

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

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

Informe Final

Presentado por
Nathalia Granados Dieseldorff

Maestría Multidisciplinaria en Producción y Uso de
Plantas Medicinales-MUPLAM

Guatemala, noviembre de 2009

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

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

Trabajo de Graduación

Presentado por
Nathalia Granados Dieseldorff

Para optar al grado de
Maestría

Maestría Multidisciplinaria en Producción y Uso de
Plantas Medicinales-MUPLAM-

Guatemala, noviembre de 2009

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

JUNTA DIRECTIVA

OSCAR MANUEL COBAR PINTO, PH.D	DECANO
LIC. PABLO ERNESTO OLIVA SOTO, M.A.	SECRETARIO
LICDA. LILIAN RAQUEL IRVING ANTILLON, M.A.	VOCAL I
LICDA. LILIANA VIDES DE URIZAR	VOCAL II
LIC. LUIS ANTONIO GALVEZ SANCHINELLI	VOCAL III
BR. MARIA ESTUARDO GUERRA VALLE	VOCAL IV
BR. BERTA ALEJANDRA MORALES MERIDA	VOCAL V

CONSEJO ACADÉMICO

ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

OSCAR MANUEL COBAR PINTO, PH.D. DECANO
LICDA. ANNE MARIE LERE DE GODOY, MSc.
DR. JORGE LUIS DE LEÓN ARANA
DR. JORGE ERWIN LÓPEZ GUTIÉRREZ
LIC. FELIX RICARDO VELIZ FUENTES, MSc.

AGRADECIMIENTOS

Por su valiosa colaboración, orientación y apoyo, agradezco a:

Licda. María Eugenia Paredes Sánchez, M. A.

Licda. María Amparo Ordóñez Medina, M. A.

Ing. Agr. José Vicente Martínez, M. Sc.

Por el préstamo de las instalaciones y equipo para el trabajo práctico:

Laboratorio de Bioensayos del Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Unidad de Análisis Instrumental de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, especialmente al Lic. Christian Farfán.

A mis profesores de la maestría MUPLAM:

Licda. María Eugenia Paredes, M. A

Lic. Rodolfo Orozco, M.A

Ing. Agr. José Vicente Martínez, M. Sc.

Lic. Sully Cruz, M.A.

Lic. Armando Cáceres

Lic. Benito Soler, M. Sc.

A mis compañeros de la Maestría, por su apoyo y convivencia estos últimos dos años, porque además de ser compañeros hemos creado lazos de amistad que espero de corazón nunca se rompan: Licda. Isabel Gaitán, Licda. Diana Pinagel, Licda. Ligia Castro, Lic. Christian Farfán, Licda. Jennifer Contreras y Licda. Keila Guerrero.

DEDICATORIA

A mis padres, Salvador Granados y Marlene de Granados: por su incondicional apoyo en el trayecto de superación propia. Por ser tan pacientes y amorosos y por confiar en mí como mujer, como profesional y como madre de familia. Por nunca abandonarme y seguir a mi lado en todas mis metas y retos.

A mis hermanos Pablo, Diego, David, Amrei y Diletta: por ser parte esencial de mi vida y porque aunque tengamos caminos distintos siempre nos une el amor de familia.

A mi esposo Guillermo López y a mi hija Camila: por ser mis dos almas. Por ser mis razones de lucha y superación. Por estar a mi lado y haberme apoyado durante dos años de sacrificios que no fueron propios sino compartidos con ustedes. Porque los amo por sobre todas las cosas.

INDICE

	Página
1. Resumen	5
2. Introducción	6
3. Definición del problema	8
4. Justificación	9
5. Marco Teórico	10
5.1 Importancia del tema	10
5.2 Normalización de droga cruda y plasticidad fenotípica en plantas	10
5.3 Generalidades de la especie	11
5.3.1 Nombre científico	11
5.3.2 Familia	11
5.3.3 Sinonimias	11
5.3.4 Nombres comunes	11
5.3.5 Historia	11
5.3.6 Habitat y distribución geográfica	12
5.3.7 Descripción botánica	12
5.3.8 Agricultura	12
5.3.9 Partes usadas	13
5.3.10 Usos medicinales	13
5.3.11 Otros usos populares	13
5.3.12 Composición química	14
5.3.13 Farmacología	15
5.3.13.1 Experimental	15
5.3.13.3 Clínica	16
5.3.14 Farmacognosia	16
5.3.15 Indicaciones terapéuticas	16
5.3.16 Toxicidad	17
5.4 Estudios relacionados	17
6. Objetivos	19

6.1 Objetivo general	19
6.2 Objetivos específicos	19
7. Hipótesis	19
8. Área a investigar	19
9. Metodología	20
9.1 Universo y población	20
9.2 Muestra	20
9.3 Diseño experimental y Análisis Estadístico	20
9.4 Variables	21
9.5 Materiales	22
9.5.1 Equipo de colecta	22
9.5.2 Equipo para cortes histológicos	23
9.5.3 Materiales de técnicas histológicas	23
9.5.4 Cristalería	23
9.5.5 Reactivos	23
9.6 Métodos	24
9.6.1 Colecta	24
9.6.2 Secado	24
9.6.3 Macroscopía	24
9.6.4 Técnicas histológicas (Microscopía)	25
9.6.4.1 Cortes a mano alzada	25
9.6.4.2 Técnicas de semidiafanizado y diafanizado	25
9.6.4.3 Determinación del índice de estomas	26
9.6.5 Cartilla micrográfica	26
10. Resultados	27
10.1 Caracteres Macroscópicos	27
10.2 Caracteres Microscópicos	27
10.3 Análisis Estadístico	32
10.4 Propuesta de descripción anatómica de la droga cruda	40
10.4.1 Caracteres organolépticos para identificar la droga cruda	40
10.4.2 Caracteres macroscópicos para identificar la droga cruda	40

10.4.3 Caracteres microscópicos para identificar la droga cruda	40
10.5 Propuesta de Monografía	41
11. Discusión	44
12. Conclusiones	48
13. Recomendaciones	49
14. Referencias	50

1. RESUMEN

Phyla dulcis (Trevir.) Moldenke es una planta de la familia Verbenaceae que se encuentra ampliamente distribuida en el territorio guatemalteco. Además de su propiedad edulcorante (debida al sesquiterpeno hernandulcina), posee diversos usos medicinales, destacándose su propiedad para tratar enfermedades respiratorias como catarro, tos y bronquitis ya que posee propiedad bactericida, antiespasmódica y antiinflamatoria. Esta especie posee variaciones químicas a nivel de poblaciones 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, este estudio presenta los resultados de la comparación anatómica de 30 individuos de tres poblaciones diferentes de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke. En Guatemala estos datos sobre su carácter anatómico fortalecen y enriquecen la información de *P.dulcis* para que sea de utilidad en la elaboración de monografías de calidad de plantas locales con amplio uso terapéutico.

Los procedimientos estadísticos realizados no revelaron diferencias anatómicas intra o interpoblacionales. Con esto se concluye que la droga cruda consiste en hojas desecadas de *Phyla dulcis* 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 un poco onduladas en el haz y más pequeñas y altamente sinuadas en el envés. 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 que se presenta en el documento.

2. INTRODUCCIÓN

El estudio del recurso fitofarmacéutico se ha venido desarrollando en las últimas décadas en países en vías de desarrollo como Guatemala. A consecuencia de ello la elaboración de productos a partir de especies locales ha tomado cada vez mayor importancia, para lo cual se hace necesario contar con estudios farmacognósticos que incluyan 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 desde hace mucho tiempo es *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke, conocida como orozuz. Pertenece a la familia Verbenaceae y se encuentra ampliamente distribuida en el territorio guatemalteco. Una de las características más relevantes de la especie es la presencia de un sesquiterpeno denominado hernandulcina, 1000 veces más dulce que la sucrosa y por esta propiedad se le conoce desde antes de la colonia. Además de su propiedad edulcorante, posee diversos usos medicinales, destacándose su propiedad para tratar enfermedades respiratorias como catarro, tos y bronquitis ya que estudios recientes con modelos *in vivo* e *in vitro* han demostrado que posee propiedad bactericida, antiespasmódica y antiinflamatoria.

El presente estudio describe los caracteres anatómicos diagnóstico de la planta por medio del análisis de especímenes de tres poblaciones diferentes (distribuidas en distintos rangos altitudinales) con el fin de evaluar posibles variaciones anatómicas que pudieran encontrarse debido a esta variable altitudinal. Para esto se realizaron 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.

No se encontraron diferencias macro ni microscópicas de la droga cruda entre las tres poblaciones, se realizó la descripción de los caracteres diagnóstico y se realizó la cartilla micrográfica de la especie.

3. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Phyla dulcis (Trevir.) Moldenke, es una hierba perenne, muy aromática, que se encuentra distribuida desde México hasta Panamá e introducida en Suramérica y el Caribe. Su uso se ha reportado desde tiempos de la colonia, haciendo énfasis en su poder edulcorante, propiedad atribuida al sesquiterpeno hernandulcina, cuya dulzura puede clasificarse como 1000 veces más que la sucrosa. Además posee actividad bactericida, expectorante, pectoral y sudorífica, por lo que se usa tradicionalmente para tratar afecciones respiratorias crónicas y agudas.

Los estudios sobre la especie, en general son escasos, se basan en el aislamiento fitoquímico y la síntesis de su molécula hernandulcina. Los estudios sobre las propiedades medicinales de la planta han demostrado actividad antiinflamatoria y antiespasmódica así como actividad antibiótica *in vitro*, tanto para bacterias Gram positivo como Gram negativo. Los estudios farmacobotánicos son escasos y no se han tomado en cuenta factores ambientales que pudieran afectar la morfología de la especie, así como se ha demostrado su variación fitoquímica (Souto-Bachiller *et al.* 1997).

Algunas especies poseen alta plasticidad fenotípica, es decir, son capaces de modificar su fenotipo para adaptarse a los diferentes ambientes en los que puede encontrarse. Esto implica un problema para la elaboración de monografías de control de calidad de droga cruda, ya que la droga y sus características tanto químicas como morfológicas a nivel macro y microscópico podrían variar. Tal es el caso del orozus en Guatemala, es por ello que se requiere estudiar dichas variaciones ambientales, sobre todo entre poblaciones de regiones con características diferentes (climáticas, edafológicas, altitudinales, etc.) con el fin de homogeneizar dichas descripciones y establecer diferencias farmacobotánicas entre poblaciones.

4. JUSTIFICACIÓN

El uso de plantas medicinales en el tratamiento de enfermedades comunes de atención médica primaria es una parte muy importante en la medicina tradicional a nivel mundial, sobre todo en países en vías de desarrollo que poseen una alta riqueza etnobotánica. El orozus (*Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke) es una planta local que se usa para diferentes afecciones, sobre todo para tratar enfermedades del tracto respiratorio (tos, bronquitis, catarro, resfriados) y tanto su eficacia como su seguridad han sido validadas por su uso de antaño por los pobladores del área rural.

La normalización de la droga cruda de una especie vegetal se refiere a elegirla por su interés comercial y terapéutico e incluye la definición de las características morfológicas, anatómicas, químicas y biológicas, que aseguran la calidad de las mismas. Para una buena normalización hay que considerar la selección de muestras de diferentes procedencias, ya que las drogas, por su naturaleza, pueden variar según el lugar de origen y forma de recolección. Además para validar la planta es necesario realizar estudios sobre la identidad, pureza y eficacia de la droga cruda. Considerando la plasticidad fenotípica que puede presentar una especie como el orozus, se hizo el análisis descriptivo de la droga cruda de especímenes de tres poblaciones diferentes de *P.dulcis* lo cual permitió establecer si existen diferencias a nivel anatómico relacionadas con su amplia distribución geográfica y altitudinal.

Con estos datos sobre su carácter anatómico se pretende fortalecer y enriquecer la información de *P.dulcis* que pueda ser de utilidad en la elaboración de monografías de calidad de plantas locales con amplio uso terapéutico.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 Importancia del Tema

Actualmente, la utilización de medicina alternativa, donde las plantas medicinales son la base medular, ha tomado un nivel de importancia mayor que el que tuvo en el pasado, ya que esto incluye la incorporación de medicina natural en programas de salud a nivel mundial, principalmente en países desarrollados. Para esto, ha sido necesario establecer patrones reconocidos a nivel internacional, que aseguren la calidad de las plantas medicinales, aplicando técnicas y métodos modernos y adecuados (Soler, 2005).

En las últimas décadas se han estado desarrollando estudios exhaustivos sobre las plantas medicinales más utilizadas, y toda esta información se ha ido recopilando en monografías y farmacopeas herbolarias que tienen como fin, definir los criterios de identidad y de calidad así como la información terapéutica correspondiente a la planta (Soler, 2005).

