

I. RESUMEN

El manejo convencional de los cultivos se realiza principalmente con el uso de pesticidas sintéticos. Sin embargo, esta práctica tiene consecuencias sobre la biodiversidad y la salud humana; por lo que es necesario divulgar y promover el uso de plantas como método natural de control de plagas en los cultivos, lo cual contribuye a mantener el equilibrio ecológico sin afectar el proceso de desarrollo, cambio y evolución de la naturaleza. El aprovechamiento de compuestos químicos que en forma natural están contenidos en raíces, corteza, hojas, flores y frutos es una de las alternativas que el productor tiene para sustituir el uso de agroquímicos sintéticos. Estos compuestos naturales pueden emplearse en forma de gases repelentes que libera la misma planta, extractos o polvos. La falta de información, el uso inadecuado y las consecuencias sobre la biodiversidad y la salud humana por el uso de pesticidas sintéticos, hace necesario plantear nuevas formas para el manejo y control de plagas y enfermedades en los cultivos más importantes (1).

En el campo de los pesticidas a base de plantas existe un relativo avance; sin embargo hay poca información sobre el uso sistemático (de las experiencias) y el control de calidad (del uso) de plantas para el manejo y control de enfermedades. Por tal razón fue planteada esta investigación en la que fueron caracterizadas cuatro plantas de uso popular contra hongos fitopatógenos en Guatemala: *Bougainvillea* spp, *Equisetum arvense*, *Wigandia urens* var. *Caracasana* y *Tagetes erecta*. A través del estudio fueron encontradas características micromorfológicas para cada especie y diferentes contenidos fitoquímicos en los que pueden estar los principios activos que les confieren las propiedades contra especies fitopatógenas.

La información aquí generada contribuirá al desarrollo de productos que puedan ser elaborados por los propios agricultores o por empresas locales dedicadas a la comercialización de insumos agrícolas orgánicos; además de la estandarización y el control de calidad de pesticidas naturales, para promover el uso confiable de productos que cumplan con las normas de garantía de calidad que exigen las organizaciones internacionales como la Organización Mundial de la Salud (OMS).

II. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

El control fitosanitario en los agrosistemas del país se caracteriza por el alto uso de insumos sintéticos (pesticidas, herbicidas, insecticidas, etc.), lo que representa cerca del 40% de los costos de producción, incidiendo en lo económico, social y ambiental. De tal forma, para la optimización de los procesos es deseable disminuir los costos, además de utilizar productos poco residuales que causen el menor efecto adverso al ambiente, en especial al suelo y al agua (1).

Por lo anterior, cada vez están siendo realizadas más investigaciones en búsqueda de agentes activos de origen natural que sean efectivos y a la vez amigables con el ambiente. Para la reducción y el manejo de poblaciones de insectos, hongos, bacterias y otros microorganismos, se pueden utilizar fuentes orgánicas provenientes de algunas especies vegetales, que contribuyan al desarrollo sostenible de los cultivos agrícolas. El alto costo de los insumos para el tratamiento y control de enfermedades producidas por hongos y el creciente interés por la aplicación de la agricultura orgánica o ecológica en los sistemas de producción, en especial de pequeños productores, hace necesario el uso de insumos que estén acordes con este sistema de producción. El empleo de extractos vegetales para el control de plagas y enfermedades en el marco de una agricultura sostenible constituye una alternativa promisoría, por su elevada efectividad, bajo costo y su inocuidad al ambiente (1).

Este proyecto forma parte de una iniciativa de la Facultad de Agronomía en colaboración con la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por ampliar el desarrollo de la agricultura orgánica en nuestro país. El estudio ha permitido obtener la información necesaria para la posterior elaboración de monografías farmacopeicas de control de calidad para establecer los estándares que deben cumplirse en la selección de material vegetal adecuado para el control de plagas y enfermedades agrícolas. Una primera fase del estudio fue aprobada por la Dirección General de Investigación (DIGI) por *Martínez Arévalo J. et al.* en el 2005, y aunque actualmente no fue aprobado el presupuesto para la segunda fase, se continúan los esfuerzos de profundizar en el tema (1).

