

# *Dominguezia*

Museo de Farmacobotánica  
"Juan A. Domínguez"

Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Universidad de Buenos Aires



*Myrtus communis* L. (Myrtaceae)



Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Universidad de Buenos Aires

Propietario  
Museo de Farmacobotánica  
"Juan Aníbal Domínguez"

# *Dominguezia*

Vol. 37(1) - 2021

## **Director Responsable:**

Dr. Marcelo Luis Wagner

## **Comisión Redactora:**

Dr. Arnaldo L. Bandoni  
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. Lionel G. Robineau (Universidad de las Antillas y de la Guyana)  
Dr. Carlos Taira (Universidad de Buenos Aires, Argentina)  
Dra. Edda 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)  
Dra. Etile Spegazzini (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)

## **Editores Científicos:**

Dr. José María Prieto-García  
Dra. Catalina M. van Baren  
Dr. Rafael A. Ricco  
Dra. Graciela B. Bassols  
Dra. Cecilia Dobrecky

## **Secretaría, Edición Electrónica y Webmaster:**

Fernando Gabriel Ranea

Edición financiada por  
el **Museo de Farmacobotánica “Juan Aníbal Domínguez”** y la **Cátedra de Farmacobotánica**,  
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  
Pharmaceutical Botany, Pharmacobotany or related subjects.

Lámina de Tapa:  
*Myrtus communis* L. (Myrtaceae)  
*Lámina extraída de Köhler's Medizinal-Pflanzen in naturgetreuen  
Abbildungen mit kurz erläuterndem Texte. Band I. (1887)*

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 SISBI, BVS MTCI Americas, CABI, LIS, UBL, PKP Index, Electronic Sites of Leading Botany,  
Plant Biology and Science Journals.  
Providing links to the world's electronic journals.

Registro de la Propiedad Intelectual N° 5353064.

Se terminó de editar en julio de 2021.

## Índice de contenido

Revisión de constituyentes químicos y propiedades biológicas en especies del género <i>Eugenia</i> (Myrtaceae) Viviana S. Bravi, María Elena del Valle .....	5
Estudio Farmacobotánico, Etnofarmacológico y Micrográfico de drogas vegetales utilizadas para las afecciones de mayor Índice de mortalidad, comercializadas en la ciudad de Posadas, Misiones Argentina. II parte. Carlos Gustavo Altamirano, Marta Yajía .....	21
Nuevo soporte para obtención de cortes de material vegetal con micrótopo rotativo .....	29
María Inés Mercado, Graciela Inés Ponessa	

## Index

Review of chemical constituents and biological properties in species of the genus <i>Eugenia</i> (Myrtaceae) Viviana S. Bravi, María Elena del Valle	5
Pharmacobotanical, Ethnopharmacological and Micrographic study of vegetable drugs used for the affections of greater index of mortality, commercialized in the City of Posadas, Misiones Argentine. Part II. Carlos Gustavo Altamirano, Marta Yajía	21
New mounting support to obtain slices of plant material by using a rotary microtome María Inés Mercado, Graciela Inés Ponessa	29

## Revisión de constituyentes químicos y propiedades biológicas en especies del género *Eugenia* (Myrtaceae)

Viviana S. Bravi\*, María Elena del Valle

Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. Calle 115 y 47, 1900 La Plata, Provincia de Buenos Aires, República Argentina.

\* Autor a quien dirigir la correspondencia: [viviana.bravi@unc.edu.ar](mailto:viviana.bravi@unc.edu.ar)

### Resumen

La familia Myrtaceae que comprende 175 géneros y 5970 spp., es una de las familias más importantes con amplia distribución en las regiones tropicales y subtropicales del mundo. En la medicina folklórica, la infusión y decocción de las hojas de diversas especies de *Eugenia* han sido empleadas en diferentes patologías siendo las más usuales en enfermedades digestivas, infecciones urinarias, respiratorias y antiinflamatorias. En los extractos apolares los compuestos químicos que han predominado han sido monoterpenos y sesquiterpenos y en los extractos polares se han destacado los flavonoides. En el presente estudio, fue llevado a cabo una revisión de los estudios farmacológicos y químicos del género *Eugenia*, en el período comprendido entre 1988 a 2020, destacándose una amplia gama de compuestos químicos y propiedades biológicas.

## Review of chemical constituents and biological properties in species of the genus *Eugenia* (Myrtaceae)

### Summary

The Myrtaceae family which includes 175 genera and 5970 spp., is one of the most important families with wide distribution in tropical and subtropical regions of the world. In folk medicine, the infusion and decoction of the leaves of various species of *Eugenia* have been used in different diseases being the most common in digestive diseases, anti-inflammatory, respiratory and urinary tract infections. In non-polar extracts chemical compounds that have prevailed were monoterpenes and sesquiterpenes and in the polar extracts, flavonoids have been highlighted. In the present study, carried out a review of the chemical and pharmacological studies of the genus *Eugenia*, in the period from 1988 to 2020, highlighting a wide range of chemical compounds and biological properties.

### Introducción

La familia Myrtaceae es muy numerosa con 175 géneros y 5970 spp. de árboles, arbustos o subarbustos con amplia distribución en las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Pertenece a la clase Equisetopsida C. Agardh, subclase Magnoliidae Novák ex Takht., superorden Rosanae Takht. y orden Myrtales Juss. ex Bercht. & J. Presl (Missouri Botanical Garden). Los géneros más destacados han sido: *Eucalyptus* (500 spp.), *Eugenia* (400 spp.), *Myrcia* (300 spp.), *Syzygium* (300 spp.), *Melaleuca* (100 spp.), *Psidium* (100 spp.) (Judd y col., 2007; Smith y col., 2004; Stevens, 2008; Wilson y col., 2005).

El género *Eugenia* (Myrtaceae) aporta una diversidad de compuestos químicos como así también de propieda-

des biológicas, por lo cual una exhaustiva revisión en dicho género y en especial en *Eugenia uniflora* L., se presenta en este trabajo.

### Composición química del aceite esencial/extracto no polar de especies del género *Eugenia*

Se han estudiado los compuestos químicos presentes en los diferentes órganos vegetales de las especies del género *Eugenia*. En *Eugenia caryophyllata* Thunb., en el aceite esencial de los frutos, se identificaron los siguientes terpenos:  $\beta$ -cariofileno,  $\beta$ -cariofileno óxido,  $\alpha$ -humuleno,  $\alpha$ -humuleno epóxido I y eugenol (Zheng y col., 1992). En

**Palabras clave:** género *Eugenia* - *Eugenia uniflora* L. - compuestos químicos - propiedades biológicas - actividad antimicrobiana.

**Key words:** genus *Eugenia* - *Eugenia uniflora* L. - chemical compounds - biological properties - antimicrobial activity.

el extracto de las flores se hallaron magnolol, berberina, ácido cinámico y ácido gálico (Bae y col., 1998).

En el aceite esencial de las hojas de *Eugenia argentea* Bedd. se encontraron en mayor proporción tres clases de sesquiterpenos:  $\beta$ -cariofileno,  $\delta$ -cadineno y germacreno D (Gopan y col., 2011).

En el aceite esencial de las hojas de *Eugenia acutata* Miq., *Eugenia candolleana* DC. y *Eugenia copacabanensis* Kiaersk. predominaron los alcoholes guaiol, *epi*-cubenol y cadinol (Nakamura y col., 2010).

El *trans*-2-hexenal,  $\alpha$ -pineno,  $\alpha$ -copaeno,  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -humuleno,  $\delta$ -cadineno, *trans*-nerolidol, torreyol y linalol fueron los compuestos mayoritarios de *Eugenia austinsmithii* Standl., *Eugenia cartagensis* O. Berg, *Eugenia haberi* Barrie, *Eugenia montevidensis* Barrie y *Eugenia zuchowskiae* Barrie (Cole y col., 2007).

En el extracto etanólico de las hojas de *Eugenia brasiliensis* Lam. se aislaron tres ácidos triterpénicos mono-hidroxilados: oleanólico, ursólico y betulínico (Frighetto y col., 2005).

En el aceite esencial de las hojas de *Eugenia pitanga* (O. Berg) Kiaersk. fueron caracterizados (*E*)- $\beta$ -ocimeno, espatulenol, globulol, germacreno D y biciclogermacreno (Apel y col., 2004).

Los monoterpenos oxigenados e hidrocarbonados se encontraron en el aceite esencial de las hojas de *Eugenia dysenterica* DC., entre ellos:  $\alpha$ -terpineol, limoneno,  $\alpha$ -tujeno y sabineno (Costa y col., 2000).

El acetato de bornilo se halló en *Eugenia octopleura* Krug & Urb (Santana Tenorio y col., 2011).

### Composición química del aceite esencial/extracto no polar de *Eugenia uniflora* L.

En el aceite esencial de las hojas de *Eugenia uniflora* L. se aislaron compuestos en su mayoría monoterpenos y sesquiterpenos:  $\beta$ -elemeno,  $\beta$ -cariofileno, curzereno, germacreno B, selina-1,3,7 (11)-trien-8-ona, germacrona, selinal, 3,7 (11)-trien-8-ona epóxido los cuales se encontraron en mayor proporción (Weyerstahl y col., 1988). También fueron encontrados:  $\alpha$ -tujeno,  $\alpha$ -pineno, mirceno,  $\alpha$ -felandreno,  $\delta$ -2-careno,  $\alpha$ -terpineno, silvestreno, Z- $\beta$ -ocimeno, *E*- $\beta$ -ocimeno,  $\gamma$ -terpineno, terpinoleno, linalol, geranato de metilo,  $\delta$ -elemeno, isodene,  $\alpha$ -copaeno,  $\alpha$ -gurjunene,  $\delta$ -elemene, aromadendreno,  $\alpha$ -humuleno, germacreno D,  $\beta$ -selineno,  $\gamma$ -selineno, germacreno A,  $\gamma$ -cadineno,  $\delta$ -cadineno,  $\alpha$ -cadineno, selina-3,7(11)-dieno, ledol, espatulenol, globulol, guaiol,  $\alpha$ -cadinol, 7-*epi*- $\alpha$ -eudesmol (Gallucci y col., 2010); tujopse-*no*-2 $\alpha$ -ol, 14-hidroxi-9-*epi*-(*E*)-cariofileno, nootkatol (Costa y col., 2000); attractylona, 3-furanoeudesmeno (Amorim y col., 2009); furanodieno (Chang y col., 2011); selina-1,3,7(11)-trien-8-ona óxido (Kanazawa y col., 2000; Novack Victoria y col., 2012); furanoelemeno (Weyerstahl y col., 1988); nerolidol (Henriques y col., 1993). En la fracción hexánica de la misma especie fueron caracterizados ácido ursólico, acetato de bornilo y germacrone. (Bravi, 2018) y en la fracción metanólica se hallaron ácido shiquímico, ácido gálico, ácido clorogénico y *n*-butil carbamato de etilo (del Valle, 2008).

En la Tabla 1 se detallan los compuestos químicos mayoritarios en el aceite esencial/extracto no polar de órganos vegetativos aéreos del género *Eugenia*.

### Composición química del extracto acuoso/polar de *E. uniflora* L.

En el extracto acuoso de las hojas de *E. uniflora* L. se lograron separar alcaloides como uniflorina A [(*-*)-(1S, 2R, 6S, 7R, 8R, 8aR)-1,2,6,7,8-pentahidroxiindolizidina], uniflorina B [(*+*)-(1S, 2R, 5R, 7R, 8S, 8aS)-1,2,5,7,8-pentahidroxiindolizidina] y (*+*)-(3, 4, 5)-1-metilpiperidina-3 $\alpha$ , 4 $\alpha$ , 5 $\beta$ -triol (Matsumura y col., 2000).

Los flavonoides como quercetina y miricetina fueron hallados en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *E. uniflora* L. (Rattmann y col., 2012) mientras que en el extracto metanólico de las hojas, se aislaron ácido shiquímico, ácido gálico, ácido clorogénico, *n*-butil carbamato de etilo (del Valle, 2008) y en el trabajo de Samy y col. 2014, un estero (  $\beta$ -sitosterol), triterpenos (ácido betulínico y centellósido C) y flavonoides (miricetrina, miricetina 3-O- $\beta$ -D glucopiranosido).

En la Figura 1 se observan algunos compuestos químicos relevantes aislados de *E. uniflora* L. como flavonoides, alcaloides, terpenoides.

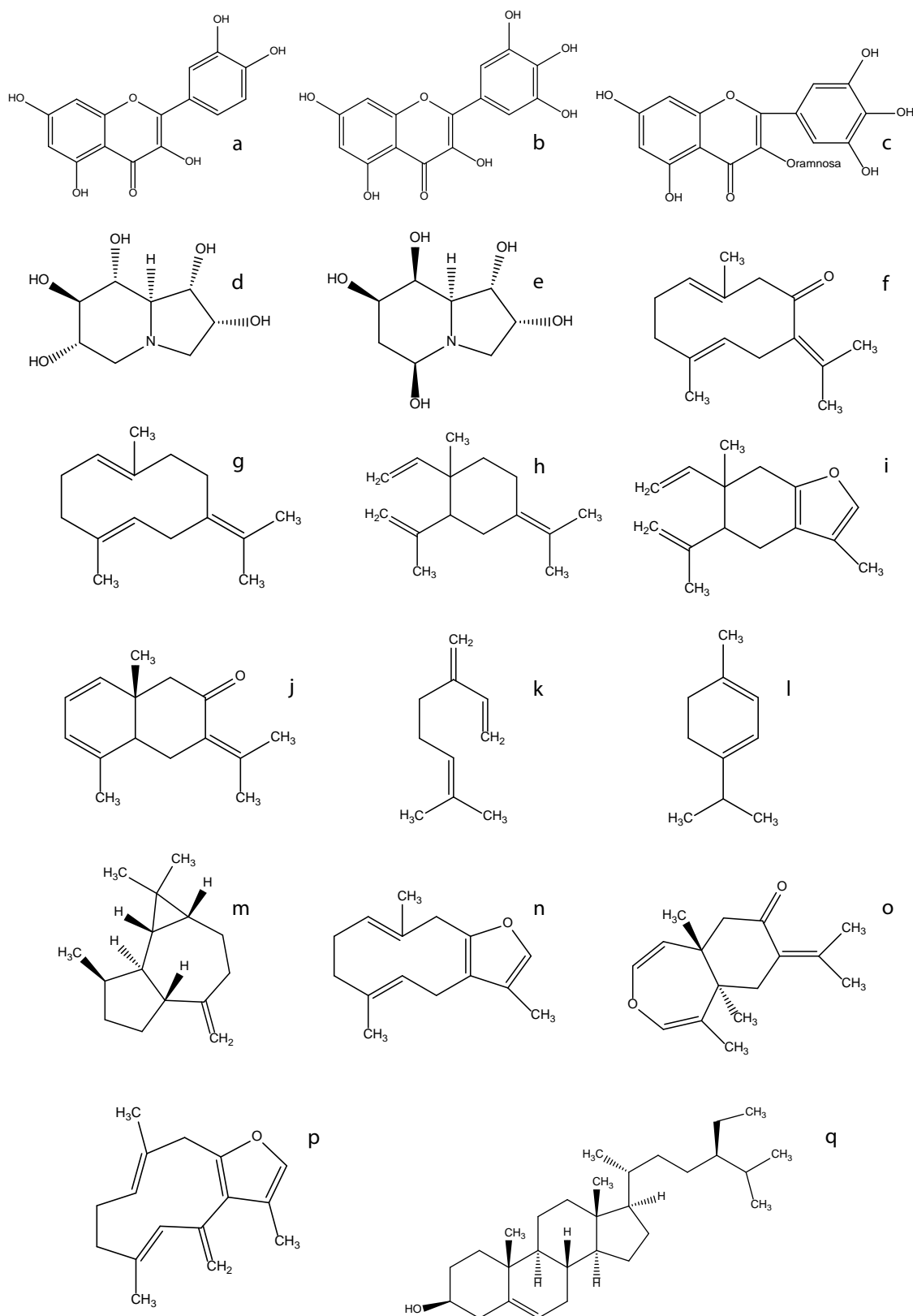
### Actividades biológicas de diversas especies del género *Eugenia*

En *E. caryophyllata* Thunb. se ha estudiado el aceite esencial exhibiendo actividad anticonvulsiva contra ataques tónicos inducidos por MES (Pourgholami y col., 1999). En la misma especie, el extracto de las flores demostró ser activo contra la bacteria *Helicobacter pylori* (Bae y col., 1998).

Se determinaron propiedades antioxidantes a través de sistemas generadores de radicales libres, en donde fue comprobada la protección contra la peroxidación enzimática y no-enzimática lipídica en membranas microsomales de ratas, en el extracto metanólico de *E. caryophyllata* (Velázquez y col., 2003). La misma actividad fue comprobada en el aceite esencial de los frutos (Gülçin y col., 2004).

En *E. caryophyllata*, el ácido oleanólico aislado de los frutos demostró tener actividades anticolinesterolémica, anti-hepatotóxica, antioxidante, antiinflamatoria, antifúngica y antibiótica. El eugenol, utilizado en perfumería como aromatizante de los alimentos y cigarrillos, como anestésico en los tratamientos odontológicos, posee propiedades antioxidante, hepatoprotectora, antinefrotóxica (Kelecom y col., 2002), antibacteriana, antifúngica, además de tener propiedades anticarcinogénicas (Singh y col., 2012). El aceite esencial de los frutos demostró propiedad acaricida contra *Pso- roptes cuniculi* (Fichi y col., 2007).  $\beta$ -cariofileno,  $\beta$ -cariofileno óxido,  $\alpha$ -humuleno,  $\alpha$ -humuleno epóxido I encontrados en el aceite esencial, evidenciaron actividad significativa como inductores de la enzima detoxicante glutatión S-transferasa en el hígado del ratón. (Zheng y col., 1992)



**Figura 1.-** Compuestos químicos relevantes aislados de *Eugenia uniflora* L.

**Flavonoides.** **a:** Quercetrina. **b:** Miricetina. **c:** Miricetrina. **Alcaloides.** **d:** Uniflorine A. **e:** Uniflorine B. **Terpenoides.** **f:** Germacrona. **g:** Germacreno B. **h:**  $\alpha$ -elemeno. **i:** Curzereno. **j:** Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona. **k:**  $\alpha$ -terpineno. **l:** Mirceno. **m:** Aromadendreno. **n:** Furanodieno. **o:** Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona. **p:** Isofuranodieno. **q:**  $\beta$ -sitosterol.

El aceite esencial de las hojas de *E. candolleana* DC. exhibió propiedad antiinflamatoria. (Guimarães y col., 2009)

Estudios del extracto de éter de petróleo de las hojas de *Eugenia chlorantha* Duthi demostraron que el extracto presentaba actividad citotóxica contra la línea celular de linfoblasto T de la leucemia (Susidarti y col., 2007).

El extracto etanólico de las hojas de *E. dysenterica* DC. manifestó actividad antiviral (Cecílio y col., 2012).

El extracto acuoso de los frutos de *Eugenia jambolana* Lam. reveló propiedad antidiabética al ser ensayado en ratas Wistar (Pepato y col., 2005). También la misma actividad fue comprobada en la misma especie, pero en el aceite esencial de los frutos, semillas y tallos (Ayyanar y col., 2012).

La presencia de antocianinas en el extracto metanólico del fruto de *E. jambolana* Lam. presentó actividad antioxidante (Camacho Romero y col., 2016); mientras que la actividad antidiarreica ha sido registrada en el extracto etanólico de la corteza en la especie análoga (Mukherjee y col., 1998).

Fracciones de acetato de etilo de las hojas de *Eugenia malaccensis* L. mostraron propiedades antioxidantes (Oliveira Figueirôa y col., 2013). En la misma especie, extractos etanólicos de las hojas y los tallos manifestaron actividad molusquicida contra *Biomphalaria glabrata* y larvicidea contra *Aedes aegypti* (Marques de Oliveira y col., 2006).

El extracto metanólico de las hojas de *Eugenia orbiculata* Lam. exhibió actividad antioxidante *in vitro* (Neerghen y col., 2006) al igual que el extracto metanólico de la corteza de *Eugenia polyantha* Wight (Lelono y col., 2009).

La infusión realizada de las hojas de *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC. evidenció actividad antioxidante, como así también produjo la inhibición enzimática relacionada al síndrome metabólico. Este último se caracteriza por anomalías metabólicas, incluyendo factores de riesgo para enfermedades cardiovasculares como la obesidad, hipertensión, hiperglucemia, hipertrigliceridemia y baja lipoproteína de alta densidad (HDL) en colesterol (Lopes Galeno y col., 2014).

Los triterpenoides aislados del extracto clorofórmico de *Eugenia sandwicensis* A. Gray, denotaron una potencial actividad quimiopreventiva anticancerígena (Gu y col., 2001).

El extracto etanólico de las hojas de *Eugenia winzerlingii* Standl. y de los tallos de *Eugenia yucatanensis* Standl. demostraron actividad antifúngica contra *Alternaria tagetica* (Gamboa-Angulo y col., 2008).

