

Evaluación de la morfo-anatomía foliar de *Passiflora alata* Curtis y *Passiflora edulis* Sims

Claudia Pereira S.¹, Hajime Kurita¹, Rocío Vega¹, Marcela Jiménez¹, Carlos Molinas², Bonifacia Benítez F.¹

¹ Herbario FACEN-Departamento de Biología-Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-Universidad Nacional de Asunción. Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay.

² Departamento de Matemática-Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-Universidad Nacional de Asunción. Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay.

E mail : claudinha_7@hotmail.com

Evaluacion de la morfo-anatomia foliar de *Passiflora alata* Curtis y *Passiflora edulis* Sims

En el presente trabajo se estudió la morfo-anatomía foliar de *P. alata* Curtis y *P. edulis* Sims, con el objetivo de identificar características que permitan distinguir ambas especies, además de obtener valores cuali-cuantitativos que pueden ser utilizadas para el control de calidad de las muestras comerciales enteras o fragmentadas. Estas especies son empleadas en la medicina popular como relajante, sedante, hipotensor, ataques nerviosos y stress. Ambas especies se diferencian por los siguientes caracteres: presencia-ausencia de glándulas en el borde de la hoja y tricomas en la epidermis foliar, el tipo de estoma. Los valores del índice de empalizada y de estomas constituyen un factor que permite diferenciar cuantitativamente la estructura microscópica de ambas especies, además de ser un instrumento de apoyo al estudio de caracteres cualitativos.

Palabras claves: morfo-Anatomía, *Passiflora*, Hoja

Evaluation of foliar morpho-anatomy of *Passiflora alata* Curtis and *Passiflora edulis* Sims

In this paper we studied the leaf morphology and anatomy of *P. alata* Curtis and *P. edulis* Sims, with the aim of identifying characteristics that distinguish the two species in addition to obtaining qualitative quantitative values that can be used for quality control of whole or fragmented of commercial samples. These species are used in folk medicine as a relaxing, sedative, hypotensive, of nervous attacks and stress. Both species are differentiated by the following characters: presence or absence of glands at the edge of the blade and trichomes in the leaf epidermis, type of stoma. The index values of stomata and palisade is a factor that allows differentiating quantitatively the microscopic structure of both species, as well as being a support instrument for the qualitative study.

Key words: morph-anatomy, *Passiflora*, leaf

INTRODUCCION

Con el nombre vernáculo de “Mburucuña” se designa en la medicina popular a hojas de diversas especies del género *Passiflora* L., los mismos son empleados en infusiones como relajante,

sedante, hipotensor, ataques nerviosos y stress (Pin et al, 2009; Sandoya, 1994).

Passiflora alata Curtis se encuentra en Perú, Brasil, Paraguay y Argentina, habita en lugares húmedos y soleados cerca de cauce de agua, en bordes de bosques y

selvas, es también frecuente en campos. *Passiflora edulis* Sims se encuentra en Trinidad y Tobago, Venezuela, Colombia, Guyana, Brasil, Paraguay y Argentina, habita en lugares húmedos, en bosques en galería, montes y capoeiras, también se halla en suelos arcillosos (Deginani, 2001)

La micrografía constituye un riguroso método de análisis aplicable sobre todo a productos vegetales, basado en el reconocimiento y la valoración cualitativa y hasta cuantitativa de sus elementos histológicos (Spegazzini, 2007)

En este trabajo se realiza la evaluación de la morfo-anatomía foliar de *Passiflora alata* Curtis y *Passiflora edulis* Sims, a través de un análisis cualitativo y cuantitativo. Se caracterizó la epidermis foliar y se llevó a cabo el análisis de los índices de estomas y empalizados, acompañado de los estudios estadísticos.

