

**CARACTERES ANATÓMICOS E HISTOQUÍMICOS DE ESPECIES DE LA FAMILIA
VERBENACEAE EN EL DEPARTAMENTO DE SUCRE, COLOMBIA**

GINA ALEXANDRA PATERNINA MEZA

UNIVERSIDAD DE SUCRE

FACULTAD DE EDUCACIÓN Y CIENCIAS

PROGRAMA DE BIOLOGÍA

SINCELEJO

2018

**CARACTERES ANATÓMICOS E HISTOQUÍMICOS DE ESPECIES DE LA FAMILIA
VERBENACEAE EN EL DEPARTAMENTO DE SUCRE, COLOMBIA**

GINA ALEXANDRA PATERNINA MEZA

Como requisito para obtener el título de Bióloga

Director

Iris Rocío Payares Díaz, BSc, MsC Cambio climático

Codirector

Ruth Alicia Quiroga Maldonado, BSc

“No estoy de acuerdo con lo que dices, pero defenderé con mi vida tu derecho a expresarlo”

Evelyn Beatrice Hall

DEDICATORIA

Esta victoria va dedicada a primeramente a DIOS quien me permitió llegar a este momento, también va dedicado a mi hijo DAVID ALEJANDRO OYOLA PATERNINA y a mi FAMILIA quienes siempre han creído en mí.

AGRADECIMIENTOS

Mis gracias INFINITAS a mis tutoras las Biólogas IRIS ROCÍO PAYARES DÍAZ y RUTH ALICIA QUIROGA MALDONADO quienes me guiaron en la realización de este proyecto gracias por sus opiniones, sus correcciones y paciencia.

Al grupo de investigación en Ecofisiología del cual soy parte desde su conformación, a los compañeros del grupo, pioneros también en el quehacer investigativo, gracias compañeros, amigos, hermanos.

Y en el difícil devenir de la vida a las personas que conocí por casualidad o por capricho del dios destino a quienes colocó en mi dirección, a ustedes mis mejores amigos, convertidos en los hermanos que no había podido tener y ahora tengo: **Gracias:** MARYORIS, PEDRO, LUIS ALEXANDER, JUAN CAMILO, WENDY, STEVEN.

RESUMEN

El propósito de este trabajo fue estudiar los caracteres anatómicos e histoquímico de *Duranta erecta*, *Lantana cámara* subsp. *camara*, *Lantana camara* subsp. *portoricensis*, *Lippia alba*, *Lippia* el propósito de establecer diferencias anatómicas y químicas en los tejidos de tallos y hojas. Las *origanoides*, *Stachytarpheta mutabilis*, *Petrea volubilis*, *Phyla canescens* y *Priva lappulacea*, con pruebas histoquímicas realizadas según Johansen (1940), establecieron que *Priva lappulaceae*, *Petrea volubilis* y *Lippia alba* presentaron cristales de calcio tipo prismáticos y arenilla, *Stachytarpheta mutabilis*, *Phyla canescens* y *Duranta erecta* mostraron cristales tipo arenilla, *Lantana cámara* subsp. *camara*, *Lantana camara* subsp. *portoricensis* presentaron cristales tipo drusas y arenilla. Las pruebas histoquímicas mostraron la carencia de saponinas y alcaloides en todas las especies, mientras que lípidos y carbohidratos tipo azúcares estuvieron presentes en baja proporción según las reacciones colorimétricas. Las pruebas para identificar proteínas, almidón, calcio, celulosa, hemicelulosa y lignina establecieron la alta presencia de esas sustancias. El estudio de la lámina foliar mostró la presencia de tres tipos de estomas: diacíticos, paracíticos y anomocíticos en las especies estudiadas. A nivel de tricomas, se pudo observar una gran variedad, desde glandular con una o varias células, sésil, peltado, o tricomas no glandulares filiformes o tector. Las especies de la familia Verbenaceae utilizadas en este trabajo, presentan diferencias tanto a nivel estomático, de indumentos y la conformación arquitectural de sus tejidos, lo que puede ser utilizado para identificarlas a un nivel más preciso, tanto a nivel de género y especie.

Palabras claves: Verbenaceae, estomas, compuestos químicos, tricomas, anatomía

ABSTRACT

The intention of this work was to study the anatomical characters and histochemical of *Duranta erecta*, *Lantana camara* subsp. *camara*, *Lantana camara* subsp. *portoricensis*, *Lippia alba*, *Lippia origanoides*, *Stachytarpheta mutabilis*, *Petrea volubilis*, *Phyla canescens* y *Priva lappulacea*, with intentions of establish anatomical and chemical differences in the tissues of stems and sheets. The tests histochemical realized according to Johansen(1940), they established that *Priva lappulacea*, *Petrea volubilis* and *Lippia alba* presented prismatic glazing of calcium and fine sand *Stachytarpheta mutabilis*, *Phyla canescens* and *Duranta erecta*, showed glazing type fine sand, *Lantana camara* subsp. *camara*, *Lantana camara* subsp. *portoricensis* presented glazing type drusen and fine sand. The histochemical tests showed the lack of saponins and alkaloids in all the species, while lipids and carbohydrates type sugar were present in low proportion as the colorimetric reactions. The test to identify proteins, starch, calcium, cellulose, hemicellulose and lignin they establishes high Presence of these substances. The study of the plate to foliate showed the presence of three types of stomata Diacytic stomas, Paracytic and anomocytic in the studied species. At trichomes level, it was possible to observe a big variety, from glandular with one or several cells. Sessile, pedunculated or trichomes not glandular filiform or type tector. The species of the Verbenaceae family used in this work, differ both stomatal level, clothing and architectural conformation of their tissues, which can be used to identify them at a more precise level, both in terms of genus and species.

keywords: Verbenaceae, stomas, chemical compounds, trichomes, anatomy, calcium, proteins.

TABLA DE CONTENIDO

1.INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO DE ANTECEDENTES	5
3.OBJETIVOS	8
• 3.1. OBJETIVO GENERAL.....	8
• 3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.	8
4. MARCO TEÓRICO–CONCEPTUAL	9
• 4.1. Caracteres morfológicos diagnósticos de la Familia Verbenaceae.....	9
• 4.2. Verbenaceae reportadas para el departamento de Sucre.....	10
• 4.3. Descripción de especies de Verbenaceae encontradas en el departamento de Sucre.	11
• <i>Lantana camara</i> subsp. <i>camara</i>	11
• <i>Lantana camara</i> L. subsp. <i>portoricensis</i>	12
• <i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson.....	13
• <i>Lippia origanoides</i> Kunth.....	15
• <i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers.	16
• <i>Phyla canescens</i> (Kunth) Greene	18
• <i>Petrea volubilis</i> L.....	19
• <i>Duranta erecta</i> L.	20
• 4.4. Importancia de los Estudios anatómicos o histológicos en plantas	22

• 4.5. Estudios histoquímicos en plantas	23
5. MATERIALES Y MÉTODOS	24
• 5.1. Descripción del área de estudio	24
• 5.2. Fase de campo.....	25
• 5.2.1. Recolección de material vegetal en Campo.....	25
• 5.3. Fase de laboratorio.....	25
• 5.4. Identificación de las especies de Verbenaceae encontradas en la zona de muestreo.....	25
• 5.5. Estudio anatómico de especies de Verbenaceae presentes en el departamento de Sucre	26
• 5.6. Análisis histoquímicos de especies de Verbenaceae presentes en el departamento de Sucre.....	27
6. PRUEBAS HISTOQUÍMICAS EN TALLOS	28
• 6.1. En tallos:	28
• 6.1.1. Determinación de Almidón.....	28
• 6.1.2. Determinación de Saponinas	28
• 6.1.3. Determinación de Proteínas totales.....	28
• 6.1.4. Determinación de celulosa, hemicelulosa y lignina.....	29
• 6.1.5. Determinación de calcio	29
• 6.1.6. Determinación de alcaloides	30
• 6.1.7. Determinación de Lípidos.....	30

• 6.1.8. Determinación de lecitina	31
• 6.1.9. Determinación de fitosterol	31
• 6.1.10. Determinación de proteínas tipo aleuronas.....	31
• 6.1.11. Determinación de carbohidratos	32
• 6.1.12. Determinación de taninos	32
• 6.2. Obtención de los cortes paradermales en hojas	33
7. RESULTADOS Y DISCUSION	34
• 7.1 Estudio en las hojas.....	34
7.2. Análisis anatómico de las especies de Verbenaceae.....	45
• 7.3. Analisis histoquimico en tallos de Verbenaceae presentes en el departamento de Sucre	53
8. CONCLUSIONES	83
9. ANEXOS	85
10. REFERENCIAS	91

TABLA DE ILUSTRACIONES

	pág.
Ilustración 1. <i>Lantana cámara</i> subsp. <i>camara</i> Mostrando inflorescencias y hojas.....	12
Ilustración 2. <i>Lantana cámara</i> subsp. <i>portoricensis</i> . a. Inflorescencias b. hojas.....	13
Ilustración 3. <i>Lippia alba</i> , mostrando hojas e inflorescencias.....	14
Ilustración 4. <i>Lippia origanoides</i> , mostrando inflorescencias y hojas.....	15
Ilustración 5. <i>Priva lappulacea</i> . Mostrando hojas (a), inflorescencias (b) y frutos (c).....	17
Ilustración 6. <i>Stachytarpheta mutabilis</i> Mostrando inflorescencias y hojas.....	18
Ilustración 7. <i>Phyla canescens</i> . Mostrando inflorescencias y hojas.....	19
Ilustración 8. <i>Petrea volubilis</i> . Mostrando Flores y hojas.....	20
Ilustración 9. <i>Duranta erecta</i> mostrando flores y hojas.....	21
Ilustración 10. a. Estomas, b. Tricomas en <i>D. erecta</i>	34
Ilustración 11. a. Estomas en <i>L.camara</i> subsp. <i>portoricensis</i> , b: Estomas en <i>L. camara</i> subsp. <i>camara</i>	36
Ilustración 12. a. Tricoma glandular pedunculado en <i>L.camara</i> subsp. <i>portoricensis</i> , b: Tricoma glandular pedunculado unicelular en <i>L.camara</i> subsp. <i>portoricensis</i> c: Tricoma filiforme observado en <i>Lantana camara</i> subsp <i>camara</i>	36
Ilustración 13 a. Estomas en <i>L. alba</i> , b: Estoma en <i>L. origanoides</i>	37
Ilustración 13.1 a. Tricomas tipo tector y glandular en <i>L. origanoides</i> , b. Detalle superficial de tricoma glandular con cabeza policelular en <i>L. alba</i> , c. Vista lateral de tricoma glandular pedunculado en <i>L. alba</i>	37

Ilustración 14. Estomas presentes en <i>P. volubilis</i>	38
Ilustración 15. a. Estomas b. tricomas en <i>Phyla canescens</i>	39
Ilustración 16. a. Estomas en <i>P. lappulacea</i> . b. estomas en <i>S. mutabilis</i>	40
Ilustración 16.1. a. Tricoma tipo tector en hoja de <i>Priva lappulacea</i> b. Tricoma glandular con cabeza tri-célular (Vista lateral) en <i>Priva lappulacea</i> c. Tricoma glandular con cabeza unicelular en <i>S. mutabilis</i> , d. Tricoma glandular pedunculado con cabeza bicelular en <i>S. mutabilis</i> , e. Tricoma glandular con cabeza tetra-celular (vista polar) en <i>S. mutabilis</i>	40
Ilustración 17. Corte transversal de tallo de <i>D. erecta</i> teñida con azul de toluidina.....	46
Ilustración 18. Cortes de tallos teñidos con toluidina. a. <i>L.camara</i> subsp. portoricensis b. <i>L. camara</i> subsp. camara.....	47
Ilustración19. Corte transversal de tallos teñidos con toluidina. a. <i>L. alba</i> . b. <i>L. origanoides</i>	48
Ilustración 20. Corte transversal de tallo de <i>P. volubilis</i> tinción con toluidina.....	49
Ilustración 21. Corte transversal de tallo de <i>P. canescens</i>	50
Ilustracion22. Cortes de tallo de <i>P. lappulacea</i> en tinción con toluidina.....	51
Ilustración 23. Corte transversal de tallo de <i>S. mutabilis</i> en tinción con toluidina.....	52
Ilustración 24 a. <i>D. erecta</i> en tinción con lugol, b. Cristales de tipo arenilla c. Proteínas medulares d. Proteínas tipo aleuronas e. Sustancias lipídicas f. Determinación de saponinas g. Pectinas h: Azucares.....	55

Ilustración 25. Cortes de tallo de <i>Duranta erecta</i> . a. Meyer, b: DMB, c: Dragendorff.....	56
Ilustración 26. a. <i>L.camara</i> subsp. <i>camara</i> b. corte de tallo en <i>lantana camara</i> subsp. portoricensis, ambas en tinción con lugol.....	57
Ilustración 26.1. a. <i>L.camara</i> subsp. <i>camara</i> , arenilla y drusas b. corte de tallo en <i>lantana camara</i> subsp. portoricensis arenilla y drusas.....	57
Ilustración 26.2. a <i>L.camara</i> subsp. <i>camara</i> b: <i>L.camara</i> subsp. portoricensis, coloración típica para la presencia de proteínas de membrana.....	58
Ilustración 26.3. a. <i>L.camara</i> subsp. <i>camara</i> b. <i>L.camara</i> subsp. portoricensis formación de aleuronas.....	59
Ilustración 26.4. a. <i>L.camara</i> subsp. <i>camara</i> b. <i>lantana camara</i> subsp. portoricensis reaccionando a coloración para determinar sustancias lipídicas con el reactivo sudan III.....	61
Ilustración 26.5. <i>L. Camara</i> subsp. <i>camara</i> y <i>L. camara</i> subsp. Portoricensis, determinación de saponinas.....	61
Ilustración 26.6. Tallo de <i>Lantana camara</i> subsp. <i>camara</i> , en presencia de reactivos de a. Meyer, b. Dragendorff c. DMB.....	62
Ilustración 26.7. <i>Lantana camara</i> subsp. Portoricensis en presencia de reactivos de a. Meyer, b. DMB c. Dragendorff.....	62
Ilustración 26.8. a. <i>L.camara</i> subsp. <i>camara</i> b. <i>lantana camara</i> subsp. Portoricensis pectinas o taninos.....	63

Ilustración 26.9. Muestras de corte de a. corte de tallo de <i>L.camara</i> subsp. <i>camara</i> b. corte de tallo en <i>lantana camara</i> subsp. <i>Portoricensis</i> reaccionando a tratamiento con reactivo de benedit para determinación de azucares.....	64
Ilustración 27. a. <i>Lippia alba</i> y b. <i>Lippia origanoides</i> en tinción con lugol.....	65
Ilustración 27.1 a. <i>Lippia alba</i> cristales arenilla y prismáticos b. <i>Lippia origanoides</i> cristales arenilla.....	65
Ilustración 27.2 a. <i>Lippia alba</i> b. <i>Lippia origanoides</i>	66
Ilustración 27.3. a. <i>Lippia alba</i> b. <i>Lippia origanoides</i> granulomas de proteína tipo aleuronas.....	66
Ilustración 27.4. a. <i>Lippia alba</i> b. <i>Lippia origanoides</i> mostrando sustancias lipídicas.....	67
Ilustración 27.5 a. <i>Lippia alba</i> b. <i>Lippia origanoides</i> , saponina.....	67
Ilustración 27.6. Cortes de tallo de <i>Lippia alba</i> , en tratamientos de a. Meyer b. Dragendorff c. DMB en determinación de alcaloides.....	68
Ilustración 27.7 Cortes de tallo de <i>Lippia origanoides</i> , en tratamiento de a. Dragendorff b. DMB c. Meyer en determinación de alcaloides.....	68
Ilustración 27.8 a. <i>Lippia alba</i> b. <i>Lippia origanoides</i> determinación de pectinas.....	69
Ilustración 27.9 a. <i>Lippia alba</i> b. <i>Lippia origanoides</i> determinación de azucares simples.....	69
Ilustración 28. a. Almidón b. tipos de cristales c. Proteínas d. Proteínas tipo aleuronas e. Gotas naturaleza lipídica f. Saponinas g. Taninos o pectinas h. Azucares.....	71

Ilustración 29. Cortes de <i>P. volubilis</i> en tratamientos a. dragendorff b. DMB c. Meyer para determinación de alcaloides.....	71
Ilustración 30. A. Almidón b. Cristales arenilla c. Proteínas de membrana d. Proteínas tipo aleuronas e. Sustancias lipídicas f. Saponinas g. Pectinas h. Azúcares.....	73
Ilustración 31. Cortes de tallo de <i>P.nodiflora</i> con tratamiento para la determinación de alcaloides a. Meyer b. DMB c. Dragendorff.....	73
Ilustración 32 a. Almidón b. Cristales prismáticos y arenilla c: Proteínas d: aleuronas e: sustancias lipídicas f: saponinas g: taninos o pectinas h: coloración típica de azúcares.....	75
Ilustración 33. <i>Priva lappulacea</i> con reactivos a. DMB b. Dragendorff c. Meyer, tratamiento para alcaloides	75
Ilustración 34. a. Tinción con lugol b. cristales calcio c. Proteínas d. Proteínas tipo aleuronas e. Sustancias de naturaleza lipídica f. Saponinas g. Taninos o pectinas h. Azúcares.....	77
Ilustración 35. Detección de alcaloides a: Meyer b: DMB c: Dragendorff.....	77
Ilustración 36. Muestras de tallos de especies a. <i>P.canescens</i> b. <i>L.camara subsp camara</i> y <i>L.camara subsp portoricensis</i> c. <i>Lippia alba</i> d. <i>S. mutabilis</i> , para determinar lecitina.....	78
Ilustración 37. Cortes de tallos de especies tratadas con ácido sulfúrico para determinar fitosterol a. <i>L. camara</i> b. <i>L.alba</i> c. <i>P.canescens</i> d. <i>P.volubilis</i> e. <i>L. origanoides</i>	78

LISTA DE TABLAS

pág.

Tabla 1. Tipo de tricomas en las especies de Verbenaceae presentes en el departamento de Sucre.....	42
Tabla 2. Tabla 2. Analisis histoquimico realizado en tallos de Verbenaceae.....	60

1. INTRODUCCIÓN

Según el IAVH 1997, “el bosque seco tropical se define como una cobertura boscosa continua localizada entre los 0-1000 metros sobre el nivel del mar, con dos periodos de precipitaciones marcadas lluvia y sequía, que van desde los 700 a los 2000 milímetros anuales”. En este tipo de bosques se encuentra ampliamente distribuida la familia Verbenaceae, típica de ecosistemas del neotropico. La familia Verbenaceae presenta hábitos que van desde herbáceos, arborescentes y trepadoras aromáticas; frecuentemente presentan variabilidad en la pubescencia, hojas aromáticas y tallos frecuentemente cuadrangulares y huecos. La familia Verbenaceae consta de unos 35 géneros y poco más de 1000 especies, distribuidas en regiones templadas y cálidas de ambos hemisferios, mayormente en América. Numerosos representantes de la familia se cultivan como ornamentales y otros son utilizados en la medicina popular. En el departamento Sucre, hasta el momento se reconoce a *Lippia alba* como especie de uso terapéutico y/o medicinal, conocida por sus nombres vernáculos prontoalivio o quita dolor.

La organización mundial de la salud desde 1976, ha hecho referencia al conocimiento sobre el uso de la medicina tradicional y empleo de plantas medicinales. La Resolución WHO331.33 enfatiza la importancia de las plantas medicinales en el cuidado de la salud (UICN, 1993; Torres-Rosa De La, Martínez-Colpa A, Márquez-Vizcaíno R. 2005.). Según la normatividad internacional y nacional, las plantas medicinales que son portadoras de principios activos, deben reunir requisitos de calidad. Para Colombia se reportan 2.404 especies medicinales, de las cuales, 214 son nativas para el país y 1.442-son probablemente de Colombia u otros países del neotropico. Al promover el uso y manejo de la flora medicinal se está impulsando el conocimiento, la

conservación y el uso sostenible de la biodiversidad considerada como patrimonio natural cultural y medicinal del país.

La familia Verbenaceae recientemente fue recircunscrita a cerca de 35 géneros y alrededor de 1000 especies (Atkins, 2004; Marx, H.; O'leary, N.; Yuan, Y.; Lu-Irving, P.; Tank, D.; Múlgura, M. E. & Olmstead, R. 2010.), y aunque más pequeña, sigue siendo un elemento importante de la flora de Norte y Sur América, especialmente en regiones tropicales y zonas con clima moderado (Marx *et al.*, 2010). Dentro de esta familia se incluyen especies de importancia económica, por ser maderable, ornamental y medicinal (Rotman & Múlgura, 1999; Gómez & Toro, 2007; O'Leary N.; Múlgura, M.E & Morrone, O. 2007; Marx *et al.*, 2010).

En el departamento Sucre, existen escasos registros de especies de la familia, encontrándose reportada *Lantana cámara* (Angarita, D.; Sanmartín, D. y Mercado, J. 2014.), *Lantana armata*, *Bouchea prismática*, *Lippia alba*, *Lippia americana* y *Priva lappulacea* (Rivera & Rangel, 2012), usadas como plantas medicinales y/u ornamentales.

Muchas especies de plantas poseen potencial terapéutico y son usadas por la población más vulnerable; es así, que la organización mundial de la salud estima que entre el 70-80% de la población de países desarrollados han usado de alguna forma plantas medicinales y en algunos países asiáticos y africanos el 80% de la población depende de las plantas medicinales para la atención primaria de su salud (OMS, 2008). Las plantas medicinales son especies silvestres, semisilvestres, cultivadas o manejadas que se usan por sus propiedades o principios activos en el tratamiento o prevención de patologías en personas o animales, y son empleadas como medicamentos (Bernal, H.Y.; García, M.H. y Quevedo, S.F. 2011.). Existen especies de Verbenaceae muy utilizadas por comunidades indígenas, afro-descendientes y campesinas de Colombia por su valor terapéutico, las especies *Aloysia triphylla*, *Verbena littoralis* y *Verbena*

officinalis se encuentran dentro de las plantas medicinales de uso aprobado en Colombia (Fonnegra & Jiménez, 2007), mientras que otras aún no son reconocidas o aprobadas. Además, se ha documentado el uso medicinal de especies de ésta familia en la farmacopea herbolaria de los Estado Unidos Mexicanos, en el catalogo florístico de plantas medicinales en Perú (Santiváñez & Cabrera, 2013), en Argentina (Steibel, 2000), Ecuador (Ansaloni *et al.*, 2010), Brasil, Guatemala y México, presentando propiedades antiinflamatorias, antidiabéticos, antimalaricas, sedativas y analgésicas (Farias Braga.J., de Mendonça Pimentel. R., Pereira Ferreira.C., Perrelli Randau.K., Haroudo Satiro. X 2009.).

El potencial terapéutico de muchas especies no ha sido estudiado y el de otras apenas comienza a realizarse, este es el caso de especies de la familia Verbenaceae, sobre las cuales se requiere realizar estudios tanto a nivel taxonómico, ecológico, botánico, en fitoremediación y fitoterapéutico.

Referido al uso de plantas medicinales, se debe tener especial cuidado, por ello, es necesaria una identificación taxonómica precisa, estudios botánicos, etnobotánicos y para establecer la calidad del material que se vaya a utilizar, pruebas químicas, fitoquímicas, histológicas e histoquímicas. El control de calidad desempeña un papel fundamental y básico que los medicamentos a base de plantas deben cumplir. Su importancia se centra en que una vez que la materia prima utilizada cumple con todos los requisitos; será mucho más fácil seguir los pasos para su transformación industrial (Cortella y Pochettino, 1994).

Es aquí donde radica la importancia de este trabajo, cuyo propósito es reconocer las características que puedan usarse para el reconocimiento taxonómico y botánico, así mismo, establecer métodos y protocolos para determinar el potencial de uso, calidad, inocuidad, características histológicas e histoquímicas particulares de especies de Verbenaceae del

departamento de Sucre.

2. MARCO DE ANTECEDENTES

La familia Verbenaceae pertenece al orden Lamiales y posee una estrecha relación con la familia Lamiaceae (Cronquist, 1981; APG IV, 2016), esta relación ha sido tan cercana que recientemente estudios filogenéticos han trasladado cerca de 10 tribus y 57 géneros a esta última familia (Cantino, P.D.; Harley, R.M. & Wagstaff, S. J. 1992.; Wagstaff & Olmstead, 1997; Marx *et al.*, 2010). Después de la recircunscripción de la familia, ésta se agrupó en 8 tribus, 35 géneros y 1000 especies aproximadamente (Atkins, 2004; Marx *et al.*, 2010), Verbenaceae está compuesta por dos grupos grandes donde se encuentran la mayoría de las especies, el complejo *Verbena/Glandularia/Junellia* con aproximadamente 170 especies (Peralta, 2008; Yuan, Y.W.; Liu, C.; Marx, H. E.; Olmstead, R. G. 2010.) y el complejo *Lantana/Lippia/Aloysia* compuestos por 200-400 especies (Atkins, 2004; Yuan *et al.*, 2010); y otros más pequeños como *Citharexylum* y *Starchytarpheta* con más de 50 especies y 20 o más géneros restantes con menos de 20 especies cada uno (Yuan *et al.*, 2010). La familia comprende pequeños árboles, arbustos, lianas y hierbas, distribuidos principalmente en las regiones áridas y subtropicales del Nuevo Mundo. A pesar de su tamaño moderado, Verbenaceae es un componente florísticos importante en ciertos ecosistemas de Norte y Sur América (Yuan *et al.*, 2010).