### Actividades biológicas de *E. uniflora* L.

Se determinó que es astringente para el tratamiento de desórdenes digestivos (Bandoni y col., 1972).

Los flavonoides presentes en las hojas tienen propiedades inhibitorias de la xantina oxidasa que confirma su uso en el tratamiento de la gota (Schemeda Hirschmann, 1988) y los aislados de los frutos poseen actividad antioxidante (Bonat Celli y col., 2011; Bagetti y col., 2011, Vasconcelos Costa y col., 2013), como así también en el extracto

etanólico de las hojas (Kade y col., 2008; Martinez-Correa y col., 2011), en el aceite esencial de las hojas (Novack Victoria y col., 2012) y en infusión de las hojas (Velázquez y col., 2003; de Oliveira Figueirôa y col., 2008).

Se definió la actividad de la decocción como hipotensora y diurética (Consolini y col., 1999, 2002; Cirqueira y col., 2005) y en el extracto hidroalcohólico se comprobó su actividad vasorrelajante, evaluándose también la actividad antiinflamatoria (Schapoval y col., 1994; Wazlawik y col., 1997).

En la infusión de las hojas se hallaron propiedades anti-diarreicas (Almeida y col., 1995), como así también en la corteza (Brandelli y col., 2009). El extracto acuoso de las hojas ha sido empleado como un agente antidiabético (Matsumura y col., 2000).

Se realizaron estudios *in vitro* de las fracciones del extracto etanólico al 70 % de las hojas, los cuales demostraron un efecto inhibitor en el incremento del nivel de triglicéridos y en el nivel de glucosa en plasma (Arai y col., 1999). En el extracto etanólico de las hojas se determinó la acción antifúngica contra *Paracoccidioides brasiliensis*. (Santos y col., 2004), manifestó poseer propiedad hepatopáncreas (órgano del aparato digestivo de artrópodos y moluscos) analizado en el páncreas de *Oreochromis niloticus* L. (Fiuza y col., 2009) como así también exhibió propiedades fototóxicas (Douglas Coutinho y col., 2010).

En el extracto metanólico de las hojas fue hallada la actividad anticonvulsiva (del Valle, 2008).

El extracto etanólico de los frutos fue evaluado *in vitro* contra *Trypanosoma cruzi* y se demostró que *E. uniflora* podría ser una fuente de productos naturales derivados de las plantas con actividad anti-epimastigota y con baja toxicidad (Santos y col., 2012).

En el aceite esencial de las hojas se observaron propiedades citotóxicas (Ogunwande y col., 2005) además de poseer acciones antineoplásicas, antiépiléptica, contra enfermedades cardíacas y diabetes (Nóbrega de Almeida y col., 2011); propiedades cancerígenas, contra el carcinoma nasofaríngeo (Lee y col., 2000), actividad antinociceptiva e hipotérmica (Amorim y col., 2009); además demostró poseer propiedad anti-leishmaniasis (da Franca Rodrigues y col., 2013).

### Actividad antimicrobiana de *Eugenia* spp.

Diversas especies del género *Eugenia* demostraron poseer actividad antimicrobiana, entre ellas fue estudiado el extracto etanólico de las hojas de *E. brasiliensis* Lam. el cual presentó actividad contra el bacilo gramnegativo coliforme *Escherichia coli* como así también contra el bacilo gramnegativo no fermentador *Pseudomonas aeruginosa*. Fue inactivo frente a *Staphylococcus aureus* (coco Gram positivo - anaerobio facultativo) (Magina y col., 2012).

En *E. brasiliensis* Lamarck, *Eugenia beaurepaireana* (Kiaerskou) Legrand y *Eugenia umbelliflora* Berg. se estudiaron los aceites de las hojas, los cuales mostraron poseer actividad frente a *Staphylococcus aureus*. *E. beaurepaireana* presentó

actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa*, mientras que *E. umbelliflora* evidenció actividad antimicrobiana frente a esta última bacteria Gram negativa y contra *Escherichia coli*, inactividad (Magina y col., 2009).

Por otro lado, las fracciones de un extracto metanólico de las hojas de *Eugenia brejoensis* Mazine, de ciclohexano, acetato de etilo y *n*-butanol exhibieron actividad antibacteriana frente a *Bacillus subtilis* (bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa), *S. aureus* y *E. coli* (Azevedo y col., 2012).

En *E. caryophyllata* Thunb. se estudiaron los extractos metanólico, de acetato de etilo y de acetona del fruto, del tallo y las hojas. Se demostró que tanto en el extracto metanólico como el de acetona, la actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* fue positiva, donde el extracto de acetato de etilo demostró ser inactivo frente a las tres bacterias (Keskin y col., 2011). Además, fue evaluado el aceite esencial del fruto de la misma especie, el cual evidenció actividad positiva contra *S. aureus* y actividad negativa contra *P. aeruginosa* (Kloucek y col., 2012); actividad biológica frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa* (Nuñez y col., 2012) y actividad antimicrobiana frente a *E. coli* y *S. aureus* (Oussalah y col., 2006).

En el aceite esencial de los tallos, las hojas y las flores de *Eugenia chlorophylla* O. Berg, se manifestó actividad antibacteriana en *S. aureus* e inactividad tanto en *E. coli* como en *P. aeruginosa* (Stefanello y col., 2008).

La actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas de *E. jambolana* Lam., fue efectiva frente a *Staphylococcus aureus* (Coutinho y col., 2010).

El aceite esencial de las hojas de *Eugenia rottleriana* Wight et Arn. reveló efectiva actividad antibacteriana tanto para la bacteria Gram-positiva *Bacillus cereus* como para la bacteria Gram-negativa *Escherichia coli* (Raj y col., 2007).

El extracto metanólico de las hojas y los frutos de *E. umbelliflora* O. Berg como así también las fracciones de diclorometano y de acetato de etilo provenientes del mismo extracto, fueron evaluados frente a *S. aureus* demostrando su efectividad (Machado y col., 2005).

### Actividad antimicrobiana de *E. uniflora* L.

Fue evaluada la propiedad antimicrobiana empleando técnicas de dilución en agar en el extracto hidroalcohólico de las hojas, el extracto bencénico de los tallos y en el aceite esencial de las hojas, observándose actividad contra *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*, y *Shigella dysenteriae*. Los extractos acuoso y bencénico demostraron acción frente a *S. aureus* y *Escherichia coli*, pero la actividad fue mayor frente a *Shigella dysenteriae* y menos activo contra *S. aureus*. En el aceite esencial se observó menor actividad frente a *E. coli* y *S. aureus* pero fue tan activo como el extracto orgánico con respecto a *Staphylococcus aureus*. Todos los extractos fueron activos frente a *E. coli* y ninguno contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella typhi* (Fadeyit y col., 1989).

La infusión y decocción de las hojas de *E. uniflora*, no exhibieron acción antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans* (Schapoval y col., 1994).

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *E. uniflora* L. fue empleado para determinar la actividad antimicrobiana, el cual evidenció inhibición contra *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* aunque no para *Escherichia coli* (Auricchio y col., 2007). Por otro lado, se reportó una moderada actividad antimicrobiana tanto para *Staphylococcus aureus* como para *Escherichia coli* (Holetz y col., 2002).

La actividad biológica también fue revelada en el extracto etanólico crudo y en las fracciones de las hojas de *E. uniflora* L. contra *Pseudomonas aeruginosa*, como así también las fracciones de acetato de etilo y de diclorometano fueron efectivas ante la presencia de *P. aeruginosa*, pero no en la fracción hexánica (Fiuza y col., 2009).

El aceite esencial de las hojas de *E. uniflora* fue estudiado en las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* y en los hongos *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Aspergillus niger*. La mayoría de las muestras fueron inactivas contra *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens* y *Yersinia enterocolitica*. La bacteria más sensible fue *Pseudomonas aeruginosa* y el hongo fue *Trichophyton mentagrophytes* (Adebajo y col., 1989).

El aceite esencial de las hojas además fue analizado contra *Sarcinea lutea* y *Mycobacterium phlei*, manifestándose una significativa actividad biológica en ambos microorganismos (El-Shabrawy, 1995). Posteriormente se determinó una actividad antimicrobiana contra *Sarcinea lutea* y *Mycobacterium phlei* como así también una marcada actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Trichophyton mentagrophytes* (Kanazawa y col., 2000). Silva y col., 2012, demostraron que el aceite esencial resultó ser más activo contra *S. aureus* que frente a *Escherichia coli* como así también fue determinada una fuerte actividad contra *Staphylococcus aureus* (Novack y col., 2012). Asimismo el aceite esencial de las hojas mostró inhibición frente a *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Streptococcus equi* y *Staphylococcus epidermidis*. (Lago y col., 2011) y en el trabajo desarrollado por Castelo y col. (2020) la fracción hexánica de las hojas demostró inhibición únicamente contra cepas de *S. aureus*.

Las propiedades antimicrobianas de la lecitina de las semillas de *E. uniflora* L. demostraron inhibición de crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella* sp. y una moderada inhibición de crecimiento de *Bacillus subtilis*, *Streptococcus* sp. y *Escherichia coli* (Oliveira y col., 2008).

El extracto metanólico de las partes aéreas fue activo contra *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus* y *Micrococcus luteus* (de Souza y col., 2004; Samy y col., 2014).

## Usos en medicina folklórica de *E. uniflora* L.

La tintura de los frutos es utilizada para el tratamiento de la gota y el reuma. El aceite para desórdenes digestivos, eupéptico y carminativo (Rücker y col., 1977).

En la medicina folklórica de Paraguay la infusión, decocción y maceración de las hojas se emplean como diurético y antiinflamatorio (Schemeda-Hirschmann y col., 1987; Schapoval y col., 1994), para el tratamiento de hipercolesterolemia, gota (Wazlawik y col., 1997), enfermedades digestivas, reuma, tos, fiebre, enfermedades hepáticas, amigdalitis, dolor de garganta y hemorroides (Schemeda Hirschmann, 1988); para tratar la diabetes y la obesidad (Arai y col., 1999; Matsumura, 2000); como antidiarreico (Schapoval y col., 1994; Barboza y col., 2009); en edemas. (Cirqueira y col., 2005); en bronquitis, influenza; para tratar infecciones urinarias y respiratorias y reducir el peso corporal. Además, para controlar los niveles de ácido úrico, astringente, eupéptico como así también para hernia y prolapso (Barboza y col., 2009).

En Uruguay, la infusión de las hojas jóvenes y el licor alcohólico, constituido con hojas y frutos, son utilizados para desórdenes del tracto digestivo. En Mauricio, la infusión caliente de las hojas secas se le da a beber a las mujeres adultas como emenagogo y en Nigeria como febrífugo y antimalárico (Adebajo y col., 1989).

Los frutos rojos son comestibles y las hojas son usadas en infusiones, solas o mezcladas con "yerba mate" (*Ilex paraguariensis* St. Hil., Aquifoliaceae) como un agente antihipertensivo en la medicina folklórica (Amat y col., 1991).

## Discusión y conclusiones

En todas las especies estudiadas del género *Eugenia*, los compuestos químicos que prevalecieron fueron sesquiterpenos en la fracción apolar y flavonoides y alcaloides en la fracción polar. En el extracto hexánico de las hojas de *E. uniflora* L. fue hallado el ácido ursólico (Bravi, 2018) coincidiendo el mismo ácido triterpénico en el extracto etanólico de las hojas de *E. brasiliensis* Lam. (Frighetto y col., 2005) El acetato de bornilo se halló en *E. octopleura* Krug & Urb. (Santana Tenorio y col., 2011) igual que en fracciones del extracto hexánico de las hojas de *E. uniflora* L. (Bravi, 2018).

Las actividades biológicas muestran que tanto en aceites esenciales/extractos no polares como así también en infusión o decocción, exhibieron propiedades antimicrobiana, antifúngica, antiinflamatoria, antioxidante, antiepiléptica, antineoplásicas, etc. en los órganos vegetativos aéreos.

De las diversas especies que constituyen este género, se destacan en *E. caryophyllata* diferentes propiedades biológicas entre ellas anticonvulsiva (Pourgholami y col., 1999) al igual que en el extracto metanólico de *E. uniflora* L.; y actividades antioxidante, antiinflamatoria, antifúngica, antibacteriana, anticarcinogénica presentes en fracciones de baja polaridad (Kelecom y col., 2002; Singh y col., 2012).

Otra de las especies destacadas es *E. brasiliensis*, con actividad antimicrobiana tanto en el extracto etanólico como en el aceite esencial de las hojas (Magina y col. 2009, 2012) frente a cepas multirresistentes ESKAPE como así también en *E. uniflora* (Schapoval y col., 1994; Holetz y col. 2002; Fiuza y col., 2009; Novack y col., 2012; Castelo y col., 2020).

Por sus vastas propiedades farmacológicas y compuestos químicos hallados, el género *Eugenia* parece ser una fuente prometedora de compuestos biológicos activos para ser aplicados en formulaciones farmacéuticas o como medicamentos herbarios.

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

## Referencias bibliográficas

- Adebajo, A.C.; Oloke, K.J.; Aladesanmi, A.J. (1989). "Antimicrobial activities and microbial transformation of volatile oils of *Eugenia uniflora*". *Fitoterapia* 60 (5): 451-455.
- Almeida, C.E.; Karnikowski, M.G.O.; Foleto, R.; Baldisserotto, B. (1995). "Analysis of antidiarrhoeic effect of plants used in popular medicine". *Rev. Saúde Pública* 29 (6): 428-433. <https://doi.org/10.1590/S0034-89101995000600002>.
- Amaral, R.R.; Fernandes, C.P.; Caramel, O.P.; Tietbohl, L.A.C.; Santos, M.G.; Carvalho, J.C.T.; Rocha, L. (2013). "Essential Oils from Fruits with Different Colors and Leaves of *Neomitranthes obscura* (DC.) N. Silveira: An Endemic Species from Brazilian Atlantic Forest". *BioMed Research International* Volumen 2013, Article ID 723181, 7 pages. <https://doi.org/10.1155/2013/723181>.
- Amat, A.G.; Vajia, M.E. (1991). "Plantas Medicinales y Etnofarmacología en la Provincia de Misiones (Argentina)". *Acta Farm. Bonaerense* 10 (3): 153-159.
- Amorim, A.C.L.; Lima, C.K.F.; Hovell, A.M.C.; Miranda, A.L.P.; Rezende, C.M. (2009). "Antinociceptive and hypothermic evaluation of the leaf essential oil and isolated terpenoids from *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga)". *Phytomedicine* 16: 923-928. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.03.009>.
- Apel, M.A.; Limberger, R.P.; Sobral, M.; Ntalani, H.; Verin, P.; Menut, C.; Bessiere, J.-M.; Henriques, A.T. (2002). "Chemical composition of the essential oils from southern brazilian *Eugenia* species Part II". *J. Essent. Oil Res.* 14 (3): 163-166.
- Apel, M.A.; Sobral, M.; Schapoval, E.E.; Henriques, S.A.T.; Menut, C.; Bessire, J.-M. (2004). "Chemical composition of the essential oils of *Eugenia hyemalis* and *Eugenia stigmatisata*. Part VI: section Biflorae". *Biochem. Syst. Ecol* 16 (5): 437-439. <https://doi.org/10.1080/10412905.2004.9698766>.
- Arai, I.; Amagaya, S.; Komatsu, Y.; Okada, M.; Hayashi, T.; Kasai, M.; Arisawa, M.; Momose, Y. (1999). "Improving effects of the extracts from *Eugenia uniflora* on hyperglycemia and hypertriglyceridemia in mice". *J. Ethnopharmacol.* 68 (1-3): 307-314. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00066-5](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00066-5).
- Auricchio, M.T.; Bugno, A.; Barros, S.B.M.; Bacchi, E.M. (2007). "Atividades Antimicrobiana e Antioxidante Toxicidade de



- Eugenia uniflora*". *Lat. Am. J. Pharm.* 26 (1): 76-81.
- Ayyanar, M.; Subash-Babu, P. (2012). "Syzygium cumini (L.) Skeels: A review of its phytochemical constituents and traditional uses". *Asian Pac. J. Trop. Biomed* 2 (3): 240-246. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60050-1](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60050-1).
- Azevedo, P.R.; Silva, L.C.N.; Silva, A.G.; Macedo, A.J.; Araújo, J.M.; Silva, M.V. (2012). "Antimicrobial activity and phytochemical screening of branches, fruits and leaves of *Eugenia brejoensis*". *Scientia plena* 8 (5).
- Bae, E.A.; Han, M.J.; Kim, N.J.; Kim, D.H. (1998). "Anti-helicobacter pylori activity of herbal medicines". *Biol. Pharm. Bull.* 21 (9): 990-992. <https://doi.org/10.1248/bpb.21.990>.
- Bagetti, M.; Facco, E.M.; Piccolo, J.; Hirsch, G.E.; Rodriguez-Amaya, D.; Kobori, C.N.; Vizzotto, M.; Emanuelli, T. (2011). "Physicochemical characterization and antioxidant capacity of pitanga fruits (*Eugenia uniflora* L.)". *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 31 (1): 147-154. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000100021>.
- Bandoni, A.L.; Mendiondo, M.E.; Rondina, R.V.D.; Coussio, J.D. (1972). "Survey of argentine medicinal plants. I. Folklore and phytochemical screening". *Llodya* 35: 69-80.
- Barboza, G.; Cantero, J.J.; Nuñez, C.; Pacciaroni, A.; Ariza Espinar, L. (2009). "Volumen especial: Plantas Medicinales. Córdoba. Argentina". *Kurtziana* 34 (1-2): 7-365.
- Bello, A.; Rodrigues, M.L.; Castineiras, N.; Urquiola, A.; Rosado, A.; Pino, J.A. (1995). "Major components of the leaf oil of *Eugenia banderensis* Urb.". *J. Essent. Oil Res.* 7 (6): 697-698. <https://doi.org/10.1080/10412905.1995.9700535>.
- Bonat Celli, G.; Pereira-Netto, A.B.; Beta T. (2011). "Comparative analysis of total phenolic content, antioxidant activity, and flavonoids profile of fruits from two varieties of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) throughout the fruit developmental stages". *Food Res. Int.* 44 (8): 2442-2451. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.036>.
- Brandelli, C.L.; Giordani, R.B.; De Carli, G.A.; Tasca, T. (2009). "Indigenous traditional medicine: *in vitro* anti-giardial activity of plants used in the treatment of diarrhea". *Parasitol Res.* 104: 1345-1349. <https://doi.org/10.1007/s00436-009-1330-3>.
- Bravi V.S. (2018). "Aislamiento y determinación de la estructura química de principios activos presentes en *Eugenia uniflora* L.; obtenidos de compuestos solubles en éter de petróleo". *Tesis de Maestría en Plantas Medicinales*. Universidad Nacional de La Plata, Argentina. <https://doi.org/10.35537/10915/71832>.
- Brophy, J.J.; Hnawia, E.; Lawes, D.J.; Lebouvier, N.; Nour, M. (2014). "An examination of the leaf essential oils of three *Eugenia* (Myrtaceae) species endemic to New Caledonia". *J. Essent. Oil Res.* 26 (2): 71-75. <https://doi.org/10.1080/10412905.2013.871671>.
- Camacho Romero, O.; Melgarejo Gómez, S.; de la Rosa Torres, C.; Puertas-Mejía, M.A.; Rojano, B. (2016). "Correlación del contenido de fenoles y antocianinas con la capacidad antioxidante *Syzygium cumini* (L.) Skeels, (jambolan)". *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 21 (1): 63-70.
- Castelo, S.; Bravi, V.S.; Bruno-Blanch, L.E. (2020). "Evaluación antimicrobiana de fracciones del extracto hexánico de las hojas de *Eugenia uniflora* L.". *Revista BIFASE/Bibliografía Farmacéutica Seleccionada* 33 (1): 17-26.
- Cecílio, A.B.; de Faria, D.B.; de Carvalho Oliveira, P.; Caldas, S.; Alves de Oliveira, D.; Guerra Sobral, M.E.; Resende Duarte, M.G.; de Souza Moreira, C.P.; Gontijo Silva, C.; de Almeida, V.L. (2012). "Screening of Brazilian medicinal plants for antiviral activity against rotavirus". *J. Ethnopharmacol.* 141 (3): 975-981. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.03.031>.
- Chang, R.; De Moraes, S.A.L.; Napolitano, D.R.; Duarte, K.C.; Guzman, V.B.; do Nascimento, E.A. (2011). "A new approach for quantifying furanodiene and curzerene. A case study on the essential oils of *Eugenia uniflora* (pitangueira) leaves". *Rev. Bras. Farmacogn.* 21 (3): 392-396. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X20110005000042>.
- Cirqueira, R.T.; Alves, M.J.Q.F. (2005). "Efeitos hipotensivo e diurético dos extratos aquosos de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e jambolão (*Eugenia jambolana* Lam.) anestesiados". *Rev. Bras. Pl. Med.* 7 (2): 86-91.
- Cole, R.A.; Haber, W.A.; Setzer, W.N. (2007). "Chemical composition of essential oils of seven species of *Eugenia* from Monteverde, Costa Rica". *Biochem. Syst. Ecol.* 35 (12): 877-886. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2007.06.013>.
- Consolini, A.; Baldini, O.; Amat, A. (1999). "Pharmacological basic for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive". *J. Ethnopharmacol.* 66 (1): 33-39. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(98\)00194-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00194-9).
- Consolini, A.E.; Sarubbio, M.G. (2002). "Pharmacological effects of *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) aqueous crude extract on rat's heart". *J. Ethnopharmacol.* 81 (1): 57-63. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00039-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00039-9).
- Costa, T.R.; Fernandes, O.F.L.; Santos, S.C.; Oliveira, C.M.A.; Lião, L.M.; Ferri P.H.; Paula J.R.; Ferreira H.D.; Sales B.H.N.; Silva M.R.R. (2000). "Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil". *J. Ethnopharmacol.* 72 (1-2): 111-117. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00214-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00214-2).
- Coutinho H.D.M.; Costa J.G.M.; Lima E.O.; Siqueira-Júnior J.P. (2010). "Anti-staphylococcal activity of *Eugenia jambolana* L. against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*". *Int. J. Food Prop.* 13 (6): 1405-1410. <https://doi.org/10.1080/10942910903108488>.
- Da Franca Rodrigues, K.A.; Amorim, L.V.; Guerra De Oliveira, J.M.; Noleto Dias, C.; Fernandes Coutinho Moraes, D.; De Aguiar Andrade, E.H.; Soares Maia, J.G.; Portela Carneiro, S.M.; De Amorim Carvalho, F.A. (2013). "*Eugenia uniflora* L. essential oil as a potential anti-*Leishmania* agent: effects on *Leishmania amazonensis* and possible mechanisms of action". *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Volume 2013, Article ID 279726, 10 pages.
- De Souza, G.C.; Haas, A.P.; Von Poser, G.L.; Schapoval, E.E.S.; Elisabethsky, E. (2004). "Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil". *J. Ethnopharmacol.* 90 (1): 135-143. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.09.039>.
- Del Valle, M.E. (2008). "*Eugenia uniflora*, aislamiento y determinación estructural de algunos principios activos solubles en extracto metanólico". *Tesis de Maestría en Plantas Medicinales*. Universidad Nacional de La Plata, Argentina. <https://doi.org/10.35537/10915/20800>.
- Do Carmo De O. Arruda, R.; Victório, C.P. (2011). "Leaf secretory structure and volatile compounds of *Eugenia copacabanensis* Kiaersk. (Myrtaceae)". *J. Essent. Oil Res.* 23 (5): 1-6. <https://doi.org/10.1080/10412905.2011.9700472>.

