villela Fayos, V. (2005). *Biología y Botánica*, tomo I. Editorial de la Universidad Politécnica de Valencia: 300.
- Solís, P.N.; Guerrero, N.; Gattuso, S.; Cáceres, A. (2003). *Manual de caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos*. Proyecto Desarrollo de Tecnología de Cultivo de Plantas Medicinales y Producción de Fitoterápicos, OEA/AICD/AE 089/03, Panamá: 15-84.
- Spegazzini, E.D. (2007). "La micrografía en la identidad de los vegetales". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 6(5): 165.
- Standley, P.C.; Steyermark, J.A. (1958). "Flora of Guatemala". *Fieldiana: Botany* 24(1): 202-204.

Caracteres farmacognósticos para el control de calidad de *Petiveria alliacea*, *Lippia graveolens* y *Tagetes lucida*

Bonier M. Garrido, Sindy C. Polanco, Isabel C. Gaitán, Armando Cáceres, María E. Paredes*

Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Edificio T-12, Ciudad Universitaria, Zona 12, Guatemala. Escuela de Química Biológica, Departamento de Citohistología.

*Autor a quien dirigir la correspondencia: maruparedess@yahoo.com

Resumen

Esta investigación se centró en el estudio de tres especies de plantas aromáticas de uso popular en Guatemala: *Petiveria alliacea*, *Lippia graveolens* y *Tagetes lucida*, que se aplican para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales. A partir del material vegetal fresco y seco, se determinaron las características macroscópicas, organolépticas, micromorfológicas y fitoquímicas de cada especie, a los fines de establecer las que puedan ser utilizadas para su respectivo control de calidad. *P. alliacea* presenta hojas hipostomáticas con estomas paracíticos, mesófilo con dos capas de parénquima en empalizada y de 4 a 5 de parénquima esponjoso, donde encontramos cristales de oxalato de calcio en forma de estiloide; el nervio medio está constituido por hasta 6 haces vasculares dispuestos en arco. *L. graveolens* presenta hojas anfistomáticas con estomas anomocíticos; en las epidermis se observan diferentes tipos de tricomas glandulares y no glandulares; el nervio medio está constituido por 5 a 6 haces vasculares dispuestos en arco. *T. lucida* presenta hojas hipostomáticas con estomas anomocíticos y anisocíticos, mesófilo isobilateral con abundantes cavidades secretoras; el nervio medio está constituido por 3 haces vasculares con casquetes de esclerenquima y vaina esclerificada. Se identificaron para cada especie los metabolitos que podrían estar relacionados con los usos populares atribuidos.

Pharmacognostic characters for the quality control of *Petiveria alliacea*, *Lippia graveolens*, and *Tagetes lucida*

Summary

This research was focused on the study of three species of aromatic plants popularly used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal diseases, *Petiveria alliacea*, *Lippia graveolens*, and *Tagetes lucida*. Macroscopic, organoleptic, micro morphological and phytochemical characteristics of each species were determined from fresh and also dried plant material, to establish those that can be used for its quality control. *P. alliacea* exhibit hypostomatic leaves with paracytic stomata, 2 layers of palisade parenchyma and 4 to 5 of spongy parenchyma, styloid crystals and even 6 vascular bundles drawing an arch with 2 different types of collenchyma, in midrib. *L. graveolens* shows amphystomatic leaves with anomocytic stomata, variety of

Palabras clave: *Petiveria alliacea* - *Lippia graveolens* - *Tagetes lucida* - micromorfología - metabolitos secundarios - control de calidad.

Key words: *Petiveria alliacea* - *Lippia graveolens* - *Tagetes lucida* - micromorphology - secondary metabolites - quality control.

glandular and non-glandular trichomes on epidermal projections, a flattened arch with 3 accessory vascular bundles in midrib. *T. lucida* shows hypostomatic leaves with anisocytic and anomocytic stomata, isobilateral mesophyll with several secretory cavities, 3 vascular bundles adjoined with sclerenchymatic caps and surrounded by sclerenchymatous cells, in midrib. Also for each species, secondary metabolites that can be related to their popular medicinal uses were identified.

Introducción

Según los informes de la Organización Mundial de la Salud (OMS), desde 1993 el 80 % de la población mundial recurre a la medicina tradicional para atender sus necesidades primarias de asistencia médica (OMS, 2003).

En Guatemala existe una larga tradición del uso de plantas medicinales, relacionado con la gran diversidad biológica y cultural del país; es así que los mayas observaron los efectos de muchas plantas medicinales y sus yerberos o curanderos dominaron el conocimiento de la herbolaria, utilizando diversas hierbas para el tratamiento de la sintomatología de diversas enfermedades (Xiu-Chacón, 1998). Actualmente la población guatemalteca sigue utilizando las plantas para el tratamiento de enfermedades de diversa índole, como en el caso de las afecciones gastrointestinales, que son la primera causa de morbilidad nacional, y para las que se utilizan particularmente diversas plantas aromáticas (Cáceres y Girón, 2002; Pöll, 2005).

El hombre, a lo largo de su historia, ha utilizado plantas aromáticas para aliviar algunas de sus dolencias y para aromatizar los sitios de sus rituales o los lugares donde moraba. Desde entonces, esos sabores y olores fueron formando parte de su cultura e idiosincrasia (Dey y Harbone, 2002).

Las plantas aromáticas constituyen un conjunto de especies vegetales de diversas familias, denominadas así debido a la presencia de glándulas secretoras que contienen aceites esenciales. Esas glándulas se encuentran localizadas en diversos tejidos y órganos, como flores, hojas, brotes, tallos, madera, corteza, frutos, semillas, raíces y rizomas. Vierten el producto de secreción al exterior o al interior de esa estructura. (Alleman, 2003; Domínguez y Castro, 2002). Los aceites esenciales presentan variadas propiedades organolépticas y actividades medicinales, tanto antioxidantes como antimicrobianas; de ahí que sean utilizadas en diferentes partes del mundo en medicina tradicional para tratar padecimientos gastrointestinales, respiratorios, fe-

briles, reumáticos y dermatológicos. En general, las plantas medicinales se comercializan de diversas formas: frescas, secas, fragmentadas, pulverizadas, en cápsulas, o en extractos líquidos. Como se consideran naturales, no están sujetas a las mismas regulaciones que tienen los medicamentos de síntesis; sin embargo, pueden causar problemas a la salud si no se utilizan correctamente o si se encuentran adulteradas o falsificadas.

Las drogas vegetales requieren el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura, desde su lugar de origen hasta su utilización con fines medicinales (Cuassolo y col., 2010).

Para asegurar la calidad de la materia prima son importantes los siguientes aspectos: identificación por medio de características botánicas, organolépticas, macroscópicas y microscópicas, así como el perfil cromatográfico, reacciones de identificación y parámetros de pureza, entre los que se incluyen humedad, cenizas y rendimiento de aceites esenciales.

Este estudio se enfocó en el establecimiento de los caracteres farmacobotánicos previamente mencionados, de tres especies aromáticas nativas de Guatemala y popularmente utilizadas para el tratamiento de afecciones gastrointestinales (Cáceres, 2006; Pöll, 2005): *Petiveria alliacea* L. (“apacín”), *Lippia graveolens* HBK. (“orégano”) y *Tagetes lucida* Cav. (“pericón”) en fase fenológica de follaje y floración. Con la finalidad de establecer caracteres diagnósticos que contribuyan a garantizar la identidad de estas especies, especialmente cuando se distribuyen secas y fragmentadas que dificulta su identificación botánica.

Materiales y métodos

Se elaboraron ejemplares de herbario de las tres especies en estudio atendiendo las recomendaciones de Giberti (1998); el material, botánico de *P. alliacea* fue recolectado en Samayac, Suchitepéquez, *L. graveolens* y *T. lucida* se recolectaron en la Colección y Huerto

Productivo de Plantas Medicinales y Aromáticas, de la Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC). La identificación y el depósito de ejemplares de las tres plantas se realizó en el Herbario de Biología de Guatemala (BIGU), de la Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC y fueron incorporadas con los números 52519, 52520 y 52521 respectivamente.

Para cada especie se elaboró una descripción botánica diagnóstica a fin de facilitar su identificación en el campo. En los estudios morfológicos se emplearon órganos en completo estado de desarrollo. La evaluación morfológica de la droga seca se realizó bajo microscopio estereoscópico.

Los caracteres microscópicos de las hojas, los tallos y la raíz se determinaron a partir de preparados de planta fresca obtenidos mediante cortes a mano alzada (Gattuso y Gattuso, 1999).

Los cortes fueron teñidos con safranina y fastgreen para la observación de estructuras histológicas (Gattuso y Gattuso, 1999). Además, se prepararon diafanizados en las hojas de las tres especies, y se analizaron ambas caras de las láminas foliares para establecer las características epidérmicas y el índice de estomas (Gattuso y Gattuso, 1999). Las observaciones fueron hechas en microscopio óptico Fisher Scientific Micromaster II y digitalizadas con el programa Micron USB, West Over Scientific.

Se determinaron los porcentajes de rendimiento de aceite esencial que contenía cada una de las plantas siguiendo la metodología de hidrodestilación (Henaó y col., 2010; Solís y col., 2003).

Se realizaron pruebas de pureza de las cenizas totales y la humedad para garantizar la calidad del material vegetal utilizado en los ensayos. Las cenizas fueron determinadas por medio de la ignición de la materia seca en crisoles previamente tarados, en una mufla a 600 °C durante tres horas; luego de ese período, se evaluaron las cenizas, que estaban dentro de la gama de colores que iba desde el gris hasta el blanco; por lo tanto, los crisoles fueron pesados y las cenizas, determinadas. La humedad fue determinada por termogravimetría.

Se confirmó de manera cualitativa la presencia de cuatro metabolitos secundarios en las tres especies evaluadas: alcaloides, flavonoides, saponinas y taninos, por medio de cromatografía en capa fina, con los extractos vegetales obtenidos de estas especies por percolación y concentración en rotavapor

(Solís y col., 2003). Todos los análisis numéricos se realizaron en un mínimo de tres repeticiones.

Resultados

Descripción botánica y características organolépticas diagnósticas

Petiveria alliacea es una hierba perenne, de aproximadamente 60 cm de alto, tallos delgados, ramificados, con fuerte olor aliáceo, de actividad lacrimógena. Hojas simples con filotaxis alterna; forma elíptica a oblanceolada, ápice agudo, base redondeada, peciolada; de margen o borde ondulado, coloración verde, más oscura en el haz. Tiene raíz profunda, leñosa con coloración blanco-amari-llenta (Figura 1, A).

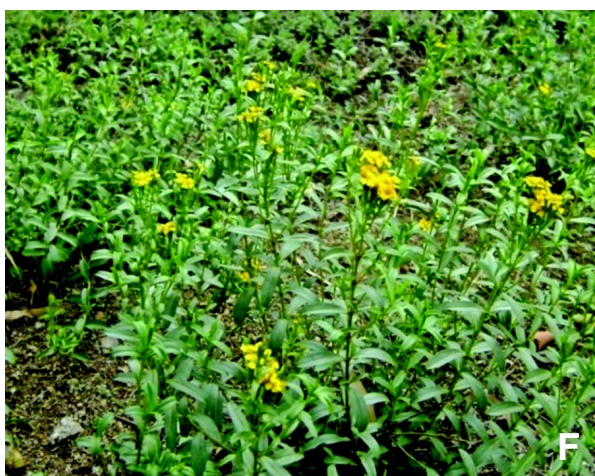
Su materia médica son las hojas y raíces desecadas.