III. ANTECEDENTES

1. Definición de Agricultura Orgánica

La agricultura orgánica es un sistema de producción sostenible que minimiza el impacto ambiental y que procura más bien mantener equilibrio. Entre algunos objetivos que busca la agricultura orgánica se pueden mencionar los siguientes: producir alimentos sanos y accesibles, buscar una mayor utilidad del potencial natural de las plantas, trabajar con el comportamiento natural de los ecosistemas y asegurar la competitividad de la producción de alimentos. Es en estos sistemas donde para el control de plagas y enfermedades se hace uso muchas veces, de las propiedades de algunas especies vegetales (2).

2. Fitopatología

Fitopatología es la ciencia de diagnóstico y control de las enfermedades (patologías) de las plantas. Cubre el estudio de los agentes infecciosos que atacan plantas y desórdenes abióticos o enfermedades fisiológicas, pero no incluye el estudio de daños causados por herbívoros como insectos o mamíferos (2).

3. Fitopatógenos

Los microorganismos fitopatógenos provocan enfermedades en las plantas cultivadas por el hombre, produciendo grandes pérdidas económicas y de rendimiento (2).

4. Hongos fitopatógenos

La mayoría de las aproximadamente 100.000 especies de hongos conocidas son saprófitas; sólo 8.000 pueden causar enfermedades en una o más especies vegetales y tan sólo 100 son patógenas de humanos o animales. Centrándonos en los hongos fitopatógenos, el desarrollo de la enfermedad es el resultado de su interacción con las plantas, según una secuencia de etapas. Algunas de estas etapas, cruciales para el establecimiento de la patología, son:

1. Unión a la superficie de la planta.

2. Germinación sobre dicha superficie y formación de estructuras de infección.
3. Penetración en el huésped.
4. Colonización de los tejidos del huésped.

Muchos hongos patógenos muestran una especificidad hacia el órgano al cual se unen, de forma que normalmente no atacan a todas las partes de la planta hospedadora; algunos colonizan partes aéreas mientras que otros infectan zonas situadas por debajo del suelo. Los hongos patógenos emplean diferentes mecanismos para unirse a la superficie de la planta hospedadora. En cualquier caso, la penetración del hongo en la planta precisa del contacto y la adherencia de las esporas y/o de la primera hifa que resulta de su germinación (tubo germinativo) a la superficie vegetal. Los mecanismos por los cuales este proceso se consigue han sido poco estudiados. Un posible mecanismo consiste en la excreción de enzimas fúngicas tales como cutinasas y estearasas que alteran la superficie vegetal facilitando la adherencia (3).

En la mayoría de los hongos la germinación de las esporas se produce de forma directa, emitiendo uno o varios tubos germinativos. No obstante los hongos zoospóricos germinan de forma indirecta mediante la formación y liberación de zoosporas, o tras la germinación directa de oosporas y zigosporas. El proceso de germinación de las esporas fúngicas se inicia, al igual que en las semillas de las plantas, con la hidratación y aumento de volumen de la espora, la hidrólisis de las reservas energéticas endógenas y la síntesis de proteínas y materiales estructurales de membrana y pared necesarios para la formación y elongación de los tubos germinativos. La germinación de las esporas se ve afectada por una serie de factores endógenos y exógenos (3).

En muchas ocasiones las esporas se encuentran en un estado de dormición o de reposo metabólico, en el que la germinación se ve impedida por varios factores físicos o bioquímicos propios de la espora. La germinación de las esporas que no se encuentran sujetas a dormición se ve influenciada por el agua, la temperatura, la luz, la actividad microbiana y los inhibidores y estimulantes de origen diverso. Las esporas se desplazan hacia la zona de penetración, siendo en muchos casos estos movimientos

orientados quimiotácticamente; tal desplazamiento finaliza con el enquistamiento de la espora y su adherencia a la superficie vegetal. Un proceso similar sucede en la elongación del tubo germinativo de muchos hongos fitopatógenos, que manifiesta una orientación en respuesta a estímulos químicos (quimiotropismo) o de contacto superficial (tigmotropismo). El crecimiento orientado del tubo germinativo requiere su adherencia a la superficie del vegetal, lo cual tiene lugar mediante la producción de una matriz extracelular de polisacáridos o glicoproteínas (3,4).