- Douglas Coutinho, H.; Martins Costa, J.G.; Pinto Siqueira, J.R.; Oliveira Lima, E. (2010). "In vitro screening by phototoxic properties of *Eugenia uniflora* L.; *Momordica charantia* L.; *Mentha arvensis* L. and *Turnera ulmifolia* L." *R. Bras. Bioci.* 8 (3): 299-301.
- Duarte, A.R.; Naves, R.R.; Santos, S.C.; Seraphinc, J.C.; Ferri, P.H. (2009). "Seasonal influence on the essential oil variability of *Eugenia dysenterica*". *J. Braz. Chem. Soc.* 20 (5): 967-974.
- Duarte, A.R.; Naves, R.R.; Santos, S.C.; Seraphinc, J.C.; Ferri, P.H. (2010). "Genetic and environmental influence on essential oil composition of *Eugenia dysenterica*". *J. Braz. Chem. Soc.* 21 (8): 1459-1467. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532010000800008>.
- El-Shabrawy A. (1995). "Essential oil composition and tannin contents of the leaves of *Eugenia uniflora* L. grown in Egypt." *Bull. Fac. Pharm. Cairo Univ.* 33 (3): 17-21.
- Fadeyit, M.O.; Akpan, U.E. (1989). "Antibacterial Activities of the Leaf Extracts of *Eugenia uniflora* Linn. (Synonym *Stenocalyx michelli* Linn.) Myrtaceae". *Phytother. Res.* 3 (4): 154-155. <https://doi.org/10.1002/PTR.2650030409>.
- Fichi, G.; Flamini, G.; Giovannelli, F.; Otranto, D.; Perrucci, S. (2007). "Efficacy of an essential oil of *Eugenia caryophyllata* against *Psoroptes cuniculi*". *Exp. Parasitol.* 115 (2): 168-172. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2006.07.005>.
- Fischer, D.C.H.; Limberger, R.P.; Henriques, A.T.; Moreno, P.R.H. (2005). "Essential oils from leaves of two *Eugenia brasiliensis* specimens from Southeastern Brazil". *J. Essent. Oil Res.* 17 (5): 499-500. <https://doi.org/10.1080/10412905.2005.9698977>.
- Fiuza, T.S.; Sabóia-Morais, S.M.T.; Paula, J.R.; Tresvenzol, L.M.F.; Carmo Filho, J.R.; Pimenta, F.C. (2009). "Antimicrobial activity of the crude ethanol extract and fractions from *Eugenia uniflora* leaves against *Pseudomonas aeruginosa*". *Lat. Am. J. Pharm.* 28 (6): 892-898.
- Flores, G.; Dastmalchi, K.; Paulino, S.; Whalen, K.; Dabo, A.J.; Reynertson, K.A.; Foronjy, R.F.; D'armiento, J.M.; Kennelly, E.J. (2012). "Anthocyanins from *Eugenia brasiliensis* edible fruits as potential therapeutics for COPD treatment". *Food Chemistry* 134 (3): 1256-1262. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.086>.
- Frighetto, N.; Welendorf, R.M.; Silva, A.M.P.; Nakamura, M.J.; Siani, A.C. (2005). "Aplicação de cromatografia centrífuga de contra-corrente na purificação de ácido ursólico das folhas de *Eugenia brasiliensis* Lam. *Rev. Bras. Farmacogn.* 15 (4): 338-343. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2005000400015>.
- Gallucci, S.; Neto, A.P.; Porto, C.; Barbizan, D.; Costa, I.; Marques, K.; Benevides, P.; Figueiredo, R. (2010). "Essential oil of *Eugenia uniflora* L.: an industrial perfumery approach". *J. Essent. Oil Res.* 22 (2): 176-179. <https://doi.org/10.1080/10412905.2010.9700296>.
- Gamboa-Angulo, M.M.; Alejo, J.C.; Medina-Baizabal, I.L.; Chí-Romero, F.; Méndez-González, R.; Simá-Polanco, P.; May-Pat, F. (2008). "Antifungal properties of selected plants from the Yucatan península, Mexico". *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24: 1955-1959. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9658-x>.
- Gopan, R.; Varughese, G.; Sethuraman, M.G. (2011). "Chemical Analysis of essential oil from the leaves of *Eugenia argentea* Bedd". *J. Essent. Oil Res.* 23 (3): 55-57. <https://doi.org/10.1080/10412905.2011.9700458>.
- Gu, J.-Q.; Park, E.J.; Luyengi, L.; Hawthorne, Y.O.; Mehta, R.G.; Farnsworth, N.R.; Pezzuto, J.M.; Kinghorn, A.D. (2001). "Constituents of *Eugenia sandwicensis* with potential cancer chemopreventive activity". *Phytochemistry* 58 (1): 121-127. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00180-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00180-7).
- Guimarães, A.G.; Melo, M.S.; Bonfim, R.R.; Passos, L.O.; Machado, S.M.F.; Ribeiro, A.; Sobral, M.; Thomazzi, S.M.; Quintans-Júnior, L.J. (2009). "Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Eugenia candolleana* DC.; Myrtaceae, on mice". *Rev. Bras. Farmacogn.* 19 (4): 883-887. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2009000600016>.
- Gülçin, I.; Güngör, S.; Beydemir, S.; Elmastas, M.; Kufrevioglu, O.I. (2004). "Comparasion of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.)". *Food Chem.* 87 (3): 393-400. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.12.008>.
- Henriques, A.T.; Sobral, M.E.; Cauduro, A.D.; Schapoval, E.E.S.; Bassani, V.L.; Lamaty, G.; Menut, C.; Bessière, J.M. (1993). "Aromatic plants from Brazil II. The chemical composition of some *Eugenia* essential oils". *J. Essent. Oil Res.* 5 (5): 501-505. <https://doi.org/10.1080/10412905.1993.9698270>.
- Holetz, F.B.; Pessini, G.L.; Sanches, N.R.; Garcia Cortez, D.A.; Vataru Nakamura, C.; Prado Dias Filho, B. (2002). "Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases". *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 97 (7): 1027-1031. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762002000700017>.
- Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A.; Stevens, P.F.; Donoghue, M.J. (2007). *Plant Systematics: A phylogenetic approach*. Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts. 3<sup>rd</sup> Edition.
- Kade, I.J.; Oluwafemi Ibukuna, E.; Wayne Nogueirab, C.; Teixeira da Rocha, J.B. (2008). "Sun-drying diminishes the antioxidative potentials of leaves of *Eugenia uniflora* against formation of thiobarbituric acid reactive substances induced in homogenates of rat brain and liver". *Experimental and Toxicologic Pathology* 60 (4-5): 365-371. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2007.12.001>.
- Kanazawa, A.; Patin, A.; Greene, A.E. (2000). "Efficient highly enantioselective synthesis of selina-1,3,7(11)-trien-8-one, a major component of the essential oil of *Eugenia uniflora*". *J. Nat. Prod.* 63 (9): 1292-1294. <https://doi.org/10.1021/np000065f>.
- Kelecom, A.; Rocha, M.A.; Majdalani, E.C.; Gonzalez, M.S.; Mello, C.B. (2002). "Novas atividades biológicas em antigos metabólitos: ácido oleanólico e eugenol de *Eugenia caryophyllata*". *Rev. Bras. Farmacogn.* 12 (suppl 1): 70-71. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2002000300034>.
- Keskin, D.; Toroglu, S. (2011). "Studies on antimicrobial activities of solvent extracts of different spices". *J. Environ. Biol.* 32 (2): 251-256.
- Kloucek, P.; Smid, J.; Frankova, A.; Kokoska, L.; Valterova, I.; Pavela, R. (2012). "Fast screening method for assessment of antimicrobial activity of essential oils in vapor phase". *Food Research International* 47 (2): 161-165. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.044>.
- Lago, J.H.G.; Souza, E.; Mariane, B.; Pascon, R.; Vallim, M.A.; Martins, R.C.C.; Baroli, A.A.; Carvalho, B.A.; Soares, M.G.; dos Santos, R.T.; Sartorelli, P. (2011). "Chemical and biological evaluation of essential oils from two species of Myrtaceae - *Eugenia uniflora* L. and *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel". *Molecules* 16 (12): 9827-9837. <https://doi.org/10.3390/molecules16129827>.
- Lee, M.H.; Chiou, J.F.; Yen, K.Y.; Yang, L.L. (2000). "EBV DNA polymerase inhibition of tannins from *Eugenia uniflora*". *Cancer Letters* 154 (2): 131-136.
- Lelono, R.A.A.; Tachibana, S.; Itoh, K. (2009). "In vitro Antioxidative activities and polyphenol conten of *Eugenia polyantha* Wight

- grow in Indonesia". *Pakistan Journal of Biological Sciences* 12 (24): 1564-1570. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2009.1564.1570>.
- Lima, N.P.; Cerqueira, S.H.F.; Fávero, O.A.; Romoff, P.; Lago, J.H.G. (2008). "Composition and chemical variation of the essential oil from leaves of *Eugenia brasiliensis* Lam. and *Eugenia* sp. (Myrtaceae)". *J. Essent. Oil Res.* 20 (3): 223-225. <https://doi.org/10.1080/10412905.2008.9699997>.
- Lopes Galeno, D.M.; Piccolotto Carvalho, R.; de Araújo Boleti, A.P.; Sousa Lima, A.; Oliveira de Almeida, P.D.; Carvalho Pacheco, C.; Pereira de Souza, T.; Silva Lima, E. (2014). "Extract from *Eugenia punicifolia* is an antioxidant and inhibits enzymes related to metabolic syndrome". *Appl. Biochem. Biotechnol.* 172: 311-324. <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0520-8>.
- Lunardi, I.; Peixoto, J.L.B.; Da Silva, C.C.; Shuquel, I.T.A.; Basso, E.A.; Vidotti, G.J. (2001). "Triterpenic Acids from *Eugenia moraviana*". *Braz. Chem. Soc.* 12 (2): 180-183. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532001000200009>.
- Machado, K.E.; Filho, V.C.; Tassarolo, M.L.; Mallmann, R.; Meyre-Silva, C.; Bella Cruz, A. (2005). "Potent antibacterial activity of *Eugenia umbelliflora*". *Pharmaceutical Biology* 43 (7): 636-639. <https://doi.org/10.1080/13880200500303817>.
- Magina, M.D.A.; Pietrowski, E.F.; Gomig, F.; de Barcellos Falkenberg, D.; Almeida Cabrini, D.; Fleith Otuki, M.; Pizzolatti, M.G.; Costa Brighente, I.M. (2009). "Topical antiinflammatory activity and chemical composition of the epicuticular wax from the leaves of *Eugenia beaurepaireana* (Myrtaceae)". *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 45 (1): 171-176. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502009000100021>.
- Magina, M.; Dalmarco, E.; Wisniewski, A.; Simionatto, E.L.; Dalmarco, J.B.; Pizzolatti, M.G.; Brighente, I.M.C. (2009). "Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Eugenia* species". *J. Nat. Med.* 63: 345-350. <https://doi.org/10.1007/s11418-009-0329-5>.
- Magina, M.; Monguilhot Dalmarco, E.; Bastos Dalmarco, J.; Colla, G.; Pizzolatti, M.G.; Costa Brighente, I.M. (2012). "Bioactive triterpenes and phenolics of leaves of *Eugenia brasiliensis*". *Quim. Nova* 35 (6): 1184-1188. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000600022>.
- Maia, J.G.S.; Andrade, E.H.A.; Da Silva, M.H.L.; Zoghbi M.G.B. (1999). "A new chemotype of *Eugenia uniflora* L. from North Brazil". *J. Essent. Oil Res.* 11 (6): 727-729. <https://doi.org/10.1080/10412905.1999.9712006>.
- Marques de Oliveira, A.; dos Santos, H.M.M.; da Silva, J.M.; de Almeida Rocha, R.F.; Goulart Sant'Ana, A.E. (2006). "Estudo fitoquímico e avaliação das atividades moluscicida e larvicida dos extratos da casca do caule e folha de *Eugenia malaccensis* L. (Myrtaceae)". *Rev. Bras. Farmacogn.* 16 (Supl.): 618-624. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2006000500006>.
- Martinez-Correa, H.A.; Magalhães, P.M.; Queiroga, C.L.; Peixoto, C.A.; Oliveira, A.L.; Cabral, F.A. (2011). "Extracts from pitanga (*Eugenia uniflora* L.) leaves: Influence of extraction process on antioxidant properties and yield of phenolic compounds". *J. of Supercritical Fluids* 55 (3): 998-1006. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2010.09.001>.
- Matsumura, T.; Kasai, M.; Hayashi, T.; Arisawa, M.; Momose, Y.; Arai, Y.; Amagaya, S.; Komatsu, Y. (2000). "α-glucosidase inhibitors from paraguay natural medicine, Nangapiry, the leaves of *Eugenia uniflora*". *Pharm. Biol.* 38 (4): 302-307. [https://doi.org/10.1076/1388-0209\(200009\)3841-AFT302](https://doi.org/10.1076/1388-0209(200009)3841-AFT302).
- Missouri Botanical Garden (2020) <http://www.tropicos.org/>.
- Moreno, P.R.H.; Lima, M.E.L.; Sobral, M.; Young, M.C.M.; Cordeiro, I.; Apel, M.A.; Limberger, R.P.; Henriques, A.T. (2007). "Essential oil composition of fruit colour varieties of *Eugenia brasiliensis* Lam." *Sci. Agric.* 64 (4): 428-432. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162007000400014>.
- Mukherjee, P.K.; Saha, K.; Murugesan, T.; Mandal, S.C.; Pal, M.; Saha, B.P. (1998). "Screening of anti-diarrhoeal profile of some plant extracts of specific region of West Bengal, India". *J. Ethnopharmacol.* 60 (1): 85-89. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(97\)00130-X](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(97)00130-X).
- Nakamura, M.J.; Monteiro, S.S.; Bizarri, C.H.B.; Siani, A.C.; Ramos, M.F.S. (2010). "Essential oils of four Myrtaceae species from the Brazilian southeast". *Biochem. Syst. Ecol.* 38 (6): 1170-1175. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2010.11.003>.
- Neergheen, V.S.; Soobrattee, M.A.; Bahorun, T.; Aruoma, O.I. (2006). "Characterization of the phenolic constituents in Mauritian endemic plants as determinants of their antioxidant activities *in vitro*". *J. Plant Physiol.* 163 (8): 787-799. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.09.009>.
- Nóbrega de Almeida, R.; Agra, M.F.; Negromonte Souto Maior, F.; Pergentino de Sousa, D. (2011). "Essential Oils and Their Constituents: Anticonvulsant Activity". *Molecules* 16 (3): 2726-2742. <https://doi.org/10.3390/molecules16032726>.
- Novack Victoria, F.; Lenardão, E.J.; Savegnago, L.; Perin, G.; Guimarães Jacob, R.; Alves, D.; Padilha da Silva, W.; De Souza da Motta, A.; Da Silva Nascente, P. (2012). "Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: antioxidant and antimicrobial properties". *Food Chem. Toxicol.* 50 (8): 2668-2674. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.05.002>.
- Núñez, L.; Aquina, M.D. (2012). "Microbicide activity of clove essential oil (*Eugenia caryophyllata*)". *Braz. J. Microbiol.* 43 (4): 1255-1260. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400003>.
- Ogunwande, I.A.; Olawore, N.O.; Ekundayo, O.; Walker, T.M.; Schmidt, J.M.; Setzer, W.N. (2005). "Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L.". *Int. J. Aromath.* 15 (3): 147-152. <https://doi.org/10.1016/j.ijat.2005.07.004>.
- Oliveira, M.D.L.; Andrade, C.A.S.; Santos-Magalhães, N.S.; Coelho, L.C.B.B.; Teixeira, J.A.; Carneiro-da-Cunha, M.G.; Correia, M.T.S. (2008). "Purification of a lectin from *Eugenia uniflora* L. seeds and its potential antibacterial activity". *Lett. Appl. Microbiol.* 46 (3): 371-376. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2007.02319.x>.
- Oliveira Figueirôa, E.; Nascimento da Silva, L.C.; Lagos de Melo, C.M.; de Andrade Lemoine Neves, J.K.; da Silva, N.H.; Rêgo Alves Pereira, V.; dos Santos Correia, M.T. (2008). "Evaluation of antioxidant, immunomodulatory, and cytotoxic action of fractions from *Eugenia uniflora* L. and *Eugenia malaccensis* L.: correlation with polyphenol and flavanoid content". *The Scientific World Journal*. Volume 2013, Article ID 125027, 7 pages. <https://doi.org/10.1155/2013/125027>.
- Oussalah, M.; Cailliet, S.; Saucier, L.; Lacroix, M. (2006). "Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat". *Meat Sci.* 73 (2): 236-244. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.11.019>.
- Pepato, D.M.; Mori, A.M.; Baviera, J.B.; Harami, R.C.; Vendramini, I.L.; Brunetti, M.T. "Fruit of the jambolan tree (*Eugenia jambolana* Lam.) and experimental diabetes". *J. Ethnopharmacol.* 96 (1-2): 43-48. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.07.029>.