En la droga seca, compuesta por las hojas, aumentan la tonalidad de la coloración verde, comparada con el espécimen fresco. Conservan su olor aliáceo, son quebradizas al tacto (Figura 1, B). La raíz seca es fuertemente aromática, presenta un color blanquecino opaco, es quebradiza al tacto y su textura es rugosa (Figura 1, C).

Lippia graveolens, es un arbusto leñoso perenne de 1,6 m de alto, tallos leñosos, ramificados, delgados, con fuerte olor característico de la planta. Hojas simples con filotaxis decusada, de coloración verde, y es de mayor intensidad en el haz que en el envés; oblanceolada, ápice obtuso, peciolada; margen o borde crenado (Figura 1, D). La droga vegetal consiste en las hojas, que cambian su tonalidad de verde claro a verde fuerte, conserva su olor característico ligeramente picante y fresco, las hojas son delgadas y quebradizas al tacto (Figura 1, E).

Tagetes lucida es una hierba perenne de 45 a 58 cm de alto, tallo delgado, ramificado, con fuerte aroma anisado. Tiene hojas simples con filotaxis opuesta; son de forma oblanceolada, el ápice es agudo, base connada, son sésiles, de margen dentado, de 3 a 5 cm de largo y 2 a 3 cm de ancho. A trasluz las hojas presentan una gran cantidad de glándulas oleosas. Las flores son liguladas de color amarillo, se disponen en capítulos y estos, en inflorescencia tipo corimbo. Las partes aéreas (tallos, hojas y flores) (Figura 1, F) son las partes que se utilizan como droga vegetal.

Figura 1.- Ejemplares de las especies estudiadas



A. Ejemplar de *Petiveria alliacea* L.; B. Droga, hoja, desecada; C. Droga, raíz, desecada; D. Ejemplar de *Lippia graveolens* HBK.; E. Droga, hoja desecada; F. Ejemplar de *Tagetes lucida* Cav.

La droga seca de la materia vegetal de *T. lucida* cambia su tonalidad de verde fuerte a un verde un poco más atenuado, mientras que el color de las flores se intensifica. El olor característico dulce y anisado, persiste. La consistencia de las hojas es quebradiza al tacto.

Caracteres micromorfológicos e histológicos para la identificación

***Petiveria alliacea* L.**

Hoja

Vista superficial

La hoja de *P. alliacea* en vista superficial presenta venación cerrada reticulada de tipo broquidódroma (Figura 2, A). En la sección paradérmica y en el diafanizado de la hoja se observan células epidérmicas con paredes anticlinales gruesas y ligeramente onduladas que muestran puntuaciones primarias. La hoja es hipostomática con estomas de tipo paracítico (Figura 2, B). Presenta escasos tricomas simples pluricelulares aglandulares, que pueden tener de dos a más de diez células, y están ubicados en ambas caras de la hoja y sobre los nervios principales (Figura 2, C).

Corte transversal

En el corte transversal (CT) se observa mesófilo dorsiventral, epidermis unistrata con células de tamaño irregular en ambas caras; las células de la epidermis adaxial son más altas que las de la cara abaxial. En ambos lados se observa una cutícula delgada. El parénquima en empalizada es irregular y presenta de uno a dos estratos de células cortas y largas; el parénquima esponjoso, con aproximadamente cinco estratos de células, ocupa entre el 60 y el 70 % del mesófilo. El nervio medio está constituido por cinco a seis haces vasculares de tipo colateral abierto, están enclavados en el parénquima esponjoso y dispuestos en forma de arco; junto al floema se observan casquetes de esclerénquima. En la zona del nervio medio y adyacente a la epidermis adaxial encontramos colénquima laminar; junto a la epidermis abaxial observamos colénquima lagunar (Figura 2, E) En ambos parénquimas se observan grandes cristales estiloides de oxalato de calcio (Figuras 2, C y D).

Se evidencia además, la presencia de tricomas simples de bicelulares a pluricelulares situados en la epidermis en la zona del nervio medio (Figura 2, E).

Raíz

El CT de la raíz presenta una peridermis pluries-tratificada, y un cilindro vascular con estructura anómala; se observa una estructura con xilema compacto central, seguido por anillos de xilema alternando con anillos de parénquima que contienen islotes de floema. En todos los parénquimas se encuentran estiloides y cristales tetraédricos de oxalato de calcio.

***Lippia graveolens* HBK.**

Hoja

Vista superficial

La hoja de *L. graveolens* en vista superficial presenta venación simple, abierta y reticulada de tipo craspedódroma (Figura 3, A). El diafanizado del limbo foliar muestra una hoja anfistomática con estomas del tipo anomocítico. Las células epidérmicas de la cara adaxial presentan células con paredes anticlinales lisas y ligeramente gruesas, mientras que en la cara abaxial presentan paredes anticlinales sinuosas y delgadas (Figura 3, B). En las epidermis se observan gran cantidad de tricomas eglandulares y glandulares (Figuras 3, B y C).

Pelos

Tricomas eglandulares

Unicelulares, simples, verrucosos, de base ancha y extremo agudo y pueden estar en línea con la epidermis o elevados sobre columnas epidérmicas de dos o más células. Presentan cistolitos en la base de la célula tricomática (Figuras 3, D y E).

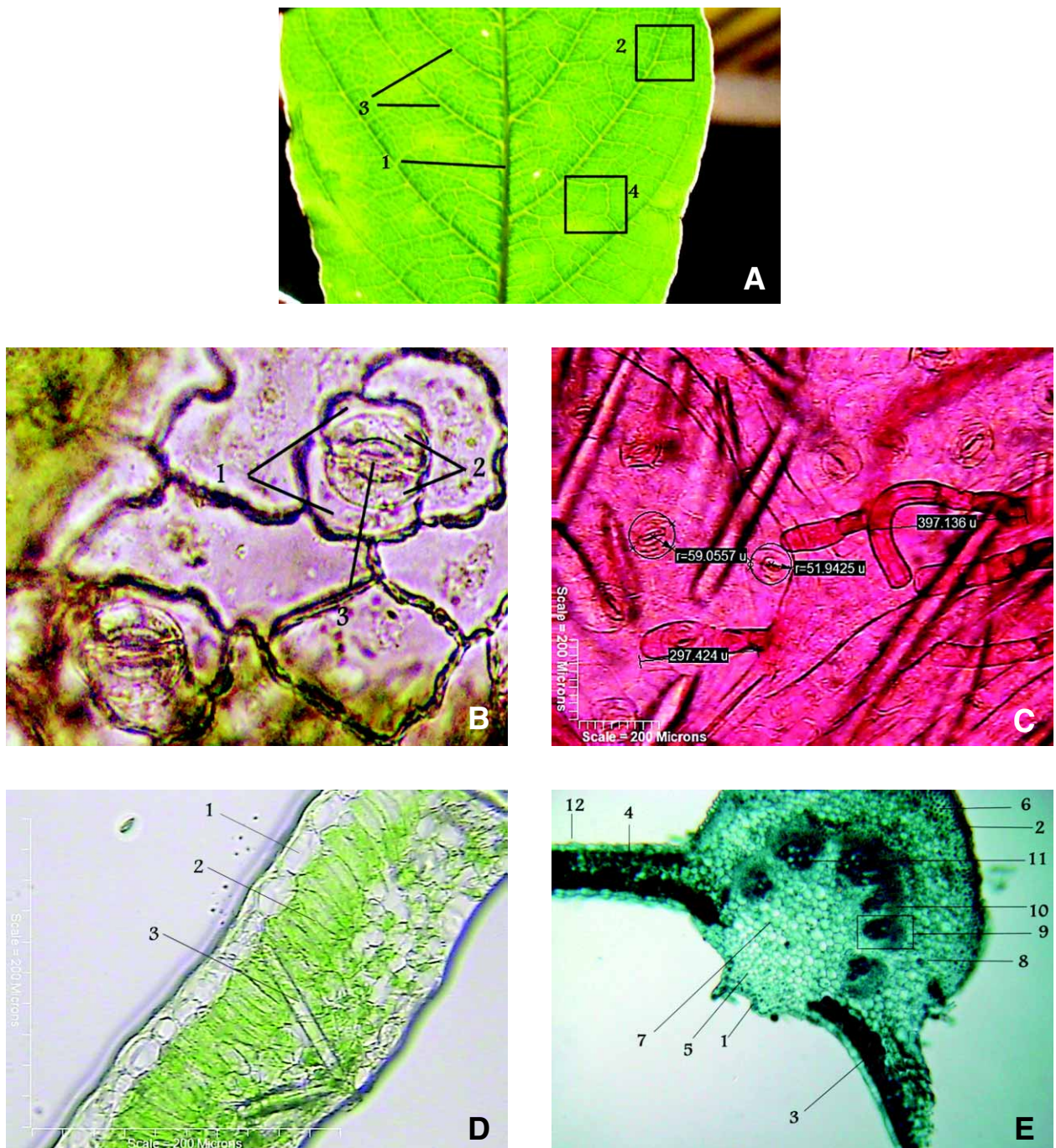
Tricomas glandulares

Sésiles, cabezuela unicelular (peltados), (Figura 3, D); pie 1-2 celular, cabeza unicelular achatada (Figuras 3, B y D); pie bicelular, corto y cabeza de dos células (Figura 3, C); pie pluricelular largo y cabeza unicelular pequeña (Figura 3, E).