Los datos obtenidos en el trabajo permitió obtener valores numéricos estándares, y aporta conocimiento para el control de calidad de las muestras comerciales enteras o fragmentadas.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Trabajo de campo:

El material de estudio es un ejemplar fresco proveniente del Jardín Botánico de Asunción. Las muestras del material testigo (C. Pereira, 31 y 32), quedan depositadas en el Herbario FACEN-Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción.

2. Trabajo de laboratorio:

2.1. Identificación y descripción de especie:

Las especies fueron identificadas utilizando la clave dicotómica elaborada por Deginani (2001) y los registros de especies del género *Passiflora* L. de Paraguay, de la Base de Datos de Trópicos (www.tropicos.org).

Se tomó fotografías con cámara digital Olympus D – 395 con resolución 3,2 M pixeles; zoom 2,5x.

Análisis y descripción histológica:

Luego de la hidratación de las hojas, se realizó corte transversal a mano alzada, se diafanizó con hipoclorito al 50%, los cortes fueron sometidos a tinción con safranina.

Se tomó muestras de partes foliares, se procedió a diafanizar y eliminar la cutina, para la observación de la epidermis foliar, aplicando la técnica de Carpano *et al* (1994). Esta técnica permitió visualizar las células y obtener valores numéricos correspondientes a los índices de empalizada y estomático.

Para la determinación del índice de empalizada se observó la epidermis superior delimitando cuatro células epidérmicas adyacentes, enfocando el parénquima en empalizada. Se realizó el recuento de las células en empalizadas en el área delimitada, posteriormente se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de empalizada} = \frac{\text{Nº células en empalizada}}{4}$$

Para la determinación del índice de estomas, se enfocó la epidermis inferior y se procedió al conteo, el cálculo se realizó utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de Estomas} = \frac{\text{Nº de estomas}}{\text{Nº estomas} + \text{Nº células epidérmicas}} \times 100$$

Las observaciones de la epidermis fueron realizadas con microscopio óptico

(MO) marca Olympus BH-2, utilizando un objetivo de 40x y un ocular de 10x.

Se tomó fotografías con cámara digital MOTICAM 352, con software Motic Images Plus versión 2.0 ML (2006), incorporado al microscopio.

2.2. Análisis Estadístico

A partir de los datos obtenidos se determinó los descriptivos univariados, las pruebas de normalidad y los contrastes de hipótesis utilizando el paquete estadístico SPSS, versión 11.5 (2002)

RESULTADO Y DISCUSIÓN

Las especies identificadas corresponden a *Passiflora alata* Curtis y *Passiflora edulis* Sims.

1. Caracteres foliares macroscópicos:

Passiflora alata Curtis

Hoja entera, ovada, borde entero, de 65 a 108 mm de longitud, 28 a 75 mm de ancho, con una sola nervadura central, pecíolo de 12 a 37 mm, con 2 a 4 glándulas opuestas (ver Fig. 1).



Fig. 1. *Passiflora alata* Curtis, specimen voucher Pereira, C. 31

Passiflora edulis Sims

Hoja trilobulada (ver Fig. 2), borde crenado con glándula en cabezuela de color marrón claro de aproximadamente 2,264 mm de longitud (ver Fig. 3), la hoja tiene 47 a 107 mm de longitud, 42 a 105 mm de ancho, segmentos de 23 a 46 mm de ancho, 43 a 105 mm de longitud, con tres nervios bien marcados, pecíolo de 10 a 47 mm de longitud, con 2 glándulas opuestas.



