

Dominguezia

Museo de Farmacobotánica
"Juan A. Domínguez"

Facultad de Farmacia y Bioquímica
Universidad de Buenos Aires



Ricinus communis L. (Euphorbiaceae)

Dominguezia

Vol. 31(2) - 2015

Director Responsable:

Dr. Marcelo Luis Wagner

Comisión Redactora:

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

Comisión Científica Asesora:

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

Comisión Científica Honoraria:

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

Editores Científicos:

Dr. José María Prieto-García
Dra. Catalina M. van Baren
Dr. Rafael A. Ricco

Editora Asociada:

María Cristina Ratto de Sala

Secretaría, Edición electrónica y Webmaster:

Fernando Gabriel Ranea

Edición financiada por la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires

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

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

Lámina de Tapa:
***Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae)**

Lámina extraída de *Köhler's Medizinal-Pflanzen*.

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

Registro de la Propiedad Intelectual N.º 5212613.

Se terminó de editar en diciembre de 2015.

Índice de contenido

Plantas empleadas en medicina popular en la provincia de Jujuy. Departamento Capital y alrededores	5
Raquel A. Romeo	
Análisis micrográfico y fitoquímico de muestras comerciales de “canela”	11
Roberto Souto da Rosa, Romina Numata, María Elena Marovic, Judith Montenegro, Alberto A. Gurni, Ana Rugna, Graciela Bassols	
Alteraciones anatómicas en epidermis de hojas infectadas de <i>Phoradendron bathyoryctum</i> Eichler (Viscaceae)	17
Alejandro F. Vugin, Graciela B. Bassols, Beatriz G. Varela	
Composición de los aceites esenciales de especies de <i>Verbena</i> nativas de la provincia de Buenos Aires bajo cultivo	25
Martín I. Rodríguez Morcelle, Ana Lía Rossi, Martha Gattuso, Nancy M. Apóstolo	
Fracción aislada de <i>Ricinus communis</i> L. (Euphorbiaceae) en el control del biodeterioro de documentos patrimoniales	33
José de la Paz Naranjo, Sandra Gómez de Saravia, Patricia Battistoni, María Larionova, Patricia Guiamet	

Index

Plants Used in Folk Medicine in the Province of Jujuy. Department Capital and Surroundings 5
Raquel A. Romeo

Micrographic and Phytochemical Analysis of Commercial Samples of “Cinnamon” 11
Roberto Souto da Rosa, Romina Numata, María Elena Marovic, Judith Montenegro, Alberto A. Gurni,
Ana Rugna, Graciela Bassols

**Anatomical Changes in Epidermis of Infected Leaves of *Phoradendron bathyoryctum*
Eichler (Viscaceae)** 17
Alejandro F. Vugin, Graciela B. Bassols, Beatriz G. Varela

Essential Oils Composition of Cultivated Native *Verbena* Species of Buenos Aires Province 25
Martín I. Rodríguez Morcelle, Ana Lía Rossi, Martha Gattuso, Nancy M. Apóstolo

**Isolated Fraction of *Ricinus Communis* L. in the Control of Biodeterioration
of Heritage Documents** 33
José de la Paz Naranjo, Sandra Gómez de Saravia, Patricia Battistoni, María Larionova, Patricia Guiamet

Plantas empleadas en medicina popular en la provincia de Jujuy. Departamento Capital y alrededores

Raquel A. Romeo

Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy. Alberdi 47. (4600) San Salvador de Jujuy, República Argentina.

Autor a quien dirigir la correspondencia: raquelangela2000@yahoo.com.

Compendio de tesis

Lugar y fecha de aprobación de la tesis:

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, 18 de diciembre de 2014.

Resumen

Las plantas medicinales constituyen un recurso valioso en los sistemas de salud en los países en desarrollo. En la Argentina, las provincias de Jujuy, Salta y Tucumán se destacan por presentar la mayor riqueza en plantas medicinales. Los objetivos del trabajo son conocer la flora medicinal empleada en la provincia de Jujuy, con especial referencia al departamento Capital y alrededores, y establecer parámetros para el control de calidad con el objetivo de asegurar la legitimidad de los productos comercializados al estado de droga cruda. Los materiales estudiados comprenden los ejemplares herborizados y las muestras comerciales de las especies relevadas. Para obtener la información de las plantas medicinales se emplearon técnicas cualitativas: observación directa, entrevistas abiertas y semiestructuradas. Se realizó la determinación botánica de las especies y la descripción exomorfológica de la parte usada. Para los estudios anatómicos las técnicas usadas fueron: determinación de almidones y lípidos, disociación leve para hojas, y para tallo, disociación fuerte y transcorte. La clave elaborada con los parámetros que resultaron del análisis de los caracteres anatómicos de las 21 especies relevadas, podría ser de utilidad para su identificación al realizar el control de calidad botánico. Los parámetros anatómicos relevantes fueron los tricomas y los cristales de oxalato de calcio.

Plants Used in Folk Medicine in the Province of Jujuy. Department Capital and Surroundings

Summary

Medicinal plants are valuable resources in health systems within developing countries. In Argentina, the provinces of Jujuy, Salta, and Tucumán stand out for showing the greatest richness in medicinal plants. The aims of this work are to improve the knowledge of medicinal flora used in the province of Jujuy, mainly

Palabras clave: caracteres exomorfológicos - caracteres anatómicos - clave.

Key words: exomorphological characters - anatomical characters - key.

in the capital area and surroundings, and to establish parameters for botanical quality control to ensure the legitimacy of the products sold as crude drug. The studied materials include herbarium specimens and commercial samples of the relieved species. In order to obtain the data, qualitative techniques were used: direct observation, unstructured and semi-structured interviews. Botanical identification of the species was performed, as well as the exomorphological description of the used part of the plants. The applied techniques for anatomical studies were: starch and lipids determination, slight disaggregation for leaves, and strong disaggregation and cross section for stems. The elaborate key parameters that resulted from the analysis of the anatomical characters of the 21 relieved species may be used for identification when performing botanical quality control. The most relevant anatomical features were trichomes and crystals of calcium oxalate.

Introducción

Las plantas medicinales constituyen un recurso valioso en los sistemas de salud en los países en desarrollo. En la búsqueda de estas plantas, la herramienta más importante es la información etnobotánica obtenida a partir del conocimiento tradicional sobre su uso. La Argentina, debido a su extenso territorio, presenta diversidad de suelos, climas y condiciones que hacen posible contar con un verdadero arsenal fitoterapéutico (Nájera, 1983), y se destacan las provincias de Jujuy, Salta y Tucumán por presentar la mayor riqueza en plantas medicinales (Barboza y col., 2009).

Los objetivos del trabajo son conocer la flora medicinal empleada en la provincia de Jujuy, con especial referencia al departamento Capital y alrededores, y establecer parámetros para el control de calidad, y así asegurar la legitimidad de los productos comercializados al estado de droga cruda.

Materiales y métodos

Área de estudio

La provincia de Jujuy está situada en el extremo norte de la Argentina; limita al norte con Bolivia; al oeste, por medio de la cordillera de los Andes, con Chile; al sur y este con la provincia de Salta. Tiene 672.260 habitantes (INDEC, 2010). El departamento Capital (actualmente dividido en dos departamentos: Dr. Manuel Belgrano y Palpalá) está ubicado al sur de la provincia. La ciudad de San Salvador de Jujuy, capital de la provincia, tiene 278.336 habitantes (INDEC, 2010).

Materiales

Los materiales estudiados comprenden los ejemplares herborizados y las muestras comerciales pertenecientes a: *Acacia caven* (Molina) Molina var. *caven* (Fabaceae); *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae); *Chenopodium mandonii* (S. Watson) Aellen (Chenopodiaceae); *Cuphea calophylla* Cham. & Schltld. ssp. *mesostemon* (Koehne) Lourteig (Lythraceae); *Cyclolepis genistoides* D. Don (Asteraceae); *Disphania ambrosioides* (Chenopodiaceae); *Geoffroea decorticans* (Gillies ex Hook & Arn.) Burkart (Fabaceae); *Heliotropium curassavicum* L. var. *argentinum* I.M. Johnston. (Boraginaceae); *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek. (Cervantesiaceae); *Leonurus japonicus* Houtt. (Lamiaceae); *Myrcianthes pungens* (O.Berg.) D. Legrand Myrtaceae; *Myrcianthes pseudomato* (D. Legrand) McVaugh (Myrtaceae); *Ocyroe armata* (Wedd.) Bonifacino (Asteraceae); *Prosopis ruscifolia* Griseb. (Fabaceae); *Schinus areira* L. (Anacardiaceae); *Solanum palitans* C. V. Morton (Solanaceae); *Sphaeralcea bonariensis* (Cav.) Gr. (Malvaceae); *Tagetes minuta* L. (Asteraceae); *Tessaria absinthioides* (Hook. & Arn.) DC. (Asteraceae); *Vassobia breviflora* (Sendt.) Hunz. (Solanaceae); *Zanthoxylum coco* Gillies ex Hook. f. & Arn. (Rutaceae).

Los ejemplares coleccionados se encuentran depositados en el Museo de Farmacobotánica "Juan A. Domínguez" de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, de la Universidad de Buenos Aires. Las muestras comerciales se depositaron en el Muestrario de Plantas Medicinales de la Cátedra de Botánica Sistemática y Fitogeografía de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy (M-CBSF).

Métodos

Se realizó el relevamiento de las especies y se adquirieron los productos expendidos en los mercados y ferias regionales. Los ejemplares coleccionados se prepararon para el herbario y se realizó la determinación botánica de las especies empleando claves y bibliografía adecuada, y se efectuó la actualización de sus nombres botánicos.

Para la obtención de la información respecto a las especies relevadas se emplearon técnicas cualitativas: observación directa, y entrevistas abiertas y semiestructuradas a vendedores callejeros, de herboristerías, ferias y mercados, informantes calificados y farmacias.

Para los estudios anatómicos se emplearon las siguientes técnicas: determinación de almidones (con solución de Lugol) y de lípidos (con solución saturada alcohólica de Sudán III). Para las hojas: disociación leve (D'Ambrogio de Argüeso, 1986; Normas IRAM, 1993). Para el tallo: disociación fuerte según el Método de Boodle (D'Ambrogio de Argüeso, 1986; Normas IRAM, 1993) y transcorte de tallo.

Resultados y discusión

De la aplicación de las técnicas cualitativas se obtuvo información de 148 plantas que integran la flora medicinal de Jujuy, de las que se seleccionaron 21 especies para realizar el análisis exomorfológico y anatómico. Para esta selección se tuvo en cuenta el hecho de ser, en algunos casos, especies medicinales poco conocidas y en otros, por presentar usos aún no citados. Los parámetros obtenidos del análisis realizado se emplearon para la elaboración de la clave que se expone a continuación.

Clave según caracteres anatómicos

- A. Hojas, tallos.
- B. Hojas.
- C. Cristales presentes.
- D. Arenas cristalinas presentes. Pelos eglandulares pluricelulares falciformes.
- E. Pelos glandulares con pie corto pluricelular y cabeza grande piriforme.
- 10. *Disphania ambrosioides***
- EE. Pelos glandulares ausentes.
- 9. *Chenopodium mandonii***

DD. Arenas cristalinas ausentes. Pelos eglandulares con otros caracteres.

E. Rosetas presentes, acompañadas por drusas, cristales simples romboidales pequeños. Aparato estomático paracítico.

8. *Jodina rhombifolia*

EE. Rosetas ausentes. Drusas y cristales con otros caracteres. Aparato estomático nunca paracítico.

F. Drusas y cristales prismáticos presentes.

G. Pelos glandulares peltados. Presencia de cavidades secretoras.

19. *Zanthophyllum coco*

GG- Pelos glandulares y cavidades secretoras ausentes.

13. *Prosopis ruscifolia*

FF. Solo drusas presentes.

G. Aparato estomático ciclocítico. Epidermis foliar sin pelos eglandulares ni glandulares.

1. *Schinus areira*

GG. Aparato estomático anomocítico. Epidermis foliar con pelos eglandulares.

H. Pelos eglandulares no ramificados bice-lulares y tetracelulares. Pelos glandulares ausentes.

15. *Cuphea calophylla ssp. mesostemon*

HH. Pelos eglandulares ramificados pluri-celulares y pelos glandulares con pie corto y cabeza pluricelular.

21. *Vassobia breviflora*

CC. Cristales ausentes.

D. Cavidades secretoras esquizolisígenas presentes.

E. Pelos eglandulares simples unicelulares.

17. *Myrcianthes pungens*

EE. Pelos eglandulares simples unicelulares ausentes.

18. *Myrcianthes pseudomato*

DD. Cavidades secretoras esquizolisígenas ausentes.

E. Epidermis foliar con pelos eglandulares o glandulares solamente.

F. Pelos eglandulares.

G. Pelos eglandulares pluricelulares falcados con célula apical en punta.

6. *Tessaria absinthioides*

GG. Pelos eglandulares pluricelulares simples nunca falcados.

2. *Ageratum conyzoides*

FF. Pelos glandulares.

G. Pelos glandulares capitados uniseriados y biseriados.

5. *Tagetes minuta*

GG. Pelos glandulares con otros caracteres.

H. Pelos glandulares con pie muy corto tritelular y amplia cabeza secretora.

**7. *Heliotropium curassavicum* L.
var. *argentinum***

HH. Pelos glandulares con pie unicelular y cabeza pluritelular.

20. *Solanum palitans*

EE. Epidermis foliar con pelos eglandulares y glandulares.

F. Pelos eglandulares largos y flexuosos.

4. *Ocyroe armata*

FF. Pelos eglandulares con otros caracteres.

G. Pelos eglandulares no ramificados, bicelulares y tritelulares, algunos curvados.

14. *Leonurus sibiricus*

GG. Pelos eglandulares ramificados, estrellados.

16. *Sphaeralcea bonariensis*

BB. Tallos.

C. Granos de almidón ausentes. Esclereidas de diferentes formas. Miembros de vaso helicoidales con cola corta. Fibras largas.

3. *Cyclolepis genistoides*

CC. Granos de almidón presentes. Corteza. Braquiesclereidas. Miembros de vaso ausentes. Fibras cristalíferas largas.

11. *Acacia caven* var. *caven*

AA. Flores, flores y frutos

B. Flores.

C. Piezas florales glabras.

16. *Sphaeralcea bonariensis*

CC. Piezas florales pubescentes.

D. Pelos eglandulares largos ornamentados, unicelulares, bicelulares y setosos.

15. *Cuphea calophylla* ssp. *mesostemon*

DD. Sin pelos eglandulares largos ornamentados.

12. *Geoffroea decorticans*

BB. Flores y frutos.

C. Pelos glandulares vermiformes; pelos glandulares con cabeza grande y pie corto.

10. *Disphania ambrosioides*

CC. Pelos glandulares con pie corto ensanchado y cabeza globosa grande. Pelos glandulares con pie pluritelular largo y cabeza chica y pelos

glandulares con pie pluritelular y cabeza globosa grande.

9. *Chenopodium mandonii*

Estudio morfoanatómico de las especies seleccionadas

De las 21 especies estudiadas se describen, a modo de ejemplo, *Cyclolepis genistoides* D. Don y *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek. Para su selección se tuvieron en cuenta los caracteres anatómicos que las representan, como la presencia de esclereidas en sus variadas formas y miembros de vasos helicoidales con colas cortas en sus extremos para la primera, y de drusas y rosetas en la segunda especie citada.

***Cyclolepis genistoides* D. Don**

Perteneciente a la familia Asteraceae es conocida como "palo azul". Sinonimia: *Gochnatia genistoides* (D. Don.) Hook. & Arn. Distribución: Paraguay y Argentina (Salta, Tucumán; Catamarca, La Rioja, San Juan, Córdoba, Santa Fe, Buenos Aires, La Pampa, San Luis, Mendoza, Neuquén, Río Negro).

Caracteres exomorfológicos

Arbusto hasta de 2,5 m de altura. Ramas rígidas, costadas, tomentosas, algo espinescentes. Hojas oblongo-lanceoladas, cubiertas de pelos malpigiáceos incoloros, caedizas. Capítulos cortamente pedicelados. Involucro con filarias glabras. Flores amarillas, isomorfas; en plantas hermafroditas con corola tubulosa, y en plantas femeninas con corola tubuloso-filiforme. Papus amarillento (Cabrera, 1978).

Usos

La parte aérea se emplea como diurético, antirreumático, antitusivo, para el tratamiento de cólicos renales y hepáticos (Barboza y col., 2009); la madera se emplea para el tratamiento de afecciones hepáticas (Zardini, 1984).

Caracteres anatómicos

El disociado fuerte de tallo permitió observar esclereidas de diferentes formas. Fibras largas.

Miembros de vasos helicoidales, colas cortas en sus extremos.