En Colombia los estudios sobre Verbenaceae a nivel morfológico, anatómicos, y/o taxonómico en general son muy escasos, se conoce el listado de las Verbenaceae existentes en Colombia de López- Palacios (1986) donde muchas de las especies han sido incluidas en otras familias, principalmente en Lamiaceae. En Colombia Se han realizado varios trabajos para determinar la composición química y el potencial de uso de los metabolitos de especies de Verbenaceae, en éste sentido, encontramos estudios donde se evaluó la actividad antioxidante (Stashenko, E.E.,

Jaramillo, B.E. & J. R. Martínez. 2003; Stashenko, E.E., Martínez, J. R.; Duran, D.C., Córdoba, Y., Caballero, D. 2014.), antiherpética (Agudelo-Gómez L.S., Gómez-Ríos G.A., Durán-García D.C., Stashenko E., Betancur-Galvis L. 2010.) antifúngica (Pardo, A.K., Arenas, J.J., Gómez, M., Lora, F. M., Gómez, J. E. 2011.), antibacteriana (Henao, S. C., Martínez, J. D., Pacheco, N. L., Marín, J. C. 2011) y larvicida en *Aedes aegypti* (Muñoz, J.A. Stashenko, E y Ocampo, C. B. 2014).

Para el país se encuentran reportados aproximadamente veinte géneros de Verbenaceae de los cuales seis están registrados para el departamento de Sucre (Rivera y Rangel-, 2012), de ellas, solo la especie *Lippia alba* es utilizada y reconocida por las comunidades campesinas e indígenas como planta medicinal.

En varios países, se han documentado los usos de plantas de ésta familia, desde ornamentales como especies del género *Lantana*, hasta medicinales como especie del género *Lippia* utilizadas en medicina popular para el tratamiento de trastornos digestivos y dolores musculares (Scarpa, 2002; Celis-Melo, 2007). En Argentina, Brasil, Guatemala, México y Perú, especies de ésta familia son ampliamente usadas en su farmacognosia (Berlin y Berlin, 1996; Lara, O.; Farfán, C.; Jayes, P.; Mérida, M.; Cruz, S.M.; Pérez, F. 2010.; Berardi, 2012; Santiváñez y Cabrera, 2013; Santos *et al*, 2015); en Pakistán las hojas de *Lippia alba* son cocidas y tomadas para tratamientos contra malaria, reumatismo y tétano, las secreciones de las hojas son usadas para la defensa contra la herbivoría y para atraer polinizadores (Pare & Tumlinson, 1999), además, es usada contra la mordedura de serpientes.

Lantana cámara ha sido empleada como abono por ser una importante fuente de fósforo y potasio, como bactericida, insecticida, nematocida, antimutagénica y repelente contra insectos vectores de la malaria (Seyoum, A. , Kabiru E, Lwande W., Killeen G., Hassanali A., Knols B. 2002, Basu, S.; Ghosh, A.; Hazra, B. 2005.); en Venezuela *Verbena littoralis* y *Lantana cámara* ha sido evaluadas por sus propiedades antimaláricas (Carrillo y Díaz, 2006).

A nivel histológico, los estudios de especies de esta y otras familias usadas como fitoterapéuticas son importantes no solo para establecer aspectos botánicos y taxonómicos propios, sino también, como una herramienta en la inspección y control de calidad de especímenes usados en la medicina natural, en muchos centros de expendio de plantas medicinales, se desconoce el origen, la calidad y la identificación taxonómica correcta de las especies comercializadas que son llamadas por sus nombres vernáculos (Andersen, A.; Lucchini, F.; Moriconi, J.; Fernández, E.A. 2006.; Avello y Cisternas, 2010; Acosta, 2012), es en este aspecto, donde los estudios morfo-anatómicos o histológicos e histoquímicos son importantes al contribuir con la validación y controles de calidad de las especies vegetales de uso medicinal expandidas en los mercados populares y tiendas naturistas.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL.

Estudiar los caracteres morfo-anatómicos e histoquímico de órganos vegetativos de especies de la familia Verbenaceae presentes en el departamento de Sucre, Colombia.

3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Identificar las características histológicas de tallo y hoja de especies de la familia Verbenaceae presentes en el departamento de sucre.
- Establecer la naturaleza de los compuestos químicos en los tejidos de Verbenaceae presentes en el departamento de Sucre.

4. MARCO TEÓRICO–CONCEPTUAL

4.1. Caracteres morfológicos diagnósticos de la Familia Verbenaceae

Plantas herbáceas, arbustivas o arborescentes, a veces trepadoras, con frecuencia aromáticas al estrujarse, por lo general provistas de diferentes tipos de pubescencia; tallos y ramas a menudo cuadrangulares y/o huecos en su interior; hojas opuestas o verticiladas, rara vez alternas, desprovistas de estípulas, sésiles o pecioladas, láminas por lo común simples, de borde frecuentemente aserrado o crenado a más o menos profundamente lobado o partido; inflorescencias esencialmente de tipo racemoso, en forma de espigas o racimos espiciformes, en ocasiones con las flores algo inmersas en el raquis, a veces condensadas a manera de cabezuelas, generalmente bracteadas; flores normalmente hermafroditas, ligera a marcadamente zigomorfas; cáliz gamosépalo, usualmente con 4 ó 5 (a veces hasta 8) dientes o lóbulos, por lo común persistente y acrescente en la fructificación; corola tubulosa, a menudo hipocraterimorfa, a veces infundibuliforme, abriéndose en un limbo con 4 ó 5 lóbulos más o menos desiguales entre sí; estambres insertos en el tubo corolino, comúnmente inclusos, por lo general 4, leve a notablemente didínamos, en ocasiones 2, a veces acompañados por 1 ó 2 estaminodios; ovario frecuentemente sobre un disco basal, súpero, por lo común bicarpelar, en ocasiones tetracarpelar, bi- o tetralocular, con un óvulo en cada lóculo, estilo casi siempre terminal, estigma entero o con más frecuencia bi- o tetralobado, a veces oblicuo o con las ramas muy desiguales, por lo común incluso; fruto seco o carnoso, que puede permanecer cerrado o se abre en 2 ó 4 mericarpios; semilla por lo común 1, rara vez 2 por mericarpio, por lo general desprovista de endospermo (Gentry, 1996; Rzedowski y Rzedowski, 2002). Esta familia es de taxonomía complicada, la circunscripción, tanto de la propia familia, como de muchos de sus géneros y especies sigue siendo incierta. Los anteriores

caracteres morfológicos utilizados para describir la familia, se basan solamente a lo que con anterioridad se consideraba como subfamilia Verbenoideae, excluyendo los géneros *Callicarpa*, *Clerodendron* y *Tetraclea*, que pasaron a formar parte de la familia Lamaceae (Rzedowski y Rzedowski, 2002).

4.2. Verbenaceae reportadas para el departamento de Sucre.

Para el departamento de Sucre se han registrado las especies *Lantana cámara* (Angarita et al., 2014), *Lantana armata*, *Bouchea prismática*; *Lippia alba*; *Lippia americana* y *Priva lappulacea* (Rivera & Rangel, 2012), y una especie no determinada del género *Phyla* encontrada en la vereda El Paraíso municipio de Colosó (Bautista y Vital, 2012).

4.3. Descripción de especies de Verbenaceae encontradas en el departamento de Sucre.

➤ ***Lantana camara* subsp. *camara***

Tallos usualmente sin espinas o con algunas débiles y rectas; ramitas, pedúnculos y con frecuencia peciolos de moderada a densamente cubiertos con pelos filiformes ascendentes, rizados o rectos de 0.1-0.5 mm. Lámina de las hojas ovada, ovado-triangular, lanceolado-triangular o elíptico-lanceolada, más ancha cerca de la base, del tercio proximal, o justo por debajo de la medidad, de (1-) 3-8 (-10) cm de longitud y (1.2-) 1.5-2.5 cm de ancho; dientes marginales (9-) 15-35 por lado (si la hoja es más pequeña con menos dientes y mucho más pequeños), redondeados u obtusos, usualmente adpresos o solo con puntas extendidas, con senos de 0.2-0.7 (-1.2) mm de profundidad, superficie adaxial antrorosamente estriginosa a estrigosa-pilosa, con pelos de 0.1-0.5 mm. Pedunculos de 0.5–1.2 mm de largo. Bracteas seriadas todas similares o serie proximal casi dos veces la longitud de la serie distal, bracteas proximales obovadas a oblanceoladas, ovato-elíptico, u oblongo, de 2-4 o 5-6 mm de largo y 0.8-1.5 (-2) mm de ancho, más ancho cerca o por encima del medio; ápice a menudo obtuso a redondeado, más ancho cerca o por encima del medio; ápice a menudo obtuso a redondeado, a veces agudo (raramente acuminado). Corola amarilla o al ir envejeciendo naranja rojizo (Ilustración 1); tubo de la corola de 5–8 mm; limbo de la corola de 4–7 mm de diametro (Sanders 2012).

Ilustración 1. *Lantana cámara* subsp. *camara*. Mostrando inflorescencias y hojas.



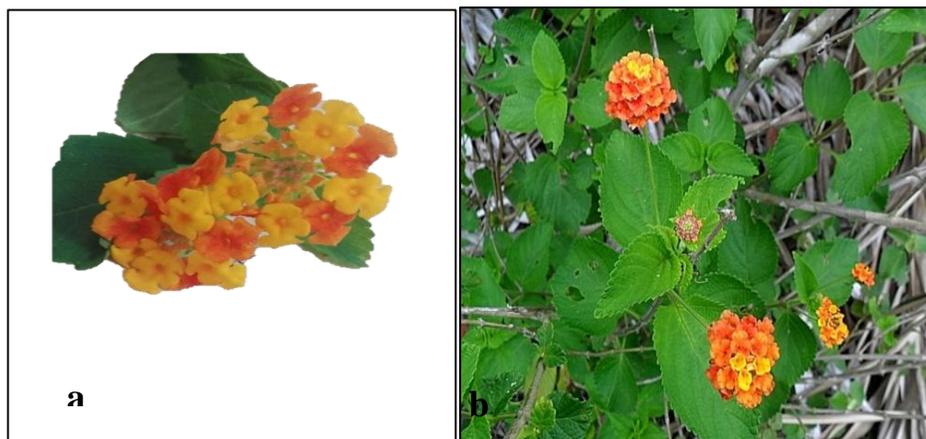
Fuente: Gina A. Paternina.

***Lantana camara* L. subsp. portoricensis**

Arbustos bajos, tallos usualmente sin espinas o con algunas espinas débiles y rectas; ramitas, pedúnculos y a menudo, pecíolos de moderada a densamente cubiertos de pelos antrorsos a extendidos, rizados o rectos, con una mezcla de pelos estipitados glandulares de 0,1 – 1 mm. Láminas de las hojas lanceolado-trianguulares a elíptico-lanceoladas, o a veces ovado triangulares a ampliamente elípticas, más ancha cerca de la base, cerca del tercio proximal o justo debajo del medio, de 1-3 (-4.5) cm de longitud y (1.2-) 1.7-2.5 cm de ancho; dientes marginales de 6-12 (-15) (grosso para el tamaño de la hoja) por lado, usualmente agudos a obtusos o a veces redondeados, margen sinuado de (0.5-) 0.7-1.5 mm de profundidad;

superficie adaxial antrorosamente estriginoso a estrigoso-pilosa, con pelos de 0.1-0.5 mm. Pedúnculos de 1.2-2 cm longitud. Bractas seriadas todas similares o series proximales casi dos veces la longitud de las series distales; brácteas proximales lineal-lanceoladas a triangular-oblongas o oblanceolado-oblongos, de 2–4 o 5–6 mm de largo, y 0.5–0.8 (–1.3) mm de ancho, más ancho cerca de la base o, a veces por encima del medio; ápice agudo. Corola amarilla que al envejecer pasa a naranja rojizo; tubo de corola de 4-7 mm; limbo de la corola de 4 – 7 mm de diámetro (Ilustración 2) (Sanders 2012).

Ilustración 2. *Lantana cámara* subsp. *portoricensis*. a. Inflorescencias b. hojas.
Fuente Iris Payares Díaz



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

Arbusto o subarbusto, 0.5–2 m de alto, aromático. Hojas elípticas o lanceoladas (raramente ovadas), 1.5–5.5 cm de largo y 0.8–2.5 cm de ancho, ápice agudo, base decurrente-cuneada, margen serrado, haz suave, tricomas adpresos, densos a dispersos (frecuentemente difíciles de observar), envés suave, densamente tomentoso. Inflorescencia 0.5–1 cm de largo y de ancho (1–

1.4 cm de largo), 1 espiga por axila, pedúnculo 0.1–1 cm de largo, brácteas verdes, bráctea inferior ovada (lanceolada), 3.5–5 mm de largo y 2–4 mm de ancho, bráctea superior obovada u oblonga, 3–5 mm de largo y 1.5–2.5 mm de ancho, ápice obtuso (agudo o acuminado), mucronado; cáliz 2-lobado, 1.5–2 mm de largo, vellosos; corola 4.5–6 mm de largo, morado pálido (con garganta amarilla). (www.tropicos.org).

Ilustración 3. *Lippia alba*, mostrando hojas e inflorescencias.



Fuente: Iris Payares Díaz

➤ ***Lippia organoides* Kunth**

En Colombia suele encontrarse en los departamentos de Guajira, Magdalena, Cauca (Alto Patía), Cundinamarca, Norte de Santander y Santander. En este último se encuentra a altitudes entre 500-800 m.s.n.m formando asociaciones vegetales con otras especies características de la región (Ruiz et al., 2007).

Ilustración 4. *Lippia organoides*, mostrando inflorescencias y hojas.



Fuente: Gina A. Paternina.

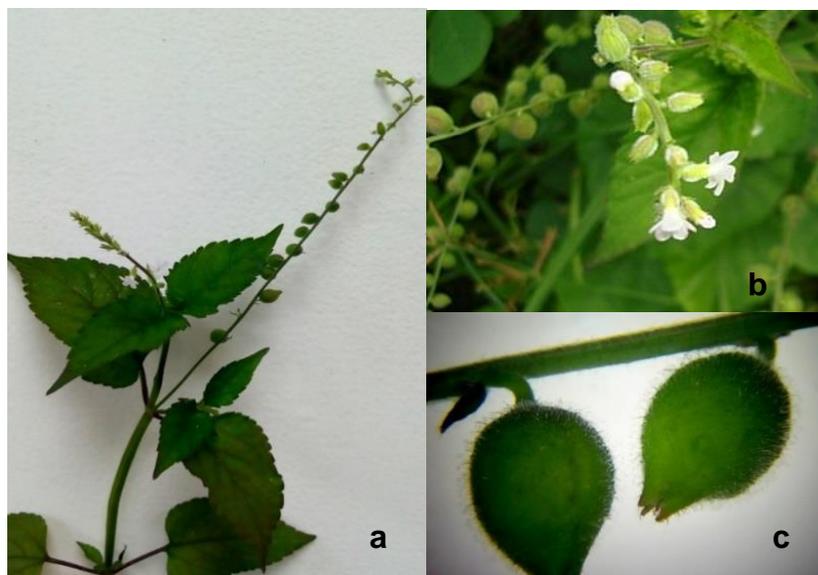
L. organoides es un arbusto aromático, de hasta 3,5 m de alto, muy ramificado; ramas sub redondeadas, estriadas, hirta pubescentes, hojas opuesto decusadas, pecíolos cortos, 1- 10 mm largo, limbos verdes a verde oscuro por la haz gris plateado por el envés, tamaño de la hoja muy variable según los ambientes sean propicios (6 x 3,5 cm) o más secos y/o pobres (5 x 3 mm), lanceolado o ovado oblongo, crenado denticulado a lo largo del margen; presenta inflorescencia axilares verticiladas, 4-6 por axila (Ilustración 4), pedúnculos 1-6 mm, generalmente más cortas que las hojas que la subtienden, cabezuelas ovado tetrágonas a prismático alargadas, 4-15 mm de

largo, brácteas florales ovadas, en 4 series, imbricadas más cortas que las flores; flores en 4 series, imbricadas 4mm de largo, fragantes de pétalos unidos, blancas, cáliz comprimido, aovado, bífido, fruto oblicuamente ovado, subcomprimido, cubierto por el cáliz persistente. Los frutos son pequeñas núculas que contienen las semillas de color café, no mayores de 0,25 mm., se adapta bien a las condiciones de estrés. López, S. (1977).

➤ ***Priva lappulacea* (L.) Pers.**

Herbácea de menos de 1 m de alto, tallos jóvenes con tricomas rectos y uncinados, dispersos a escasos. Hojas ovadas, lanceoladas o deltoides, 3–12 cm de largo y 1.5–6.5 cm de ancho, ápice agudo o acuminado, base decurrente, envés con tricomas uncinados cortos, escasos o dispersos, a veces mezclados con tricomas rectos largos. Inflorescencia 5–15 cm de largo, pedicelo 0.5–1 mm de largo; cáliz 2.5–3 mm de largo, truncado o levemente 5-dentado, densamente hirtulo con tricomas uncinados de tamaño mediano y finos y tricomas rectos largos, más densamente en la base; corola blanca, morado pálida, morada, azul o rosado pálida, tubo 3–5.5 mm de largo (Ilustración 5). Cáliz fructífero inflado, urceolado con cortos dientes retenidos, 4–6 mm de largo y 2–5 mm de ancho; fruto oblanceolado, 3–5 mm de largo y 2–3 mm de ancho, mericarpos fusionados en toda su longitud, superficie dorsal equinada con 2 hileras paralelas y longitudinales de espinas cortas y gruesas. (www.tropicos.com).

Ilustración 5. *Priva lappulacea*. Mostrando hojas (a), inflorescencias (b) y frutos (c).



Fuente: Iris R. Payares Díaz

➤ ***Stachytarpheta mutabilis* (Jacq.) Vahl**

Plantas erectas más o menos sufruticosas hasta 2 m; ramas medulosas, cuadrangulares, vellosas. Hojas con 5-7 pares de nervaduras secundarias, pubescentes, el haz rugoso y más o menos piloso, el envés densamente tomentoso, la base cuneada a subtruncada y decurrente en el pecíolo, el margen crenado-serrado, con los segmentos apiculados, el ápice agudo o acuminado; pecíolos 0-1 cm. Inflorescencias 30-50 × 0.6-0.8 cm, en espigas, pubescentes a pilosas; pedúnculos 0.5-1 cm; brácteas, largamente acuminadas con el ápice setoso, al menos en la parte superior divergentes del raquis, especialmente con la edad, pero no recurvadas; raquis maduro grueso, siendo los surcos en los cuales se hunden las flores más pequeños que el raquis; cáliz generalmente más largo que las brácteas, diminutamente 4-denticulado; corola, roja, rosada o púrpura, el limbo extendido, los lobos irregulares, Esquizocarpos 5-7 mm. Nash, D. L., Nee, M. (1984).

Ilustración 6. *Stachytarpheta mutabilis* Mostrando inflorescencias y hojas.



Fuente: Gina A. Paternina.

***Phyla canescens* (Kunth) Greene**

Hierbas decumbentes o postradas, ligeramente suculentas, no aromáticas; ramas jóvenes con abundantes tricomas malpigiáceos, pronto glabras. Hojas 1-5 × 0.4-2 cm, espatuladas u oblanceoladas a obovadas, diminuta o densamente estrigoso-puberulentas en ambas superficies, con escasos a abundantes tricomas malpigiáceos adpresos, la base angostamente alargada o cortamente cuneada, el margen casi entero con pocos dientes limitados al 1/5-1/3 apical, el ápice redondeado o agudo; pecíolos 2-8 mm u obsoletos. Inflorescencias 0.4-0.8 cm, en fruto 1-4 cm, 1 espiga por axila; pedúnculo 3-10 cm, solitario en cada axila, frecuentemente alargado, generalmente más largo que las hojas; brácteas moradas, cafés o verdes, las brácteas inferiores 2.5-4 mm, ampliamente ovadas o lanceoladas, la bráctea superior 2-4 mm, ampliamente espatulada, el ápice obtuso no mucronado o redondeado y mucronado; cáliz 1.5-2 mm, las carinas con pocos tricomas cortos y divergentes; corola 2-3.5 mm, púrpura o rosada

a blanca, ligeramente sobrepasando las brácteas, ligeramente estrigulosa; estambres inferiores curvados hacia el estigma pero por encima de él, los superiores erectos; pistilo glabro, el estigma oblicuo, capitado (www.tropicos.com).

Ilustración 7. *Phyla canescens*. Mostrando inflorescencias y hojas.



Fuente: Iris R. Payares Díaz.

➤ *Petrea volubilis* L.

Bejucos o arbustos semitrepadores, tallos puberulentos, algunas veces alcanzando 10 cm de diámetro. Hojas elíptico-oblongas, 5–16 cm de largo y 3–8 cm de ancho, ápice agudo u obtuso, base cuneada, margen entero, algunas veces sinuadas, glabras o pubescentes, ásperas al tacto; pecíolo 0.2–1 cm de largo. Inflorescencias racemosas 8–20 cm de largo, axilares o terminales, solitarias, raquis puberulento, flores 5-meras en pedicelos puberulentos sostenidos por una bráctea caduca; cáliz con el tubo 0.2–0.7 cm de largo, glabro o puberulento, los lobos oblongos 1–2.5 cm

de largo; corola infundibuliforme, ca 1 cm de largo, puberulenta, azul-lila ovario y estilo glabros. Fruto drupáceo completamente encerrado en el cáliz acrescente, el cual actúa como alas o flotadores (www.tropicos.com).

Ilustración 8. *Petrea volubilis*. Mostrando Flores y hojas. Fuente: Gina Alexandra

Paternina. //www.tropicos.org/Image



➤ ***Duranta erecta* L.**

Arbustos, rara vez casi bejucos, o árboles hasta 6 m; ramas flácidas, con espinas 0.5-3 cm o mayormente inermes, las ramitas pubescentes, estriadas, a veces anguladas. Hojas 1.5-7 × 1.5-3 cm, obovado-espátuladas a elípticas, membranáceas a cartáceas, glabrescentes en ambas superficies, los tricomas cuando presentes dispersos, cortos y adpresos, la base atenuada, el margen entero o con pocos dientes irregulares en la mitad superior, el ápice agudo, acuminado o

apiculados; pecíolos 1-12 mm. Inflorescencias 5-22 cm, terminales y axilares, a veces presentándose como panículas, frecuentemente recurvadas o péndulas; pedicelos 1-5 mm; bractéolas 3-4 mm; cáliz 3-7 mm, angostamente tubular, truncado en el ápice con 5 dientes diminutos de 0.5-1 mm; corola 8-12 mm, zigomorfa, más o menos hipocraterimorfa, azul, lila o blanca, el tubo 7-10 mm, 5-lobada, los lobos 3-5 mm, desiguales; estambres 2.5-3 mm; ovario subgloboso, el estilo 2.5-3 mm, el estigma diminuto. Drupas 6-8 mm; pírenos jugosos, amarillos a anaranjado brillante, subgloboso envueltos por el cáliz acrescente, los dientes extendidos más allá del fruto en un pico torcido 1-3 mm, las nervaduras visibles. Rueda, R. (2011).

Ilustración 9. *Duranta erecta* mostrando flores y hojas



Fuente: Iris Payares Díaz

4.4. Importancia de los Estudios anatómicos o histológicos en plantas

La histología vegetal es una disciplina básica que se relaciona íntimamente con la botánica, la fisiología, fisiología del desarrollo, taxonomía, evolución, en el ámbito vegetal y la agronomía, principalmente en fitotecnia, etc.; el estudio de ésta disciplina requiere la comprensión de la anatomía microscópica vegetal, el dominio de una terminología específica y la observación rigurosa de muchas preparaciones histológicas (Silva, L.M., Alquini, Y. & Cavallet, V.J. 2005; García y Segovia, 2013). Es decir, estudia las estructuras de las plantas a una escala microscópica (células y tejidos). En general, existe bastante información sobre aspectos botánicos, fitoterapéutico, fitosanitario, fisiológico y de productividad en el *sensu stricto* para muchas especies vegetales, pero son relativamente escaso los estudios anatómicos en plantas, los trabajos existentes se han realizado principalmente en plantas hortícolas, de importancia alimentaria y medicinal (Stashenko et al., 2003; Silva et al., 2005; Sashenko et al., 2014).

Los aspectos nutricionales, fisiológicos y evolutivos de las plantas y la interacción de éstas con los factores ambientales (suelo, pluviosidad, humedad relativa, luz y temperatura) influyen en las características estructurales de estas (Silva et al., 2005). Las particularidades histológicas pueden utilizarse para identificar muestras de plantas de las cuales no se conoce su procedencia y estado sanitario, identificación botánica o taxonómica, diferencias evolutivas, potencial alimentario, medicinal e industrial (industria maderera, construcción y de materia prima) para lo cual deben analizarse los patrones anatómicos de las especies vegetales, principalmente la conformación anatómico-estructural de raíces, tallos y hojas.