Fig. 2. *Passiflora edulis* Sims, specimen voucher Pereira, C. 32

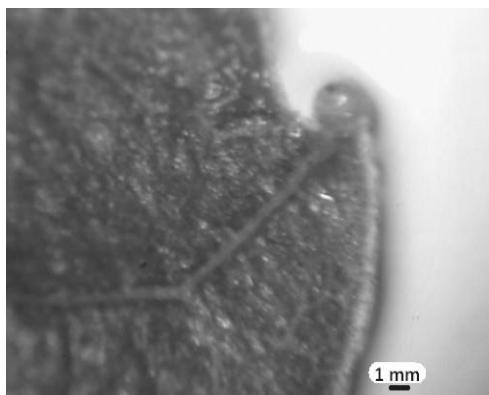


Fig. 3. *Passiflora edulis* Sims, borde con glándula en cabezuela

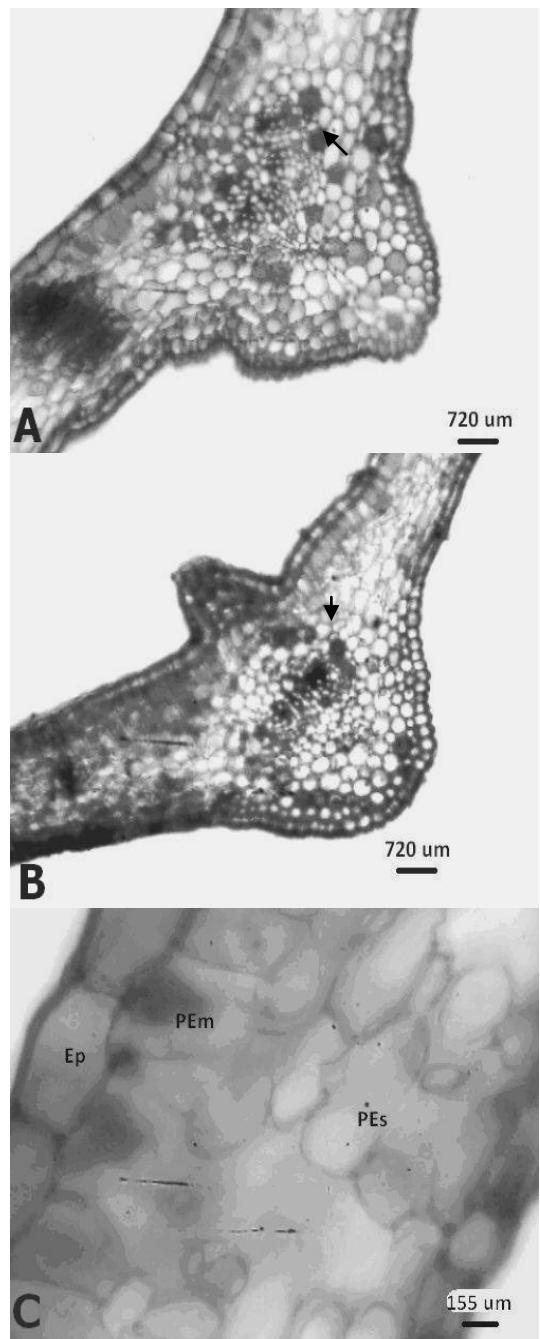
2. Caracteres de la anatomía foliar en sección transversal:

La epidermis es uniestratificada para ambas especies. Por debajo de la epidermis hay estratos de colénquima a ambos lados, seguido por varias capas de parénquima, en dichas células se observan drusas, en mayor proporción en *P. alata*.

El haz vascular es del tipo colateral rodeado por casquitos de fibras esclerenquimáticas, en ambas especies. La nervadura central en la cara adaxial es más pronunciada en *P. edulis* (ver Fig. 4B). La nervadura central en la cara abaxial de ambas es más acentuada (ver Fig. 4A – 4B), sin embargo, en *P. alata* presenta ligeras ondulaciones (ver Fig. 4A).

El parénquima en empalizada de *P. alata* está constituido por una capa de células por lo general en forma de embudo y otras alargadas (ver Fig. 4C), con aproximadamente 572,39 µm de longitud; en tanto, *P. edulis* está formado por una capa de células en su mayoría alargadas (ver Fig. 4D), con aproximadamente 494,77 µm de longitud. El parénquima esponjoso de *P. alata* con aproximadamente 1257,35 µm de longitud, compuesto por cinco a siete capas de células redondeadas e irregulares y de tamaño variable; no obstante, *P. edulis* mide aproximadamente 1172,40 µm de longitud formado por cuatro a seis capas de células ligeramente redondeadas de tamaño variable.