El siguiente paso en el establecimiento de la infección supone la penetración de los hongos patógenos en sus hospedadores. La penetración puede tener lugar de forma mecánica, por digestión enzimática o a través de aberturas naturales. Dentro de la primera se pueden distinguir a su vez diferentes tipos. Existen algunas especies de hongos que penetran en la planta hospedadora a través de heridas causadas por procesos naturales (caída de hojas, formación de raíces secundarias, etc.) prácticas agrícolas (poda, recolección, etc.) o ataques por insectos. Otros hongos fitopatógenos penetran directamente a través de la superficie intacta de la planta por medio de los tubos germinativos, por medio de apresorios o agregados hifales más complejos que reciben el nombre de cojines de infección. La penetración también puede producirse por digestión enzimática de la cutícula y la pared celular. La producción de cutinasas por parte de determinados hongos juega un papel determinante en la invasión de las plantas, lo que ha quedado demostrado mediante la inhibición de esta enzima con anticuerpos o inhibidores químicos, que ocasionan una reducción de la virulencia del hongo. Por último, algunos hongos penetran en las plantas a través de aberturas naturales como las lenticelas en tallos y frutos y los hidatodos y estomas en las hojas, siendo esta última la ruta más común (3).

La penetración de la cutícula es seguida por un crecimiento subcuticular o intramural que puede en ocasiones verse interrumpido dando lugar a infecciones latentes. Para el crecimiento activo del hongo tras la invasión del tejido es necesario que se establezca una relación parasitaria continuada con el huésped (infección). A partir de la hifa que penetra en la planta se desarrollan las hifas primarias y varias hifas

secundarias filamentosas, que son las encargadas de colonizar el tejido del vegetal por crecimiento intercelular y/o intracelular. La colonización del tejido huésped por crecimiento intercelular de las hifas ramificadas es propio de los hongos biotrofos (mohos, royas, etc.), mientras que el crecimiento intracelular, que a menudo ocasiona la muerte de las células del huésped mediante la secreción de enzimas pectolíticas y de toxinas, es característico de los hongos necrotrofos (3).

Generalmente se acepta que la producción de enfermedades en plantas por hongos fitopatógenos se debe a la acción individual o combinada de cuatro mecanismos de patogénesis. El primero de ellos es la síntesis y liberación de enzimas degradativas de la pared celular, tales como poligalacturonasas, pectato-liasas, hemicelulasas y celulasas, que en ocasiones son liberadas de forma secuencial. Estas enzimas ocasionan la degradación de sustancias pécticas que unen las paredes celulares en los tejidos parenquimáticos y causan ensanchamiento y degradación de la pared celular y muerte de las células. Un segundo mecanismo consiste en la producción de toxinas por parte del hongo, productos no enzimáticos de bajo peso molecular que interfieren en el metabolismo de la planta o que afectan a la estructura normal del protoplasma. Las toxinas pueden pertenecer a dos categorías diferentes: toxinas huésped-específicas, que son aquéllas que muestran la misma especificidad que el patógeno que las produce, y toxinas huésped-no específicas, cuando la gama de plantas sobre las cuales pueden ocasionar fitotoxicidad no está relacionada con las plantas susceptibles al patógeno, causando síntomas inespecíficos. El tercer mecanismo de patogénesis consiste en la producción y liberación de compuestos hormonales, antihormonales y de otro tipo que producen una interferencia en el control normal del crecimiento y desarrollo. Así, se ha observado que en muchos de los síntomas que resultan de la patogénesis provocada por hongos (enanismo, elongación, proliferación celular, etc.) son parecidos a los que se asocian con desarreglos hormonales. El último de los mecanismos es la interferencia mecánica que provoca el crecimiento del hongo en el movimiento normal del agua, nutrientes y metabolitos (4).

5. Clasificación de los Hongos Fitopatógenos

Los hongos que producen enfermedades en las plantas constituyen un grupo diverso y, debido a su abundancia y diversidad, aquí sólo se presentará una clasificación superficial de algunos de los géneros fitopatógenos más importantes (4).

5.1 Hongos inferiores

Clase: **Myxomycetes** (mohos mucilaginosos). Carecen de micelio. Su soma es un plasmodio amorfo y desnudo.

Orden: Physarales. Forman un plasmodio saprofita que produce cuerpos fructíferos costrosos que contienen esporas. Producen zoosporas.

Género: *Fuligo*, *Mucilago* y *Physarum* producen mohos mucilaginosos en plantas de poca altura.

Orden: Plasmodiophorales. Los plasmodios se forman en el interior de las células de las raíces y tallos de las plantas. Producen zoosporas.