5.2 Normalización de droga cruda y plasticidad fenotípica en plantas

Droga cruda se refiere a las drogas vegetales o animales que han recibido sólo el proceso de recolección y secado, para estar en condiciones de ser almacenadas (Soler I, 2005). La normalización de la droga cruda se refiere a elegirla por su interés comercial y terapéutico e incluye la definición de las características morfológicas, anatómicas, químicas y biológicas, que aseguran la calidad de las mismas. Para una buena normalización hay que considerar la selección de muestras de diferentes procedencias, ya que las drogas, por su naturaleza, pueden variar según el lugar de origen y forma de recolección (Fernández, 2006). Debido a la plasticidad fenotípica, que es la capacidad de un organismo de producir fenotipos diferentes en respuesta a cambios en el ambiente, las variaciones pueden ser a nivel del individuo, a nivel de la población y a nivel de la especie. Todo depende del tiempo y de la magnitud del cambio ambiental. (Gianoli, 2004)

El desarrollo y mantenimiento del aseguramiento de la calidad para las hierbas como drogas no es un fenómeno nuevo. Los farmacéuticos y botánicos italianos, desde los años 1400, hicieron lo que se considera hoy en día la primera farmacopea moderna, que es el libro oficial que cada país redacta y que es norma legal para la preparación y dispensación de los medicamentos. Todo esto lo hicieron con el fin de disminuir el error potencial en la identificación y la adulteración que

podía existir en la droga. El amplio uso internacional de los medicamentos herbarios en las últimas décadas ha generado varios intentos para desarrollar farmacopeas que recopilan las monografías herbolarias (monografía significa tratado sobre un solo tema u objeto, usualmente, en este caso, un género o una especie particular de planta) con el fin de definir los criterios de identidad y de calidad así como la información terapéutica correspondiente, (Soler II, 2005)

5.3 Generalidades de la especie

5.3.1 Nombre científico: *Phyla dulcis* (Trev.) Moldenke

i. **Familia:** Verbenaceae

5.3.3 Sinonimias:

Lippia scaberrima Sonder

Lippia dulcis Moldenke

Phyla scaberrima Moldenke

Zapania scaberrima Jussieu ex Persoon

5.3.4 Nombres comunes:

Orozus, Orozus cimarrón, Corronchocho, Hierba buena, Hierba dulce, Orozul, Orozus del país, Salvia santa, Xtuhuxiu, Yerba dulce, Honey Herb. (Morton, 1981) Los Aztecas la conocía como *Tzonpelic xihuitl* que significa hierba dulce. (Compadre; *et al*, 1985)

5.3.5 Historia:

Según Cáceres (1999) el orozuz aparece descrito con sumo detalle en algunas de las crónicas coloniales (Martín de la Cruz y Hernández), en todos los casos haciendo referencia a su potente sabor edulcorante; interesantemente de Sahagún no incluye esta planta en un manuscrito. Cáceres menciona que Fray Francisco Ximénez siguiendo a Hernández dice: “...son tan dulces estas ojas que vencen en dulzura a la dulcísima miel y el azúcar, y a cualquier otra cosa dulce..., la cual planta no dexa de ser muy útil, porque las ojas bebidas en agua, sanan las calenturas y el zumo también se bebe, aplaca la tosse y la ronquera y despierta la gana de comer”. (Cáceres, 1999)

El principal compuesto dulce de *P. dulcis* es hernandulcina, nombre dado en honor a Fransisco Hernández. (Compadre; *et al*, 1085)

5.3.6 Habitat y distribución geográfica:

Crece en matorrales húmedos y campos abandonados, riberas de ríos arboladas, bordes de estanques o en claros abiertos de pasturas siempre que exista suficiente humedad. Nativa del sur de México a Panamá. Introducida en Sur América y el Caribe. Crece en orillas de bosques o riberas de ríos, terrenos abiertos y pastizales hasta 1800 msnm, pero se desarrolla mejor en alturas por debajo de los 900 msnm (Martínez, Bernal y Cáceres, 2000; Cáceres, 2006; Cáceres, 1999). En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Guatemala, Petén, Retalhuleu, Quetzaltenango, Sacatepéquez, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa. (Cáceres, 1999; Standley; *et al*, 1970)

5.3.7 Descripción botánica

Planta herbácea pero a veces algo leñosa en la base (no suculenta), decumbente o postrada, enraizando en los nudos, o erectas, aromáticas, tallos jóvenes con tricomas simples o diminutos, rápidamente glabros. Hojas ovadas (lanceoladas), 3-7 cm de largo y 1.5-4 cm de ancho, ápice agudo, margen gruesamente crenado en el ápice, haz con tricomas simples adpresos, dispersos a abundantes, con bases agrandadas con la edad, envés puberulento, inflorescencia 0.4-0.9 cm de largo y 0.4-0.6 cm de ancho (1-1.8 cm de largo y 0.5-0.6 de ancho en fruto), 1 espiga por axila, pedúnculo 2.5-5cm de largo, brácteas verdes, bráctea inferior ovada o lanceolada, 3-4 mm de largo y 1.25-3 mm de ancho, bráctea superior obovado-espátulada (rómbica), 3 mm de largo y 1.25-2 mm de ancho, ápice redondeado, mucronado, cáliz 1-1.25 mm de largo, densamente cubierto de tricomas diminutos; corola 3 mm de largo. (Steven; *et al*, 2001; OEA/AICD, 2006)

5.3.8 Agricultura:

A pesar de ser una planta relativamente fácil de cultivar la producción en el país es escasa o doméstica, la que se comercializa es principalmente por recolección en las regiones de crecimiento silvestre. Se propaga por semilla o vástago, aunque por vástago es más fácil. Se hacen cortes del tallo de 4-5 yemas, se remueven las hojas, se remojan los tallos durante 1-2 horas, las puntas húmedas se colocan con o sin hormonas para enraizar en una cama de tierra cernida, lo que garantiza una planta más robusta y se colocan en bolsas de polietileno que se mantienen con riego diario en un vivero por 1-2 meses. Se trasplantan a un lugar sombreado con suelo húmifero y se siembran a distancia 50x40 cm. Si hay riego, cada 3-4 meses es posible hacer

un corte de las ramas más largas; no se le conoce mayores plagas o enfermedades que la afecten. Se colectan las ramas largas, se lavan y se secan a la sombra durante 2-3 días, luego se aporrean o seleccionan manualmente y se separan las hojas y flores de los tallos. (Cáceres, 1999)

Según un estudio realizado, el orozuz posee una mejor respuesta en cuanto a rendimiento de aceite esencial cuando se encuentra en ambientes con cierto porcentaje de sombra aunque la relación peso seco/peso fresco es mejor en ambientes a pleno sol. (ICTA, 1993)

Las hojas se cosechan durante la floración y se secan a la sombra o con calor artificial a una temperatura de 45°C. (OEA/AICD, 2006)

5.3.9 Partes usadas:

La droga cruda de *Phyla dulcis* (Trevir) Moldenke consiste en las partes aéreas de la planta (Hojas y flores) secas y trituradas. (OEA/AICD, 2006)

5.3.10 Usos medicinales

A las hojas se les atribuye propiedad antitusiva, aromática, balsámica, diaforética, diurética, emenagoga, emoliente, espasmolítica, estimulante, expectorante, febrífuga, pectoral, sedante, sudorífica y tónica. (OEA/AICD, 2006; Cáceres 1999)

El cocimiento, infusión o jugo de hojas frescas o secas se usan por vía oral para el tratamiento de afecciones gastrointestinales (diarrea, dolor de estómago, estreñimiento, gastritis, inflamación intestinal, parásitos intestinales, vómito) y respiratorias (asma, bronquitis, catarro, gripe, resfrío, tos, tos ferina), edema, fiebre, nefropatía, paludismo, cólico y desórdenes menstruales. Se le atribuyen propiedades abortivas, calmante para cólicos y bronquitis, y estimulante del apetito (OEA/AICD, 2006; Cáceres, 1999).

5.3.11 Otros usos populares:

Las hojas son aromáticas y se usan para condimentar bebidas y postres; se usan como saborizante de medicamentos y como infusión cordial. (OEA/AICD, 2006)

Las raíces se mastican en regiones de Centro América, con el mismo fin que el licorice de las raíces de *Glycyrrhiza glabra* (Morton, 1981; Williams, 1981). En Cuba se tiñen los papeles de cigarrillo con el jugo de la planta. (Morton, 1981)

5.3.12 Composición química:

El tamizaje fitoquímico de las hojas demuestra aceite esencial, ácidos orgánicos, alcaloides, hidrocarburos alifáticos, azúcares y ésteres, aunque estudios más profundos no encontraron alcaloides, pero sí un hidrocarburo alifático saturado identificado como ácido silícico (0.7-1.8%). Por destilación acuosa de hojas se obtiene un aceite neutro dulzón (0.8%), gravedad específica de 0.94875g/ml a 20°C, rotación óptica -11.8°, constituido por lippiol, monoterpenos (alcanfor, borneol, canfeno, limoneno, linalool, mirceno, α - y β -pineno, terpinoleno, α -terpineol) y sesquiterpenos (γ -cadineno, 6-metil-5-hepten-2-ona, α -copaeno, β -cariofileno, entre otros desconocidos. El compuesto edulcorante es un sesquiterpeno llamado hernandulcina [6-(1,5-dimetil-1-hidroex-4-enilo)-3-metilcicloex-2-enona], que representa únicamente el 0.004% de la hierba seca; de existir potencial en el uso de la molécula, se estima que sería más rentable la industrialización de la molécula de síntesis que la obtenida naturalmente. (OEA/AICD, 2006)

Estudios realizados por el Centro Nacional de Medicinal Popular Tradicional (CNMPT) en Estelv, Nicaragua en 2004, por CCF corroboran la presencia en el aceite esencial obtenido también por destilación acuosa de las hojas la presencia de lipiool, α - y β -pineno y los valores de aceite esencial coinciden con los planteados anteriormente. La gravedad relativa del aceite determinada a 20°C fue de 0.933. El Instituto Alpino de Fitofarmacología Suiza en coordinación con el CNMPT determinó el contenido de aceite esencial en hojas (0.95%) y se comparó en bancos de datos oficiales (NIS107 y NIS21) para el examen cromatográfico con revelación de masas: 5-hepten-2-one 6-metil (7.2%), n-amil isovalerete (0.2%), linalool (1.4%), seudenono (1.8%), etanona, 1-2-metil-ciclopenteno (0.2%), β -citronellol (0.4%), copaeno (9.9%), β -bourboneno (0.8%), cariofileno (12.5%), cedrene (0.5), β -farneseno (2.6%), humuleno (0.7%), aromadendreno (0.7%), γ muuruleno (1.6%), β -bisaboleno (2.6%), α -muuruleno (1.4%), germacreno B (4.2%), cadineno (7.7%), nerolidol (0.7%), espatulenol (4.7%), óxido de carvofileno (3.1%), bergamotol, Z- α -trans (1.4%), α -bisabolol (10.7%). Comparando los datos de

la solución referencia que contiene alcanfor y los datos relativos a la muestra en análisis, se afirma que la muestra no contiene alcanfor. (OEA/AICD, 2006)

De las partes aéreas colectadas en Panamá un nuevo sesquiterpeno fue identificado como (+)-hernandulcina, (-)-epihernandulcina y el 6-metil-5-hepten-2-ona. Un acetósido (verbacósido) conocido como glucósido de fenilpropanoide fue aislado de las flores. Dos nuevos tipos de bisabolenos sesquiterpenos fueron encontrados, el primero corresponde a lippidulcina A y epilippidulcina A y se identificaron cinco nuevos flavonoides (cisimartina, salvigenina, eupatorina, 5-hidroxi-6, 7, 3', 4'-tetrametoxiflavona y 5,3'-dihidroxi-6,7,4',5'-tetrametoxiflavona), así como tres conocidos feniletanoid glicósidos, dcaffeylverbascósido, acetósido e isoacetósido y dos conocidos iridoides glucósidos 8-epiloganin y el mamiide. Se postula la existencia de por los menos dos quimiotipos, uno rico en hernandulcina y otro en alcanfor. (OEA/AICD, 2006)

Un estudio sobre la composición química de *P. dulcis* realizado en Puerto Rico, contrario a lo encontrado en especies mexicanas, revelan que los constituyentes mayoritarios del aceite son el sesquiterpenoide (+)-hernandulcina (36%) y su epímero (-)-hepihernandulcina (22%) y en un estudio mexicano encontraron que dicha especie posee solamente trazas de hernandulcina. Las especies mexicanas poseían un monoterpeno más amargo denominado alcanfor. Esto podría revelar que existen al menos 2 quimiotipos de la especie: uno del tipo hernandulcina y otro del tipo alcanfor. (Souto-Bachiller; *et al*, 1997)

5.3.13 Farmacología

5.3.13.1 Experimental

Estudios antimicrobianos demuestran que la tintura de hojas es activa contra *S. typhi*, *S. flexneri*, *S. aureus* y *S. pneumoniae*, pero es inactiva contra *P.aeruginosa* y *C. albicans*, aunque en estudios posteriores el extracto etanólico mostró actividad anticándida y contra *P. aeruginosa*, mientras que la tintura (10 mg/ml) mostró evidente actividad contra *C. albicans* y *M. gypseum*. En otro estudio se confirmó la actividad de los extractos etanólico y acetónico de hojas contra enterobacterias (*E. coli*, *S. flexneri* y *S. typhi*); así como una CIM del extracto acetónico de 5 mg/ml para *S. pyogenes* y *S. pneumoniae*. (Cáceres, 1999)

Estudios farmacológicos demuestran que ni la decocción ni la infusión de hojas presenta actividad diurética en ratas a dosis de 750 y 1,000 mg/kg, comparado con el fármaco de referencia (hidroclorotiazida). La decocción de hojas y tallos no tiene actividad cardiotónica en tejido cardíaco de cobayo hasta una dosis de 320µl/baño. (Cáceres, 1999)

5.3.13.2 Clínica

La *Nueva Materia Médica* y la *Farmacopea Mexicana* reconocen esta planta por ser demulcente, emenagoga y expectorante, ejerce acción alternativa sobre la membrana de la mucosa bronquial. Estas fuentes recomiendan la tintura de la planta fresca en dosis de 2-4 cc cada tres horas. Esta prescripción se confirma con los testimonios publicados en *Therapeutic Gazette* durante los años 1881'82 por su eficacia contra tos, catarros rebeldes y bronquitis. (Cáceres, 1999)

5.3.14 Farmacognosia

La materia vegetal que se usa médicamente son las hojas y tallos tiernos secos. Estos deben reunir las características fitoquímicas y sanitarias de la materia prima usada en la elaboración de productos fitofarmacéuticos. En la revisión de la literatura realizada se encontró muy poca información relacionando la bioactividad descrita con la estructura molecular y no se encontraron estudios tendientes a la estandarización de la materia seca o sus derivados para la preparación de productos fitofarmacéuticos. (Cáceres, 1999)

La planta no es de uso oficial en ninguno de los países, con excepción de México, por lo que no se encuentra en las principales farmacopeas. Se comercializan productos fitofarmacéuticos como infusión, tintura, jarabe, elíxir y caramelos medicados. (Cáceres, 1999)

5.3.15 Indicaciones terapéuticas

Por su actividad antibiótica, expectorante, pectoral y sudorífica está indicado su uso por vía oral en el tratamiento de afecciones respiratorias agudas y crónicas tales como asma, bronquitis, catarro y tos crónica. Se recomienda administrar tres veces al día una dosis de 2-5 g/taza en infusión, 1-3 ml de tintura 1:10 en etanol 35%, 2-4 ml de jarabe o 2-4 ml de elíxir. Por su acción

antibiótica, expectorante, pectoral y sudorífica puede combinarse con Eucalipto, Hinojo, Jengibre, Marrubio, Salvia Sija, Sauco y Tomillo. (Cáceres, 1999)

5.3.16 Toxicidad

Los extractos acuosos y etanólico (500 ppm) de hojas, raíces y tallos fueron tóxicos a peces del género *Mollinesia*. El alcanfor puede ser tóxico (DL₅₀: 50 mg/kg; se sabe que cruza la placenta y podría ser la causa del poder abortivo atribuido popularmente. La hernandulcina no presenta mutagenicidad usando el bioensayos de *S. typhimurium* TM677; no presenta toxicidad aguda en el ratón a una sola dosis de 2g/kg. La infusión de hojas administrada oralmente a ratones en dosis de 1-5 g/kg no presenta toxicidad aguda. (Cáceres, 1999)

5.4 Estudios relacionados

En Guatemala y países de la región se han realizado diferentes estudios que incluyen tanto la parte fitoquímica como estudios *in vitro* sobre sus propiedades. Algunos de los estudios se resumen a continuación.