- Pino, J.A.; Bello, A.; Urquiola, A.; Agüero, J.; Marbot, R. (2003). "Fruit Volatiles of Cayena Cherry (*Eugenia uniflora* L.) from Cuba". *J. Essent. Oil Res.* 15 (2) 70-71. <https://doi.org/10.1080/10412905.2003.9712067>.
- Pourgholami, M.H.; Kamalinejad, M.; Javadi, M.; Majzoob, S.; Sayyah, M. (1999). "Evaluation of the anticonvulsant activity of *Eugenia caryophyllata* in male mice". *J. Ethnopharmacol.* 64 (2): 167-171. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(98\)00121-4](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00121-4).
- Raj, G.; George, V.; Pradeep, N.S.; Sethuraman, M.G. (2007). "Volatile constituents and antibacterial activity of *Eugenia rotteriana* Wight et Arn." *J. Essent. Oil Res.* 19 (6): 588-590. <https://doi.org/10.1080/10412905.2007.9699337>.
- Ramos, M.F.S.; Siani, A.C.; Souza, M.C.; Rosas, E.C.; Henriques, M.G.M.O. (2006). "Avaliação da atividade antiinflamatória dos óleos essenciais de cinco espécies de Myrtaceae". *Rev. Fitos.* 2 (2): 58-66.
- Rattmann, Y.D.; Mera de Souza, L.; Malquevicz-Paiva, S.M.; Dartora, N.; Lanzi Sassaki, G.; Gorin, P.A.J.; Iacomini, M. (2012). "Analysis of flavonoids from *Eugenia uniflora* leaves and its protective effect against murine sepsis". *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2012 (Article ID 623940). <https://doi.org/10.1155/2012/623940>.
- Rücker, V.G.; Assis Brasil e Silva, G.A.; Bauer, L.; Schikarski, M. (1977). "New constituents of *Stenocylax michelii*". *Planta Medica* 31 (4):322-327.
- Samy, M.N.; Sugimoto, S.; Matsunami, K.; Otsuka, H.; Kamel, M.S. (2014). "Bioactive compounds from the leaves of *Eugenia uniflora*". *J. Nat. Prod.* Vol. 7: 37-47.
- Santana Tenorio, A.I.; Vargas, D.; Espinosa, A.; Díaz, A.; Gupta M.P. (2011). "Chemical composition of leaf essential oils of *Calyptanthus microphylla* B. Holts & M. L.; *Myrcia aff fosteri* croat and *Eugenia octopleura* Kruz & Urb from Panamá". *J. Essent. Oil Res.* 23 (5): 29-33. <https://doi.org/10.1080/10412905.2011.9700478>.
- Santos, S.C.; Ribeiro, J.P.; Guimarães, D.O.; Silva, M.O.; Ferri, P.H.; García, A.C.F.; Pires, J.S.; Castro, A.C.M.; Silva, M.R.R.; Paula, J.R. (2004). "Antifungal activity of *Eugenia uniflora* L. fractions against *Paracoccidioides brasiliensis* (Splendore) Almeida". *Rev. Bras. Pl. Med.* 7 (1): 30-33.
- Santos, K.K.A.; Matias, E.F.F.; Tintino, S.R.; Souza, C.E.S.; Braga, M.F.B.M.; Guedes, G.M.M.; Rolón, M.; Vega, C.; Rojas de Arias, A.; Costa, J.G.M.; Menezes, I.R.A.; Coutinho H.D.M. (2012). "Anti-*Trypanosoma cruzi* and cytotoxic activities of *Eugenia uniflora* L." *Exp. Parasitol.* 131 (1): 130-132. <http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2012.02.019>.
- Schapoval, E.E.S.; Silveira, S.M.; Miranda, M.L.; Alice, A.; Henriques, T. (1994). "Evaluation of some pharmacological activities of *Eugenia uniflora* L.". *J. Ethnopharmacol.* 44 (3): 137-142. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(94\)01178-8](https://doi.org/10.1016/0378-8741(94)01178-8).
- Schemeda Hirschmann, G. (1988). "Ethnobotanical observations on Paraguayan Myrtaceae. I". *J. Ethnopharmacol.* 22 (1): 73-79. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(88\)90232-2](https://doi.org/10.1016/0378-8741(88)90232-2).
- Setzer, W.N.; Schmidt, J.M.; Noletto, J.A.; Vogler, B. (2006). "Leaf oil compositions and bioactivities of abaco bush medicines". *Pharmacologyonline* 3: 794-802.
- Silva, N.C.C.; Barbosa, L.; Seito, L.N.; Fernandes Jr.; A. (2012). "Antimicrobial activity and phytochemical analysis of crude extracts and essential oils from medicinal plants". *Nat. Prod. Res.* 26 (16): 1510-1514. <https://doi.org/10.1080/14786419.2011.564582>.
- Singh, J.; Baglotia, A.; Goel, S.P. (2012). "*Eugenia caryophyllata* Thunberg (Family Myrtaceae): A Review". *Int. J. Res. Pharm. Biomed. Sci.* 3 (4): 1469-1475.
- Smith, N.; Mori, S.A.; Henderson, A.; Stevenson, D.W.; Heald, S.V. (2004). *Flowering Plants of the Neotropics*. The New York Botanical Garden, Princeton University Press, New Jersey.
- Stefanello, M.E.; Cervi, A.C.; Ito, I.Y.; Salvador, M.J.; Wisniewski Jr., A.; Simionatto, E. (2008). "Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Eugenia chlorophylla* (Myrtaceae)". *J. Essent. Oil Res.* 20 (1): 75-78. <https://doi.org/10.1080/10412905.2008.9699427>.
- Stevens, P.F. (2008). *Angiosperm Phylogeny Website* Version 9. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
- Susidarti, R.A.; Rahmani, M.; Ali, A.M.; Sukari, M.A.; Ismail, H.B.M. "Friedelin from Kelat Merah (*Eugenia chlorantha* Duthie)". *Research Gate*. 2014. <[https://www.researchgate.net/publication/264890946\\_FRIEDELIN\\_FROM\\_KELAT\\_MERAH\\_Eugenia\\_chlorantha\\_Duthie\\_FRIEDELIN\\_DARI\\_KELAT\\_MERAH\\_Eugenia\\_chlorantha\\_Duthie](https://www.researchgate.net/publication/264890946_FRIEDELIN_FROM_KELAT_MERAH_Eugenia_chlorantha_Duthie_FRIEDELIN_DARI_KELAT_MERAH_Eugenia_chlorantha_Duthie)>.
- Vasconcelos Costa, A.G.; García-Díaz, D.F.; Jimenez, P.; Pollyanna Ibrahim, S. (2013). "Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red-black berries". *J. Funct. Foods* 5 (2): 539-549. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.01.029>.
- Velazquez, E.; Tournier, H. A.; Mordujovich de Buschiazso, P.; Saavedra, G.; Schinella, G. R. (2003). "Antioxidant activity of Paraguayan plant extracts". *Fitoterapia* 74 (1-2): 91-97. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00293-9](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00293-9).
- Vila, R.; Iglesias, J.; Canigual, S.; Santana, A.I.; Nol, P.N.; Gupta, S.M.P. (2004). "Constituents and biological activity of the essential oil of *Eugenia acapulcensis* Steud." *J. Essent. Oil Res.* 16 (4): 384-386. <https://doi.org/10.1080/10412905.2004.9698750>.
- Waslawik, E.; Da Silva, M.A.; Peters, R.; Gomes Correia, J.F.; Rocha Farias, M.; Calixto, J.B.; Ribeiro Do Valle, R.M. (1997). "Analysis of the role of nitric oxide in the relaxant effect of the crude extract and fractions from *Eugenia uniflora* in the rat thoracic aorta". *J. Pharm. Pharmacol.* 49 (4): 433-437. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1997.tb06820.x>.
- Weyestahl, P.; Marschall-Weyerestahl, H.; Christiansen, C.; Oguntmeim, B.O.; Adeoye, A.O. (1988). "Volatile constituents of *Eugenia uniflora* leaf oil". *Planta Med.* 54 (6): 546-549. <https://doi.org/10.1055/s-2006-962544>.
- Wilson, P.G.; O'Brien, M.M.; Heslewood, M.M.; Quinn, C.J. (2005). "Relationships within Myrtaceae sensu lato based on a *matK* phylogeny". *Pl. Syst. Evol.* 251: 3-19. <https://doi.org/10.1007/s00606-004-0162-y>.
- Zheng, G.; Kenney, P.M.; Lam, L. (1992). "Sesquiterpenes from clove (*Eugenia caryophyllata*) as potential anticarcinogenic agents". *J. Nat. Prod.* 55 (7): 999-1003. <https://doi.org/10.1021/np50085a029>.
- Zoghbi, M.G.B.; Guilhon, G.M.S.P.; Sarges, F.N.; Pereira, R.A.; Oliveira, J. (2011). "Chemical variability of the volatiles from the leaves of *Eugenia protenta* McVaugh (Myrtaceae) growing wild in the North of Brazil". *Biochem. Syst. Ecol.* 39 (4-6): 660-665. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2011.05.019>.



**Tabla 1.** Compuestos químicos mayoritarios (> 10 %) en el aceite esencial/extracto no polar de órganos vegetativos aéreos de *Eugenia* spp.

Especie	Órgano vegetal	Compuestos químicos mayoritarios (%)	Referencia
<i>Eugenia acapulcensis</i>	Hojas	trans-pinocarveol (4.2) espatulenol (4.2) α-cadinol (4.2)	Vila <i>et al.</i> , 2004
<i>Eugenia acutata</i>	Hojas	trans-cariofileno (27) α-selineno y -muroleno (8.4) α-humuleno (4.1) δ-cadineno (6.0) especies de germacreno (5.3)	Nakamura <i>et al.</i> , 2010
<i>Eugenia arenosa</i>	Hojas	aromadendreno (11.7) acetato de farnesilo (70.4) globulol (7.1) β-cariofileno (4.6) espatulenol (2.8)	Apel <i>et al.</i> , 2004
<i>Eugenia argentea</i>	Hojas	β-cariofileno (18.0) δ-cadineno (7.8), Germacreno D (7.1)	Gopan <i>et al.</i> , 2011
<i>Eugenia austin-smithii</i>	Hojas	(E)-Hex-2-enal (33.6) α-terpineol (16.3)	Cole <i>et al.</i> , 2007
<i>Eugenia axillaris</i>	Frutos	Germacreno D (12.1) guaial (35.4)	Pino <i>et al.</i> , 2003
	Hojas	α-pineno (15.5)	Setzer <i>et al.</i> , 2006
<i>Eugenia bacopari</i>	Hojas	Aromadendreno (12.2) δ-cadineno (15.8)	Apel <i>et al.</i> , 2002
<i>Eugenia beaurepaireana</i>	Hojas	β-amirina (27.66) biciclogermacreno (7.2) valenceno (5.5) α-amirina (2)	Magina <i>et al.</i> , 2009
		β-cariofileno (8.0) biciclogermacreno (7.2) valenceno (5.5) δ-cadineno (4.9) espatulenol (4.9) viridiflorol (4.9) α-pineno (4.1) guaial (3.7)	Magina M. <i>et al.</i> , 2009
		biciclogermacreno (14.3)	Apel <i>et al.</i> , 2004
<i>Eugenia brasiliensis</i>	Frutos variedad roja	cianidina-3-glucósido (76.54) delfinidina-3-glucósido (12.23) delfinidina (3.36) ianidina (6.14)	Flores <i>et al.</i> , 2012
		α-pineno (18.8) β-pineno (11.0) cariofileno óxido (22.2) α-cadinol (10.4)	Moreno <i>et al.</i> , 2007
	Frutos variedad amarilla	α-pineno (33.5) β-pineno (14.4) 1,8-cineol (28.2) mirceno (10.7) α-terpineol (10.2)	Moreno <i>et al.</i> , 2007
	Hojas	ácido ursólico (87-96)	Frighetto <i>et al.</i> , 2005
		espatulenol (12.6) τ-cadinol (8.7) viridiflorol (7.1), -cadinol (6.6) 1- <i>epi</i> -cubenol (6.3) guaial (5.4) 1,8-cineol (3.2) α-pineno (2.9)	Magina M. <i>et al.</i> , 2009; 2012

**Tabla 1.** Compuestos químicos mayoritarios (> 10 %) en el aceite esencial/extracto no polar de órganos vegetativos aéreos (Cont.)

Especie	Órgano vegetal	Compuestos químicos mayoritarios (%)	Referencia
<i>Eugenia brasiliensis</i>	Hojas	β-selineno (17.3) α-selineno (14.8) β-cariofileno (12.6) δ-cadineno (4.8) β-elemeno (4.6) β-gurjuneno (4.2) espatulenol (4.0) 1,8-cineol (3.9)	Fischer <i>et al.</i> , 2005
		α-pineno (10.3) β-pineno (10.4) τ-cadinol (7.1) espatulenol (7.7) biciclogermacreno (5.8) δ-cadineno (3.7) β-cariofileno (3.3)	Apel <i>et al.</i> , 2004
		α-tujeno (4.0 –11.5), espatulenol (7.0–18.0)	Lima <i>et al.</i> , 2008
		espatulenol (15.0)	Ramos <i>et al.</i> , 2006
<i>Eugenia burkatiana</i>		biciclogermacreno (14.2)	Apel <i>et al.</i> , 2002
<i>Eugenia candolleana</i>	Hojas	τ-cadinol (29) isómeros de guaiol (15.2) viridifloreno (4.8) δ-elemeno (13.9)	Nakamura <i>et al.</i> , 2010
<i>Eugenia cartagensis</i>	Hojas	trans-2-hexenal (31.2) trans-β-ocimeno (16.2) germacreno D (12.3) β-cariofilleno (6.3) germacreno B (6.0) biciclogermacreno (4.1)	Cole <i>et al.</i> , 2007
<i>Eugenia caryophyllata</i>	Hojas	eugenol (88.3)	Kloucek <i>et al.</i> , 2012
	Hojas/Frutos	eugenol (90) eugenol acetato (17) β-cariofilleno (9) δ-cadineno (3.6)	Singh <i>et al.</i> , 2012
	Frutos	eugenol (59.3) β-cariofilleno (24.9) δ-cadineno acetato de eugenilo (4.2), (3.6) α-humuleno (2.8)	Fichi <i>et al.</i> , 2007
<i>Eugenia caryophyllus</i>	Frutos	eugenol (78.00) acetato de eugenilo (13.77)	Oussalah <i>et al.</i> , 2006
<i>Eugenia copacabanensis</i>	Hojas	α-pineno (20.2) β-pineno (50.4) trans-cariofileno (10.3)	Do Carmo de O. Arruda <i>et al.</i> , 2011
<i>Eugenia chlorophylla</i>	Tallos	cariofileno óxido (17.2) globulol (16.5) 1- <i>epi</i> -cubenol (10.9) <i>epi</i> -α-murolol (16.8) α-cadinol (12.1)	Stefanello <i>et al.</i> , 2008
	Hojas	globulol (22.3) β-cariofileno (8.1) cariofileno óxido (6.4) 1,10- <i>di-epi</i> -cubenol (9.8) 1- <i>epi</i> -cubenol (8.1) α-murolol (8.1) α-cadinol (9.4)	Stefanello <i>et al.</i> , 2008
	Flores	β-cariofilleno (12.8) α-cadinol (10.1) cariofileno óxido (8.9) <i>epi</i> -α- murolol (8.5) alcohol bencílico (6.6) eugenol (5.2)	Stefanello <i>et al.</i> , 2008

**Tabla 1.** Compuestos químicos mayoritarios (> 10 %) en el aceite esencial/extracto no polar de órganos vegetativos aéreos (Cont.)

Especie	Órgano vegetal	Compuestos químicos mayoritarios (%)	Referencia
<i>Eugenia cuprea</i>	Hojas	espatulenol (12.1) β-cariofileno (9.2) allo-aromadendreno (4.4) α-humuleno (3.8) globulol (3.6) τ-cadinol (2.9) α-cadinol (2.8)	Apel et al., 2004
<i>Eugenia dysenterica</i>	Hojas	β-cariofileno (14.8) α-humuleno (10.9) α-terpineol (6.1) α-tujeno (5.6) limoneno (5.5) β-cariofileno óxido (5.4) sabineno (3.9)	Costa et al., 2000
		β-cariofileno (37) δ-cadineno (13-14) α-pineno (8.0) β-pineno (8.5) α-copaeno (8.7) cariofileno óxido (4.8) α-humuleno (8.6-13) (Z)-β-ocimeno (5.9) α-muroleno (2.6) (E)-β-ocimene (1.9) limoneno (14) α-neo-cloveno (3.2) murolo-4,10(14)-dien-1β-ol (1.4)	Duarte et al., 2009
		δ-cadineno (28) cariofileno óxido (8.6) α-copaeno (9.1-12) β-pineno (7.5) limoneno (9.1) α-humuleno (14) α-pineno (5.6-7.8) β-cariofileno (19-23) (Z)-β-ocimeno (5.9) α-muroleno (2.6) α-neo-cloveno (3.1) (E)-β-ocimeno (2.0) murolo-4,10(14)-dien-1β-ol (1.8)	Duarte et al., 2010
<i>Eugenia gacognei</i>	Hojas	2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3,5-dimetil-acetofenona (36.8) 6-hidroxi-2,4-dimetoxi-3-metil-acetofenona (59.6) 2-hidroxi-4,6-dimetoxi-acetofenona (12.7)	Brophy et al., 2014
<i>Eugenia haberi</i>	Hojas	α-pineno (29.0) α-terpineol (19.4) trans-2-hexenal (11.2) terpinen-4-ol (4.7)	Cole et al., 2007
<i>Eugenia horizontalis</i>	Hojas	globulol (18.9) espatulenol (14.5)	Brophy et al., 2014
<i>Eugenia noumeensis</i>	Hojas	1,8-cineol (47.6) α-terpineol (10.9) α-pineno (7.7)	Brophy et al., 2014
<i>Eugenia montevidensis</i>	Hojas	linalool (30.4) trans-2-hexenal (22.5) α-terpineol (5.3) trans-pinocarveol (4.5)	Cole et al., 2007
<i>Eugenia moraviana</i>	Hojas/Tallos (Extracto Etanólico)	ácido 6α-hidroxi betulínico (3.9) ácido platanico (4.3) β-sitosterol (0.5) betulínico ácido (4.0)	Lunardi et al., 2001
<i>Eugenia multicostata</i>	Hojas	α-pineno (16.1) espatulenol (10.7) globulol (8.7) epi-globulol (7.8) β-pineno (7.3) α-cadinol (3.3) τ-cadinol (3.3)	Apel et al., 2004

**Tabla 1.** Compuestos químicos mayoritarios (> 10 %) en el aceite esencial/extracto no polar de órganos vegetativos aéreos (Cont.)

Especie	Órgano vegetal	Compuestos químicos mayoritarios (%)	Referencia
<i>Eugenia protenta</i>	Hojas	Limoneno (5.9) linalol (4) $\beta$ -cariofileno (4.3) germacreno D (1.7) bicyclogermacreno (1.9) $\alpha$ -copaeno (2.2), $\delta$ -terpineno (0.9) $\delta$ -cadineno (0.9) $\alpha$ -terpineol (0.7) $\delta$ -elemeno (0.7) cariofileno óxido (0.5) espatulenol (0.4) $\alpha$ -humuleno (0.4)	Zoghbi <i>et al.</i> , 2011
<i>Eugenia umbelliflora</i>	Hojas	viridiflorol (17.7) $\beta$ -pineno (13.2) $\alpha$ -pineno (11.2) aromadendreno (6.9) ledol (4.7) terpinoleno (2.9) espatulenol (3.1) $\delta$ -cadineno (2.6)	Magina M. <i>et al.</i> , 2009
<i>Eugenia uniflora</i>	Hojas	curzereno (3.9) $\beta$ -cariofileno (12.6) selina-1,3,7-(11)-trien-8-one óxido (19.3) selina-1,3,7-(11)-trien-8-one (9.7) germacreno A (11.6) germacreno B (21.2) germacreno D (11.4)	Novack Victoria <i>et al.</i> , 2012
		selina-1,3,7-(11)-trien-8-one (23.45) selina-1,3,7-(11)-trien-8-epóxido (17.49)	Martinez-Correa <i>et al.</i> , 2011
		curzereno (47.3) $\gamma$ -elemeno (14.25) y <i>trans</i> - $\beta$ -elemenona (10.4)	Franca Rodrigues <i>et al.</i> , 2013
	Hojas	germacrone ácido ursólico acetato de bornilo	Bravi, 2018
		germacreno B (21.8) selina-3,7,(11) dieno (18.7) ( <i>E</i> )-cariofileno (7.0) $\alpha$ -selineno (6.4) $\beta$ -selineno (6.3) sativeno (3.1)	Amaral <i>et al.</i> , 2013
	Hojas/Tallos	germacrone (32.8) curzereno (30.0) germacreno B (15.6) atractilona (4.0) $\beta$ -cariofileno (3.8) $\beta$ -elemeno (2.6)	Maia <i>et al.</i> , 1999
Frutos		Limoneno (2.7) $\beta$ -pineno (13.5) cariofileno óxido (12.6) $\alpha$ -pineno (11.0) $\alpha$ -terpineol (4.1) <i>trans</i> -pinocarveol (3.4) mirtenol (3.0) limoneno (2.4)	Amaral <i>et al.</i> , 2013
		curzereno (38.9) bergapteno (16.2) mirceno (7.7) <i>E</i> - $\beta$ -ocimeno (7.4) limoneno (6.6) <i>cis</i> - $\beta$ -elemenona (4.0) <i>allo</i> -ocimeno (3.0) $\gamma$ y $\beta$ -elemeno (2.4)	Pino <i>et al.</i> , 2003

**Tabla 1.** Compuestos químicos mayoritarios (> 10 %) en el aceite esencial/extracto no polar de órganos vegetativos aéreos (Cont.)

Especie	Órgano vegetal	Compuestos químicos mayoritarios (%)	Referencia
<i>Eugenia zuchowskiae</i>	Hojas	$\alpha$ -pineno (28.3) $\beta$ -cariofileno (13.2) $\alpha$ -humuleno (13.1) $\alpha$ -copaeno (8.1) $\delta$ -cadineno (6.2)	Cole <i>et al.</i> , 2007



## Estudio Farmacobotánico, Etnofarmacológico y Micrográfico de drogas vegetales utilizadas para las afecciones de mayor Índice de mortalidad, comercializadas en la ciudad de Posadas, Misiones Argentina. II parte.

Carlos Gustavo Altamirano\*, Marta Yajía

Laboratorio de Farmacobotánica "Dr. Aníbal Amat", Departamento de Farmacia. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Félix de Azara 1552 piso 5, Posadas, Misiones, República Argentina.