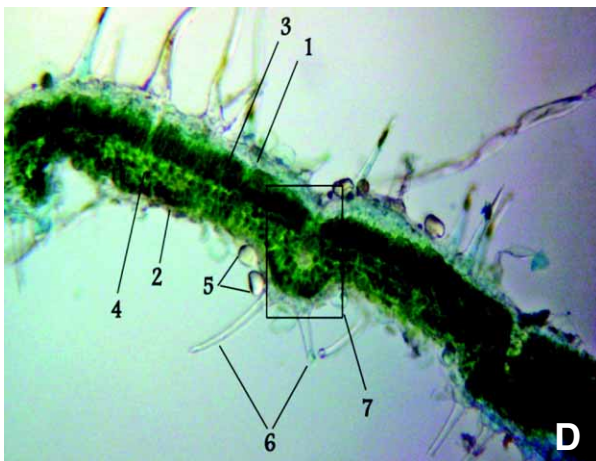
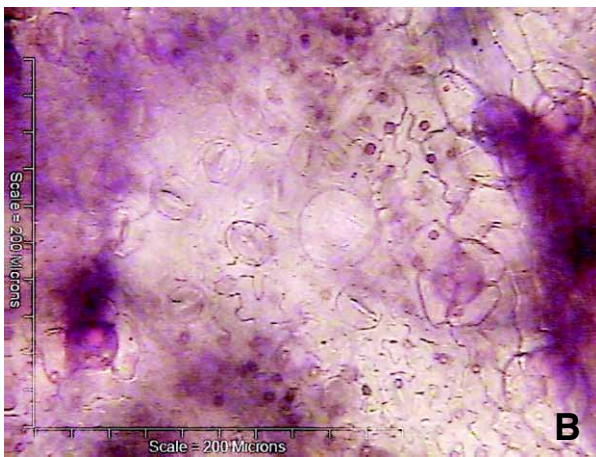
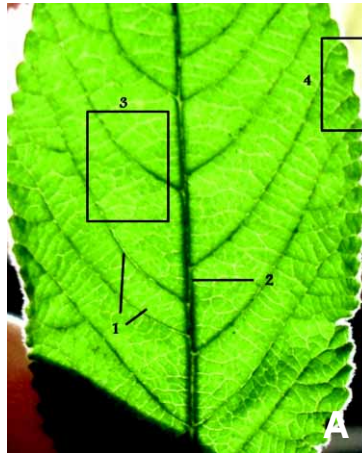
Corte transversal

En el CT del limbo foliar se observa el mesófilo dorsiventral con epidermis unistrata e irregular, formada por células rectangulares de paredes periclinales rectas y delgadas (Figuras 3 D y E). En la cara adaxial presenta una sola capa de parénquima en empalizada formada por células largas que aproximadamente ocupan la mitad del grosor de la hoja y tres capas irregulares de parénquima esponjoso.

Figura 2.- *Petiveria alliacea* L.



A. Tipo de venación de la hoja, materia fresca: vena primaria (1), venación cerrada (2), venas secundarias (3), venación reticulada (4) (10x); **B.** Sección paradérmica de la hoja, epidermis abaxial, se observan estomas paracíticos: células subsidiarias (1), células oclusivas (2), ostiolo (3) (400x); **C.** Tricomas no glandulares de la cara abaxial, cristales estiloideos de oxalato de calcio (200x); **D.** Corte transversal de la hoja: células de epidermis adaxial (1), células irregulares del parénquima en empalizada (2), estiloide de oxalato de calcio (3) (200x); **E.** Corte transversal de la hoja: epidermis adaxial (1), epidermis abaxial (2), parénquima en empalizada (3), parénquima esponjoso (4), colénquima (5-6), parénquima (7-8), haz vascular (9), floema, (10), xilema (11), epidermis abaxial (12) (100x).

Figura 3.- *Lippia graveolens* HBK.

A. Hoja en vista superficial; **B.** Diafanizado de limbo foliar, células epidérmicas y estomas anomocíticos, epidermis abaxial y adaxial (200x); **C.** Corte transversal de hoja, dos tipos de tricomas glandulares pluricelulares (400x); **D.** Corte transversal de hoja gran cantidad de tricomas: haz (1), envés (2), parénquima empalizada (3), parénquima esponjoso (4), tricomas glandulares peltados (5) y capitados (6), nervadura secundaria (7) (50x); **E.** Corte transversal por nervio medio, tricomas glandulares de base larga y no glandulares sobre proyecciones (200x).

En el transcurso se observa gran cantidad de tricomas glandulares y no glandulares, como los descritos en la vista superficial. (Figuras 3, D y E). El nervio medio del limbo foliar está constituido por 5 a 6 haces vasculares colaterales abiertos, dispuestos en arco y enclavados en el parénquima esponjoso (Figura 3, E).

***Tagetes lucida* Cav.**

Hoja

Vista superficial

La hoja de *T. lucida* en vista superficial presenta una venación abierta y reticulada de tipo craspedódroma (Figura 4, A). En el diafanizado del limbo foliar se observa una hoja hipostomática, con estomas anisocíticos y anomocíticos. Las células epidérmicas presentan paredes anticlinales gruesas y sinuosas (Figura 4, B). Se observan escasos tricomas glandulares en ambas epidermis.

Corte transversal

En el CT del limbo foliar se observa un mesófilo unifacial o equibilateral. Presenta epidermis unistrata en ambas superficies de la hoja, seguida en ambos lados por una capa de parénquima en empalizada, cuyas células son más altas hacia la epidermis adaxial que hacia la epidermis abaxial. El parénquima esponjoso, situado entre ambos parénquimas en empalizadas, presenta grandes cavidades secretoras (Figura 4, C). El nervio medio del limbo foliar es poco prominente y presenta tres haces vasculares de tipo colateral abierto, uno más grande y central, y dos laterales de menor tamaño. Los haces presentan casquetes de esclerénquima pertenecientes al floema y una vaina de células grandes esclerificadas (Figura 4, D). Debajo de las epidermis adaxial y abaxial, y reforzando los haces vasculares encontramos colénquima tipo laminar. Se observan escasos tricomas glandulares en ambas epidermis y sobre el nervio central.

Tallo

Corte transversal

En el CT del tallo se puede observar la forma poligonal, epidermis uniestratificada seguida de una a dos hileras de colénquima tipo laminar, más desa-

rollado en los ángulos; el cilindro vascular presenta hasta 24 haces colaterales y de 10 a 12 casquetes de esclerénquima, dispuestos en una eustela muy compacta; cercanos a la epidermis se observan conductos secretores (Figura 4, E).

En las tablas 1, 2 y 3 se presentan los datos correspondientes a las estructuras identificadas de las tres especies estudiadas.

Tamizaje fitoquímico

La presencia de metabolitos secundarios se evaluó por medio de la técnica de cromatografía en capa fina. Los resultados de esas pruebas se presentan en la tabla 4.

Alcaloides

Para la prueba de CCF se utilizaron los estándares de atropina que presentó un Rf de 0,85 y el de papaverina, que no dio una banda identificable. Tres de las muestras analizadas presentaron bandas en esa región, con Rf de 0,88 (hoja de *P. alliaceae*, hoja de *L. graveolens* y hoja de *T. lucida*). El resto de bandas no pudieron ser identificadas.

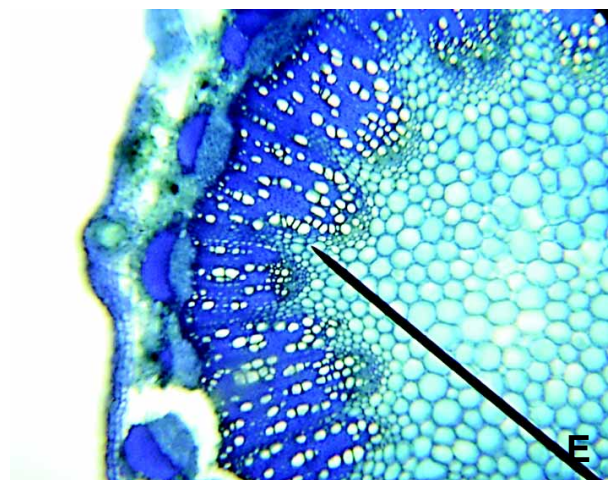
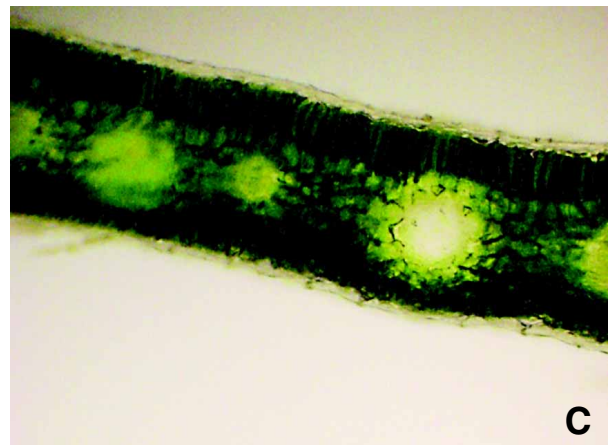
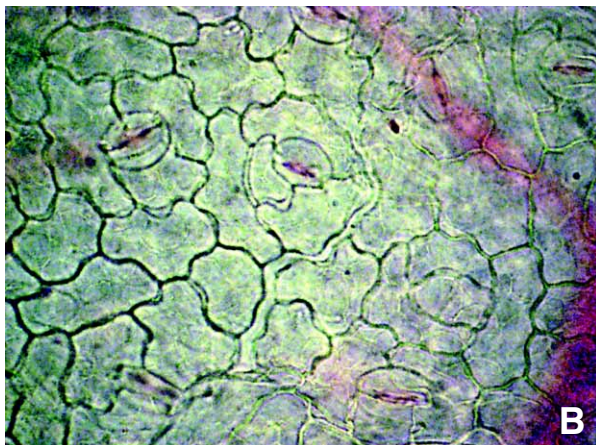
Polifenoles

Para la identificación de los polifenoles se utilizaron los estándares de quercetina (Rf: 0,61), rutina (Rf: 0,14), hiperósido (Rf: 0,34 y ácido clorogénico (Rf: 0,29). Las dos muestras analizadas de *T. lucida* (pre-floración y floración) presentaron una banda cercana a la región de la rutina. Las hojas de *T. lucida* en prefloración presentaron ácido clorogénico, y las hojas de *P. alliacea* presentaron una banda en la región del hiperósido. El resto de bandas no pudieron ser identificadas.

Saponinas

Se utilizó el estándar de saponina que dio un Rf de 0,78 y una coloración violeta, el estándar de diosgenina con un Rf de 0,88 y el estigmasterol con un Rf de 0,97. Todas las muestras presentaron bandas en la región visible para los tres estándares utilizados, a excepción de *T. lucida* en floración, que solo presentó una banda correspondiente al estándar de saponina.

Figura 4.- *Tagetes lucida* Cav.



A. Hoja vista superficial; B. Diafanizado de limbo foliar células epidérmicas, estomas anomocíticos y anisocíticos (200x); C. Corte transversal de hoja mesófilo isobilateral con cavidades secretoras; D. Corte transversal del limbo a nivel del nervio medio: epidermis adaxial y colénquima (1), casquete de esclerénquima (2) (200x); E. Transcorte de tallo (100x).

Tabla 1.- Morfoanatomía de hoja y raíz de *Petiveria alliacea* L.

Estructura	Características	Resultados
Hoja	Nervación	Cerrada reticulada, broquidódroma.
	Estomas	Hoja hipostomática, estomas del tipo paracíticos.
	Epidermis	Unistrata en ambas caras, células epidermis adaxial más altas con irregularidades.
	Mesófilo	Dorsiventral. Parénquima en empalizada uni o biestratificado e irregular. Otros: cristales estiloides de oxalato de calcio.
	Nervadura central	Haces vasculares del tipo colateral abierto.
Raíz	Indumento	Tricomas pluricelulares predominando los no glandulares o tectores.
	Estructura secundaria	Cilindro vascular con estructura anómala, se observa una estructura con xilema compacto central.

Tabla 2.- Morfoanatomía de hoja de *Lippia graveolens* HBK.