Súber

El transcorte de tallo permitió observar las siguientes características: sección de contorno circular levemente sinuoso debido a la presencia de costillas poco conspicuas. En las costillas presenta una capa de células epidérmicas. En la subepidermis aparecen grupos de células de tipo parenquimático incoloras muy notorias, que limitan hacia el interior del corte con grupos de contorno casi circular de fibras muy numerosas. Por debajo de esas fibras aparecen algunas células parenquimáticas similares a las que se observan en la región subepidérmica. Luego aparecen los tejidos conductores: el floema hacia la epidermis, formado por células pequeñas y por debajo, el xilema, constituido en su mayor parte por fibras. Si se compara con las fibras, se observan escasos elementos conductores. La médula está constituida por células de paredes engrosadas, con punteaduras. En los espacios intercostales aparece por debajo de la epidermis, un parénquima (aparentemente colorofílico, con gran contenido celular) y por debajo de este parénquima, los tejidos conductores, como en las costillas. Por encima del floema se pueden observar pequeños grupos de fibras aislados. No presenta almidón según el resultado de las pruebas histoquímicas realizadas.

Jodina rhombifolia (Hook. & Arn.) Reissek

Pertenece a la familia Cervantesiaceae (antes Santalaceae) es conocida como “sombra de toro”, “quirilín”, “peje”, Sinonimia: *Jodina ruscifolia* Hook. & Arn. Distribución: Brasil, Paraguay, Uruguay y Argentina (Jujuy, Salta, Tucumán, Catamarca, Santiago del Estero, Córdoba, La Pampa, San Juan, Mendoza, Río Negro, San Luis, Santa Fe, Buenos Aires, Chaco, Corrientes, Entre Ríos).

Caracteres exomorfológicos

Árbol perennifolio de hasta 5 m de altura, ramoso. Hemiparásito de raíces de tala (*Celtis sp.*), endémico de América del Sur. Hojas simples, verde oscuro brillante, láminas rómbicas, coriáceas, con nervio central notorio prolongado en fuerte espina

y espinas de menor tamaño en cada uno de los 2 vértices restantes (Zapater, 1993). Inflorescencia en cimas axilares. Flores pequeñas, con perigonio sepaloide de color verdoso-amarillento. Fruto drupáceo de color rojo, con pseudocarpio rugoso, dividido en cinco sesiones caedizas a la madurez (Zapater, 1993).

Usos

Las hojas se usan como antidiarreico, antidisentérico, antiinflamatorio de vías respiratorias, abortivo, hipotensivo, dolores articulares y musculares y digestivo (Barboza y col., 2009; Del Vitto y col., 1997; Lahitte y col., 1998; Carrizo y col., 2002; Chiffa y Ricciardi, 2004). En Jujuy se registró el uso de las hojas únicamente para el tratamiento de afecciones urinarias.

Caracteres anatómicos

Disociado leve de hojas. Células epidérmicas poliédricas con paredes lisas. Aparato estomático paracítico. Cristales simples, romboidales, pequeños.

Drusas y rosetas. Fibras

Ruiz y col. (2007) citan la presencia de cristales romboidales en epidermis y de cristales romboidales y drusas en el mesófilo esponjoso, caracteres coincidentes con los observados en el material estudiado. Se destaca la presencia de drusas y rosetas.

Conclusiones

La clave elaborada con los parámetros que resultaron del análisis de los caracteres anatómicos de las 21 especies seleccionadas, podría ser usada para su identificación mediante el control de calidad botánico. Los parámetros anatómicos relevantes fueron los tricomas y los cristales de oxalato de calcio.

Referencias bibliográficas

Barboza, G.E.; Cantero, J.J.; Núñez, C.; Pacciaroni, A.; Ariza Espinar, L. (2009). “Medicinal Plants: A general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native Argentine

- Flora". *Kurtziana* 34(1-2). Volumen especial: "Plantas Medicinales": 7-365.
- Cabrera, A.L. (ed.) (1978) "Flora de la provincia de Jujuy". *Colec. Cient. INTA* XIII(10):1-726 (Compositae).
- Carrizo, E.; Palacio, M.; Roic, L. (2002). "Plantas de uso medicinal en la flora de los alrededores de la ciudad de Santiago del Estero (Argentina)". *Dominguezia* 18(1):26-35.
- Chiffa, C.A.; Ricciardi, A. (2004). "Evaluación etnofarmacológica de plantas usadas popularmente por las comunidades del Chaco argentino". Resumen expandido *VII Simposio Argentino y XI latinoamericano de Farmacobotánica*. Buenos Aires. Argentina.
- D'Ambrogio de Argüeso, A. (1986). *Manual de técnicas en histología vegetal*. Hemisferio Sur. Buenos Aires: 43-57.
- Del Vitto, L.A.; Petenatti, E.M.; Petenatti, M.E. (1997). "Recursos herbolarios de San Luis (República Argentina). Primera parte: plantas nativas". *Multequina* 6:49-66.
- Instituto Nacional de Estadística y Censos (INDEC). República Argentina. Censo 2010. En línea <<http://www.censo2010.indec.gov.ar>> [Consulta: 15/09/2014].
- Instituto Argentino de Normalización y Certificación (1993). Normas IRAM Números 37500 y 37501.
- Lahite, H.B.; Hurrell, J.A.; Jankowski, L.; Haloua, P.; Mehlreter, K. (1998). *Plantas medicinales rioplatenses*. Ed. L.O.L.A., Buenos Aires.
- Nájera, M.T. (1983). "La herboristería en la República Argentina". *Acta Farm. Bonaerense* (2)1: 55-9.
- Ruiz, A.I.; Mercado, M.I.; Ponessa, G. (2007). "Morfología y anatomía foliar de *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae)". *Lilloa* 44(1-2): 75-83.
- Zapater, M.A. (1993). "Santalaceae". *Flora del Valle de Lerma. Aportes Botánicos de Salta*. Ser. Flora. 2(13): 6-8.
- Zardini, E. M. (1984). "Etnobotánica de compuestas argentinas con especial referencia a su uso farmacológico" (Primera parte). *Acta Farm. Bonaerense* 3: 77-99.

Análisis micrográfico y fitoquímico de muestras comerciales de “canela”

Roberto Souto da Rosa, Romina Numata, María Elena Marovic, Judith Montenegro,
Alberto A. Gurni, Ana Rugna, Graciela Bassols*

Cátedra de Farmacobotánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 954, CABA,
(1113), Buenos Aires, Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: gbassols@ffyb.uba.ar

Resumen

Cinnamomun verum J.S. Presl (Lauraceae) (“canela”) es una especie aromática empleada con frecuencia en alimentación. Se utiliza la corteza desprovista del súber y con una concentración no menor de 1,3 % de aldehído cinámico. También se emplea en medicina por sus propiedades carminativa, antiulcerosa, estomacal, antivomitiva y estimulante. Estas propiedades se deben a la presencia de aceites esenciales. El objetivo de este trabajo es comprobar la calidad de las muestras comercializadas en la ciudad de Buenos Aires. Se adquirieron muestras del comercio (en polvo, trozadas y enteras). Se compararon con descripciones bibliográficas. Se analizaron mediante reducción a polvo, disociación con OHNa al 5 %, reacciones histoquímicas y determinación cualitativa de aceites esenciales. En el análisis micrográfico se observó la presencia de esclereidas, radios floemáticos, fibras y almidón en todas las muestras. Solo en las muestras enteras y trozadas se halló súber. En cuanto a la determinación de aceites esenciales las muestras enteras y trozadas presentaron aldehído cinámico, eugenol y limoneno, entre otros, mientras que en las muestras en polvo no se detectó aldehído cinámico. Las muestras comerciales en polvo cumplen con la monografía de la Farmacopea Argentina 7^a edición, en cuanto al análisis micrográfico. La ausencia de aldehído cinámico en estas muestras se podría deber a las operaciones unitarias en la obtención del polvo. Las muestras enteras y trozadas presentan súber, el cual según la definición, no debería encontrarse aunque su perfil cromatográfico se corresponde con los componentes descritos en la bibliografía. Sobre la base de los resultados obtenidos se puede concluir que ninguna de las muestras analizadas cumple estrictamente los requisitos de Farmacopea Argentina exigidos para la denominación de “canela de Ceilán”.

Micrographic and Phytochemical Analysis of Commercial Samples of “Cinnamon”

Summary

Cinnamomun verum J.S. Presl (Lauraceae) (“cinnamon”) is an aromatic species used in feeding. The bark is used without cork and with a concentration not less than 1.3 % of cinnamaldehyde. In medicine it is used as a carminative, anti-ulcer, stomachic, antiemetic, and stimulant. These properties are due to the presence of essential oils. The aim of this study is to check the quality of the samples sold in Buenos Aires

Palabras clave: *Cinnamomun verum* - canela - control de calidad.

Key words: *Cinnamomun verum* - cinnamon - quality control.

city. Commercial samples were acquired (in powder, whole, and in fragment). They were compared with bibliographic descriptions. They were analyzed by pulverizing, disintegration with 5 % NaOH, histochemical reactions, and qualitative determination of essential oils. The micrographic analysis showed the presence of sclereids, radios phloem, fibers, and starch in all samples. Only in whole and fragmented samples cork was found. Regarding to the determination of essential oils, fragmented and whole samples presented cinnamic aldehyde, eugenol, and limonene, among others, while in powdered samples cinnamic aldehyde was not found. Commercial powder samples satisfy the Monograph of FNA VII edition about micrographic analysis. Lack of cinnamic aldehyde in these samples could be due to the unit operations in the powder production. Whole and fragmented samples presented cork, which should not be found, according to the pharmacopeia definition, even though its chromatographic profile corresponds with the described components in the literature. Based on the results, it can be concluded that none of the tested samples strictly satisfies the FNA VII edition requirements for Ceylan cinnamon.

Introducción

Según la Farmacopea Argentina 7ª edición (2005), la “canela” está constituida por la corteza desecada, libre de súber y del parénquima subyacente, de los tallos de *Cinnamomum verum* J.S. Presl. (Lauraceae) (*Cinnamomum zeylanicum* Ness) (Farmacopea Argentina, 2005). El Código Alimentario Argentino (2010) aclara que debe contener no menos de 1,2 % de aceite esencial y que la mayoría porcentual de la esencia debe pertenecer a aldehído cinámico (65 % -75 %).

La “canela” es una especie aromática empleada con frecuencia en alimentación, (pastelería, postres y bebidas calientes), tanto por su fragancia dulce como por su sabor almendrado. En medicina se la emplea por sus propiedades carminativa, antiulcerosa, estomacal, antivomitiva y estimulante. Estas propiedades se deben a la presencia de aceites esenciales, principalmente el aldehído cinámico y el eugenol.

Para fines terapéuticos solo se utiliza los extractos de la corteza porque presentan más de 4 % de los aceites esenciales, mientras que de las hojas se puede obtener menos del 0,5 % y prácticamente solo contienen eugenol (70 % - 95 %). Así también ocurre con los extractos de las raíces que contienen casi exclusivamente alcanfor (60 %) (Barceloux, 2008).

Los árboles silvestres de canela raras veces exceden una altura de 9 metros, las hojas son verdes, coriáceas y lustrosas; las flores se presentan en panículos terminales y el fruto es ovoide y carnoso (Foto 1).

Foto 1.- Hoja de *Cinnamomum verum*



Köhler, 1897.

Se utiliza la parte interior de la corteza de las ramas más jóvenes. La calidad de la “canela” depende principalmente de la edad de las ramas de la que se ha sacado; cuanto más jóvenes son las ramas, mejor es su calidad. La corteza se cosecha de árboles jóvenes de menos de 6 años, y en Ceilán (actual Sri Lanka), de retoños de árboles talados entre los 18 y 36 meses de edad (Claus y Tyler, 1968).

Las partes cortadas de la “canela” se secan y poco a poco se elimina la corteza más externa, y a medida que se secan adquieren el clásico aspecto color castaño. La corteza se corta transversal y longitudinalmente, luego se arranca y se raspa para desprender el súber (Claus y Tyler, 1968).

Una forma de presentación comercial de la “canela” es en trozos acanalados, hasta de un metro de

longitud y 1 a 2 cm de diámetro formados por láminas de corteza hasta de un milímetro de espesor, despojadas de las porciones más externas, enrolladas una sobre la otra; su color es amarillo pardusco, de olor característico, de sabor agradable, aromático, algo picante y dulzón, conocida como “canela” en rama (Foto 2). La superficie externa es lisa, parda y amarillenta con cicatrices redondeadas que corresponden al punto de inserción de las hojas y brotes axilares, y con largas y sinuosas estrías longitudinales.

Foto 2.- “Canela” en rama



Otra forma de presentación es en polvo, que presenta color pardo o pardo amarillento, tiene olor característico y aromático (Farmacopea Argentina, 2008).

El objetivo de este trabajo es comprobar la calidad de las muestras comercializadas en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

Materiales y métodos

Las muestras que se utilizaron para este estudio se adquirieron en comercios en distintos puntos de la Ciudad de Buenos Aires. Estas muestras se presentaban en polvo, trozadas y enteras. Se compararon con descripciones bibliográficas obtenidas de la Farmacopea Argentina 7^a edición y el Código Alimentario Argentino.

Se analizaron mediante las siguientes técnicas de la Farmacopea Argentina (2008): a) reducción a polvo: con molinillo de cuchillas rotativas; b) obtención de transcortes: se obtuvieron secciones transversales delgadas del material a mano alzada para analizar la disposición de los tejidos; c) disociación leve: una

pequeña porción del material vegetal se colocó en una solución de NaOH al 5 % y se llevó a ebullición durante 5 minutos. Se filtró. Se lavó con agua destilada y se observó con el microscopio; d) observación con luz polarizada; se utilizó un microscopio Carl Zeiss Axioskop 2 Plus sobre los materiales en polvo; e) determinación cualitativa de aceites esenciales (Wagner, 2001); se realizó una TLC cualitativa con los siguientes parámetros: fase móvil, tolueno-acetato de etilo (93:7); fase fija, silicagel 60F254 en placa; estándares: aldehído cinámico, eugenol, citral y limoneno; detección: UV-254 nm.

Resultados

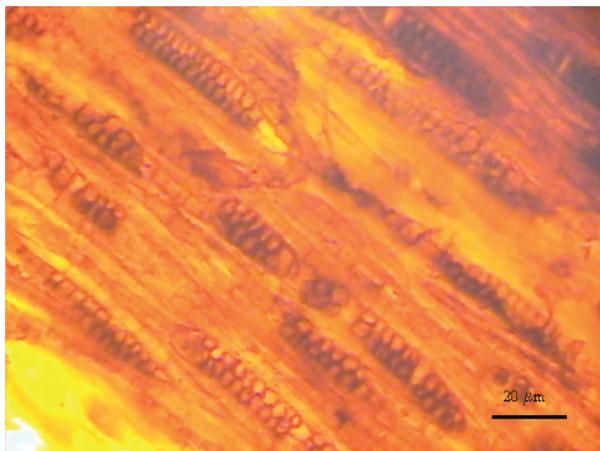
En el análisis micrográfico de las muestras trozadas, en polvo y en rama se observó la presencia de células pétreas (esclereidas) irregulares de lumen ancho y paredes gruesas (Foto 3), radios floemáticos con células parenquimáticas (Foto 4), fibras de longitud variables casi siempre sencillas y de paredes ligeramente lignificadas (Foto 5), gránulos de almidón redondeados sencillos o compuestos de hilio excéntrico (Foto 6) y pequeños cristales aciculares de oxalato de calcio (Foto 7), todos caracteres micrográficos descritos en la Farmacopea Argentina (2008).

Foto 3.- Esclereida irregular



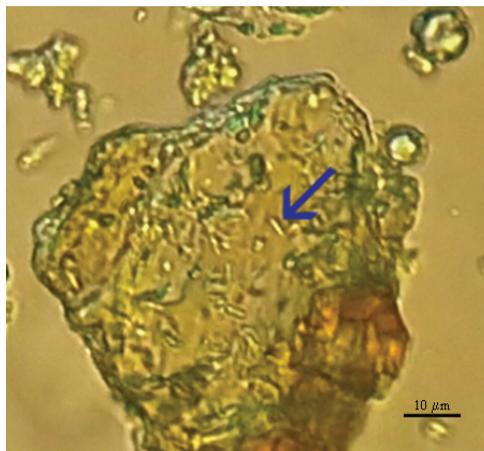
Disociado leve, (400 X).

Foto 4.- Radios floemáticos



Disociado leve, (200 X).

Foto 7.- Cristales aciculares de oxalato de calcio



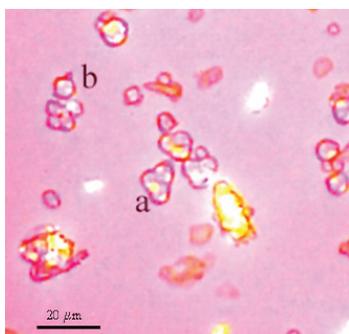
Polvo, (400 X).

Foto 5.- Fibra



Disociado leve, (400 X).

