

Variabilidad en la morfo-anatomía foliar de *Lippia turbinata* (Verbenaceae) en la provincia de San Luis (Argentina).

(Con 2 Figuras)

Variability in leaf morphology and anatomy in Lippia turbinata (Verbenaceae) in the Province of San Luis (Argentina)

(With 2 Figures)

Andersen A, F Lucchini E, J Moriconi, EA Fernández

Resumen. Las plantas medicinales con características mesomórficas y xeromórficas son un componente destacado dentro de la flora autóctona de la provincia de San Luis. En medicina popular, *Lippia turbinata* "poleo" es utilizada como emenagogo, diurético y digestivo. Se estudiaron los aspectos morfológicos y anatómicos de las hojas con el objetivo de contribuir a su identificación en muestras comerciales y verificar su variabilidad con el ambiente. En muestras obtenidas de ambientes mesófitos y xerófitos se detectaron diferencias en: forma y tipos de células epidérmicas, presencia de idioblastos en células de la epidermis adaxial, espesor de la cutícula, densidad de tricomas eglandulares, estructura del mesofilo y presencia de idioblastos cristalinos en el mesofilo. Resulta importante ampliar estos conocimientos sobre el "poleo" para comprender mejor la variación intraespecífica y para constatar la presencia de posibles adulterantes en muestras comerciales.

Palabras clave: *Lippia turbinata*, hoja, anatomía.

Summary: Medicinal plants with mesomorphic and xeromorphic characteristics are a significant component of the indigenous flora of San Luis province. In popular medicine, *Lippia turbinata* "poleo" has emmenagogic, diuretic and stomach properties.

The morphological and anatomical aspects of foliar leaves were studied according to their environmental conditions, in order to contribute to the identification of samples of commercial drugs. From the studied sections, differences in the following aspects were detected, namely the form and type of epidermic cells, the presence of idioblasts in adaxial epidermic position, thickness of cuticle, density of nonglandular trichomes, the structure of the mesophyll and the presence of crystalline idioblasts in the mesophyll. The study of the foliar morpho-anatomy of *Lippia turbinata*, turns out to be an important contribution to a better understanding of its intraspecific changes, and to detect possible adulterants in commercial samples.

Key words: *Lippia turbinata*, foliar leaves, anatomy

INTRODUCCIÓN

Existe actualmente un creciente interés por los medicamentos de origen vegetal y según informes de la Organización Mundial de la Salud (OMS), el consumo de plantas medicinales aumenta en forma constante. Según Pérez (2004), el 80% de la población mundial consume anualmente al menos una hierba medicinal y en Argentina esta cifra alcanza el 90%, donde se estima en un millar las especies utilizadas. Del conjunto de estos vegetales, sólo el 45% corresponde a plantas autóctonas, las cuales en su mayor parte están en riesgo de extinción debido a la sobre-recolección.

Lippia turbinata f. *turbinata* pertenece a la familia Verbenaceae, que abarca cerca de 100 géneros y 2000 spp aproximadamente. Argentina cuenta con 26 géneros y unas 180 spp, de las cuales 55 spp son endémicas (Múlgura et al., 2003). En medicina popular la especie es utilizada como emenagogo, diurético y digestivo. Por sus propiedades aromático-medicinales es una planta requerida en la industria para la elaboración de yerbas compuestas y té de hierbas. Su distribución en Argentina abarca las provincias del centro-oeste (Alonso, 1998) y en San Luis está presente en las formaciones florísticas del bosque bajo de algarrobo, arbustal de jarilla y chañar, y en pastizales y bosques serranos (Anderson et al., 1970). Según Múlgura et al. (2003) las especies del género *Lippia* en la provincia de San Luis comprenden a *L. grisebachiana* “salvia morada”, *L. junelliana* “salvialora” y *L. turbinata* f. *turbinata* “poleo, té del país”.