En el año 1990, Cáceres y colaboradores realizaron un estudio denominado: Plantas Usadas en Guatemala para el tratamiento de Desórdenes Gastrointestinales: 1. Tamizaje de 84 Plantas contra Enterobacterias. En dicho estudio *P.dulcis* presentó actividad inhibitoria contra *Salmonella typhi* y una actividad moderada contra *Shigella flexneri*. (Cáceres; *et al*, 1990)

En el año 1991, Cáceres y colaboadores realizaron otro Tamizaje de plantas pero para conocer las propiedades bactericidas del tracto respiratorio. Dicho estudio se llamó: Plantas Usadas en Guatemala para el tratamiento de Enfermedades Respiratorias: 2. Tamizaje de 68 Plantas contra Bacterias Gram positivo. Dicho estudio reveló que *P.dulcis* es activo contra *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae*. (Cáceres; *et al*, 1991)

En la misma rama, Cáceres vuelve a estudiar el efecto del extracto metanólico y acetónico de algunas plantas guatemaltecas en bacterias gram positivo. El estudio fue realizado en el año 1993 y se denominó: Plantas Usadas en Guatemala para el Tratamiento de Enfermedades Respiratorias: 2. Evaluación de la Actividad de 16 Plantas contra Bacterias Gram positivo. Dicho

estudio reveló que ambos extractos fueron más activos contra *Staphylococcus aureus*, seguido de *Streptococcus pneumoniae* y por último *Streptococcus pyogenes*. (Cáceres; *et al*, 1993)

También se evaluó la actividad diurética de *P.dulcis* en un estudio denominado: Actividad Diurética de Plantas Usadas para el Tratamiento de Dolencias Urinarias. La actividad de *P.dulcis* no fue ni igual ni mayor al medicamento de referencia.

En cuanto a la parte Agrotecnológica, en el año 1993 se realizó un proyecto denominado: Desarrollo Agrotecnológico de Cinco Especies de Plantas Medicinales Silvestres con Potencial Industrial. En dicho estudio se demostró la diferencia en rendimiento de aceite en plantas con sombra y plantas a pleno sol, así como se establecieron algunos patrones agrotecnológicos de menor importancia, demostrando algunas variaciones interespecíficas según a región de procedencia. (ICTA, 1993)

Recientemente se han realizado estudios para comprobar algunas de sus propiedades pero estos estudios se han realizado en el extranjero. Dentro de estos estudios se pueden citar los siguientes:

En el año 2005, Pérez y colaboradores realizaron un estudio sobre la actividad antiinflamatoria de *Lippia dulcis*. Dicho estudio fue realizado en México, y se evaluó el efecto de los extractos etanólicos y hexánicos. El extracto con hexano fue inactivo pero el etanólico a dosis de 400 mg/kg redujo una inhibición significativa en edema plantar inducido por carragenina y redujo el peso del granuloma inducido por bolas de algodón, más aún, la aplicación tópica de 0.5 mg/orja de este extracto inhibió el edema inducido por TPA en un 49.13%.

En el año 2008, Görnemann y colaboradores evaluaron la actividad antiespasmódica del aceite esencial de *P.dulcis* y demostraron que posee un efecto anti-histaminérgico y anti.colinérgico, lo que sustenta el uso racional de dicha planta para tratar el broncoespasmo. (Görnemann; *et al*, 2008)

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general:

Describir los caracteres anatómicos diagnósticos de la droga cruda de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke a partir de tres poblaciones diferentes.

6.2 Objetivos específicos:

6.2.1 Identificar y describir las características anatómicas (macroscópicas y microscópicas) distintivas en hojas de tres poblaciones de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke que permitan la correcta identificación farmacobotánica de la droga cruda de la especie.

6.2.2 Elaborar una cartilla micrográfica con los parámetros diagnóstico de la droga cruda de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke a partir de las características macro y microscópicas de las tres poblaciones.

6.2.3 Evaluar las diferencias anatómicas macroscópicas y/o microscópicas de la droga cruda de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke tomando en cuenta el factor altitudinal como una posible fuente de variación.

7. HIPÓTESIS

Existen diferencias significativas a nivel de caracteres anatómicos entre las tres poblaciones de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke.

8. AREA A INVESTIGAR

El presente estudio forma parte de las investigaciones para el establecimiento de los estándares de calidad de la droga cruda de una especie vegetal. La descripción macro y microscópica de las características anatómicas así como la cartilla micrográfica son parte de la identidad y pureza del material

9. METODOLOGÍA

9.1 Universo y Población

El Universo de este estudio lo constituyeron las diferentes poblaciones de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke existentes en el país.

9.2 Muestra

Tres poblaciones pertenecientes a tres diferentes altitudes de acuerdo al siguiente cuadro.

Poblaciones estudiadas de *Phyla dulcis*

# Población	Lugar de colecta	Rango de Altitud	Coordenadas	Altitud en msnm
1	CEDA*, Guatemala, Guatemala	1200-1800 msnm	N14º 34.811' W 90º 33.220'	1465
2	El Chico, Usumatlán, Zacapa	600-1200 msnm	N 15º 01.020' W 89º 50.468'	929
3	Platanares, Güasacapán, Santa Rosa	0-600 msnm	N14º 34.811' W 90º 33.220'	262

* CEDA-Centro Experimental Docente de Agronomía, USAC

9.3 Diseño Experimental y Análisis Estadístico

Diseño jerárquico en el cual dentro de cada una de las 3 poblaciones (definidas por el sitio de colecta) se tomaron muestras (plantas) de las que se midieron submuestras (partes específicas de la planta).

El número de individuos y de muestras de cada individuo se hizo por conveniencia ya que 10 individuos es un número significativo para disminuir el error por diferencias intraespecíficas.

Tipos de variables estudiadas para cada población

Población	Numero de Individuos	Muestras de cada individuo	Número de variables microscópicas		Numero de variables macroscópicas		Total de variables tomadas por población
			Cualitativo	Cuantitativo	Cualitativo	Cuantitativo	
Guatemala	10	1	11	8	9	1	304
Zacapa	10	1	11	8	9	1	304
Santa Rosa	10	1	11	8	9	1	304
TOTAL							912

Al ser las variables de tipo mayormente cualitativas, esto dota a los datos de un carácter categórico para ser analizados con estadística experimental. Generalmente las variables categóricas, como presencia/ausencia y morfología, a diferencia de las variables continuas, como altura de la planta en cm, longitud del pecíolo, ancho del tallo, etc., presentan una distribución que no es normal.

Para el presente análisis fue necesario realizar uno de tipo multivariado ya que son una buena alternativa para analizar estos datos, usando Distancia Eucladiana de enlace completo para determinar si dichas variables discriminaban de algún modo las poblaciones.

9.4 Variables

Las variables a observar y medir fueron las siguientes:

Características macroscópicas de la hoja:

I. Cualitativas

- a. Aspecto general
- b. Consistencia
- c. Color
- d. Forma
- e. Olor
- f. Sabor
- g. Superficie de la lámina

- h. Transparencia
- i. Tipo de pecíolo

II. Cuantitativas

- j. Tamaño

Características microscópicas de la hoja:

I. Cualitativas

- k. Presencia de estomas en el haz/envés.
- l. Tipos de estomas del haz/envés.
- m. Tipos de tricomas del haz/envés.
- n. Diferenciación del mesófilo.
- o. Forma de las células de la epidermis.
- p. Tipos de haces vasculares de la vena central
- q. Tipo de colénquima del pecíolo.
- r. Tipos de haces vasculares del pecíolo.

II. Cuantitativas

- s. Índice de estomas del haz/envés.
- t. Numero de células que forman los tricomas del haz/envés.
- u. Numero de capas de parénquima en empalizada.
- v. Número de haces vasculares de la vena principal
- w. Numero de capas de colénquima en el pecíolo.
- x. Numero de haces vasculares del pecíolo.

9.5 Materiales

9.5.1 Equipo de colecta:

- Bolsas plásticas
- Machete
- Tijera de podar
- Libreta de campo
- Lápiz

- Hielera
- Etiquetas autoadhesivas
- Etiquetas de identificación

9.5.2 Equipo para cortes histológicos:

- Refrigeradora
- Estufa
- Microscopio de luz
- Micrómetro objetivo

9.5.3 Material para técnicas histológicas

- Alcohol a distintas concentraciones
- Gelatina Glicerina
- Agua destilada
- Etanol
- Espátula de metal
- Pincel
- Agujas de disección
- Hojas de afeitar nuevas
- Cubreobjetos
- Portaobjetos

9.5.4 Cristalería

- Vasos de precipitar
- Varillas de vidrio
- Vidrios de reloj
- Cajas de Petri

9.5.5 Reactivos

- Hidróxido de potasio al 5%
- Hidróxido de sodio al 5%

- Hipoclorito de sodio al 50%
- Hidrato de cloral (2:5)
- Safranina al 1%

9.6 Métodos

9.6.1 Colecta

Para cada población se tomaron muestras de diferentes estadios de las hojas (nuevas, adultas). Se tomaron las ramas y se colocaron dentro de una bolsa grande y ésta a su vez dentro de una hielera. Las muestras se trabajaron fijadas lo antes posible para evitar que la planta se marchitara. (Gatusso y Gatusso, 1999; Granados, 2007)

9.6.2 Secado

El material vegetal se secó en la sombra, en un promedio de 3-4 días o hasta que el material estuviera seco. Se colocó dentro de sobres de papel periódico para ayudar a absorber humedad

9.6.3 Macroscopía (Solís, et al, 2005)

Para análisis macroscópico de drogas constituidas por hojas se tomó en cuenta lo siguiente:

- Aspecto general: Si las hojas se presentaban enteras, fragmentadas o pulverizadas.
- Consistencia: Si eran duras, flexibles, coriáceas, membranáceas, papiráceas, carnosas o suculentas.
- Color: Este carácter tiene un valor relativo para la diagnosis ya que depende del sistema de secado y conservación que se haya realizado. Es importante, si la hoja era discolora, indicar qué color presentaba en la cara ventral y cuál era la dorsal.
- Forma: Si la hoja se encontraba entera, se observó el ápice, base, borde, contorno, nerviación, simetría, si poseía o no pecíolo, si era simple o compuesta, si llevaba anexos, etc.
- Olor y sabor: Son característicos de cada especie. Se determinó si el olor era ligero, franco, fuerte o sin olor y luego la sensación del olor que podía ser aromático, frutal, a viejo, a moho, rancio, fétido, etc.

- Superficie de la lámina: Por el tacto, se determinó si era lisa, sedosa, áspera o tomentosa y por la visión, si era glabra, pubescente, rugosa, ondulada, hirsuta o verrucosa.
- Transparencia: Algunas hojas pueden presentar puntos transparentes, relacionados con la estructura interna del órgano, por ejemplo la presencia de glándulas, idioblastos, cavidades secretoras, etc.
- Pecíolo: se indicó si era estriado, liso, rugoso, piloso, alado, su forma de inserción, etc.

9.6.4 Técnicas histológicas (Microscopía)

9.6.4.1 Cortes a mano alzada

Las hojas de *Phylla dulcis* son finas y blandas así que se colocó la hoja sobre un portaobjetos y se cubrió con otro portaobjetos. Luego con una cuchilla con filo se realizaron cortes transversales muy finos conforme se iba corriendo el portaobjetos superior. (Gatusso y Gatusso, 1999, Granados, 2007)

9.6.4.2 Técnica de Semidiafanizado y Diafanizado (Granados, 2007)

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

1. Se colocó el material en un vaso de precipitado que contuviera 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.
2. Luego se enjuagó con agua hasta que el líquido quedara limpio, teniendo mucho cuidado de no quebrar el material.
3. Se pasó el material con mucha precaución a una caja de Petri que contuviera hipoclorito de sodio al 50% y se dejó hasta que quedaran blanco-transparentes.
4. Se lavó con agua destilada, hasta eliminar totalmente el hipoclorito de sodio.
5. Se colocó en hidrato de cloral (2:5) durante 10-15 minutos como mínimo, hasta que se tornaran transparentes.
6. El material se coloreó con Safranina al 1% y agua y se montó con gelatina-glicerina.