Foto 6.- Gránulos de almidón



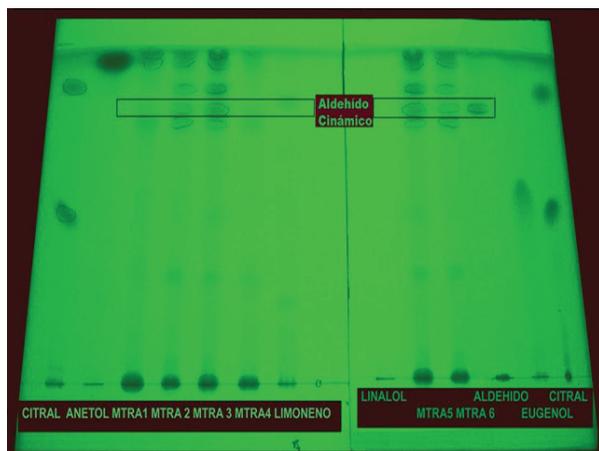
Polvo, a: gránulo compuesto, b: gránulo simple. Luz polarizada, (200 X).

Foto 8.- Súber, disociado leve



(200X).

Foto 9.- TLC cualitativa



Muestras 1 y 4: “canela” en polvo; muestras 2 y 3: “canelas” trozadas; muestras 5 y 6: “canela” en rama.

Discusión y conclusiones

En todas las muestras trozadas y en rama se encontró un mismo patrón cromatográfico. La ausencia de aldehído cinámico en las muestras de polvo podría deberse a las operaciones unitarias en su obtención, lo cual provoca que carezcan de acciones terapéuticas medicinales; sin embargo, se encontraron todos los caracteres micrográficos descritos en la bibliografía.

Las muestras enteras y trozadas presentaron escaso sùber. Si bien se evidencia la presencia del principal componente en los aceites esenciales, asegurándose las propiedades terapéuticas medicinales, no cumplimenta los requerimientos micrográficos de la monografía presentada en la Farmacopea Argentina (2008).

Comparadas estas muestras con las monografías de la British Pharmacopoeia (2009), la Farmacopeia Brasileira 5ª edición (2010) y la Organización Mundial de la Salud (1999), los caracteres micrográficos observados concuerdan con los descriptos. En cuanto

a la presencia de aceite esencial y de su principal constituyente, el aldehído cinámico, las muestras trozadas y enteras cumplen con los requisitos de estas farmacopeas pero no, las muestras en polvo.

Sobre la base de los resultados obtenidos se puede concluir que ninguna de las muestras analizadas cumplen estrictamente los requisitos de Farmacopea Argentina (2008) y el Código Alimentario Argentino para la denominación de “canela de Ceilán”, como tampoco los requisitos de la Farmacopea Británica, la Brasileira y de la Organización Mundial de la Salud.

Referencias bibliográficas

- Barceloux, D.G. (2008). *Medical Toxicology of Natural Substances*. John Wiley & Sons: 327-335.
- British Pharmacopoeia (2009) Volumen 3: 6871-6872.
- Claus, E. P.; Tyler, V. E. (h). (1968). *Farmacognosia*. 5ª edición. El Ateneo, Buenos Aires: 179-180.
- Código Alimentario Argentino [en línea]. ANMAT, Capítulo XVI, Artículo 1300. Última revisión: 16 de marzo de 2010. <http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_XVI.pdf> Artículo 1300 [Consulta: 10 de mayo de 2010].
- Farmacopea Argentina (2008) 8ª edición. Tercer Tomo: 369-402. Última revisión: 10 de agosto de 2008. [Consulta: 24 de mayo de 2010].
- Farmacopeia Brasileira 5ª edición (2010). Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. Volumen 2: 721-723.
- Köhler, F. (1987) Public Domain / File:Koeh-182.jpg / Franz Eugen Köhler, Köhler's Medizinal-Pflanzen.
- Organización Mundial de la Salud (1999) Volumen 1: 95-103.
- Wagner, H.; Bladt, S. (2001) *Plant Drug Analysis, A Thin Layer Chromatography Atlas* 2nd edition, Springer: 153 a 171.

Alteraciones anatómicas en epidermis de hojas infectadas de *Phoradendron bathyoryctum* Eichler (Viscaceae)

Alejandro F. Vugin*, Graciela B. Bassols, Beatriz G. Varela

Cátedra de Farmacobotánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Junín 956, 4º Piso (1113) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, República Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: alevug@hotmail.com.

Resumen

Phoradendron bathyoryctum Eichler (Viscaceae) es una planta hemiparásita que crece en la República Argentina sobre varias especies arbóreas. Se utiliza en medicina popular de la misma manera que el muérdago europeo (*Viscum album* L. –Viscaceae–), para disminuir la presión arterial. Los muérdagos, a veces, pueden ser susceptibles de epiparasitismo, o también sufrir el ataque de diferentes agentes fitopatógenos. El objetivo de este estudio es analizar los cambios anatómicos que se producen en las hojas de *Ph. bathyoryctum* cuando son afectadas por algún agente infeccioso. Se colectaron ejemplares sanos e infectados, los últimos, con lesiones foliares superficiales. Se realizaron técnicas de raspado, diafanizado y obtención de epidermis en las hojas de los ejemplares. También se practicaron reacciones histoquímicas. En las hojas infectadas se observó una destrucción progresiva de los estomas y cambios en el resto de los tejidos epidérmico y subepidérmico, que dieron como resultado la formación de estructuras visibles macroscópicamente, y semejantes a lenticelas foliares. De acuerdo con las observaciones realizadas y por comparación con la bibliografía consultada, se supone que el daño foliar se inicia en el estoma donde se producen cambios estructurales hasta su destrucción, la modificación de las células adyacentes y la formación de lesiones superficiales en las hojas infectadas. En cuanto al agente, si bien no se pudo determinar en esta oportunidad, podría asociarse a algún tipo de virus. Se sugiere realizar futuros estudios para confirmar si los virus son los causantes de las lesiones.

Anatomical Changes in Epidermis of Infected Leaves of *Phoradendron bathyoryctum* Eichler (Viscaceae)

Summary

Phoradendron bathyoryctum Eichler (Viscaceae) is a hemiparasitic plant that grows in Argentina on several tree species. It is used in folk medicine in the same way as the European mistletoe (*Viscum album* L. –Viscaceae–) to lower blood pressure. These plants may sometimes be susceptible to epiparasitism, or even attacked by different plant pathogens. The aim of this study is to analyze the anatomical changes that occur in the leaves of *Ph. bathyoryctum* infected by a phytopathogen agent. Healthy and infected specimens were collected, the latter with superficial foliar injuries. Scraping, clearing, and epidermis obtaining techniques were performed on the leaves of the plants. Histochemical reactions were also performed. In the infected

Palabras clave: anatomía - epidermis - infección - muérdago - *Phoradendron* - Viscaceae.

Key words: Anatomy - epidermis - infection - mistletoe - *Phoradendron* - Viscaceae.

leaves a progressive destruction of stomata and changes in the rest of epidermal and sub epidermal tissue were observed, resulting in the formation of macroscopically visible structures and similar to foliar lenticels. According to the observations made and compared to the literature, it is believed that the leaf damage starts at the stoma, where structural changes occur until destruction, modification of adjacent cells, and superficial lesions in infected leaves. In respect to the agent, although it could not be determined at this time, it might be associated with a type of virus. Further studies are suggested to detect and confirm that the plant pathogen is causing the injuries.

Introducción

Phoradendron bathyoryctum Eichler –Viscaceae– (Sin. *Ph. hieronymi* Trel.) es una planta hemiparásita que crece sobre diversas especies arbóreas en el Norte y Centro de la República Argentina. Se trata de un arbusto con ramas opuestas o pseudo-dicotómicas, cilíndricas en su base y comprimidas en la región superior, con entrenudos de 2-7,5 cm de largo. Las hojas son coriáceas o subcoriáceas, de 3,5-9 cm de longitud y 1,5-3,5 cm de ancho, glabras, de lámina aovada o elíptica, basinervada con 5-7 nervaduras pronunciadas, ápice obtuso o redondeado y con un pecíolo de 5-10 mm de largo (Abbiati, 1946).

Se conoce a *Ph. bathyoryctum* con los nombres vulgares de “madroño”, “liga”, “muérdago”, “hierba huérfana”, entre otros. Se utiliza la infusión de sus hojas en medicina popular para tratar el asma y los dolores de cabeza (Martínez Crovetto, 1964; Toursarkissian, 1980), y para problemas cardíacos (dolores, palpitaciones) (Martínez Crovetto, 1981).

Además, por su hábito hemiparásito y por pertenecer a la misma familia que el muérdago europeo (*Viscum album* L.) se emplea, al igual que este, como hipotensora (Franz, 1986). Las hemiparásitas se nutren en parte de su hospedante, y así obtienen agua y sales minerales por medio de estructuras denominadas haustorios.

Según el criterio actual de clasificación de las plantas vasculares, basado en el sistema APG III (Stevens, 2012), los géneros *Viscum* y *Phoradendron* han sido reubicados dentro de Santalaceae. Sin embargo, en tanto no se afirme de manera definitiva ese sistema, se ha seguido el criterio taxonómico del *Catálogo de plantas vasculares de la flora del Cono Sur*, con actualizaciones en línea (Zuloaga y col., 2009).

Si bien se considera a *Ph. bathyoryctum* una planta invasora de los hospedantes sobre los que crece, su carácter hemiparásito no la hace inmune al ataque de

otros organismos como otras hemiparásitas (epiparasitismo o hiper-parasitismo) (Wiens y Calvin, 1987; Calvin y Wilson, 2009), al ataque de insectos diversos, hongos, bacterias, virus y viroides. Sin embargo, hay muy pocos registros que detallen patologías en el género *Phoradendron*, con excepción del ataque de algunas especies fúngicas (Darling, 1940).

Una enfermedad vegetal se puede definir como un efecto producido por cualquier agente patógeno que interfiera con su fisiología normal, y la planta muestra ese efecto con síntomas visibles (Brown, 1997). Las relaciones entre esos agentes y la planta huésped van desde transitorias hasta un alto grado de dependencia y especificidad. Los virus fitopatógenos, por ejemplo, son parásitos obligados y completamente dependientes de células vegetales vivas para completar su ciclo de replicación, lo cual provoca infecciones sistémicas de fácil transmisión y de difícil diagnóstico (Gepp, 1996). Por otro lado, los cambios metabólicos que producen esos patógenos, podrían alterar el metabolismo secundario del vegetal y originar modificaciones en la acción farmacológica.

El objetivo de este trabajo es informar el hallazgo de especímenes infectados y determinar las alteraciones anatómicas producidas en la superficie foliar de la hemiparásita luego de la infección.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se recolectaron ramas floríferas de plantas de *Ph. bathyoryctum* con hojas infectadas y también sanas en la provincia de Tucumán, Argentina. Con parte del material se confeccionaron ejemplares de herbario con los siguientes datos: Localidad: Dique El Cadillal, Tucumán, Argentina; fecha de recolección:

11-06-2011; Leg.: G.I. Ponessa, M.L. Wagner; observaciones: sobre hospedante sin determinar. Las muestras de estudio fueron determinadas y depositadas en la Cátedra de Farmacobotánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA). Los ejemplares de herbario confeccionados serán incorporados próximamente en el Herbario del Museo de Farmacobotánica "Juan A. Domínguez" (BAF).

Para la identificación del material de estudio se consultaron los siguientes ejemplares: a. Jujuy, Ledesma; Leg.: R. Kiesling n° 8155 (SI); XI-1992; sobre hospedante sin determinar; b. San Juan, Valle Fértil; Leg.: R. Kiesling n° 4504 (SI); 19-II-1984; sobre *Celtis tala* Gill. & Planchon (Celtidaceae); c. San Juan, Valle Fértil; Leg.: E.R. Guaglianone & N. Tur n° 2450 (SI); 13-IV-1989; hospedante sin determinar; d. Catamarca, Quebrada del Tala; Leg.: Lorentz & Hieronymus n° 421 (BAF); 21/24-XI-1872; sobre hospedante sin determinar.

Se consideraron infectadas las hojas que presentaban lesiones superficiales visibles que se pueden observar a simple vista en ambas superficies del limbo foliar. Las hojas de las ramas colectadas fueron seleccionadas y separadas de los tallos.

Métodos

Tanto en las hojas sanas como en las enfermas se realizaron los siguientes procedimientos:

Observación macroscópica

Las hojas seleccionadas fueron observadas con un microscopio estereoscópico Carl Zeiss y fotografiadas con una cámara digital Kodak Easyshare M 1063.

Raspado

Se realizó según la técnica de Metcalfé. Las hojas se colocaron sobre un portaobjetos con la epidermis en estudio hacia abajo (se seleccionó la epidermis adaxial), se agregó sobre la superficie abaxial una solución de hipoclorito de sodio al 50 %, y se dejó actuar durante 10 minutos. La superficie abaxial y el mesófilo se rasparon cuidadosamente con una hoja de bisturí. Luego se lavó con agua destilada, y el material fue girado de manera que la superficie en observación quedara hacia arriba (D'Ambrogio de A., 1986).

Obtención de epidermis (Peeling)

El material en estudio fue colocado en un recipiente con una solución de ácido nítrico al 60 % y calentado en una estufa a 60 °C durante 5 minutos; se decantó el ácido y se lavó con agua destilada. La epidermis adaxial fue separada cuidadosamente con una pinza y montada entre portaobjetos y cubreobjetos (Ruzin, 1999).

Diafanización

Sobre hojas enteras se realizó la técnica con hidrato de cloral, y los diafanizados fueron coloreados con safranina a saturación en Etanol 80° y montados en Bálsamo de Canadá (Dizeo de Strittmatter, 1973).

Histoquímica

A algunas porciones del material obtenido por *peeling*, se les practicó las siguientes reacciones histoquímicas: 1) azul de anilina al 0,1 % en agua destilada y observación por microscopía de fluorescencia para la detección de calosa (Zarlavsky, 2014); 2) solución alcohólica al 1 % de floroglucina para detectar lignina (D'Ambrogio de A., 1986).

Fotomicrografías

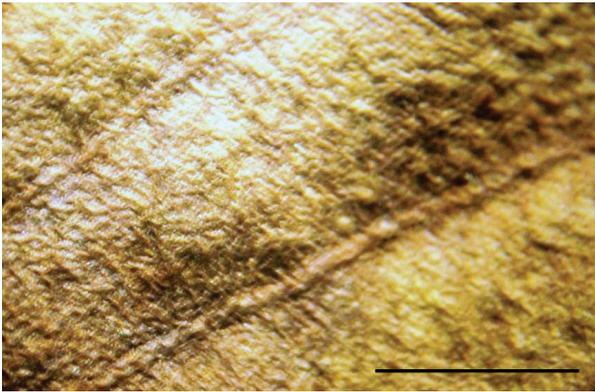
Los preparados se fotografiaron con un microscopio óptico Zeiss Axioskop 2, con lámpara de fluorescencia Zeiss Atto Arc 2 y capturadora de imágenes SONY NO SSCDE504.

Resultados y discusión

Macroscopía

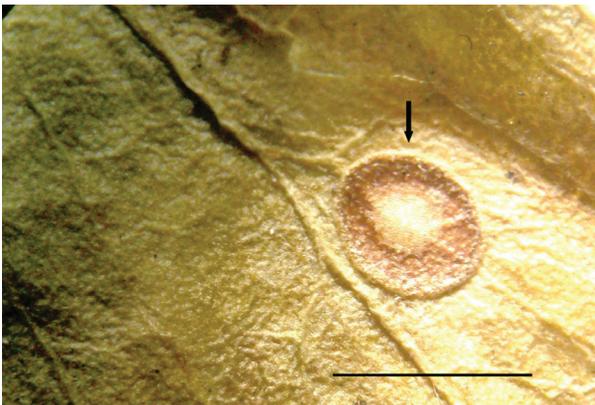
Las hojas sanas no presentaron ninguna lesión superficial (Figura 1). Se consideraron infectadas las hojas que, observadas con un microscopio estereoscópico, presentaron lesiones epidérmicas de contorno circular y bordes levantados de color pardo amarillento, rodeando un tejido irregular con pequeñas elevaciones de color más claro que el resto del limbo (Figura 2). Esas lesiones se extendían desde un 25 % a un 75 % de la superficie foliar. Por otro lado, no se detectó desarrollo fúngico en la superficie de las hojas enfermas.

Figura 1.- Limbo de hoja sana observado con microscopio estereoscópico



Escala: 5 mm.

Figura 2.- Lesión foliar observada con microscopio estereoscópico



La flecha indica la lesión. Escala: 5 mm.