En muestras comerciales de plantas nativas empleadas como medicamentos herbolarios en la provincia de San Luis, se citan las especies *L. alba* “salvia morada”, *L. integrifolia* “incayuyo” y *L. turbinata* “poleo, té del país” (Del Vitto et al., 1997). Las especies citadas como posibles adulterantes del poleo, comprenden a *Terminalia australis*, *T. triflora* y *Aloysia gratissima* (Bassols et al., 1998).

La posibilidad de encontrar variabilidad morfo-anatómica en las muestras comerciales de *L. turbinata* es elevada, debido a que la recolección de la misma abarca ambientes mesófitos y xerófitos de la zona serrana. Según la definición de Maximov (1931) “xerófitas son plantas que crecen en ambientes áridos y cuya transpiración alcanza un mínimo bajo condiciones de déficit hídrico. Dichas plantas viven en microambientes xerófitos, son perennes y desarrollan características xeromórficas particulares”. El “poleo” de las zonas serranas de la provincia de San Luis presenta caracteres xeromórficos como respuesta a su plasticidad de adaptación a las condiciones de suelo, clima y relieve.

El objetivo del presente trabajo es señalar los caracteres morfo-anatómicos foliares de esta especie, respecto a su variabilidad intraespecífica según el ambiente donde crece, para contribuir al control de calidad en muestras comerciales.

MATERIALES Y MÉTODOS

I- Se analizaron muestras de hojas, obtenidas de individuos, seleccionados al azar, todos provenientes de semilla y crecidos en ambientes mesófitos: **a)** cultivo de un año de edad, en Cruz de Piedra -700msm- (Dpto. La Capital, San Luis), con suelo fértil y riegos periódicos (huerta); **b)** plantas crecidas en condiciones de laboratorio, en envases con suelo fértil, riegos

semanales, 25 ± 2 °C y fotoperíodo natural de 14 h de luz (primavera en ciudad de San Luis) y c) cultivo *in vitro* en ambiente a 25 ± 2 °C y fotoperíodo de 16 h de luz, con intensidad de $40 \mu\text{M m}^{-2} \text{seg}^{-1}$ (Hurtado et al., 1987; Pedranzani et al., 2002; Pierik, 1990) con medio de cultivo N6 (García et al., 1992).

2- Se analizaron muestras de hojas provenientes de individuos seleccionados al azar, de ambientes xerófitos (áreas serranas: El Totoral -1400msm- y Las Verbenas -1550msm- Dpto. Coronel Pringles, San Luis), brotes de innovación de hojas totalmente expandidas, expuestas al sol y de hojas viejas.

Se trabajó con material fresco y fijado en FAA (formol, alcohol, ácido acético). Se realizó inclusión en parafina, los cortes se efectuaron con un micrótopo tipo Minot y se colorearon con safranina-fast green. Todas las hojas se cortaron en la parte media de la lámina. La epidermis se obtuvo por raspado y macerado con hipoclorito de sodio (Metcalf et al., 1950) y se coloreó con safranina diluída. Las hojas se diafanizaron según Strittmatter (1973), se semidiafanizó con hidróxido de potasio al 10% calentando suavemente durante 10 minutos y se coloreó con safranina diluída. Los mucílago se detectaron con azul de cresylo al 1 %. Con luz polarizada se detectó la presencia de cristales. Las mediciones se realizaron con un ocular milimetrado y los valores corresponden al promedio de 20 mediciones. El índice en empalizada fue determinado por el método propuesto por Wallis et al. (1933) utilizando un microscopio equipado con tubo de dibujo. Las fotografías se tomaron con una cámara Olympus adaptada a un microscopio Olympus BX40.