4.5. Estudios histoquímicos en plantas

Tiene como objetivo localizar *in situ* los principales grupos químicos que se presentan en los tejidos de las plantas, se asocia a la histología en cuanto a la determinación en los tejidos de las sustancias químicas presentes. Para realizar una buena caracterización histoquímica es importante evitar el desplazamiento artificial de sustancias a caracterizar durante los tratamientos que preceden una reacción histoquímica, la cual es detectada en el microscopio por coloración específica o emisión de radiación. Los métodos histoquímicos no permiten en su mayoría determinaciones cuantitativas. Para la identificación de sustancias en los tejidos se utilizan colorantes biológicos que son sustancias coloras o incoloras, orgánicas o inorgánicas que le confieren color a las estructuras celulares (vegetal o animal), permitiendo visualizar su estructura y naturaleza química (Figueiredo,A.C.,Goncalvez,J.M.,Gaspar,L.M.,Asencensao,L.,2007.).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Descripción del área de estudio

El departamento de Sucre se encuentra ubicado en la parte intermedia de la Llanura del Caribe al noroeste de Colombia, entre las coordenadas $08^{\circ}16'46''$ y $10^{\circ}08'03''$ de latitud norte (Inmediaciones de Pueblo Nuevo y el Caño Sangre de Toro en San Onofre y en el sitio de concurrencia con los departamentos de Córdoba y Bolívar), y los $74^{\circ}32'35''$ y $75^{\circ}42'25''$, de longitud oeste (orillas del río Cauca cerca de la cabecera municipal de Guaranda y la punta de San Bernardo en el municipio de San Onofre). Limita al norte y oriente con el departamento de Bolívar, al sur con los departamentos de Córdoba y Bolívar y por el oeste con el departamento de Córdoba y el mar Caribe, el departamento tiene una extensión de 10.670 km^2 (1.091.700 hectáreas aproximadamente) repartidas en cinco subregiones y 26 municipios. Las subregiones son: Golfo del Morrosquillo, Montes de María, Sabanas, Mojana y San Jorge (IGAC, 1998; Plan de desarrollo 2016 - 2019). El material vegetal fue recolectado en los municipios de Sincelejo, Corozal, Galeras, San Luis de Sincé, Colosó y Tolviejo, pertenecientes a las subregiones Golfo de Morrosquillo, Montes de-María y -Sabanas

5.2. Fase de campo

5.2.1. Recolección de material vegetal en Campo

Se tomaron especímenes de cada morfo especie para la obtención del material vegetal y para la herborización con el propósito de realizar las identificaciones taxonómicas. El material vegetal herborizado fue depositado en el herbario de la Universidad de Sucre (HEUS) para hacer parte de su colección.

El material vegetal para la realización de la caracterización morfo anatómica e histoquímica fueron tallos y hojas desarrollados de las especies de Verbenaceae que se encontraron en campo, es decir *Lantana camara* subsp *camara*, *Lantana camara* subsp *portoricensis*, *Lippia alba*, *Lippia origanoides*, *Stachytarpheta mutabilis*, *Phyla canescens*, *petrea volubilis*, *Priva lappulacea*, *Duranta erecta*. Los órganos vegetales se trasladaron en cámara húmeda a 20°C con el fin de mantener fresco los tejidos hasta llegar al laboratorio de Biología II de la Universidad de Sucre, donde se realizaron los cortes y micro preparaciones.

5.3. Fase de laboratorio

5.4. Identificación de las especies de Verbenaceae encontradas en la zona de muestreo

Para realizar la identificación de las especies recolectadas en campo, se utilizaron claves taxonómicas especializadas para género y/o especies como: A Field guide to the families and genera of woody Plants of Northwest South América (Colombia, Ecuador, Perú) (Gentry, 1996);

Rotman y Múlgura (1999); Rzedowski y Calderón (2002); Sanders (2006, 2012), Dos Santos (2015) y las bases de datos del Missouri Botanical Garden (www.trópicos.org), Real Jardín Botánico de Kew (www.kew.org), Colecciones en línea de la Universidad Nacional de Colombia, Bases de datos de la Universidad de Harvard, Plantas Neotropicales de Herbario, Herbario Virtual Reflora, Atrium y OTS.

5.5. Estudio anatómico de especies de Verbenaceae presentes en el departamento de Sucre

Se realizaron cortes en tallos, hojas y paradermal en hojas, para ello, se hicieron cortes transversales a mano alzada de material vegetal fresco las especies (NOMBRARLAS) según lo propuestos por Becerra y Chaparro (1999). La caracterización anatómica fue realizada en un microscopio Labomed Lx 400.

Para la obtención de los fragmentos paradermales de las hojas se tomaron fragmentos de las hojas de cada especie y se depositaron en una solución de hipoclorito de sodio al 20% durante 48-72 horas (Farias-braga et al., 2009). Las muestras fueron lavadas de tres a cinco veces con agua destilada y posteriormente teñidas con safranina 1%, O-Toluidina 1% y montadas en glicerina al 50% (Krauter, 1996) para su observación. Para realizar las medidas a los estomas se utilizaron muestras paradermales de las hoja previamente blanqueadas y lavadas con agua destilada, se llevaron las muestras al microscopio y con una reglilla introducida en el ocular de uno de los microscopios. Las mediciones se realizaron con en el objetivo de 40x del microscopio LABOMED Lx 400.

Los cortes de tallo y hojas fueron sometidos a tinción con O-Toluidina para obtener una coloración diferencial que permite visualizar mejor los tejidos (Barbera-Castañer 1981). La medición de estructuras como tricomas y estomas se realizó mediante el uso de una reglilla micrométrica dispuesta en el ocular de un microscopio Labomed Lx 400. Las imágenes digitales de las micropreparaciones se realizaron en un microscopio trilocular Lavomed Lx 400 con cámara incorporada iVu 5100, además de una cámara Nikon D3100.

5.6. Análisis histoquímicos de especies de Verbenaceae presentes en el departamento de Sucre

Se realizaron pruebas histoquímicas del material vegetal fresco de Verbenaceae para identificar la presencia de los siguientes grupos de metabolitos: Almidón, lípidos, proteína aleurona, fitosterol, lecitina, saponinas, lignina, celulosa, hemicelulosa, calcio, taninos, alcaloides, arbutina, azúcares y amilodextrina, las pruebas fueron realizadas según lo propuesto por (Johansen, 1940; Sass, 1951 y Sandoval, 2005).

6. PRUEBAS HISTOQUÍMICAS EN TALLOS

6.1. En tallos:

6.1.1. Determinación de Almidón

Para determinar la presencia de este compuesto se utilizó solución yodada, donde los granos de almidón tomaron una coloración azul intenso o negro lo que es prueba positiva para la presencia de este compuesto (Johansen, 1940)

6.1.2. Determinación de Saponinas

Se utilizaron dos protocolos:

Protocolo 1: Se colocaron secciones de tallos en ácido sulfúrico concentrado en una placa portaobjetos, el cambio de color transitorio de amarillo a marrón y la aparición de espuma que debía ocurrir entre 15 a 30 minutos después del tratamiento fue prueba positiva para la presencia de estas sustancias (Johansen, 1940)

Protocolo 2: Se depositaron las secciones de tallo en hidróxido de bario, durante 24 horas, luego se lavaron los tejidos con cloruro de calcio en solución acuosa, para luego sumergirlas en una solución de dicromato de potasio al 10%. La aparición de una coloración amarillenta se tomó como prueba positiva de la presencia de saponinas (Johansen, 1940).

6.1.3. Determinación de Proteínas totales

Para la determinación de este compuesto se utilizaron dos protocolos

- **Protocolo 1:** Se preparó el ferrocianuro (1 g) en 20 ml de agua destilada y 100 ml de ácido acético glacial, luego se sumergieron las secciones de tejidos frescos por una hora en la preparación de ferrocianuro de potasio. Posteriormente, se lavaron las secciones de tejidos en alcohol al 60%. la aparición de un color azul oscuro fue prueba positiva para proteínas totales (Johansen, 1940).
- **Protocolo 2:** Se utilizó eosina acuosa 1%, para ello, se sumergieron en ella los cortes de tallo durante 5 minutos, posteriormente, se sacaron y lavaron tres veces con agua destilada. Los cortes fueron montados en glicerina al 50% para su observación. La aparición de una coloración rojiza fue tomada como prueba positiva para proteínas (Johansen, 1940).

6.1.4. Determinación de celulosa, hemicelulosa y lignina

Para la detección de estos compuestos se utiliza un colorante diferencial, O-Toluidina al 1%, para ello, se sumergieron los cortes de tallo en la toluidina durante 30 segundos, luego se lavan tres veces en agua destilada y se montan al microscopio para su observación. La celulosa se coloreará de azul, la hemicelulosa tomará una coloración morado, azul lila o rosa-violeta y la lignina teñirá de azul turquesa (Sandoval, 2005).

6.1.5. Determinación de calcio

Para determinar la presencia de calcio, generalmente oxalato de calcio, carbonato de calcio u otras sales de calcio, se colocaron los cortes de tallo en una solución de ácido oxálico acuoso al 10% durante 30 minutos. Posteriormente se lavaron la secciones tres veces con agua destilada para luego pasarlas por alcohol absoluto. La aparición de cristales de diversas formas se toma

como prueba de la presencia de calcio (Johansen, 1940).

6.1.6. Determinación de alcaloides

Para la determinación de alcaloides se utilizaron los siguientes reactivos

- **Reactivo de Dragendorff:** Está compuesto por tetrayodo bismuto de potasio y puede indicar la presencia del alcaloide con la formación de un precipitado naranja rojizo cuando se le adiciona a la muestras (Arango-Acosta 2008).

- **Reactivo de Mayer:** Este reactivo está compuesto por una mezcla de Mercurio tetrayoduro de potasio Los alcaloides se detectan como un precipitado blanco o de color crema (Arango-Acosta 2008), en el caso de cortes frescos de tallo se formará una sustancia blanquecina o turbia en los tejidos que contengan alcaloides.

- **Reactivo de Ehrlich (DMB):** Se prepara disolviendo *p*-dimetil amino benzaldehído al 1% en etanol y luego se le adiciona cloruro de hidrogeno, en presencia de alcaloides se forma una coloración naranja. (Arango Acosta 2008). En métodos histoquímicas este se la conoce como DMB ya que nombran el principio activo del reactivo.

6.1.7. Determinación de Lípidos

La detección de la presencia de lípidos se realizó utilizando sudan III, para ello, se depositaron los cortes de tallo en una solución alcohólica de Sudan III por 5 minutos. Las sustancias de naturaleza lipídica se tiñen de rojo. (Johansen, 1940)

6.1.8. Determinación de lecitina

Como lecitina se han denominado un amplio grupo de sustancias de naturaleza lipídica. Por tal razón, en el procedimiento para observar lecitina se utiliza sudan III o IV. El procedimiento a seguir es el siguiente: Se colocan las secciones de cortes de tallo en acetona por 12 horas, esto se hace con el objetivo de deshacerse de otros tipos de grasas. Luego se tiñen con Sudan III, la lecitina si está presente teñirá de amarillo (Johansen, 1940)

6.1.9. Determinación de fitosterol

Se colocan las secciones de tejido fresco en ácido sulfúrico concentrado, como este es un ácido fuerte se deben utilizar secciones gruesas, el fitosterol se teñirá de rojo, para luego ir cambiando gradualmente durante un tiempo de 3-4 horas a un color verde oliva, hasta que al final quedará incoloro (Johansen, 1940).

6.1.10. Determinación de proteínas tipo aleuronas

Para determinar este compuesto, se colocaron los cortes de tallos en una solución saturada el ácido pícrico en alcohol absoluto durante 10 minutos y nigrosina durante 30 minutos, luego se lavaron tres veces con agua destilada. Los cortes se montaron en una laminilla portaobjeto y se observaron al microscopio. La aparición de estructuras globulosas se tomó como prueba positiva para la presencia de granos de aleurona. (Johansen, 1940)

6.1.11. Determinación de carbohidratos

Este procedimiento se realizó usando el reactivo de benedict la cual identifica azúcares reductores como la lactosa, glucosa, maltosa y celobiosa, esta reacción se caracteriza por la aparición de una coloración naranja en las células o paredes de células que contienen estos compuestos. (Johansen, 1940)

6.1.12. Determinación de taninos

Protocolo 1: En este protocolo se colocaron las secciones de los tallos durante 5 minutos en una solución de ferrocianuro de potasio al 10%. Posteriormente los tejidos se lavaron en agua destilada y se sumergieron en una solución de cloruro férrico en ácido clorhídrico al 10%. Por 5 minutos. Luego de esto se observaron los cambios, teniendo en cuenta lo propuesto por Price et al (1978) así:

- Concentración baja o nula = coloración verde claro.
- Concentración Mediana = coloración verde oscuro.
- Concentración alta = coloración azul.

Protocolo 2: Para el segundo método, se utilizó hidróxido de bario ($\text{Ba}(\text{OH})_2$). Al 10% Para lo cual, se dejaron los corte de los tallos inmersos durante 24 horas en esta sustancia, posteriormente, se lavaron con cloruro de calcio en solución acuosa y luego en una solución de dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) al 10%. La aparición de una coloración rojiza o rosa fuerte, se tomó como prueba positiva para la presencia de taninos. (Johansen, 1940).

6.2. Obtención de los cortes paradermales en hojas

Este proceso se inició con el blanqueamiento de la cutícula de las hojas, para esto, se realizaron cortes de 5 x 5 mm de fragmentos de la lámina foliar de cada una de las especies estudiadas. Una vez obtenidos los fragmentos, estos fueron sometidos a dos tratamientos: en el primero, se sumergieron los fragmentos de las hojas en una solución de hipoclorito de sodio al 20% entre 24-72 horas (dependiendo de la especie) y en el segundo, alcohol absoluto caliente, esto con el fin de establecer el mejor protocolo para el blanqueamiento de las secciones de lámina foliar. En los dos casos se realizó lavado con agua destilada por triplicado. Una vez ocurrido el blanqueamiento, los tejidos fueron teñidos con safranina 1%, Verde de metilo 1% y toluidina-O al 1%, para establecer el mejor colorante para observar las estructuras foliares como tricomas y estomas y lavadas con agua destilada para retirar el exceso de colorante.

Para su observación, los fragmentos paradermales fueron montadas en laminilla como montajes semipermanentes utilizando gelatina glicerinada y permanentes utilizando Entelan[®], Estas micro preparaciones fueron utilizadas para observar los tipos de estomas y tricomas y realizar las mediciones micrométricas necesarias para caracterizar tales estructuras.

7. RESULTADOS Y DISCUSION

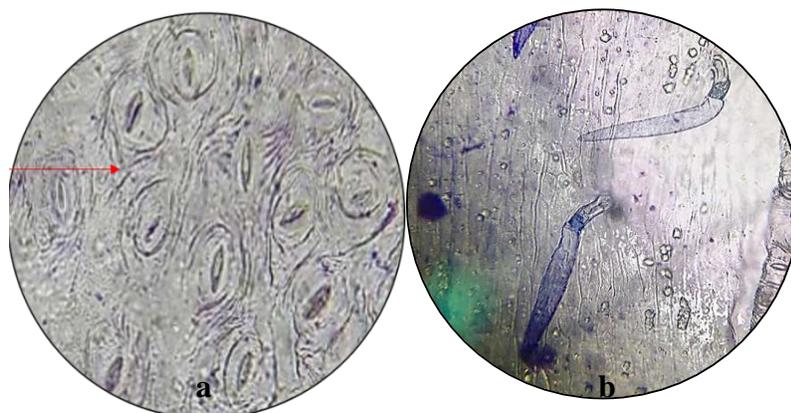
Las especies halladas en campo y sobre las cuales se realizaron los estudios del presente trabajo fueron *Duranta erecta* (L.), *Lantana camara* L. subsp. portoricensis, *Lantana camara* subsp. camara, *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson, *Lippia origanoides* Kunth, *Petrea volubilis* L., *Phyla canescens* (L.) Greene., *Priva lappulacea* (L.) Pers., *Stachytarpheta mutabilis* (Jacq.) Vahl

7.1 Estudio en las hojas

A continuación se describe el tipo de estomas y tricomas presentes en las especies de Verbenaceae presentes en el departamento de Sucre.

- *Duranta erecta*: presentó estomas de tipo anomocíticos con un tamaño promedio de 21μ de largo por 16μ de ancho (Ilustración 10.a), y tricomas tipo tector con un tamaño promedio de 30μ de largo (Tabla 1, Ilustración 10.b). Estos tricomas son adpresos, lo que hace que no sean fácilmente perceptibles al tacto, mientras que los tricomas de tipo glandular no se encontraron presentes, coincidiendo con lo observado por Nash & Nee (1984).

Ilustración 10. a. Estomas, b. Tricomas en *D. erecta*

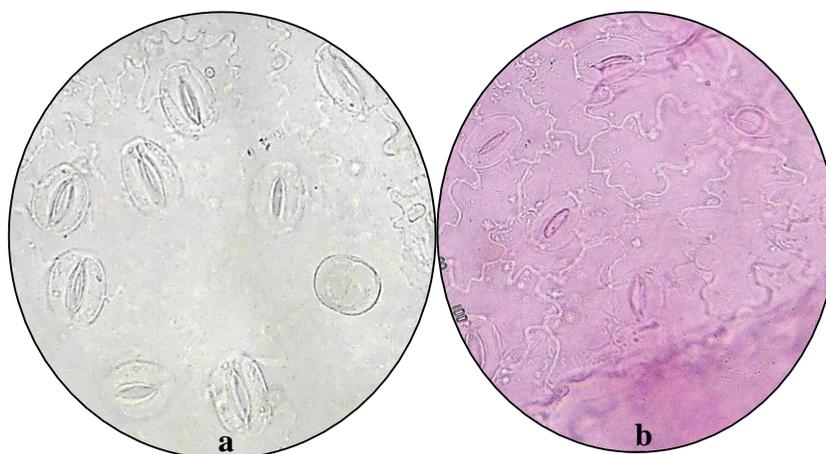


• ***Lantana camara* subsp. portoricensis:** presento estomas de tipo anomocíticos con un tamaño promedio de 20 μ . de largo y 16 μ de ancho (Ilustración 12a), los tricomas tipo tector presentaron tamaño promedio de 470 μ de largo, la cabeza de los tricomas tipo glandular presentaron las siguientes medidas; los tricomas glandular de cabeza unicelular con 27 μ de largo por 25 μ de ancho, glandular con cabeza bicelular con 24 μ de largo x 19 μ de ancho, glandular con cabeza tri-celular, con 24 μ de largo por 24 μ de ancho.

• ***L. camara* subsp. camara:** presentó estomas tipo diacíticos con tamaño promedio de 21 μ de largo por 17 μ de ancho (Anexo A; Ilustración 12 b). Mientras que los tricomas tector presentaron un tamaño promedio de 200 μ ; los glandular con cabeza unicelular presentaron tamaño promedio de 20 μ de largo por 20 μ de ancho, glandular con cabeza bicelular presentaron tamaño promedio de 30 μ largo por 27 μ de ancho, glandular con cabeza tricelular registraron medida promedio de 23 μ de largo y 25 μ de ancho (Anexo A). Se pudo observar una diferencia en el tipo de estomas y largo de los tricomas tector y medida de la cabeza de los tricomas glandulares de una, dos y tres células, entre estas dos subespecies de *Lantana camara*, siendo en la subespecie portoricensis más largos los tricomas tector y la cabeza de los tricomas glandular unicelular, por lo tanto fueron más perceptibles al tacto, mientras que en la subespecie cámara, la cabeza de los tricomas bi y tricelulares fue mayor, tales diferencias, pueden ser usadas como caracteres diagnósticos que permitan diferenciar a las dos subespecies. Respecto a las medidas los tricomas en las dos subespecies de *L. cámara*, éstos están dentro del rango de tamaños encontrado (Calzada-Sánchez, E. V.; Aguilar-Rodríguez, S.; López-Villafranco, M. E. y Aguilar-Contreras, A. 2014).

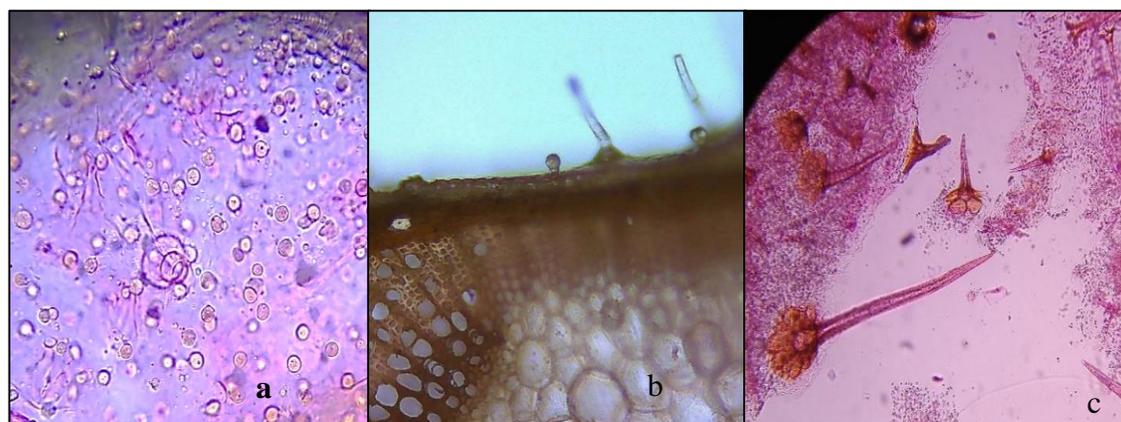
• *Lippia alba*: presentó estomas diacíticos de $24\ \mu$ largo por $17\ \mu$ de ancho, tricomas tipo tector de $130\ \mu$ de largo, tipo glandular con cabeza unicelular $23\ \mu$ largo por $17\ \mu$ de ancho, glandular con cabeza bicelular $22\ \mu$ de largo por $26\ \mu$ de ancho, glandulares con cabeza tricelular presentaron medidas de $23\ \mu$ de largo por $27\ \mu$ de ancho (Ilustración 13.1 b, c)

Ilustración 11. **a.** Estomas en *L.camara subsp. portoricensis*, **b:** Estomas en *L. camara subsp. camara*



Fuente: Gina Paternina

Ilustración 12. **a.** Tricoma glandular pedunculado en *L.camara subsp. portoricensis*, **b:** Tricoma glandular pedunculado unicelular en *L.camara subsp. portoricensis* **c:** Tricoma filiforme observado en *Lantana camara subsp camara*.



• ***Lippia origanoides***: presento estomas diacíticos, al igual que *L. alba*, con tamaño promedio de 25μ de largo por 17μ de ancho. Respecto a los tricomas presentes, los de tipo filiforme o tector presentaron un tamaño promedio de 360μ de largo, los glandulares unicelular, medida promedio de 32μ de largo por 34μ de ancho, los glandulares bicelulares presentaron medidas en sus cabezas de 19μ de largo por 16μ de ancho (Anexo 1), en esta especie a pesar de poseer abundancia de tricomas en el momento del estudio no se hallaron tricomas con tres o más células en las muestras analizadas (Ilustración 13.1 a).

Ilustración 13 a. Estomas en *L. alba*, b: Estoma en *L. origanoides*

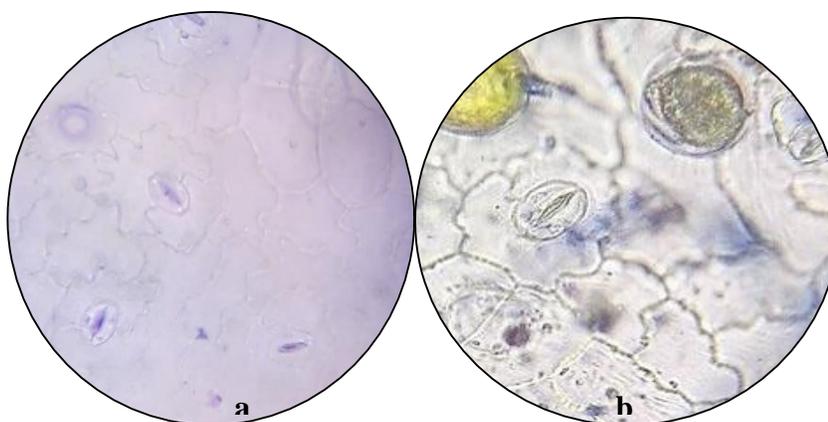
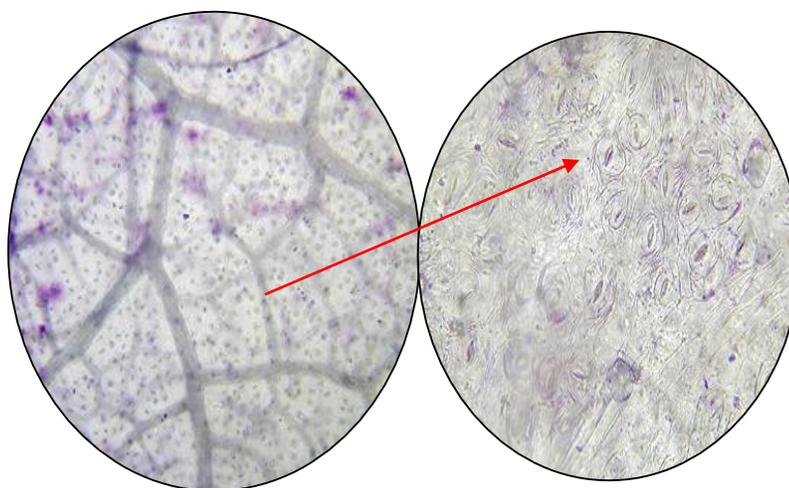


Ilustración 13.1 a. Tricomas tipo tector y glandular en *L. origanoides*, b. Detalle superficial de tricoma glandular con cabeza policelular en *L. alba*, c. Vista lateral de tricoma glandular pedunculado en *L. alba*.



• ***Petrea volubilis***: presentó estomas de tipo anomociticos con un tamaño promedio de 25 μ de largo por 26 μ de ancho (Ilustración 14a), Esta especie presentó tricomas de tipo tector con tamaño promedio de 480 μ de largo, glandular de cabeza unicelular con tamaño promedio de 20 μ de largo por 10 μ de ancho, glandulares bi- celular con tamaño promedio de 19 μ de largo por 24 μ de ancho y glandulares policelular con tamaño promedio 24 μ de largo por 25 μ de ancho (Ilustración 14b, c).

Ilustración 14. Estomas presentes en *P. volubilis*



• ***Phyla canescens***: presenta estomas de tipo parasíticos, con dos células dispuestas de forma paralela a las células oclusivas (Ilustración 15a), estos estomas tuvieron medidas promedio de 24 μ de largo por 20 μ de ancho y se presentan solo tricomas de tipo malpigiáceo o tricomas en forma de “T” estos son una variación de tricomas que se presentan con dos brazos opuestos que pueden ser largos o cortos presentando crecimiento oblicuo con una inclinación de 40 a 70°, simetría radial,

y compuestos de 2 a 5 brazos (Rendón-Carmona 2006); estos también son denominados pelos malpigiáceos y son característicos de la familia Malpighiácea (Theobald W. L., J. L. Krahulik y R. C. Rollins. 1988.) (Ilustración 15b; Tabla 1.), el tamaño promedio de estos fue de 24μ de ancho de extremo a extremo en los brazos por 30μ de ancho.