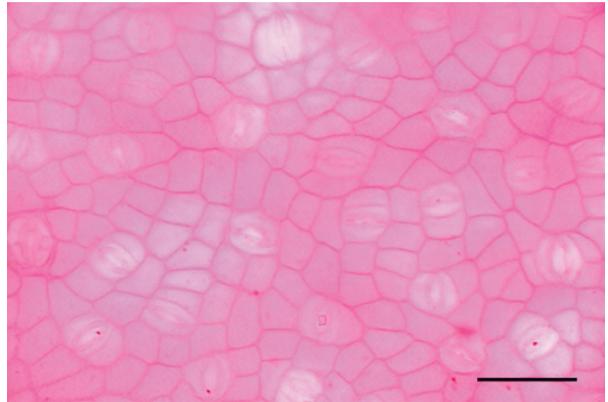
Microscopía

Se compararon los preparados obtenidos con las técnicas de diafanización, raspado y de *peeling*. En las zonas donde la hoja enferma presentaba las lesiones macroscópicas fueron observados cambios anatómicos que involucraban a las células de la epidermis y sus modificaciones (estomas).

Mediante la diafanización se comprobó el estado de las hojas sanas y de las lesiones en las hojas enfermas (Figuras 3 y 4). Las hojas sanas presentaron células epidérmicas rectangulares a poligonales (4-6 lados), de paredes rectas o algo curvadas. Los estomas son de tipo paracítico, con dos células anexas

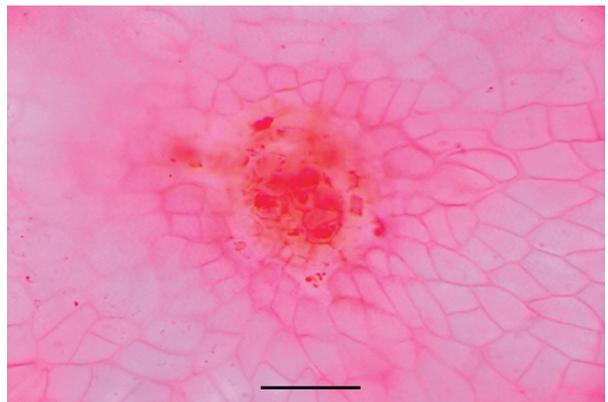
en orientación paralela al eje del ostiolo, con paredes laterales internas cóncavas y externas profundamente convexas (Varela, 2003). El mismo patrón se repitió en ambas epidermis. Las hojas enfermas mostraron una alteración generalizada en la zona estomática y las células circundantes.

Figura 3.- Diafanizado de hoja sana: células epidérmicas y estomas



Escala: 100 μ m.

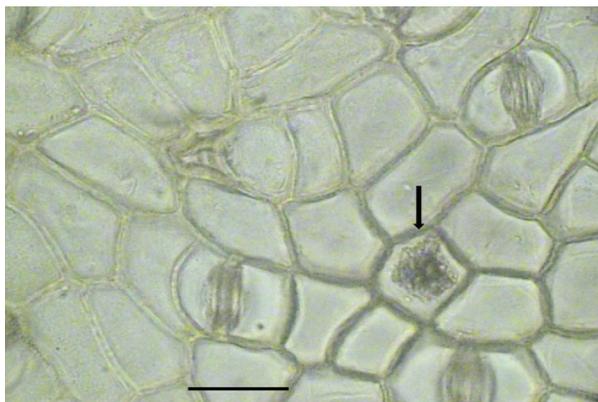
Figura 4.- Lesión observada en diafanizado de una hoja enferma



Escala: 100 μ m.

La observación del *peeling* en el microscopio óptico reveló la presencia de idioblastos que contenían depósitos amorfos (Figura 5).

Figura 5.- Peeling. Epidermis de hoja infectada y diferentes estadios de lesiones adyacentes



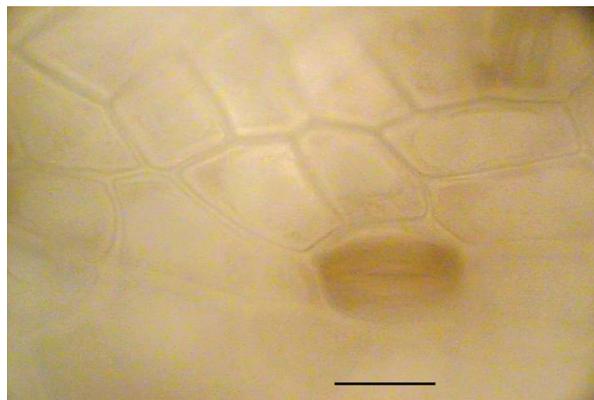
Idioblasto con depósito de material amorfo (flecha). Escala: 100 μm .

Los raspados realizados mostraron alteraciones en las células oclusivas de los estomas, con engrosamiento de sus paredes o las del ostíolo, y diferentes estadios de destrucción. Además, se observó que se rodean de un grupo de células a medida que avanza la destrucción del estoma (Figuras 6 - 11).

Con ninguno de los métodos microscópicos aplicados se observaron hifas ni otras estructuras fúngicas. Se comparó con la bibliografía existente sobre patologías vegetales y se consideró que podría tratarse de algún agente viral, afín al virus del mosaico del tabaco (Agrios, 2005). Debido a los estadios de las lesiones observadas, se supone que el agente infeccioso penetra por el estoma y asume su control y se rodea de células epidérmicas que forman una corona a su alrededor. Las paredes del ostíolo comienzan a engrosarse y luego, las del resto del estoma, y producen su necrosis. En forma espiralada se afectan las zonas adyacentes a la lesión primaria, y se forma una lesión macroscópicamente visible en ambas superficies de la hoja. La infección se disemina al resto de la hoja y, por último, a la planta entera a través del floema, según otros estudios realizados (Hipper, 2013).

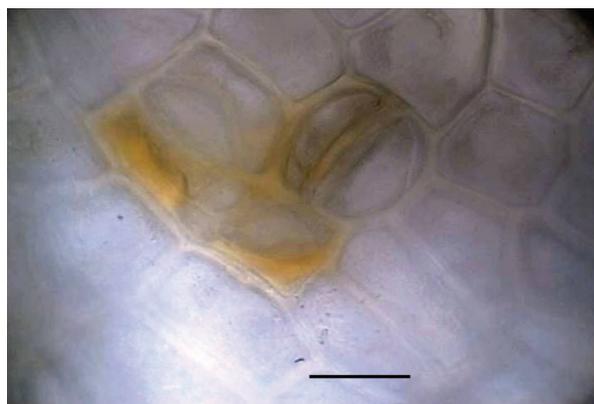
Los estudios histoquímicos revelaron la presencia de engrosamientos de calosa en algunos sectores afectados. La microscopía de fluorescencia reveló zonas fluorescentes en esos engrosamientos por la reacción con azul de anilina, y se diferenció de la fluorescencia de base del resto de la epidermis.

Figura 6.- Raspado de una hoja infectada



Se observan alteraciones en el estoma y engrosamiento de las paredes del ostiolo. Escala: 50 μm .

Figura 7.- Raspado. Estoma con ostiolo engrosado



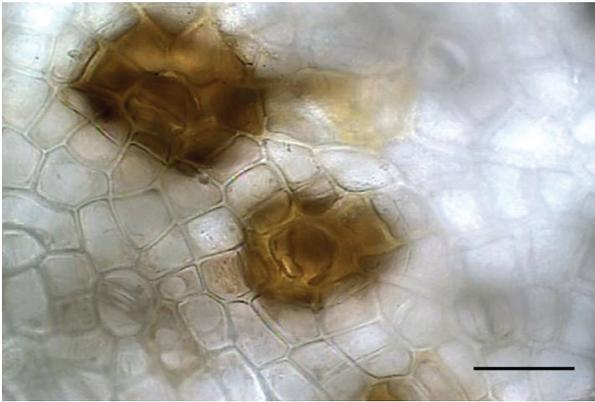
Inicio de necrosis en células oclusivas, y grupo de células que comienzan a rodear al estoma. Escala: 50 μm .

Figura 8.- Raspado. Primer estadio



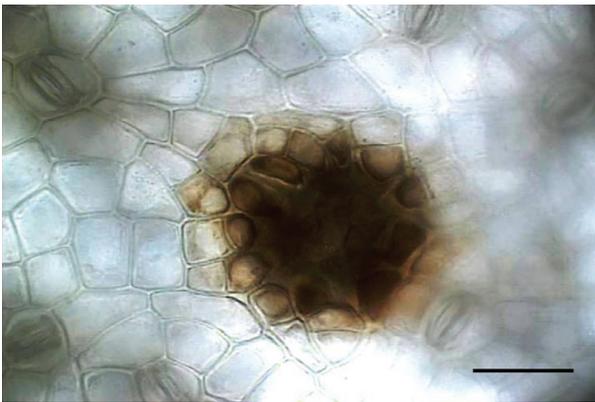
Engrosamiento del ostiolo (arriba, derecha). Estadio más avanzado: destrucción parcial del estoma y corona de células a su alrededor (centro). Escala: 50 μm .

Figura 9.- Raspado. Estadio intermedio



Estoma con una célula oclusiva destruida y la otra con las paredes del ostiolo engrosadas (centro). Estoma con una célula oclusiva a punto de estallar (arriba, izquierda). Escala: 100 μm .

Figura 10.- Raspado. Estadio final



Destrucción casi total del estoma y células alrededor de la lesión (centro). Diferentes estadios de necrosis estomática. Escala: 100 μm .

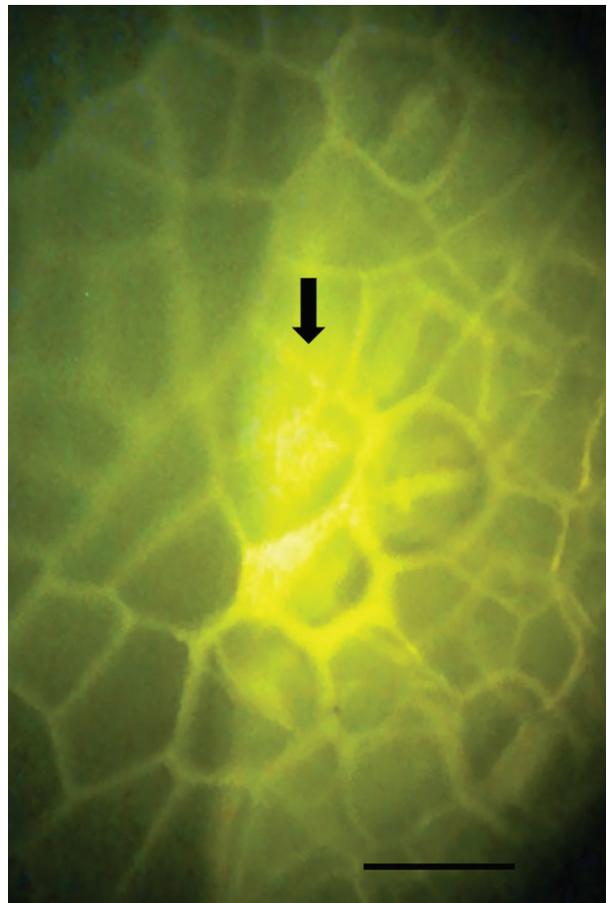
Figura 11.- Raspado. Estoma destruido completamente



La lesión se propaga en forma centrífuga. Escala: 100 μm .

Estas manifestaciones indican que el vegetal reacciona, y en consecuencia, intenta frenar el avance del agente infeccioso mediante el recubrimiento con calosa de las zonas afectadas (Figura 12). Con la evolución, las plantas generaron sistemas de defensa contra el ataque de patógenos basados en barreras estructurales o químicas, o bien una respuesta metabólica activa (Blanco-Labra y Aguirre Mancilla, 2002). Por otro lado, mediante la reacción de caracterización con floroglucina no se detectó lignina.

Figura 12.- Detección de calosa



Engrosamientos de calosa vistos con microscopía de fluorescencia (flecha). Escala: 50 μm .

Si bien los primeros estadios observados fueron macroscópicamente semejantes a las lenticelas foliares descritas en *Tripodanthus acutifolius* (R. & P.) Tiegh. (Loranthaceae), la microscopía fue diferente e indica un origen distinto. Las lenticelas foliares se forman por divisiones periclinales y anticlinales en el nivel subepidérmico y de las cámaras subestomáticas, con posterior suberificación y lignificación (De Morretes y Venturelli, 1985). La ausencia de lignina revelada por la histoquímica confirmó un origen distinto para las lesiones observadas.

Conclusión

Hasta el momento no se han descrito patologías causadas por bacterias, virus o viroides en especies de *Phoradendron*, ni en plantas relacionadas, pero las lesiones y los cambios anatómicos epidérmicos observados en las hojas enfermas serían consecuencia de una infección provocada en la hemiparásita. En cuanto a la cantidad de hojas enfermas por planta, es un dato que no se pudo precisar porque no se colectó la planta entera (que puede tener un tamaño considerable, y en general, son de acceso complicado por crecer sobre árboles), sino que se recogieron ramas floríferas.

Se propone continuar los estudios en trabajos futuros para analizar si la infección produce modificaciones anatómicas en los tejidos foliares más internos; detectar y confirmar el agente infeccioso en las lesiones, además de los cambios metabólicos que se producen en el ejemplar, y destacar la importancia de la determinación de este tipo de infecciones en los controles farmacobotánicos.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado mediante el subsidio 01/W459 de la Secretaría de Ciencia y Técnica, Universidad de Buenos Aires. Los autores agradecen al Dr. Marcelo L. Wagner por la provisión del material vegetal y la lectura crítica del trabajo.

Referencias bibliográficas

Abbiatti, D. (1946). "Las Lorantáceas Argentinas". *Rev. Mus. La Plata* (N.S.), Sec. Bot. 7: 1-110.

- Agrios, G.N. (2005). *Plant Pathology*. Academic Press, New York: 723-824.
- Blanco-Labra, A.; Aguirre Mancilla, C. (2002). "Proteínas involucradas en los mecanismos de defensa de las plantas". *Acta Universitaria* 12(3): 3-28.
- Brown, J.F. (1997). "Plant pathology: an overview", en *Plant Pathogens and Plant Diseases*, J.F. Brown & H.J. Ogle (eds), Rockvale Publications, APPS, Armidale: 3-20.
- Calvin, C.L.; Wilson, C.A. (2009). "Epiparasitism in *Phoradendron durangense* and *P. falcatum* (Viscaceae)". *Aliso* 27: 1-12.
- D'Ambrogio de A., A. (1986). *Manual de Técnicas en Histología Vegetal*. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 54-60.
- Darling, L. (1940). "Protocoronospora on *Phoradendron flavescens* in California". *Madrono* 5(8): 241-246.
- De Morretes, B.L.; Venturelli M. (1985). "Ocorrência de "lenticelas" en folhas de *Tripodanthus acutifolius* (R. & P.) Tiegh. (Loranthaceae)". *Rev. Brasil. Bot.* 8: 157-162.
- Dizeo de Strittmatter, C. (1973). "Nueva técnica de diafanización". *Bol. Soc. Argent. Bot.* 15: 126-129.
- Franz, H. (1986). "Request for an impartial discussion of the so-called Mistletoe therapy". *Oncology* 43(1): 1.
- Gepp, V. (1996). *Virus y viroides fitopatógenos*. Dpto. de Publicaciones de la Facultad de Agronomía, Montevideo, Uruguay: 27 pp.
- Hipper, C.; Brault, V.; Ziegler-Graff, V.; Revers, F. (2013). "Viral and cellular factors involved in phloem transport of plant viruses". *Front. Plant Sci.* 4, artículo 154: 1-24.
- Martínez Crovetto, R. (1964). "Estudios etnobotánicos I. Nombres de plantas y su utilidad, según los indios Tobas del este del Chaco". *Bonplandia* 1(4): 279-333.
- Martínez Crovetto, R. (1981). "Las plantas utilizadas en Medicina Popular en el Noroeste de Corrientes (República Argentina)". *Miscelánea* 69: 1-139.
- Ruzin, S.E. (1999). *Plant microtechnique and microscopy*. Oxford University Press, Oxford: 133.
- Stevens, P.F. [en línea]. *Angiosperm Phylogeny Website*; última revisión: 2012 <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>[Consulta: 03/2014].
- Toursarkissian, M. (1980). *Plantas medicinales de la Argentina*. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 79.

- Varela, B.G. (2003). “Anatomía foliar y caulinar comparativa de los muérdagos argentinos. Importancia Farmacobotánica. Relación con el muérdago europeo. *Tesis Doctoral*, Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA): 223.
- Wiens, D.; Calvin C.L. (1987). “Epiparasitism in Mistletoes”. *The Golden Bough* 9: 2-4.
- Zarlavsky, G.E. (2014). *Histología vegetal. Técnicas simples y complejas*. Soc. Argentina de Botánica, Buenos Aires: 57, 125.
- Zuloaga, F.O; Morrone, O.; Belgrano, M.J. (Eds.). (2009) [en línea]. *Catálogo de las Plantas Vasculares del Conosur II*; <http://www2.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/FA.asp> [Consulta: 02/2014].