9.6.4.3 Determinación del índice de estomas (Gatusso y Gatusso, 1999; Solís, et al, 2005)

Se tomaron las láminas que se diafanizaron y con ellas se hizo lo siguiente:

1. Se observó con un microscopio equipado de tubo de dibujo, utilizando el objetivo de 40x y el ocular de 6x.
2. Se dibujó en el papel el área observada de 2 mm de lado.
3. Se dibujó dentro de esa área una cruz por cada célula epidérmica y un círculo por cada estoma.
4. se calculó el resultado de la siguiente manera: $I = (S \times 100) / (E + S)$

Siendo: I el índice de estomas

S el número de estomas en una superficie determinada de la hoja

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

9.6.5 Cartilla Micrográfica (Granados, 2007)

Después de haber tomado en cuenta todas las características, y desechando las que fueran diferentes entre poblaciones o entre individuos se procedió a seleccionar solamente las que fueran comunes de la especie en general. Con esto se hicieron los dibujos de la microscopía con tinta china, de la manera más exacta y precisa, utilizando los esquemas de Metcalfe y Chalck (Gatusso y Gatusso, 1999). Con esto se procedió a hacer una descripción tanto macro como microscópica de la especie.

10. RESULTADOS

10.1 Caracteres Macroscópicos

Debido a la alta homogeneidad del material vegetal seco entre poblaciones no se realizó el análisis por individuo. Los resultados de los caracteres evaluados observados en las tres poblaciones se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 1. Características anatómicas macroscópicas de la droga cruda de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke.

Variable	Descripción
Aspecto general	Hojas enteras
Consistencia	Duras
Color	Haz verde olivo oscuro y envés verde olivo según paleta de colores RGB
Forma	Ovada
Olor	Aromático
Sabor	Muy dulce
Superficie de la lámina	Haz pubescente estrigoso, envés pubescente glanduloso
Tamaño	1-5cm largo, 0.5-3 cm ancho
Transparencia	No se observaron puntos que indican la presencia de cavidades
Tipo de pecíolo	Liso, un poco alado

Fuente: Datos Experimentales

10.2 Caracteres Microscópicos

Se evaluó a nivel microscópico la presencia y tipo de diecinueve caracteres microscópicos en hojas de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke. No se encontró diferencias inter poblacionales para los caracteres, y las diferencias intrapoblacionales no mostraron ser lo suficientemente fuertes como para poder subdividir las poblaciones.

En general se observó que las hojas de todas las poblaciones son anfiestomáticas, es decir, con estomas tanto en el haz como en el envés, la mayoría de estomas son anisocíticos (3 células guardianas, dos grandes y una pequeña) (ver Fig. 1), pero en algunos casos también se presentaron paracíticos y diacíticos (ver Fig.2).

Se observaron diferentes tipos de tricomas en los individuos estudiados (ver Fig. 3). Los tricomas tectores, es decir, con función de protección, fueron de dos tipos, unicelulares con base en roseta, es decir, con varias células formando una especie de flor alrededor del tricoma (ver Fig. 4), y pluricelulares (dos células) de base simple, con 4 células en la base (ver Fig.5). Ambos

tricomas atenuados es decir, base ancha y punta muy aguda (ver Figs. 4-5). Los tricomas de tipo glandular, es decir con algún tipo de función secretora, son muy similares. Se denominan capitados, de base muy corta y punta redonda (ver Fig. 3). Dichos tricomas fueron de dos tipos, unicelulares (ver Fig. 6) y pluricelulares formados por dos células (ver Fig. 7). Se observaron pequeños y grandes (ver Fig. 8).

A nivel de las células normales de la epidermis se observó lo siguiente: Todos los individuos poseen una epidermis uniestratificada. La epidermis del haz posee células grandes, redondeadas y de diferentes tamaños, de tipo buliforme, en cambio, la epidermis del envés es más homogénea, con células alargadas horizontalmente (ver Fig. 9). El haz posee mayor cantidad de tricomas tectores, en cambio, la epidermis del envés poseen mayor cantidad de tricomas glandulares. Las células del haz son rectangulares con paredes más o menos sinuadas (ver Fig. 10). Las células del envés son más pequeñas y sus paredes son marcadamente onduladas (ver Fig. 11).

Todos los individuos presentaron diferenciación de parénquima en empalizada y esponjoso. Las capas de parénquima en empalizada fueron dos, con células cilíndricas, bastante más altas que anchas, apiladas unas a otras, sin espacios intercelulares notorios. El parénquima esponjoso estuvo formado por células redondeadas, distribuidas de forma desordenada (ver Fig. 12).

La vena central de la hoja presentó las mismas características entre los individuos estudiados. Una epidermis uniestratificada con tricomas al igual que el resto de la lámina. El haz vascular presente en la vena central fue siempre uno, de tipo colateral, es decir, con floema en las dos caras, rodeando al xilema (ver Fig. 13).

En cuanto a los resultados del pecíolo se observó lo siguiente: Se observó una sola capa de epidermis rodeada por tricomas tanto glandulares como tectores. El colénquima presente fue de tipo lagunar, y el número de capas varió en algunos individuos desde 2 hasta 4 capas, siendo en su mayoría tres capas (ver Fig. 15). El parénquima de almacenamiento fue marcadamente redondeado, con células de diferentes tamaños (ver Fig. 15). En la mayoría de los casos se presentó solamente un haz vascular principal de tipo colateral, pero en algunos casos, el pecíolo más o menos alado, presentó de uno a dos haces vasculares secundarios (ver Fig. 16).

Tabla 2. Características anatómicas microscópicas de la droga cruda de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke de la población proveniente de Guatemala, Guatemala

VARIBALE	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G10
Estomas en el haz	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
Estomas en el envés	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
Tipos de estomas en el envés	Ani	Ani Di	Ani	Ani	Ani	Ani	Ani	Ani	Ani Di	Ani
Tipos de estomas del haz	Ani Pa	Ani	Ani	Ani	Ani Di	Ani Di	Ani	Ani	Ani	Ani
Índice de estomas del envés	22.97	20.17	24.17	26.54	25.43	23.19	25.13	24.16	22.15	21.18
Índice de estomas del haz	15.38	12.43	11.71	13.12	14.97	13.26	10.15	12.29	13.4	16.58
Tipos de tricomas del envés (en orden descendente de abundancia)	GU, GP, TU, TP	GU, GP, TU, TP								
Tipos de tricomas del haz (en orden descendente de abundancia)	TU, TP, GU, GP									
Número de células que forman los tricomas del envés en tricomas tectores y glandulares pluricelulares	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Número de células que forman los tricomas del haz en tricomas tectores y glandulares pluricelulares	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Numero de capas de parénquima en empalizada	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Aspecto del parénquima esponjoso	Irreg									
Forma de las células de la epidermis del haz	RI									
Forma de células de la epidermis del envés	AH									
Tipos de haces vasculares	Col									
Número de haces vasculares de vena central	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Numero de capas de colénquima en el pecíolo	3	3	3	3	2	3	4	3	3	3
Tipo de colénquima del pecíolo	Lag									
Numero de haces vasculares del pecíolo	1	1	2	2	1	3	1	1	1	1

Fuente: Datos Experimentales

Abreviaturas: P: presente / A: ausente; Ani: Anisocítico / Pa: Paracítico / Di: Diacítico / An: Anomocítico; Tricomas: TU: tector unicelular, TP: tector pluricelular, GU: glandular unicelular, GP: glandular pluricelular
Irreg: Irregular; R.I: Redondas irregulares; A.H: Alargadas horizontalmente

Tabla 3. Características anatómicas microscópicas de la droga cruda de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke de la población proveniente de Sierra de las Minas, Zacapa

VARIBALE	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	Z6	Z7	Z8	Z9	Z10
Estomas en el haz	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
Estomas en el envés	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
Tipos de estomas en el envés	Ani	Ani	Ani	Ani	Ani	Ani	Ani Di	Ani	Ani	Ani
Tipos de estomas del haz	Ani	Ani	Ani	Ani	Ani Di	Ani	Ani	Ani	Ani	Ani
Índice de estomas del envés	23.43	21.32	20.18	20.95	24.13	26.38	25.67	21.64	22.53	27.18
Índice de estomas del haz	10.34	12.54	11.28	15.34	15.65	14.32	11.39	13.28	15.25	16.43
Tipos de tricomas del envés (en orden descendente de abundancia)	GU, GP, TU, TP									
Tipos de tricomas del haz (en orden descendente de abundancia)	TU, TP, GU, GP									
Número de células que forman los tricomas del envés en tricomas tectores y glandulares pluricelulares	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Número de células que forman los tricomas del haz en tricomas tectores y glandulares pluricelulares	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Numero de capas de parénquima en empalizada	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Aspecto del parénquima esponjoso	Irreg									
Forma de las células de la epidermis del haz	RI									
Forma de células de la epidermis del envés	AH									
Tipos de haces vasculares	Col									
Número de haces vasculares de vena central	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Numero de capas de colénquima en el pecíolo	3	3	2	4	3	3	3	3	3	3
Tipo de colénquima del pecíolo	Lag									
Numero de haces vasculares del pecíolo	1	3	3	2	1	1	1	1	1	3

Fuente: Datos Experimentales

Abreviaturas: P: presente / A: ausente; Ani: Anisocítico / Pa: Paracítico / Di: Diacítico / An: Anomocítico; Tricomas: TU: tector unicelular, TP: tector pluricelular, GU: glandular unicelular, GP: glandular pluricelular
Irreg: Irregular; R.I: Redondas irregulares; A.H: Alargadas horizontalmente

Tabla 4. Características anatómicas microscópicas de la droga cruda de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke de la población proveniente de Güasacapán, Santa Rosa

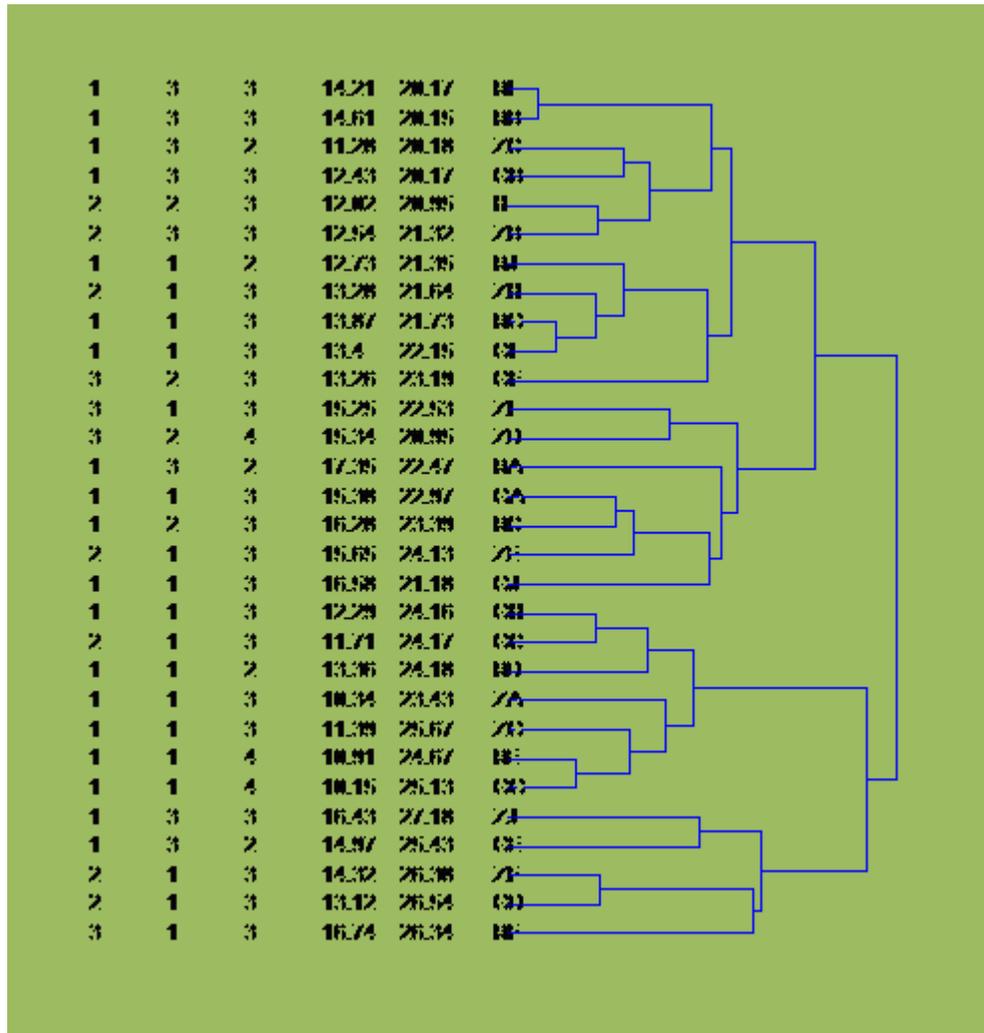
VARIBALE	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
Estomas en el haz	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
Estomas en el envés	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
Tipos de estomas en el envés	Ani	Ani	Ani Pa	Ani	Ani	Ani Di	Ani	Ani	Ani	Ani
Tipos de estomas del haz	Ani	Ani Di	Ani	Ani						
Índice de estomas del envés	20.15	23.39	24.18	24.67	26.34	21.73	20.95	20.17	21.35	20.15
Índice de estomas del haz	14.61	16.28	13.36	10.91	16.74	13.87	12.02	14.21	12.73	14.61
Tipos de tricomas del envés (en orden descendente de abundancia)	GU, GP, TU, TP	GU, GP, TU, TP								
Tipos de tricomas del haz (en orden descendente de abundancia)	TU, TP, GU, GP									
Número de células que forman los tricomas del envés en tricomas tectores y glandulares pluricelulares	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Número de células que forman los tricomas del haz en tricomas tectores y glandulares pluricelulares	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Numero de capas de parénquima en empalizada	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Aspecto del parénquima esponjoso	Irreg									
Forma de las células de la epidermis del haz	RI									
Forma de células de la epidermis del envés	AH									
Tipos de haces vasculares	Col									
Número de haces vasculares de vena central	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Numero de capas de colénquima en el pecíolo	3	3	2	4	3	3	3	3	2	3
Tipo de colénquima del pecíolo	Lag									
Numero de haces vasculares del pecíolo	3	2	1	1	1	1	2	3	1	3

Abreviaturas:
P: presente / A: ausente

Abreviaturas: P: presente / A: ausente; Ani: Anisocítico / Pa: Paracítico / Di: Diaicítico / An: Anomocítico; Tricomas: TU: tector unicelular, TP: tector pluricelular, GU: glandular unicelular, GP: glandular pluricelular
Irreg: Irregular; R.I: Redondas irregulares; A.H: Alargadas horizontalmente

10.3 Análisis estadístico

Gráfica 1: Dendrograma



Fuente: Datos Experimentales

Las únicas variables tomadas en cuenta fueron las que presentaron variación, siendo estas 4 variables: Índice de estomas del haz y del envés, número de capas de colénquima del peciolo y número de haces vasculares del peciolo. La distancia euclidiana tomada en cuenta para analizar dichos datos refleja que dichas variables no fueron discriminativas en cuanto a esas variables, lo que indica que con dichas variables no podría realizarse una separación a nivel de subpoblaciones de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke tomando en cuenta la altitud en la que se encuentra.