Género: *Plasmodiophora*. *P. brassicae* produce la hernia de las crucíferas. *Polymyxa*. *P. graminis* parasita al trigo y a otros cereales. *Spongospora*. *S. Subterranea* produce la sarna polvorienta de los tubérculos de papa.

Clase: **Phycomycetes** (hongos algáceos); hongos inferiores verdaderos.

Subclase: **Chytridiomycetes**. Tienen un micelio redondeado o alargado que carece de septos.

Orden: Chytridiales. Tienen pared celular pero carecen de un micelio verdadero; la mayoría de ellos forma un rizomicelio y producen zoosporas.

Géneros: *Olpidium*. *O. brassicae* parasita las raíces de la col y de otras plantas. *Physoderma*. *P. maydis* produce la mancha parda del maíz.

Synchytrium. *S. endobioticum* produce la verruga de la papa.

Urophlyctis. *U. alfalfae* produce la verruga de la corona de la alfalfa.

Subclase: **Oomycetes** (mohos acuáticos, royas blancas y mildiús). Tienen un micelio alargado. Producen zoosporas en zoosporangios. Las oosporas se forman por la fusión de gametos morfológicamente distintos.

Orden: Saprolegniales. Tienen un micelio bien desarrollado. Las zoosporas se forman en largos zoosporangios cilíndricos que se encuentran fijos al micelio. Forman oosporas.

Género: *Aphanomyces* ocasiona la pudrición de la raíz de varias hortalizas.

Orden: Peronosporales. Los esporangios (por lo común, zoosporangios) se forman en las puntas de las hifas y quedan libres. Forman oosporas.

Familia: Pythiaceae.

Géneros: *Pythium* produce el ahogamiento de las plántulas, pudriciones de semillas y raíces y el tizón algodonoso de los céspedes.

Phytophthora. *P. infestans* produce el tizón tardío de la papa y otras especies producen la mayoría de las pudriciones de la raíz.

Familia: Albuginaceae (royas blancas).

Género: *Albugo*. *A. candida* produce la roya blanca de las crucíferas.

Familia: Peronosporaceae (mildiús)

Géneros: *Plasmopara*. *P. viticola* produce el mildiú de la vid.

Peronospora. *P. nicotianae* produce el mildiú (moho azul) del tabaco.

Bremia. *B. lactucae* produce el mildiú de la lechuga.

Sclerospora: *S. graminicola* produce el mildiú de las gramíneas.

Pseudoperonospora. *P. cubensis* produce el mildiú de las cucurbitáceas.

Subclase: **Zygomycetes** (mohos del pan). Hongos terrestres. Producen esporas asexuales no móviles en esporangios. No forman zoosporas. Su espora de resistencia es una zigospora que se forma por la fusión de un par de gametos morfológicamente idénticos.

Orden: Mucorales. Producen zigosporas. Las esporas asexuales no móviles se forman en esporangios terminales.

Géneros: *Rhizopus* produce la pudrición blanda de los frutos y hortalizas.

Choanephora. *C. cucurbitarum* produce la pudrición blanda de la calabaza.

5.2 Hongos superiores

Clase: **Ascomycetes** (hongos de saco). Producen grupos de ocho esporas asexuales, denominadas ascosporas, en el interior del asca.

Subclase: **Hemiascomycetes**. Con ascas desnudas que no se forman en ascocarpos.

Orden: Taphrinales. Las ascas se forman a partir de células ascógenas binucleadas.

Género: *Taphrina*. Produce el enrizamiento de las hojas del durazno, abolsamiento del ciruelo, la verruga foliar del roble, etc.

Subclase: **Euascomycetes**. Las ascas se forman en ascocarpos.

Serie: **Pyrenomycetes** (hongos periteciales). Las ascas se forman en cuerpos fructíferos totalmente cerrados (cleistotecios) o en cuerpos fructíferos que presentan una abertura (peritecios).

Orden: Erysiphales (cenicillas). El micelio y los cleistotecios se forman sobre la superficie de la planta hospedera.

Géneros: *Erysiphe* produce la cenicilla de las gramíneas.

Microsphaera; una especie produce la cenicilla de la lila.

Podosphaera. *P. leucotricha* produce la cenicilla del rosal y del durazno.

Uncinula. *U. necator* produce la cenicilla de la vid.