Composición de los aceites esenciales de especies de *Verbena* nativas de la provincia de Buenos Aires bajo cultivo

Martín I. Rodríguez Morcelle¹ *, Ana Lía Rossi¹, Martha Gattuso², Nancy M. Apóstolo¹

¹ Programa Interdisciplinario de Estudios en Plantas Vasculares (PIEPVas). Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján, C.C. 221, (6700) Luján, Buenos Aires, Argentina.

² Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Suipacha 531, (2000) Rosario, Santa Fe, Argentina.

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

Resumen

Verbena gracilescens (Cham.) Herter, *V. bonariensis* L., *V. intermedia* Gillies y Hook., *V. litoralis* Kunth, *V. montevidensis* Spreng. y *V. rigida* Spreng son las especies nativas del género en la provincia de Buenos Aires. Excepto *V. montevidensis*, el resto presenta propiedades hepatoprotectoras, digestivas, antiinflamatorias, antidiarreicas y antimicrobianas, entre otras. Este trabajo tiene por objetivo estudiar la composición de los aceites esenciales producidos por estas especies bajo cultivo durante dos temporadas en parcelas experimentales del campo de la Universidad Nacional de Luján. Las semillas utilizadas para el cultivo fueron colectadas de poblaciones naturales. Los aceites esenciales fueron obtenidos a partir de las flores de cada una de las especies por hidrodestilación y analizadas por Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (GC-EM). La composición química de los aceites esenciales de *Verbena* en cultivo fue similar a la observada en estudios previos en poblaciones naturales. Los compuestos mayoritarios fueron fitol, 6,10,14-trimetil-2-pentadecanona (pentadecanona) y oct-1-en-3-ol (octenol). Sin embargo, las esencias obtenidas en el primer año de cultivo mostraron un alto contenido de fitol y muy bajo de pentadecanona, contrariamente a lo observado en los aceites esenciales del segundo año de cultivo. La cantidad de componentes de la segunda temporada aumentó con respecto a la primera. Estos cambios en la composición de los aceites esenciales durante el cultivo bianual de las especies podría deberse a las condiciones fisiológicas de las plantas según su edad o a las condiciones climáticas.

Essential Oils Composition of Cultivated Native *Verbena* Species of Buenos Aires Province

Summary

Verbena gracilescens (Cham.) Herter, *V. bonariensis* L., *V. intermedia* Gillies & Hook., *V. litoralis* Kunth, *V. montevidensis* Spreng., and *V. rigida* Spreng are the native species of the genus in the province of Buenos Aires. Except *V. montevidensis*, the others exhibit hepatoprotective, digestive, anti-inflammatory, antidiarrheal, and antimicrobial properties, among others. This work aims to study the composition of the essential oils

Palabras clave: *Verbena* - aceites esenciales - inflorescencias.

Key words: *Verbena* - essential oils - inflorescence.

produced by these species under cultivation for two seasons in experimental field plots at the National University of Luján. The seeds used for cultivation were collected from natural populations. The essential oils of reproductive parts of each species were extracted by hydrodistillation. Distilled essences were analyzed by Gas Chromatography - Mass Spectrometry. The composition of the essential oils of *Verbena* in culture was similar to that observed in previous studies in natural populations. The major compounds were phytol, 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone (pentadecanone), and oct-1-en-3-ol (octenol). However, the essences obtained in the first year of cultivation had a high content of phytol and a very low content of pentadecanone, contrary to what was observed in the essential oils of the second year of cultivation. The number of components from the second season was increased relative to the first. These changes in the composition of essential oils during the biennial culture could be attributed to the physiological condition of the plants according to their age or to weather conditions.

Introducción

La provincia de Buenos Aires tiene seis especies nativas del género *Verbena*: *V. gracilescens* (Cham.) Herter, *V. bonariensis* L., *V. intermedia* Gillies y Hook., ex Hook., *V. litoralis* Kunth, *V. montevidensis* Spreng. y *V. rigida* Spreng. Todas, excepto *V. montevidensis*, son mencionadas como medicinales, con propiedades hepatoprotectoras, digestivas, antiinflamatorias, antidiarreicas y antimicrobianas, entre otras aplicaciones (Martínez Crovetto, 1981; Castro-Gamboa y Castro, 2004; Barboza y col., 2006; 2009; Crivos y col., 2007).

Las especies de *Verbena* son hierbas o sufrutices, con tallos erectos con yemas de renuevo cerca del nivel del suelo. Las hojas son simples y opuestas. Las flores violáceas se encuentran agrupadas en espigas dispuestas en grupos de a tres, la central es de mayor tamaño que las dos laterales. Su floración es prolongada, va desde mediados de la primavera hasta mediados del otoño (O'Leary y col., 2007).

La recolección indiscriminada de especies medicinales en poblaciones naturales, sin ningún tipo de control respecto al cuidado del recurso y la sustentabilidad de la actividad, provoca una disminución inquietante de las poblaciones y de las plantas factibles de cosechar. Las especies medicinales nativas sufren erosión genética acelerada, principalmente, como consecuencia de los altos volúmenes de extracción en sus ambientes naturales. Además, la calidad del producto derivado de poblaciones naturales es difícilmente estable, debido a la alta variabilidad en el contenido de compuestos activos y los métodos artesanales de secado y almacenamiento (Bandoni, 2000; Ocampo, 1994; 2007).

En el caso de las especies nativas aromáticas o medicinales la domesticación permite un mejoramiento en la calidad de la hierba como materia prima para uso en herboristería, así como el abastecimiento sostenido.

Se han realizado estudios integrales con el fin de iniciar el proceso de domesticación de las seis especies de *Verbena* nativas de la provincia de Buenos Aires (Rodríguez Morcelle y col., 2012; 2013) y, específicamente, en este trabajo se estudia la composición de los aceites esenciales producidos por las especies bajo cultivo durante dos temporadas.

Materiales y métodos

Las parcelas experimentales de cultivo fueron instaladas en el campo de la Universidad Nacional de Luján (34° 36' LS; 59° 7' LO) durante las temporadas 2009/2010 y 2010/2011. Las semillas utilizadas para el cultivo fueron colectadas de poblaciones naturales de los alrededores de la Universidad y de varios sitios del noroeste de la provincia de Buenos Aires. En cada temporada se realizaron dos cortes o cosechas.

Mediante hidrodestilación fueron extraídos los aceites esenciales de las flores de cada una de las especies. Para ello fue utilizado un balón de 3.000 ml de capacidad, que contenía entre 500 y 750 g de material fresco y 2.000 ml de agua destilada. El tiempo de destilación fue de 8 h. Los extractos obtenidos fueron diluidos con hexano, filtrados (0,45 µm), y guardados en frascos caramelo a 4 °C (Laboratorio de Botánica, Universidad Nacional de Luján).

Las esencias destiladas fueron analizadas por Cromatografía Gaseosa-Espectrometría de Masas (CG-EM) en un Perkin Elmer modelo Autosystem XL Gas Chromatograph-Turbomass Mass Spectrometer, con una columna del tipo VF-1 ms (30 m x 0,25 mm de ID, Varian). La programación de la temperatura del horno consistió en 70 °C iniciales (5 min), luego 10 °C/min hasta 310 °C y se mantuvo 10 min en forma isotérmica, con una temperatura de 250 °C para el inyector. Se utilizó helio como gas portador con un flujo de 1 ml/min. Se inyectó 1 µl de muestra diluida en hexano y el tiempo de la corrida fue de 39 min. Los datos del espectrómetro de masas fueron obtenidos con una energía de ionización de 70eV y registrados en un rango de m/z 40-500. La cuantificación se obtuvo a partir de los cromatogramas correspondientes a la corriente total de iones (TIC), considerando el área de los picos y expresando las proporciones relativas como porcentajes. Si bien la respuesta del detector de masas (TIC) no es lineal a la presencia de cada compuesto

en la mezcla, esta operatoria es válida a los fines comparativos del estudio de los aceites esenciales de las especies en estudio.

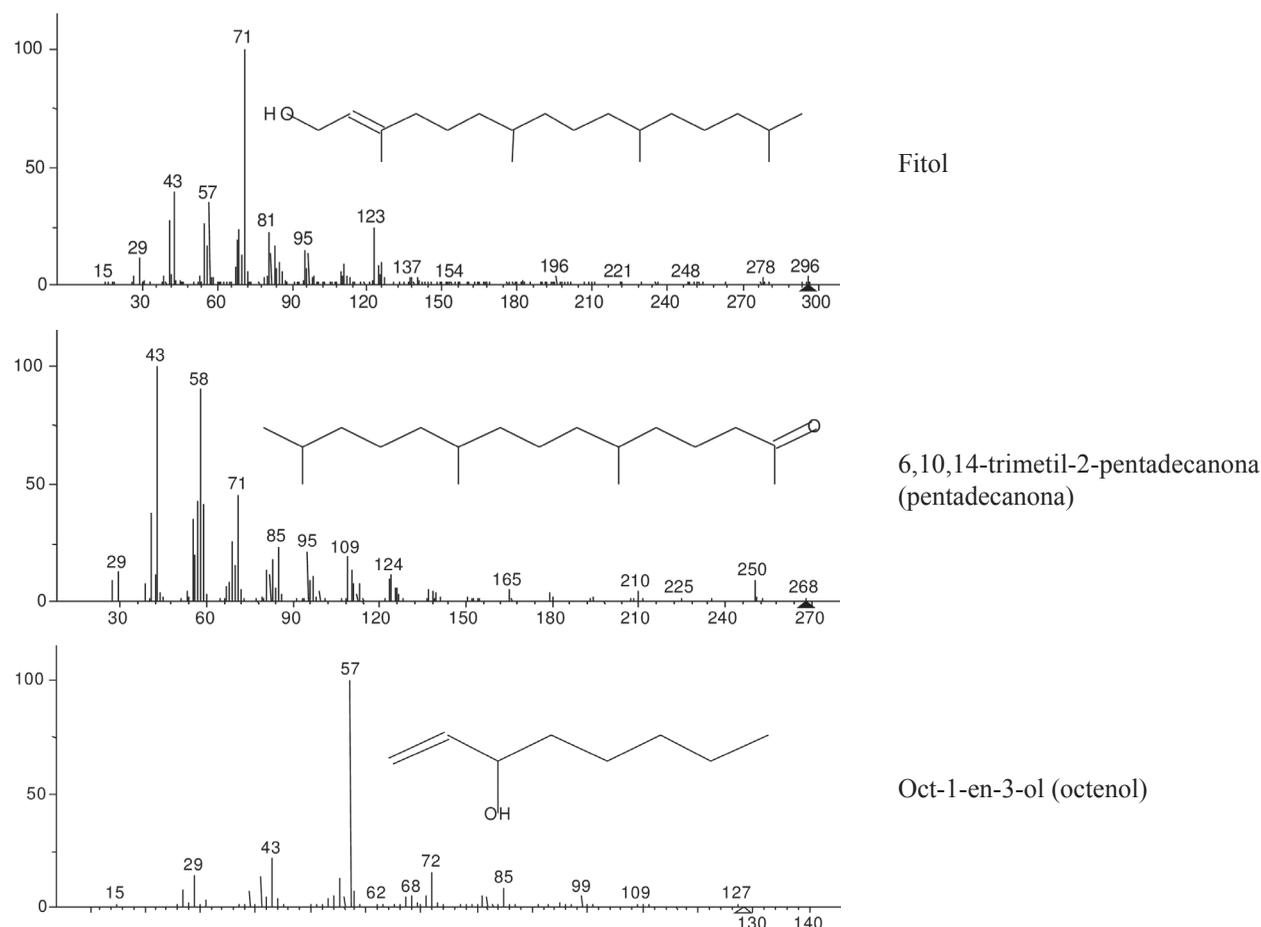
Para la identificación de los compuestos se utilizaron las bases de datos NIST'98 versión 1.5 y NIST'08 versión 2.0 (Servicio de GC-EM, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Técnica Bioquímica Mónica Hourcade).

Resultados

El rendimiento de los aceites esenciales fue bajo en todas las especies estudiadas, con valores menores a 0,1 ml/100 g de masa seca.

Se identificaron 22 componentes, en su mayoría terpénicos, sobre un total de 25 compuestos detectados. Los compuestos mayoritarios fueron el fitol, la 6,10,14-trimetil-2-pentadecanona (pentadecanona) y el oct-1-en-3-ol (octenol) (Figura 1).

Figura 1.- Espectros de masa de los componentes mayoritarios



El componente principal fue el fitol (diterpeno oxigenado). Sin embargo, todas las especies cultivadas mostraron una reducción del porcentaje de este compuesto hasta un 50 % en la segunda temporada respecto a la primera (Tablas 1 y 2). Por el contrario, la presencia de hasta 42 % de pentadecanona en la campaña 2010/2011 (Tabla 2) difirió sustancialmente de los valores observados en la campaña anterior (de 0,1 a 8,6 %) (Tabla 1). Además, los hidrocarburos lineales y otros compuestos oxigenados en la segunda temporada registraron un aumento de su porcentaje respecto a la primera (Tablas 1 y 2).

Durante la campaña 2009/2010 todas las especies mostraron mayor número de componentes (16 a 20) en la primera cosecha respecto a la segunda (6 a 9) (Tabla 1). Para la segunda campaña de cultivo, el comportamiento de las especies fue diferente. Durante el primer corte de esa temporada el número de componentes varió de 13 a 15, mientras que en el segundo corte se observaron 19 a 21 compuestos (Tabla 2).

Dentro de cada temporada se observaron escasas diferencias en la composición y el número de compuestos de los aceites esenciales entre las especies cultivadas (Tablas 1 y 2). En la campaña 2009/2010, *V. bonariensis* se destacó por el incremento en el porcentaje de pentadecanona en el segundo corte (8,6 %) respecto del primer corte (1,3 %). Sin embargo, en esta especie el porcentaje de fitol no presentó diferencias en ambas cosechas. *V. montevidensis* mostró cantidades similares de fitol y de pentadecanona en el primero y el segundo cortes. Por otro lado, *V. gracilescens* y *V. rigida* exhibieron un aumento del 10 % en el contenido de fitol en la segunda cosecha respecto a la primera, en tanto que el contenido de pentadecanona presentó una disminución apreciable (Tabla 2).

En el segundo año de cultivo (2010/2011), *V. gracilescens* y *V. rigida* mostraron los mayores porcentajes de fitol. Estas especies, al igual que *V. montevidensis*, aumentaron su porcentaje de fitol notablemente en la segunda cosecha. Por otra parte, *V. litoralis* fue la especie con los mayores porcentajes de octenol (13,7 y 26,3 %), mientras que en las especies restantes solamente se observó 0,3 a 7,7 % de ese componente. Finalmente, los sesquiterpenos oxigenados disminuyeron su concentración en la segunda cosecha en todas las especies (Tabla 2).

Discusión

Los aceites esenciales de las especies de *Verbena* nativas de la provincia de Buenos Aires obtenidas de plantas de las parcelas experimentales no mostraron variación en la composición con respecto a los provenientes de plantas de la misma especie de poblaciones naturales (Rodríguez Morcelle, 2013). Sin embargo, los aceites esenciales obtenidos de las especies cultivadas durante dos años (2009/2010 y 2010/2011) presentaron diferentes características según la temporada. Las esencias obtenidas en el primer año de cultivo (2009/2010) mostraron un alto contenido de fitol y bajo de pentadecanona. En los aceites esenciales provenientes de material del segundo año de cultivo (2010/2011), el porcentaje de fitol fue menor y el de pentadecanona fue mayor que en el primer año.

Asimismo, en las esencias de *V. litoralis* y *V. montevidensis* se observó un aumento en el contenido de octenol. Estos cambios en la composición de los aceites esenciales durante el cultivo bianual de las especies podría deberse a las condiciones fisiológicas de las plantas según su edad. Por otro lado, esos cambios también podrían atribuirse a las abundantes precipitaciones registradas en la primera temporada y al déficit hídrico observado en la segunda temporada de cultivo. Estas condiciones climáticas afectaron de igual manera a las poblaciones naturales, que mostraron el mismo comportamiento que el cultivo respecto al contenido de los componentes mayoritarios de las esencias.

Por otra parte, no se registraron variaciones en el rendimiento de las esencias, y los niveles se mantuvieron debajo del 0,1 % (ml/100 g de materia seca). Según Ricciardi (2006), el rendimiento de las esencias de tres especies de Verbenaceae estuvo estrechamente vinculado con el período de lluvias.

Diferentes autores informaron sobre la composición química de los aceites esenciales de *V. officinalis* (Chalchat y Garry, 1996; Shams Ardakani y col., 2003; Zoubiri y Baaliouamer, 2011), de *V. bonariensis*, *V. venosa* (= *V. rigida*) y de *V. supina* (Al-Amier y col., 2005), que mostraron diferente tipo y porcentaje de componentes respecto a las esencias de las especies de *Verbena* nativas de Buenos Aires.