Ilustración 15. a. Estomas b. tricomas en *Phyla canescens*

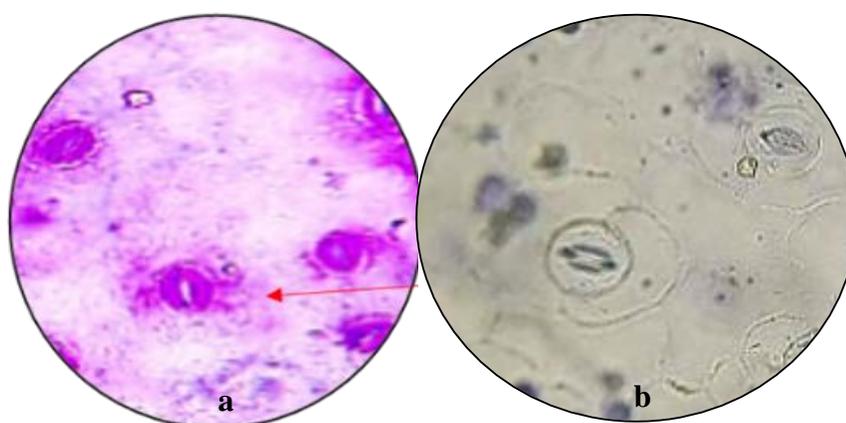


Fuente: Gina Paternina

- **Priva lappulacea:** presentó estomas diacíticos con medidas promedio de 19μ de largo por 16μ de ancho, (Ilustración 16a), y tricomas tipo tector con medida promedio de 160μ , glandular unicelular con tamaño promedio de 16μ de largo por 19μ de ancho, glandular bi-celular con 20μ de largo por 20μ de ancho, glandulares de tres células, con medida promedio de 14μ de largo por 19μ de ancho (Ilustración 16.1 a,b,c).

- *Stachytarpheta mutabilis*: presentó estomas diacíticos al igual que *P. lappulacea*, con un tamaño promedio de 26 μ de largo por 17 μ de ancho (Ilustración 16-b), y tricomas tipo tector con tamaño promedio de 100 μ de largo, glandular unicelular de 10 μ de largo por 20 μ de ancho, glandular bi-celular de 10 μ de largo por 10 μ de ancho , glandular de tres células (en la cabeza) con 10 μ de largo por 10 μ de ancho y glandular poli-celular con tamaño promedio de 10 μ de largo por 10 μ de ancho (Ilustración 16.1 c, d e).

Ilustración 16. **a.** Estomas en *P. lappulacea*. **b.** estomas en *S. mutabilis*.

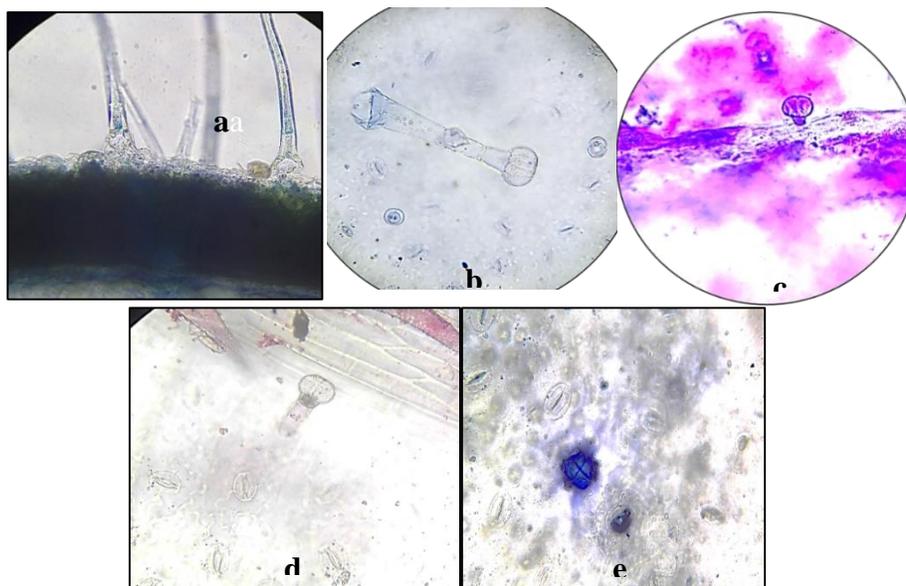


Fuente: Gina Paternina

Se encontró variaciones en cuanto al tipo de tricomas en una misma especie. Los tricomas policelulares fueron los menos frecuentes, apareciendo solo en *L. alba*, *P. lappulacea*, *S. mutabilis*. Mientras que los tricomas pedunculados y sésil se presentaron en las 9 especies estudiadas; *P. lappulacea* fue la única especie con tricomas malpigiáceos, mientras que *P. volibilis* presentó la mayor diversidad de tricomas (Tabla 1).

En cuanto a los estomas, se presentaron 3 tipo, siendo el más frecuente el de tipo diacítico (Tabla 1). Según la disposición, todos los estomas de las especies estudiadas fueron estomas apenas elevados, esta descripción corresponde a lo propuesto por Bonzani, n. E., e. M. Filippa y g. E. Barboza. (1997) quienes indican que es común encontrar estos estomas en las especies de la familia Verbenaceae, correspondiendo al típico aparato estomático formado por células oclusivas y acompañantes que se encuentran ligeramente elevados sobre el resto de la epidermis, siendo éste el tipo más común de estomas que se presentan en plantas; sin embargo, se ha documentado otros tipos de estomas según su estructura estomática en especies de esta familia.

Ilustración 16.1. **a.** Tricoma tipo tector en hoja de *Priva lappulacea* **b.** Tricoma glandular con cabeza tricelular (Vista lateral) en *Priva lappulacea* **c.** Tricoma glandular con cabeza unicelular en *S. mutabilis*, **d.** Tricoma glandular pedunculado con cabeza bicelular en *S. mutabilis*, **e.** Tricoma glandular con cabeza tetra-celular (vista polar) en *S. mutabilis*.



Fuente: Gina Paternina

Tabla 1. Tipo de tricomas en las especies de Verbenaceae presentes en el departamento de Sucre.

Especies	Tipos de tricomas					Pedunculado y sésil	Tipos de estomas
	Tector	Unicelular	Bicelular	Tricelular	Policelular		
<i>L.camara</i> subsp portoricensis	+++	+++	++	+	-	✓	Anomocíticos
<i>L.camara</i> subsp camara	++	+++	++	+	-	✓	Diacíticos
<i>L. alba</i>	+++	++	+++	+	+	✓	Diacíticos
<i>L. organoides</i>	+++	+++	++	-	-	✓	Diacíticos
<i>P. lappulacea</i>	+++	+++	+++	++	-	✓	Diacíticos
<i>P. volubilis</i>	+++	++	++	-	++	✓	Anomocíticos
<i>P.canescens</i>	malpighiáceos	+	-	-	-	✓	Parasíticos
<i>S. mutabilis</i>	+++	++	+	+	+	✓	Diacíticos
<i>D. erecta</i>	+++	-	-	-	-	✓	Anomocíticos

+++ (Mayor presencia)

++ (Mediana presencia) + (Escasa presencia)

*Las comparaciones se basan en las observaciones realizadas en las muestras estudiadas

En *Lantana camara* se han encontrado estomas en columna mameliforme, formados por una capa de 3-9 estratos celulares (Bonzani et al., 1997), que no fueron observados en este trabajo. Se debe tener en cuenta que Bonzani et al (1997) reportan el estudio sobre *L. camara* pero no indica sobre cual subespecie, lo que deja la posibilidad de que en las subespecies de *Lantana camara* utilizadas en este trabajo difieran de las utilizadas por dichos autores, esto puede permitir la utilización de tales detalles estomáticos para diferenciar a nivel taxonómico subespecies de *L. camara*.

En Verbenaceae los indumentos, son unidades fundamentales en estudios sistemáticos, fisiológicos y ecológicos. En plantas, los tricomas pueden cumplir tres tipos función: de adaptación al medio físico, como mecanismos de defensa físico-químico contra patógenos o depredadores y a nivel fisiológico en intercambio de productos entre la planta y el ambiente (control hídrico generalmente) y almacenamiento de sustancias (Gual, 1998; citado por Rendon-carmona et al., 2006).

Los tricomas en las especies estudiadas presentaron sustancias afines a lípidos en *Lippia alba* (Ilustración 13.1 c), *Lippia origanoides* (Ilustración 13 b) y *Lantana camara* subsp portoricensis (Ilustración 12.1 b); carbohidratos en *L. camara* subsp camara (Ilustración 26.9 a), *L. origanoides* (Ilustración 27.9 b), *Petrea volubilis* (Ilustración 28 h) y taninos o pectinas en *L. alba* (Ilustración 27.8 a) y *L. origanoides* (Ilustración 27.8 b), lo que coincide con lo expuesto por Wink, (1999). Hay que anotar que no se detectaron rasgos de herbívora en las hojas y tallos de *Petrea volubils*, *L. alba*, *L. origanoides*, *L. camara* subsp camara, *L. camara* subsp portoricensis y *Stachytarpheta mutabilis*, mientras que en *Priva lappulacea* y *Phyla canescens* se evidenció herbivoría por

insectos. Es probable que en las especies en donde no se evidencia herbivoría, el contenido de metabolitos secundarios en tricomas y lamina foliar sea utilizado como mecanismo de protección química e innata de las plantas, esto concuerda con las anotaciones realizadas por (Croteau et al., 2000; citado por Sepulveda-Jimenez et al., 2004), los cuales apuntan a que el desarrollo de estructuras en plantas contra sus depredadores, tales como espinas, espigas, tricomas, pelos glandulares son parte de la protección física y el contenido de sustancia en éstos, son parte de su protección química. Para el caso de las especies *Priva lappulacea* y *Phyla canescens* a pesar de poseer variedad de tricomas, la primera y tricomas malpigiáceos la segunda, se observó señales de herbivoría (Anexo 2 y 3), esto es interesante porque además, *Priva lappulacea* posee metabolitos secundarios como: alcaloides, cumarinas, ácidos grasos, resina, esteroides, triterpenos, saponinas, carbohidratos reductores y fenoles (Macías-Núñez, Bullaín-Galardis, Torres, 2017) y en *Phyla nodiflora*, se han documentado compuestos como limoneno, carvona, piperitona, verbenona, 3-metiltridecano, calareno y γ -muroleno (Benavides, Villota, Tova, 2010), que es posible que se encuentren en *P. canescens*, dado que hasta hace poco tiempo, esta se consideraba una variedad de *P. nodiflora* (*Phyla nodiflora* var. *canescens* (Kunth) Moldenkees) (<http://www.tropicos.org/Name/33700987>; <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-153220>, consultado abril 24 de 2018), es probable que la herbivoría en estas dos especies ocurra debido a la adaptación de algunos insectos a estos compuestos, es decir que haya ocurrido co-evolución de insectos con estas dos especies, o que las presencia de metabolitos esté en proporciones tan bajas que sea tolerable por los insectos consumidores. (Ilustracións 15 y 16.1). En todo caso, se requiere más estudios sobre las relaciones ecológicas de esta familia. Mientras que *Petrea volubilis* presenta la mayor diversidad de indumentos, con una consistencia áspera al tacto (papel de lija), lo que puede estar relacionado con su defensa contra la herbivoría, al igual que los compuestos químicos

presentes como: β -amirina, estigmasterol, β -sitosterol, lupeol y ácido Ursólico y cineol (26.8%), es así que en Egipto se utilizaba esta especie para obtener un insecticida biológico (El-Hela, Al-Amier, Craker, 2009). dan

7.2. Análisis anatómico de las especies de Verbenaceae

- *Duranta erecta*: Los tallos son semi- cuadrado, con un tejido epidérmico delgado, un cambium bien diferenciado, además el xilema y floema presentan eustela con haces colaterales dispuestos radialmente, y el esclerénquima se presenta en forma de lagunillas discontinuas de tamaños desiguales, se puede observar una línea de parénquima clorofiliano delgada, mientras que el parénquima medular es abundante y generalmente conteniendo algún tipo de sustancias. Con respecto al colénquima, se puede observar su presencia en las zonas angulares, como sirviendo de columna o soporte al tallo mismo (Ilustración 17), estos tallos, pese a ser delgados son relativamente leñosos y difícil de romper, siendo muy elásticos, debido al carácter plástico de las paredes de las células de colénquima que son células vivas, que permite el alargamiento del órgano. En cambio, el esclerénquima presenta células lignificadas (muertas) que le dan la relativa dureza (Martín y Saco, 2012).

- *Lantana camara* subsp portoricensis: presentó tallos semi-cuadrangulares, vidriosos o frágiles, el esclerénquima, colénquima y el cambium no pudieron ser observados, debido a la fragilidad del tejido al cortarse, pudieron ser destruidos por el corte, por lo anterior no se puede afirmar que no posea estos tejidos. En cambio sí se apreció el parénquima medular y los haces vasculares en eustela con haces colaterales, separados por fibras lignificadas, dispuestos estos radialmente

(Ilustración 18). Bonzani et al (2003.), establecieron la presencia de colénquima y esclerénquima en *L. camara*.

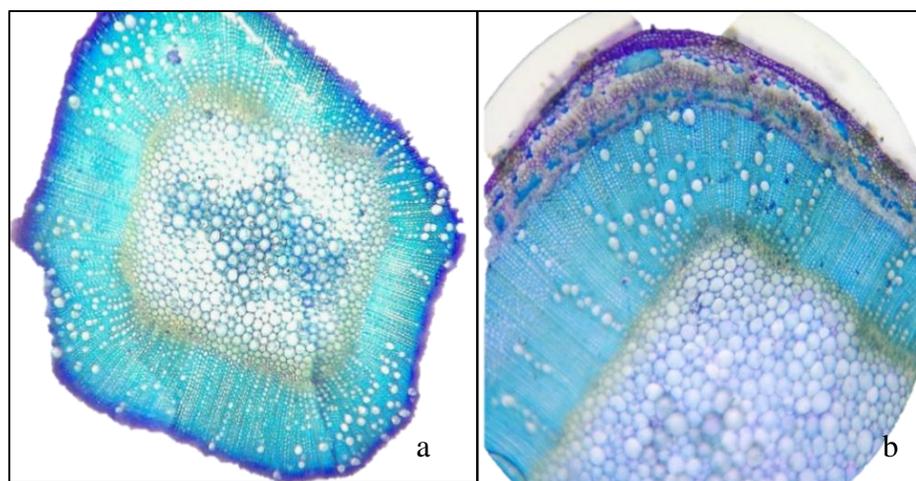
Ilustración 17. Corte transversal de tallo de *D. erecta* teñida con azul de toluidina



Fuente: Gina Paternina

- *Lantana camara* subsp *camara*: se observó una epidermis unistriata (es decir una sola capa de células) de forma isodiametricas, cutícula delgada y de apariencia lisa, el cambium vascular no se diferencia muy bien, pero se observa la presencia de colénquima en las costillas o zonas anguladas del tallo y el esclerénquima en pequeñas lagunas alrededor de éste, siendo las de mayor área las ubicadas en costillas (Ilustración 18), esto es consistente con la función de sostén de estos tejidos (Bonzani et al., 2003; Martín y Saco, 2012).

Ilustración 18. Cortes de tallos teñidos con toluidina. **a.** *L.camara* subsp. *portoricensis* **b.** *L. camara* subsp. *camara*.

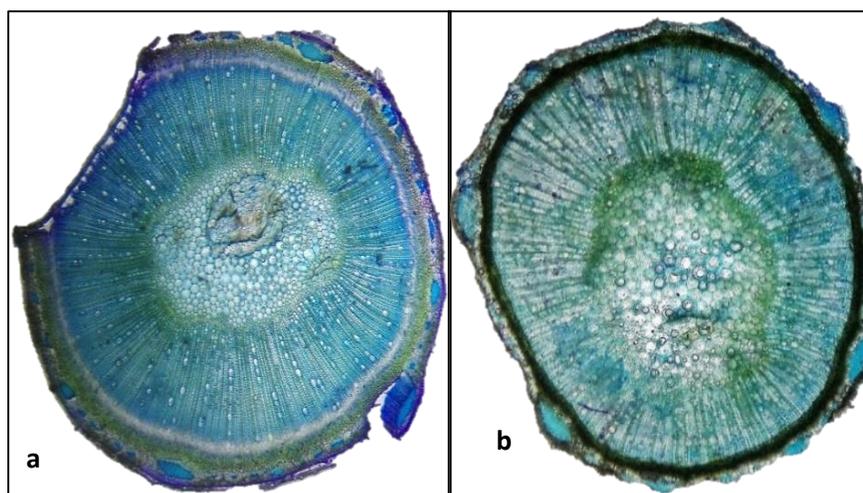


Fuente: Gina Paternina.

● *Lippia alba* (Ilustración 19a) y *Lippia organoides* (Ilustración 19b) ambas especies presentan tallos cilíndricos con parénquima medular homogénea y desarrollado, con células redondeadas y frecuentemente con la presencia de cristales de tamaños variables, el esclerénquima dispuesto alrededor del tallo formando lagunas en ambas especies, pero siendo más pequeñas éstas y encontrándose menor número en *L.organoides*. Igualmente el colénquima se encuentra en menor cantidad en *L. organoides*, A esto puede deberse que los tallos de *L. organoides* sean más frágiles que los de *Lippia alba*. En las dos especies, el sistema vascular está conformado por una eustela de haces colaterales, diferenciándose o desarrollándose mejor en *L. alba*, el colénquima está conformado por células dispuestas en al menos 4 – 5 estratos en ambas especies. El cambium vascular no se diferencia en *L. organoides*, mientras que en *L. alba* se observa un zona de cambium vascular delgada. La epidermis, en ambas especies está conformada por una sola capa de células (Ilustración 19). La consistencia de los tallos *Lippia alba* y *Lippia organoides* muestra

diferencias en cuanto a la dureza, siendo menos duros *L. origanoides*, debido a las pequeñas diferencias en los tejidos de sostén.

Ilustración 19. Corte transversal de tallos teñidos con toluidina. **a.** *L. alba*. **b.** *L. origanoides*

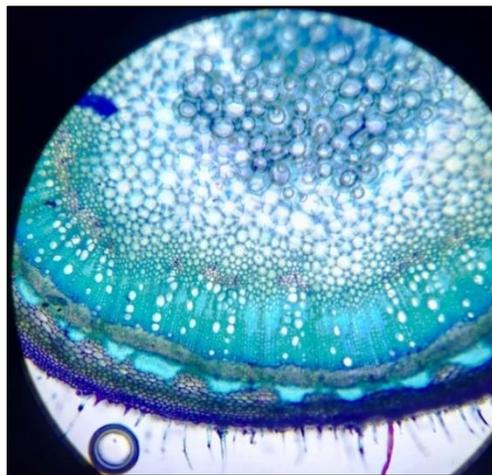


Fuente: Gina Paternina.

- La especie *Petrea volubilis* (Ilustración 20) presenta un tallo cilíndrico; con depósitos o lagunas de esclerenquima más grandes y más cercanos entre ellos, lo que hace que los tallos de esta especie sean los más duros y presentar una elasticidad mayor a la de las demás especies estudiadas. La epidermis presenta de 4 a 5 capas de células, seguido de clorenquima con unas 3-4 capas de células. Luego se aprecia el colénquima ubicado alrededor del tallo y formando una estructura seriada en forma de camellones que se intercalan con las lagunas de esclerenquima, proporcionando una arquitectura de sostén armoniosa y otorgándole dureza pero al mismo tiempo flexibilidad a estos tallos. El cambium vascular se encuentra muy desarrollado y los haces vasculares conforman una eustela de haces colaterales bien definidos. El parénquima medular, está conformado por células en su mayoría isodiamétricas de forma redondeada (Ilustración 20). Estas características

anatómicas del colénquima y el esclerénquima pueden ser las responsables de que no se presente herbivoría en ella, generalmente, a los herbívoros no les gusta los tejidos mayormente lignificados.

Ilustración 20. Corte transversal de tallo de *P. volubilis* tinción con toluidina

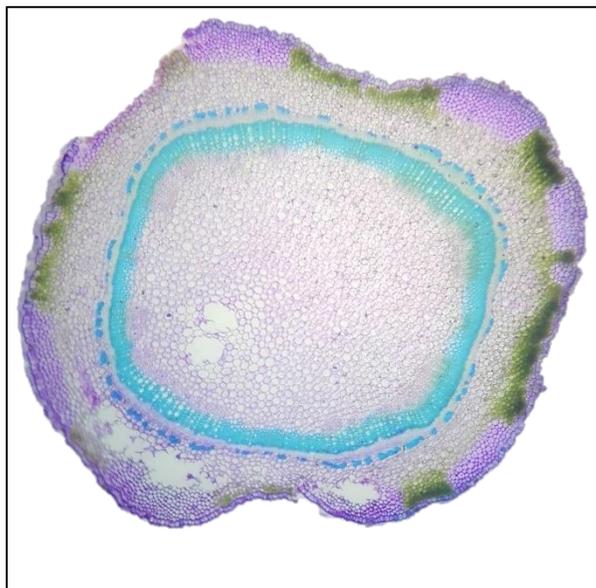


Fuente: Gina Paternina.

- En *Phyla canescens* (Ilustración 21), se presentan pequeñas depresiones alrededor de todo el tallo formando pequeñas costillitas, la epidermis es unistriata y seguido, se presenta colénquima dispuesto en las costillas y clorenquima entre cada costilla. Seguido, se encuentra un parénquima de células generalmente isodiametricas. Entre éste parénquima y el cambium vascular, se observan pequeñísimas lagunas de esclerénquima. Los haces vasculares forman una eustela de haces colaterales pequeños, en general, son los haces vasculares más cortos de todas las especies estudiadas. Seguido, se presenta parénquima medular de células isodiametricas de tamaños similares al parénquima encontrado entre el clorenquima y las lagunas de esclerénquima

(Ilustración 21), estos tallos son relativamente frágiles, esto debido a la poca presencia de esclerénquima presente en estos.

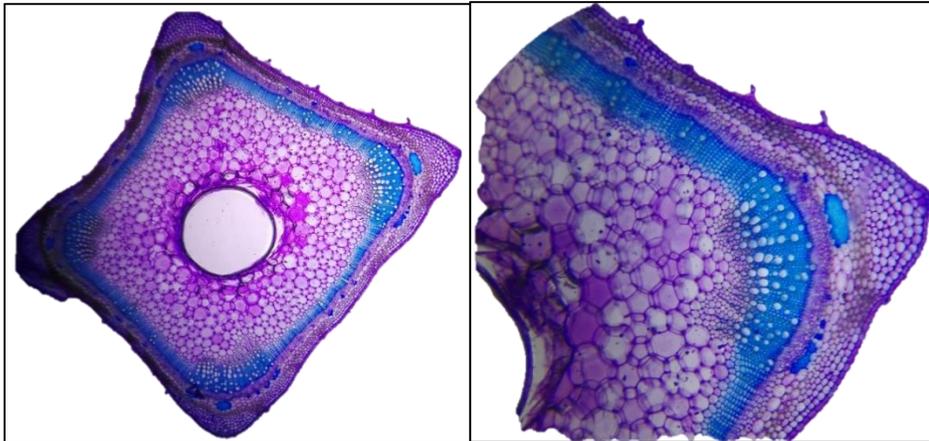
Ilustración 21. Corte transversal de tallo de *P. canescens*



Fuente: Gina Paternina

Priva lappulacea, presenta un tallo cuadrangular y hueco, con epidermis delgada (unistriata), colénquima dispuesto en las esquinas del tallo y debajo de estas lagunas de esclerénquima, que se encuentra en este tallo casi que restringido a las esquinas, lo que corresponde con su función de soporte. Esta especie es herbácea por lo que tiene sentido que la presencia de esclerénquima sea muy poca (Martín y Saco, 2012). El cambium vascular es casi imperceptible y los haces vasculares forman una eustela de haces colaterales que se observa mejor desarrollada en las esquinas. El parénquima medular se interrumpe dejando un espacio (hueco) (Ilustración 22).

Ilustracion22. Cortes de tallo de *P. lappulacea* en tinción con toluidina



Fuente: Gina Paternina.

- En *Stachytarpheta mutabilis*, el tallo es redondeado, pero con pequeños pliegues, la epidermis presenta varias capas de células, y no se puede distinguir claramente la presencia de colénquima, en cambio, se puede observar esclerénquima alrededor del tallo en pequeñas lagunas discontinuas, similar a lo observado en *Duranta*, se nota la presencia de cambium y haces vasculares formando una eustela de haces colaterales. En el centro se encuentra el parénquima medular caracterizado por células de tamaño variable. (Ilustración 23).

Ilustración 23. Corte transversal de tallo de *S. mutabilis* en tinción con toluidina.



Fuente: Gina Paternina.

En general, en las especies de Verbenaceae estudiadas la presencia y distribución de los tejidos de soporte está muy relacionado con la forma y dureza del tallo. Es así, que *P. volubilis* presenta el tallo más duro, pero a la vez más flexible e irrompible de todas las especies analizadas. En cambio, en *P. lappulacea* y *P. canescens* estos tejidos están en menor cantidad, lo que las hace más frágiles. Adicionalmente, la forma en que están dispuestos los tejidos en el tallo es diferente entre todos los géneros. Estas diferencias entonces, pueden ser utilizadas como caracteres diagnósticos a nivel taxonómico.

