

***Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke: Descripción de características anatómicas diagnósticas de la droga cruda**

Granados-Dieseldorff, N., Paredes M., Ordóñez M., Martínez V.

Escuela de Estudios de Postgrado. Maestría Multidisciplinaria en Producción y Uso de Plantas Medicinales
-MUPLAM-. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.

nathaliagd@gmail.com

Resumen

Phyla dulcis (Trevir.) Moldenke, comúnmente conocido como orozus, es una planta de la familia Verbenaceae ampliamente distribuida en el territorio guatemalteco. Además de su propiedad edulcorante, posee diversos usos medicinales, destacándose su propiedad bactericida, antiespasmódica y antiinflamatoria que se usa para tratar enfermedades respiratorias como catarro, tos y bronquitis. Esta especie posee variaciones químicas a nivel de poblaciones (Souto-Bachiller, 1997) que podrían indicar una variación a nivel de caracteres anatómicos tanto organolépticos como macroscópicos y microscópicos. Por esta razón, y debido a la necesidad de llenar vacíos de información científica que valide el uso popular de plantas de la región, así como la de generar información a nivel de control de calidad para laboratorios productores de fitofármacos, este estudio presenta los resultados de la comparación anatómica de 30 individuos de tres poblaciones diferentes.

Los procedimientos estadísticos realizados no revelaron diferencias anatómicas intra o inter poblacionales. Con esto se concluye que la droga cruda consiste en hojas desecadas cuyas características organolépticas más relevantes son su sabor muy dulce y olor aromático. La hoja es anfiestomática, con estomas en su mayoría anomocíticos, aunque también puede presentar paracíticos y diacíticos y una epidermis uniestratificada con cutícula estriada y células grandes y de paredes ligeramente onduladas en el haz y en el envés más pequeñas y altamente sinuadas. La hoja presenta en el haz abundantes tricomas tectores unicelulares y pluricelulares de tipo simple con base en roseta o base simple. Los tricomas que abundan en el envés son de tipo glandular, capitados, globosos, uni o pluricelulares. El mesófilo de la hoja suele presentar dos capas de parénquima en empalizada diferenciado del parénquima esponjoso. La vena central posee los mismos tejidos que el limbo y además cuenta con un haz vascular de tipo colateral. El pecíolo presenta una epidermis uniestratificada, seguido de 2-4 capas de colénquima, parénquima y un haz vascular colateral en forma de U. Todas las variables estudiadas a nivel microscópico fueron tomadas en cuenta para la elaboración de la cartilla micrográfica.

Palabras clave: *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke, Verbenaceae, orozus, droga cruda.

Abstract

Phyla dulcis (Trevir.) Moldenke, commonly known as orozus, is a plant of the Verbenaceae family, widely distributed in Guatemala. Besides its sweetening property, orozus also possesses several medicinal properties (e.g. antibacterial, antispasmodic and anti-inflammatory properties). It is used to treat respiratory diseases such as colds, coughs and bronchitis. This species has chemical variations between different populations, which could suggest anatomy variation, including organoleptic, macroscopic and microscopic characteristics. Results of the anatomical comparison of 30 specimens of orozus from three different populations are presented, this in order to generate information that can help to validate popular uses of plants in the region, as well as to generate data for the phytopharmaceutical laboratories.

Groups within and between populations were not evident in the cluster analysis performed in this study. The drug consists of aromatic dried leaves with very sweet flavor. The leaf is amphystomatic, with majorly anomocytic stomata, but paracytic and diacytic stomata can also be found. This has one-layer epidermis and cells with striated cuticle. Larger and slightly wavy walls on the upper side of the leaf were found, and smaller highly sinuate on the underside of the leaf. The blade presents abundant unicellular and multicellular trichomes, these can be simple or grounded in a rosette like cell disposition. In the underside of the leaf, the trichomes are glandular, capitated, uni or multicellular type. The mesophyll usually has two layers of differentiated palisade parenchyma and spongy parenchyma. The central vein has the same tissues as the rest of the leaf and also has a collateral vascular bundle type. Petiole presents a one-layer epidermis, followed by 2-4 layers of collenchyma, parenchyma and U-shaped vascular bundle.

Keywords: *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke, Verbenaceae, orozus, drug.

Introducción

El estudio del recurso fitofarmacéutico se ha incrementado en las últimas décadas en países en vías de desarrollo como Guatemala, ya que hay mayor responsabilidad y controles gubernamentales tanto a nivel nacional como regional, así como mayor apoyo académico. Como consecuencia de ello la elaboración de productos a partir de especies locales ha tomado cada vez mayor importancia y las instancias gubernamentales y académicas han desarrollado protocolos básicos para el control de calidad y para demostrar la bioactividad que incluyen la identidad, pureza y farmacología de la especie en interés, que validen su uso terapéutico confiable y seguro como una alternativa en el sistema de salud o como coadyuvante en el tratamiento de algunas enfermedades. Diversas entidades e instituciones trabajan conjuntamente para desarrollar monografías herbolarias de especies de la región cuya propiedad farmacológica ha sido demostrada y validada por el uso prolongado durante décadas por la población local.