Estructura	Características	Resultados
Hoja	Nervación	Abierta reticulada simple, craspedódroma.
	Estomas	Anfistomática, estomas anomocíticos.
	Epidermis	Uniestrada en ambas caras.
	Mesófilo	Dorsiventral. Una capa de parénquima clorofiliano en empalizada con células largas.
	Nervio medio	Haces vasculares: 5 a 6 colaterales abiertos dispuestos en arco.
	Indumento	Tricomas glandulares con cabeza unicelular y bicelulares, no glandulares largos y cortos sobre proyecciones epidérmicas.

Tabla 3.- Morfoanatomía de hoja y tallo de *Tagetes lucida* Cav.

Estructura	Características	Resultados
Hoja	Nervación	Abierta reticulada pinnada, craspedódroma.
	Estomas	Hipostomática, estomas anisocíticos y anomocíticos.
	Epidermis	Uniestratificada en ambas superficies.
	Mesófilo	Equilateral, parénquima en empalizada bajo ambas caras y esponjoso central con gran cantidad de cavidades secretoras.
	Nervio medio	Tres haces vasculares colaterales abiertos.
	Indumento	Escasos tricomas glandulares unicelulares y no glandulares pluricelulares.
Tallo	Estructura primaria	Presenta haces colaterales abiertos. Tiene euestela. Colénquima laminar. Conductos secretores.

Tabla 4.- Cromatografía en capa fina para confirmar la presencia de metabolitos secundarios de interés

Metabolitos	<i>P. alliacea</i>		<i>L. graveolens</i>	<i>T. lucida</i> (prefloración)	<i>T. lucida</i> (floración)	Estándares utilizados	
	Rf de la droga vegetal evaluada					Rf	
	H	R	H	H	H		
Alcaloides	0,88	0,33	0,51	0,88	ND	Atropina	0,85
			0,67	0,94	ND	Papaverina	ND
			0,88				
Polifenoles	0,33	0,42	0,45	0,18	0,18	Rutina	0,14
			0,93	0,29	0,45	Ac. clorogénico	0,29
				0,43	0,93	Hiperósido	0,34
				0,93		Quercitin	0,61
Saponinas	0,74	0,76	0,76	0,76	0,78	Saponina	0,78
	0,85	0,87	0,91	0,90		Diosgenina	0,88
	0,97	0,97	0,97	0,97		Stigmasterol	0,97

H: hoja; R: raíz.

Porcentajes de rendimiento de aceites esenciales y extracto vegetal

Se determinaron los porcentajes de rendimiento tanto de la extracción de aceites esenciales como la obtención del extracto vegetal. Al evaluar los resultados de las tres plantas, el mayor porcentaje en la obtención, tanto de extracto vegetal como de aceite esencial, lo mostró *L. graveolens*; en cuanto a la comparación de las dos etapas fenológicas de *T. lucida*, la etapa de floración fue la que obtuvo el mayor rendimiento de estos dos parámetros.

Parámetros de pureza (humedad y cenizas totales)

En la determinación de cenizas totales, la hoja de *P. alliacea* mostró los mayores porcentajes de cenizas totales con un promedio de 16,42 %, *L. graveolens*, 12,01 %, raíz de *P. alliaceae*, 11,83 %, *T. lucida* en fase de prefloración, 10,58 %, y en fase de floración, 8,62 %. El porcentaje de humedad para todas las muestras fue menor del 10 %.

Discusión

Los resultados obtenidos en este estudio permitieron establecer caracteres farmacobotánicos útiles

para el control de calidad de las especies aromáticas: *P. alliacea*, *L. graveolens* y *T. lucida*.

Las características botánicas encontradas en *P. alliacea* coinciden con las descripciones realizadas por otros autores para la familia Phytolaccaceae y el género *Petiveria* (Cáceres, 2006; Di Stasi y Hiruma-Lima, 2002; Rzedowski y de Rzedowski, 2000). El olor aliáceo y la propiedad lacrimógena de esta especie se debe a que, tanto la raíz como la hoja cuentan con un alto contenido de derivados del aminoácido cisteína, compuesto sulfurado como petivericina, tiosulfinato, petiveriina, etc., pero en especial, se atribuye a la sulfina (Cáceres, 2006). Estas características le confieren actividad antifúngica y antibacteriana y los compuestos polisulfurados son los más activos (López y Pérez, 2010; Muñoz, 2011).

Los caracteres micromorfológicos observados en el CT del limbo foliar como, mesófilo bifacial, epidermis unistrata y la presencia de colénquima en la nervadura central, es propia de la familia Phytolaccaceae; sin embargo, Duarte y Lopes (2005), informaron para la especie, colénquima angular; en nuestro estudio el colénquima adyacente a la epidermis abaxial es de tipo lagunar y el adyacente a la epidermis adaxial es de tipo laminar. Cáceres (2006) informa para esta especie, solo colénquima laminar. La presencia de grandes

cristales estiloides de oxalato de calcio ha sido informada por otros investigadores (Cáceres, 2006; Metcalfe y Chalk, 1972), lo cual coincide con este estudio, no así con los informes de Duarte y Lopes (2005), quienes expresaron pequeños cristales prismáticos, además, informaron un máximo de cinco haces vasculares en arco en CT del nervio medio, mientras que en este estudio se encontraron hasta seis, al igual que lo expresado por Metcalfe y Chalk (1972). Se encontraron tricomas pluricelulares de tipo no glandular o tectores, que además de tener un valor en la identificación de las especies, garantizan protección ante los insectos, incluso de estar relacionados en la regulación de la temperatura y la hidrofugación (Duarte y Lopes, 2005; Martínez y col., 2004).

En este estudio, al igual que lo sostenido por Duarte y López (2005), se encontró una hoja hipostomática con estomas de tipo paracítico; no se encontraron los estomas anisocíticos informados por Cáceres (2006). En el CT del limbo foliar se observó un parénquima en empalizada irregular con una o dos capas de células cortas.

Para *L. graveolens*, la descripción botánica realizada coincide con lo observado por Cáceres (2009) y Pöll (2005). Las observaciones del cambio de color de la droga vegetal al secarse, así como volverse frágil y conservar su olor característico, corresponde a lo evaluado por Nuñez y col. (2007) que describieron a la familia Verbenaceae.

También para otras especies del género se ha descrito la presencia de mesófilo bifacial y colénquima asociado a ambas epidermis en la zona del nervio medio, así como haces vasculares colaterales abiertos dispuestos en forma de arco (Milaneze-Gutierrez y col., 2003); sin embargo, la presencia de uno a tres haces accesorios puede considerarse importante, ya que otras especies de Verbenaceae, presentan diferente distribución y cantidad de haces accesorios. Las hojas anfistomáticas son características de la familia (Bonzani y Col., 1997). Los tricomas tectores cumplen funciones de defensa, mientras que los glandulares colaboran en la secreción de sustancias de interés, como aceites esenciales, entre otras (Bonzani y col., 1997; Molina, 2008). La variabilidad de tricomas encontrados en *L. graveolens*, tanto glandulares como no glandulares, son característicos de la familia (Bonzani y col., 1997; Martínez-Natarén y col., 2011; Metcalfe y Chalk, 1972). Cáceres (2006), describe los tricomas glandulares

con cabeza bicelular y pie unicelular, con cabeza unicelular y pie bicelular observados en este estudio; sin embargo, no describe los tricomas peltados, que sí son descritos por Martínez-Natarén y col. (2011), quienes además, mencionan el efecto de los factores ambientales sobre la densidad de los tricomas. Concluyeron que la densidad de tricomas aumenta con la humedad del lugar de crecimiento de *L. graveolens*.

Para *T. lucida*, la descripción botánica corresponde a lo descrito por otros autores (Cáceres, 2009; García Sánchez y col., 2012; Pöll, 2005), la identificación organoléptica, tanto en su etapa de follaje como floración, se caracteriza porque el aroma de sus hojas es fuertemente anisado, hecho que ha ocasionado que en muchas poblaciones rurales, donde es ampliamente utilizado, se lo conozca como "anisillo" (García Sánchez y col., 2012).

En la etapa de floración la hoja tiene una gran cantidad de glándulas oleosas, que coincide con lo encontrado por Visintin y Bernardello (2005), quienes describieron a la familia Asteraceae, y en específico al género *Tagetes*.

La descripción micromorfológica de la materia fresca indica que tiene una epidermis uniestratificada en ambas superficies de la hoja, tal y como Metcalfe y Chalk (1950) y Mercado y col. (2006), señalaron para la familia Asteraceae, aunque no se considera de valor diagnóstico debido a que puede variar en condiciones ambientales (Milán y col., 2006). Asimismo, estos autores describieron que la familia Asteraceae comúnmente tiene hojas con mesófilo del tipo dorsiventral. Sin embargo, en este estudio *T. lucida* presentó un mesófilo tipo isobilateral, que según los autores mencionados es común encontrarlo en hojas erguidas o pendulares y está relacionado con condiciones ambientales. Nuestros resultados coinciden con lo informado por García-Sánchez y col. (2012) quienes también informaron el mesófilo bifacial y cavidades secretoras, tanto en el mesófilo como en la nervadura central.

En nuestro estudio, la nervadura central presenta de uno a tres haces vasculares, lo cual difiere de lo mencionado por García Sánchez y col. (2012) quienes mencionan que la nervadura central tiene dos haces vasculares. Sin embargo, la presencia de esclerénquima y una vaina esclerosada sí es informada por ellos. La nervadura central poco prominente ha sido descrita en otras especies de Asteraceae (Zambare y col., 2010). Para *T. lucida*, el indumento

está formado por escasos tricomas de tipo no glandular, que para este estudio fueron más abundantes en la cara adaxial, contrario a lo informado por García Sánchez y col. (2012); estos autores informan solo estomas de tipo anomocítico, y en este estudio se encontraron además, anisocíticos.

En cuanto al tamizaje fitoquímico de las tres especies en estudio, en la cromatografía en capa fina, se confirma que los alcaloides encontrados para *L. graveolens*, la hoja de *P. alliacea* y la hoja de *T. lucida* en follaje corresponden a atropina, al compararlos con el Rf del estándar utilizado,

En la cromatografía en capa fina, los Rf^e encontrados para *L. graveolens*, *P. alliacea* y *T. lucida* en follaje pueden compararse con los tres estándares utilizados, la saponina, la diosgenina y el stigmasterol; en consecuencia, se confirma que las tres plantas tienen estos tipos de saponinas (Martínez Pilar y col., 2003; Cáceres, 2006, Teleguario, 2008).

El porcentaje de humedad de las tres especies evaluadas se encontraba dentro de los rangos aceptables especificados por la OMS (<10 %), lo cual garantiza que el material vegetal utilizado en este estudio se encontraba seco adecuadamente.

El porcentaje de ceniza indica el contenido de sustancias inorgánicas. El valor límite según la OMS es de 12 %, con todas las muestras evaluadas dentro de los límites establecidos a excepción de la hoja de *P. alliacea*; sin embargo, en otros estudios se informan valores de cenizas totales de 17,61 % y de 15 %. (Cáceres, 2006). Este parámetro puede ser influenciado por muchas variables, entre las que se pueden mencionar la época del año en que fue recolectada la muestra, las propiedades físicas del suelo en el que es cultivada la planta. A pesar de que este valor presenta gran variabilidad, incluso en repeticiones del mismo material evaluado, puede llegar a carecer de valor en la caracterización de la materia de estudio, aunque al igual que el valor de porcentaje de humedad, garantiza la calidad del material vegetal utilizado (Solís y col., 2003).