Se encontraron tricomas tectores unicelulares de aproximadamente 817,39 µm de longitud, en ambas caras de la hoja de *P. edulis* (ver Fig. 4E), en tanto, *P. alata* es glabra.



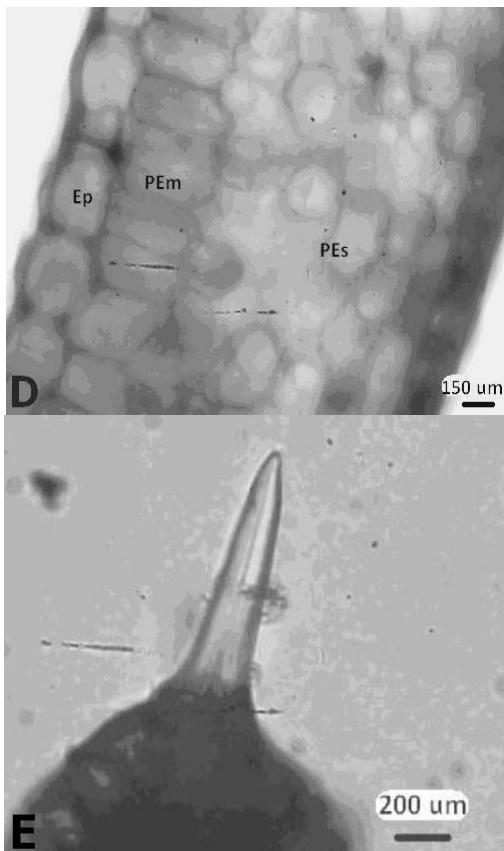


Fig. 4. A - B: Sección transversal de la nervadura central en *P. alata* y *P. edulis*, respectivamente. Note la presencia de drusas en el parénquima (ver flecha) C - D: Sección transversal de la lámina foliar en *P. alata* y *P. edulis*, respectivamente E: Pelo de *P. edulis* Ep: epidermis, PEm: parénquima en empalizada, PEs: parénquima esponjoso.

3. Caracteres microscópicos de la epidermis foliar:

Passiflora alata Curtis

Epidermis adaxial de células de contornos entre rectos a levemente ondulado (ver Fig. 5A). Epidermis abaxial con células de contorno levemente ondulado (ver Fig. 5C). Estomas anomocíticos a anisocíticos en la epidermis abaxial.

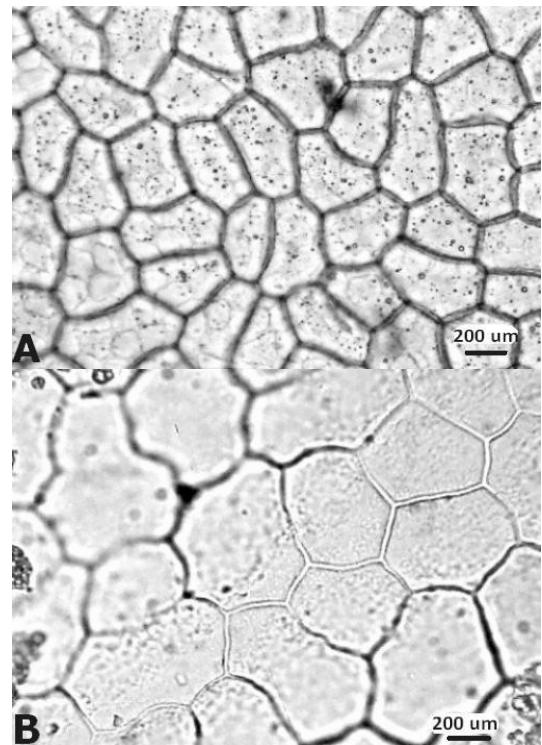
Passiflora edulis Sims

Epidermis adaxial de células de contornos rectos (ver Fig. 5B). Epidermis abaxial con células de contorno entre recto a levemente ondulado (ver Fig. 5D). Estomas anomocíticos a paracíticos en la epidermis abaxial.