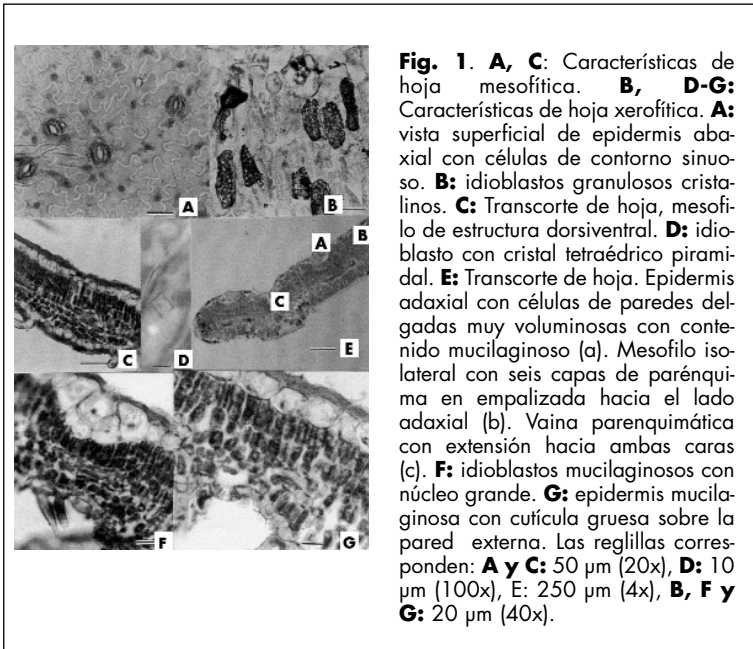
El material herborizado se encuentra depositado en la cátedra de Plantas Vasculares de la Facultad de Qca. Bioqca. y Fcia. de la Universidad Nac. de San Luis.

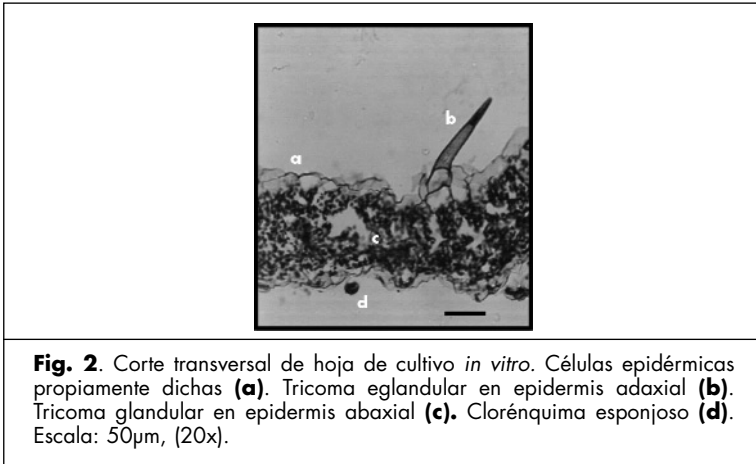
RESULTADOS

Características mesomórficas. Pecíolo de 0.39 cm de longitud, lámina de 4.45 x 1.41 cm. La epidermis es unistrata, su grosor varía y el espesor de la pared externa cutinizada es delgada ($8.8 \mu\text{m}$) con cutícula estriada. En vista superficial la epidermis adaxial y abaxial de hojas jóvenes presentan células de tamaño irregular y de contorno sinuoso (Fig.1 A). Epidermis adaxial y abaxial pubescentes y con estomas anisocíticos y anomocíticos con 4 – 7 células de contacto. Epidermis adaxial con densidad baja de tricomas eglandulares. Tricomas eglandulares unicelulares verrucosos de $124 \mu\text{m}$ de longitud y bicelulares cónicos verrucosos de $32.8 \mu\text{m}$ de longitud. Las células de la epidermis adaxial de las muestras de cultivo *in vitro* contienen mucílago y en vista superficial presentan contorno sinuoso. Epidermis abaxial con abundancia de tricomas glandulares de pie bicelular, el cuerpo formado por dos series longitudinales de $20 \mu\text{m}$ y cabezuela unicelular, otros más pequeños, con cabezuela bicelular. Presencia de criptas estomáticas poco abundantes. Las hojas de cultivo *in vitro* no presentan criptas estomáticas.