Una característica de las tres especies evaluadas es que sus aceites esenciales también son de importancia médica; en *P. alliacea* el rendimiento de aceites esenciales fue de 0,68 %. Considerando que se ha reconocido al aceite esencial de la raíz como de mayor actividad medicinal, sería interesante comparar los componentes tanto del aceite de las hojas como el de la raíz (Martínez Pilar y col., 2003).

El porcentaje de rendimiento obtenido para *L. graveolens* fue de 1,45 %; un estudio previo (Quezada, 2008) determinó que para las hojas de *L. graveolens* el porcentaje de rendimiento experimental es de entre 1,252 a 1,528 % dependiendo del área; al hacer las correspondientes comparaciones se determina que los porcentajes de rendimiento son muy similares (Quezada, 2008).

El porcentaje de rendimiento para *T. lucida* en etapa fenológica de prefloración presentó un rango de 0,75 %; para este porcentaje no se cuenta con un dato teórico que sirva para comparación. Para *T. lucida* en etapa de floración el porcentaje de rendimiento fue de 0,84 %, mientras que el obtenido en un estudio previo, fue de 0,26 %. Este dato puede verse influenciado por la época de recolección, ya que el contenido de aceite esencial aumenta con la mayor cantidad de precipitación pluvial. Además, se ha informado mayor cantidad de aceite si la recolección se realiza por la mañana (Samol y Santizo, 2011).

Igualmente al determinarse los porcentajes de rendimiento de los extractos vegetales se concluye que tanto los porcentajes de extracto sólido como de aceite esencial dependen mucho de las condiciones climáticas y de estrés de la planta, lo que puede interferir igualmente en la producción de metabolitos secundarios. Entre esos factores podemos mencionar tanto la falta como el exceso de lluvia, las cantidades de sol que recibe, el clima de la región donde se encuentra el cultivo, si la región es distinta a la nativa. Puede interferir igualmente el tipo de suelo en el que se asienta la planta, su inclinación y la vegetación circundante (Moriconi y col., 2009).

Concluimos que las tres especies estudiadas presentan características organolépticas muy particulares, especialmente *P. alliacea* y *T. lucida*, sin embargo, existen otras plantas medicinales con olores similares, por lo que al encontrarse secas y fragmentadas, los caracteres micromorfológicos de las hojas aportan herramientas muy útiles para el establecimiento del control de calidad de las tres especies, especialmente los de la vena media, el mesófilo, y los tipos de tricomas y estomas. Sería importante realizar índices numéricos que pueden ser muy útiles para diferenciar adulteraciones con plantas del mismo género. De igual forma las características fitoquímicas y fisicoquímicas pueden contribuir a determinar la calidad de las drogas vegetales.

Agradecimientos

A la Facultad de Agronomía, especialmente al ingeniero agrónomo Vicente Martínez y a su equipo de trabajo y al Departamento de Ecología, por la valiosa ayuda brindada para la realización de la fase botánica experimental. Al Laboratorio de Bioensayos, al Departamento de Citohistología y al Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por su colaboración y supervisión en la fase fitoquímica y la interpretación de los resultados.

Referencias bibliográficas

- Alleman, J.; Robbertsse, P.J.; Hammes, P.S. (2003). "Organographic and anatomical evidence that the edible storage organs of *Plectranthus esculentus* N.E.Br (Lamiaceae) are stem tubers". *Field Crops Research* 83(1): 35-39.
- Bonzani, N.; Filipa, E.; Barboza, G. (1997). "Particularidades Epidérmicas en algunas especies de Verbenaceae". *Anales del instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica* 68 (2), 47- 56.
- Cáceres A. (2006) *Propuesta de Monografías Farmacopéicas de 10 Plantas Medicinales Centroamericanas*. Guatemala, OEA: 21-26, 35-49.
- Cáceres, A. (2009). *Vademécum Nacional de Plantas Medicinales*. Editorial Universitaria, Guatemala: 83-85; 287-289.
- Cáceres, A.; Girón, L.M. (2002). "Desarrollo de medicamentos fitoterápicos a partir de plantas medicinales en Guatemala". *Revista de Fito-terapia* 2(1): 41-46.
- Cuassolo, F.; Ladio, A.; Ezcurra, C. (2010). "Aspectos de la comercialización y control de calidad de las plantas medicinales más vendidas en una comunidad urbana del NO de la Patagonia Argentina". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 9(3): 166-176.
- Dey, J.; Harbone, J. (2002). "Methods in Plant Biochemistry". *Plant Phenolics*, I(52): 28-31.
- Di Stacy, L.C.; Hiruma-Lima, C.A. (2002). *Plantas medicinais na Amazonia e na Mata Atlantica*. São Paulo: UNESP.
- Domínguez-Vasquez G.; Castro-Ramírez E. (2002). "Usos medicinales de la familia Labiatae en Chiapas, México". *Etnobiología* 2: 19-31.
- Duarte, M.; Lopes, J. (2005). "Leaf and stem morphoanatomy of *Petiveria alliacea*". *Fitoterapia* 76: 599-607.
- García-Sánchez, F.; López-Villafranco, M.E.; Aguilar-Rodríguez, S.; Aguilar-Contreras, A. (2012). "Etnobotánica y morfo-anatomía comparada de tres especies de *Tagetes* que se utilizan en Nicolás Romero, estado de México". *Botanical Sciences* 90(3): 221-232.
- Gattuso, M.; Gattuso, S. (1999). *Manual de procedimientos de drogas en polvo*. Argentina : UNR Editora.
- Giberti, G.C. (1998). "Herborización y herbarios como referencia en estudios técnico-científicos. Herbarios de la Argentina". *Dominguezia* 14(1): 19-39.
- Henao, J.; Muñoz, L.J.; Padilla, L.; Ríos, E. (2010). "Extracción y caracterización del aceite esencial de *Lippia origanoides* H.B.K. Orégano de monte, cultivado en el Quindío y evaluación de la actividad antimicrobiana". *Revista de Investigaciones Universidd del Quindío* 21: 82- 86.
- López, J.; Pérez, J. (2010). "Fitoquímica y valor ecológico del olor a ajo en los vegetales". *Medicina Naturista*, 4(1), 15-23.
- Martínez, J.; Arizaleta, M.; Sanabria, M.; Brito, L. (2004). "Características de los estomas, densidad e índice estomático y su variación en función a la injertación en *Annona muricata* L. y *A. montana*. MADFAC". *Bioagro* 16(3): 213-218.
- Martínez-Natarén, D.A.; Parra-Tabla, V.; Dzib, G.; Calvo-Irabién, L.M. (2011). "Morphology and density of glandular trichomes in populations of Mexican oregano (*Lippia graveolens* H.B.K, Verbenaceae), and the relationship between trichome density and climate". *Journal of the Torrey Botanical Society* 138: 134-144.
- Martínez Pilar, M.M.; Baracaldo Barrera, N.; Santos Obregón, M.; Guzmán, D.N. (2003). "Estudio farmacognóstico, fitoquímico, microbiológico de *Petiveria alliacea* Lin 1998". *Gaceta Médica Espirituria*: 5(1). En línea <[http://bvs.sld.cu/revistas/gme/pub/vol.5.\(1\)_02/p2.html](http://bvs.sld.cu/revistas/gme/pub/vol.5.(1)_02/p2.html)>.
- Mercado, M.I.; Ponessa, G.I.; Grau, A. (2006). "Morfología y anatomía foliar de "Yacón", *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae), con fines de control de calidad". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 25(4): 526-32.

- Metcalf, C.R.; Chalk, L. (1950). *Anatomy of Dicotyledons*, Vol. I. Clarendon Press, Oxford: xi-xxi.
- Metcalf, C.R.; Chalk, L. (1972). *Anatomy of Dicotyledons*. Vol. II. Clarendon Press, Oxford: 1030-1041.
- Milan, P.; Hissae, A.; Apezato da Glória, B. (2006). "Comparative leaf morphology and anatomy of three Asteraceae species". *Brazilian Archives of Biology and Technology* 49(1): 135-144.
- Milaneze-Gutierrez, M.A.; Mello, J.C.P.; Delaporte, R.H. (2003). "Efeitos da intensidade luminosa sobre a morfo-anatomia foliar de *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold. (Verbenaceae) e sua importância no controle de qualidade da droga vegetal". *Revista Brasileira de Farmacognosia* 13(1): 23-33.
- Molina, M. (2008). "Variación de la pubescencia foliar en plantas y sus implicaciones funcionales a lo largo de gradientes altitudinales". *Ecosistemas* 17(1): 146-154.
- Moriconi, J.I.; Fernández, E.A.; Martínez, E.; Giulietti, A. (2009). "Rendimiento de materia seca y composición del aceite esencial de *Lippia turbinata* Griseb. "poleo" (Verbenaceae), en plantas de San Luis (Argentina)". *Horticultura Argentina* 28(65): 34-38.
- Muñoz, I. (2011). *Evaluación de los contenidos metabólicos en cultivos de células de "P. alliacea"*. Tesis de graduación Magister en Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Medellín.
- Núñez, M.; Aguado, M.; Bela, A.; Vonka, C.; Sansberro, P. (2007). "Farmacognosia y Fitoquímica de *Lippia* G. Verbenaceae". *Boletín Latinoamericano y del Caribe Plantas Medicinales y Aromáticas* 6(5): 262-263.
- OMS. (2003). *Directrices de la OMS sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales*. Ginebra.
- Pöll, E. (2005). "Medicinal and aromatic plants of Guatemala and the need for their conservation". *Acta Horticulturae* 676: 167-170.
- Quezada, A. (2008). Evaluación del rendimiento de extracción del aceite esencial crudo de orégano (*Lippia graveolens*) provenientes de dos zonas de distinta altitud, por medio del método de arrastre de vapor a nivel de planta piloto. *Tesis de Grado, Ingeniería*, Universidad de San Carlos de Guatemala, Escuela de Ingeniería Química, Guatemala.
- Rzedowski, J.; de Rzedowski, G. (2000). "Phytolaccaceae". *Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes*. Instituto de Ecología. Patzcuaro, Michuacan: Centro Regional del Bajío. Fascículo 91: 1-31.
- Samol, V.; Santizo, B. (2011). Actividad inhibitoria de extractos y aceites esenciales de especies condimentarias, alimenticias y medicinales contra *Campylobacter jejuni*. *Tesis de Grado, Licenciatura*, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Solís, P.N.; Guerrero, N.; Gattuso, S.; Cáceres, A. (2003). *Manual de caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos*. Proyecto Desarrollo de Tecnología de Cultivo de Plantas Medicinales y Producción de Fitoterápicos, OEA/AICD/AE 089/03, Panamá: 132.
- Teleguario, C. (2008). Caracterización y Cuantificación de Flavonoides, Sapogeninas, Esteroides en extractos de tres plantas mesoamericanas, *Lippia graveolens* (orégano), *Passiflora edulis* (maracuyá) y *Smilax domingensis* (zarparrilla). *Tesis de Grado, Licenciatura*, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Visintin, A.; Benardello, G. (2005). "Morfología y Anatomía floral de *Tagetes* (Asteraceae)". *Arnaldoa* 12(1-2): 8-15.
- Xiu-Chacón, G. (1998). "El arte curativo de los Mayas y los primeros médicos de la península de Yucatán, México". *Revista Biomédica* 9: 38-43.
- Zambare, A.V.; Chakraborty, G.S.; Banerjee, S.K. (2010). "Pharmacognostic studies of potential herb – *Tridax procumbens* Linn.". *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 1(9): 58-62.