Tabla 1.- Composición de los aceites esenciales de las sumidades florales de las especies de *Verbena* del estudio

Cosechas	<i>V. bonariensis</i>		<i>V. litoralis</i>		<i>V. montevidensis</i>		<i>V. gracilescens</i>		<i>V. rigida</i>		
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	
TR (min)	Componentes										
4,10	Nonano	0,01	0	0	0	0	0	0,01	0	0,01	0
6,52	Oct-1-en-3-ol	5,0	1,4	3,7	0,7	0,3	0,4	4,2	0,5	2,6	tr
9,21	Nonanal	tr	0	tr	0	0	0	0	0	tr	0
9,25	3,7-Dimetil-1,6-octadien-3-ol	0,3	0	0,4	0	0,1	0	1,0	0	0,7	0
10,70	Salicilato de metilo	tr	0	0,01	0	tr	0	tr	0	tr	0
10,90	Terpineol	0,1	0	0,1	0	0,1	0	0,2	0	0,2	0
12,84	Tridecano	tr	0	tr	0	0	0	tr	0	tr	0
13,84	6,6-Dimetilciclohexa-1,3-dienilprop-1-enil cetona	tr	0	0,1	0	0,1	0	0,3	0	0,2	0
15,06	Hexadecano	0,2	0	0,1	0	tr	0	0,3	0	0,1	0
15,36	Sin identificar	1,4	0	0,8	0	0,5	0	1,0	0	0,6	0
15,50	Sin identificar	2,3	0	1,4	0	0,8	0	1,5	tr	1,0	0
16,47	<i>p</i> -Menta-1(7),8(10)-dien-9-ol	3,4	1,0	1,6	0	0,8	tr	0,3	tr	0,8	tr
16,68	Tetradecanal	0,1	0	tr	0	tr	0	0,1	tr	0,1	0
19,26	6,10,14-Trimetilpentadeca-2-ona	1,3	8,6	0,5	4,2	0,3	0,3	1,1	0,9	1,4	0,1
20,42	No identificado	0	0,9	0	0,7	0	0	0	0	0	0
21,77	Eneicosano	0,2	0	0,1	0	0,1	0,1	0,2	0,2	0,4	tr
21,85	Fitol	84,9	83,7	90,9	91,4	96,9	98,7	89,0	97,7	89,5	99,6
22,40	No identificado	0	0	0	0	0	0	0,1	0	0,3	0
23,48	Tricosano	0,4	2,6	0,1	1,9	0,1	0,2	0,3	0,3	0,7	0,1
23,80	4,8,12,16-Tetrametilheptadecan-4-ólido	0	0	0	0	tr	0	tr	0	tr	0
25,04	Pentacosano	0,4	1,8	0,1	1,1	0,1	0,2	0,5	0,4	1,1	0,1
	Número de componentes	18	7	17	6	16	7	19	9	20	7
Componentes agrupados											
	Hidrocarburos monoterpénicos (HM)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Monoterpenos oxigenados (MO)	3,7	1	2,1	-	1	-	1,7	-	2	tr
	Hidrocarburos sesquiterpénicos (HS)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sesquiterpenos oxigenados (SO)	1,3	8,6	0,5	4,2	0,3	0,3	1,1	0,9	1,4	0,1
	Diterpenos oxigenados (DO)	84,9	83,7	90,9	91,4	96,9	98,7	89	97,7	89,5	99,6
	Hidrocarburos lineales (HL)	1,2	4,5	0,4	3,1	0,2	0,5	1,3	0,8	2,3	0,2
	Otros compuestos oxigenados (OC)	5,1	1,4	3,7	0,7	0,3	0,4	4,4	0,5	3	tr
	Desconocidos (D)	3,7	0,9	2,2	0,7	1,3	0,1	2,5	tr	1,7	-
	Componentes identificados	96	99,1	97,7	99,3	98,7	99,9	97,5	99,9	98,2	100

tr: trazas. 1: primer corte 15/01/2010 - (primera cosecha); 2: segundo corte 1/04/2010 - (segunda cosecha). Cultivo, campaña 2009/2010.

Tabla 2.- Composición de los aceites esenciales de las flores de las especies de *Verbena* del estudio

Cosechas		<i>V. bonariensis</i>		<i>V. litoralis</i>		<i>V. montevidensis</i>		<i>V. graciliscens</i>		<i>V. rigida</i>	
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
TR(min)	Componentes										
4,10	Nonano	0,1	0,1	0,3	0,01	0,5	0,1	0,2	0,1	0,4	0,4
6,52	Oct-1-en-3-ol	2,8	2,0	13,7	26,3	7,7	6,0	1,9	0,9	0,9	0,3
9,21	Nonanal	0,5	0,1	0,8	3,2	0,3	2,4	0,1	0,1	0,1	0,1
9,25	3,7-Dimetil-1,6-octadien-3-ol	0,6	0,5	1,4	1,9	0,8	0,6	0,4	0,3	0,9	0,4
10,70	Salicilato de metilo	tr	tr	0	0,3	0	0,1	0	0	0	0
10,90	Terpineol	0,1	0,1	0,3	0,4	0,1	tr	0,1	tr	0,1	0,2
12,84	Tridecano	0,1	4,9	0,1	2,3	0,4	0,4	0,1	0,3	0,3	tr
13,84	6,6-Dimetilciclohexa-1,3-dienilprop-1-enil cetona	0	0,1	tr	0,6	0	tr	0	tr	tr	0,1
15,06	Hexadecano	2,2	2,9	0,9	2,7	0,4	0,9	0,4	0,1	0,3	0,1
15,36	No identificado	0	1,0	0	0,7	0	tr	0	tr	0	0,1
15,50	No identificado	0	2,1	0	1,1	0	tr	0	0,1	0	0,1
16,47	<i>p</i> -Menta-1(7),8(10)-dien-9-ol	0	0,9	0	1,7	tr	0,1	0	0,2	0	0,1
16,68	Tetradecanal	0	1,0	0	2,1	0	2,8	0	3,4	0	0,8
19,26	6,10,14-Trimetilpentadeca-2-ona	41,7	36,9	22,8	12,3	40,3	13,1	38,5	6,0	31,8	15,8
20,42	No identificado	0	1,5	0	1,8	0	0	0	0	0	0,1
21,77	Eneicosano	3,1	2,5	2,7	2,5	4,8	2,9	3,6	1,0	3,7	0,8
21,85	Fitol	40,9	36,6	53,3	36,2	32,9	66,1	48,6	84,3	52,1	77,8
22,40	No identificado	0,2	0,1	0	tr	0	0	0	0,1	0,3	0
23,48	Tricosano	4,0	4,6	2,2	2,6	4,6	2,9	3,4	1,7	3,7	1,2
23,80	4,8,12,16-Tetrametilheptadecan-4-ólido	0,2	0,2	0,1	0,1	0,4	0,2	0,2	0,2	0,5	0,3
25,04	Pentacosano	3,5	1,7	1,4	1,1	7,1	1,2	2,5	1,3	4,9	1,3
	Número de componentes	15	21	14	21	14	19	13	19	15	19
Componentes agrupados											
	Hidrocarburos monoterpénicos (HM)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Monoterpenos oxigenados (MO)	0,7	1,7	1,7	4,6	0,8	0,7	0,5	0,4	1	0,8
	Hidrocarburos sesquiterpénicos (HS)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sesquiterpenos oxigenados (SO)	41,7	36,9	22,8	12,3	40,3	13,1	38,5	6	31,8	15,8
	Diterpenos oxigenados (DO)	41,1	36,8	53,4	36,3	33,3	66,3	48,8	84,4	52,6	78,1
	Hidrocarburos lineales (HL)	13,1	16,7	7,7	11,1	17,7	8,5	10,2	4,5	13,4	3,7
	Otros compuestos oxigenados (OC)	3,3	3,3	14,4	32	8	11,3	2	4,4	1,2	1,2
	Desconocidos (D)	-	4,6	-	3,6	-	tr	-	0,1	-	0,3
	Componentes identificados	100	95,4	100	96,3	100	99,9	100	99,9	100	99,6

tr: trazas; 1: primer corte 20/12/2010 - (primera cosecha); 2: segundo corte 15/04/2011 - (segunda cosecha).

El compuesto oxigenado octenol, encontrado en las esencias de las especies bonaerenses de *Verbena*, también ha sido informado para otras especies de Verbenaceae, aunque en proporciones menores (Stashenko y col., 2003; Tavares y col., 2005; Di Leo Lira y col., 2008; Gouollaly y col., 2010; Rojas y col., 2010).

Al-Amier y col. (2005) también informaron la presencia de 18 % de fitol en las esencias de *V. venosa* (= *V. rigida*), pero en *V. bonariensis* (1,26 %) y en *V. supina* (1,14 %) su presencia fue mucho menor. En otros representantes de Verbenaceae, Crabas y col. (2003) encontraron que este compuesto como componente era mayoritario en las hojas de *Aloysia triphylla* (sin. *A. citriodora*) en un extracto CO₂ obtenido con tecnología supercrítica. Sin embargo, la extracción supercrítica puede, en determinadas condiciones de presión y temperatura, extraer la fracción más lipofílica de una planta. Así estos autores encontraron una composición tan atípica en *A. triphylla* que no es representativa de su aceite esencial, sino de la composición de ceras presentes en esta especie.

En la industria el fitol es utilizado como ingrediente de fragancias en cosméticos, fragancias finas, champús y jabones de tocador, así como en productos no cosméticos, como detergentes y productos de limpieza (McGinty y col., 2010). La pentadecanona, en cambio, es una cetona alifática sustituida que ha sido escasamente informada para especies de la familia Verbenaceae.

Las especies de *Verbena* estudiadas podrían presentar potencial uso medicinal debido a que los componentes mayoritarios de sus aceites esenciales presentan actividades biológicas. El fitol y la pentadecanona son citados como posibles agentes terapéuticos en diversas enfermedades, como artritis, diabetes, tuberculosis y cáncer. Además, se ha demostrado que esencias con composición similar a la observada en este estudio exhiben actividad antimicrobiana y repelencia a mosquitos vectores de la malaria (Phutdhawong y col., 2004; Al-Amier y col., 2005; Innocent y col., 2008; Ogunlesi y col., 2009; Rocha y col., 2012; Dangarembizi y col., 2013).

Este estudio representa una contribución al conocimiento de estas especies nativas en condiciones de cultivo, ya que crecieron en las mismas condiciones edáficas y climáticas. De esta manera los resultados son independientes de los numerosos factores

ecológicos y geográficos que producen diferencias cuali y cuantitativas en la composición de los aceites esenciales (Bandoni, 2000; Ocampo, 2007).

Referencias bibliográficas

- Al-Amier, H.; El-Hela, A.A.; Al-Khadrawy, F.M.; Craker, L.E. (2005). "Comparative evaluation of the constituents in some *Verbena* species cultivated in Egypt." *J. Herbs, Spices Med. Plants* 11(3): 25-33.
- Bandoni, A. (ed.). (2000). *Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica*. Ed. UNLP-CYTED: 410 pp.
- Barboza, G.; Cantero, J.; Núñez, C., Ariza Espinar, L. (2006). *Flora Medicinal de la provincia de Córdoba (Argentina)*. Museo Botánico de Córdoba. Argentina: 1251 pp.
- Barboza, G.; Cantero, J.; Núñez, C.; Pacciaroni, A.; Ariza Espinar, L. (2009). "Medicinal plants: A general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native Argentine Flora". *Kurtziana* 34(1-2): 7-365.
- Castro-Gamboa, I.; Castro, O. (2004). "Iridoids from the aerial parts of *Verbena littoralis* (Verbenaceae)". *Phytochemistry* 65: 2369-2372.
- Chalchat, J.C.; Garry, R. P. (1996). "Chemical composition of the leaf oil of *Verbena officinalis* L.". *J. Essent. Oil Res.* 8(4): 419-420.
- Crabas, N.; Marongiu, B.; Piras, A.; Pivetta, T.; Porcedda, S. (2003). "Extraction, separation and isolation of volatiles and dyes from *Calendula officinalis* L. and *Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton by supercritical CO₂". *J. Essent. Oil Res.* 15(5): 350-355.
- Crivos, M.; Martínez, M.; Pochettino, M.; Remorini, C.; Sy, A.; Teves, L. (2007). "Pathways as 'signatures in landscape': Towards ethnography of mobility among the *Mbya-Guaraní* (Northeastern Argentina)". *J. Ethnobiol. Ethnomedicine* 3:2. (En línea) <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1774561/pdf/1746-4269-3-2.pdf>> [Consulta: 24 de abril de 2012].
- Dambolena, J.S.; Zunino, M.P.; Lucini, E.I.; Zygodlo, J.A.; Banchio, E.; Biurrun, F.; Rotman, A.; Ahumada, O. (2010). "Aromatic plants of north-west Argentina. Constituents of the essential oils of aerial parts of seven Verbenaceae: *Lantana* and *Aloysia*". *J. Essent. Oil Res.* 22(4): 289-293.

- Di Leo Lira, P.; van Baren, C.M.; Retta, D.; Bandoni, A.L.; Gil, A.; Gattuso, M.; Gattuso, S. (2008). "Characterization of Lemon Verbena (*Aloysia citriodora* Palau) from Argentina by the Essential Oil". *J. Essent. Oil Res.* 20(4): 350-353.
- Gloerich, J.; Ruiters, J.P.N.; van den Brink, D.M.; Ofman, R.; Ferdinandusse, S.; Wanders, R.J.A. (2006). "Peroxisomal *trans*-2-enoyl-CoA reductase is involved in phytol degradation". *FEBS Lett.* 58: 2092-2096.
- Innocent, E.; Gikonyo, N.K.; Nkunya, M.H. H. (2008). "Repellence properties of long chain aliphatic methyl ketones against *Anopheles gambiae* s. s. Tanz". *J. Health Res.* 10: 50-54.
- Martínez Crovetto, R. (1981). "Las plantas utilizadas en medicina popular en el NO de Corrientes". *Miscelánea* 69: 89-92.
- McGinty, D.; Letizia, C.S.; Api, A.M. (2010). "Fragrance material review on phytol". *Food Chem. Toxicol.* 48: S59-S63.
- O'Leary, N.; Múlgura, M.E.; Morrone, O. (2007). "Revisión Taxonómica de las especies del género *Verbena* (Verbenaceae): serie Pachystachyae". *Ann. Miss. Bot. Garden* 94: 571-621.
- Ocampo, R.A. (ed). (1994). *Domesticación de plantas medicinales en Centroamérica*. Serie Técnica. Informe técnico N° 245. CATIE, Costa Rica. 132 pp.
- Ocampo, R.A. (2007). *Manual de agrotecnología de plantas medicinales nativas*. Ed. Sanabria. Costa Rica. 144 pp.
- Ogunlesi, M.; Okie, W.; Ofor, E.; Osibote, E.A.S. (2009). "Analysis of the essential oil from the dried leaves of *Euphorbia hirta* Linn (Euphorbiaceae), a potential medication for asthma". *Afr. J. Biotechnol.* 8(24): 7042-7050.
- Phutdhawong, W.; Donchai, A.; Korth, J.; Pyne, S.G.; Picha, P.; Ngamkham, J.; Buddhasukh, D. (2004). "The components and anti-cancer activity of the volatile oil from *Streblus asper*". *Flavour Frag. J.* 19(5): 445-447.
- Ricciardi, G.A.L. (2006). "Variaciones fitoquímicas en aceites esenciales de especies medicinales del NE argentino: *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc. var. *gratissima*; *Aloysia virgata* var. *platyphylla* (Briquet) Moldenke y *Lippia alba* (Miller) N. E. Brown". Trabajo de Tesis presentada para optar al Título de Doctor, especialidad Química, de la Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Corrientes, Argentina.
- Rocha, G.F.; Calloni, S.; Rodríguez Morcelle, M.; Rosso, A.M., Gattuso, M.; Parisi, M.G. (2012). "Antimicrobial capacity and phenolic content of extracts and essential oils from *Verbena bonariensis*. *AAPS Pharm. Sci. Tech.*" (En prensa).
- Rodríguez Morcelle, M.; Gattuso, M.A.; Apóstolo, N.M. (2012). "Stem and leaf anatomy of six species of *Verbena* native to Buenos Aires province, Argentina". *New Zealand J. Bot.* 50(1): 3-14.
- Rodríguez Morcelle, M. (2013). "Estudios morfoanatómicos, fitoquímicos y agronómicos de las especies nativas del género *Verbena* de la provincia de Buenos Aires". Tesis para optar al título de Doctor en la orientación Ciencias Aplicadas. Universidad Nacional de Luján.
- Rojas, L.B.; Velasco, J.; Díaz, T.; Gil Otaiza, R.; Carmona, J.; Usubillaga, A. (2010). "Composición química y efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton contra patógenos genito-urinarios". *BLACPM* 9(1): 56-62.
- Rontani, J.F.; Volkman, J.K. (2003). "Phytol degradation products as biogeochemical tracers in aquatic environments". *Org. Geochem.* 34: 1-35.
- Shams Ardakani, M.; Mosaddegh, M.; Shafaati, A. (2003). "Volatile constituents from the aerial parts of *Verbena officinalis* L. (vervain)". *Iranian J. Pharmac. Res.* 2(1): 39-42.
- Sun, M-Y; Wakeham, S.G.; Aller, R.C.; Lee, C. (1998). "Impact of seasonal hypoxia on diagenesis of phytol and its derivatives in Long Island Sound". *Mar. Chem.* 62: 157-173.
- Tavares, E.S.; Julião, L.S.; Lopes, D.; Bizzo, H.R.; Lage, C.L.S.; Leitão, S.G. (2005). "Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes". *Rev. Bras. Farmacogn.* 15(1): 1-5.
- Zoubiri, S.; Baaliouamer, A. (2011). "Larvicidal activity of two Algerian *Verbenaceae* essential oils against *Culex pipiens*". *Vet. Parasitol.* 181: 370-373.