Figuras de 1-8, 10-11: Diafanizado de hoja de Phyla dulcis (Trevir.) Moldenke

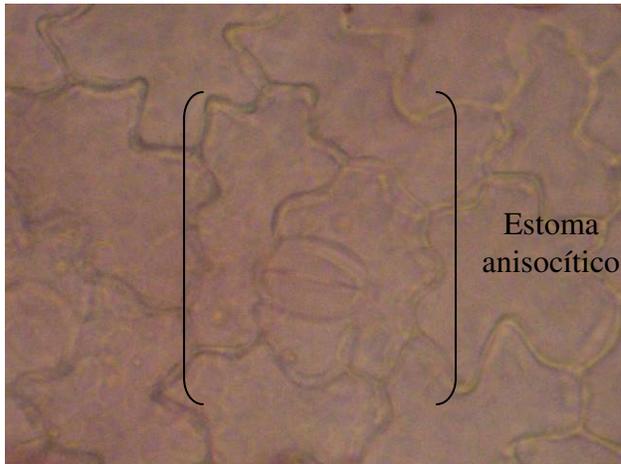


Fig.1 Envés: Estoma anisocítico

Aumento: 400x

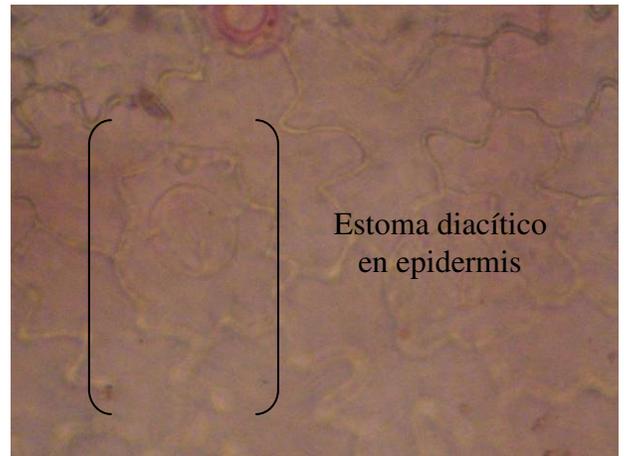


Fig.2 Envés: Estoma diacítico

Aumento: 400x

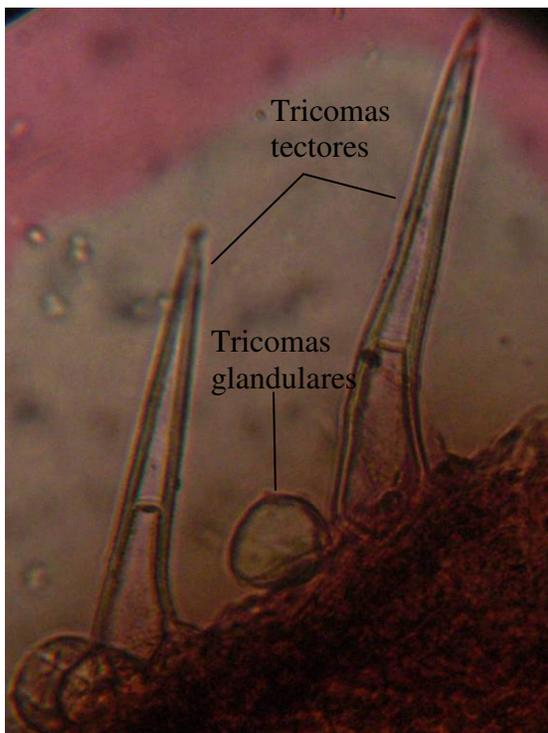


Fig. 3 Trichomas tectores y glandulares

Aumento: 400x

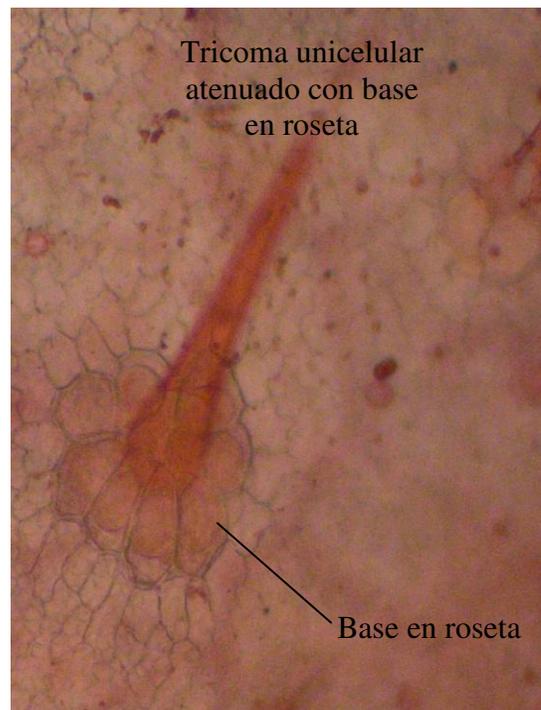


Fig.4 Haz: Tricoma atenuado con base de roseta

Aumento: 400x

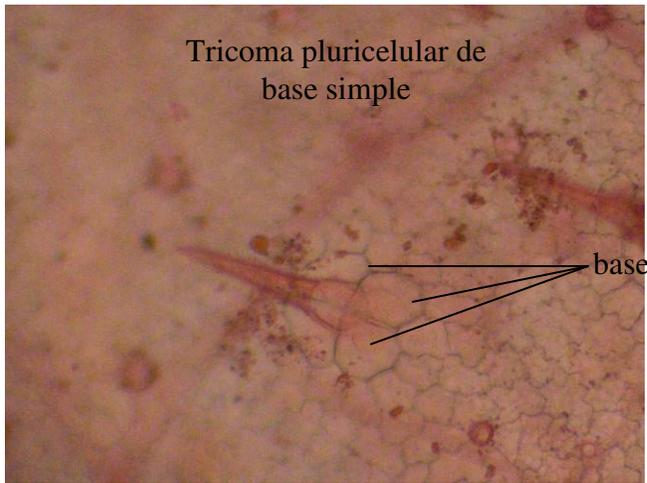


Fig. 5 Envés: Tricoma atenuado de base simple
Aumento: 400x

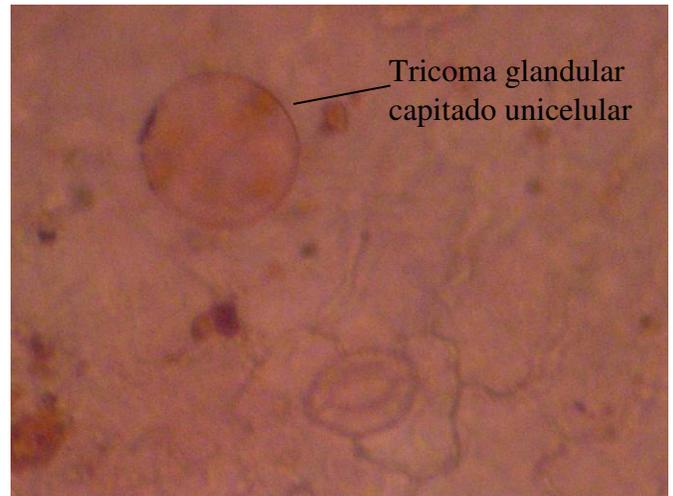


Fig. 6 Tricoma glandular capitado unicelular
Aumento: 400x

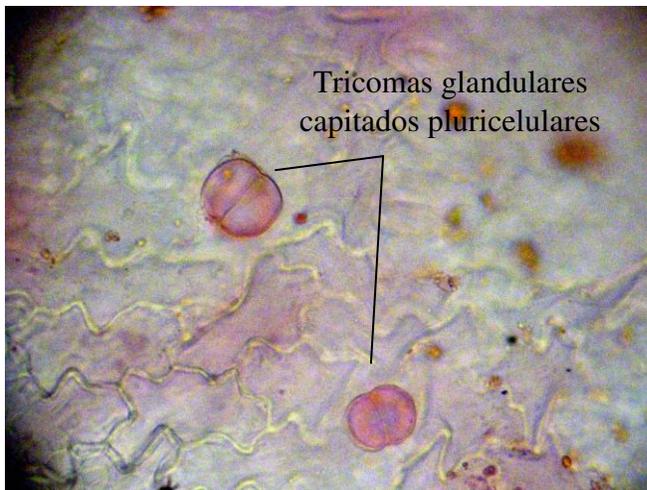


Fig. 7 Envés: tricoma glandular pluricelular
Aumento: 400x

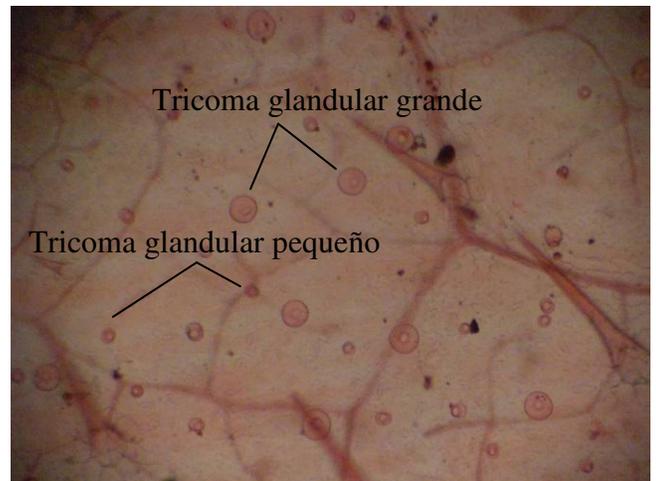


Fig. 8 Tricomas glandulares y tectores
Aumento: 100x

Fig 9, 12-13: Corte transversal de hoja de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke

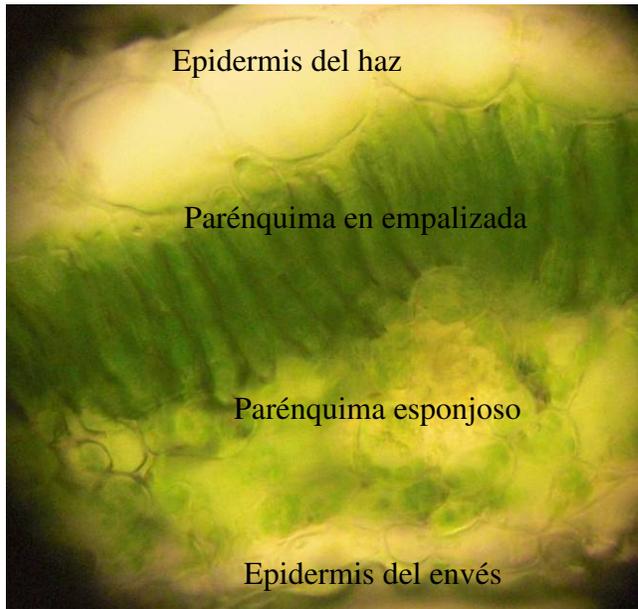


Fig. 9 Epidermis y mesófilo
Aumento: 400x

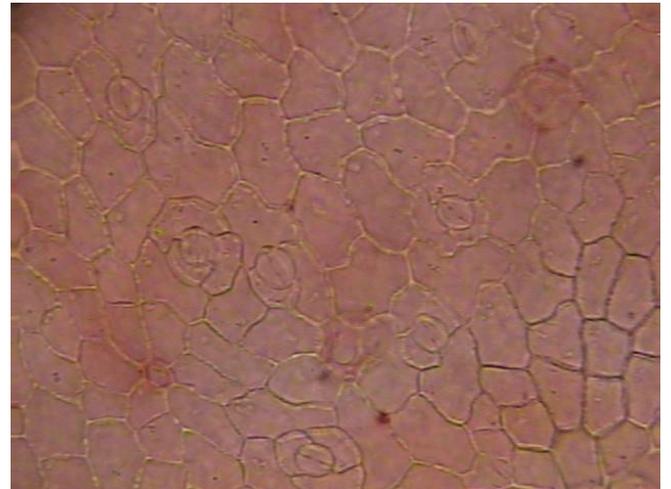


Fig. 10 Haz
Aumento: 100x



Fig. 11 Envés
Aumento: 100x

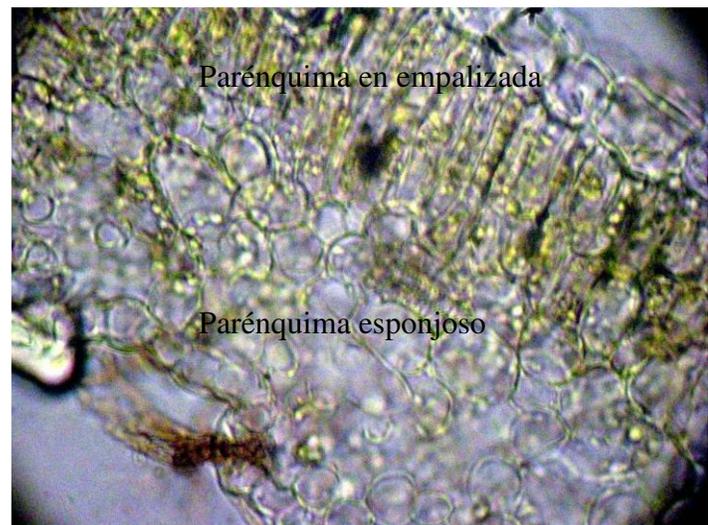


Fig. 12 Mesófilo
Aumento: 400x

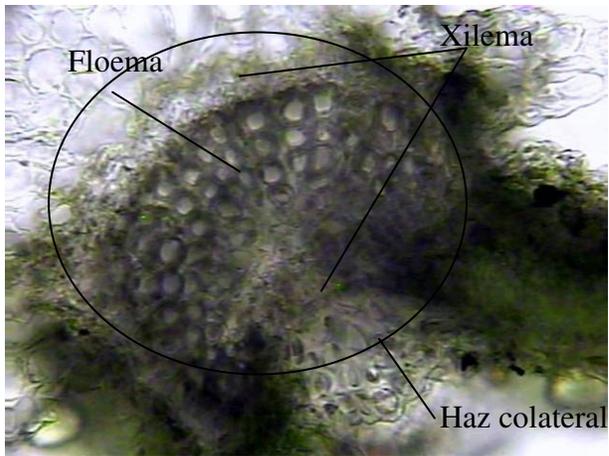


Fig. 13 Vena central

Aumento: 400x

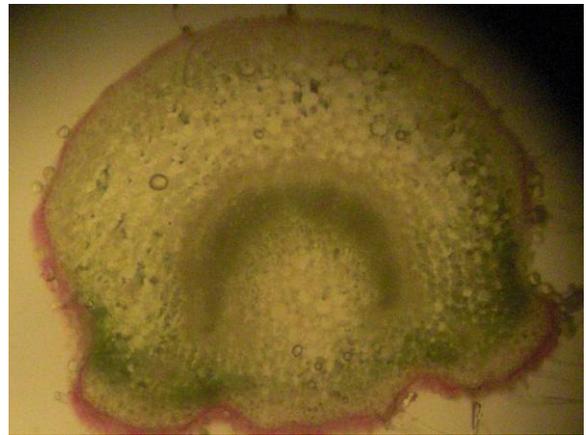


Fig. 14 Corte transversal de peciolo de

***Phyllanthus dulcis* (Trevir.) Moldenke**

Aumento: 100x

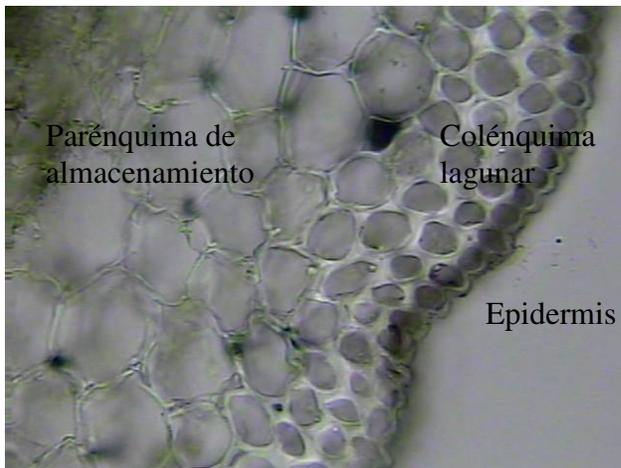


Fig. 15 Epidermis, colénquima y

parénquima de peciolo

Aumento: 400x

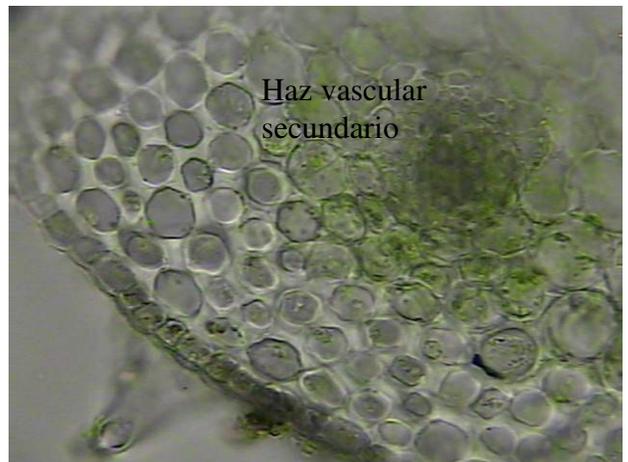


Fig. 16 Haz vascular secundario de

peciolo

Aumento: 400x



Fig. 17 Droga cruda de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke

Sin aumento



Fig. 19 Ápice de la hoja de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke

Sin aumento



Fig. 18 Hoja e inflorescencia de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke

Sin aumento

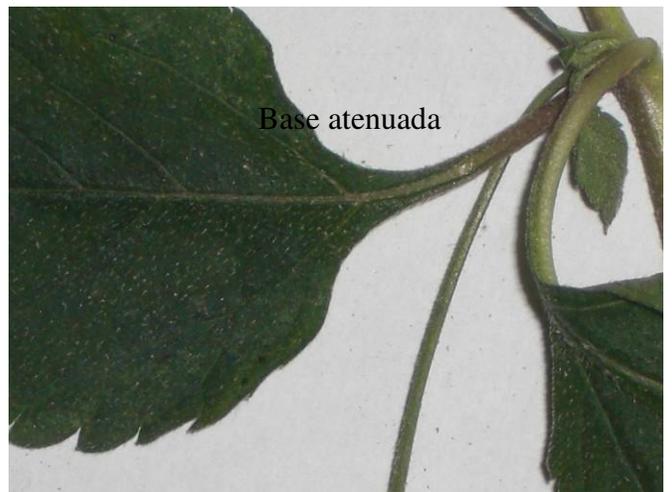


Fig. 20 Hoja de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke mostrando base y peciolo

Sin aumento



Fig. 21 Hoja de *Phyla dulcis* (Trevir.)
Moldenke mostrando margen crenado y
dentado
Sin aumento



Fig. 22 Hoja de *Phyla dulcis* (Trevir.)
Moldenke mostrando largo del peciolo
Sin aumento

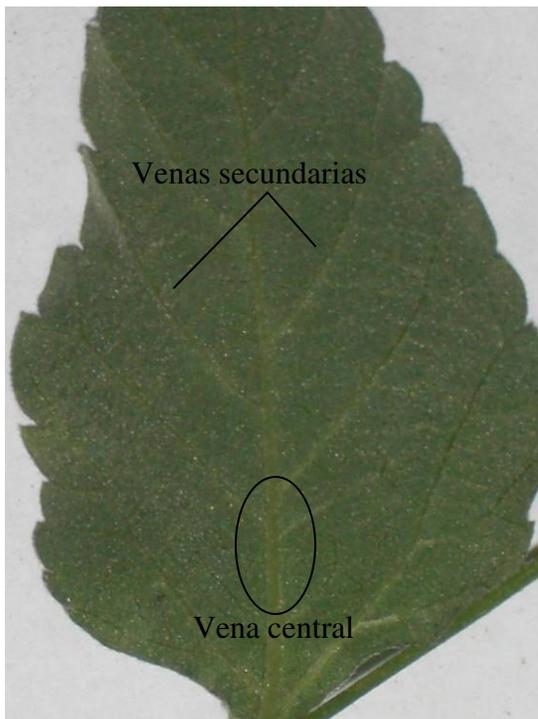


Fig. 23 Hoja de *Phyla dulcis* (Trevir.)
Moldenke mostrando nervadura
Sin aumento

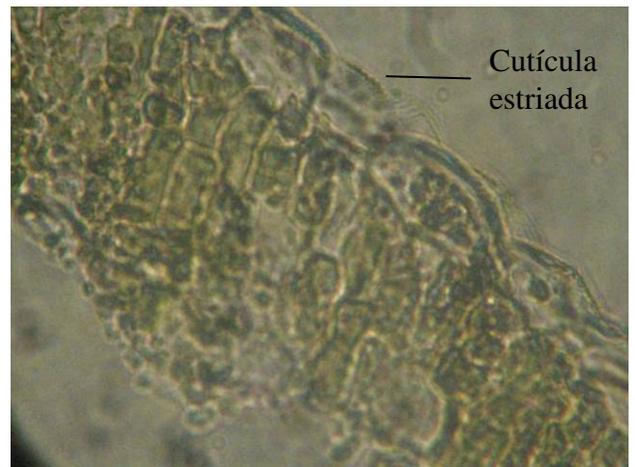


Fig. 24 Corte transversal de hoja de *Phyla dulcis* (Trevir.)
Moldenke mostrando
cutícula rugosa
Aumento: 400x

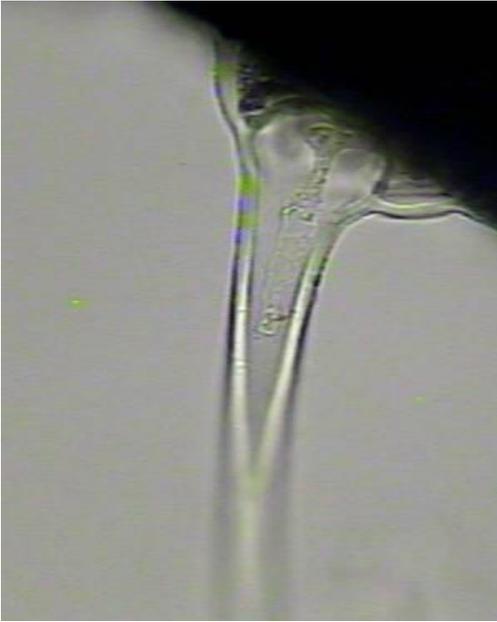


Fig. 25 Tricoma tector de *Phylla dulcis* (Trevir.) Moldenke con cristal
Aumento: 1000x



Fig. 26 Tricoma tector de *Phylla dulcis* (Trevir.) Moldenke con cristal
Aumento: 1000x

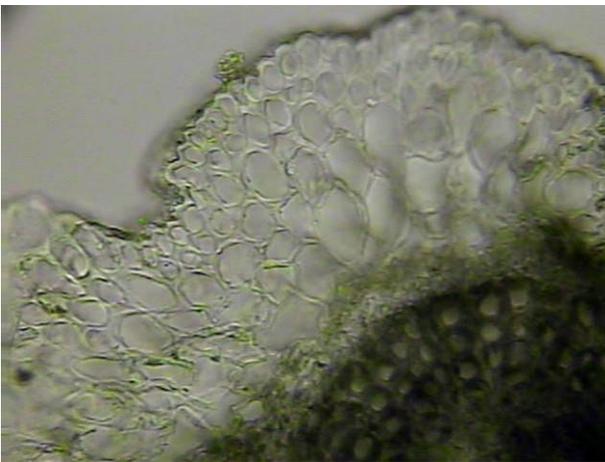


Fig. 27 Corte transversal de vena central de hoja de *Phylla dulcis* (Trevir.) Moldenk
Aumento: 400x

10.4 Propuesta de descripción anatómica de la droga cruda

10.4.1 Características organolépticas para identificar la droga cruda

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

10.4.2 Caracteres macroscópicos para identificar la droga cruda

Las hojas desecadas listas para su uso son quebradizas, se encuentran enteras, son delgadas y de aspecto papiráceo (ver Fig. 17). Las hojas enteras jóvenes son ovadas (ver Fig. 18 y A). 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 (ver Fig. 19 y A), la base atenuada (ver Fig. 20 y A) y el margen crenado cada lóbulo está más o menos dentado (ver Fig. 21 y A). No posee puntos de transparencia y el pecíolo es de tipo alado. Las hojas poseen un pecíolo largo (ver Fig. 22). 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 (ver Fig. 23 y A)

10.4.3 Caracteres microscópicos para identificar la droga cruda

La epidermis tanto del haz como del envés de la hoja es simple y uniestratificada. En corte transversal se debe de observar de la manera siguiente: las células de la epidermis del haz son de forma redonda y las del envés son más pequeñas, uniformes se encuentran dispuestas de manera horizontal (Fig. 9, B2 y B5). La epidermis del haz posee una cutícula gruesa y estriada (Fig. 24 y B1). En vista superficial, las células del haz son rectangulares, con paredes no tan sinuadas (Fig. 10 y E). Las células de la epidermis del envés son células rectangulares con paredes altamente onduladas (Fig.11 y D). La hoja es anfiestomática con un mayor índice de estomas en el envés que en el haz. El índice promedio del envés es de 23.3 con un rango que puede ir desde 20.15 hasta 27.18 y una moda de 23.43. El del haz es de 13.71 con un rango desde 10.15 hasta 17.35 con una moda de 13.12. Los estomas son en su mayoría anisocíticos (tres células subsidiarias, una de menor tamaño que las otras dos) (Fig.1 y J) pero pueden presentarse con menor frecuencia de tipo diacítico (Fig. L) y paracítico (Fig. 2 y K). En el haz, los tricomas son en su mayoría tectores, aunque pueden ser también de tipo glandulares (Fig.3, C1 y C2). En

el envés, la mayoría de tricomas son glandulares, aunque también se presentan tectores. Los tricomas tectores son de dos tipos: el primer tipo es unicelular simple con base en roseta (Fig. 4 y F) y el segundo tipo es pluricelular (dos células por lo general) con base simple (cuatro células epidérmicas normales) (Fig. 5 y G). Algunos tricomas pueden contener cristales (cistolitos) en su interior (Fig. 25, 26 y M). Los tricomas glandulares son de base muy corta, capitados (con forma de cabeza) y globosos (Fig. 3), unicelulares (Fig. 6 e I2) o formado por dos células (Fig. 7 e I2), una a la par de la otra y pueden presentarse de diferentes tamaños (Fig. 8, H1 y H2).