7.3. Análisis histoquímico en tallos de Verbenaceae presentes en el departamento de Sucre

- *Duranta erecta* se presentó celulosa en parénquima medular, lignina en esclerénquima y parénquima radial, y hemicelulosa en la epidermis (Tabla 2; Ilustración 18). La prueba para almidón mostro baja presencia de éste y se halló entre el esclerénquima y el cambium, en parénquima radial y el parénquima medular (Ilustración 24 a). La prueba para determinar la calcio, mostró la presencia de cristales de calcio tipo arenilla, observándose en la zona del parénquima medular (Ilustración 24b; Tabla 2). La prueba para proteínas mostro la presencia de estas en todos los tejidos que conforman el tallo, incluyendo proteínas de membrana (Ilustración 24 C). Esta prueba no discrimina el tipo de proteínas por lo cual se reconocen compuestos de naturaleza proteica muy diversos. Como eucariotes superiores, la presencia de sistemas de glicosilación y mecanismos pos-traduccionales de las plantas, permiten la síntesis de péptidos pequeños, polipéptidos y complejos multiprotéicos funcionales. Además, las células vegetales presentan chaperonas, que son proteínas que ayudan a otras proteínas en su plegamiento, ensamble y movilidad dentro de la célula (Ma, Drake, Christou, 2003), por lo que es natural que las proteínas se encuentren en todos los tejidos. En la prueba para detección de proteínas tipo aleuronas, se observó la presencia de unos cuerpos globulares en la zona medular y en poca cantidad, dado que no se encontró ningún estudio que avale su presencia en tallo (solo se han detectado en semillas), no se afirma que esto corresponda a aleurona. Sin embargo, dentro de la tabla aparece la prueba y el resultado obtenido (Tabla 2; Ilustración 24 d).

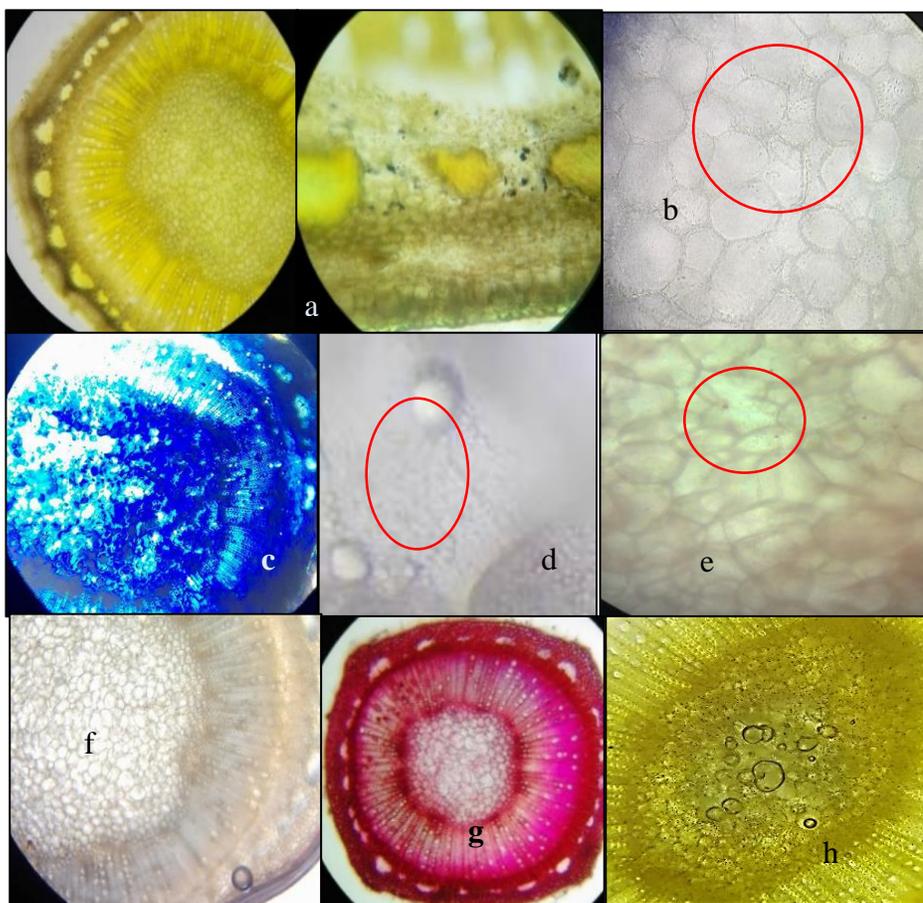
La prueba para sustancias lipídica mostro poca presencia de este compuesto en tejidos, detectándose escasa cantidad en las células del parénquima medular (Ilustración 24 e). En ensayos realizados en *Duranta triacantha* para lípidos no se encontraron éstos (Luna, 2015), lo que de alguna forma corrobora la poca cantidad encontrada en esta especie.

En las prueba para saponinas, al utilizar ácido sulfúrico se producía un deterioro de tejidos, por lo que se utilizó un segundo protocolo usando hidróxido de Bario, no mostró presencia de este compuesto (Ilustración 24 f), esto es consistente con estudios en *D. triacantha* (Luna, 2015). La prueba de alcaloides no mostró presencia de este tipo de metabolitos, presentándose coloración solo en la prueba con el reactivo de Dragendorff, para ser considerado prueba positiva debía reaccionar con DMB y Mayer, lo que no ocurrió (Ilustración 25), esto también coincide con estudios realizados en *D. triacantha* (Luna, 2015). Sin embargo, es posible que utilizando pruebas más sensibles se puedan detectar alcaloides, dado que se han documentado alcaloides en otras especies de esta familia ((Macías-Núñez, Bullaín-Galardis, Torres, 2017).

La prueba para taninos y pectinas, mostro ausencia de taninos, este resultado coincide con lo obtenida por Demarco (2015), y alta presencia de pectinas (Ilustración 24 g), lo que está en correlación con el hecho que existen grandes cantidades de pectinas en la pared celular de las plantas, las pectinas se caracterizan por ser un grupo heterogéneo de polisacáridos ricos en ácido galacturónico que conforman hasta un 35% de la pared celular primaria de las dicotiledóneas y de las monocotiledóneas, con excepción de la familia Poaceae, cuyas paredes solo presentan entre un 2 y un 10% de pectinas. En particular, las pectinas pueden presentar modificaciones importantes que les permiten tener un papel crítico en las propiedades biomecánicas de la pared celular influyendo sobre su porosidad, permeabilidad y elasticidad, entre otras (Willats, Knox, Mikkelsen,

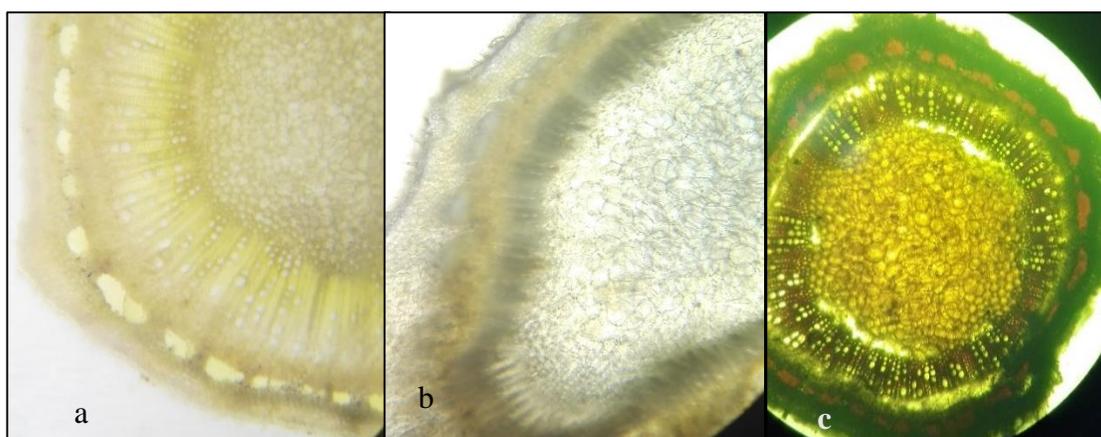
2006; Salazar y Gamboa, 2013). Presencia de azúcares/carbohidratos se evidenció en el parénquima medular (Ilustración 24 h), siendo este un parénquima de reserva que puede guardar carbohidratos.

Ilustración 24 **a.** *D. erecta* en tinción con lugol, **b.** Cristales de tipo arenilla **c.** Proteínas medulares **d.** Proteínas tipo aleuronas **e.** Sustancias lipídicas **f.** Determinación de saponinas **g.** Pectinas **h:** Azúcares



Fuente Gina Paternina.

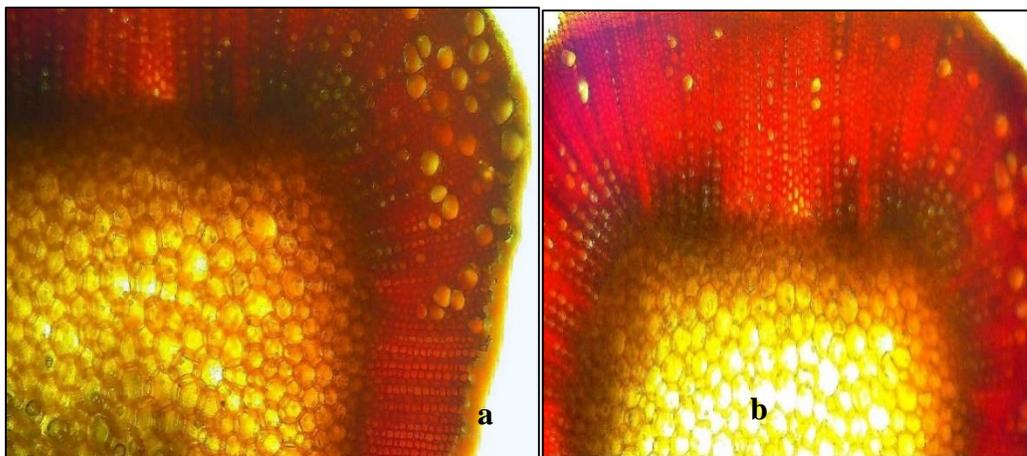
Ilustración 25. Cortes de tallo de *Duranta erecta*. **a**: Meyer, **b**: DMB, **c**: Dragendorff.



• *Lantana camara* subsp portoricensis y subsp camara, presentaron celulosa en parénquima medular (Ilustración 18 a y 18 b), lignina en el parénquima radial, hemicelulosa en la cutícula, sin embargo *L. camara* subsp portoricensis no mostró hemicelulosa (Ilustración 18 b), el almidón, fue detectado en tejido de sostén y en zona medular en ambas especies y concuerda con lo descrito por Bonzine et al., (2003) (Tabla 2; Ilustración 26). En cuanto a la presencia de calcio, se encontraron dos tipos de cristales: arenilla y drusas en el parénquima medular (Ilustración 26.1).

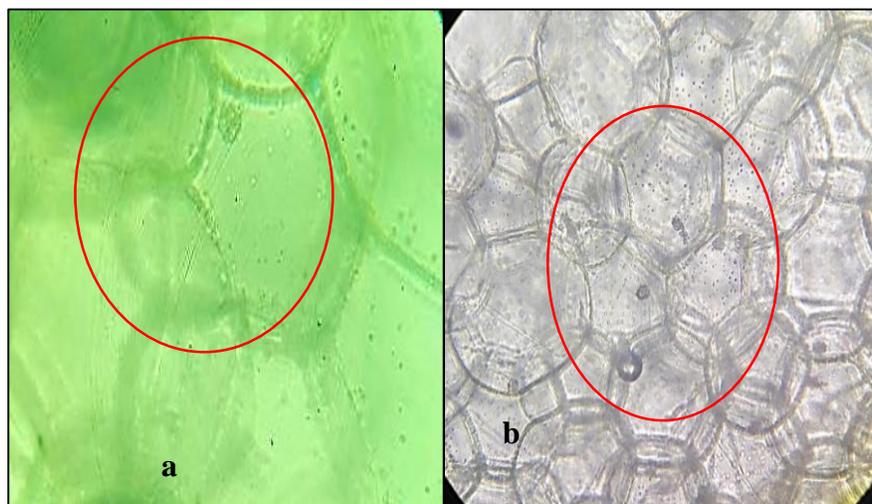
La prueba para proteínas mostro presencia de estas en todos los tejidos del tallo (Tabla 2; Ilustración 26.2), lo que ha sido discutido para *D. erecta* y es sustentado por Ma, Drake, Christou, (2003).

Ilustración 26. **a.** *L.camara* subsp. *camara* **b.** corte de tallo en *lantana camara* subsp. *portoricensis*, ambas en tinción con lugol



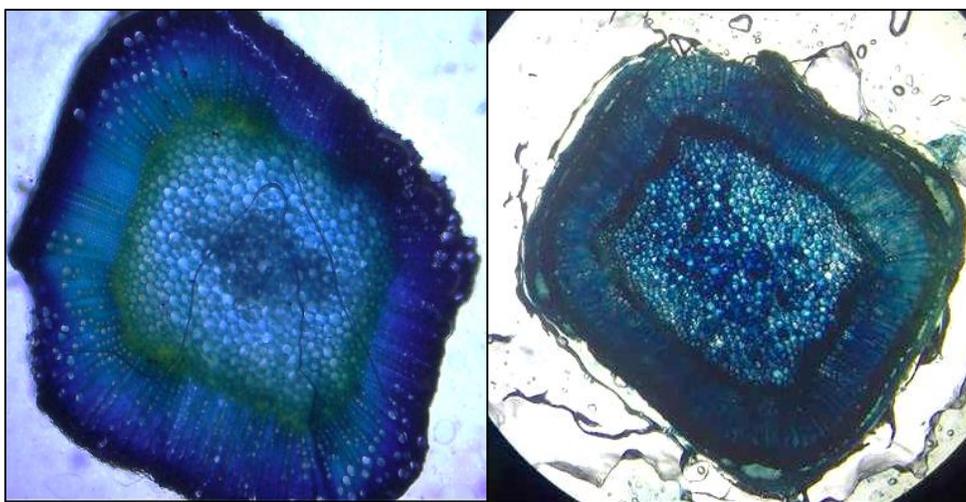
Fuente: Gina Paternina.

Ilustración 26.1. **a.** *L.camara* subsp. *camara*, arenilla y drusas **b.** corte de tallo en *lantana camara* subsp. *portoricensis* arenilla y drusas



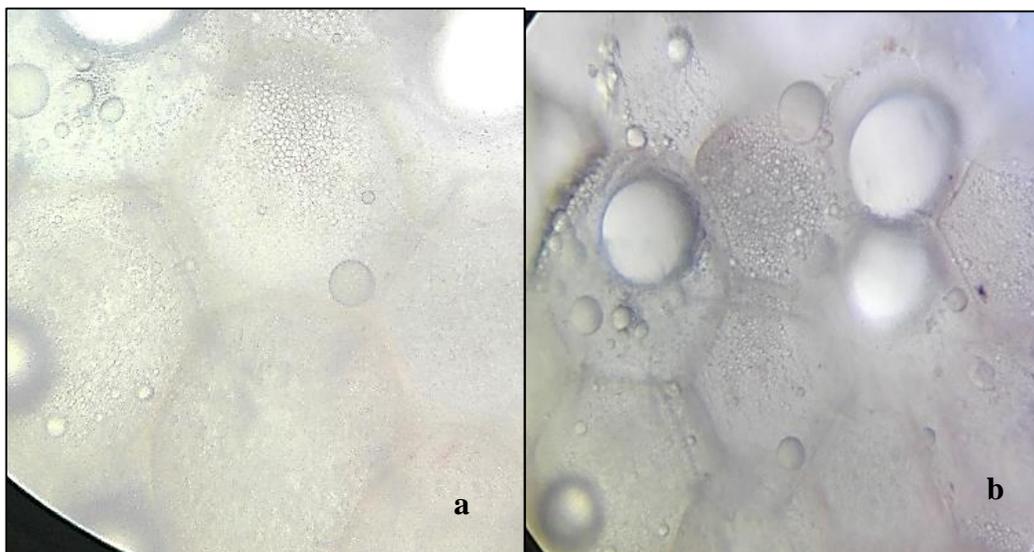
Fuente: Gina Paternina.

Ilustración 26.2. **a** *L.camara* subsp. *camara* **b**: *L.camara* subsp. *portoricensis*, coloración típica para la presencia de proteínas de membrana.



En la detección de aleuronas, se observó la formación de estructuras redondas en zona medular de tallos de ambas especies, al igual que las encontradas en *Duranta erecta*, no se puede afirmar que estas estructuras sean granos de aleurona, dado que este compuesto se encuentra principalmente en las semillas de las plantas (Ilustración 26.3), principalmente de gramíneas.

Ilustración 26.3. **a.** *L.camara subsp. camara* **b.** *L.camara* subsp. portoricensis formación de aleuronas



Fuente: Gina Paternina.

En la determinación de sustancias lipídicas, en *L.camara* subsp. camara (Ilustración 26.4 a), en parénquima radial y medular ocurrió coloración típica por lo que se presume la presencia de este compuesto. En *L. camara* subsp. portoricensis (Tabla; Ilustración 26.4 b) se presentó coloración rojiza en las paredes de las células que conforman el parénquima radial, en el parénquima medular hubo pequeñas formación de gotas de aceites o sustancias lipídicas, coincidiendo con lo encontrado por Demarco (2015).

Tabla 2. Analisis histoquimico realizado en tallos de Verbenaceae

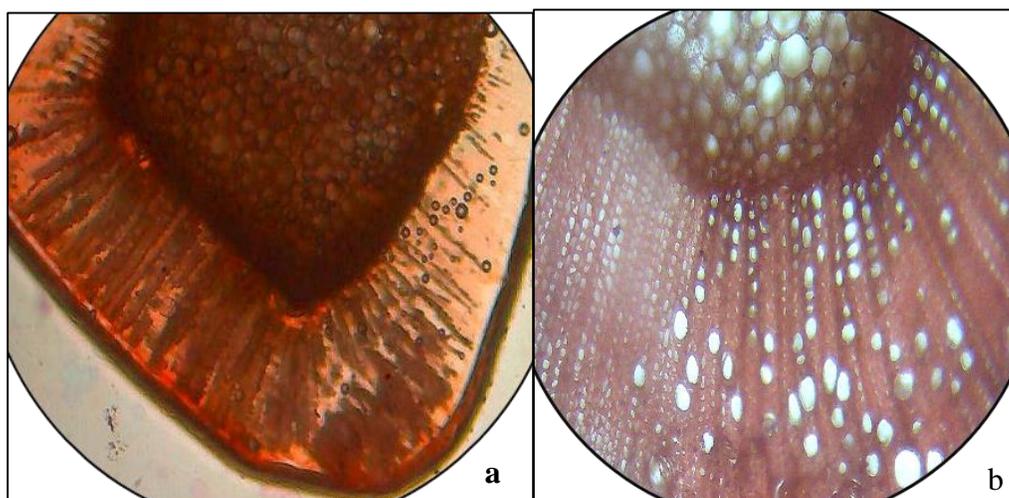
Pruebas realizadas												
especies	calcio	proteína tipo aleuronas	Proteínas	saponinas	lignina	lípidos	almidón	Azúcar/ carbohidratos	alcaloides	Lecitina /fitosterol	Taninos	Pectinas
<i>D. erecta</i>	+++	+?	+++	-	++	++	+	++	-	-	-	+++
<i>L.camara</i> subsp <i>portoricensis</i>	+++	++?	+++	+	++	+	+++	++	-	-	-	+++
<i>L. camara</i> subsp <i>camara</i>	+++	++?	+++	+	++	+	+++	++	-	-	-	+++
<i>L.alba</i>	+++	++?	+++	+	++	+	+++	++	-	-	-	+++
<i>L. origanoides</i>	++	++?	+++	+	++	+	+++	++	-	-	-	+++
<i>P.lappulacea</i>	+++	+?	+++	+	++	+	+++	++	-	-	-	+++
<i>P.volubilis</i>	+++	+?	+++	+	++	+	+	++	-	-	-	+++
<i>P.canescens</i>	+++	++?	+++	+	++	+	+++	++	-	-	-	+++
<i>S. mutabilis</i>	+++	++?	+++	-	++	+	+++	++	-	-	-	+++

+ (Presencia del compuesto)

-(ausencia del compuesto)

*La anterior reseña fue realizada basándose en la reacciones colorimétricas ocurridas en los diferentes proceso que se llevaron a cabo para la determinación de ciertos compuestos dentro de los tallo de las especies anteriormente nombradas para realizar el estudio.

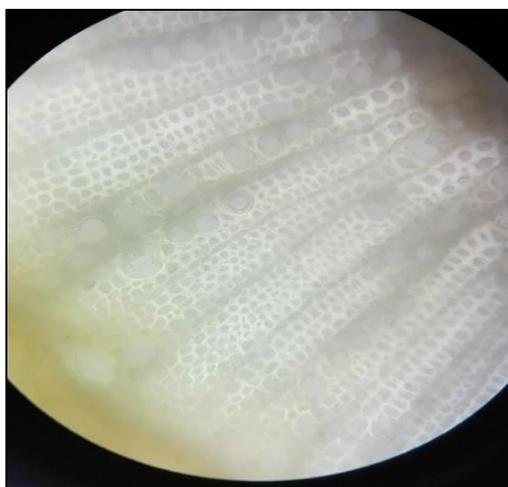
Ilustración 26.4. **a.** *L.camara* subsp. *camara* **b.** *lantana camara* subsp. *portoricensis* reaccionando a coloración para determinar sustancias lipídicas con el reactivo sudan III



Fuente: Gina Paternina.

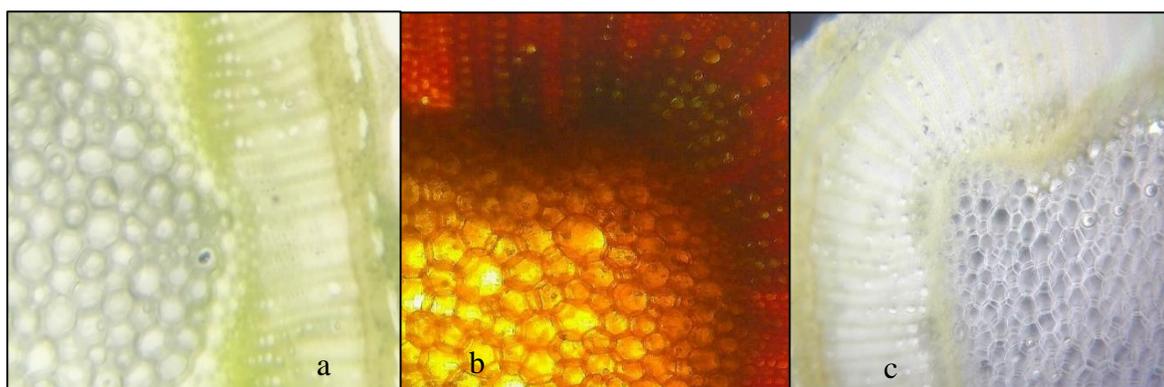
En la prueba de saponinas se presentó coloración muy tenue en el parénquima radial (Ilustración 26.5) en ambas especies, por lo que se tomó como baja presencia de estos compuesto, se ha documentado la presencia de saponinas en *L. camara* tanto en tallos y hojas por Pardo et al., (2011).

Ilustración 26.5. *L. Camara* subsp. *camara* y *L. camara* subsp. *Portoricensis*, determinación de saponinas



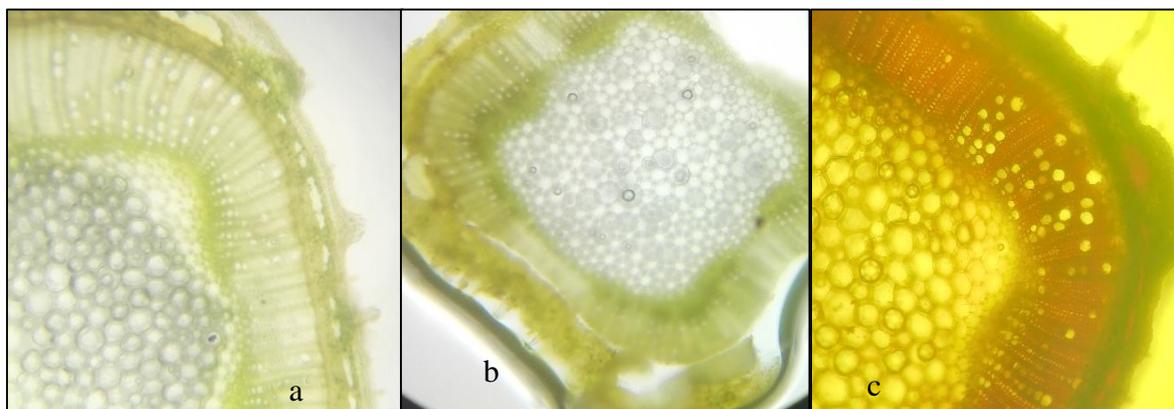
La presencia de alcaloides en *L. camara* subsp. *camara* (Ilustración 26.6) y *L. camara* subsp. *portoricensis* fue negativo, ocurriendo reacción con el reactivo de dragendorff, no así DMB y Meyer (Ilustración 26.7; Tabla 2), al igual que lo ocurrido en *D. erecta*..

Ilustración 26.6. Tallo de *Lantana camara* subsp. *camara*, en presencia de reactivos de **a.** Meyer, **b.** Dragendorff **c.** DMB



Fuente: Gina Paternina.