Una de las plantas con uso medicinal utilizada ampliamente en Guatemala es *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke (Verbenaceae), conocida como orozuz. Se encuentra ampliamente distribuida en el territorio guatemalteco, desde el nivel del mar hasta los 1800 m. Posee diversos usos medicinales, destacándose su propiedad para tratar enfermedades respiratorias, además de servir como edulcorante. (Cáceres, 1999; Compadre, *et al.*, 1985)

El presente estudio describe los caracteres anatómicos diagnósticos de la hoja por medio del análisis de especímenes de tres poblaciones provenientes de distintos rangos altitudinales; se complementa con las descripciones de la droga cruda a nivel macro y microscópico así como una cartilla micrográfica preliminar como

propuesta para la monografía de control de calidad de la especie. Se evalúa además, si presentan variaciones anatómicas asociadas a la variable ambiental altitudinal.

Materiales y Métodos

Población y muestras

Se evaluaron las hojas de 10 individuos de cada población. Las poblaciones estudiadas fueron colectadas en las siguientes áreas:

Localidad	Rango altitudinal	Ubicación	Altitud (msnm)
CEDA*, Guatemala Gutemala	1200-1800 msnm	N14° 34.811' W 90° 33.220'	1465
El Chico, Usumatlán Zacapa	600-1200 msnm	N 15° 01.020' W 89° 50.468'	929
Platanares, Güasacapán, Santa Rosa	0-600 msnm	N14° 34.811' W 90° 33.220'	262

*CEDA: Centro Experimental Docente de Agronomía, USAC

Colecta

Para cada población se tomaron muestras de diferentes estadios de las hojas (jóvenes y maduras) recolectando las ramas, colocándolas en bolsas plásticas y transportándolas en una hielera. Las muestras se fijaron con formol aceto alcoholico (FAA) lo antes posible para evitar que la planta se marchitara. (Gattuso, M y Gattuso, S, 1999 y Granados, 2007)

Secado

El material vegetal se secó a la sombra, tomando un promedio de 3-4 días. Se colocó dentro de sobres de papel periódico para ayudar a absorber humedad

Macroscopía

Se tomaron en cuenta las siguientes características: Aspecto general, consistencia, color, forma, olor, sabor, superficie de la lámina, transparencia y pecíolo.

Técnicas histológicas (Microscopía)

Cortes a mano alzada

Se colocó la hoja sobre un portaobjetos y se cubrió con otro portaobjetos. Luego con una hoja de afeitar se realizaron cortes transversales muy finos conforme se iba corriendo el portaobjetos superior.

Técnica de semidiafanizado y diafanizado
Se tomó la hoja completa de *Phyla dulcis* tomando en cuenta que ocupara completamente un portaobjetos. Después de seleccionado el material se procedió a realizar una mezcla de las técnicas de semidiafanizado y diafanizado de la siguiente manera:

Se colocó el material en un vaso de precipitado con una mezcla de alcohol al 96% e hidróxido de potasio al 5% en partes iguales y se colocó en una estufa a 60°C durante media hora. Luego se hizo un enjuague con agua hasta que el líquido quedara limpio, teniendo mucho cuidado de no quebrar el material.

Se trasladó el material a una caja de Petri con hipoclorito de sodio al 50% hasta que quedaran blanco-transparentes.

Se lavó con agua destilada, hasta eliminar totalmente el hipoclorito de sodio.

Se colocó en hidrato de cloral (2:5) durante 10-15 minutos como mínimo, hasta que se tornaran transparentes.

El material se coloreó con Safranina al 1% y agua y se montó con gelatina-glicerina. El índice de estomas se determinó de la siguiente manera (Gattuso, M; Gattuso S, 1999 y Solís *et al.*, 2005)

Se observó con un microscopio equipado de tubo de dibujo, utilizando el objetivo de 40x. Se dibujó en el papel el área observada de 2 mm de lado.

Se dibujó dentro de esa área una cruz por cada célula epidérmica y un círculo por cada estoma. Se calculó el resultado de la siguiente manera:
 $I = (S \times 100) / (E + S)$

Donde I el índice de estomas, S el número de estomas en una superficie determinada de la

hoja y E el número total de células epidérmicas en la misma área (incluyendo los tricomas que pudieran aparecer)

Cartilla Micrográfica (Granados, 2007)
Se seleccionaron solamente las características comunes de la especie, eliminando las que difieren entre poblaciones o entre individuos. Se hicieron los dibujos de la microscopía con tinta china, de la manera más exacta y precisa, utilizando los esquemas de Metcalfe y Chalck (Gattuso, M; Gattuso S, 1999). Con esto se procedió a hacer una descripción tanto macro como microscópica de la especie.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis multivariado utilizando distancia euclidiana de enlace completo.

Resultados

Descripción de caracteres diagnósticos.

Características organolépticas.

Las hojas desecadas de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke. presentan el haz de color verde olivo oscuro y el envés verde olivo, más claro que el del haz. Su sabor es muy dulce y su olor es aromático.

Caracteres macroscópicos para identificar la droga cruda (Figura A)

Las hojas enteras desecadas listas para su uso son quebradizas, delgadas y de aspecto papiráceo. Las hojas enteras jóvenes son ovadas. El haz y el envés de la hoja poseen numerosos tricomas que le dan una textura suave y sedosa. El ápice de la hoja es agudo, la base atenuada y el margen crenado, cada lóbulo está más o menos dentado. No posee puntos de transparencia y el pecíolo es de tipo alado. El pecíolo de las hojas es largo, la nerviación es pinnada, con un nervio principal recto que inicia a nivel de la base y culmina en el ápice. De la vena primaria se ramifican venas secundarias que llegan al margen de la hoja.