\* Autor a quien dirigir la correspondencia: carlos-altamirano@live.com

### Resumen

El presente estudio corresponde a la segunda entrega donde se realizó el análisis farmacobotánico, etnofarmacológico y micrográfico de drogas vegetales utilizadas en forma empírica para las afecciones con mayor tasa de mortalidad en la provincia de Misiones. Los objetivos fueron relevar y documentar las especies vegetales utilizadas para las afecciones cardiovasculares y respiratorias, sus usos etnofarmacológicos, partes utilizadas y formas de administración. En esta instancia (Parte II), se exponen cinco (5) especies. Las mismas fueron relevadas en los diferentes puntos de comercialización de la Ciudad de Posadas, se conservaron especímenes de resguardo en el Herbario del Departamento de Farmacia de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones y mediante fotografías, fueron identificadas por medio de procedimientos taxonómicos clásicos, y se analizó la endo- y exomorfología empleando técnicas micrográficas como improntas, transcortes, etc. En esta instancia se describe la micrografía de las partes utilizadas y el empleo etnofarmacológico de *Eugenia uniflora*, *Aloysia virgata*, *Lippia alba*, *Solanum granulosum-leprosum* y *Micrograma vacciniifolia*, especies comercializadas y utilizadas como agentes terapéuticos en el tratamiento de las afecciones Cardiovasculares y Respiratorias. Se concluye logrando la descripción de los caracteres de valor diagnóstico de las cinco especies relevadas, aportando al conocimiento de la morfo-anatomía y micrografía aplicada de dichas drogas vegetales, así como los usos etnofarmacológicos, las partes utilizadas y las formas de administración, resaltando la importancia de las técnicas micrográficas en el análisis de las drogas vegetales utilizadas en forma empírica para el tratamiento de las afecciones de mayor índice de mortalidad.

## Pharmacobotanical, Ethnopharmacological and Micrographic study of vegetable drugs used for the affections of greater index of mortality, commercialized in the City of Posadas, Misiones Argentine. Part II.

### Summary

The present study corresponds to the second delivery where the pharmacobotanical, ethnopharmacological and micrographic analysis of vegetable drugs used empirically for the conditions with the highest mortality rate in the province of Misiones was carried out. The objectives were to survey and document the plant species used for cardiovascular and respiratory diseases, their ethnopharmacological uses, parts used and forms of administration. In this instance (Part II), five (5) species are exposed. They were surveyed in the different commercialization points of the City of Posadas, safeguard specimens were preserved in the Herbarium of the Department of Pharmacy of the Faculty of Exact, Chemical and Natural Sciences of the National University of Misiones and through photographs, they were identified by means of classical taxonomic procedures, and endo- and exomorphology were analyzed using micrographic techniques such as imprints, transcuts, etc. In this instance, the micrograph of the parts used and the ethnopharmacological use of *Eugenia uniflora*, *Aloysia virgata*, *Lippia alba*, *Solanum granulosum-leprosum* and *Micrograma vacciniifolia*, species commercialized and used as therapeutic agents in the treatment of Cardiovascular and Respiratory diseases, are described. It is concluded by achieving the description of the characters of diagnostic value of the five species surveyed, contributing to the knowledge of the morpho-anatomy and applied micrography of said plant drugs, as well as the ethnopharmacological uses, the parts used and the forms of administration, highlighting the Importance of micrographic techniques in the analysis of herbal drugs used empirically for the treatment of conditions with the highest mortality rate.

**Palabras clave:** farmacobotánica - micrografía - afecciones.

**Key words:** pharmacobotany - micrograph - conditions.

## Introducción

En la actualidad, numerosas especies vegetales son utilizadas por parte de la población en general de manera empírica para el tratamiento de enfermedades de diferente índole. Esta utilización pocas veces se da mediante la intervención de los profesionales de la salud y los recursos vegetales utilizados como agentes terapéuticos en muchos casos no cuentan con los correspondientes controles, por lo que carecen de una calidad aceptable. Debido a su posición y características geográficas, la ciudad de Posadas es considerada el principal centro de comercialización de plantas medicinales, donde colonos, aborígenes y vendedores ambulantes comercializan sus recolecciones, provenientes de fuentes espontáneas o también de zonas limítrofes. Para la Provincia de Misiones, en los últimos diez años las principales causas de mortalidad fueron enfermedades cardiovasculares, neoplásicas y respiratorias. En 2017, las enfermedades cardiovasculares fueron responsables del 67,35 % de las muertes totales, los tumores el 18,20 %, las enfermedades respiratorias el 15,20 %, sin discriminar sexo y edad. En menor medida, muertes por causas externas (accidentes de tránsito, por ejemplo) el 9,08 % y enfermedades infecciosas y parasitarias el 1,77 % (Dirección de Programación y Planificación, 2018). Por lo que el objetivo principal del presente trabajo es describir las especies vegetales vasculares utilizadas para las afecciones cardiovasculares y respiratorias, con la finalidad de contribuir al conocimiento farmacobotánico, etnofarmacológico y micrográfico de estas especies. En esta segunda etapa se describen *Eugenia uniflora*, *Aloysia virgata*, *Lippia alba*, *Solanum granulosum-leprosum* y *Microgramma vacciniifolia*.

## Materiales y Métodos

La incidencia de los grupos de patologías con mayor índice de mortalidad en la provincia de Misiones (Dirección de Programación y Planificación, 2018) y los puntos de comercialización de las drogas provenientes de las especies vegetales vasculares nativas empleadas como agentes terapéuticos en el tratamiento de las enfermedades fueron los mismos abordados en la primera parte del presente trabajo (Altamirano y Yajía, 2020).

Los registros tuvieron en cuenta los siguientes datos: nombre vulgar, utilización etnofarmacológica, parte/s utilizada/s, forma de administración, lugar de comercialización y estado o forma de presentación en la comercialización del material.

Los usos y las propiedades atribuidas que se citan en el presente trabajo han sido transcritos textualmente de los enunciados por los entrevistados, sin que ello signifique la convalidación de lo expresado por los entrevistados..

Los materiales vegetales relevados (enteros o fragmentados) fueron documentados a través de la preservación de especímenes de resguardo (vouchers) por duplicado en el Herbario del Departamento de Farmacia de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones.

El análisis exo-morfológico de las drogas organizadas relevadas (plantas enteras o sus partes) se realizó sobre la base de una descripción exo-morfológica de la/las partes utilizadas, empleándose en una primera instancia la técnica botánica habitual por medio de lupa estereoscópica y microscopio óptico, utilizándose los descriptores farmacobotánico-farmacognósticos existentes (Trease y Evans, 1991).

El análisis endo-morfológico cualitativo, estructural y anatómico fue realizado empleando las técnicas analíticas anatómico-histoquímicas habituales, tales como cortes transversales realizados a mano alzada, desgarrados epidérmicos (Wallis, 1968; Zarlavsky, 2014) e improntas o moldes epidérmicos utilizando resina acrílica (Altamirano y Yajía, 2017).

Los datos de la sistemática de las especies que comprenden el presente trabajo, fue analizada tomando como referencia el Catálogo de las Plantas Vasculares del Conosur (Catálogo de las Plantas Vasculares del Conosur, 1994).

## Resultados

### Patologías de mayor importancia

Las principales causas de mortalidad relevadas para la provincia de Misiones fueron enfermedades cardiovasculares en primer lugar, cáncer y enfermedades respiratorias en segundo y tercer lugar respectivamente (Dirección de Programación y Planificación, 2018).

### Lugares de comercialización

Existen tres ámbitos de comercialización de especies vegetales con empleo etnofarmacológico: los mercados municipales, ferias francas y vendedores callejeros.

### Resultados Etnofarmacológicos y micrográficos exo-endomorfológicos

#### *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae)

**Sinónimos:** *Eugenia micheli* Lam., *Stenocalyx micheli* (Lam.) O. Berg, *Stenocalyx nhampiri* Barb. Rodr.

**Nombres vulgares:** "pitanga", "ñangapirí".

**Distribución:** Sur de Brasil, Uruguay y nordeste de la Argentina, hasta el Delta del Paraná.

Es utilizado como hipotensor. También es recomendada en afecciones de la garganta. Se usan las hojas en infusión como hipotensor. Se administran tres tazas diarias. En el mate se trituran dos puñados de hojas en un litro de agua. El cocimiento de dos puñados de hojas en un cuarto de litro de agua se utiliza en gargarismos para curar anginas y afecciones diversas de la garganta. Se comerciali-



za en estado fresco o seco y sin envoltorio en el Mercado Municipal, vendedores ambulantes y en la ferias francas.

### Descripción Exomorfológica

Arbusto muy ramificado y de copa globosa, tomando a veces forma de arbolito. Hojas opuestas, glabras, subsésiles, aovado-lanceoladas, de 2,5-5 cm de largo. Flores blancas dispuestas en largos pedúnculos axilares unifloros, fasciculados. Baya depreso-globosa, de 2-3 cm de diámetro, rojo o púrpura con el pericarpio surcado longitudinalmente formando costillas redondeadas (Figura 1a).

Cáliz compuesto generalmente de 4 sépalos. Pétalos comúnmente 4. Estambres numerosos, dispuestos en varias series, libres o unidos en fascículos; anteras dehiscientes por fisuras longitudinales. Ovario 2-3 locular, con los lóculos pluriovulados; estilo filiforme. Fruto baya drupácea, lisa o surcada. Árboles o arbustos de hojas opuestas, coriáceas o subcoriáceas, a veces punzantes y flores blancuecinas, solitarias o agrupadas.

### Descripción endomorfológica

En vista superficial de la hoja, las células epidérmicas de ambas superficies exhiben contorno sinuoso, con estomas paracíticos en la cara abaxial.

En el transcorte de la hoja se observa la epidermis uniestratificada y el mesófilo compuesto por parénquima en empalizada 1-estratificado y el parénquima esponjoso con drusas. Presenta glándulas esquizógenas de posición subepidérmica con respecto a ambas superficies foliares. La nervadura central muestra colénquima en las posiciones abaxial y adaxial de la zona costal y posee los tejidos vasculares, xilema y floema, dispuestos en forma semi-

lunar, con una vaina de fibras que rodea al conjunto en posición tanto adaxial como abaxial (en algunos casos interrumpida a los lados), los haces vasculares correspondientes a las venas menores se encuentran rodeados por un casquete de fibras y una vaina parenquimática con cristales cuadrangulares o poliédricos (Figura 1b, c).

El transcorte del tallo primario presenta contorno circular. La epidermis es uniestrata con cutícula delgada y lisa. La zona cortical presenta un estrato celular colenquimático subepidérmico y parénquima de grandes células isodiamétricas, con escasas drusas de oxalato de calcio y cavidades esquizolisígenas. El cilindro central está formado por un sistema de haces vasculares biclaterales aproximados, separados por radios medulares parenquimáticos delgados y uniseriados y está rodeado por un anillo completo de esclereidas (Figura 1d).

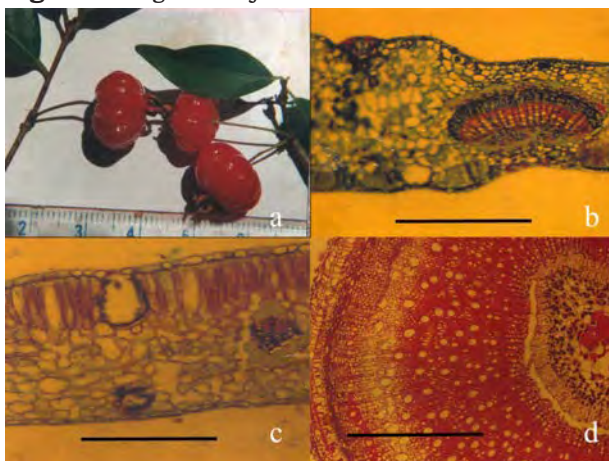
### *Aloysia virgata* (Ruiz & Pav.) Pers. var. *virgata* (Verbenaceae)

**Sinónimos:** *Aloysia virgata* (Ruiz & Pav.) Pers. var. *argutedentata*, *Aloysia urticoides* Cham., *Aloysia virgata* (Ruiz & Pav.) Pers. var. *laxa*, *Lippia arborea* Rojas Acosta, *Lippia urticoides* (Cham.) Steud., *Lippia urticoides* (Cham.) Steud. var. *laxa*, *Priva virgata* (Ruiz & Pav.) Spreng., *Verbenia virgata* Ruiz & Pav., *Zappania virgata* (Ruiz & Pav.) Poir., *Lippia virgata* (Ruiz & Pav.) Steud. var. *laxa*.

**Nombre vulgar:** "niño rupá".

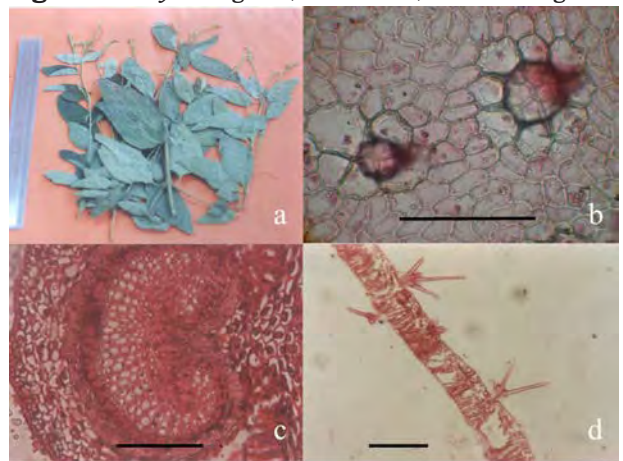
Es utilizado en afecciones cardíacas, contra el asma y la gripe. Se utilizan dos puñados de hojas en un litro de agua, se suministra en forma de té, tres veces al día o en el mate para las afecciones cardíacas y en el tratamiento de las gripes y el asma. Se comercializa en el Mercado Municipal, en las ferias francas y los vendedores ambulantes. Se vende en estado fresco sin envoltorio y seco fraccionado en envoltorio de papel nylon.

**Figura 1.-** *Eugenia uniflora* L.



**a:** hojas y fruto. **b:** corte transversal de la nervadura media con los tejidos vasculares de disposición semilunar. **c:** corte transversal de la lámina foliar mostrando una glándula de posición subepidérmica. **d:** corte transversal de tallo. Escala 100 µm.

**Figura 2.-** *Aloysia virgata* (Ruiz & Pav.) Pers. var. *virgata*



**a:** planta comercializada y herborizada. **b:** epidermis adaxial con tricomas de cubierta unicelulares cónicos y curvados. **c:** corte transversal de la nervadura media mostrando la disposición flabeliforme del xilema. **d:** corte transversal de la hoja con tricomas estrellados. Escala 100 µm.

### Descripción Exomorfológica

Arbusto muy ramificado. Hojas coriáceas, aovadas u oblongas, cortamente pecioladas, finamente crenadas, muy ásperas en la cara superior, de 3-7 cm de largo, mayores de 2 cm de ancho. (Figura 2a). Flores blancas, suavemente perfumadas, dispuestas en espigas axilares, generalmente geminadas o ternadas o bien reunidas en panojas terminales.

### Descripción endomorfológica

En vista superficial las células de ambas epidermis foliares muestran contorno poligonal (Figura 2b). Los estomas son anomocíticos y están presentes sólo en la cara abaxial (lámina hipostomática).

En el corte transversal de la hoja se observa ambas epidermis uniestratificadas; en la epidermis adaxial existen tricomas de cubierta unicelulares cónicos curvados con cistolitos en su base globosa y tricomas glandulares con largo pedicelo y cabeza secretora unicelular (Figura 2b); en la epidermis abaxial se hallan tricomas de cubierta unicelulares, tricomas de cubierta estrellados con pie 2-celular y estomas anomocíticos (Figura 2d); el mesófilo dorsiventral con un estrato de parénquima en empalizada formado por células de marcado desarrollo longitudinal y varias capas de parénquima esponjoso laxamente dispuesto y formado por células pequeñas. La nervadura media se proyecta como costillas hacia ambas superficies foliares, con colénquima angular en contacto con ambas epidermis, el xilema adopta una disposición flabeliforme o semilunar (Figura 2c), el floema se dispone hacia la cara abaxial y se encuentran masas de fibras lignificadas alrededor de los tejidos vasculares, formando en algunos casos un cilindro casi continuo.

### *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. ex Britton & P. Wilson var. *alba* (Verbenaceae)

**Sinónimos:** *Lantana alba* Mill., *Lippia citrata* Cham., *Lippia geminata* Kunth, *Lippia geminata* var. *microphylla* Griseb.

**Nombres vulgares:** "salvia", "salvia maestra", "salvia de jardín".

Se recomienda contra la tos. Se utilizan las hojas, un puñado en infusión, una taza de té tres veces al día y con el mate se toma la misma dosis. Se comercializa en el Mercado Municipal, en las ferias francas. Se vende en estado fresco y seco sin envoltorio.

### Descripción Exomorfológica

Arbusto apoyante, ligeramente pubescente. Hojas opuestas, subcoriáceas, aovadas o aovado-oblongas, cortamente pecioladas, aserradas, ásperas en la cara superior, pubescentes en la inferior, de 5-10 cm de largo. Flores violáceas, pequeñas dispuestas en capítulos pedunculados.

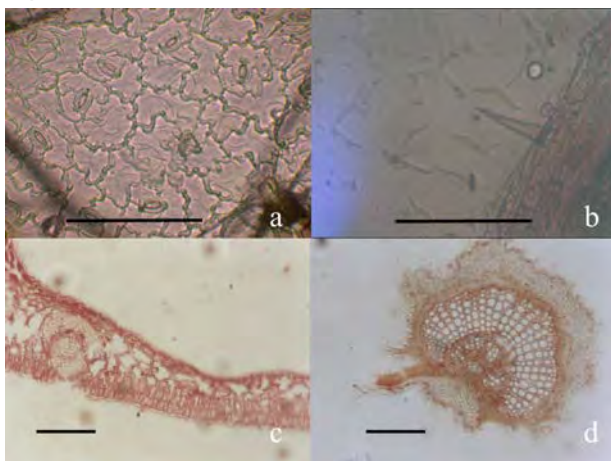
Distribución: frecuente en América del Sur templado-cálida. Adventicia en América del Norte.

### Descripción endomorfológica

En vista superficial las células epidérmicas de la hoja presentan contorno poligonal a levemente sinuoso. Los estomas son anomocíticos y se encuentran ubicados en la epidermis abaxial. (Figura 3a).

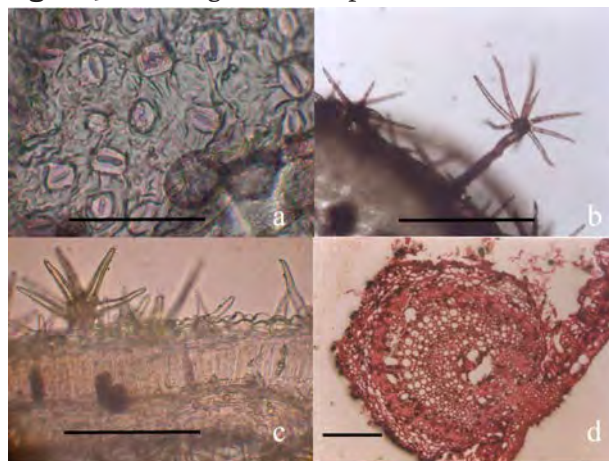
En el corte transversal de la hoja se observan ambas epidermis uniestratificadas, la adaxial cubierta por gruesa cutícula; en ambas se presentan tricomas de cubierta unicelulares cistolíticos cortos, otros verrucosos unicelulares de mayor longitud y tricomas glandulares con cabezuela unicelular. El mesófilo muestra estructura dorsiventral,

**Figura 3-** *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. ex Britton & P. Wilson var. *alba*



**a:** epidermis abaxial mostrando el contorno de sus células y estomas anomocíticos. **b:** tricoma unicelular cistolítico corto. **c:** corte transversal de la hoja. **d:** corte transversal de la nervadura media. Escala 100  $\mu$ m.

**Figura 4-** *Solanum granulosum-leprosum* Dunal



**a:** epidermis abaxial con estomas. **b:** tricomas estrellados pedicelados. **c:** corte transversal de la hoja, con mesófilo dorsiventral y tricomas estrellados. **d:** corte transversal de la nervadura media. Escala 100  $\mu$ m.

con parénquima en empalizada uniestratificado y parénquima esponjoso 3-estratificado. La nervadura principal se proyecta hacia la cara abaxial y puede observarse una costilla pequeña en la cara adaxial que surge entre dos pequeñas depresiones, con colénquima en relación con ambas superficies foliares. El xilema se dispone en forma semilunar, al igual que el floema que lo acompaña hacia la cara abaxial, en su forma y en posición abaxial. El parénquima clorofílico penetra en la vena media hasta casi entrar en contacto con el haz vascular. (Figura 3b, c y d).