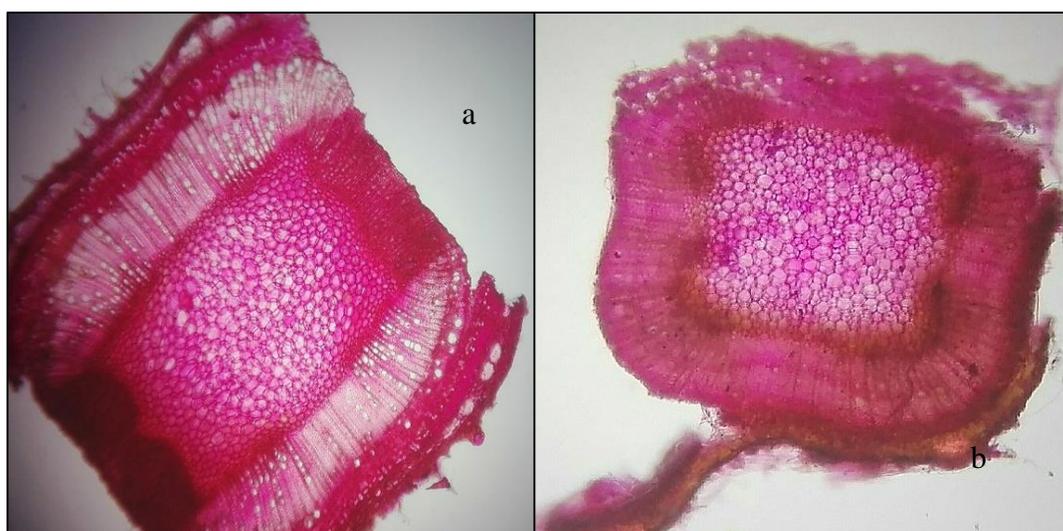
Ilustración 26.7. *Lantana camara* subsp. *Portoricensis* en presencia de reactivos de **a.** Meyer, **b.** DMB **c.** Dragendorff



Fuente: Gina Paternina.

La prueba para taninos en *L. camara* subsp. *camara* y *L. camara* subsp. *portoricensis* fue negativa, mientras que para pectinas fue positivo, igual a lo ocurrido en *D. erecta* (Ilustración 26.8 a y Ilustración 26.8 b), lo que fue explicado antes según lo propuesto por Willats, Knox, Mikkelsen, (2006) y Salazar y Gamboa, (2013).

Ilustración 26.8. **a.** *L.camara* subsp. *camara* **b.** *lantana camara* subsp. *Portoricensis* pectinas o taninos.

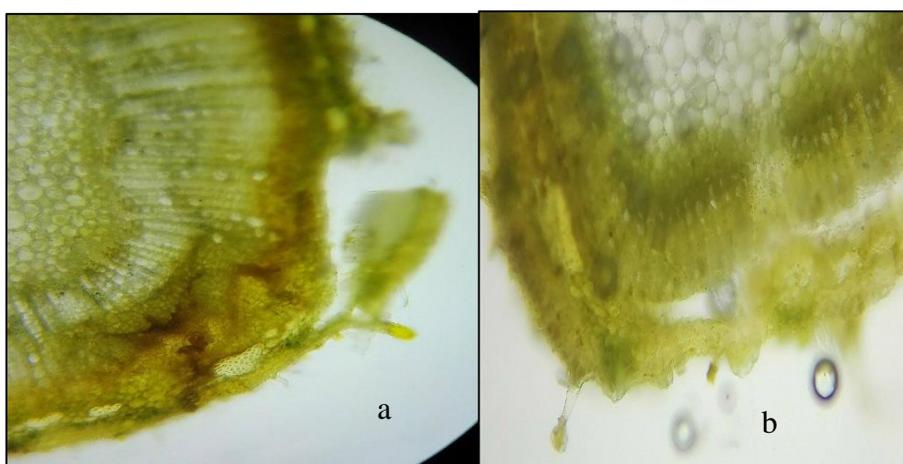


Fuente: Gina Paternina.

En *Lantana camara* subsp *camara* y *Lantana camara* subsp. *portoricensis*, se presentaron resultados positivos para azúcares, encontrándose (Ilustración 26.9 b) en tricomas y colénquima en subsp. *portoricensis* y *camara* se presentó en la zona del colénquima y esclerénquima (Ilustración 26.9 b). Estas células suelen guardar cloroplastos, azúcares e incluso taninos, además,

las paredes del colénquima están compuestas de celulosa y ésta a su vez está compuestas por largas cadenas de β -glucosa (Martín y Saco, 2012).

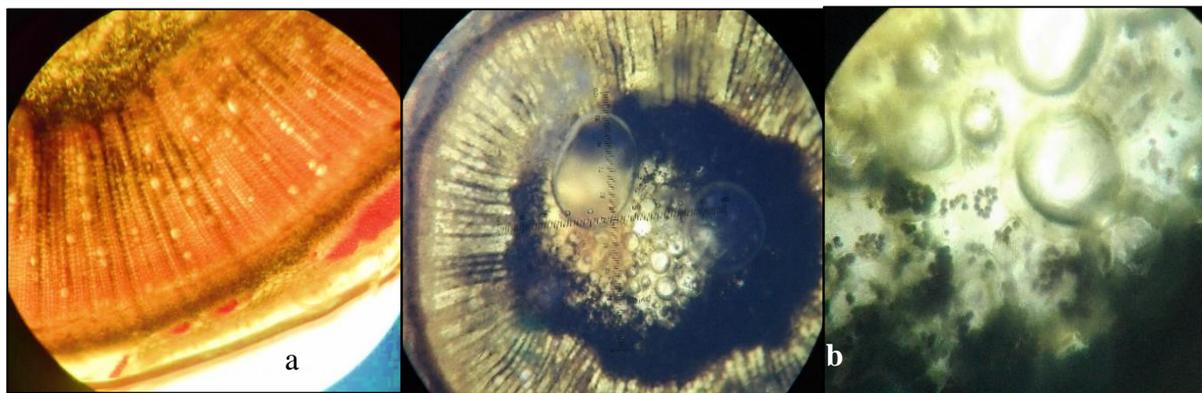
Ilustración 26.9. Muestras de corte de **a.** corte de tallo de *L.camara* subsp. *camara* **b.** corte de tallo en *lantana camara* subsp. *Portoricensis* reaccionando a tratamiento con reactivo de benedit para determinación de azucares



Fuente: Gina Paternina.

En las especies de *Lippia* estudiadas (Ilustración 19) la lignina se detectó en esclerénquima, la celulosa en haces vasculares, y la hemicelulosa estuvo ausente (Ilustración 19 a y b). Se presentó almidón en *Lippia alba*, con mayor abundancia en, parénquima medular y en parénquima radial (Ilustración 27 a) y en *Lippia origanoides* se presenta mayor cantidad de almidón en el parénquima medular (Ilustración 27 b), esto es consistente, dado que en el parénquima se almacenan sustancias de reserva.

Ilustración 27. a. *Lippia alba* y b. *Lippia organoides* en tinción con lugol

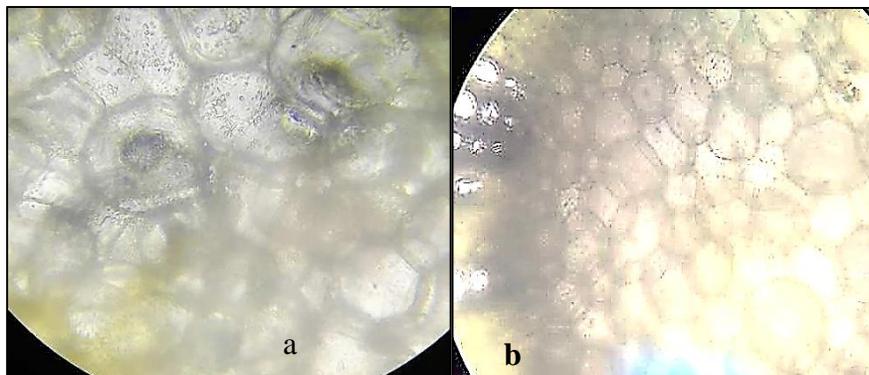


Fuente: Gina Paternina.

El calcio se encuentra en todas las plantas o por lo menos en casi todas. Este generalmente como cristales de oxalato de calcio.

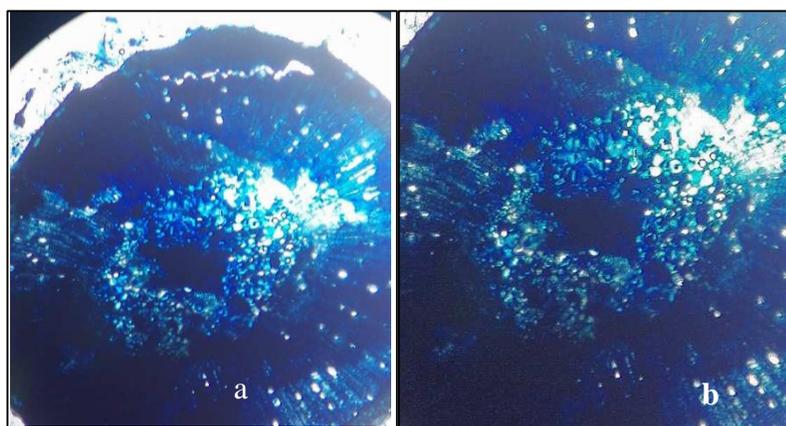
Para la determinación de calcio en *Lippia alba* se encontró cristales tipo arenilla y prismáticos ubicados en la zona del parénquima medular, coincidiendo con lo encontrado por Bonzini et al (2003), por su parte de *Lippia organoides* solo presento cristales tipo arenilla en medula (Ilustración 27.1; Tabla2).

Ilustración 27.1 **a. *Lippia alba* cristales arenilla y prismáticos b. *Lippia organoides* cristales arenilla.**



Al igual que en las especies descritas anteriormente, en estas dos especies se presentó abundancia de proteínas en todos los tejidos que conforman el tallo de las dos especies (Ilustración 27.2).

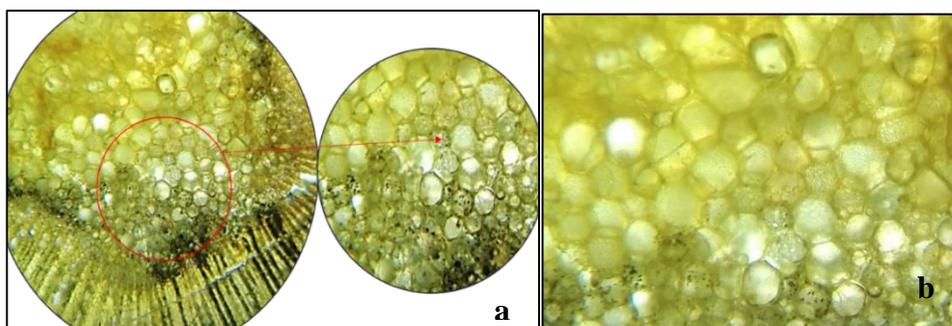
Ilustración 27.2 a. *Lippia alba* **b.** *Lippia origanoides*



Fuente: Gina Paternina.

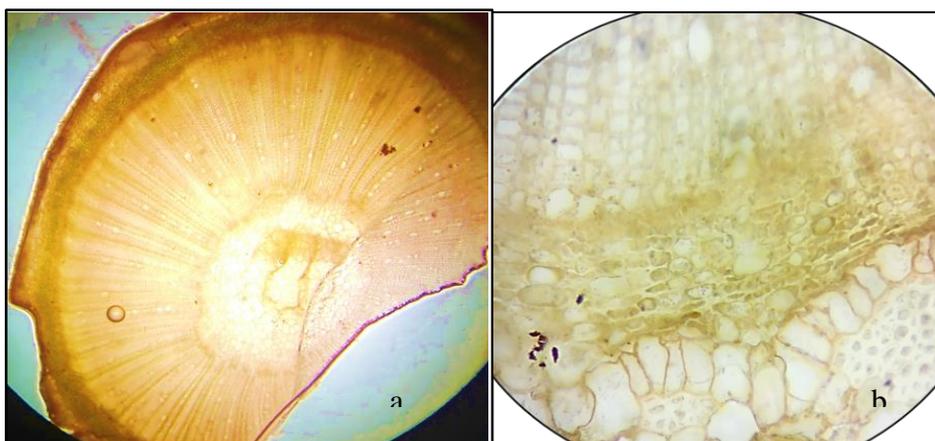
La determinación de proteínas tipo aleuronas (Ilustración 27.3), mostró la presencia de compuesto globulares (al igual que en las especies anteriores), en la zona medular del tallo en *L. alba* y *L. origanoides* ((Ilustraciones 27.3 a y b).

Ilustración 27.3. a. *Lippia alba* **b.** *Lippia origanoides* granulomas de proteína tipo aleuronas



En *L. alba* y *L. origanoides* (Ilustraciones 27.4 a y b)) se presentó coloración típica para lípidos, principalmente en células epidérmicas y en las paredes de las células que conforman el parénquima radial, observándose cordones de coloración rojiza en los tejidos y gotillas de color rojizo.

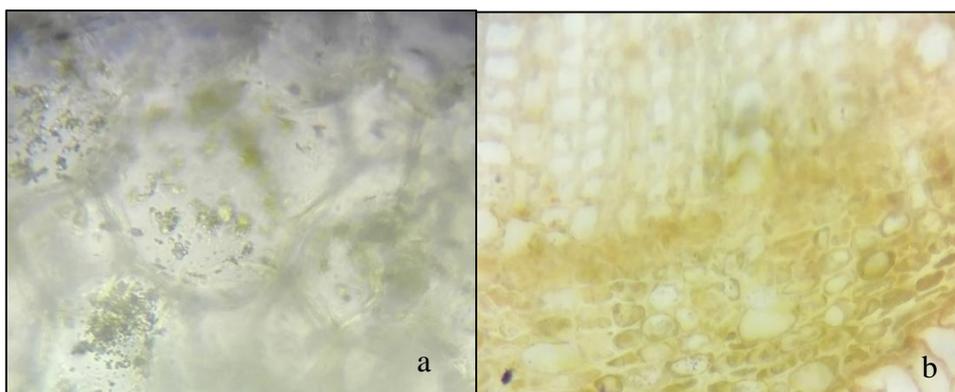
Ilustración 27.4. a. *Lippia alba* y **b.** *Lippia origanoides* mostrando sustancias lipídicas



Fuente: Gina Paternina.

En la determinación de saponinas, se presentó coloración en la zona medular del tallo en *Lippia alba*. (Ilustración 27.5 a), en *Lippia origanoides* se presentó en las paredes de las células del parénquima radial y células de la epidermis (Ilustración 27.5 b).

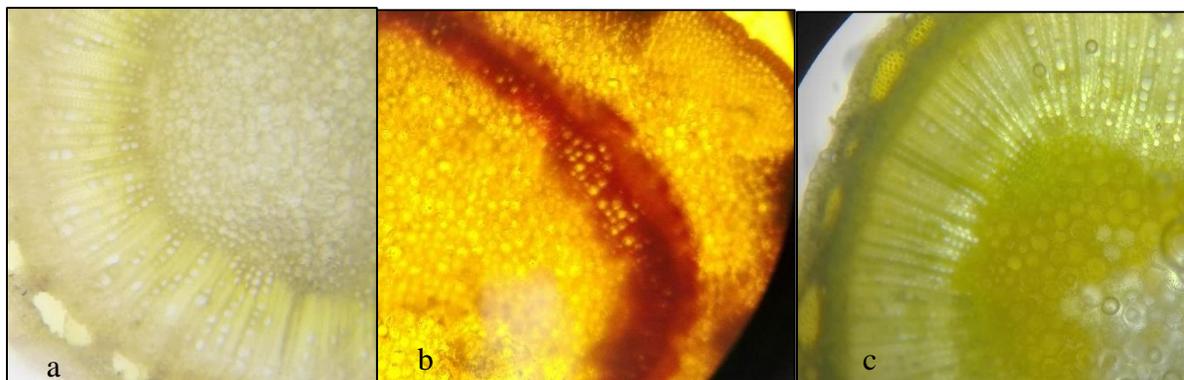
Ilustración 27.5 a. *Lippia alba* **b.** *Lippia origanoides*, saponinas



Fuente: Gina Paternina.

En alcaloides, tanto *Lippia alba* y *Lippia organoides*, presento reacción positiva con la prueba de dragendorff y negativa con Meyer y DMB, por lo que se consideró negativo para estas sustancias (Ilustración 27.7).

Ilustración 27.6. Cortes de tallo de *Lippia alba*, en tratamientos de **a.** Meyer **b.** Dragendorff **c.** DMB en determinación de alcaloides.



Fuente Gina Paternina.

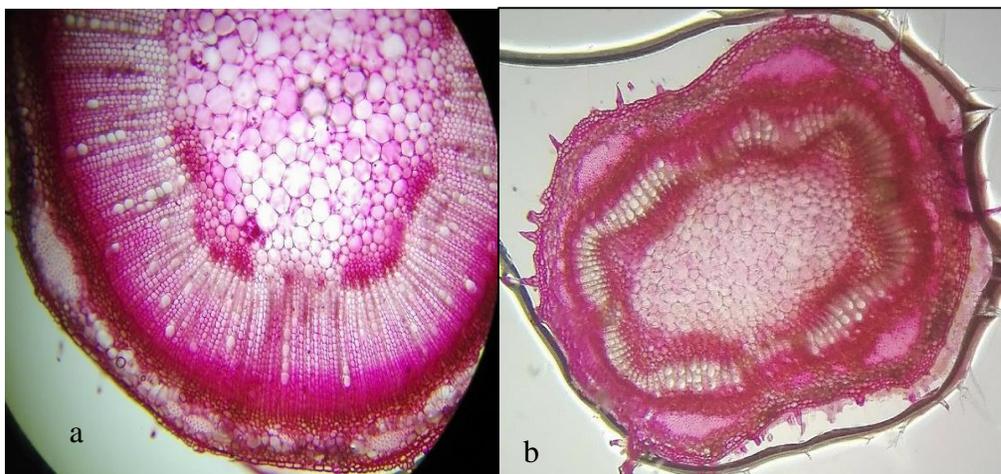
Ilustración 27.7 Cortes de tallo de *Lippia organoides*, en tratamiento de **a.** Dragendorff **b.** DMB **c.** Meyer en determinación de alcaloides.



Fuente Gina Paternina.

Para la determinación de taninos y pectinas, se encontró pectinas en las dos especies, más no taninos (Ilustración 27.8 a y b), esto coincide con lo encontrado por (Demarco, D 2015).

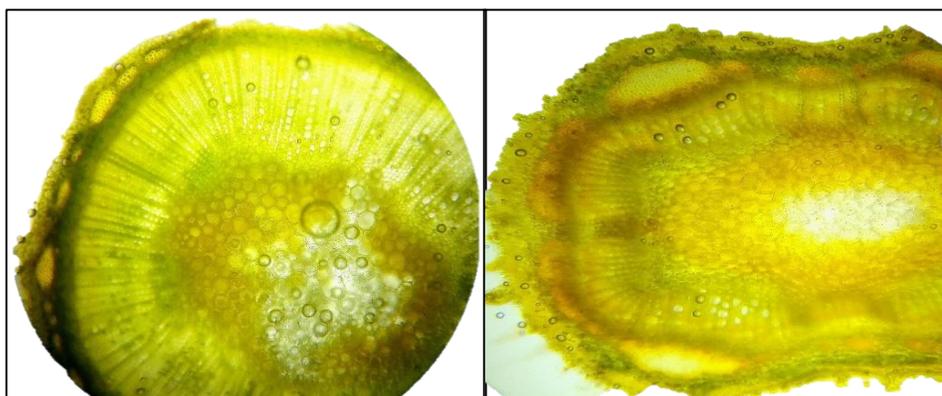
Ilustración 27.8 a. *Lippia alba* **b.** *Lippia origanoides* determinación de pectinas



Fuente: Gina Paternina.

La prueba para azúcares fue positiva en *Lippia alba* y *Lippia origanoides* (Ilustración 27.9 a y b) en la zona del parénquima medular y en esclerénquima, esto es consistente con la presencia de estos compuestos de reserva en parénquima.

Ilustración 27.9 a. *Lippia alba* **b.** *Lippia origanoides* determinación de azúcares simples



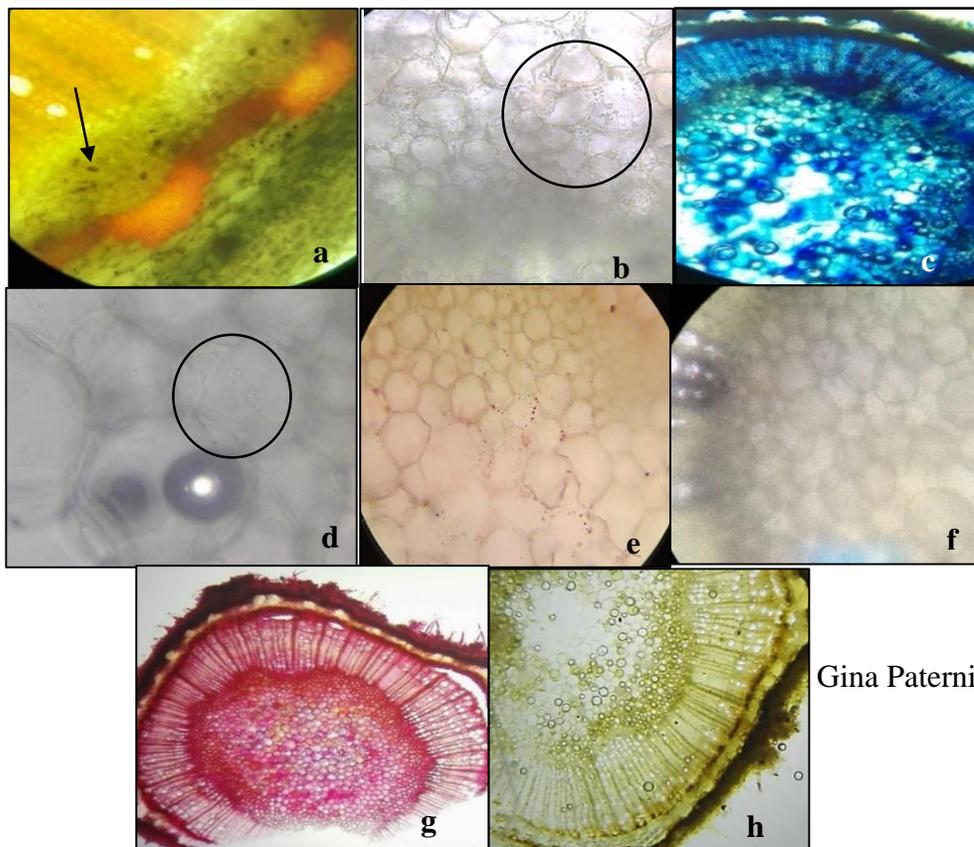
Fuente: Gina Paternina

En *P. volubilis* (Ilustración 20) los depósitos de esclerénquima están lignificados, la celulosa se encontró en forma de cordón sobre el parénquima radial y en las paredes del parénquima medular hemicelulosa. La determinación de almidón en *P. volubilis* arrojó resultados positivos pero escasos en la zona del esclerénquima (Ilustración 28 a). El calcio se observó en cristales de oxalato de calcio en forma de arenilla y prismas en la zona medular (Ilustración 28 b). las proteínas mostraron resultado similar al de las anteriores especies; es decir amplia presencia en todos los tejidos que conforman el tallo (Ilustración 28 c). En la determinación de proteínas tipo aleuronas esta especie mostro escasa presencia de las estructuras globulares descritas antes en las especies anteriores, en la zona medular del tallo (Ilustración 28 d). Las sustancias lipídicas fueron observadas en la zona medular del tallo en forma de pequeñas gotas, lo que coincidente con (Demarco, 2015), cabe aclarar que se realizó un lavado con agua destilada para evitar que quedasen restos de la sustancia en el tejido (Ilustración 28 e).

En la determinación de saponinas en esta especie no se hizo evidente presencia de este compuesto (Ilustración 28 f); y respecto a alcaloides, *Petrea volubilis* no presento formación de precipitados ni reacción característica en los tejidos para cada uno de los tratamientos realizados a excepción del reactivo de dragendorff que como contiene yodo es posible que reacciona ante la presencia de almidón, más no de alcaloides con tal (Ilustración 29).

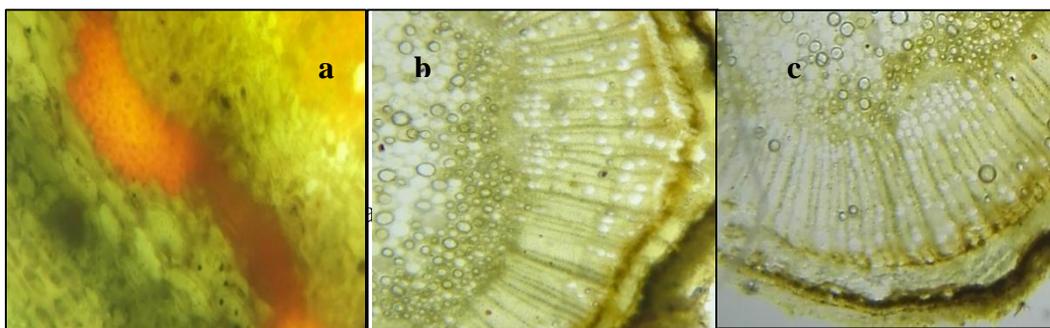
En *P. volubilis* se observa presencia de pectinas en esclerénquima y en las células del parénquima radial (Ilustración 28 g) y ausencia de taninos, esto coincidió con las observaciones de Demarco, (2015). Los azúcares en *Petra volubilis* se observaron en parénquima radial y colénquima todas estas afirmaciones se basan en la reacción colorimétrica de cada especie para el tratamiento. (Ilustración 28 h).

Ilustración 28. a. Almidón b. Tipos de cristales c. Proteínas d. Proteínas tipo aleuronas e. Gotas naturaleza lipídica f. Saponinas g. Taninos o pectinas h. Azúcares



Gina Paternina.