En muestras de laboratorio el mesofilo es de estructura dorsiventral (Fig.1C) e isolateral con hasta dos capas de parénquima en empalizada hacia cada epidermis, en muestras de crecimiento en huerta. En los transcortes de hojas de cultivo *in vitro* (Fig. 2) se detectó clorénquima esponjoso y ausencia de clorénquima en empalizada. Las células del parénquima lagunoso son lobuladas. El índice en empalizada es 8.25.

Características xeromórficas. Pecíolo de 0.095 cm de longitud, lámina de 1.76 x 0.41 cm. Las epidermis adaxial y abaxial de hojas jóvenes en vista superficial presentan células isodiamétricas de paredes rectas a levemente curvas. La pared externa con cutícula gruesa y estriada mide 13.2 μm de espesor. Epidermis adaxial con alta densidad de tricomas eglandulares y presencia de cistolitos en los mismos. Tricomas eglandulares unicelulares verrucosos de 255 μm de longitud, los bicelulares cónicos verrucosos de 53.3 μm de longitud. Epidermis adaxial con presencia de idioblastos internervales de células de paredes delgadas muy voluminosas con contenido mucilaginoso (Fig.1E, y Fig.1F). En epidermis abaxial tricomas glandulares de pie bicelular, cuerpo biseriado y cabezuela unicelular de 45 μm . En el interior de las células epidérmicas de hojas jóvenes se detectaron mucílagos y presencia de una cutícula gruesa sobre la pared externa (Fig.1G). En el hipofilo las criptas estomáticas son abundantes y se presentan en depresiones que en transcorde dan a la hoja un aspecto ondulado. Presencia de idioblastos con cristales de aspecto granuloso (Fig.1B) y abundancia de cristales tetraédricos piramidales (Fig.1D) en el mesofilo. El mesofilo es de estructura isolateral con hasta 6 capas de parénquima en empalizada hacia el lado adaxial (Fig.1E). Los haces vasculares son colaterales, en las venas secundarias se observó una vaina perivascular parenquimática voluminosa con extensión hacia ambas caras (Fig.1E). El colénquima refuerza tanto el lado adaxial como el abaxial del nervio medio. El índice en empalizada es 13.





DISCUSIÓN

El término xeromorfo se utiliza para indicar plantas que tienen una anatomía y forma de crecimiento especialmente adaptada a condiciones desérticas, condiciones particulares en la cual el agua es frecuentemente escasa. Por otro lado, es importante diferenciar las condiciones ambientales desérticas de aquellas mesófitas, no únicamente en referencia a la disponibilidad de agua. Los suelos desérticos son típicamente alcalinos y muy ricos en minerales, al punto de llegar a ser salinos y tóxicos. Son pobres en materia orgánica que ayudaría a mantener el agua en el suelo. Las temperaturas diarias y anuales, varían hasta llegar a ser extremadamente cálidas, debido a que el cielo es despejado, seco y la irradiación es elevada (Mauseth, 1988).

Al estudiar las plantas en cada una de las condiciones, tomando como referencia las características analizadas en este trabajo, se observa una relación directa entre el habitat que ocupan y el desarrollo cualitativo y cuantitativo de estas características. Los tricomas tanto glandulares como eglandulares de las hojas de plantas de cultivo *in vitro*, son particularmente menos numerosos, ya que la función de ambos y su abundancia se pone de manifiesto en los órganos de las plantas que crecen bajo condiciones áridas o semiáridas (Montenegro et al., 1981). Si una especie tiene plasticidad suficiente para comportarse como xerófita y mesófito, la primera forma presentará una mayor densidad de tricomas (Coulter et al., 1931). Así, las muestras provenientes de la zona serrana con caracteres xeromórficos, presentaron en esta especie una mayor densidad y tamaño de tricomas. El aumento en la densidad de tricomas implicaría disminución del movimiento de aire en la superficie foliar y retención del vapor de agua que difunde del interior al exterior. Según Fahn (1986) los pelos glandulares también regulan la transpiración con la excreción de aceites esenciales al crear una capa de aire más densa en la superficie de la hoja, que impide la difusión del vapor de agua.