### ***Solanum granulosum-leprosum* Dunal (Solanaceae)**

**Sinónimos:** *Solanum verbascifolium* L. var. *auriculatum* (Ait.) O. K.

**Nombres vulgares:** "fumo bravo", "tabaquillo".

**Distribución:** Nordeste de la Argentina y Brasil.

Se recomienda como antihipertensivo, para enfermedades de las vías respiratorias. Se usan las hojas, una previamente machacada en infusión, en tres tomas diarias, en el mate y como cigarrillos para enfermedades de las vías respiratorias. Se comercializa en el Mercado Municipal, vendedores ambulantes y en las ferias francas. Se vende en estado fresco sin envoltorio y seco fraccionado en envoltorio de papel nylon.

### **Descripción exomorfológica**

Arbusto o pequeño árbol. Hojas aovadas-oblongas, largamente acuminadas, densamente tomentosas, de 10–20 cm de largo, enteras con dos estípulas auriculadas en la base del pecíolo. Flores violáceas, en corimbos plurifloros. Fruto subgloboso, anaranjado.

### **Descripción endomorfológica**

En vista superficial las células de la hoja presentan contornos poligonales en ambas superficies. La epidermis adaxial es papilosa, con gruesa cutícula, tricomas cónicos unicelulares y tricomas de cubierta estrellados pedicelados cuya base posee un número variable de células y longitud también variable (estos tricomas se encuentran presentes en ambas epidermis). Los estomas son paracíticos y están presentes en ambas caras, siendo más abundantes en la cara abaxial (Figura 4a y b).

En el transcurso de la hoja se observa la epidermis con las características descriptas, y el mesófilo con estructura dorsiventral, que presenta parénquima en empalizada uniestratificado con células de desarrollo longitudinal marcado y 2-3 estratos de tejido parenquimático esponjoso, con idioblastos con arena cristalina y drusas en algunos casos (Figura 4c). La nervadura media se proyecta hacia la cara adaxial en una costilla marcada, con colénquima de posición abaxial, en la cual penetra una pequeña porción del tejido parenquimático en empalizada; el haz vascular central es bicolateral y está rodeado por escaso tejido parenquimático. Al igual que en el mesófilo, en el parénquima de la nervadura

media se observan células de naturaleza idioblástica conteniendo elevada cantidad de pequeños cristales (Figura 4d).

### ***Microgramma vacciniifolia* (Langs. et Fisch.) Copeland (Polypodiaceae)**

**Sinónimos:** *Polypodium vacciniifolium* Langsd. et Fisch., *Crospe-daria vacciniifolia* (Langsd. et Fisch.) Link., *Lepicystis vacciniifolia* (Langsd. et Fisch.) Diels.

**Nombres vulgares:** "sueta consuelta", "suelda consuelta", "naka guairá".

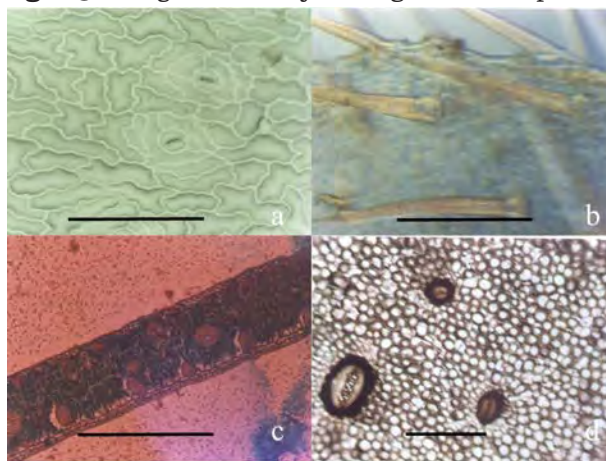
**Distribución:** Brasil Austral, Paraguay, Uruguay, Oriente de Bolivia y en Misiones, Bosque Chaqueño Oriental (Corrientes, Chaco, Formosa, Santa Fe y Bosques en galerías de los ríos Paraná, Uruguay y de La Plata. Su límite austral se encuentra en el Delta del Paraná y Selva marginal de Punta Lara, en la Provincia de Buenos Aires.

Es recomendado contra la hipertensión arterial y "dolores de corazón", y en afecciones de las vías respiratorias. Se utilizan las frondes y los rizomas. Se hierve un trozo de planta, incluyendo frondes y rizomas de unos 10 cm de largo, en medio litro de agua con lo cual se obtiene una tisana que puede ser suministrada como agua (fría), en el mate o como té 3 o 4 veces al día. Se comercializa en el Mercado Municipal, por los vendedores ambulantes y en las ferias francas. Se vende en estado fresco y sin envoltorio.

### **Descripción exomorfológica**

Hierbas epífitas con rizoma rastrero, dictiostélico, cubierto de páleas imbricadas. Frondes simples, notablemente dimórficas o trimórficas, aisladas, enteras, heteromorfas. Las fértiles diferenciadas de las estériles por presentar escamas o pelos. Las frondes estériles son elíptico-lanceoladas hasta orbiculares de

**Figura 5-** *Microgramma vacciniifolia* (Langs. et Fisch.) Copeland



**a:** epidermis abaxial con estomas. **b:** tricomas de cubierta cónicos. **c:** corte transversal del foliolo mostrando el mesófilo homogéneo. **d:** corte transversal del raquis. Escala 100 µm.



hasta 7 cm de longitud con pecíolo corto, escamoso, glabras o con escamas sobre la vena media, enteras; las frondes fértiles son lineares-oblongas con una serie de soros circulares a cada lado de la vena media. Venación variada. Soros circulares, uniseriados, superficiales, con paráfisis filiformes. Esporas monoletes. Rizomas escamosos, largamente rastreros, aplanados dorsiventralmente, de aproximadamente 4 mm de diámetro, cubierto por escamas peltadas.

### Descripción endomorfologica

El corte transversal del rizoma presenta una estructura dictiostélica con predominio de parénquima y tejidos de conducción dispuestos en dos ciclos de unidades vasculares ("haces"), rodeados cada una por vainas pluriestratificadas de células parenquimáticas con denso contenido pardo. Las escamas rizomáticas triangulares, de inserción basal.

El pecíolo, en transcorte, presenta la misma estructura estélica pero con cinco unidades vasculares dispuestos en forma circular y rodeados por el parénquima cortical y el medular (Figura 5d).

En la hoja, en vista superficial, las células epidérmicas —de diferente tamaño— presentan contornos sinuosos. Se observan tricomas de cubierta cónicos, unicelulares. Los estomas se ubican en la cara abaxial y presentan de 2 a 4 células subsidiarias, similares o ligeramente diferentes a las células epidérmicas propiamente dichas (Figura 5a y b). El transcorte foliar muestra la epidermis uniestratificada, con hipodermis en ambas caras, adaxial y abaxial; el mesófilo es homogéneo, formado por hasta 8 estratos de células parenquimáticas rectangulares, pequeños haces vasculares asociados a casquetes de tejido de sostén, el cual además forma grupos discretos, independientes de los haces, hacia la cara abaxial (Figura 5c).

Los esporangios son globosos, con anillo de dehiscencia lateral e incompleto, con hasta 12 células engrosadas. Las esporas son monoletes, con exina levemente ornamentada.

### Discusión

Los caracteres diagnósticos relevados para *E. uniflora* son coincidentes con los descriptos por otros autores (González, 2011; Lorca y col., 1995; Auricchio y col., 2003), como el parénquima en empalizada 1-estrato, los estomas paracíticos y las glándulas esquizógenas subepidérmicas, por nombrar algunos (Lorca y col., 1995). Sin embargo, otros autores han descripto estomas anomocíticos con 4-6 células acompañantes (Cortadi y col., 1996). Son de importancia los caracteres microscópicos para el análisis de *E. uniflora*, debido a que se observan variaciones macroscópicas en relación a las diferentes procedencias de la droga (Alves y col., 2008). Las propiedades antihipertensivas atribuidas de manera empírica a las hojas y los tallos de *E. uniflora* han sido estudiados en modelos

animales (Mariani y col., 2017). Los extractos de la droga produjeron un descenso de la presión arterial media, la sistólica y diastólica en ratones (Mariani y col., 2017), lo que podría explicar el efecto farmacológico de la droga. Las hojas de *E. uniflora* también son utilizadas en infusiones para combatir trastornos gastrointestinales (Ratera y Ratera, 1980). Recientemente la Dirección Nacional de Biodiversidad, del entonces Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sustentable, solicitó la inclusión, en el capítulo XI del Código Alimentario Argentino, de los frutos de *Eugenia uniflora* L. (Ministerio de Salud y Desarrollo Social de la Nación, 2019).

Para el reconocimiento de *A. virgata* var. *virgata*, la estructura del cistolito presente resulta de gran importancia (Arambarri y col., 2008), así como las características de las hojas y el ovario para diferenciarla de *A. virgata* var. *platyphylla* (O'Leary y col., 2016). Sus hojas son utilizadas también en Bolivia como carminativo, estomacal y tónico; y en Paraguay como anticatarral, antirreumático, diaforético, estimulante, estomacal y pectoral (Bassols y Gurni, 1996). En la Argentina también se utilizan las hojas como antimicóticos, en preparados utilizados por vía externa (Martínez Crovetto, 1981).

Los caracteres descriptos para *L. alba* var. *alba* concuerdan en su mayoría con otros autores, los tricomas con cistolitos en la base son caracteres diagnósticos, aunque en el presente estudio no se han caracterizado tricomas glandulares con cabeza bicelular (González y col., 2008; Arambarri y col., 2006). Es utilizada en la medicina tradicional del Paraguay también como antiespasmódico en dolores menstruales (Basualdo y col., 2003). En el Brasil ha sido ampliamente estudiada, documentándose varios usos medicinales como ser para el tratamiento de la presión alta, cólicos, diarrea, fiebre, anemia, insomnio, entre otros (Santos y col., 2015).

Para el caso de *Solanum granulosum-leprosum* Dunal, los caracteres concuerdan con los descriptos por otros autores (De Toledo Picoli y col., 2013). Se destaca la importancia del reconocimiento de los estomas paracíticos presentes en la hoja anfiestomática, tricomas cónicos y estrellados pedicelados con base, idioblastos con arena cristalina y el haz vascular central bicolateral, como caracteres de valor diagnósticos diferenciales (Arambarri y col., 2006; De Toledo Picoli y col., 2013). En la Argentina las hojas son utilizadas como antiinflamatorio externo (Toursarkissian, 1980), en Paraguay es conocida como *ka'oveti* (*Solanum granulosum-leprosum*) y se ha reportado su uso para el tratamiento de la diabetes (Soria y Ramos, 2015).

Ha sido relevada también *Microgramma vacciniifolia*, donde se destacan las escamas rizomáticas triangulares, y la hipodermis en el transcorte foliar como caracteres diagnósticos (Chaves y col., 2019). Los guaraníes lo utilizan para tratar los riñones, la sordera y el dolor menstrual (Keller y col., 2011). Es utilizada además en Brasil como diurética (Bolson y col., 2015), para el tratamiento de la

cistitis, infecciones y piedras renales (Vendruscolo y col., 2005). Los extractos crudos de las partes aéreas poseen actividad antioxidante (Peres y col., 2009).

## Conclusiones

En el presente trabajo se han relevado y documentado en esta instancia Parte II: cinco (5) especies comercializadas y utilizadas como agentes terapéuticos en el tratamiento de las afecciones cardiovasculares (2) *Eugenia uniflora*, *Aloysia virgata* var. *virgata*, y respiratorias (3) *Lippia alba*, *Solanum granulosum-leprosum* y *Microgramma vacciniifolia*.

Se han descripto los caracteres de valor diagnóstico de las cinco especies relevadas, aportando al conocimiento de la morfo-anatomía y micrografía aplicada de dichas drogas vegetales, así como los usos etnofarmacológicos, las partes utilizadas y las formas de administración.

Los usos y las propiedades atribuidas que se citan en el presente trabajo han sido transcritos textualmente de los enunciados por los entrevistados, sin que ello signifique la convalidación de los usos y las propiedades dadas por los entrevistados.

## Bibliografía

- Altamirano, C.G., Yajía, M.E. (2020). "Estudio farmacobotánico, etnofarmacológico y micrográfico de drogas vegetales utilizadas para las afecciones cardiovasculares y respiratorias comercializadas en la ciudad de Posadas, Misiones Argentina. I Parte". *Dominguezia* 36 (1): 17-24.
- Altamirano, C.G., Yajía, M.E. (2017). "'Improntas' reveladora de caracteres micrográficos epidérmicos con aplicación en el control de calidad de plantas medicinales". *Dominguezia* 33 (2): 33-36.
- Alves, E.S.; Tresmondi, F.; Longui, E.L. (2008). "Análise estrutural de folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) coletadas em ambientes rural e urbano, San Pablo, Brasil". *Acta Botanica Brasiliica* 22 (1): 241-248.
- Arambarri, A.M.; Freire, S.E.; Colares, M.N.; Bayón, N.D.; Novoa, M.C.; Monti, C.; Stenglein, S.A. (2008). "Leaf anatomy of medicinal shrubs and trees from Misiones forest of the Paranaense Province (Argentina). Part 2". *Bol. Soc. Argent. Bot.* 43 (1-2): 31-60.
- Arambarri, A.M.; Freire, S.E.; Colares, M. ; Bayón, N.D.; Novoa, M.C.; Monti, C.; Stenglein, S.A. (2006). "Leaf anatomy of medicinal shrubs and trees from Gallery forests of the Paranaense Province (Argentina). Part 1". *Bol. Soc. Argent. Bot* 41 (3-4): 233-268.
- Auricchio, M.T.; Bacchi, E.M. (2003). "Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas". *Revista do Instituto Adolfo Lutz* 62 (1): 55-61.
- Bassols, G.B.; Gurni, A.A. (1996). "Especies del género *Lippia* utilizadas en medicina popular latinoamericana". *Dominguezia* 13 (1): 7-25.
- Basualdo, I., Soria, N., Ortiz, M., Degen, R. (2003). "Uso medicinal de plantas comercializadas en los mercados de Asunción y Gran Asunción, Paraguay". *Revista de la sociedad científica del Paraguay* 14: 5-22.
- Bolson, M.; Hefler, S.R.; Dall, E.I.; Chaves, O.; Junior, A.G.; Junior, E.L.C. (2015). "Ethno-medicinal study of plants used for treatment of human ailments, with residents of the surrounding region of forest fragments of Paraná, Brazil". *Journal of Ethnopharmacology* 161 (2): 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.11.045>.
- Catálogo de las Plantas Vasculares del Conosur, (1994). Instituto de Botánica Darwinion. Buenos Aires, Argentina [en línea]. <http://www.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/fa.htm>.
- Chaves, A.L.F.; Da Conceição, A.O.; De França, J.P.; Villela, J.S.; De Almeida Oliveira, L.; De França, L.P.; Da Cruz, M.B. (2019). "Estudo de Morfologia e Histoquímica da espécie *Microgramma vacciniifolia* (Langsd. & Fisch.) Copel, Polypodiaceae-Pteridofita-corrente no campus da Universidade Estadual de Santa Cruz. (UESC)". *Ciências Biológicas: Campo Promissor em Pesquisa* 3: 191-201. <https://doi.org/10.22533/at.ed.25720160116>.
- Cortadi, A.; Di Sapio, O.; Gattuso, M. (1996). "Caracteres anatómicos de tres especies medicinales de la familia Myrtaceae". *Acta Farm. Bonaerense* 15 (2): 109-123.
- De Toledo Picoli, E.A.; Dos Santos Isaías, R.M.; Ventrella, M.C.; De Miranda, R.M. (2013). "Anatomy, histochemistry and micro-morphology of leaves of *Solanum granulosum-leprosum* Dunal". *Bioscience Journal* 29 (3): 655-666.
- Dirección de Programación y Planificación. *Mortalidad General por causas seleccionadas de la Clasificación Internacional de Enfermedades año 2017*. Ministerio de Salud Pública, Provincia de Misiones, 2018.
- González, C.C. (2011). "Arquitectura foliar de las especies de Myrtaceae nativas de la flora argentina II: Grupo *Eugenia*". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 46 (1-2): 85-104.
- González, Y.; Degen de Arrúa, R.; Delmás, G. (2008). "Estudio morfoanatómico de 'salvia', *Lippia alba* (Miller) NE Brown (Verbenaceae)". *Rojasiana* 8 (1): 77-79.
- Keller, H.A.; Torres, E.I.M.; Prance, G.T. (2011). "Ethnopteridology of the Guaraní of Misiones Province, Argentina". *American Fern Journal* 101 (3): 193-204.
- Lorca, G.G.; Amat, A.G.; González, C. (1995). "Análisis comparativo de caracteres diagnósticos para la identificación de tres especies argentinas de Myrtaceae empleadas en la medicina popular". *Acta Farm. Bonaerense* 14 (2): 81-86.
- Mariani, N.A.P.; Rangel, K.S.; Souza, E.N.; Da Silva, D.C.F.; Meira, E.F.; Padilha, A.S.; Severi, J.A.; Siman, F.D.M. (2017). "Efeitos do extrato de *Eugenia uniflora* sobre os parâmetros hematológicos e pressão arterial de ratos hipertensos". *Revista Univap* 22 (40): 373.
- Martínez-Crovetto, R. (1981). "Plantas Utilizadas en Medicina en el Noroeste de Corrientes". *Miscelánea (Fundación Miguel Lillo)* 69: 7-139.
- Ministerio de Salud y Desarrollo Social de la Nación, Secretaría de Regulación y Gestión Sanitaria y Secretaría de Alimentos y Bioeconomía, (2019). "Resolución Conjunta 26/2019" [en línea]. *Boletín Oficial de la República Argentina* N° 34.203, Primera Sección. <<https://www.boletinoficial.gob.ar/detalleAviso/primera/217130/20190923>>. [Consulta 22/01/2020].

- O'Leary, N.; Lu-Irving, P.; Moroni, P.; Siedo, S. (2016). "Taxonomic revision of *Aloysia* (Verbenaceae, Lantaneae) in South America". *Annals of the Missouri Botanical Garden* 101 (3): 568-609.
- Peres, M.T.; Simionatto, E.; Hess, S.C.; Bonani, V.F.; Candido, A.; Castelli, C.; Poppi, N.R.; Honda, N.K.; Cardoso, C.A.L.; Faccenda, O. (2009). "Estudos químicos E biológicos de *Microgramma vacciniifolia* (langsd. & Fisch.) copEl (polypodiaceae)". *Química Nova* 32 (4): 897-901.
- Ratera, E.L.; Ratera, M.O. (1980). *Plantas de la flora argentina empleados en medicina popular*. Ed. Hemisferio Sur. Argentina.
- Santos, A.C.B.; Nunes, T.S.; Coutinho, T.S.; Silva, M.A.P. (2015). "Uso popular de espécies medicinais da família Verbenaceae no Brasil". *Revista Brasileira de Plantas Medicinais* 17 (4): 980-991.
- Soria, N.; Ramos, P. (2015). "Uso de plantas medicinales en la atención primaria de salud en Paraguay: algunas consideraciones para su uso seguro y eficaz". *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud* 13 (2): 8-17.
- Toursarkissian, M. (1980). *Plantas medicinales de la Argentina: sus nombres botánicos, vulgares, usos y distribución geográfica*. Ed. Hemisferio Sur S.A. Argentina: 127.
- Trease G. E.; Evans, W. C. (1991). *Farmacognosia*. Interamericana-McGraw-Hill, México (13° ed): 866-870.
- Vendruscolo, G.S.; Simões, C.M.O.; Mentz, L.A. (2005). "Etnobotânica no Rio Grande do Sul: análise comparativa entre o conhecimento original e atual sobre as plantas medicinais nativas". *Pesquisa Botânica* 56: 285-320.
- Wallis T.E. (1968) "Microscopía Analítica". Acribia, Zaragoza: 254-257.
- Zarlavsky, G.E. (2014). *Histología Vegetal: técnicas simples y complejas*. Sociedad Argentina de Botánica. Buenos Aires.

## Nuevo soporte para obtención de cortes de material vegetal con micrótopo rotativo

María Inés Mercado\*, Graciela Inés Ponessa

Fundación Miguel Lillo, Instituto de Morfología Vegetal, Área Botánica. Miguel Lillo 251, T4000JFE San Miguel de Tucumán, Tucumán, República Argentina.

\* Autor a quien dirigir la correspondencia: [mimercado@lillo.org.ar](mailto:mimercado@lillo.org.ar)

### Resumen

Obtener cortes de material vegetal de 20-30  $\mu\text{m}$  de espesor con un micrótopo rotativo se encuentra ligado a la inclusión de las muestras en bloques de resina o parafina, lo cual implica de disposición de tiempo e insumos. Otra limitante en el trabajo de anatomía vegetal es la realización de cortes de material fresco para ensayo de pruebas histoquímicas, ya que se debe contar con la destreza necesaria para realizar cortes a mano alzada o con equipamiento e insumos que en ocasiones presentan elevados costos como un crióstato. El objetivo de esta comunicación es presentar una técnica que utiliza un micrótopo rotativo con cuchilla descartable y un soporte de cera odontológica que permite obtener cortes, incluso seriados, de material fresco o fijado de diferentes órganos. Se discuten las limitaciones de la técnica.