Anatomical studies of *Baccharis grisebachii* Hieron. (Asteraceae). Used in folk medicine of San Juan province, Argentina

Martín Hadad^{1,2*}, Susana Gattuso³, Martha Gattuso³, Gabriela Feresin¹, Alejandro Tapia¹

¹ Instituto de Biotecnología-Instituto de Ciencias Básicas, Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de San Juan, Av. Libertador General San Martín 1109 (O), (5400) San Juan, Argentina.

² Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de San Juan, Av. Ignacio de la Roza 590 (O) (J5402DCS) Rivadavia, San Juan, Argentina. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas.

³ Cátedra de Botánica, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Suipacha 531 (S2002 RLI) Rosario. Argentina.

*Address correspondence to Martín Hadad: mhadad@mendoza-conicet.gob.ar.

Summary

Baccharis grisebachii Hieron., commonly known as “quilchamali”, is a bushy plant that lives in the high mountains of Argentina and southern Bolivia. The infusion or decoction of aerial parts is used in the traditional medicine of San Juan province, Argentina, to treat gastric ulcers, digestive problems, and as antiseptic and wound healing in humans and horses. The aim of this study is to analyze the anatomical characters of *B. grisebachii* for specific identification and quality control. The results show that the leaf blade is ericoid with a dorsiventral mesophyll, and epidermis has a smooth and thick cuticle. The stomata are anomocytic. In both epidermis there are two types of hairs, not glandular and glandular. Adult stems show secondary structures. The root shows 1 - 2 rows of pericyclic cells and an endodermis. *B. grisebachii* shows xeromorphic anatomic characters. The structural characters provide micrographic reference standards, useful for quality control at the crude drug stage.

Estudio anatómico de *Baccharis grisebachii* Hieron. (Asteraceae). Usada en la medicina tradicional de la Provincia de San Juan, Argentina

Resumen

Baccharis grisebachii Hieron. conocida comúnmente como “quilchamali” es una planta arbustiva que vive en las altas montañas de la Argentina y el sur de Bolivia. La infusión o decocción de las partes aéreas es utilizada en la medicina tradicional de la provincia de San Juan, Argentina, para tratar las úlceras gástricas, problemas digestivos y como cicatrizante de heridas y antiséptica en humanos y equinos. El objetivo de este estudio es analizar las características anatómicas de *B. grisebachii* útiles en la identificación y control de calidad de la especie. Los resultados muestran que la hoja es ericoide con mesofilo dorsiventral y tiene una epidermis con una cutícula gruesa y lisa. Los estomas son anomocíticos. En ambas epidermis se encuentran dos tipos de pelos, no glandulares y glandulares. En tallos adultos se hace evidente una estructura secundaria y en la raíz se observan 1-2 hileras de células pericíclicas y la endodermis. *B. grisebachii* muestra caracteres anatómicos xeromórficos. Los caracteres estructurales enunciados proporcionan patrones de referencia micrográficos, útiles para el control de calidad de la droga cruda.

Key words: quilchamali - anatomical studies - epidermis - leaf - stem - root.

Palabras clave: quilchamali - estudios anatómicos - epidermis - hoja - tallo - raíz.

Introduction

Baccharis grisebachii Hieron. (Asteraceae) is widely distributed in the South of Bolivia, the North-west and West of Argentina between 2,000 and 3,800 m.a.s.l. (Cabrera, 1978; Giuliano, 2000). The populations of *B. grisebachii* in Argentina are located in the Puneña Phytogeographical Region. The dominant vegetation type is the shrubby steppe, with shrubs of half to a meter high, that grow very spread, leaving big spaces of nude soil among them. Some typical species in this area are: *Ephedra breana*, *Fabiana densa*, *Baccharis incarum*, *Adesmia spinosissima*, *Chuquiraga erinacea*, *Lycium fuscum*, *Mulinum spinosum*, *Stipa vaginata*, and *Junellia seriphioides* (Cabrera, 1994).

San Juan province is located in the Central-Western region of Argentina, centred on the intersection of 31° S latitude and 69° W longitude to the Western Andean slopes. The mountains of this range along the San Juan borders are higher than 4,000 m.a.s.l. There are many valleys and desert areas with low rain and snow precipitancy levels. The native flora comprises a large number of species distributed into different ecosystems characterized by particular edaphic and climatic conditions (Feresin and col., 2002). The province has a rich tradition in folk medicine including medicinal plants (Bustos and col., 1996). These species are used as food condiments, infusions or decoctions to treat liver problems, stomach disorders, ulcers and skin infections and domestic pests. The plants are consumed as tea/plants of decoction, isolated or mixed with tea and “yerba mate” (*Ilex paraguariensis*), and are also characterized by a strong scent.

The genus *Baccharis* is an important source of natural medicinal products (Abad and Bermejo, 2007). In the traditional medicine of San Juan province there are at least three species of the genus *Baccharis*, vernacularly known as quilchamali, which are collected for the retail sale in herbal stores. These species are: *B. grisebachii*, *B. incarum*, and *B. polifolia*. From them, the infusions or decoctions of aerial parts from *B. grisebachii* are used in traditional medicine of San Juan province, Argentina to treat gastric ulcers as a digestive, and as antiseptic and antibiotic for external use. Crushed leaves and flowers are applied as a wound healing poultice to human or horses (Bustos and col., 1996).

During the last years, phytochemical as well as *in vitro* and *in vivo* ethnopharmacological researches have been reported that support the widespread use of extracts and essential oil of *Baccharis grisebachii* in the traditional medicine of Argentina (Feresin and col., 2001; 2002, 2003; Tapia and col., 2004; Hadad and col., 2007). However, anatomical studies of the species *B. grisebachii* Hieron. growing in the Cuyo region, Argentina, have not been reported.

The anatomical studies on different Asteraceae species proved to be incomplete upon bibliographical revision. In this way, Solereder (1908) and Metcalfe and Chalk (1972) have only partially described certain genera. Ramaya (1962a, 1962b) carried out an exhaustive study of certain Asteraceae trichomes. Cortadi and Gattuso (1991) performed the anatomical characterization of *Eupatorium macrocephalum* Less., *E. inulaefolium* Kunth., and *E. subhastatum* Hook. et Arn. There are also several studies regarding xerophytic vegetation of the Puna such as those by Ancibor (1975, 1980, 1982, 2002), and Carmona and Ancibor (1995). Anatomic descriptions of *Baccharis* were reported by Cortadi and col. (1999), Barbosa and col. (2001), Rodríguez and col. (2008) and also included in the taxonomic study of Arizar Espinar (1973), Giuliano (2000, 2001), Rodríguez and col. (2010). In addition, Ancibor (1992) made a short description of the anatomy of *B. grisebachii*, but there is a lack on detailed studies of the anatomy of Quilchamali.

The aim of this work is to accomplish an update of *B. grisebachii* scientific names, synonyms and common names; to provide a brief description of the plant and to undertake the study of the internal anatomy of the vegetative organs employed. This work will therefore provide micrographic reference standards, useful for quality control of the vegetal drug.

Material and Methods

Material used for histology study

Samples for histological studies were collected in Argentina. Prov. San Juan: Dpto. Iglesia. *Loc. Peñasquito, 12/2004, Hadad, M, s/n (MERL 55322). Dpto. Iglesia. *Loc. Agua Negra, 12/2004. Hadad, M, s/n, (MERL 55323). Dpto. Iglesia. *Loc. Quebrada de Chita, 12/2004, Hadad, M, s/n, (MERL 55321).

The anatomical study was performed on leaves, petioles, stems and roots, killed and fixed in F.A.A. solution (formaldehyde, ethanol, acetic acid, water, 2:10:1:3). Organs were free-hand cross-sectioned, embedded in paraffin, and cut with a Minot type microtome. Leaves were sectioned in the central part of the lamina. Samples were stained with fast-green safranin (Dizeo de Strittmatter, 1989). Sections were mounted in synthetic balsam. Stems were macerated by conventional methods (Boodle, 1916), and leaves were cleared according to Dizeo de Strittmatter's method (1973). The terminology proposed by Hickey (1973) was used for the description of leaf architecture. Microscopical observations were performed with a Zeiss Axiolab LM and microphotographs were obtained with a MC 80 camera.

Results

Baccharis grisebachii Hieron., *Bol. Acad.Nac. Ci.* 4 (1): 36, 1881. *Baccharis abietina* Kuntze, *Revis. Gen. pl.* 3 (2) 1898; *Baccharis rosmarinifolia* Hook. et Arn. var. *andicola* Hauman, *Anales Soc. Ci. Argent.* 86: 316. 1918. *Common names*: "quinchamal", "romerillo", "tancha".

Description

Dioecious plants. Tomentose shrubs with a height ranging from 0.6 to 2 m. Erect and glabrous branches with brachyblasts. Linear or obovate leaves, obtuse or acuminate apex, entire and revolute margin. Single-ribbed, glabrous stem, whitish or tomentose-grayish in the upper surface, measuring 1.3 - 3 (5) x 0.05 - 0.2 cm. Pedunculated capitula arranged in chorimbiform cymes at brachyblast apex. Filiform, numerous flowers. Yellowish pappus. Male capitula five millimetre length and 4 mm diameter, bellshaped involucre, with three series of acute bracts. Glabrous, five-sided two millimetre length achenes. The plant is widely distributed in the South of Bolivia, the Northwest and West of Argentina, 2,000 and 3,800 m.a.s.l. (Cabrera, 1978, Giuliano, 2000).

Anatomical characters

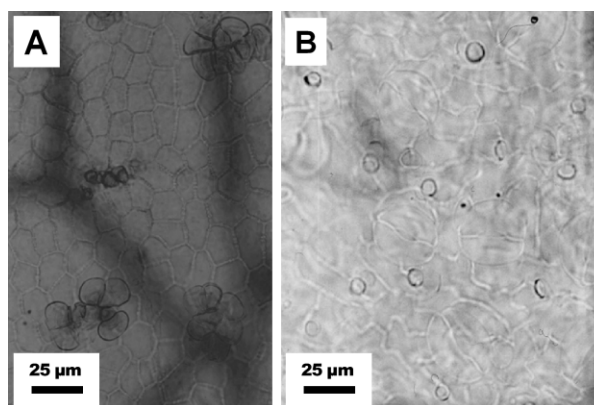
A - Leaf

1- Leaf blade surface view

The analysis of the foliar architecture shows a single ribbed venation and dense vascular pattern.