4. Análisis cuantitativo:

4.1. Índice empalizada:

En la Tabla 1 se observa, el índice de empalizada para *P. alata* medio es 5, con valores oscilando entre 4 y 6, con coeficiente de variación de 10,50 %. Para *P. edulis* la media es 4,46, tomando valores entre 3 y 5,8 con coeficiente de variación de 16,50 %; es decir, hay mayor variación en *P. edulis*.



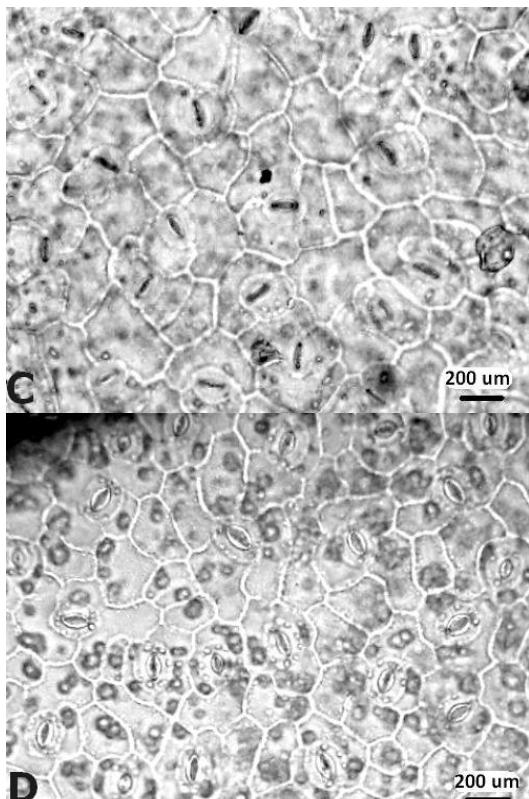


Fig. 5. A: epidermis adaxial de *P. alata*; B: epidermis adaxial de *P. edulis*, C: epidermis abaxial de *P. alata* y D: epidermis abaxial de *P. edulis*

En la Fig. 6 se observa mayor variabilidad en el Índice empalizada de *P. edulis*. El rango intercuartilico es menor en el índice de *P. alata*. Se observa que los valores de índice empalizada de *P. alata* son superiores de *P. edulis*, y están concentrados por debajo de la mediana. La prueba de Shapiro-Wilk demostró que los índices de empalizada en *P. alata* ($p=0,26$) y *P. edulis* ($p=0,49$) tienen una distribución normal.

La prueba de Levene indica que las varianzas se asumen iguales ($p=0,095$).

El estadístico ($t= 3,230$; $gl= 58$; $p= 0,002$) registró que el índice empalizada medio es significativamente diferente en *P. alata* que en *P. edulis*. La diferencia de

media del índice empalizada es 0,53 para un intervalo de confianza del 95%, pudiendo tomar un valor mínimo de 0,20 y máximo de 0,86. Note que la diferencia de media del índice empalizada no supera la unidad.