Orden: Sphaeriales. Los peritecios poseen paredes firmes y colores oscuros.

Géneros: *Ceratocystis*. *C. ulmi* produce la enfermedad del olmo holandés.

Diaporthe produce el tizón de la vaina del frijol, la melanosis de los cítricos y la pudrición del fruto de la berenjena.

Endothia. *E. parasitica* produce el tizón del castaño.

Glomerella. *G. cingulata* produce muchas antracnosis y la pudrición amarga del manzano.

Gnomonia produce la antacnosis o mancha foliar de varias plantas.

Rosellinia produce las enfermedades de la raíz de la vid y de los árboles frutales.

Valsa produce el cáncer del durazno y de otros árboles.

Xylaria produce el cáncer de los árboles y la pudrición de la madera.

Orden: Hypocreales. Los peritecios son de colores claros, rojos o azules.

Géneros: *Claviceps*. *C. purpurea* produce el cornezuelo del centeno.

Gibberella ocasiona la pudrición del pie o tallo del maíz y de pequeños granos.

Nectria produce el cáncer del tallo y ramas de los árboles.

Serie: **Pseudosphaeromycetes** (hongos ascostromáticos). Presentan estromas en forma de peritecio que presentan ascas en cavidades separadas o en grandes cavidades.

Orden: Myriangiales. Con cavidades dispuestas a varios niveles y que contienen ascas individuales.

Género: *Elsinoe* produce las antracosis de la vid y de la frambuesa y la sarna de los cítricos.

Orden: Dothideales. Con cavidades dispuestas en una capa basal, las cuales contienen muchas ascas. Los peritecios carecen de pseudoparafisas.

Géneros: *Dibotryon*. *D. morbosum* produce la nodulación negra e las ramas en cerezos y ciruelos.

Dithidella. *D. ulei* ocasiona la mancha foliar de los árboles del caucho.

Guignardia. *G. bidwellii* produce la pudrición negra de las uvas.

Mycosphaerella produce las manchas foliares de muchas plantas.

Orden: Pleosporales. Con cavidades dispuestas en una capa basal, las cuales contienen muchas ascas. Los peritecios presentan pseudoparafisas.

Géneros: *Ophiobolus*. *O. graminis* produce la enfermedad del pie del trigo.

Physalospora. *P. obtusa* produce la pudrición negra de las manzanas.

Venturia. *V. inaequalis* ocasiona la roña de la manzana.

Serie: **Discomycetes** (hongos de copa). Las ascas se forman en la superficie de apotecios carnosos en forma de copa o de plato.

Orden: Helotiales. Las ascas liberan sus esporas a través de una perforación apical y circular.

Géneros: *Coccomyces*. *C. hiemalis* produce la mancha foliar del cerezo.

Diplocarpon. *D. rosae* produce la mancha negra de las rosas.

Lophodermium produce el tizón de las agujas del pino.

Monilinia. M. fructicola produce la mancha parda de los frutos de hueso.

Rhystisma. R. acerium produce la mancha alquitranada de las hojas del arce.

Sclerotinia. S. sclerotiorum produce la pudrición blanda aguanosa de las hortalizas.

Orden: Pezizales. Las ascosporas se liberan a través de una estructura en forma de tapa o cápsula que se localiza en la punta del asca.

Género: *Pseudopeziza. P. medicaginis* produce la mancha foliar de la alfalfa.

Clase: **Fungi imperfecti o Deuteromycetes** (hongos asexuales). Carecen de estructuras o reproducción sexuales o no se sabe que las presenten.

Orden: Sphaeropsidales. Las esporas asexuales se forman en picnidios.

Géneros: *Ascochyta. A. pisi* produce el tizón del chícharo.

Coniothyrium produce el tizón del tallo de la frambuesa.

Cytospora ocasiona el cáncer del durazno y otros árboles.

Diplodia. D. zae produce la pudrición del tallo y la mazorca del maíz.

Phoma. P. lingam ocasiona la pierna negra de las crucíferas.

Phomopsis produce el tizón y el cáncer del tallo de varios árboles.

Phyllosticta produce las manchas foliares de muchas plantas.

Septoria. S. apii produce el tizón tardío del apio.

Orden: Melanconiales. Las esporas asexuales se forman en un acérvulo.

Géneros: *Colletotrichum* ocasiona la antracnosis de muchas plantas de cultivo. *Coryneum. C. beijerincki* produce el tizón de los frutos de hueso.