Epidermis: The adaxial epidermis presents isodiametric cells with right anticlinal walls. The cuticle is thick and smooth without stomata (Figure 1, A). The abaxial epidermis presents anticlinal undulations and stomata in leaf blade depressed zones, and is covered with trichomes. Stomata are anomocytic (Figure 1, B).

Figure 1.- Leaf lamina superficial view of *Baccharis grisebachii*



A. Adaxial epidermis (with glandular trichomes).
B. Abaxial epidermis (with stomata).

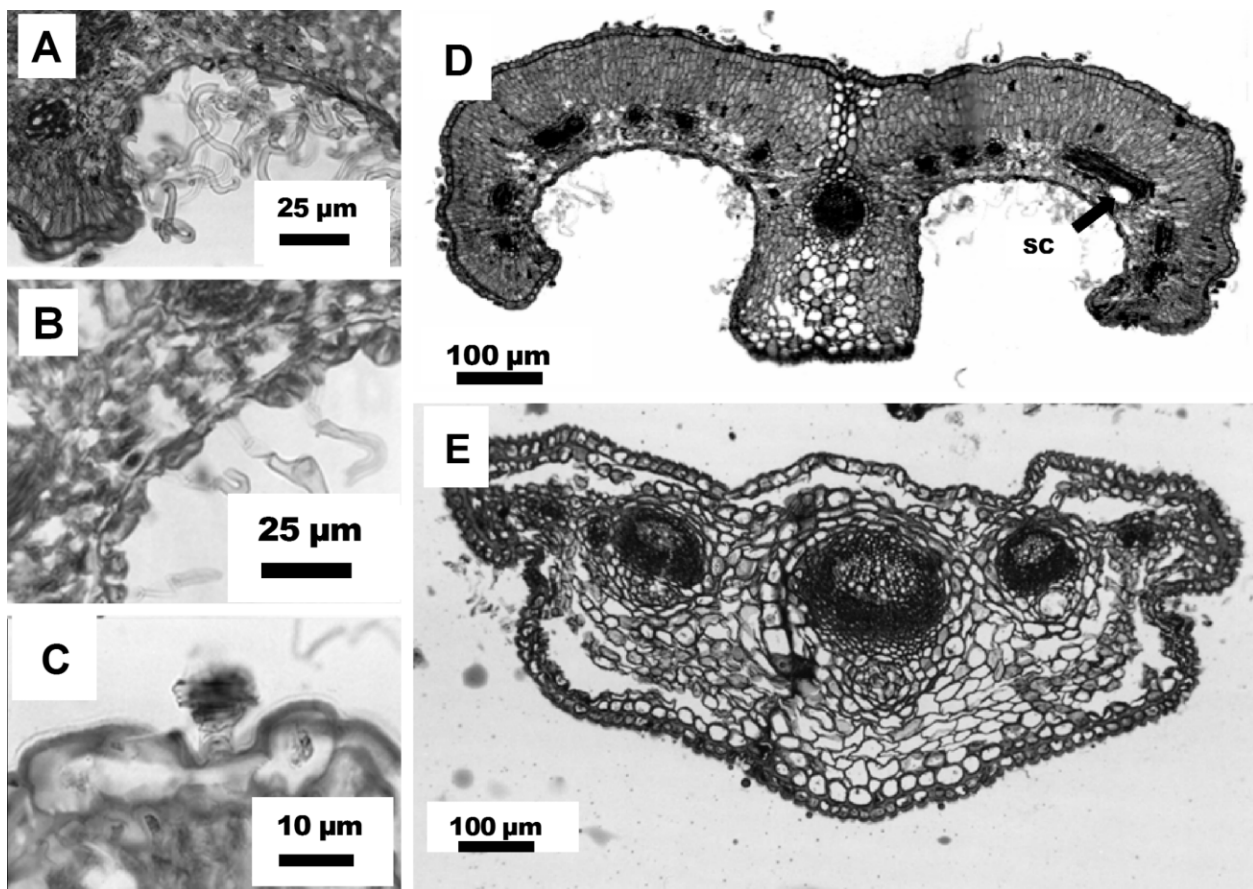
2- Lamina cross-section

Ericoid leaves. Adaxial and abaxial unistratified epidermis. Stomata at the same level or slightly protruding over epidermis cells. Both epidermis present trichomes that could be classified as type I, non glandular and type II, glandular.

Type I: uniseriate, flexible single hairs, with a stalk and a head, the former with 3 - 5 cylindrical cells, with transverse walls slightly constricted. The longitudinal upper cells have thin transverse walls or slightly thickened, smooth. The head with 3 - 4 cells slightly narrower than those of the stalk, similar to a whip, with thin transverse walls, and slightly thickened, smooth lateral walls (Figure 2, A and B).

Type II: Glandular hairs, with 1-2 celled stalks and 2 cellular heads. The terminal cells present a vesicular cuticle. These hairs could be unique or arranged in nests (Figure 2, C).

Dorsiventral mesophyll with 4 - 5 palisade chlorenchyma layers. Spongy parenchyma with 3 - 4 cells with intercellular spaces.

Figure 2.- *Baccharis grisebacchi* leaf cross sections

A-B. Non glandular trichomes. **C.** Elandular trichomes. **D.** Ericoid leaf. **E.** Petiole cross-section, schizogenous cavities (sc).

Prominent middle vein in the abxial face, reinforced by lamina-like collenchymas. The collateral vascular bundles in a variable number, surrounded by a parenchymatous sheath (Figure 2, D). Associated with the vascular bundles, schizogenous cavities composed of 1 - 2 layers of thick-walled cells, followed by an inner 1-stratified epithelium (Figure 2, D).

3- Petiole cross-section

The petiole cross-section presents a flat-convex contour. The epidermis is un-stratified with glabrous five-sided papillomatous cells and with a laminar collenchyma composed of 2 - 3 cell layers. There is a central, collateral middle nerve with 2 - 3 smaller vascular bundles at each side. Schizogenous cavities could be observed in the parenchyma (Figure 2, E).

B- Stem

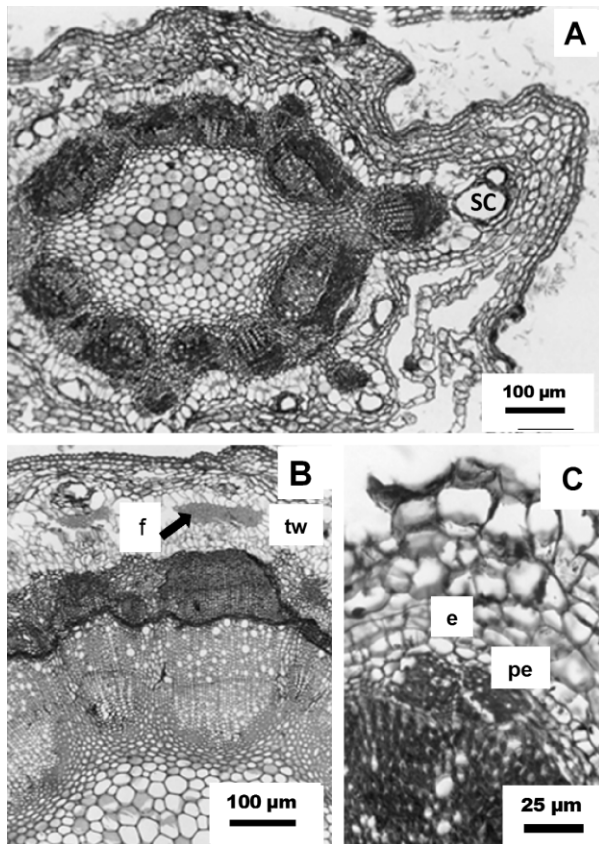
Primary structure

The cross section through the mid zone of the internodes is circular with 6 ribs. There is a mono stratified epidermis of papillomatous cells. The external cortex is made up of 2 - 3 cell layers, laminar collenchyma and parenchyma; the inner cortex is formed by 2 - 3 large cell layers with very thin walls, constituting a water storage parenchyma. Between the external and internal bark schizogenous cavities are observed (Figure 3, A).

Secondary structure.

Adult stems evidence a secondary structure of vascular tissues, without peridermis. The inner cortical parenchyma, outside the water storage parenchyma, shows fibre caps. The vascular bundles in

Figure 3.- *Baccharis grisebachii* stem and root cross sections



A. Stem: primary structure. **B.** Stem: secondary structure. **C.** Root: endodermis (e), fibres (f), periciclic cells (p), schizogenous cavities (sc), thin-walled cell layer (tw).

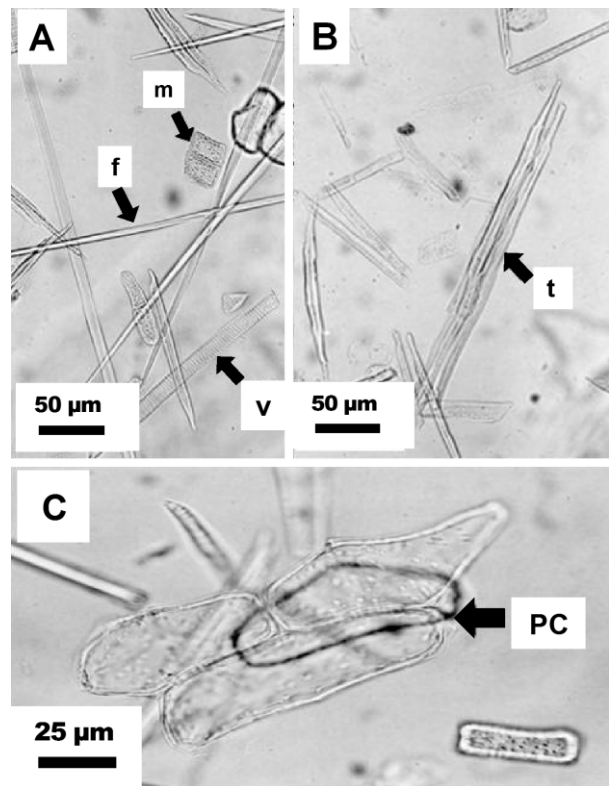
the secondary structure are accompanied by fibres close to the pith. The phloem fibres are abundant among the vascular elements. The pith parenchyma has thin cell walls, without intercellular spaces (Figure 3, B).

The dissociated elements of the stem show long and narrow vessels members with simple perforation plates and helical thickenings of $168 \times 19 \mu\text{m}$, fibres of $844 \mu\text{m}$, macroesclereids (Figure 4, A), tracheids of $288 \mu\text{m}$ (Figure 4, B) and thin-walled parenchyma cells (Figure 4, C).

C- Root

A diarc root structure initially, shows surface suber when mature. The centre is occupied by xylem, displaying a secondary phloem, and a visible cambium,

Figure 4.- *Baccharis grisebachii* stem maceration



Macerated elements of the stem: vessels (v); fibre (f), macrosclereids (m), parenchyma cells (pc), tracheids (t).

as well as 1 - 2 pericycle-cell layers and endodermis. The cortical parenchyma is narrow (Figure 3, C).