## New mounting support to obtain slices of plant material by using a rotary microtome

### Summary

Obtaining sections of plant samples from different organs of 20-30  $\mu\text{m}$  thick by using a rotary microtome is linked to the inclusion of the samples in blocks of resin or paraffin, technique which implies time and supplies. Another limitation in the work of plant anatomy is the realization of cuts from fresh material to perform histochemical tests. To obtain freehand cuts the operator must have the necessary skills or the laboratory must have equipment and supplies that sometimes represents high costs such as a cryostat. The objective of this communication is to present a technique that, using a rotary microtome with a disposable blade and dental wax support, allows obtaining cuts, even serial, of fresh or fixed material from different organs. The limitations of the technique are presented.

### Introducción

Para muchos laboratorios clásicos de histología vegetal, la obtención de cortes de material vegetal para la realización de estudios anatómicos y pruebas histoquímicas nos plantea contar con una gran habilidad para realizar cortes a mano alzada o realizar técnicas laboriosas de fijación. Un completo set de técnicas tradicionales para la obtención de cortes y preparados histológicos a partir de diferentes materiales vegetales se encuentra disponible en la bibliografía de D'Ambrogio de Argüeso (1986), Ruzin (1999) y Zarlavsky (2014), entre otras.

En caso de necesitar cortes de material fresco o fijado sin inclusión en parafina, se debe contar con la pericia de realizar cortes a mano alzada o contar con instrumentos como vibrató-

mos o crióstatos, los cuales constituyen equipamientos costosos si el laboratorio no cuenta con ellos.

El vibratómetro permite la obtención de cortes de 50-200  $\mu\text{m}$  de material fresco o previamente fijado. Para materiales muy pequeños o blandos como radículas embrionales se han ensayado con éxito técnicas de inclusión directa en agarosa (Ron y col., 2013). Atkinson y Wells (2017) diseñaron moldes 3D de ácido poliláctico para embeber material fresco o fijado de raíces en agarosa al 4-5 % (p/v) lo que permite moldear bloques que al solidificar pueden ser cortados en el vibratómetro. Esta técnica permite obtener secciones de espesor conocido entre un corte y otro, además, tiene la ventaja de que la muestra se encuentra en flotación evitando así la desecación de la misma.

**Palabras clave:** cera odontológica - cortes histológicos - material vegetal - micrótopo rotativo - técnica.

**Key words:** dental wax - histological sections - plant material - rotary microtome - technique.

Para el caso de contar con un crióstato, las muestras vegetales frescas o fijadas, son infiltradas en una serie de soluciones de diferentes gradientes de sacarosa como crioprotector para evitar la formación de cristales durante el posterior congelamiento o en compuestos especiales como *optimum cutting temperature* (conocido como OCT) y posteriormente congeladas directamente a temperaturas de  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  o  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  con  $\text{CO}_2$ , N líquido o en el mismo crióstato. Las secciones de  $10\text{--}50\text{ }\mu\text{m}$  de espesor, se recogen en flotación para su posterior teñido y montaje (Weaver y Layne, 1965; Läuchli, 1966; Benes, 1973; Knapp y col., 2012).

Por otra parte, la mayoría de los laboratorios clásicos de histología vegetal cuentan con micrótomos rotativos para la obtención de cortes de  $10\text{--}100\text{ }\mu\text{m}$  a partir de material infiltrado en parafina o resinas. Mediante esta técnica los tejidos vegetales son endurecidos al reemplazar el agua intracelular con parafina o resinas sintéticas a fin de obtener cortes muy finos. Sin embargo, el proceso incluye numerosos pasos de fijación, deshidratación, inclusión, corte, montaje, desparafinado y tinción (D'Ambrogio de Argüeso, 1986; Spence, 2001; Ruzin, 1999; Zarlavsky, 2014), los cuales requieren de mucho tiempo (semanas), esfuerzo y gasto de insumos que en ocasiones pueden ser perjudiciales para la salud y el medio ambiente. En muchos casos estos procesos pueden causar ablandamiento, deformaciones de los tejidos y lavado de los compuestos que se desean detectar.

La alternativa más económica y ambientalmente saludable es realizar cortes a mano alzada, término utilizado originalmente para aquellas secciones obtenidas al cortar el material con una hoja de afeitar sosteniendo el mismo entre los dedos o utilizando como soporte médula de sauco, fragmentos de zanahoria, telgopor compactado (poliestireno) o carbowax 4000 (Johansen, 1940; D'Ambrogio de Argüeso, 1986; Fink, 1986; Zarlavsky, 2014) e incluso, recubriendo el material fresco o fijado en polietilenglicol o agarosa 6 % para formar un bloque alrededor del material que facilite su manipulación (Fink, 1986; Zelko y col., 2012). A los fines prácticos, en el presente trabajo al hablar de cortes a mano alzada nos referiremos a aquellas secciones obtenidas utilizando una hoja de afeitar ya sea sosteniendo el material con la mano, en un soporte o con un micrótomos manual (Johansen, 1940; Cutler, 1978; O'Brien y McCully, 1981; Fink, 1986; Purvis y col., 1966; D'Ambrogio de Argüeso, 1986; Yeung, 1998; Zarlavsky, 2014). Aunque es una técnica apropiada para una gran variedad de materiales más o menos rígidos, las secciones resultantes usualmente no son uniformes ni delgadas, genera grandes dificultades cuando el material es muy fino o succulento como por ejemplo la lámina de una hoja de textura membranacea, cuando presenta tejidos con diferentes durezas, con espacios intercelulares abundantes como tallos de Aráceas, o con tejidos blandos como en raíces herbáceas de pequeño diámetro, radículas embrionales, brotes jóvenes (Metusala, 2017) o material proveniente de plantas cultivadas *in vitro*

(Johansen, 1940; Zelko y col., 2012). El resultado depende en gran medida de la pericia del operario y la naturaleza del material, produciendo en muchos casos un bajo porcentaje de secciones útiles. Obtener un buen corte a mano alzada requiere contar con suficiente material, paciencia, práctica y habilidad (Berlyn y Miksche, 1976; Metusala, 2017).

El objetivo de este trabajo es ofrecer un método alternativo para obtener cortes de entre  $25\text{--}50\text{ }\mu\text{m}$  en un micrótomos rotativo a partir de material fresco o previamente fijado, utilizando un soporte de cera odontológica. Este método ha sido utilizado en numerosas ocasiones en nuestro laboratorio desde 2016 con diferentes muestras (tejidos y órganos) obteniendo muy buenos resultados (Pérez Grosso y col., 2016; Gómez y col., 2019; Lizarraga y col., 2017; Mercado y col., 2018; Moreno y col., 2018; Mercado y col., 2020; Pérez y col., 2020; Leal y col., 2021, entre otros). Se presentan resultados en los tejidos de diferentes órganos de plantas superiores y se discuten las limitaciones de la técnica.

## Materiales y Métodos

### Material vegetal

Las muestras usadas fueron de material vegetal fresco, porciones de material fijado en FAA (ácido acético, formol, agua y alcohol 1:2:7:10) y material seco y rehidratado en agua destilada a temperatura ambiente durante 10 min. Los mismos correspondieron a diferentes órganos vegetativos y reproductivos, con distintos tamaños y consistencias. A modo ilustrativo se realizaron cortes de hojas de *Zea mays* L. (Poaceae) fijadas en FAA. Hojas de *Lippia integrifolia* (Griseb.) Hieron. (Verbenaceae) secas y rehidratadas. Hojas frescas de *Vaccinium myrtillus* L. (Ericaceae). Tallos de *Medicago sativa* L. (Fabaceae) fijados en FAA. Tallos secos y rehidratados de *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae). Tallos frescos de *Fabiana punensis* S.C. Arroyo (Solanaceae). Raíces fijadas en FAA de *Tagetes minuta* L. (Asteraceae). Raíces, tallos, foliolos y raquis frescos de plántulas de *Zuccagnia punctata* Cav. (Fabaceae) y ápices caulinares de *Ullucus tuberosus* Caldas (Basellaceae) obtenidos mediante diferentes técnicas de cultivo *in vitro*.

Flores secas y rehidratadas de *Artemisia mendozana* DC. var. *mendozana* (Asteraceae). Frutos frescos juvenes de *Prosopis alba* Griseb. (Fabaceae). Hojas y tallos frescos y fijados en FAA de *Pelargonium x hortorum* L. H. Bailey (Geraniaceae).

La nomenclatura científica fue corroborada en la base de datos The Plant List (2013).

### Instrumental

Hojas de afeitar tipo Gillette® o tijeras que permitan cortar porciones de aproximadamente  $5\text{--}7\text{ mm}$  de long., ó  $2\text{--}5\text{ mm}^2$  (superficie) (porciones de menor tamaño favorecen la obtención de mejores cortes) del material que se desea seccionar. Superficie para corte del material vegetal, en nuestro



laboratorio se utiliza un vidrio de 20 x 20 cm y 4 mm de espesor. Cajas de Petri (100 x 20 mm). Pinzas de acero inoxidable. Aguja histológica, micrótopo rotativo y cuchillas: cuchilla afilada o cuchilla descartable, *HP35 Coated microtome blade* 34 °/75 mm Thermo Scientific o afines. Cera odontológica o articular en placas (140 mm de long. x 75 mm de lat. y 2 mm de espesor). La dureza de la cera se identifica con diferentes colores según la marca (marcas alternativas Vaircil®, Reus®, GC-Dental®), se expende en locales de insumos odontológicos. Vaircil presenta cera rosada de mayor dureza, en comparación con las otras, es difícil de moldear con el calor de las manos y quebradiza por lo que no es recomendable; la amarilla, de dureza intermedia, es la más utilizada en nuestro laboratorio por ser fácilmente maleable con las manos pero conservando una consistencia que permite su manipulación y la roja, blanda, si bien es más fácil de modelar tiende a pegarse con el material sobre todo en ambientes cálidos y húmedos (Figura 1 A).

Los cortes histológicos se obtuvieron montando muestras de aproximadamente 5-7 mm de long. o 2-5 mm<sup>2</sup> de superficie en soportes de cera odontológica de dureza intermedia, que posteriormente fueron seccionadas con micrótopo rotativo a 15, 20, 25 y 35 µm de espesor.

Para estudios clásicos de anatomía, los cortes obtenidos a partir de material fresco o fijado en FAA, fueron observados directamente al microscopio óptico montados en agua destilada o bien, se decoloraron con hipoclorito de sodio al 50 %, lavados con agua destilada tres veces y teñidos con tinción doble sucesiva azul astra-safranina (Luque y col. 1996) o metacromática como azul de toluidina y violeta de cresyl para ser posteriormente montados en agua-glicerina (1:1) (D'Ambrogio de Argüeso, 1986; Zarlavsky, 2014).

Para estudios histoquímicos, los cortes de material fresco fueron sometidos a colorantes y reactivos productores de reacciones de coloración cuyas técnicas constan en la bibliografía clásica de histología vegetal como rojo de rutenio (1 % p/v) para sustancias pépticas, azul de toluidina para polisacáridos (Heslop-Harrison and Heslop-Harrison, 1981), sudan IV (solución acuosa a saturación) para lípidos, cloruro férrico (10 % p/v) para compuestos fenólicos (D'Ambrogio de Argüeso, 1986; Ruzin, 1999; Zarlavsky, 2014) y NP (2-aminoethyl-diphenylborinate, Sigma) 1 % en MeOH (Neu, 1956) para flavonoides y fenoles derivados del ácido caféico y clorogénico.

Diafanizados se realizaron según la técnica de Dizeo de Strittmater (1973).

Los cortes fueron realizados en un micrótopo rotativo tipo Minot Microm HM315 con cuchillas descartables de acero inoxidable.

Para las observaciones se utilizó un microscopio óptico Carl Zeiss Lab. A1 Axiolab con cámara adosada Axio-Cam ERc 5s Zeiss y el programa Axio Vision release 4.8.2 (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) y un microscopio de fluorescencia (Nikon Optiphot) con luz UV (filtro de excitación UV-1A: 365 nm, filtro de barrera 400 nm).

## Resultados

### Procedimiento

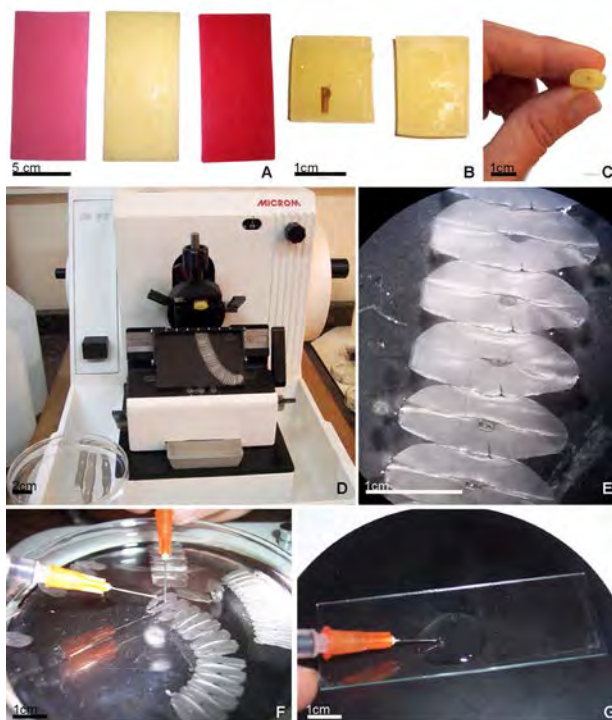
Para obtener las secciones se toma un fragmento del material vegetal fresco (tallos, hojas, raíces u otros órganos) —fijado o seco y previamente rehidratado durante 10 min por inmersión en agua destilada—, de aproximadamente 5 a 7 mm de long. o 2 hasta 5 mm<sup>2</sup> (superficie) y se coloca con ayuda de pinzas entre dos fragmentos de cera de dureza intermedia, de 10 a 20 mm<sup>2</sup> cuidando que el material quede orientado según las necesidades para realizar los cortes correspondientes (Figura 1 B), se presionan los bordes de la cera y con el calor de las manos se cierra por los laterales y la base dejando solo visible la cara por la cual se procederá a cortar (Figura 1 C). Los cortes se realizan de forma inmediata para evitar que el material se deshidrate. Este “cubo” o “prisma rectangular” de cera —donde se encuentra el material— se sujeta a la prensa del micrótopo orientando el ángulo de corte, el espesor del corte se selecciona en el micrótopo, el cual se encuentra preparado con una cuchilla descartable de acero inoxidable de preferencia nueva (Figura 1 D). De acuerdo con la naturaleza del material se obtienen cortes buenos empleando diferente espesor de corte (Figura 2 A-D). No es aconsejable realizar cortes muy delgados, de menos de 20 µm ya que el material se torna frágil y tiende a romperse, los diferentes tejidos pierden su cohesión al intentar desmontarlos de la cera de soporte. Se pueden obtener cortes más gruesos sin ningún inconveniente, pero el investigador deberá decidir si cumplen con las necesidades del análisis a realizar (Figura 2 A-D).

Las secciones obtenidas forman una cinta que puede ser recuperada con pinzas y colocada en cunas de agua destilada a temperatura ambiente, generalmente se utilizan cajas de petri que pueden ser numeradas en la secuencia de corte, permitiendo obtener cortes seriados (Figura 1 E). No se debe usar agua templada o caliente ya que disuelve la cera la cual se adhiere a los tejidos interfiriendo posteriormente con la coloración y el proceso de recuperación del corte.

De cada sección se aíslan manualmente los cortes individuales bajo lupa con ayuda de dos agujas hipodérmicas (Figura 1 F). Los cortes obtenidos se colocan sin adhesivo directamente sobre un porta objeto con una gota de agua que permite su deslizamiento por tensión superficial (Figura 1 G) o pueden ser almacenados en alcohol 70 °, por no más de 2 o 3 días (siempre y cuando no sea la intención detectar algún compuesto soluble en el medio de conservación).

Colocados los cortes sobre el porta objeto se cubren con el cubre objeto y se pueden observar directamente en el microscopio óptico o para un mejor reconocimiento de los tejidos se decoloran y se pueden realizar diferentes tinciones (Figura 2 E-H).

Los cortes también pueden destinarse a algún test histoquímico empleando el reactivo correspondiente, dependiendo

**Figura 1.-** Detalle de la técnica

**A:** Placas odontológicas de diferente dureza. **B-C:** Preparación de soporte con fragmento de tallo de “alfalfa” (*M. sativa*). **D:** Montado del soporte en el micrótopo rotativo y corte. **E:** Tira de cortes obtenidos de forma seriada. **F:** Separación manual de los cortes con agujas histológicas. **G:** Aislamiento de cortes por flotación en porta objeto.

de la naturaleza química del compuesto que se desea identificar o del objetivo del trabajo a realizar (Figura 2 I-K).

### Resultados obtenidos

En la figura 2 A-D, se observan cortes de lámina foliar de maíz previamente fijadas en FAA, realizados a 15, 20, 25 y 35  $\mu\text{m}$  respectivamente, decolorados y teñidos con azul astra-safranina. En los cortes de 15  $\mu\text{m}$  (Figura 2 A), se observa como se desprende un fragmento del corte.

Como se mencionó con anterioridad, la técnica permite la realización de ensayos histoquímicos. En la figura 2 (E-K) se realizaron cortes de 25  $\mu\text{m}$  de espesor en hojas de “poleo” (*L. integrifolia*) secas y rehidratadas y en hojas frescas de “arándano” (*V. myrtilus*). Se presenta para ambas muestras un control al natural (Figura 2 E e I) en el que se observa la coloración verde característica de las clorofilas. En el del arándano se destaca la presencia de idioblastos en el parénquima fundamental del nervio medio y en empalizada (Figura 2 I). Para el “poléo” se realizó decoloración y posterior tinción con azul astra-safranina la cual permite diferenciar claramente tejidos con paredes con estructura primaria (epidermis, parénquimas) coloreados de azul con respecto a tejidos con paredes con estructura secundarias coloreados de rojo intenso (fibras y vasos xilemáticos) (Figura 2 F).

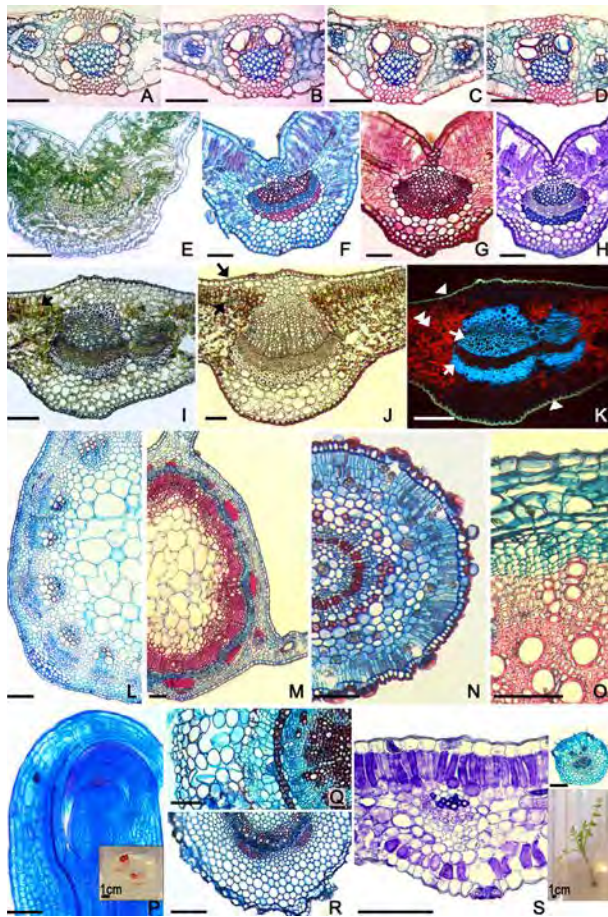
Para *L. integrifolia* se ensayó coloración simple con rojo de rutenio para la identificación de pectinas (Figura 2 G) y con azul de toluidina colorante metacromático que permite la identificación de tejidos con paredes de estructura primaria con coloración violeta, tejidos con paredes de estructura secundarias azul y en caso de estar presentes polisacáridos los cuales se colorean en azul (Figura 2 H). En tanto, para *V. myrtilus* se realizó un test de coloración con sudan IV para lípidos presentes en cutículas y cuerpos oleosos dentro de las células del mesófilo (Figura 2 J) y con el reactivo NP para la detección de flavonoides y fenoles, observando derivados cafeoilquínicos y feruolquínicos, los cuales presentan fluorescencia verdosa-blanquecina y azulada respectivamente en las paredes secundarias de los vasos xilemáticos y fibras; flavonoides, flavonas y flavanonas con fluorescencia blanco-amarillenta a nivel de la cutícula y las clorofilas que exhiben autofluorescencia característica rojiza (Figura 2 K).

La técnica suele funcionar muy bien con materiales de diferente textura como hojas (Figura 2 A-K), tallos (Figura 2 L-N) y raíces (Figura 2 O) e incluso con muestras blandas provenientes de cultivos in vitro, ya sea frescas, secas y rehidratadas o previamente fijadas en FAA (Figura 2 P-S).