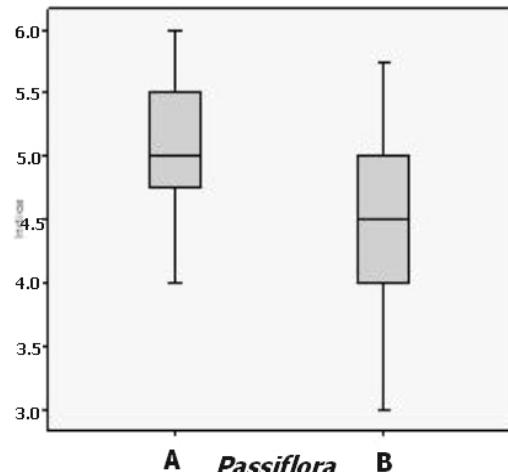


Fig. 6. Boxplots del Índice Empalizada de A: *P. alata* y B: *P. edulis*

4.2. Índice de estomas

En la Tabla 2 se observa, el índice estomático para *P. alata* medio es 21,85; con valores oscilando entre 17,4 y 25,3 con un coeficiente de variación de 9,58 %. Para *P. edulis* la media es 18,47; con valores entre 16,5 y 22,9 con un coeficiente de variación de 9,25%, es decir; con una ligera mayor variación en *P. alata*.

La Fig. 7 demuestra que *P. alata* tiene mayor variabilidad en el Índice estomático. El rango intercuartilico es menor en el Índice de *P. edulis*. Se observa un valor atípico (22,90) fuera del valor máximo de la variable.

La prueba de Shapiro-Wilk demostró que el índice estomático de *P. alata* posee una distribución normal ($p=0,620$), no así *P. edulis* ($p=0,008$) que presenta una asimetría a la derecha.

Tabla 1: Estadísticos del índice empalizada

Especie	Tamaño de muestra	Valor promedio	Rango	Desviación típica	Coeficiente de variación
<i>Passiflora alata</i> Curtis	30	5,00	4,00 – 6,00	0,5252	10,50 %
<i>Passiflora edulis</i> Sims	30	4,46	3,00 – 5,80	0,7362	16,50 %

Tabla 2: Estadísticos del índice estomático

Especie	Tamaño de muestra	Valor promedio	Rango	Desviación típica	Coeficiente de variación
<i>Passiflora alata</i> Curtis	20	21,85	17,4 – 25,3	2,0933	9,58 %
<i>Passiflora edulis</i> Sims	20	18,47	16,5 – 22,9	1,7091	9,25 %

La prueba de Levene indica que las varianzas se asumen iguales ($p=0,420$).

El estadístico ($t= 5,587$; $gl= 38$; $p<0,0001$) registró que el índice estomático medio es significativamente diferente en *P.alata* que en *P.edulis*. La diferencia de media del índice estomático es 3,37 para un nivel de confianza de 95%, pudiendo tomar un valor mínimo de 2,15 y máximo de 4,59.

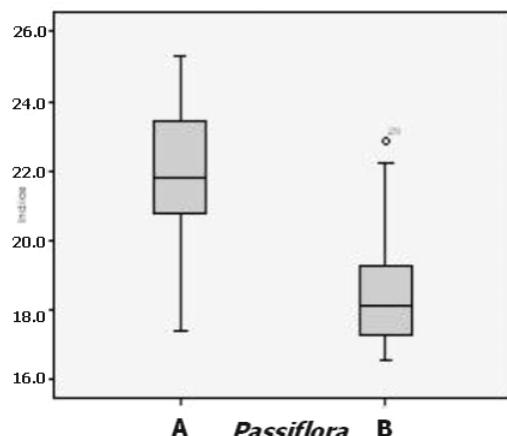


Fig. 7. Boxplots de Índice estomático de A: *Passiflora alata* Curtis y B: *Passiflora edulis* Sims.

CONCLUSION

En ambas especies la epidermis foliar es uniestratificada, los estomas se localizan solo en la cara abaxial; caracterizando a la hoja como hipostomática, coincidiendo

con *Passiflora actina* Hooker (kurtz et al., 2003), *P. palmeri* Rose (Miranda et al., 2007), *P. guazumaeifolia* Juss y *P. aff tiliaefolia* L (García et al., 2008).

En la epidermis foliar de *P. alata* y *P. edulis*, el contorno celular de las caras adaxial y abaxial resultaron bastante similares.