Cylindrosporium produce manchas foliares en muchas clases de plantas.

Gloeosporium muy parecido (si no idéntico) a *Colletotrichum*; produce antracnosis en muchas plantas.

Marssonina ocasiona el tizón de las ramas y hojas del álamo, la quemadura de las hojas de fresa y la antracnosis de los nogales.

Melanconium. M. fuligenum produce la pudrición amarga de la vid.

Sphaceloma produce la antracnosis de la vid y de la frambuesa y la sarna de los cítricos del aguacate.

Orden: Moniliales. Las esporas asexuales se forman sobre las hifas (o en su interior) del hongo que se encuentran expuestas libremente a la atmósfera.

Géneros: *Alternaria* produce manchas foliares y tizones en muchas plantas.

Aspergillus produce la pudrición de las semillas almacenadas.

Botrytis. *B. cinerea* produce el moho gris y los tizones de muchas plantas.

Cercospora; una especie de este género produce el tizón temprano del apio.

Cladosporium. *C. fulvum* produce el moho de las hojas del tomate.

Fusarium produce el marchitamiento y la pudrición de la raíz de muchas plantas anuales, así como el cáncer de árboles forestales.

Fusicladium produce la roña de la manzana

Graphium. *G. ulmi* produce la enfermedad del olmo holandés

Helminthosporium produce el tizón de los cereales y enfermedades de los céspedes.

Penicillium produce la pudrición de los frutos y otros órganos carnosos debido a los mohos azules.

Phymatotrichum. *P. omnivorum* produce la pudrición de la raíz del algodón y otras plantas.

Pyricularia produce el tizón del arroz y la mancha gris foliar de los céspedes.

Strumella produce el cáncer del roble.

Thielaviopsis. *T. basicola* produce la pudrición negra de la raíz del tabaco.

Verticillium produce la marchitez de muchas plantas anuales y perennes.

Orden: Mycelia Sterilia. No se ha observado o es muy poco frecuente la formación de esporas asexuales o sexuales en este grupo de hongos.

Géneros: *Rhizoctonia* produce las pudriciones de la raíz de la corona de las plantas anuales y mancha parda de los céspedes.

Sclerotium produce las pudriciones de la raíz y del tallo de muchas plantas.

Clase: **Basidiomycetes** (hongos en forma de mazo). Las esporas sexuales, denominadas basidiosporas o esporidios, se forman externamente sobre una estructura (denominada basidio) constituida por una o cuatro células.

Subclase: **Heterobasidiomycetes** (royas y carbones). El basidio presenta septos y equivale al promicelio de una teliospora. Estas se encuentran solas o se unen a manera de columnas o costras, permaneciendo en los tejidos del hospedero o interrumpiendo a través de su epidermis.

Orden: Ustilaginales. La fecundación se efectúa mediante la fusión de esporas, hifas, etc., que sean compatibles. Sólo producen teliosporas.

Género: *Sphacelotheca*; varias especies de este género producen el carbón volador del sorgo.

Tilletia; varias especies producen el añublo o carbón apestoso del trigo.

Urocystis. *U. cepulae* produce el carbón de la cebolla.

Ustilago produce el carbón el maíz, trigo, cebada, etc.

Orden: Uredinales. Las células espermáticas denominadas espermacios o picniosporas fecundan a las hifas receptoras especializadas que contienen los espermagonios (picnidios). Producen aeciosporas, uredosporas (esporas repetidoras), teliosporas y basidiosporas.

Géneros: *Cronartium*. *C. ribicola* produce la roya vejigosa blanca del pino.

Gymnosporangium. *G. juniperi-virginianae* produce la roya del manzano cedro.

Melampsora. *M. lini* produce la roya del lino.

Phragmidium; una de sus especies produce la roya de las rosas.

Puccinia; varias especies producen la roya de los cereales.

Uromyces. *U. phaseoli* produce la roya del frijol.

Subclase: **Homobasidiomycetes** (hongos de la pudrición de la raíz y de la descomposición de la madera). Basidios sin septos. El basidiocarpo puede o no estar presente. Incluyen las setas, los hongos repisa, los bejines, etc.

Serie: **Hymenomycetae**. Los basidios se forman en un himenio que se expone al aire antes de que las esporas se desprendan de los esterigmas.