Fracción aislada de *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae) en el control del biodeterioro de documentos patrimoniales

José de la Paz Naranjo¹, Sandra Gómez de Saravia², Patricia Battistoni³*,
María Larionova⁴, Patricia Guiamet^{3, 5}

¹ Museo Ernest Hemingway. Finca Vigía, km 12 ½, San Francisco de Paula, 19180. San Miguel del Padrón, Ciudad de La Habana, Cuba. delapazjn@yahoo.es

² Centro de Investigaciones y Desarrollo en Tecnología de Pinturas-CIDEPINT (CICBA-CONICET), 52 e/121 y 122, La Plata (1900), Argentina. sandragomezdesaravia@yahoo.com.ar

³ Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA). UNLP, CCT La Plata – CONICET. CC 16, Suc. 4, (1900), La Plata, Buenos Aires, Argentina.

⁴ Instituto Superior de Medicina Militar “Dr. Luis Díaz Soto” Avenida Monumental y Carretera del Asilo. 11700. Ciudad de La Habana. Cuba. ismmds@infomed.sld.cu

⁵ Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. CONICET. Argentina. pguiamet@inifta.unlp.edu.ar

* Autor a quien dirigir la correspondencia: patbat@inifta.unlp.edu.ar

Resumen

Microorganismos, insectos y roedores causan alteraciones en documentos y objetos de interés patrimonial. Para combatirlos son empleados numerosos métodos; algunos causan un impacto negativo en el medio ambiente, dañan la salud del personal que los aplica y aceleran el proceso natural de deterioro. Los productos naturales obtenidos de plantas son una elección efectiva para combatirlos pues, entre sus beneficios, está el no contaminar el medio ambiente. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto biocida de una fracción aislada de hojas de *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae) en el control del biodeterioro de documentos patrimoniales. Se evaluó su actividad antimicrobiana frente a microorganismos aislados de documentos depositados en el Archivo Nacional de la República de Cuba y en el Archivo Histórico del Museo de La Plata, Argentina. Se determinó el efecto de la fracción sobre la acidez y la reserva alcalina del papel después de un proceso de envejecimiento acelerado y se calculó la dosis letal media (DL50) en ratones. La fracción de *R. communis* se aisló por extracciones sucesivas con solventes orgánicos de polaridad creciente. La caracterización química de la fracción aislada se determinó por espectroscopía IR y cromatografía en silicagel. El espectro IR mostró la presencia de un grupo nitrilo y otro, grupo carboxilo. En la cromatografía se identificaron 7 compuestos, entre los que predominaron ricinina y rutina. La actividad antimicrobiana se determinó por el método de difusión radial simple y tuvieron efecto dosis dependiente sobre *Enterobacter agglomerans*, *Bacillus polimixa* y *Streptomyces sp.* No se encontraron variaciones estadísticamente significativas en los valores de pH y la reserva alcalina. Estos y futuros resultados permitirán obtener un producto natural con actividad biocida, útil en el control del biodeterioro.

Palabras clave: biocida - biodeterioro - *Ricinus communis* L.

Key words: biocide - biodeterioration - *Ricinus communis* L.

Isolated Fraction of *Ricinus communis* L. in the Control of Biodeterioration of Heritage Documents

Summary

Microorganisms, insects and rodents cause alterations in documents and heritage objects of interest. To combat them numerous methods are employed, some have a negative impact on the environment, they also damage the health of the staff who apply them, and accelerate the natural process of deterioration. Natural products from plants are an effective choice to combat them, among their benefits, one is not polluting the environment. The objective of this work was to determine the biocidal effect of a fraction isolated from leaves of *Ricinus communis* L. in the control of biodeterioration of heritage documents. We evaluated their antimicrobial activity against isolates of documents deposited in the National Archives of the Republic of Cuba and in the Historical Archive of the Museum of La Plata, Argentina. The effect of the fraction of the alkaline reserve and acidity of paper after an accelerated aging process was determined, and the median lethal dose (LD₅₀) in B₆D₂F₁ male mice (18-20 g) was calculated. The *Ricinus communis* L. fraction was isolated by successive extractions with organic solvents of increasing polarity. The chemical characterization of the isolated fraction was determined by IR spectroscopy and chromatography on silica gel. The IR spectrum showed a band at 2222 cm⁻¹ attributed to the nitrile group and another band at 1659 cm⁻¹ attributed to the carboxyl group. The chromatography showed 7 elements among which ricin and rutine predominated. The antimicrobial activity was determined by single radial diffusion method. Concentrations of 0.5 and 1.0 mg / hole were dose dependent on *Enterobacter agglomerans*, *Bacillus polimixa*, and *Streptomyces* sp. There were no statistically significant variations in the values of pH and alkaline reserve. The oral LD₅₀ was calculated at 388.08 mg / Kg. These, and future results will get a natural product with biocidal activity, useful in biodeterioration.

Introducción

Hace más de 2.300 años ya Aristóteles, en *Historia Animalium*, escribió: “El documento no debe ser visto como objeto físico sino como vínculo de memoria. Este nexo lo hace pieza clave del patrimonio cultural de una nación y de la humanidad. Su conservación es una necesidad de primer orden. Sin él resulta imposible relatar los hechos que conforman la historia de un país. Los primeros factores de alteración fueron, el propio hombre con sus guerras –lo que ocasionaba incendios y destrucción– y las inundaciones de los grandes ríos como el Tigris y Éufrates que acabaron con poblados enteros y con sus archivos y bibliotecas. Posteriormente, fueron los insectos los que ocasionaron las mayores pérdidas”.

Los agentes biológicos que causan alteraciones en archivos, bibliotecas y museos son esencialmente microorganismos (hongos y bacterias), roedores e insectos.

Bacillus sp. por ejemplo, puede atacar la celulosa, el pergamino y las colas, provocan el deterioro de los documentos debido a la producción de metabolitos como amilasa, celulasas, N - acetil - β - glucosaminidasa, ácido láctico y fosfatasa ácida, que causan descenso de pH y originan manchas violáceas o rojizas y quiebres en el papel. *Streptomyces* sp. tiene actividad celulolítica y lignolítica y ha sido aislado de pegamentos, libros antiguos, periódicos, pergaminos y documentos con encuadernación en cuero (Aktuganov y col., 2007).

Para combatir el biodeterioro del patrimonio documental son empleados numerosos métodos, como: agua oxigenada, hipoclorito de sodio, amonio, tributil estaño, fenol, timol y salicililidas (Ramírez Muñoz, 2011); causan un impacto negativo en el medio ambiente, dañan la salud del personal que los aplica y aceleran el proceso natural de deterioro de los materiales que los reciben. Otros, como el uso de gases inertes son de eficacia demostrada, pero sus condiciones técnicas y de costo limitan su generalización y la aplicación en determinadas instituciones culturales (Valentin, 2004).

Ricinus communis L. (Euphorbiaceae) (“higuerilla”, “higuereta”, “palmacristi”, “ricino”, “higuer del diablo”, entre otros), es una planta exótica invasiva presente en muchos países y cultivada en algunas regiones del mundo por el aceite de sus semillas. Es nativa de clima tropicales aunque se ha adaptado a climas subtropicales y templados (Ali y col., 2008).

La planta tiene diversos usos, por ejemplo; los tallos se utilizan para la fabricación de papel, pero las semillas son lo más importante económicamente; de ellas se extrae el aceite de ricino o de castor, que se utiliza para combatir el dolor de estómago, la fiebre, la gripe, las infecciones y las anginas, como emoliente y cicatrizante, pero también como lubricante técnico importante para la manufactura de jabones y tinturas (Scarpa y Guerci, 1982).

Las semillas de esta planta contienen alrededor del 50 % de aceite, ricinina (alcaloide) y ricina, una glicoproteína - lectina, muy tóxica que aglutina los glóbulos rojos sanguíneos y que permanece en la pulpa después de extraer el aceite. Los análisis químicos de las semillas y la composición elemental de las células del endosperma confirman el alto potencial de *R. communis* como una rica fuente de proteína y aceite con posibles usos en la producción de biodiésel (Perea-Flores y col., 2011).

Estudios científicos avalan su efecto biocida contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Streptococcus progenies*, *Klebsiella pneumonia* y *Aspergillus niger*, así como sus propiedades antioxidante, antiasmática, antidiabética, inmunomoduladora, hepatoprotectora, lipolítica y antiinflamatoria (Jena y Gupta, 2012).

Por lo expuesto fue objetivo de este trabajo estimar el efecto biocida de una fracción aislada de las hojas de *Ricinus communis* en el control del biodeterioro de documentos patrimoniales y valorar su efecto sobre la estabilidad del papel.

Materiales y métodos

Material vegetal, aislamiento e identificación de la fracción

Como material vegetal se emplearon las hojas del *Ricinus communis* (Figura 1) que crecen en la provincia de Ciudad de La Habana, Cuba.

Figura 1.- *Ricinus communis* detalle de la planta



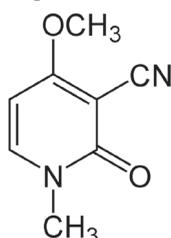
La especie en estudio pertenece a la familia Euphorbiaceae y se encontraba en estadio de floración en el momento de la recolección. Las hojas se lavaron con agua y luego se secaron en estufa con recirculación de aire a temperatura entre 37 - 40 °C durante 24 horas.

El material secado fue molido en forma mecánica y se obtuvo un producto de partículas muy finas. Se hidrató con 1 litro de agua caliente y se concentró al vacío hasta ¼ del volumen inicial. Seguidamente, se filtró y el filtrado fue extraído con acetato de etilo (EtOAc) en ampolla de decantación. A continuación fue evaporado el solvente hasta su sequedad total, y el residuo fue disuelto en etanol caliente y se dejó enfriar para su cristalización. Posteriormente los cristales formados fueron recristalizados por

tres tiempos y secados a 40 °C. Los tres tiempos se hicieron con el objetivo de obtener cristales purificados. La solución de etanol fue evaporada al vacío y obtenida la fracción que se iba a evaluar.

La identificación de los cristales se determinó por espectroscopía infrarrojo medio. Del mismo modo, fue realizada una cromatografía en capa delgada (TLC) (sílica gel 60 F254) para conocer su composición química. El sistema de solvente utilizado fue EtOAc- MeOH- H₂O (100:17:13); revelador: AlCl₃ 5 % en MeOH, UV 366 nm. Los patrones utilizados para la corrida cromatográfica fueron rutina (quercetina - 3 - rutinósido) y ricinina, alcaloide tóxico que se encuentra en las semillas del *Ricinus communis* y que actúa inhibiendo la síntesis de proteínas al unirse de manera irreversible a los ribosomas eucariotas (Figura 2).

Figura 2.- Estructura química de la ricinina



Determinación de la actividad antimicrobiana

Fueron utilizadas en el ensayo *Enterobacter agglomerans* (bacteria Gram negativa), *Bacillus polymixa* y *Streptomyces* sp. (bacterias Gram positivas), aisladas de documentos depositados en el Archivo Nacional de la República de Cuba y en el Archivo Histórico del Museo de La Plata, Argentina.

Previo al estudio las bacterias se mantuvieron en agar nutritivo por 24 h, y posteriormente se preparó una suspensión bacteriana que correspondió a 1×10^6 UFC/ml, según escala de Mc Farland. La actividad antimicrobiana de la fracción fue determinada por el método de difusión radial simple en pocillos (Borrego y col., 2011).

Se sembraron placas de Petri con 15 ml de agar nutritivo estéril con la suspensión bacteriana y 10 μ l de la fracción en medio acuoso que fue adicionado en los pocillos (\varnothing 5 mm). Cada ensayo fue realizado por triplicado y se evaluaron 4 dosis (0,12; 0,25; 0,50 y 1,0 mg/pocillo). Un pocillo adicional –con agua estéril– fue incluido en el ensayo como control negativo, y otro –con sulfato de gentamicina a la concentración de 0,40 mg/pocillo– como control positivo. Posteriormente las placas se incubaron por 24 h a 28 °C y se observaron las zonas de inhibición del crecimiento, que fueron medidas en milímetros. El diámetro (d) de los halos de inhibición se midió en mm: $d \leq 6$ sin actividad; entre 6-9 actividad moderada; ≥ 9 actividad positiva.

Determinación de la dosis letal media (DL₅₀)

La toxicidad aguda de la fracción aislada de las hojas de *R. communis* fue determinada en ratones híbridos machos B₆D₂F₁ (18 – 20 g). Los animales fueron mantenidos en ayunas 8 horas antes del experimento. En el momento del ensayo recibieron la fracción aislada en dosis única (no fraccionada) por vía oral en medio acuoso, y fueron observados por un período de 48 h (corto plazo) para registrar la aparición de síntomas tóxicos o muerte. La DL₅₀ fue calculada usando el método Litchfield y Wilcoxon (Glantz, 1992). Las dosis evaluadas se presentan en la tabla 1.

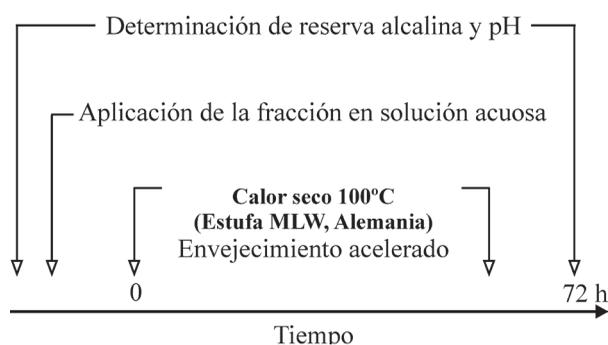
Tabla 1.- Estimación de la DL₅₀

Grupo	Dosis mg/kg	Número de animales		Valor observado	Valor calculado
		Muertos	Total		
1	250	0	10	0,12	0,41
2	300	1	10	10	6,11
3	350	2	10	20	26,76
4	400	4	10	40	57,21
5	450	9	10	90	81,29
6	500	10	10	97,88	93,59

Estudio de acidez en tiras de papel

Las variables predictivas usadas fueron: contenido mínimo de carbonato cálcico que neutraliza la acción de los ácidos, medida según la reserva alcalina y el pH, que se midió con un electrodo de membrana plana acoplado a un pH-metro de precisión (Metrohm 780, Suecia). Ambas determinaciones se realizaron antes y después del envejecimiento acelerado. Se utilizó agua destilada como control negativo (Figura 3).

Figura 3.- Marcha de trabajo para el estudio de la acidez



El método de envejecimiento acelerado empleado fue el descrito por Browning (1969); utiliza el calor seco a 100 °C durante 72 horas para predecir efectos en aproximadamente 25 años a temperatura ambiente y se sustenta en la ecuación de Arrhenius (Browning, 1969):

$$k = s (-E_a/RT)$$

donde:

K: constante de la reacción; E_a : energía de activación; R: constante de los gases; T: temperatura absoluta del proceso en grados Kelvin; S: factor de frecuencia.

El extracto acuoso en concentración de 100 mg/ml (100 mg de cristales de fracción aislada en 1 ml de agua destilada) se aplicó con la ayuda de una pipeta automática Eppendorf, hasta la saturación de las tiras de papel de 2 cm² (Papel Archive Text. Ref. 678-70A4). Fue incluido un control con agua destilada. Todos los ensayos se realizaron por cuadruplicado y el volumen absorbido fue de 1 ml.