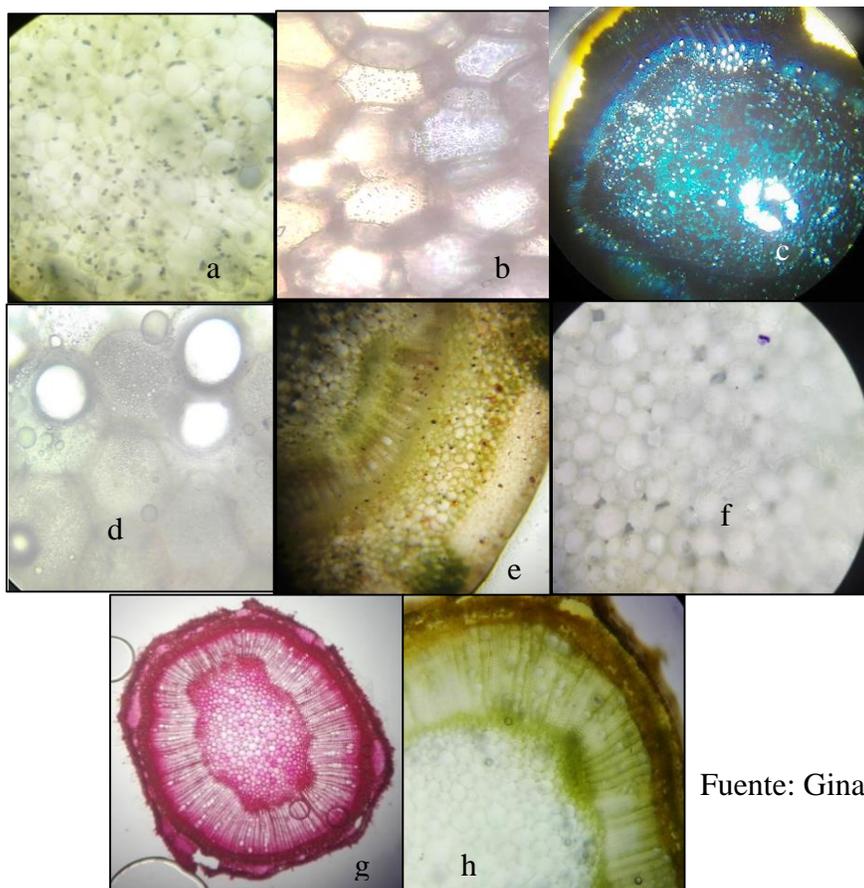
Ilustración 29. Cortes de *P. volubilis* en tratamientos a. dragendorff b. DMB c. Meyer para determinación de alcaloides



En *P. canescens*, la hemicelulosa se encontró en parénquima medular, la celulosa estuvo ausente, y la lignina se observó en esclerénquima y parénquima radial. El almidón se presentó en células de parénquima medular (Ilustración 30 a), el calcio en cristales tipo arenilla (Ilustración 30 b), las proteínas, en todos los tejidos del tallo (Ilustración 30 c). En esta especie también aparecen las estructuras globosas después de la prueba para aleuronas en zona medular del tallo (Ilustración 30 d); en la determinación de sustancias de naturaleza lipídica en *P. canescens*, se presentaron en parénquima radial, parénquima medular, esclerénquima y colénquima, como gotitas dispersas de color rojizo, coincidiendo también con lo encontrado por Demarco, (2015) (Ilustración 30 e).

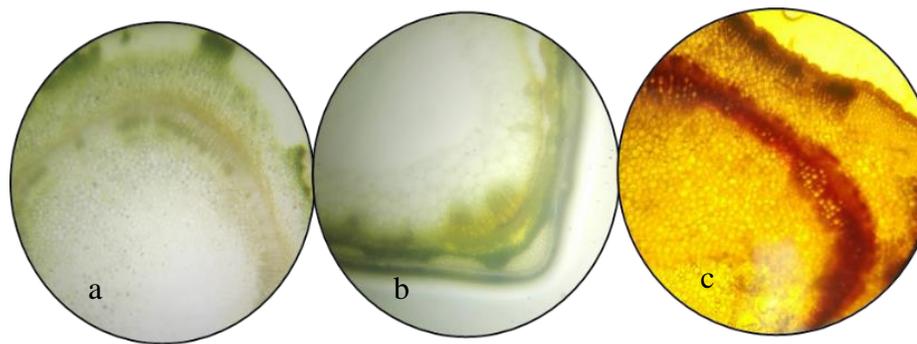
En la detección de saponinas no se encontró su presencia (Ilustración 30 f), ni tampoco alcaloides (Ilustración 31) y taninos. Mientras que pectinas fueron detectadas en parénquima radial y los tejidos de sostén (Ilustración 30 g), esto también fue documentado por Demarco, (2015). En la determinación de azúcares la reacción colorimétrica tuvo lugar en el colénquima y paredes de células del parénquima radial (Ilustración 30 h).

Ilustración 30. **A.** Almidón **b.** Cristales arenilla **c.** Proteínas de membrana **d.** Proteínas tipo aleuronas **e.** Sustancias lipídicas **f.** Saponinas **g.** Pectinas **h.** Azucares.



Fuente: Gina Paternina

Ilustración 31. Cortes de tallo de *P. nodiflora* con tratamiento para la determinación de alcaloides **a.** Meyer **b.** DMB **c.** Dragendorff,



Fuente Gina Paternina

Priva lappulacea, al igual que *P. canescens* mostró hemicelulosa en cutícula y parénquima medulas, lignina en esclerénquima y celulosa en parénquima radial (Ilustración 22). Presencia de almidón en colénquima y en parénquima radial (Ilustración 32 a), calcio en forma de cristales tipo prismáticos y arenilla siendo ésta forma la más abundante (Ilustración 32 b). Las sustancias de naturaleza proteica en las membranas en todo los tejidos que conforman el tallo (Ilustración 32 c), y las proteínas tipo aleurona no fueron encontradas, en esta especie no se observaron las estructuras vistas en las otras especies mencionadas *P. lappulacea* (Ilustración 32 d)

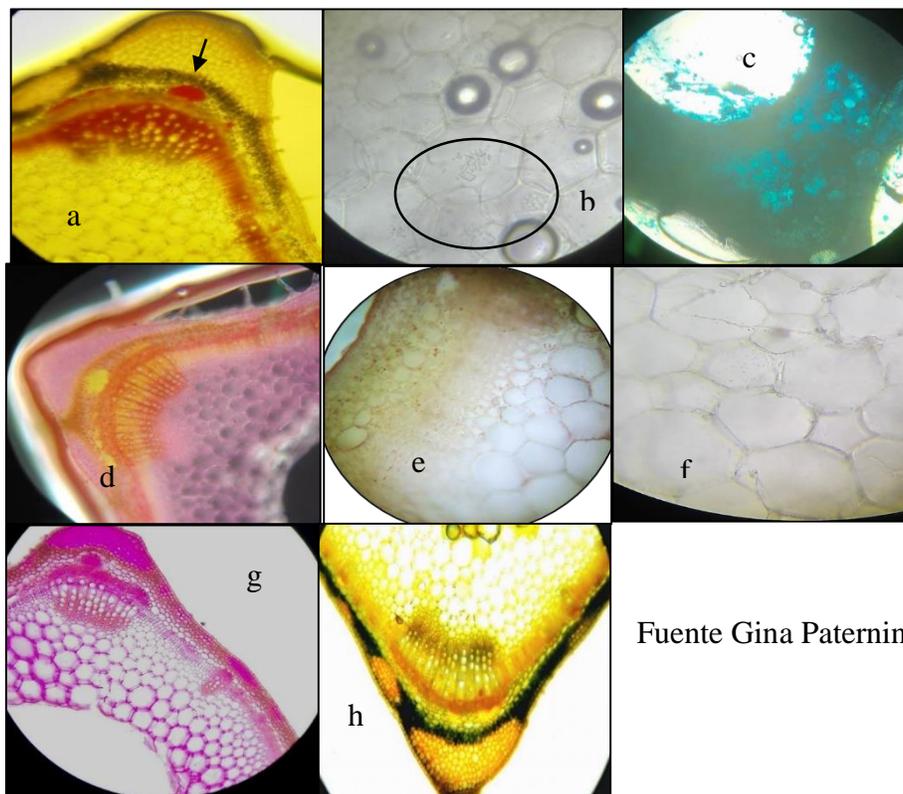
P. lappulacea mostro en la zona medular diminutas gotas de sustancias de naturaleza lipídica, al igual que en las paredes de las células epidérmicas (Ilustración 32 e), este resultado coincide también, con lo encontrado por Demarco, (2015). Para determinación de saponinas se alcanza a observar una levemente coloración amarilla en las células del parénquima medular (Ilustración 32 f).

En cuanto a alcaloides, con DMB se observa una mínima coloración rosa débil, característica para resultado positivo, pero con dragendorff y Meyer no se observó reacciones, por lo que se consideró negativo (Ilustración 33).

La presencia de taninos fue negativa, y para pectinas fue positivo (Ilustración 32 g), esto coincide con lo obtenido por Demarco, (2015) en el tratamiento con rojo rutenio.

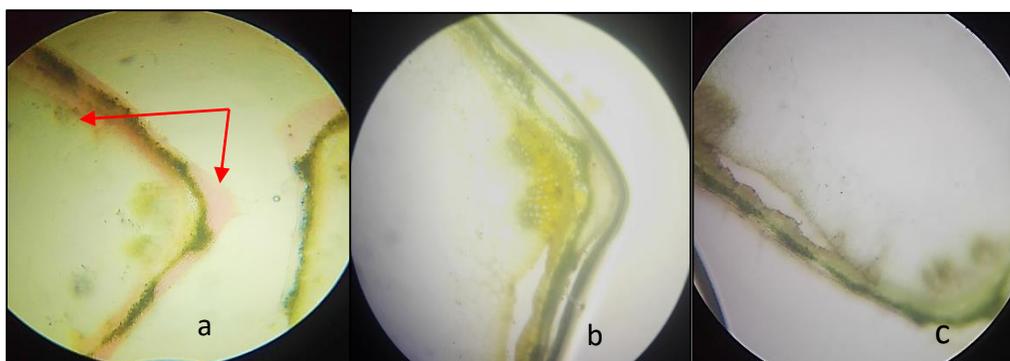
La coloración característica de reacción para detectar azúcares en esta especie solo se presentó en colénquima y paredes de células que forman el parénquima radial (Ilustración 32 h).

Ilustración 32 **a.** Almidón **b.** Cristales prismáticos y arenilla **c:** Proteínas **d:** aleuronas **e:** sustancias lipídicas **f:** saponinas **g:** taninos o pectinas **h:** coloración típica de azúcares.



Fuente Gina Paternina

Ilustración 33. *Priva lappulacea* con reactivos **a.** DMB **b.** Dragendorff **c.** Meyer, tratamiento para alcaloides



Fuente: Gina Paternina.

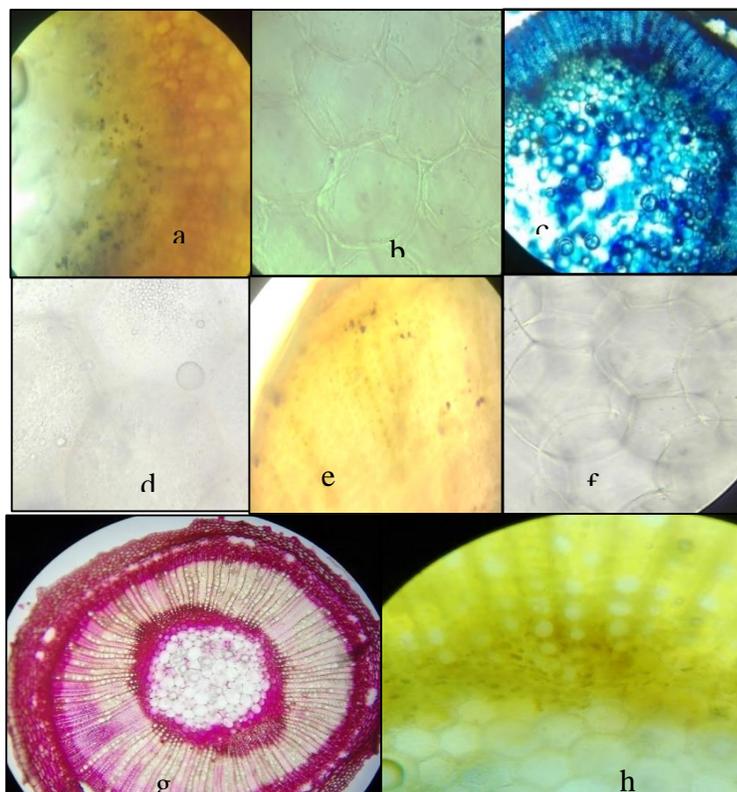
Por ultimo en *S. mutabilis*, la hemicelulosa estuvo presente en las células de la cutícula, las paredes de las células del parénquima radial presentaron lignina, y en las paredes de células de tejidos de sostén y parénquima medulas de observo celulosa (Ilustración 23). La presencia de almidón (Ilustración 34 a) se encontró en parénquima medular y en colénquima. El calcio se presentó como cristales tipo arenilla (Ilustración 34 b), las proteínas, en todos los tejidos del tallo, como en las especies anteriores. (Ilustración 34 c).

En la prueba para aleurona, se observaron nuevamente las estructuras globosas en el parénquima medular, (Ilustración 34 d). En *Stachytarpheta mutabilis* se observaron pocas sustancias de naturaleza lipídica, en parénquima radial, (Ilustración 34 e). Y saponinas, alcaloides y taninos tampoco fueron detectados (Ilustración 34 f, Ilustración 35, si en cambio, pectinas (Ilustración 34 g). Los azúcares se detectaron en la zona medular y parénquima radial (Ilustración 34 h).

Los compuestos lipídicos específicos como lecitina, se detectaron en *P. canescens* (parénquima medular) (Ilustración 36 a), *lantana cámara* subsp portoricensis y *Lantana camara* subsp cámara (Ilustración 36 b), *Lippia alba* (Ilustración 36 c), y *S. mutabilis* (Ilustración 36 d).

La presencia de fitosterol no se pudo determinar, debido que el ácido sulfúrico deterioro los tejidos de manera inmediata (Ilustración 37)

Ilustración 34. a. Tinción con lugol b. Cristales calcio c. Proteínas d. Proteínas tipo aleuronas e. Sustancias de naturaleza lipídica f. Saponinas g. Taninos o pectinas h. Azúcares



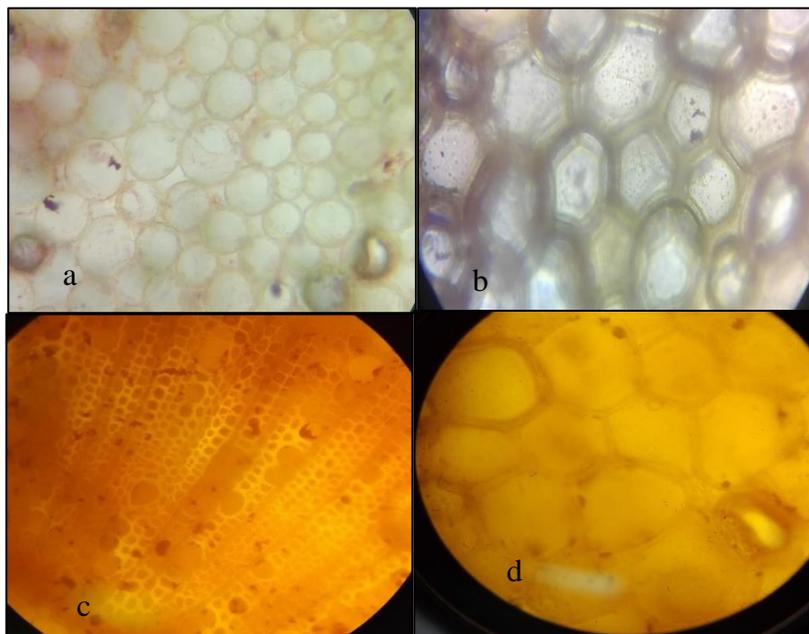
Fuente: Gina Paternina.

Ilustración 35. Detección de alcaloides a: Meyer b: DMB c: Dragendorff



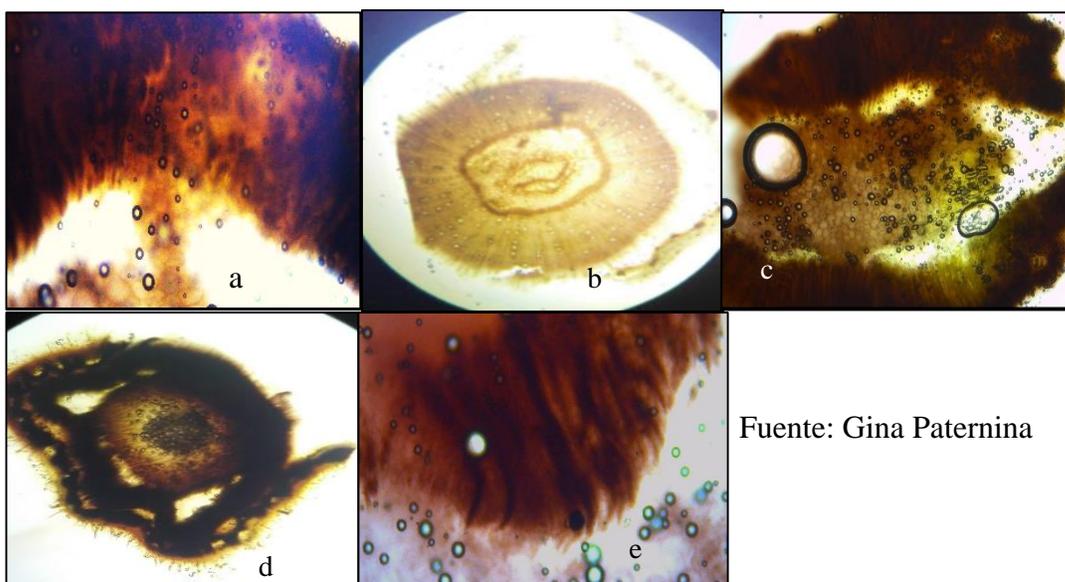
Fuente: Gina Paternina.

Ilustración 36. Muestras de tallos de especies **a.** *P.canescens* **b.** *L.camara* subsp *camara* y *L.camara* subsp *portoricensis* **c.** *Lippia alba* **d.** *S. mutabilis*, para determinar lecitina



Fuente: Gina Paternina

Ilustración 37. Cortes de tallos de especies tratadas con ácido sulfúrico para determinar fitosterol **a.** *L. camara* **b.** *L.alba* **c.** *P.canescens* **d.** *P.volubilis* **e.** *L. organoides*.



Fuente: Gina Paternina

El almidón es el principal polisacárido de reserva de la mayoría de los vegetales, por lo que su presencia se da por hecho, pero dependiendo de las especies la cantidad puede variar, esto fue observado en *Petrea volubilis*, *Duranta erecta* y *Stachytarpheta mutabilis* que presentaron menor proporción que lo observado en los géneros de *Lippia* y *Lantana*.

Para las plantas es importante la presencia de calcio debido a que este permite un correcto desarrollo de paredes celulares y la actividad enzimática, este compuesto es absorbido y transportado en forma pasiva y permite desencadenar en la planta mecanismos de autodefensa, y a superar problemas relacionados con los cambios en el medio ambiente, la formación de cristales dentro de los tejidos de las plantas se da por acumulación intra-celular de calcio (Piedrahita, 2012). El calcio generalmente se encuentra en forma de oxalato de calcio, la formación de oxalato de calcio es un proceso esencial en la mayoría de las especies de plantas conocidas y en algunos casos cerca del 90 % del calcio total en la planta puede encontrarse secuestrado en forma de cristales de oxalato de calcio; sin embargo, este porcentaje varía entre las diferentes especies de plantas que presentan este tipo de cristales. Lo anterior parece indicar que su formación representa el mayor mecanismo de regulación de los niveles de calcio en la planta (Horner y Wagner, 1995). Las plantas producen los cristales de oxalato de calcio en una gran variedad de formas y tamaños, aunque la mayoría de los cristales pueden clasificarse dentro de cuatro tipos principales en base a su morfología: rafidios (cristales aciculares en agregados), drusas (agregados cristalinos esféricos), estiloides (cristales aciculares) y prismas, también podemos encontrarlos tipo arenilla (Jáuregui-Zúñiga y Carcamo, 2004), en general, el calcio secuestrado en forma de oxalato de calcio, va a estar disponible cuando la planta tenga la necesidad de éste.

Con respecto a las estructuras observadas en la prueba para detectar aleurona, aunque estas no estén documentadas en tallo, existe la posibilidad que estos cuerpos sean precursores de granos de aleurona. Existen unas estructuras llamadas leucitos, estos son el primer grado de la especialización protoplásmica; se consideran como derivados del citoplasma y difieren muy poco de éste, tienen casi su misma composición; también se les ha denominado plástidos o tofoplastos; el nombre de leucitos es el más usado. Su forma es unas veces esférica, otras alargada oval, fusiforme y bacilar. Se pueden estudiar bien en las células periféricas del tallo de *Philodendron grandiflorum*, en el albumen de *Melandryum macrocarftum*, que las contiene de forma esférica y fusiformes y en la médula de *Phajus grandiflorus*, suelen los leucitos rodear al núcleo o hallarse acumulados junto a la pared interna de la célula, pero sin tocar ésta; siempre se hallan envueltos por la substancia citoplásmica de la que proceden. Se reconocen dos clases de leucitos, los activos y los pasivos; aquéllos se forman cuando la célula se halla en la plenitud de su vida, en el mayor grado de actividad, e intervienen en las funciones celulares, desempeñando una misión de importancia a nivel metabólico; los leucitos pasivos son un verdadero material de reserva, formado cuando los tejidos tienen su vida latente, en el mismo momento en que va a comenzar el reposo de la célula y se les conoce de ordinario con el nombre de granos de aleurona (cdigital.dgb.uanl.mx/la/1080097468/1080097468_10.pdf, consultado mayo 8 de 2018).

Se ha documentado la aleurona principalmente en las semillas de algunas especies y tiene carácter de sustancia de reserva (Raven et al 1993; Gómez –Cadena, A; Garcia, 2006), pero tampoco se puede asegurar rotundamente que no se encuentre en tallos, lo cierto es que es necesario poder desarrollar una prueba más sensible en la determinación de este compuesto.

La microquímica ha permitido mostrar en forma general que los alcaloides se encuentran localizados en los tejidos periféricos de los diferentes órganos de las plantas, es decir en el recubrimiento de la corteza del tallo, en las especies estudiadas no fue detectado, pero no se puede asegurar que no estén presentes, al ser un tipo de metabolito, cabe la posibilidad que las plantas de la familia Verbenaceae lo puedan sintetizar al ser sometidas a estrés o a algún evento ambiental extremo. Estos compuestos pueden brindar protección a las plantas contra depredadores (Arango-Acosta 2008). Según Ávalos, & Pérez, (2009) los alcaloides encuentran en un 20% de las plantas.

Los taninos y pectinas, son sustancias naturales que se forman principalmente en la pared primaria y en los tejidos mesenquimáticos y parenquimático de frutos y vegetales, estos tienen la función de unión intercelular (Nwanekesi, E. & col 1994-Chasquibol & col, 2008). Los taninos se han encontrado ampliamente en familias como Leguminosae, Rosaceae, Polygonaceae, Fagaceae, Rhizophoraceae, Myrtaceae y Melastomataceae, pero en familia Verbenaceae no se han documentado (Isaza, 2007). Las pectinas se caracterizan por ser un grupo heterogéneo de polisacáridos ricos en ácido galacturónico que conforman hasta un 35% de la pared celular primaria de las dicotiledóneas y de las monocotiledóneas, En particular, las pectinas pueden presentar modificaciones importantes que les permiten tener un papel crítico en las propiedades biomecánicas de la pared celular influyendo sobre su porosidad, permeabilidad y elasticidad, entre otras, por lo que deben estar presentes en todas las plantas.

La presencia de celulosa y lignina en las plantas casi que es una regla general, dado que son unas de las sustancias orgánicas más abundantes dentro de los tejidos de las plantas, esta se encuentra en la pared celular de varios tejidos de soporte y transporte y en los vasos de xilema (Ávalos, & Pérez, 2009) por lo observado en los tratamientos para determinación de lignina, estos tallos

contienen menos lignina, por lo que son más frágiles, pero a nivel arquitectural de estos tallos, esta dispuesta estratégicamente para darles suficiente soporte.

8. CONCLUSIONES

- Las especies de la familia Verbenaceae utilizadas en este trabajo, presentan diferencias tanto a nivel estomático, de indumentos y la conformación arquitectural de sus tejidos, lo que puede ser utilizado para identificarlas a un nivel más preciso, tanto a nivel de género y especie.
- Algunas de las pruebas realizadas, mostraron ser precisas para detección de determinado compuesto, mientras que otros son muy generales, como ocurrió con proteínas, que detecta cualquier compuesto de naturaleza proteica, por lo que probar otras técnicas a nivel de tejido vivo o al que se le hayan realizado los procesos para montajes histológicos permanentes (deshidratación e hidratación con alcoholes), puede dar resultados diferentes y más precisos.
- En general, los compuestos como almidón, proteína, calcio, lignina y pectinas, son compuestos abundantes en las plantas y su presencia está sujeta a las actividades de supervivencia de éstas, al cumplir funciones estructurales y fisiológicas (metabolismo, crecimiento, reproducción) esenciales.

RECOMENDACIONES

- Realizar estudios sistemáticos, es decir sostenidos temporalmente, en especies de la familia Verbenaceae que abarquen las especies utilizadas y otras que no fueron estudiadas en este trabajo, procurando obtener un conocimiento profundo que posibilite la validación de su uso en la farmacopea de Colombia.
- Normalizar protocolos de mejor precisión para estudios fitoquímicas en especies de la familia Verbenaceae, dada su importancia al tener especies medicinales.
- Realizar estudios desde el ámbito de los bioservicios que las especies de la familia Verbenaceae pueden ofrecer.
- Evaluar las relaciones entre las variaciones ambientales en las áreas donde se encuentren especies de Verbenaceae y la producción en cantidad y calidad.