La presencia de drusas se confirma en ambas especies, coincidiendo con *P. palmeri* Rose (Miranda et al., 2007) y *P. guazumaeifolia* Juss (García et al., 2008); en cuanto a la distribución de las drusas se comprobó que en *Passiflora alata* Curtis es abundante y escasa en *P. edulis* Sims, estando distribuidos por todo el parénquima.

Ambas se diferencian por la presencia – ausencia de tricomas tectores unicelulares, presente en *Passiflora edulis* Sims y ausente en *P. alata* Curtis. La nervadura central en la cara adaxial y abaxial es mas pronunciada en *P. edulis*, no obstante, en *P. alata* Curtis presenta ligera ondulaciones.

El haz vascular de la nervadura central es del tipo colateral para ambas especies coincidiendo con *P. actina* Hooker (kurtz et al., 2003) y *P. palmeri* Rose (Miranda et al., 2007)

En ambas el mesófilo esta constituido por dos tipos de parenquima

caracterizando a la hoja como bifacial con simetría dorsiventral, semejante a *P. actina* Hooker (Kurtz et al., 2003). El parénquima en empalizada al igual que el esponjoso presenta una mayor longitud en *Passiflora alata* Curtis.

Los valores del índice de empalizada y de estomas de hojas de *Passiflora alata* Curtis y *P. edulis* Sims constituyen un factor que permite diferenciar cuantitativamente la estructura microscópica de ambas especies, a demás de ser un instrumento de apoyo al estudio de caracteres cualitativos.

Los mismos pueden ser de utilidad para el control de calidad de las muestras comerciales.

El índice empalizada medio de *Passiflora alata* Curtis es mayor al de *P. edulis* Sims, sin embargo existe mayor variabilidad en *P. edulis* Sims.

El índice estomático medio de *Passiflora alata* Curtis es mayor al de *P. edulis* Sims, pero *P. alata* presenta mayor variabilidad.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales por las facilidades para la utilización del laboratorio.

Al Jardín Botánico de Asunción por las muestras proporcionadas como material testigo.

BIBLIOGRAFIA

Carpano, S.M., Spegazzini, E.D. y Nájera, M.T. (1994). Nueva técnica de eliminación de cutina de órganos foliares. *Rojasiana*, 2(1), 9-12.

Deginani, N. (2001). Las especies Argentinas del género *Passiflora*

(Passifloraceae). *Darwiniana*, 39 (1-2), 43-129.

García, M; Jáuregui, D y Pérez, D. (2008). Anatomía Foliar de *Passiflora guazumaefolia* Juss. y *Passiflora aff. tiliacefolia* L. (passifloraceae) Presentes en Venezuela. *ERNSTIA*, 18 (2), 165-176.

Kurtz, S. et al. (2003). Morfo-anatomia de folhas de maracujá: *Passiflora actinia* Hooker (Passifloraceae). *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 22 (2), 105-120.

Miranda, R de et al (2007). ANATOMIA FOLIAR DE *Passiflora palmeri* ROSE (PASSIFLORACEAE). IN: XIII Seminário de Iniciação Científica e 9a Semana de Pesquisa e Pós-Graduação da UESC Ciências Biológicas.

Motic China Group. (2006). Motic Images Plus versión 2.0. Software de computadora para microscopia digital.

Nie, N et al. (2002). Statistical Package for the Social Science. Versión 11.5 for Windows. Software de computadora para análisis estadístico. SPSS Inc.

Pérez, C. (2004). Técnicas de Análisis Multivariante de Datos: Aplicaciones con SPSS. Madrid: Pearson Prentice Hall.

Pin, A et al. (2009). Plantas Medicinales del Jardín Botánico de Asunción. Asunción: AGR.

Sandoval, J. N. (1994). La Cura Natural. Asunción: Editorial Promaster.

Spegazzini, E. D. (2007). La micrografía en la identidad de los vegetales. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 6 (5), 162.

Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. 25 Mayo 2009 <http://www.tropicos.org>