La reducción del área foliar y el aumento en el espesor de la lámina, son estrategias de adaptación muy difundidas en las plantas xerófitas y en *L. turbinata* se observa como variabilidad intraespecífica generalizada. Los estomas anisocíticos y anomocíticos están presentes en la

epidermis adaxial y abaxial. En la cara abaxial abundan las criptas estomáticas con presencia de tricomas eglandulares y glandulares. Las características de los estomas y los tricomas observados, coinciden con los descritos por Bonzani et al. (1997). En *L. turbinata* se observa la presencia de cistolitos en ambos tipos de tricomas, tanto en la célula tricomática como en las del cojinete (Barboza et al., 2001).

El desarrollo de características xeromórficas en los órganos de las plantas se atribuye principalmente al estrés hídrico y a la intensidad lumínica (Shields, 1951). La presencia del mesofilo isolateral compacto, de varias capas de parénquima en empalizada y escasos espacios intercelulares, indica una gran actividad fotosintética debido a la fuerte radiación que recibe en ambas caras y es una clara adaptación que le permite sobrevivir a las inclemencias del medio árido (Fahn, 1985; Kummerov, 1973; Daubenmire, 1974). La variabilidad intraespecífica se observó en la estructura dorsiventral del mesofilo en hojas jóvenes de ambientes mesófitos hasta una estructura isolateral compacta de varias capas de parénquima en empalizada de hojas jóvenes en condiciones xerófitas.

Respecto al significado ecológico de la epidermis con contenido mucilaginoso, se acepta la interpretación de su función como reservorio de agua o protección contra la desecación (Linsbauer, 1930). Los carbohidratos mucilaginosos poseen una gran capacidad de absorción y retención de agua, así por ejemplo, tejidos de *Opuntia* permanecen hidratados aún inmersos en 75% de alcohol. La mayoría de las funciones de los tejidos secretores de mucílago, se relacionan con esta capacidad de retención de agua, plantas desérticas suculentas casi siempre contienen células mucilaginosas, aparentemente con función de retención de agua (Mauseth, 1988). En algunas plantas xerófitas se presenta mucílago en la pared de la epidermis, o en los tricomas (Ancibor, 1982; Lyshede, 1977). El primer reconocimiento de una célula mucilaginosa es por su núcleo grande, citoplasma denso y el incremento del volumen y actividad de los dictiosomas. El mucílago se acumula entre el plasmalema y la pared celular, y por degeneración celular se acumula sólo mucílago (Mauseth, 1980). En *L. turbinata* la presencia de idioblastos epidérmicos con núcleo agrandado y contenido mucilaginoso se observaron en hojas de características xeromórficas en posición adaxial. Por otro lado en hojas jóvenes se presenta una epidermis con contenido mucilaginoso y con una cutícula gruesa.

La presencia de idioblastos mucilaginosos y de idioblastos de naturaleza cristalina puede ser considerado un valor diagnóstico interesante y novedoso en hojas xeromórficas de *L. turbinata*.

Los elementos característicos descritos fueron los más relevantes y pueden ser utilizados para la identificación de la muestra y para establecer parámetros en el control de calidad de hojas.

REFERENCIAS

- Alonso J, Tratado de Fitomedicina. Bases clínicas y farmacológicas. Ed. ISES: 814 (1998).
Ancibor E, Estudio anatómico de la vegetación de la Puna de Jujuy IV. Anatomía de los subarbustos. Physis (Buenos Aires) C 41 (1982) 102-114.
Anderson DL, J Del Águila, A Bernardon, Las Formaciones Vegetales de la Provincia de San Luis. Revista de Investigaciones Agropecuarias 7 (1970) 153-183.
Bassols G, A Gurni, Posibles adulterantes del Poleo (*Lippia turbinata* Griseb., Verbenaceae) Acta Farmacológica Bonaerense 17 (1998) 191-196.