La constitución del mesófilo es homogénea. Posee dos capas de parénquima en empalizada seguida por el parénquima esponjoso. El parénquima en empalizada suele tener células alargadas verticalmente, de forma rectangular y en general de 4 a 5 veces más largas que anchas (Fig. 9, 12 y B3). Estas células se encuentran dispuestas una a la par de la otra, muy juntas, formando una sección compacta y homogénea por debajo de la epidermis del haz. El parénquima esponjoso suele presentar células redondas, grandes y con menor cantidad de cloroplastos (Fig. 9, 12 y B4).

En la región de la vena central la epidermis es uniestratificada con tricomas tanto tectores como glandulares. Bajo la epidermis se encuentra una capa gruesa de parénquima con células redondeadas, grandes, rodeando al haz vascular de tipo colateral (Fig. 13 y 27).

En el corte transversal de pecíolo se puede observar una epidermis uniestratificada con tricomas tectores y glandulares (Fig. N1, O1 y O3), al igual que el resto del limbo (Fig. 14). Por debajo de la epidermis se puede observar una sección de colénquima lagunar de 2-4 capas (Fig. N2 y O2) y por debajo de éste se observa una capa gruesa de parénquima con las mismas características que las de la vena central (Fig. 15, N3 y O4). Los haces vasculares del pecíolo son colaterales (Fig. O5 y O6) y siempre hay uno principal y pueden haber uno o dos secundarios, en la región del ala del pecíolo (Fig. 16).

10.5 Propuesta de Micrografía de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke

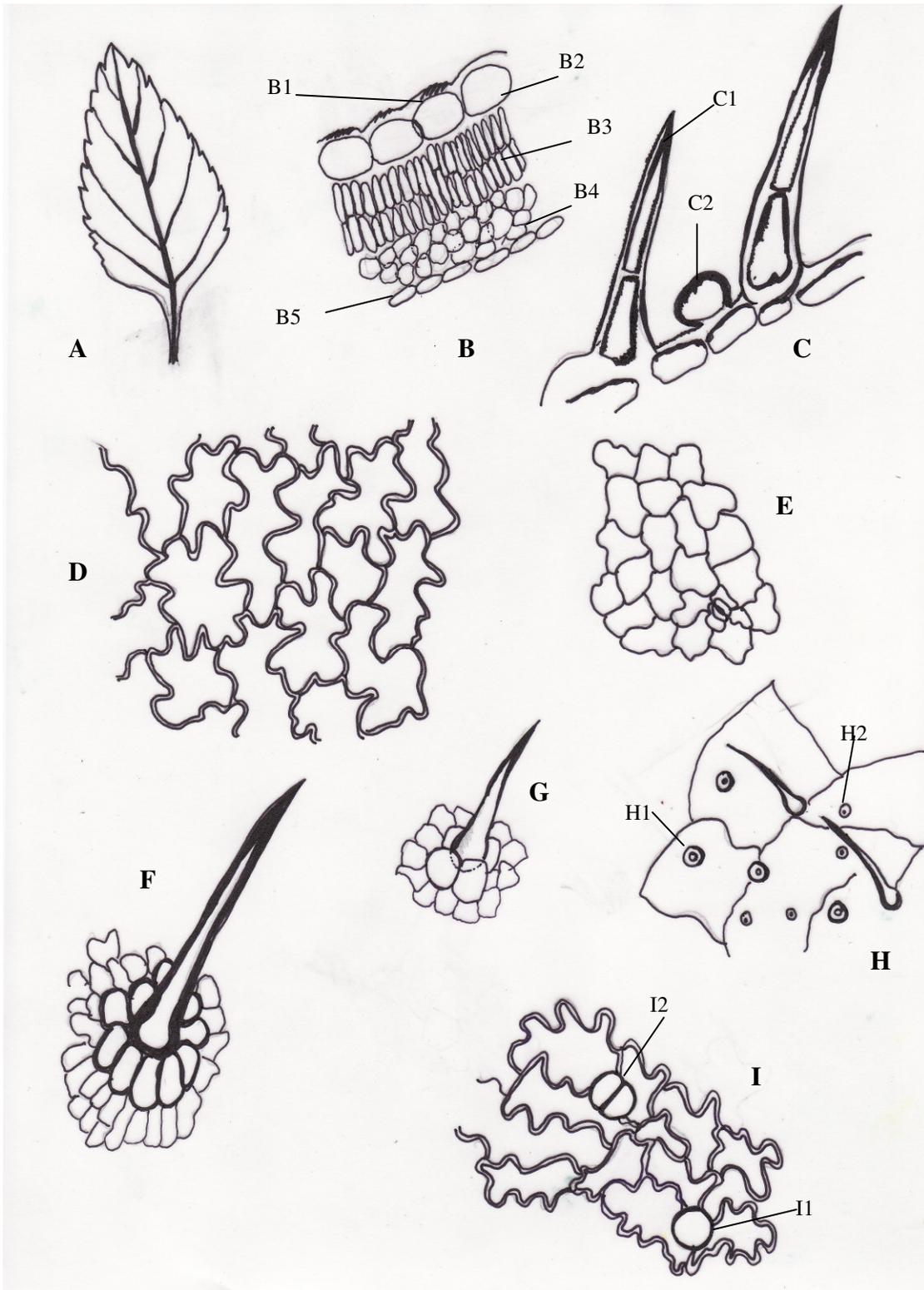


Fig. A. Lámina de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke. **Fig. B.** Corte transversal de hoja B1. Cutícula estriada B2. Epidermis del haz B3. Parénquima en empalizada B4. Parénquima esponjoso B5. Epidermis del envés **Fig. C.** tricomas C1. Tricoma tector C2. Tricoma glandular **Fig. D.** Epidermis del envés **Fig. E.** Epidermis del haz **Fig. F.** Tricoma con base de roseta **Fig. G.** Tricoma con base simple **H.** Diafanizado de hoja H1. Tricoma grande H2. Tricoma pequeño **Fig. I.** Epidermis del envés I1 Tricoma unicelular I2 Tricoma pluricelular

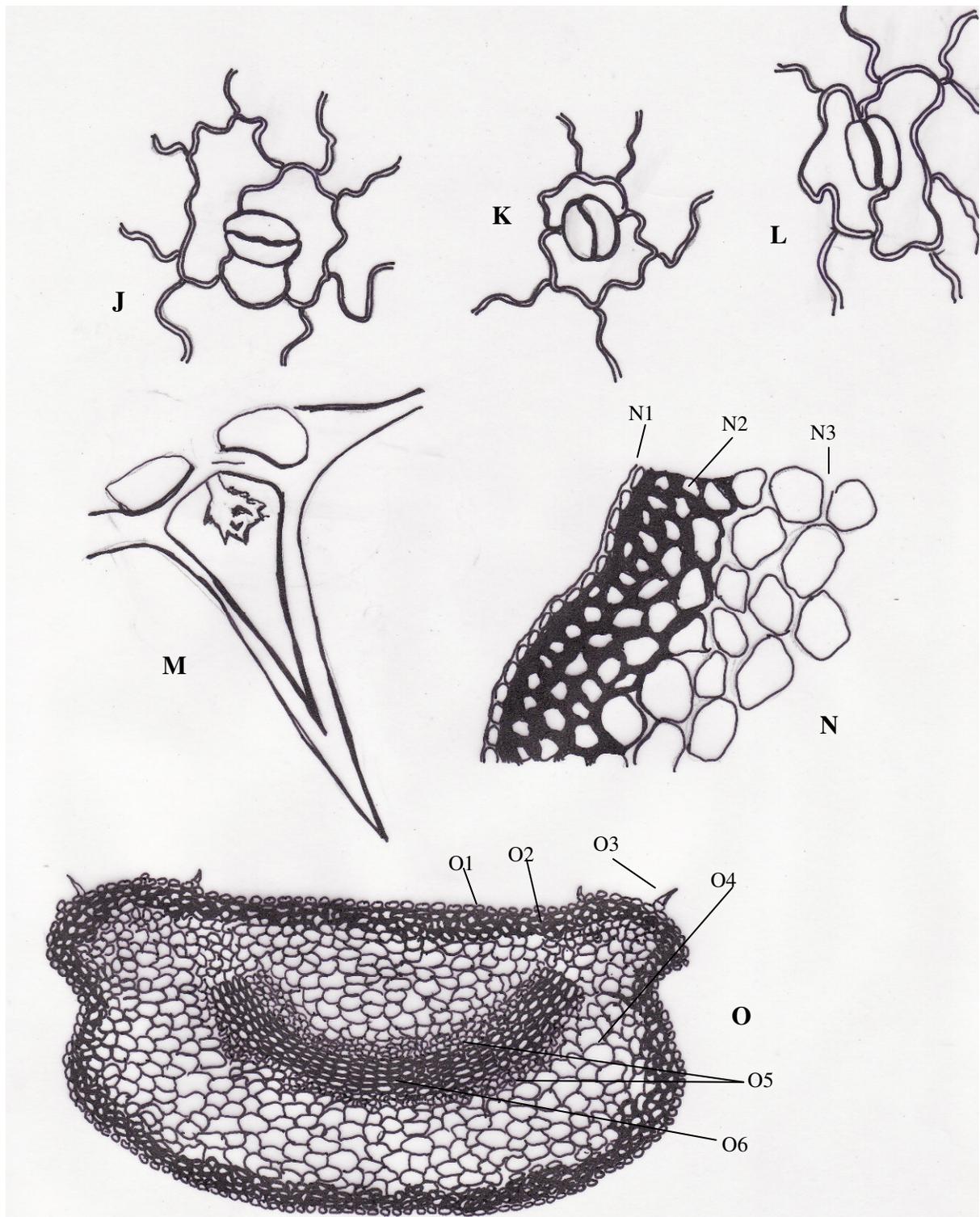


Fig. J. Estoma anisocítico **Fig. K.** Estoma diacítico **Fig. L.** Estoma paracítico **Fig. M.** Cistolito en tricoma tector **Fig. N.** Corte transversal de peciolo N1. Epidermis N2. Colénquima lagunar N3. Parénquima de almacenamiento **Fig. O.** Corte transversal de peciolo O1. Epidermis O2. Tricoma en peidermis O3. Coléquima lagunar O4. Parénquima de almacenamiento O5. Floema O6. Xilema

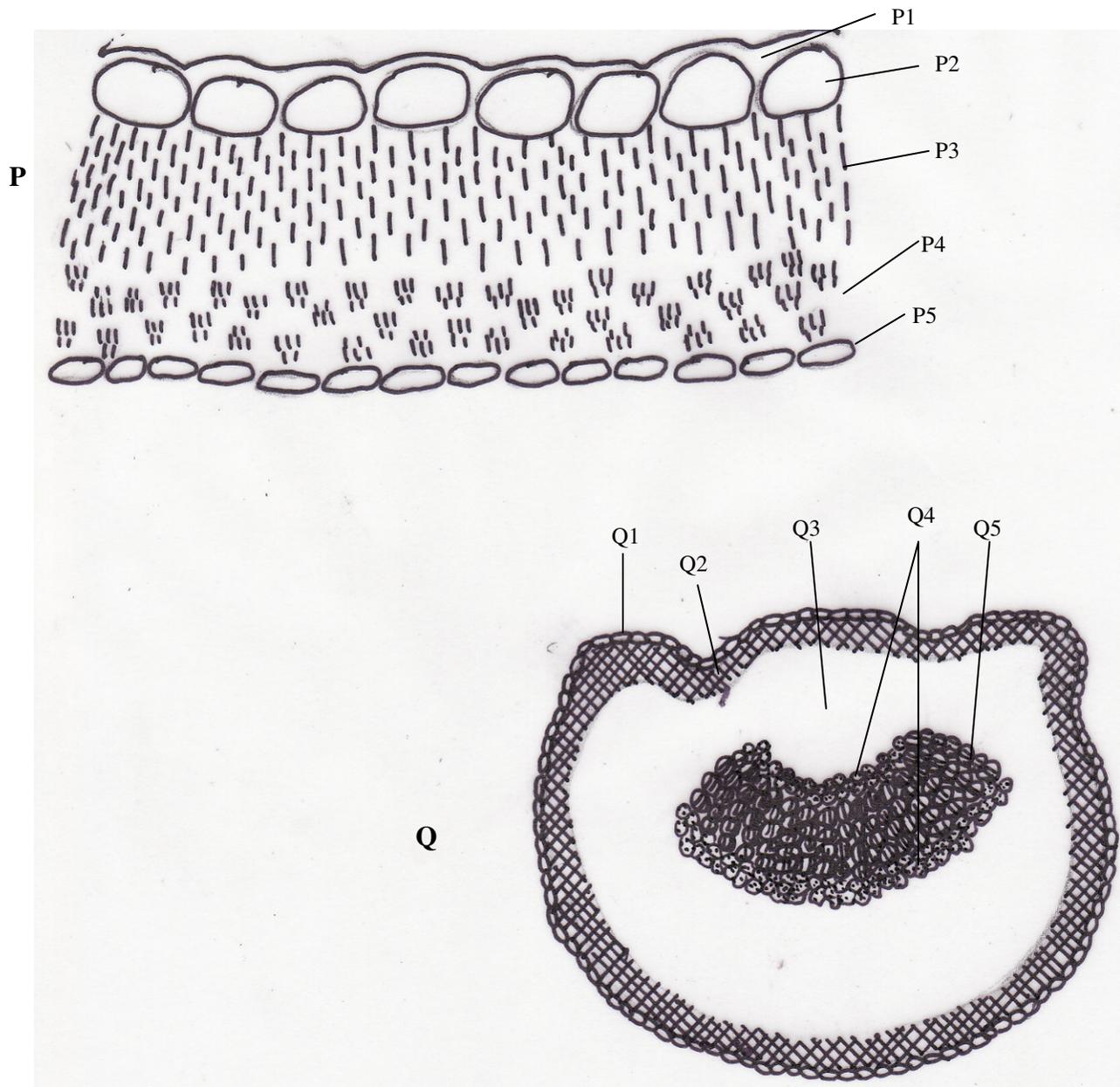


Fig. P. Corte transversal de hoja de *Phyllanthus dulcis* (Trevir.) Moldenke (esquema según Metcalfe y Chalk) P1. Cutícula P2. Epidermis del haz P3. Parénquima en empalizada P4. Parénquima esponjoso P5. Epidermis del envés **Fig. Q.** Corte transversal de peciolo de *Phyllanthus dulcis* (Trevir.) Moldenke Q1. Epidermis Q2. Parénquima de almacenamiento Q3. Flema Q.4 Xilema