Orden: Exobasidiales. Carecen de basidiocarpos: los basidios se forman sobre la superficie de los tejidos parasitados del hospedero.

Géneros: *Corticium*; una de sus especies produce la enfermedad del filamento rojo de los céspedes.

Exobasidium produce agallas en tallo, hojas y flores de las plantas e ornato.

Orden: Polyporales. El himenio reviste las superficies de pequeños poros o tubos.

Géneros: *Fomes* produce la pudrición del corazón de muchos árboles.

Pellicularia (*Sclerotium*) produce las pudriciones del tallo y la raíz de muchas plantas.

Polyborus produce las pudriciones del tallo y de la raíz de muchos árboles.

Poria produce las pudriciones de la madera y de la raíz de árboles forestales.

Stereum produce la descomposición de la madera y la enfermedad de la hoja plateada de los árboles.

Thanatephorus (*Rhizoctonia*) produce pudriciones del tallo y la raíz de muchas plantas anuales y mancha parda de los céspedes.

Typhula; una de sus especies produce el moho nevado o tizón de los céspedes.

Orden: Agaricales. El himenio se localiza sobre barbas irradiantes o laminillas.

Géneros: *Armillaria*. *A. mellea* produce pudrición de las raíces de árboles frutales y forestales.

Lenzites produce la pudrición parda de las coníferas y la descomposición de los productos de la madera.

Marasmius produce la enfermedad anular falsa de los céspedes.

Peniophora produce la descomposición del tronco y la madera de pulpa de las coníferas.

Pholiota produce la pudrición parda e la madera de árboles forestales deciduos.

Pleurotus produce la pudrición blanca de la mayoría de los árboles forestales deciduos.

Schizophyllum produce la pudrición blanca de los árboles forestales deciduos.

6. Material botánico

El alto costo de los insumos para el tratamiento y control de enfermedades producidas por hongos y el creciente interés por la aplicación de la agricultura orgánica o ecológica en los sistemas de producción, en especial de pequeños productores, hace necesario el uso de insumos que estén acordes con este sistema de producción. En la agricultura moderna se busca obtener un máximo beneficio reduciendo costos y utilizando productos poco residuales que causen el menor efecto al ambiente en especial al suelo y agua; por lo que se hace búsqueda de agentes activos de origen natural que sean efectivos y a la vez amigables con el ambiente. Por lo que la selección y aplicación de estas plantas (*Bougainvillea* spp, *Equisetum arvense*, *Wigandia urens* var. *Caracasana* y *Tagetes erecta*) como fungicidas agrícolas constituye una alternativa promisoría, ya que son efectivas, se encuentran fácilmente en todo el país, tienen bajo costo y no contaminan el ambiente. Las mismas fueron seleccionadas de acuerdo a las encuestas de campo realizadas por la ejecución del proyecto: "Detección de plantas utilizadas para el manejo y control de enfermedades fungosas en los principales cultivos alimenticios y evaluación preliminar de su actividad in vitro con miras a la formulación de fungicidas orgánicos." (Anexo No. 1) (1).

6.1 *Bougainvillea* spp.

6.1.1 Descripción taxonómica

- a) Reino: Plantae
- b) División: Magnoliopsida
- c) Clase: Magnoliophyta
- d) Subclase: Caryophyllidae.
- e) Orden: Caryophyllales
- f) Familia: Nyctaginaceae
- g) Género: *Bougainvillea*
- h) Especie: *Bougainvillea glabra choisy*
- i) Nombres comunes: bugambilia, bugambilias, Santa Rita (Argentina, Bolivia, Paraguay y Uruguay), veranera (Colombia), trinitaria, veraneras, flor de papel, enredadera de papel, buganvilia, buganvil, santarrita, camelina, buganvilla, tres marías, ceboleiro, primavera, "espino de Santa Rita" (Brasil) y Ye zi hua (China).
- j) Sinónimos: Bombilia, Camelina, Gutembilla, Jerusalén, Napolón, Pompilia y Veranera (5).