- Barboza GE, N Bonzani, EM Filippa, MC Lujan, R Morero, M Bugatti, N Decolatti, L Ariza Espinar, Atlas histo-morfológico de plantas de interés medicinal de uso corriente en Argentina. Museo Botánico Córdoba. Serie especial I. (2001) 212 .
- Bonzani N, EM Filippa, GE Barboza, Particularidades epidémicas en algunas especies de Verbenaceae. Anales Instituto de Biología, Universidad Autónoma de México, Serie Botánica 68 (1997) 47.
- Coulter JM, CR Barnes, HC Clowes, A textbook of Botany for Colleges and Universities, vol. III Ecology, Amer. Book Co. Nueva York (1931).
- Daubentire RF Plants and Environment . John Wiley & Sons Incorporation (1974).
- Del Vito LA, EM Petenatti, ME Petenatti, Recursos Herbolarios de San Luis (Rep. Argentina) Primera Parte: Plantas Nativas. Multequina 6 (1997) 49 .
- Fahn A, Anatomía vegetal. Ediciones Pirámide S. A. Madrid (1985) 599.
- Fahn A, Structural and functional properties of trichomes of xeromorphic leaves. Annals of Botany 57 (1986) 631.
- García MD, M del C Molina, OH Caso, El cultivo de callos organogénicos como fuente de variabilidad genética para el mejoramiento de Maíz. Rev. del V Congreso Nacional del Maíz. II Reunión Sudamericana de Maiceros. Pergamino (Bs. As.). I (1992) 61.
- Hurtado D, ME Merino, Cultivo de tejidos vegetales. Ed. Trillas (1987).
- Kummerow J, Comparative Anatomy of sclerophylls of Mediterranean Climatic Areas. En: Di Castri & H Mooney eds. Mediterranean Type Ecosystems. Origin and structure. Springer Verl. NY (1973).
- Linsbauer K, Die Epidermis. Handbuch der Pflanzenanatomie Band IV Berlin. Verlag von Gebrüder Borntraeger (1930) 283.
- Lyshede OB, Studies on the mucilaginous cells in the leaf of *Spartocytisus filipes* W. B. Planta 133 (1977) 255.
- Mauseth JD, A stereological morphometric study of the ultrastructure of mucilage cells in *Opuntia polyacantha* (Cactaceae). Botanical Gazette 14 (1980) 374.
- Mauseth JD, Plant Anatomy, Benj. Cummings Publish. Comp. Inc, California USA. (1988).
- Maximov NA, The physiological significance of the xeromorphic structure of plants. Journal of Ecology. 19 (1931) 272.
- Metcalfe CR, L Chalk, Anatomy of Dicotyledons. Clarendon Press. Oxford (1950).
- Montenegro G, B Segura, R Saenger, AM Mujica, Xeromorfismo en especies arbustivas del matorral chileno. Anales del Museo de Historia Natural 14 (1981) 71.
- Múlgura de Romero ME, LA Espinar, Verbenaceae Parte I. Flora Fanerogámica Argentina. Fascículo 84 Pro Flora CONICET, (2003).
- Pedranzani H, AM Quiroga, E Martínez, EA Fernández, Regeneración de plantas enteras de *Hedeoma multiflorum* Bent. mediante el cultivo *in vitro*. Phytomorphology 2002 (2002) 207.
- Pérez C, Potencial Medicamento contra bacterias y hongos resistentes. Entre las sierras y la farmacia: nuevo antimicrobiano de origen vegetal. Biodiversidad. Argentina. www.bioética.org. (2004).
- Pierik RLM, Cultivo *in vitro* de plantas superiores (3° ed.) Ed. Mundi-Prensa, (1990) 326.
- Shields LM, The involution mechanism in leaves of certain xeric grasses. Phytomorphology 1 (1951) 225.
- Strittmatter C, Nueva Técnica de Diafanización. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica, 15 (1973) 126.
- Wallis TE, T Dewar, Quarterly Journal of Pharmacology 6 (1933) 347.