11. DISCUSIÓN

Los datos obtenidos en el estudio comparativo de caracteres anatómicos de la droga cruda de *Phyllanthus dulcis* (Trevir.) Moldenke, mostraron una alta similitud entre individuos. Dichos datos no permitieron realizar una separación de las poblaciones estudiadas ya que las variables estudiadas fueron bastante homogéneas en todos los individuos. Con esto se puede decir que las variables tomadas así como el número de individuos estudiados no lograron marcar diferencias a nivel poblacional. Probablemente la altura no sea una variable que influya en la anatomía tanto macro como microscópica de dicha planta. Las variaciones observadas tanto a nivel de número de capas de colénquima del pecíolo así como número de haces vasculares del pecíolo fueron mínimas, es decir, se presentaron de 2 a 4 capas de colénquima y siempre se presentó un haz vascular principal que puede ir o no acompañado de uno o dos haces secundarios. Estas variaciones no permiten realizar una separación interpoblacional, más bien, estas variaciones son a nivel de individuo. Un factor que podría determinar el número de capas de pecíolo es el tamaño de la hoja. Si una hoja es muy grande, es necesario que el pecíolo desarrolle más capas de colénquima ya que es un tejido que le da rigidez a la planta, así que dicha planta, si es grande, necesita tejidos que le ayuden a mantenerse erguida. Del mismo modo, si la hoja es grande, es necesario que hayan haces vasculares alternos que ayuden al intercambio de agua y nutrientes entre la hoja y el resto de tejidos vegetales. Esto podría explicar dichas variaciones. Cabe mencionar que el tamaño o edad de la hoja colectada no fue una variable tomada en este estudio lo que pudo causar dichas variaciones.

En un estudio publicado por Cáceres, A (2006) sobre monografías de la región, se presenta una propuesta de descripción anatómica de *Phyllanthus dulcis* realizada en México, por el Instituto Mexicano de Seguridad Social (IMSS). Al realizar una comparación con los datos obtenidos, se puede llegar a concluir lo siguiente:

La forma básica así como los caracteres macroscópicos son muy parecidos entre ambas descripciones. En cuanto a la descripción microscópica, el estudio publicado por Cáceres reporta cutícula rugosa en ambas caras de la lámina. En el presente estudio se reporta que la cutícula es de tipo estriada y solo se presenta de este modo en la cara adaxial. Además el estudio reporta estomas de tipo anisocítico, anomocítico, paracítico, diacítico y tetracítico. En el presente estudio

se observaron en la gran mayoría estomas anisocíticos y algunos diacíticos y paracíticos, eliminando de dichas poblaciones los de tipo anomocítico y tetracítico. El mismo estudio publicado por Cáceres menciona que la lámina de la hoja puede presentar dos tipos de estructuras secretoras: el primero tipo son tricomas glandulares, uni o pluricelulares, que si coinciden con la presente descripción, y el segundo tipo describe unas glándulas formadas por un complejo de células secretoras e ideoblastos en la epidermis y subepidermis. Con el presente estudio no se pudo afirmar la presencia de dichas estructuras, más bien, se consideran como tricomas en crecimiento ya que los ideoblastos que ellos describen son células buliformes encargadas de enrollar las hojas en gramíneas. Esto no coincide con el tipo de planta trabajada ya que se trata de una Verbenaceae. Por otro lado, cabe mencionar que en ambos estudios se menciona la presencia de cristales, siendo éstos en el trabajo publicado por Cáceres de oxalato de calcio y oxalato de magnesio, mientras que en el presente estudio no se pudo determinar la naturaleza de dichos cristales ya que no se realizaron pruebas de tipo histoquímico. El resto de las descripciones coinciden favorablemente ya que ambos estudios mencionan la presencia de epidermis uniestratificada, con los mismos tipos de estomas, dos capas de parénquima en empalizada seguida de parénquima esponjoso, vena central con haces colaterales y peciolo con colénquima lagunar de varias células de espesor. Además cabe mencionar que se observaron cistolitos dentro de algunos tricomas tectores. Con esto se puede concluir que este tipo de características son continuas entre individuos de esta especie y por lo tanto, son caracteres diagnósticos de la droga cruda.

En cuanto a las características macroscópicas organolépticas se pudo observar que los individuos no presentaron diferencias observadas a nivel macroscópico. Todos contaron con el mismo color, olor, sabor, forma, textura y tipo de nervadura. Esto permite aseverar que, para fines farmacognósticos, a nivel macroscópico, las poblaciones estudiadas son iguales. Con esto, la descripción de la droga cruda en este estudio puede servir como estándar de calidad de la especie.

Si se comparan las características observadas con la descripción botánica de la especie, según la Flora de Nicaragua, que es el libro más aceptado para dichas descripciones, se puede decir que las hojas colectadas en las poblaciones del CEDA (Centro Experimental Docente de Agronomía,

FAUSAC, USAC), Guatemala; El Chico, Usumatlán, Zacapa y Platanares, Güasacapán, Santa Rosa fueron más pequeñas que las reportadas por la literatura, ya que en el presente estudio las hojas midieron 1-5 cm de largo y 0.5-3 de ancho y la literatura reporta hojas ovadas (lanceoladas), 3-7 cm de largo y 1.5-4 cm de ancho. En cuanto al tipo de ápice (agudo), margen (crenado) y presencia de tricomas, dichas descripciones si coinciden con la literatura.

Para la realización de la cartilla micrográfica se tomaron en cuenta todos los parámetros evaluados en dicho estudio. Esta consideración es de vital importancia para disminuir al máximo el riesgo de confusión a la hora de contar con dichas descripciones para identificar drogas crudas de la especie en laboratorios fitofarmacéuticos en la sección de control de calidad.

Es importante mencionar las limitaciones del presente estudio. La primera fue el corto tiempo para realizarlo, lo que disminuyó así la cantidad de poblaciones para realizar el estudio, lo que presenta una desventaja ya que al aumentar tanto el número de muestra como el número de poblaciones, disminuiría más el riesgo de error. Otro problema que se presentó durante el estudio fue la falta de material biológico. Se realizaron varios viajes de colecta a distintos puntos del país donde se reportaba la presencia de la planta pero lamentablemente esta no se encontraba. Esto surgió sobre todo en el área de boca costa, específicamente en Escuintla, donde la frontera agrícola ha migrado de tal modo que no ha dejado remanentes boscosos donde pueda encontrarse dicha planta. Además, probablemente en esta región el uso popular medicinal de esta planta no sea tan amplio ya que si fuera así, la gente contaría con macetas o jardines familiares que contarán con muestras de la especie. Otra limitante encontrada fue la ausencia de equipo especializado para histología como un micrótopo, lo que facilitaría de gran modo la realización de cortes histológicos de los diferentes órganos, aumentando así el número de láminas útiles para su posterior descripción, y por último, que no se pudo tener a la disposición el micrómetro ocular y objetivo para realizar las mediciones en micras de los tricomas, variante que muchas veces podría ser de gran utilidad para las características diagnósticas de la droga cruda.

12. CONCLUSIONES

1. La hoja de *Phylla dulcis* (Trevir.) Moldenke. es anfiestomática.
2. El tipo de estoma predominante en la hoja es el de tipo anisocítico.
3. La epidermis es uniestratificada con cutícula estriada, de paredes un poco onduladas en el haz y altamente sinuadas en el envés.
4. Los tricomas que abundan en el haz son tectores unicelulares y pluricelulares atenuados con base en roseta o base simple.
5. Los tricomas que abundan en el envés son de tipo glandular, capitados, globosos, uni o pluricelulares.
6. El mesófilo está formado de dos capas de perénquima en empalizada diferenciado del parénquima esponjoso.
7. El colénquima del pecíolo es de tipo lagunar.
8. Los haces vasculares son de tipo colateral.
9. Las características organolépticas más relevantes de la droga cruda de la especie son su sabor muy dulce y olor aromático.
10. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a caracteres microscópicos entre las tres poblaciones estudiadas.
11. La variable altitudinal no influye en variaciones anatómicas.
12. Todas las variables estudiadas a nivel microscópico fueron tomadas en cuenta para la elaboración de la cartilla micrográfica.

13. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar estudios con un número mayor de poblaciones así como de muestras para cualquier especie que se desee estudiar a nivel microscópico y así poder realizar estudios paramétricos que puedan confirmar los datos generados en el presente estudio.

Contar con equipo especializado en histología vegetal como micrótomo y micrómetros objetivos así como tubos de dibujo para disminuir el tiempo de trabajo y así aumentar la efectividad y precisión del estudio.

2. Realizar estudios histoquímicos para evaluar la presencia/ausencia de algunos metabolitos secundarios clave para identificación y control de calidad de la droga cruda.
3. Realizar comparaciones entre muestras de diferentes países ya que parece haber variaciones químicas que podrían sugerir variaciones anatómicas de la especie.

14. REFERENCIAS

- Cáceres, A *et al.* 1990. Plants Used in Guatemala for The Treatment of Gastrointestinal Disorders: I. Screening of 84 Plants Against Enterobacteria. *Journal of Ethnopharmacology*. 30: 55-73.
- Cáceres, A *et al.* 1991. Plants Used in Guatemala for The Treatment of Respiratory Diseases: 1. Screening of 64 Plants Against Gram Positive Bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*. 31: 193-208.
- Cáceres, A *et al.* 1993. Plants Used in Guatemala for The Treatment of Respiratory Diseases: 2. Evaluation of Activity of 16 Plants Against Gram Positive Bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*. 39: 77-82.
- Cáceres, A; Girón, L; Martínez, A. 1987. Diuretic Activity of Plants Used for Treatment of Urinary Ailments in Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology*. 19: 233-245.
- Cáceres, A. 1999. Plantas de Uso Medicinal en Guatemala. Eds. L. Girón y A. Cáceres. Guatemala, GT, Editorial Universitaria. 402 p.
- Cáceres, A Ed. 2006. Propuesta de Monografías Farmacopeicas de 10 Plantas Medicinales Centroamericanas. OEA-AID (Organización de Estados Americanos OEA; Agencia Interamericana de Cooperación para el Desarrollo AICD). Guatemala, GT. 88 p.
- Compadre, C *et al.* 1985. Hernandulcin : An Intensely Sweet Compound Discovered by Review of Ancient Literature. *Science*. 227: 417-419.
- Fernández M. 2006. Introducción del programa a la asignatura de Farmacognosia. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Navarra, ES. Disponible en: <http://www.unav.es/farmytec/farmacognosia/default.html>.
- Flores, E. 1999. La Planta. Cartago, CR. Editorial Libro Universitario Regional (LUR). 884 p.
- Gattuso, M; Gattuso SJ. 1999. Manual de Procedimientos para el Análisis de Drogas en Polvo. AR. UNR Editora. s.p.
- Gianoli, E. 2004. Plasticidad Fenotípica en Plantas: Fisiología Ecológica en Plantas, Mecanismos y Respuestas a Estrés en los Ecosistema.CL. (p13-25).
- Görnemann, T *et al.* 2008. Antispasmodic Activity of Essential Oil from *Lippia dulcis* Trev. *Journal of Ethnopharmacology*. 117: 166–169

- Granados, N. 2007. Establecimiento de los patrones de identidad farmacognóstica de *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. ex Cass a partir de las características anatómicas de seis poblaciones silvestres. Tesis Lic. Guatemala, GT, USAC. Escuela de Biología. 85 p.
- ICTA (Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola) 1993. Desarrollo Agrotecnológico de Especies de Plantas Medicinales Silvestres con Potencial Industrial. Informe anual de Resultados. Guatemala, Chimaltenango, GT. s.p.
- Moreno, N. 1984. Glosario Botánico Ilustrado. Compañía Nacional Continental, S.A de C.V. México DF, MX. 299 p.
- Morton, JF. 1981. Atlas of Medicinal Plants of Middle America. Charles C Thomas Publisher. Springfield, EEUU.
- Solís, PN *et al.* 2005. Manual de Caracterización y Análisis de Drogas Vegetales y Productos Fitoterápicos. OEA/AICD/AE 089/03: Proyecto Desarrollo y Tecnología de Cultivo de Plantas Medicinales y Producción de Fitofármacos. 132p.
- Soler, BA, I. 2005. Farmacognosia. Documento de apoyo para el curso de Farmacognosia de la Maestría Multidisciplinaria en Uso y Producción de Plantas Medicinales MUPLAM de la Universidad de San Carlos de Guatemala USAC. Guatemala, GT. 6p
- Soler, BA, II. 2005. Monografías sobre Plantas. Documento de apoyo para el curso de Farmacognosia de la Maestría Multidisciplinaria en Uso y Producción de Plantas Medicinales MUPLAM de la Universidad de San Carlos de Guatemala USAC. Guatemala, GT. 6p
- Souto-Bachiller, FA, *et al.* 1997. Terpenoid Composition of *Lippia dulcis*. Phytochemistry. Vol. 44 no.6: 1077-1086.
- Williams, LO. 1981. The Useful Plants of Central America. Ceiba. 24: 3-342.