9. ANEXOS

ANEXO A

MEDICIONES EN ESTOMAS DE ALGUNAS DE LAS ESPECIES ESTUDIADAS

Estomas en *Petrea volubilis*

Ancho

8r ,8r, 8r, 10r, 8r, 8r ,7r ,8r ,8r, 6r

Promedio =7.9r

Largo

8r, 7r, 7r, 8r, 8r, 8r, 8r, 8r, 6r

Promedio =7.6r

100r_____0.33mm

7.9r_____ X = 7.9r* 0.33mm/100r = 0.026mm

0.26mm*1000μ/1mm = 26μ de ancho promedio

27μ de largo promedio

Estomas de *Priva lappulacea*

Ancho: 4r, 5r, 5r, 5r, 5r, 5r, 5r, 5r, 5r, 5r

Largo: 7r, 5r, 5r, 6r, 5r, 6r, 6r, 7r, 6r, 6r

Estomas *Lippia alba*

Ancho: 5r, 5r, 5r, 7r, 5r, 6r, 5r, 5r, 5r, 5r

Largo: 7r, 8r, 8r, 8r, 7r, 7r, 8r, 7r, 7r, 6r

Estomas *phyla canescens*

Ancho: 8r, 9r, 8r, 6r, 9r, 8r, 9r, 8r, 9r, 8r

Largo: 10r, 10r, 10r, 9r, 10r, 10r, 10r, 10r, 10r, 10r

Lippia origanoides

Largo: 10r, 10r, 10r, 10r, 10r, 10r, 10r, 10r, 10r, 10r.

Ancho: 8r, 7r, 7r, 8r, 7r, 7r, 7r, 7r, 6r, 7r.

Estomas *Stachytarpheta mutabilis*:

Ancho: 8r, 8r, 8r, 8r, 5r, 6r, 8r, 5r, 8r, 7r

Largo: 13r, 12r, 10r, 11r, 10r, 10r, 10r, 8r, 10r, 12r

MEDICIONES DE ALGUNOS TRICOMAS DE ALGUNAS DE LAS ESPECIES
ESTUDIADAS

Tricomas tipo tector en *Stachytarpheta mutabilis*.

30r, 25r, 15r, 25r, 30r, 20r, 20r, 25r, 30r, 20r, 30r, 30r, 20r, 20r, 20r, 30r, 15r, 20r, 30r, 20r

Tricoma tipo "T" en *phyla canescens*.

Medidas tomadas de brazo a brazo

60r, 25r, 25r, 35r, 30r, 35r, 30r, 35r, 30r, 30r, 40r, 25r, 30r, 40r, 40r, 40r, 35r, 30r, 40r, 30r.

Tricomas tipo tector en *Duranta erecta*

13r, 15r, 22r, 15r, 12r, 15r, 10r, 17r, 12r, 15r, 13r, 15r, 15r, 15r, 20r, 10r, 15r, 10r

Tricomas tipo tector en *priva lappulacea*

50r, 75r, 55r, 75r, 60r, 50r, 65r, 50r, 75r, 75r, 55r, 79r, 58r, 45r, 55r, 70r, 80r, 78r, 90r, 40r

Tricoma glandular con cabeza bicelular

Ancho: 7r, 10r, 9r, 9r, 10r, 7r, 8r, 8r, 8r, 7r, 8r

Largo: 6r, 6r, 9r, 8r, 8r, 6r, 6r, 4r, 6r, 6r, 6r

Tricomas con cabeza unicelular en *Lippia alba*

Ancho: 10r, 10r, 15r, 10r, 10r 11r, 11r, 9r, 9r, 10r, 10r 8r, 11r, 10r.

Largo: 10r, 9r, 16r, 10r, 9r, 10r, 10r, 10r, 10r, 7r, 9r, 10r, 9r, 10r.

Tricomas tipo tector en *Lippia alba*

70r, 65r, 50r, 55r, 60r, 45r, 45r, 50r, 55r, 60r, 60r, 65r, 45r, 55r, 42r, 50r, 70r, 40r, 50r, 55r.

Tricomas glandular de cabeza unicelular en *lantana camara* subsp *camara*

Largo:

14r, 10r, 7r, 11r, 10r, 9r, 10r, 11r, 10r, 10r, 7r, 10r, 13r, 5r, 10r, 5r, 9r

Ancho:

12r, 10r, 12r, 12r, 13r, 16r, 10r, 8r, 8r, 10r, 11r, 10r, 13r, 10r, 10r, 10r, 12r

Tricoma glandular con cabeza bicelular en *P. volubilis*

Ancho

10r, 9r, 9r, 10r, 10r, 10r, 6r, 9r, 9r, 10r, 8r, 10r, 10r, 10r, 9r, 10r, 10r, 10r, 10r, 10r

Largo:

8r, 8r, 7r, 8r, 8r, 8r, 7r, 8r, 9r, 8r, 9r, 7r, 7r, 8r, 7r, 8r, 8r, 8r, 8r, 7r

ANEXO B *priva lappulacea* mostrando rastros de herbivoría



ANEXO C *Phyla canescens* mostrando rastros de herbivoría



10. REFERENCIAS

Acosta, L.L. 2012. Plantas medicinales en un proyecto de desarrollo humano. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 17(4): 446-451 pp.

Aguilera-Díaz, M. 2005. La economía del departamento de Sucre: Ganadería y Sector Público. Centro de estudios económicos y regionales (CEER) Cartagena. ISSN 1692-3715. Disponible en: http://www.banrep.gov.co/docum/Lectura_finanzas/pdf/DTSER-63-VE.pdf

Andersen, A.; Lucchini, F.; Moriconi, J.; Fernández, E.A. 2006. Variabilidad en la morfo-anatomía foliar de *Lippia turbindinata* (Verbenaceae) en la provincia de San Luis (Argentina). *Phyton* 75: 137-143 pp.

Ansaloni, R., Wilches, I. Leon, F., Peñaherrera, E., Orellana, A., Tobar, V., De Witte, P. 2010. Estudio Preliminar sobre Plantas Medicinales Utilizadas en Algunas Comunidades de las Provincias de Azuay, Cañar y Loja , para Afecciones del Aparato Gastrointestinal. *Revista Tecnológica ESPOL*, 23(1), pp.89–97.

Agudelo-Gómez L.S., Gómez-Ríos G.A., Durán-García D.C., Stashenko E., Betancur-Galvis L. 2010. Composición química y evaluación de la actividad antiherpética in vitro de aceites esenciales de *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown y sus componentes mayoritarios. *Salud UIS*. Vol. 42, núm. 3. 230-239 p.

Angarita, D.; Sanmartín, D. y Mercado, J. 2014. Nuevos registros corológicos para Sucre (Sanguaré - Colombia). *Rev Colombiana Cienc Anim.* 6(2):327-334.

Ansaloni, R.; Wilches, I.; León, F.; Orellana, A.; Peñaherrera, E.; Tobar, V.; Witte, P. de. 2010. Estudio Preliminar sobre Plantas Medicinales Utilizadas en Algunas Comunidades de las Provincias de Azuay, Cañar y Loja, para Afecciones del Aparato Gastrointestinal. *Revista Tecnológica ESPOL – RTE*, Vol. 23, N. 1. 89-97 Pp.

Atkins, S. 2004. Verbenaceae. **En:** J. W. Kadereit (ed.). The families and genera of flowering plants, vol. 7. Springer-Verlag, Berlin, Germany. 449-468 pp.

APG IV. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181, 1—20 p.

Ávalos, A., Pérez, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología) Serie Fisiología Vegetal*, 2 (3), 119 – 145 pp.

Avello, M.; Cisternas, I. 2010. Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. *Revista Médica de Chile* 138: 1288-1293 pp.

Basu, S.; Ghosh, A.; Hazra, B. 2005. Evaluation of the antibacterial activity of *Ventilago madraspatana* Gaertn., *Rubia cordifolia* Linn. and *Lantana camara* Linn.: Isolation of emodin and physcion as active antibacterial agents. *Phytother. Res.*19: 888-894 pp.

Barbera-Castañer J. M. 1981. Estudio histológico e histoquímico de diversos órganos de *Anona cherimolia* L. Tesis de Licenciatura, inéd. Univ. Granada.

Bautista, A.M.; Vital, G.R. 2012. Flora apícola en la vereda “El Paraíso” Reserva Forestal Protectora Serranía de Coraza, Colosó (Sucre, Colombia). Universidad de Sucre. Facultad de Educacion y Ciencias. Programa de Biología. Tesis de pregrado. 86 p.

Becerra, N y Chaparro, M. 1999. Morfología y anatomía vegetal. Facultad de Ciencias, departamento de biología. Universidad Nacional de Colombia. 212 p.

Benavides, O. L.; Villota, J.M.; Tova, D. M. 2010. Caracterización del aceite esencial presente en las hojas de *Phyla nodiflora* (L.) Greene (OROZUL). *Universidad y Salud*. Año 10 Vol. 1 N° 12. 57 – 64.

Berlin, E.A; Berlin, B. 1996. Medical Ethnobiology of the Highland Maya of Chiapas, Mexico: The Gastrointestinal Diseases. Princeton University Press. 558 p.

Berardi, A.B. 2012. **Etnofarmacología** gastrointestinal de plantas medicinales argentinas del género *Aloysia*, familia Verbenaceae: mecanismos de acción y relación con los principios activos.- 1a ed. - La Plata: Universidad Nacional de La Plata. 79 p.

Bernal, H.Y.; García, M.H. y Quevedo, S.F. 2011. Pautas para el conocimiento, conservación y uso sostenible de las plantas medicinales nativas en Colombia: Estrategia nacional para la conservación de plantas. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt. Bogotá, D. C., Colombia. 230.

Bonzani, n. E., e. M. Filippa y g. E. Barboza. 1997. Particularidades epidérmicas en algunas especies de Verbenaceae. Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica 68 (2): 47-65.

Calzada-Sánchez, E. V.; Aguilar-Rodríguez, S.; López-Villafranco, M. E. y Aguilar-Contreras, A. 2014. Anatomía de hoja y tallo de Verbenaceae medicinales empleadas en México. Botanical Sciences 92 (4): 469-480.

Cantino, P.D.; Harley, R.M. & Wagstaff, S. J. 1992. Genera of Labiatae: Status and classification. In R. Harley [ed.], *Advances in Labiatae Science*, 511-522. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, UK.

Carrillo, T., Díaz, A. 2006. Actividad antimalárica de extractos acuosos de *Lantana camara* L., *Verbena littoralis* L. y *Heliotropium indicum* en ratones infectados con *Plasmodium berghei*. Revista de la Facultad de Farmacia, Vol. 48 (1). Universidad de Los Andes. Venezuela. 14-20 pp

Celis-Melo, C. 2007. Estudio comparativo de la composición y actividad biológica de los aceites esenciales extraídos de *lippia alba*, *lippia organoides* y *phyla(lippia)dulcis*, especies de la familia *verbenaceae*. Facultad de ciencias –escuela de química universidad industrial de Santander. 132PP

Cortella, A.; Pochettino, L. (1994). “Starch grain analysis as a microscopic diagnostic feature in the identification of plant material”. *Economic Botany* 48(2): 171-181.

Chasquibol-Silva N.; Arroyo-Benites E.; Morales Gomero J.(2008). Extracción y caracterización de pectinas obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana, Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal n.26.

Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. New York: Columbia Univ. Press

Demarco, D. Micromorfología y histoquímica de los laticíferos de órganos vegetativos de especies de asclepiadoideae (apocynaceae). Acta Biológica Colombiana [en línea] 2015, 20 (Enero-Abril) : [Fecha de consulta: 12 de noviembre de 2017 Disponible en:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=319033067007>> ISSN 0120-548X

De la Rosa-Torres C, Martínez-Colpa A, Márquez-Vizcaíno R. 2005, Estudio etnobotánico y medicinal del municipio de Sabanalarga (atlántico), Colombia. Actual Biol 27 (Supl. 1): 87-90.

Dos Santos, J. Silva. 2015. Filogenia e diversidade do gênero *Stachytarpheta* Vahl (Verbenaceae). Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação – PRPPG. Departamento de Biologia. Programa de Pós-graduação em Botânica – PPGB. Tesis de Doctorado. 237 p.

El-Hela, A.A.; Al-Amier, H; Craker, L. E. 2009. Phytochemical and Biological Investigation of Bluebird Vine (*Petrea volubilis*). En: Khan, Smillie, Khan. 2009. Planta Med. 8th Annual Oxford International Conference on the Science of Botanicals. University of Mississippi, University, MS, USA. 399-457.

Farias Braga.J., de Mendonça Pimentel. R., Pereira Ferreira.C., Perrelli Randau.K., Haroudo Satiro. X 2009. Morfoanatomia, histoquímica e perfil fitoquímico de *Priva lappulacea* (L.) Pers. (Verbenaceae) Revista Brasileira de Farmacognosia 516-523 pp.

Figueiredo,A.C.,Goncalvez,J.M.,Gaspar,L.M.,Asencensao,L.,2007.Histoquímica em plantas:princípios e protocolos.Facultade de ciencias da universidade de Lisboa. Centro de biotecnología vegetal 66 pp.

Flora mesoamericana – trópicos (1989). Trópicos. <http://www.tropicos.org/>. Recuperado de tropicos.org/name/33700038?projectid=3.

Flora mesoamericana – trópicos (2009). Trópicos. <http://www.tropicos.org/>. Recuperado de tropicos.org/NameSearch.aspx?name=Petrea+volubilis&commonname=.

Fonnegra, R. & Jimenez, S.L. 2007. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. 2^{da} Edición. Salud/interés general. Editorial Universidad de Antioquia. 370 p.

Gómez, M. L. & Toro, J. L. 2007. Manejo de las Semillas y la Propagación de Diez Especies Forestales del Bosque Andino. Corporación Autónoma Regional del Centro de Antioquia Corantioquía. 72 p.

Gomez –cadena,A; Garcia-A,P.2006. Fitohormonas: metabolismo y modo de acción, España, Universitat Jaume I.

Garcia,M, Segovia, Y.2013. Manual d'Histologia . Departament de biotecnologia universitat d'alacant 82pp

Henao, S. C., Martínez, J. D., Pacheco, N. L., Marín, J. C. 2011. Actividad bactericida de extractos acuosos de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown contra *Helicobacter pylori*. Rev Col Gastroenterol. 26 (2). 82-87 Pp.

Holdridge, L. R. 1967. Life zone ecology. With Photographic Supplement Prepared by Joseph A. Tosi, Jr. Revised edition. Tropical Science Center, San José, Costa Rica. 149 pp.

Horner H T y Wagner B. L. 1995. Calcium oxalate formation in higher plants. En: Calcium oxalate in biological systems. Editor: Khan S R CRC Press Boca Raton Fl. pp 53-72

Gentry, A.H. 1996. A field guide to the families and genera of woody plants of northwest South America (Colombia, Ecuador, Peru), with supplementary notes on herbaceous taxa. University of Chicago Press. 895 pp.

Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC). 1998. Estudio general de suelos y zonificación de tierras. Departamento de sucre. Ministerio de Hacienda y Crédito Público. Bogotá, Colombia. 126 p.

Instituto Colombiano de desarrollo rural (INCODER). 2012. Caracterización socio-demográfica del área de desarrollo rural de Montes de María. 22P

INVEMAR (Instituto de investigaciones marinas y costeras José Benito vives de andreis) 2002. Fundamentación del plan de manejo integrado de la unidad ambiental costera estuarina del río Sinú y golfo de morrosquillo, caribe colombiano. Informe técnico fase I- caracterización y diagnostico 802PP.

IAVH (

Isaza-M, E.F. 2007 Taninos o polifenoles vegetales. ciencia et Technica Año XIII, No 33. UTP. ISSN 0122-1701.

Johansen, D. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill, Nueva York, EEUU.

Krauter, D. 1996. Mikrokosmos 85: 11-13 p.

Lara, O.; Farfán, C.; Jayes, P.; Mérida, M.; Cruz, S.M.; Pérez, F. 2010. Estudio sobre los aceites esenciales y metabolitos secundarios en las especies *Lantana camara* L., *Lantana hispida* HBK y *Lantana trifolia* L., de la Familia Verbenaceae. Revista científica del Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas 19(2): 7-15 Pp.

López-Palacios, S. 1986. lista preliminar de las Verbenaceae existentes en Colombia con algunos de sus usos y nombres vulgares; departamento de botánica –facultad de farmacia. Universidad de los andes (Venezuela)caldasias vol XV n.71-75 155-176.

López, S. 1977. Flora de Venezuela. *Verbenaceae*, pp. 388 - 341. Mérida, Venezuela: Consejo de publicaciones, Facultad de farmacia, Universidad de los Andes.

Luna, A.A. 2015. Estudio fotoquímico de espino chivo (*Duranta triacantha*). Tesis. Facultad de Ciencias Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba – Ecuador.

Ma, J.K.; Drake, P.M.; Christou, P. 2003. The production of recombinant pharmaceutical proteins in plants. *Nat Rev Genet*; 4:794–805

Macías-Núñez, E. F.; Bullaín-Galardis, M. M.; Torres, E. 2017. Análisis fitoquímico y actividad antimicrobiana in vitro de los extractos de raíz, tallos y hojas de *Priva lappulacea* (L.) pers. (Amor seco). ROCA. Revista científico - educacional de la provincia Granma. Vol.13 No.4.

Martín, S y Saco, D. 2012. Estudio de los tejidos para la caracterización de las plantas. Reduca (Recursos Educativos). Serie Farmacia. 4 (5): 1-26

Marx, H.; O'leary, N.; Yuan, Y.; Lu-Irving, P.; Tank, D.; Múlgura, M. E. & Olmstead, R. 2010. A molecular phylogeny and classification of Verbenaceae. *American Journal of Botany* 97: 1647 – 1663 Pp.

Milaneze-Gutierrez, M.A.; Mello, J.C.P.; Delaporte, R.H. (2003). “Efeitos da intensidade luminosa sobre a morfo-anatomia foliar de *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold. (Verbenaceae) e sua importancia no controle de qualidade da drogavegetal”. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 13(1): 23-33. Pp.

Missouri botanical garden.org .2018 recuperado de <http://www.missouribotanicalgarden.org/media/fact-pages/tropicos.aspx>

Muñoz, J.A. Staschenko, E y Ocampo, C. B.. 2014. Actividad insecticida de aceites esenciales de plantas nativas contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Colombiana de Entomología* 40 (2): 198-202 p.

Nash, D. L., Nee, M. (1984). Verbenaceae. *Flora de Veracruz*, (41), 118 – 155.

Nwanekesi, E.; Alawuba, O y C. Mkpolulu. “Characterization of pectic substances from select tropical fruits”. *J. Sci. Technol.* 31, 1994.

O’Leary, N.; Múlgura, M.E & Morrone, O. 2007. Revisión taxonómica de las especies del género verbena (Verbenaceae): serie Pachystachyae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 94 (3). 571 – 622.pp

Pardo, A.K., Arenas, J.J., Gómez, M., Lora, F. M., Gómez, J. E. 2011. Determinación de la actividad antifúngica de extractos de *Lantana camara* frente a *Candida* spp. *Infectio*. 15(4): 235-242 Pp.

Pare, P.W.; Tumlinson J.H., 1999. Plant volatiles as a defance against insect herbivores. *Pl. Physiol.*, 121: 325–31

Peralta, P.; Múlgura, M.E.; Denham, S.S.; Botta, S. 2008. Revisión del género *Junellia* (Verbenaceae). *Ann. Mo. Bot. Gard.* 95, 338–390 Pp.

Plan de desarrollo 2016-2019. Departamento de Sucre. Gobernación de Sucre.

Price ML, Van Scoyok S, Butler LG. 1978 A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 26(5):1214-1218

Raven, P.H; Evert, R.F; Eichhorn,S.E. 1993. *Biología de las plantas*, Barcelona-España, editorial REVERTE, S.A.

Rendón-Carmona,N.; Ihiki-Ishihara,M.; Terrazas,T.; Nieto-López,M. 2006 Indumento y tricomas en la caracterización de un grupo de nueve especies del género *Mortoniiodendron* (Tiliaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad* 77: 169-176

Rivera, O. & Rangel, O. 2012. Diversidad de espermatofitos de la región Caribe colombiana. En: *Colombia Diversidad Biótica XII: La región Caribe de Colombia*. Ed. J. Orlando Rangel-Ch. - Bogotá: Instituto de Ciencias Naturales, 2012. 1046 p.

Roca, M y Pérez, G. J. 2006. Geografía física y poblamiento en la costa Caribe colombiana. Banco de la República. Documento de trabajo sobre economía regional. No 73. Páginas web

gubernamentales de los municipios de San Onofre, Santiago de Tolú, Tolú viejo, Coveñas y Palmito.

Rotman, A.D. & Múlgura, M.E. 1999. Verbenaceae. Flora del valle de Lerma. Aportes botánicos de Salta - Ser. Flora. Vol. 5 (11). Herbario MCNS facultad de Ciencias Naturales Universidad Nacional de Salta. Buenos Aires, Argentina. 1-83.

Rueda, R. (2011). Rubiaceae a Verbenaceae. *Flora mesoamericana, volumen 4* (2), 20 – 552.

Rzedowski, J & Calderón, G. 2002. Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Verbenaceae. Fascículo 100. Instituto de Ecología, A.C. Centro Regional del Bajío. Pátzcuaro, Michoacán. 1-145.

Salazar, A.; Gamboa, A. 2013. Importancia de las pectinas en la dinámica de la pared celular durante el desarrollo vegetal, Departamento de Ecología Funcional, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Sanders, R.W. 2006. Taxonomy of Lantana Sect. Lantana (Verbenaceae): I. Correct application of *Lantana camara* and associated names. *SIDA* 22(1): 381 – 421.

Sandoval, E. 2005. Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal .universidad nacional autónoma de México .277p.

Sandoval, E. 2005. Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal. Cuadernos del Instituto de biología 38. Universidad Nacional Autónoma de México

Santiváñez, R. & Cabrera, J. 2013. Catálogo florístico de plantas medicinales peruanas. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, Lima-Perú. 55 p

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. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, Vol.17, No.4, supl. II. 980-991 Pp

Scarpa, G.F. 2002. Plantas empleadas contra trastornos digestivos en la medicina tradicional criolla del Chaco Noroccidental. Dominguezia, Vol.18, No.1. 36-50.

Sass, J.E. 1951. Botanical Microtechnique. 2 Edition. The Iowa State College Press. 248 p.

Seyoum, A. , Kabiru E, Lwande W., Killeen G., Hassanali A., Knols B. 2002. Repellency of live potted plants against *Anopheles gambiae* from human baits in semi-field experimental huts. Am. J. Trop. Med.Hyg. 67: 191-195.

Silva, L.M., Alquini, Y. & Cavallet, V.J. 2005. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. Acta bot. bras. 19(1): 183-194 Pp.

Stashenko, E.E., Jaramillo, B.E. & J. R. Martínez. 2003. Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante in vitro de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia Verbenaceae. Rev. Acad. Colomb. Cienc. 27 (105): 579-597 Pp

Stashenko, E., Jaramillo B , Martínez J. 2004. Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante in vitro de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia Verbenaceae. Rev. Acad. Col. Cienc. Exact. Fis. Nat. 27: 579-59

Stashenko, E.E., Martínez, J. R.; Duran, D.C., Córdoba, Y., Caballero, D. 2014. Estudio Comparativo de la composición química y de la actividad antioxidante de los aceites esenciales de algunas plantas del genero *Lippia* (Verbenaceae) cultivadas en Colombia. Rev. Acad. Colomb. Cienc. 38(Supl.): 89-105 Pp.

Steibel, P.E. 2000. Las Verbenáceas (Verbenaceae J. St.-Hil.) de la Provincia de La Pampa, Argentina. Rev.Fac. Agronomla - UNLPam Vol. 11, No. 1. 1-30 Pp.

Theobald W. L., J. L. Krahulik y R. C. Rollins. 1988. Trichome description and classification In Anatomy of the dicotyledons, vol. 1, 2nd. edition, R. Metcalfe y L. Chalk (eds.). Oxford University Press, Oxford, p. 40-53.

Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y de los Recursos Naturales (UICN), Gland, Suiza, en colaboración con la Organización Mundial de la Salud (**OMS**), Ginebra, Suiza, y el WWF - Fondo Mundial para la Naturaleza, Gland, Suiza, **1993**.

Wagstaff , S. J. , Olmstead R. G.. 1997 Phylogeny of the Labiatae and Verbenaceae inferred from rbc L sequences. *Systematic Botany* 22 : 165 – 179 .

Wink, M. 1999. Introduction: Biochemistry, role and biotechnology of secondary metabolites. pp. 1-17. In: M. Wink M. (ed.). *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism. Annual Plant Reviews.* Sheffield Academic Press Ltd. London, UK. 374 p.

Willats, W.G.T.; Knox, J.P.; Mikkelsen J.D. 2006. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends Food Sci Tech* 17:97-104.

Yamamoto P. 2006, interacción genotipo X ambiente na producción e composición de aceites esenciales de *Lippia alba*(mill) N.E.Br. tesis de posgrado (mejoramiento genético vegetal), Instituto Agronómico Campinas, SP.

Yuan, Y.W.; Liu, C.; Marx, H. E.; Olmstead, R. G. 2010. An empirical demonstration of using PPR (pentatricopeptide repeat) genes as phylogenetic tools: Phylogeny of Verbenaceae and the *Verbena* complex. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 54: 23 – 35 Pp.

“Si ya sabes lo que tienes que hacer y no lo haces entonces estás peor que antes.”

Confucio