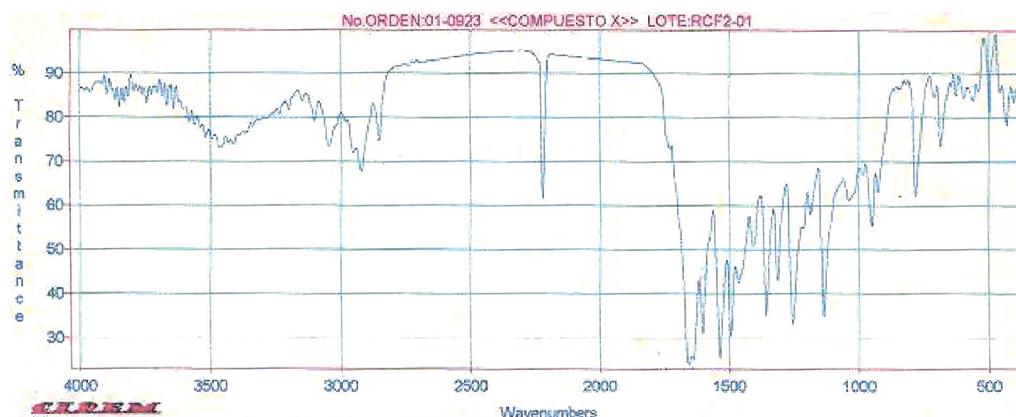
Análisis estadístico

Para detectar diferencias significativas entre valores antes y después del proceso de envejecimiento del papel (reserva alcalina y pH) y la actividad antimicrobiana (0,12; 0,25; 0,50 y 1,0 mg/pocillo) de la fracción aislada, se utilizó el Test T. El nivel de significación fue de p menor o igual que 0,05.

Resultados y discusión

El análisis espectroscópico y cromatográfico de la fracción aislada de las hojas de *R. communis*, empleando la cromatografía en capa delgada (TLC), reveló la presencia de rutina y el alcaloide ricinina. Además, en el espectro IR, se detectó una banda intensa a 2222 cm⁻¹ atribuida al grupo nitrilo y otra banda relativa a los 1659 cm⁻¹ atribuida al grupo carboxilo (Figura 4).

Figura 4.- Espectro IR de la fracción aislada de las hojas de *Ricinus communis*



La literatura científica refiere que los flavonoides tienen efecto biocida y que los preparados obtenidos de esta planta han demostrado efecto antibacteriano y antifúngico, que sugiere que estos compuestos serían responsables de la actividad encontrada en nuestra investigación (Jena y Gupta, 2012; Takano y col., 2007).

La calidad, la composición, las propiedades fisicoquímicas y la naturaleza del aceite de *Ricinus communis* varía de acuerdo con el método de extracción empleado (Perdomo y col., 2013).

Por otro lado, Farah y col. (1988) plantea que la ricinina inhibe la cadena de transporte electrónico, que podría justificar el efecto encontrado en este estudio de la actividad biocida ante bacterias, partiendo de la base de que la cadena de transporte electrónico es fundamental para la vida celular de los organismos aeróbicos, ya que es su principal fuente de obtención de energía.

La actividad antibacteriana y antifúngica de *R. communis* ha sido informada por varios investigadores. Sin embargo, Upasani y col. (2003) encontraron una actividad insignificante.

En este trabajo, en general, se observó una actividad moderada de *R. communis*, la mayor fue para *Enterobacter agglomerans*, posiblemente por ser Gram negativa. *Bacillus polimixa* fue el más resistente (Tabla 2). Este género bacteriano es el más resistente entre las bacterias Gram positivas (Lennette, 1985) y es una especie formadora de esporas. Sin embargo, (Jena y Gupta, 2012) informan efecto frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger*; de diferentes extractos a la concentración de 200 mg/mL.

Se ha encontrado efecto tóxico de la ricinina sobre el sistema nervioso central en ratones, y efectos como insecticida, ovicida y ovoposicida, frente a *Callosobruchus chilensis* L., uno de los coleópteros más destructores de granos de leguminosas almacenados. Este efecto es interesante, pues los insectos se encuentran entre los agentes biológicos deteriorantes presentes en archivos, bibliotecas y museos.

El sulfato de gentamicina, aminoglucósido, fue empleado como control positivo por ser activo contra Gram negativas, especialmente *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, especies de *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*, y especies de *Staphylococcus*.

Por su parte, la DL_{50} de la fracción fue estimada en los 388,08 mg/kg (coeficiente de regresión lineal $R = 0,95$, $p \leq 0,05$). No fueron observados efectos tóxicos en los animales que recibieron el vehículo (agua destilada). El efecto fue significativo en dosis de 500 mg/kg. En estos ejemplares la muerte ocurrió en las primeras dos horas después de la administración de la droga ensayada. Estos resultados recomiendan su uso, incluso, como rodenticida ya que los roedores son responsables de pérdidas importantes en archivos y bibliotecas (Tabla 1).

La acidez es una de las causas que más influyen en el deterioro del papel y existen normas basadas casi exclusivamente en la determinación de la acidez para predecir su permanencia. Uno de los métodos más fiables es la determinación del pH, debido a la conductividad que se genera en presencia de humedad.

Por su parte, el contenido de carbonato cálcico en el papel es esencial para neutralizar la acidez generada como resultado del envejecimiento natural o de la polución atmosférica. Se entiende entonces, que

Tabla 2.- Halos de inhibición obtenidos con las diferentes concentraciones ensayadas

Concentración mg/pozo	<i>Enterobacter agglomerans</i>	<i>Bacillus polimixa</i>	<i>Streptomyces sp.</i>
Fracción de <i>Ricinus communis</i> L.	1,00	5	8
	0,50	3	6
	0,25	0	1
	0,12	0	0
Sulfato de gentamicina	0,40	17	32
Agua estéril	0	0	0

Valor promedio medido en milímetros de los diámetros de los halos.

la mínima reserva alcalina permitida para considerar permanente un papel es la equivalente a un 2 % de carbonato cálcico de su peso en seco (mínimo de 0,4 moles de ácido por kilogramo).

En este trabajo la reserva alcalina del papel empleado estuvo casi 100 veces por debajo del mínimo considerado. Esto sería perjudicial en caso de generarse un fenómeno de acidificación provocado por el producto aplicado. Sin embargo, según los resultados obtenidos, el pH y la reserva alcalina no variaron en grado estadísticamente significativo al realizar las comparaciones antes vs después de someter el papel tratado con el producto. No resultó así en los papeles que solo recibieron agua destilada (Tabla 3).

Tabla 3.- Valores de significación estadística en el estudio de acidez

Tratamiento	pH	Reserva alcalina
	Significación estadística $p \leq 0,05$	
Agua destilada	0,005	0,005
<i>Ricinus communis</i>	0,873	0,698

Se podría atribuir a la presencia de polifenoles que constituyen uno de los metabolitos secundarios más numerosos en las plantas, con más de 800 estructuras conocidas en la actualidad.

Su propiedad como antioxidante proviene de su gran reactividad como donantes de electrones de hidrógenos y de la capacidad del radical formado.

Un estudio similar con aceites esenciales obtenido de flores de *Lavandula angustifolia* Mill. (Lamiaceae) fue desarrollado por Rakotonirainy y Lavédrine (2005). En esta investigación las variables predictivas de daño empleadas fueron: pH (extracción en frío); factor de difusión de refractancia (brillo); y grado de polimerización viscosimétrica, y se midieron, igualmente, antes y después de un proceso de envejecimiento acelerado (temperatura 80 °C y humedad relativa 65 % por 21 días).

Los resultados revelaron una reducción del pH de más de una unidad, pero no alteraron el brillo y el grado de polimerización. Sin embargo, los autores recomiendan la utilización de este aceite, a bajas concentraciones, como preventivo de la contaminación fúngica en lugares donde se atesora piezas patrimoniales.

Conclusiones

1. La fracción aislada de las hojas de *Ricinus communis* mostró efecto antimicrobiano moderado y dosis dependiente y una DL_{50} estimada en ratones de 388,08 mg/kg.
2. Esta fracción no modificó la acidez y su reserva alcalina en papeles sometidos a envejecimiento artificial bajo las condiciones experimentales del estudio.
3. Estos resultados favorecen el uso prometedor de la fracción en el control del biodeterioro de los documentos patrimoniales depositados en archivos, bibliotecas y museos.

Agradecimientos

Los autores argentinos agradecen a la Universidad Nacional de La Plata (UNLP) Proyecto de incentivos 11N/578 y 11X/632, al CONICET- PIP 0200 y a CICBA (Res-833/14).

Referencias bibliográficas

- Aktuganov, G.E.; Galimzyanova, N.F.; Melent'ev, A.I.; Kuz'mina, L.Y. (2007). "Extracellular hydrolases of strain *Bacillus* sp. 739 and their involvement in the lysis of micromycete cell walls". *Microbiology* 76(4): 413-420.
- Ali, R.M.; Elfeky, S.S.; Abbas, H. (2008). "Response of salt stressed *Ricinus communis* L. to exogenous application of glycerol and/or aspartic acid". *Journal of Biological Science* 8(1): 171-175.
- Borrego, S.; Valdés, O.; Vivar, I.; Lavin, P.; Guiamet, P.; Battistoni, P.; Gómez de Saravia, S.; Borges, P. (2012). "Essential oils of plants as biocides against microorganisms isolated from Cuban and Argentine documentary heritage". *International Scholarly Research Network. ISRN Microbiology* Volume 2012, Article ID 826786, 7 pp.

- Browning, B.L. (1969). *Analysis of paper*, Chapter 24. New York: Marcel Dekker, INC: 314-317.
- Farah, M.O.; Hassan, A.B.; Hashim, M.M.; Atta, A.H. (1988). "Phytochemical and pharmacological studies on the leaves of *Ricinus communis* L.". *Egyptian Journal of Veterinary Science* 24: 169-180.
- Glantz, S.A. (1992) *Primer of Biostatistics: The program*. Version 3.01. McGraw Hill. NY.
- Jena J.; Gupta, A.K. (2012). "*Ricinus communis* Linn: A Phytopharmacological Review". *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 4(4): 25-29.
- Lenette, E.H. (1985). *Manual of Clinical Microbiology*. 4th Edition. American Association for Microbiology. Washington DC: 978-987.
- Perdomo, F.A.; Acosta-Osorio, A.A.; Herrera, G.; Vasco-Leal, J.F.; Mosquera-Artamonov, J.D.; Millan-Malo, B.; Rodriguez-Garcia, M.E. (2013). "Physicochemical characterization of seven Mexican *Ricinus communis* L. seeds & oil contents". *Biomass and Bioenergy* 48: 17-24.
- Perea-Flores, M.J.; Chanona-Pérez, J.J.; Garibay-Febles, V.; Calderón-Domínguez, G.; Terrés-Rojas, E.; Mendoza-Pérez, J.A.; Herrera-Bucio, R. (2011). "Microscopy techniques and image analysis for evaluation of some chemical and physical properties and morphological features for seeds of the castor oil plant (*Ricinus communis*)". *Industrial Crops and Products* 34(1): 1057-1065.
- Rakotonirainy, M.S.; Lavédrine, B. (2005). "Screening for antifungal activity of essential oils and related compounds to control the biocontamination in libraries and archives stores areas". *International Biodeterioration and Biodegradation* 55(2): 141-147.
- Ramírez Muñoz, S.J. (2011) "Conservación preventiva en acervos documentales. Biodeterioro y Control de Plagas en Archivos y Acervos Documentales". Reunión de Archivos del Gobierno Federal, Museo Tecnológico de la CFE, México, D.F.
- Scholz, V.; DaSilva, J.N. (2008). "Review prospects and risks of the use of castor oil as fuel". *Biomass and Bioenergy* 32: 95-100.
- Scarpa, A.; Guerci, A. (1982). "Various uses of the castor oil plant (*Ricinus communis* L.) A review". *Journal of Ethnopharmacology* 5: 117-137.
- Takano, E.H.; Busso, C.; Lucas Gonçalves, E.A.; Chierice, G.O.; Catanzaro-Guimarães, S.A.; Alves de Castro-Prado, M.A. (2007) "Inibição do desenvolvimento de fungos fitopatogênicos por detergente derivado de óleo da mamona (*Ricinus communis*)". *Ciência Rural*, 37(5): 1235-1240.
- Upasani, S.M.; Kotkar, H.M.; Mendki, P.S.; Maheshwari, V.L. (2003). "Partial characterization and insecticidal properties of *Ricinus communis* L. foliage flavonoids". *Pest Management Science* 59: 1349-1354.
- Valentin, N. (2004) *Anoxia de Desinfección. Diseño y propuestas para el control y erradicación del biodeterioro*. Jornadas monográficas. Prevención del biodeterioro en archivos y bibliotecas. Instituto del Patrimonio Histórico Español junio 2004 "Microorganismos e Insectos": 84-89.

Dominguezia

Índice acumulado

Dominguezia 30(1) 2014

- Anatomía comparada de raíces medicinales de hierbas terrestres rioplatenses (Buenos Aires, República Argentina) (MARTA N. COLARES, MARCELO P. HERNÁNDEZ, MARÍA C. NOVOA, VANESA G. PERROTTA, SILVANA AUGUET Y ANA MARÍA ARAMBARRI)
- Relación entre actividad antioxidante y contenido de fenoles y flavonoides totales en semillas de *Cucurbita* spp. (GABRIELA M. VALENZUELA, ALICIA L. CRAVZOV, ADRIANA S. SORO, ALICIA L. TAUGUINAS, MARÍA C. GIMÉNEZ Y MABEL R. GRUSZYCKI)
- Control de calidad farmacobotánico y fitoquímico de *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae) (LAURA V. VIVAS LEGUIZAMÓN, MARCELO L. WAGNER Y RAFAEL A. RICCO)
- Identificación de C-glicosilflavonas por HPLC y FTIR en extractos acuosos y metanólicos de *Passiflora coerulea* y *P. foetida* (Passifloraceae) (MARTA E. PETENATTI, MARÍA A. GETTEL, MARIANA C. POPOVICH, MARÍA F. GARRO, GERARDO CAMÍ, LESLIE ARAGÓN, LUIS A. DEL VITTO Y ELISA M. PETENATTI)
- Caracteres anatómicos, morfofuncionales y químicos de *Senecio subpanduratus* (Asteraceae) (ADRIANA GRATTI, MABEL S. FEIJÓO, ELIZABETH A. BARRIENTOS, ROXANA B. PENEFF Y EVANGELINA LAZTRA)

Dominguezia 30(2) 2014

- Determinación de calidad de “marcela” *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Asteraceae). Parámetros fitoquímicos (DAIANA S. RETTA)
- Micromorfoanatomía de hoja de *Piper patulum* Bertol. (Piperaceae) colectadas en Samayac, Suchitepéquez, Guatemala (LUIS E. ÁLVAREZ, CAROLINA ROSALES DE ZEA, ARMANDO CÁCERES)
- Estudios anatómicos y análisis fitoquímicos preliminares de Monocotiledóneas hidrófitas en “mallines” de la estepa patagónica (ELIZABETH A. BARRIENTOS, MABEL S. FEIJÓO, ROXANA B. PENEFF, EVANGELINA LAZTRA, ADRIANA C. GRATTI)
- Contenido de polifenoles en *Ligaria cuneifolia* y su relación con la capacidad antioxidante (CECILIA B. DOBRECKY, EZEQUIEL MORENO, MARIANA GARCÉS, SILVIA LUCANGIOLI, RAFAEL RICCO, PABLO EVELSON, MARCELO L. WAGNER)
- Caracterización por HPLC y FTIR de los extractos acuosos de tres especies diuréticas del centro-oeste argentino (MARÍA F. GARRO, MARÍA A. GETTE, MARTA E. PETENATTI, MARIANA C. POPOVICH, GERARDO CAMÍ, ELBIO SAIDMAN, LUIS A. DEL VITTO, ELISA M. PETENATTI)
- Plantas medicinales comercializadas en el mercado municipal de la ciudad de Pilar, Dpto. Ñeembucu, Paraguay (ISABEL BASUALDO, NÉLIDA SORIA)
- Estudio morfoanatómico de dos especies de *Myrcianthes* de las yungas, Jujuy (Argentina) (RAQUEL A. ROMEO, ALBERTO A. GURNI)

Dominguezia 31(1) 2015

- Química y farmacología de una planta medicinal argentina: *Artemisia copa* (VALERIA A. MOSCATELLI)
- Identificación de microestructuras y análisis arqueobotánico en sitios del Holoceno tardío de la llanura aluvial del Paraná medio (SILVIA CORNERO, LUCÍA RANGONE, OSVALDO DI SAPIO)
- Flavonoides de *Calendula officinalis* L. bajo cultivo. Efecto de diferentes fechas de siembra y fertilización (FEDERICO RUSSO; MARTÍN I. RODRÍGUEZ MORCELLE; NANCY M. APÓSTOLO)
- Toxicidad de aceites esenciales de Verbenaceas sobre adultos de *Diuraphis noxia* (Hemiptera: Aphididae) (CAROLINA SÁNCHEZ CHOPA, LILIAN R. DESCAMPSR)
- Calidad de hierbas medicinales por recolección directa (JAIME R. DUBNER, PERLA L. GONZÁLEZ, GRACIELA M. IBARGOYENI)
- Recursos fitogenéticos. Conservación de las especies medicinales en Paraguay (Parte I) (NÉLIDA SORIA, ISABEL BASUALDO)
- Etnobotánica histórica de las Misiones Franciscanas de Formosa I. Hallazgos documentales de fuentes primarias, análisis crítico y comparación con la obra *Erbe medicinali del Chaco* de Franzè (1925) (LEONARDO M. ANCONATANI, GUSTAVO F. SCARPA)