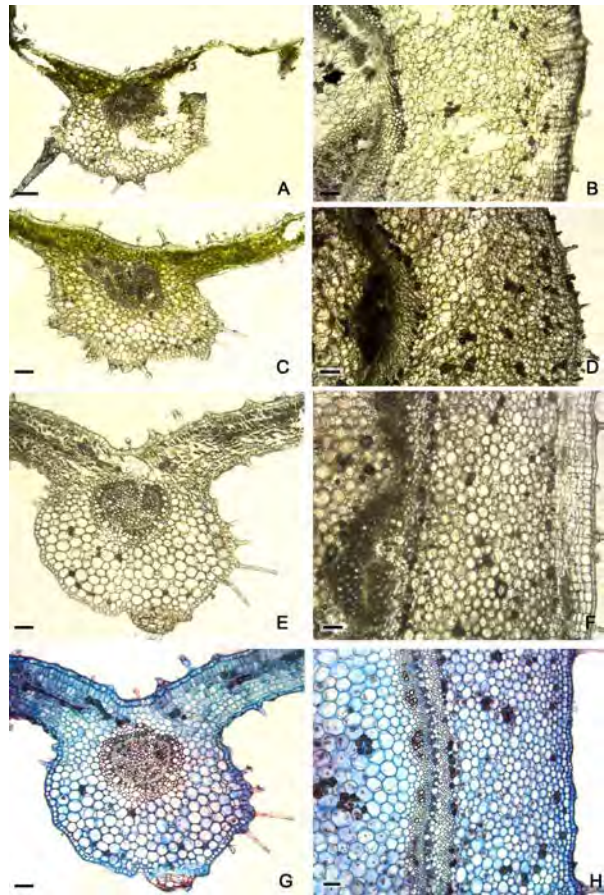
Una limitación de la falta de infiltración, es que algunos materiales frescos tienden a romperse si el tejido es muy carnoso o demasiado blando, como en el caso de plantas crasas, o tejidos suculentos. Se muestran cortes de hojas y tallos de *Pelargonium* sp.; considerada como semisuculenta con abundante parénquima reservante de agua; realizados a partir de material fresco a 25  $\mu\text{m}$  (Figura 3 A y B), donde se observa la ruptura de los tejidos y a 40  $\mu\text{m}$  de espesor (Figura 3 C y D) en los cuales los tejidos se observan íntegros pero gruesos. Se ensayó también la realización de cortes a 30  $\mu\text{m}$  de espesor en material previamente fijado en FAA durante 24 hs, los cortes fueron observados directamente en MO (Figura 3 E-F) y posteriormente decolorados y teñidos con azul astra-safranina (Figura 3 G-H), en este caso se observa una buena calidad de cortes en cuanto a su espesor, sin ruptura de tejidos. Se observa así que en el caso de tejidos blandos puede ayudar aumentar el espesor del corte perdiendo un poco de calidad de observación; o realizar un paso previo de fijación en FAA de entre 24 y 48 horas —dependiendo de la consistencia del material— lo cual endurece los tejidos y favorece la obtención de buenos cortes, aunque al mismo tiempo limita ciertas técnicas histoquímicas.

Algo similar ocurre en materiales que presenta cámaras de aire como un aerénquima, o en el caso de órganos secos o flores que entre sus diferentes componentes presentan aire. En estos casos los tejidos se disgregan por colapso o al desprenderse sus partes cuando se intenta levantar de la cuna de agua. En el caso de órganos con cámaras de aire entre sus componentes como flores y frutos secos, se podría optar por trabajar con cada componente por separado, pétalos, sépalos, entre otros o utilizar como soporte agarosa al 3-5 %, tal como lo sugieren Atkinson y Wells (2017) para este tipo de materiales.



**Figura 2.-** Ensayo de cortes en diferentes materiales vegetales

**A-D:** Cortes de diferentes espesores en lámina foliar de "maíz" (*Z. mays*) fijadas en FAA, decoloradas y teñidas con azul astra-safranina. A 15 µm (A), 20 µm (B), 25 µm (C) y 35 µm de espesor (D). **E-H:** Hojas de "poleo" (*L. integrifolia*) secas y rehidratadas, cortadas a 25 µm de espesor, control natural (E), decoloradas y teñidas con azul astra-safranina (F), coloración con rojo de rutenio para la identificación de pectinas (G) y azul de toluidina (H). **I-K:** Transporte de hojas frescas de "arándano" (*V. myrtillus*) realizados a 25 µm de espesor. Material fresco control sin tinción, se observan idioblastos en el parénquima fundamental del nervio medio y en empalizada (flechas) (I). Sudan IV para la detección de lípidos, tinción positiva en cutículas y cuerpos oleosos dentro de células del mesófilo (flechas) (J). Reacción con NP para detección de flavonoides y fenoles, observado en microscopio de fluorescencia. Derivados cafeoilquinicos (fluorescencia verdosa-blanquecina) y feruolquinicos (fluorescencia azulada) en las paredes secundarias de los vasos xilemáticos y fibras (flechas); flavonoides, flavonas y flavanonas (fluorescencia blanco-amarillenta) a nivel de la cutícula (cabeza de flecha) y clorofilas exhiben autofluorescencia rojiza (doble punta de flecha) (K). **L-S:** Ensayo de corte en tallos y raíces de diferentes estructuras y texturas a 25 µm de espesor, decolorados y teñidos con azul astra-safranina. Tallos previamente fijados en FAA de "alfalfa" (*M. sativa*) (L). Tallos secos y rehidratados de "carqueja" (*B. trimera*) (M). Tallos frescos de *F. punensis* (N). Raíces previamente fijadas en FAA de *T. minuta* (O). **P-S:** Cortes de material obtenido mediante diferentes técnicas de cultivo in vitro. Ápices caulinares de brotes frescos de "ulluco" (*U. tuberosus*). En inserto muestra original (P). Plántulas de "pus-pus" (*Z. punctata*) obtenidas mediante germinación de semillas in vitro. Raíces (Q), tallos (R) y folíolos (S) cortados a 25 µm de espesor, decolorados y teñidos con azul de toluidina. En S, inserto superior raquis teñido con azul astra-safranina e inserto inferior muestra original. Escalas: 100 µm.

**Figura 3.-** Limitaciones de la técnica

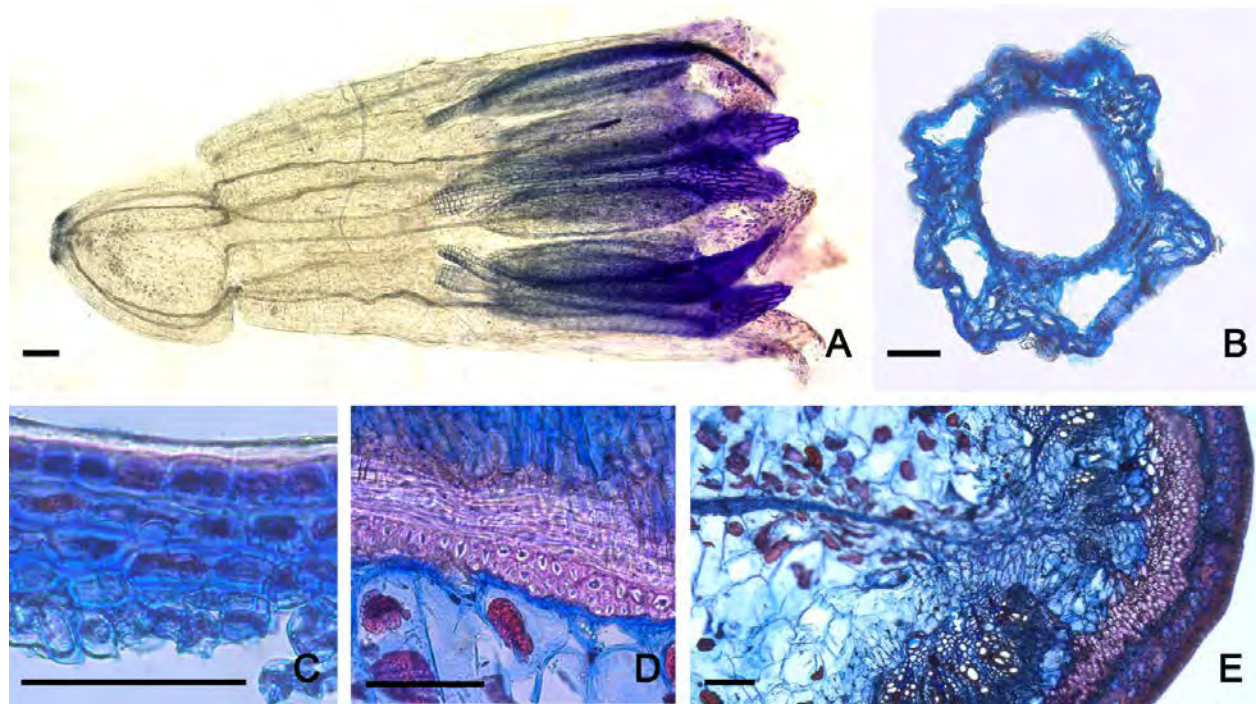
**A-H:** Hojas y tallos frescos de "malvón" (*Pelargonium x hortorum*) cortados a 25 µm (A-B) y 40 µm (C-D). E-H. Hojas y tallos de "malvón" fijados en FAA, cortados a 30 µm, observados directamente en MO (E-F) decolorados y teñidos con azul astra-safranina (G-H). Escalas: 100 µm.

En la figura 4 A y B se presenta el diafanizado de una flor tubulosa de *Artemisia* sp. y un corte realizado a 30 µm de espesor entre el ovario y tubo corolino respectivamente. Para un fruto de *Prosopis* sp., se decidió trabajar con vainas frescas inmaduras (previo a la lignificación total que dificultaría la obtención de buenos cortes) y se realizaron cortes gruesos de 40 µm de espesor, decoloración y posterior tinción con azul astra-safranina (Figura 4 E). En tanto que detalles del epicarpio y endocarpio se obtuvieron realizando cortes de 30 µm (Figura 4 C y D).

## Conclusión

La técnica de corte con micrótopo rotativo que emplea como soporte cera odontológica implica ciertas ventajas frente a la técnica de corte a mano alzada: (1) facilita obtener cortes uniformes, con un espesor recomendable de 20-40 µm; (2) permite obtener cortes seriados; (3) logra



**Figura 4.-** Limitaciones de la técnica

**A-B:** *Artemisia* sp., flor tubulosa previamente fijada en FAA. Aspecto del diafanizado para observar las partes de la flor (A). Corte transversal a 30 µm de espesor entre el ovario y tubo corolino, decolorado y teñido con azul astra-safranina (B). **C-E:** Fruto fresco inmaduro de "algarrobo blanco" (*P. alba*), cortado a 40 µm de espesor, decolorado y teñido con azul astra-safranina. Detalle de sección a 30 µm de espesor de epicarpio (C), endocarpio (D) y aspecto general completo (E). Escalas: 100 µm.

buenos cortes de materiales muy pequeños como raíces embrionales, láminas membranáceas o material de plantas de cultivo *in vitro*; (4) mejora los cortes en materiales con tejidos de diferente dureza, tales como tallos con fibras perivasculares. La única desventaja observada fue la limitación dada por el tipo de material cuando es de consistencia seca, muy blanda, crasa, o con cámaras de aire, en los cuales los cortes suelen desgarrarse, aunque se puede mejorar con el empleo de material previamente fijado o al aumentar el espesor del corte.

## Bibliografía

- Atkinson, J.A.; Wells, D.M. (2017). "An Updated Protocol for High Throughput Plant Tissue Sectioning". *Frontiers in Plant Science* 8: 1721. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01721>.
- Benes, K. (1973). "On the media improving freeze-sectioning of plant material". *Biologia Plantarum* 15: 50-56, <https://doi.org/10.1007/BF02922513>.
- Berlyn, G.P.; Miksche J.P. (1976). "Botanical microtechnique and cytochemistry". Iowa State University Press, Ames, Iowa: 326.
- Cutler, D.F. (1978). *Applied plant anatomy*. Longman, London: 103.
- D'Ambrogio de Argüeso, A. (1986). *Manual de técnicas de histología vegetal*. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires: 83.
- Dizeo de Strittmater, C. (1973). Nueva técnica de diafanización. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 15: 126-129.
- Fink, S. (1986). "A new integrated concept for the improved preparation of sections of fresh or frozen tissue for light microscope histochemistry". *Histochemistry* 86: 43-52. <https://doi.org/10.1007/BF00492344>.
- Gómez, A.A.; Mercado, M.I.; Belizán, M.M.E.; Ponessa, G.; Vattuone, M.A.; Sampietro, D.A. (2019). "In situ histochemical localization of alkaloids in leaves and pods of *Prosopis ruscifolia*". *Flora* 256: 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2019.04.008>.
- Heslop-Harrison, J.; Heslop-Harrison, Y. (1981). "The pollen-stigma interaction in the grasses. 2. Pollen-tube penetration and the stigma response in secale". *Acta Botanica Neerlandica* 30: 289-307. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1981.tb00410.x>.
- Johansen, D.A. (1940). *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill, New York: 523.
- Knapp, E.; Flores, R.; Scheiblin, D.; Modla, S.; Czymbek, K.; Yusibov, V. (2012). "A cryohistological protocol for preparation of large plant tissue sections for screening intracellular fluorescent protein expression". *BioTechniques* 52 (1): 31-37. <https://doi.org/10.2144/000113778>.
- Läuchli, A. (1966). "Cryostat technique for fresh plant tissues and its application in enzyme histochemistry". *Planta* 70(1): 13-25. <https://www.jstor.org/stable/23366257>.
- Leal, M.; Zampini, C.; Mercado, M.I.; Moreno, A.; Simirgiotis, M.; Borquez, J.; Ponessa, G.I.; Isla, M.I. (2021). *Flourensia fiebrigii* S.F. Blake: "A medicinal plant from the Argentinean highlands with potential use as anti-rheumatic and anti-inflammatory". *Journal of Ethnopharmacology* 264: 113-296. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113296>.

- Lizarraga, E.; Mercado, M.I.; Gálvez, C.; Ruiz, A.I.; Ponessa, G.I.; Catalán, C.A.N. (2017). "Morpho anatomical characterization and essential oils of *Tagetes terniflora* and *Tagetes minuta* (Asteraceae) growing in Tucumán (Argentina)". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 52 (1): 55-68. <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v52.n1.16908>.
- Luque, R.; Sousa, H.; Kraus, J. (1996). "Métodos de coloração de Roeser (1972) -modificado- e Kropp (1972) visando a substituição do azul de astra por azul de alcião 8 GS ou 8 GX". *Acta Botanica Brasílica* 10: 199-212. <https://doi.org/10.1590/S0102-33061996000200001>.
- Mercado, M.I.; Lizarraga, E.; Coll Araoz, V.; Catalán, C.A.; Font de Valdez, G.; Marcial, G. (2020). "Lippia integrifolia: are there morphological, anatomical and biochemical differences among chemotypes?" *Industrial Crops and Products* 153: 112-610. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112610>.
- Mercado, M.I.; Moreno, M.A.; Ruiz, A.I.; Rodríguez, I.F.; Zampini, C.I.; Isla, M.I.; Ponessa, G.I. (2018). "Morphoanatomical and histochemical characterization of *Larrea* species from Northwestern Argentina". *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 28 (4): 393-401. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2018.05.012>.
- Metusala, D. (2017). "An alternative simple method for preparing and preserving cross-section of leaves and roots in herbaceous plants: Case study in Orchidaceae". *AIP Conference Proceedings* 1862, 030113. <https://doi.org/10.1063/1.4991217>.
- Moreno, M.A.; Córdoba, S.; Zampini, I.C.; Mercado, M.I.; Ponessa, G.I.; Alberto, M.R.; Nader-Macias, M.E.F.; Sayago, J.; Burgos-Edward, A.; Schmeda-Hirschmann, G.; Isla, M.I. (2018). "*Tetraglochin cristatum* (Britton) Roth: a medicinal plant from the Argentinean highlands with potential use in vaginal candidiasis". *Journal of Ethnopharmacology* 216: 283-294. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.01.001>.
- Neu, R. (1957). "A new reagent for differentiating and determining flavones on paper chromatograms". *Naturwissenschaften* 43: 147-156.
- O'Brien, T. P.; McCully, M. E. (1981). *The study of plant structure: Principles and selected methods*. Termarcarphi Pty. Ltd., Melbourne: 344.
- Pérez Grosso, T.; Mercado, M.I.; Ponessa, G.I.; Conci, L.R.; Virla, E.G. (2016). "Characterization of feeding injuries caused by *Ceresa nigripictus* Remes Lenicov (Hemiptera: Membracidae) on alfalfa stems". *Neotropical Entomology* 45(2): 211-216. <https://doi.org/10.1007/s13744-015-0357-7>.
- Pérez, M.J.; Rodríguez, I.F.; Zampini, I.C.; Cattaneo, F.; Mercado, M.I.; Ponessa, G.I.; Isla, M.I. (2020). "Potential application of *Prosopis nigra* fruits waste as non-conventional sources of functional ingredients to food formulations". *LWT - Food Science and Technology* 132: 109828. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109828>.
- Purvis, M.J.; Collier, D.C.; Walls, D. (1966). *Laboratory techniques in Botany*. Second edition. Butterworth Company Ltd., London: 439.
- Ron, M.; Dorrity, M.W.; de Lucas, M.; Toal, T.; Hernandez, R.I.; Little, S.A.; Maloof, J.N.; Kliebenstein, D.J.; Brady S.M. (2013). "Identification of novel loci regulating interspecific variation in root morphology and cellular development in tomato". *Plant Physiology* 162: 755-768. <https://doi.org/10.1104/pp.113.217802>.
- Ruzin, S.E. (1999). *Plant microtechnique and microscopy*. Oxford University Press. New York: 336.
- Spence, J. (2001). "Plant histology" en Hawes, C.; Satait-Jeune-maitre B. (eds) *Plant Cell Biology, A Practical Approach*. Oxford University Press, Oxford: 189-206.
- The Plant List (2013), Version 1.1. [en línea]; <http://www.theplantlist.org> [Consulta: diciembre de 2020].
- Weaver, G.M.; Layne, R.E.C. (1965). "Cryostat sectioning of woody plant materials". *Canadian Journal of Botany* 43(4): 478-481. <https://doi.org/10.1139/b65-051>.
- Yeung, E. (1998). "A beginner's guide to the study of plant structure" en Karcher S.J. (ed) *Tested studies for laboratory teaching*, Chapter 9. Association for Biology Laboratory Education (ABLE). Calgary: 125-142.
- Zarlavsky, G.E. (2014). *Histología vegetal: Técnicas simples y complejas*. Sociedad Argentina de Botánica, Buenos Aires: 198.
- Zelko, I.; Lux, A.; Sterckeman, T.; Martinka, M.; Kollárová, K.; Lišková, D. (2012). "An easy method for cutting and fluorescent staining of thin roots". *Annals of Botany* 110: 475-478. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs046>.





# *Dominguezia*

## Índice acumulado

### Dominguezia 36(1) 2020

Perfiles de polifenoles en *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae), su estudio mediante electroforesis capilar y su relación con la actividad antioxidante. Parte I: caracterización fitoquímica

Cecilia B. Dobrecky

Caracterización micrográfica del fruto de *Punica granatum* y su importancia en el control de calidad botánica

Leila A. Gimenez, Beatriz G. Varela, Nilda D. Vignale, Alberto A. Gurni

Estudio farmacobotánico, etnofarmacológico y microográfico de drogas vegetales utilizadas para las afecciones de mayor índice de mortalidad, comercializadas en la ciudad de Posadas, Misiones Argentina. I parte

Carlos G. Altamirano, Marta E. Yajía

Presencia de *Baccharis spicata* (Lam.) Baill. en muestras comerciales rotuladas como “carqueja” adquiridas en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Ignacio J. Agudelo, Beatriz G. Varela, Marcelo L. Wagner, Rafael A. Ricco

Valoración de la actividad de extractos acuosos de diferentes órganos vegetativos de *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae) sobre la excreción volumétrica urinaria de ratas Wistar

Mauricio R. Teves, Graciela H. Wende

### Dominguezia 36(2) 2020

Los sistemas vegetales como plataformas de producción de proteínas de interés para la industria farmacéutica

María Alejandra Álvarez

Características y contenido de extractivos del leño de *Discaria chacaye* y *Ochetophila trinervis* (Rhamnaceae) de zonas de ecotono del suroeste de la provincia de Neuquén

Andrea Alejandra Medina, Antonela Pampiglioni, Evelyn Riquelme

Artefactos, saberes y prácticas científico-educativas de la farmacobotánica argentina (siglo XIX y XX). Nuevas miradas sobre las colecciones históricas del Museo de Farmacobotánica “Juan A. Domínguez” de la Universidad de Buenos Aires

Gabriela Mayoni

Nuestra edición y traducción de las Observaciones Fitológicas sobre algunas plantas exóticas introducidas en Roma de Gaspar Juárez y Filippo Gilii (1789, 1790, 1792)

José Luis Narvaja S. J., Miguel de Asúa