Discussion and Conclusions

The ericoid leaf, the stomata in abaxial epidermis and the water-storage parenchyma in *B. grisebachii* are adaptations to the extreme aridity conditions as observed by Vilela (1993) in *Prosopis nigra*. Mesophyll structure is dorsiventral with 4 - 5 layers of collenchyma unlike another species of the genus that show an isobilateral structure as *B. obovata* (Molares and col., 2009). Anomocytic stomata occurrence in *B. grisebachii* is coincident with the reports to the Asteraceae family (Metcalf

and Chalk, 1972) and Ariza Espinar (1969) for this species. Rodríguez and col. (2010) showed this same stomata type in *B. articulate*, *B. gaudichaudiana*, and *B. trimera*. Although stomata are at the same level or slightly raised over epidermis cells, this character is not representative of xerophytes plants (Ragonese, 1990). However, the transpiration control is given by a thick piliferous coating. The single hairs decrease the air movement in the leaf surface, retaining the water vapor that diffuses from inside to outside. Glandular hairs allow water control losses through transpiration excreting essential oils, this resulting in a thick layer of air on the leaf that prevents air loss vapour (Carmona and Ancibor, 1995; Molares and col., 2009). These types of glandular hairs were observed in other species of the Asteraceae family as *B. triangularis* Hauman (Petenatti and col., 2007), *B. crispa* (Ariza Espinar, 1973; Cortadi et al., 1999), *B. trimera* (Cortadi et al., 1999).

In conclusion, *B. grisebachii* shows xeromorphic anatomic characters that allow it to live in xeric environments. However, the natural drug, whether complete or fragmented, can be identified by means of structural characters which, in order to provide micrographic reference standards, are useful for quality control.

Acknowledgements

The authors are grateful to ANPCyT Argentina (PICT 2008-0554) for financial support; to CICITCA, Universidad Nacional de San Juan, Argentina. S. Gattuso and M. Gattuso are grateful to UNR. M. Hadad held fellowships from CONICET. G.E. Feresin is a researcher from CONICET, Argentina.

References

- Abad, M. J.; Bermejo P. (2007). "Baccharis (Compositae): a review update". *ARKIVOC* (VII): 76-96.
- Ancibor, E. (1975). "Estudio anatómico de la vegetación de la Puna de Jujuy I. Anatomía de *Polylepis tomentella* (Rosaceae)". *Darwiniana* 19: 73-385.
- Ancibor, E. (1980). "Estudio de la vegetación de la Puna de Jujuy II. Anatomía de las plantas en cojín". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 19(1-2): 157-202.
- Ancibor, E. (1982). "Estudio anatómico de la vegetación de la Puna de Jujuy IV. Anatomía de los subarbustos". *Physis Secciones* 41(1009): 107-114.
- Ancibor, E. (1992). "Anatomía ecológica de la vegetación de la Puna de Mendoza I. Anatomía foliar". *Parodiana* 7(1-2): 63-76.
- Ariza Espinar, L. (1969). "Las especies de *Baccharis* (Compositae) de Argentina Central". Tesis Doctoral. Buenos Aires, Universidad Nacional de Bs. As., Facultad de Farmacia y Bioquímica.
- Ariza Espinar, L. (1973). "Las especies de *Baccharis* (Compositae) de Argentina Central". *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias (Córdoba)* 50: 175-305.
- Barbosa, G.; Bonzani, N.; Filippa E.; Luján M.; Morero R.; Bugatti M.; Decolatti N.; Ariza Espinar, L. (2001). *Atlas histo-morfológico de plantas de interés medicinal de uso corriente en Argentina*. Museo Botánico Córdoba. Serie Especial I. Ed. Graphyon, Córdoba: 8-11.
- Boodle, L.A. (1916). "A method of macerating fibres". *Roy. Bot. Gard. Kew. Bull. Misc. Inform.* 5: 108-110.
- Bustos, D.A.; Tapia, A.A.; Feresin, G.E; Ariza Espinar, L. (1996). "Ethnopharmacobotanical survey of Bauchazeta district, San Juan Province Argentina". *Fitoterapia* LXVII, N° 5: 411-415.
- Cabrera, A. (1978). "Flora de la Provincia de Jujuy Parte X" *Compositae Colección Científica INTA* Buenos Aires: 234-235.
- Carmona, C.S.; Ancibor, E. (1995). "Anatomía ecológica de las especies de *Acantholippia* (Verbenaceae)". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 31(1-2): 3-12.
- Cortadi, A.A.; Gattuso, M.A. (1991). "Caracterización anatómica e histoquímica de *Eupatorium macrocephalum* Less., *E. inulaefolium* H.B.K. y *E. subhastatum* Hook et Arn. (Asteraceae)". *Dominguezia* 11(1): 32-42.
- 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(5): 357-365.
- Dizeo de Strittmatter, C. (1973). "Nueva técnica de diafanización". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 15: 126-129.

- Dizeo de Strittmatter, C. (1979). "Modificación de una técnica de coloración safranina- fast-green". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 18(3 - 4): 121-122.
- Feresin, G.E.; Tapia, A.; Lopez, S.N.; Zacchino S. (2001). "Antimicrobial activity of plants used in traditional medicine of San Juan province, Argentina". *Journal of Ethnopharmacology* 78(1): 100-107.
- Feresin, G.; Tapia, A.; Gutierrez Ravelo, A.; Delporte, C.; Backhouse Erazo N.; Schmeda Hirschmann G. (2002). "Free radical scavengers, anti-inflammatory and analgesic activity of *Acaena magellanica*". *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 54: 835-844.
- Feresin, G.E. (2002). "Actividad biológica y fitoquímica de especies vegetales de uso medicinal en la Provincia de San Juan, Argentina". Tesis doctoral. Universidad Nacional de San Luis, Argentina.
- Feresin, G.E.; Tapia, A.; Gimenez, A.; Ravelo, A. G.; Zacchino, S.; Sortino, M.; Schmeda-Hirschmann, G. (2003). "Constituents of the Argentinian medicinal plant *Baccharis grisebachii* and their antimicrobial activity". *Journal of Ethnopharmacology* 89(1): 73-80.
- Giulano, D.A. 2000. "Asteraceae, parte 15, en Flora Fanerogámica Argentina". *PROFLORA* 66: 3-67.
- Giulano, D.A. (2001). "Clasificación infragenérica de las especies argentinas de *Baccharis* (Asteraceae, Astereae)". *Darwiniana* 39: 138-154.
- Hadad, M.; Zydgalo, J.A.; Lima, B.; Derita, M.; Feresin, G. Zacchino, S.A.; Tapia, A. (2007). "Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from *Baccharis grisebachii* Hieron (Asteraceae)". *Journal of the Chilean Chemical Society* 52(2): 1186-1189.
- Hickey, J. (1973). "Classification of the architecture of Dicotyledons leaves". *Am. J. Bot.* 60: 17-33, traducida por Zardini, E. (1979). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 16(1-2): 1-26.
- Metcalf, C.R.; Chalk, L. (1957). *Anatomy of Dicotyledons*. Vol. II. Clarendon Press, Oxford: 782-804.
- Metcalf C.R.; Chalk, R. (1972) *Anatomy of the Dicotyledons*. Vol I, 2nd ed. Systematic Anatomy of the Leaf and Stem. Clarendon, Oxford London.
- Molares, S.; Gonzalez S. B.; Ladio A.; Agueda Castro, M. (2009). "Etnobotánica, anatomía y caracterización físico-química del aceite esencial de *Baccharis obovata*" Hook. et Arn. (Asteraceae: Astereae). *Acta Botanica Brasílica* 23(2): 578-589.
- Petenatti, E.M.; Petenatti, M. E.; Cifuentes, D. A.; Gianello, J. C.; Giordano, O.S.; Tonn, C. E.; Del Vitto, L. A. (2007). "Medicamentos herbarios en el centro-oeste Argentino. VI. Caracterización y control de calidad de dos especies de 'Carquejas': *Baccharis sagittalis* y *B. triangularis* (Asteraceae)". *Latin American Journal of Pharmacy* 26: 201-208.
- Ragonese, A.M. (1990). "Caracteres xeromorfos foliares de *Nassuvia lagascae* (Compositae)". *Darwiniana* 30(1-4): 1-10.
- Ramayya, W. (1962a). "Studies on the trichomes of some Compositae I, General Structure". *Bulletin of the Botanical Survey of India* 4(1-4): 177-188.
- Ramayya, W. (1962 b). "Studies on the trichomes of some Compositae II Phylogeny and Classification". *Bulletin of the Botanical Survey of India* 4(1-4): 189-192.
- Rodríguez, M.; Gattuso, S.; Gattuso, M. (2008). "*Baccharis crista* y *Baccharis trimera* (Asteraceae): Revisión y Nuevos Aportes para su Normalización Micrográfica". *Latin American Journal of Pharmacy* 27(3): 387-97.
- Rodríguez, M. V.; Martínez, M. L.; Cortadi, A. A.; Bandoni, A.; Giuliano, D. A.; Gattuso, S.; Gattuso, M. (2010). "Characterization of three sect. Caulopterae species (*Baccharis*- Asteraceae) inferred from morphoanatomy, polypeptide profile and spectrophotometry data". *Plant Systematics and Evolution* 286: 175-190.
- Solereder, H. (1908). *Anatomy of the Dicotyledons*. Vol. I. Clarendon Press, Oxford: 456-469.
- Tapia, A.; Rodríguez J.; Theoduloz, C.; Lopez, S.; Feresin, G. E.; Shmeda-Hirschmann, G. (2004). "Free radical Scavengers and Antioxidants from *Baccharis grisebachii*". *Journal of Ethnopharmacology* 95: 155-161.
- Vilela, A.E. (1993). "Anatomía foliar de *Prosopis* (Leguminosae-Mimosoideae): Estrategias adaptativas de diferentes ambientes en *Prosopis nigra*". *Darwiniana* 32(1-4): 99-107.

Dominguezia

Índice acumulado

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

Dominguezia 29(1) 2013

Editorial. Micrografía analítica y la farmacobotánica (MARTHA GATTUSO)

Caracteres morfoanatómicos y micrográficos de la corteza de *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae) (OSVALDO A. DI SAPIO Y MARTHA A. GATTUSO)

Parámetros micrográficos para la identificación de hojas, corteza y leño de *Picrasma crenata* (Vell.) Engl. (Simaroubaceae) (MARÍA N. CAMPAGNA, OSVALDO DI SAPIO Y MARTHA GATTUSO)

Caracteres micrográficos analíticos de hojas, tallos, inflorescencias-flores de *Tagetes lucida* Cav. (Asteraceae - Helenieae) (MARÍA L. MARTINEZ, GABRIEL BETTUCCI, MARTHA GATTUSO, ADRIANA CORTADI)

Estandarización micrográfica de especies de *Baccharis* L. (Asteraceae) (MARÍA V. RODRIGUEZ, SUSANA J. GATTUSO Y MARTHA A. GATTUSO)