6.1.2 Descripción Botánica

Es un arbusto perenne, espinoso, ramoso, de crecimiento rápido, puede alcanzar 10 m; no trepa, se apoya, no cuenta con zarcillos. Hojas alternas, pecioladas, anchamente ovadas a ovadolanceoladas, 4-10 cm de largo, gradual o abruptamente agudas o acuminadas; puberulentas cuando jóvenes pero luego glabras. Flores blanco cremosas, 14mm de largo; brácteas de vistosos colores (morado, rojo, rosado, anaranjado o blancas), anchamente ovadas a ovals, 2.5 - 4.5 cm de largo, algunas veces acuminadas, puberulentas o glabra. Fruto de 7 – 13 mm de largo, puberulento o glabro (6).

6.1.3 Hábitat

Planta originaria de Brasil, que habita en climas cálidos, semicálidos, semisecos, muy secos y templados, desde el nivel del mar hasta los 1100 msnm, y de los 2240 a

los 2700 msnm. Se cultiva en huertos familiares circundados por bosques tropicales caducifolios, subcaducifolios y perennifolios, matorral xerófilo, bosques mesófilos de montaña, de encino, de pino, mixto de pino-encino y de juníferos. Es caducifolia en regiones templadas, y persistentes en tropicales. En las zonas tropicales de América del Sur, florece todo el año, y casi todo el año en países con estaciones, especialmente en los meses de verano (Anexo No. 2) (6).

6.1.4 Agricultura

Las flores y hojas tiernas se obtienen por recolección en los cultivos que con fines ornamentales o de cerco vivo existen en varias regiones del país. La propagación se hace por estacas que se enraízan en bolsas con buena tierra. A los 3 – 4 meses están listas para el trasplante al terreno definitivo, un suelo franco bien drenado, soleado y de clima caliente o templado. Se siembra como cerco vivo o dividiendo los campos de cultivo, de preferencia con un soporte para la enredadera, ya que esta crece abundantemente. Florece en primavera, verano, hasta el otoño. Para nada destacan sus flores, sino sus esplendorosas brácteas, que envuelven a las flores (6,7).

6.1.5 Composición

En las brácteas de *Bougainvillea glabra* se han detectado dos alcaloides de indol, los diglucosil rutinósidos de la betanidina, e iso-betanidina y 16 compuestos heterocíclicos de nitrógeno no alcaloideo, las bougainvilleas I al XVI. En las hojas se ha detectado el benzenoide ácido gentísico (6).

6.1.6 Usos en la Agricultura

Bougainvillea se conoce que tiene propiedades insecticidas contra el gorgojo del arroz (*Sitophilus orizae*). El extracto de las flores de la *Bougainvillea* se ha reportado que muestran cierta toxicidad contra los escarabajos de *Callosobruchus chinensis* y *C. maculatus*, demostrado por pruebas en el laboratorio. Para preparar el insecticida se mezclan 200 gramos de hojas frescas por litro de agua; luego se mezcla por lo menos 5 minutos en una mezcladora. Se usa contra varias enfermedades víricas que afectan a los tomates y a los frijoles (Anexo No. 3-4) (7-9).

6.1.7 Otros usos populares

Esta planta se utiliza en todo el país para afecciones respiratorias como tos, causada por el calor en el mes de mayo o por el frío de diciembre y enero. Las flores (brácteas) son la parte de la planta más utilizada y su preparación en conocimiento, que se administra por vía oral, es la forma de empleo más generalizada. Esta planta es capaz de resistir todos los climas, especialmente los cálidos y secos. Produce toda gama de colores en sus "flores", que en realidad no lo son, sino hojas modificadas, por lo que se considera una planta ornamental (6).

6.2 *Equisetum arvense*

6.2.1 Descripción taxonómica

- a) Reino: Plantae
- b) División: Sphenophyta
- c) Clase: Equisetopsida
- d) Orden: Equisetales
- e) Familia: Equisetaceas
- f) Género: *Equisetum*
- g) Especie: *Equisetum arvense*
- h) Nombres comunes: Canutillo, Carricillo, Chicote de fraile, Hierba de platero, Limpiaplata, Bottlebrush plant, Shave grass, Scouring rush.
- i) *Sinónimos*: *Equisetum hiemale* L; *Equisetum maximum* L; *Equisetum telmateia* L; *Equisetum riparium* Fr. [1843]; *Equisetum campestre* Schultz [1819]; *Equisetum boreale* Brongn. [1831]; *Equisetum arcticum* Rupr. [1845]; *Presla arvensis* (L.) Dulac [1867, Fl. Hautes-Pyr.: 26]; *Allostelites arvense* (L.) Börner

6.2.2 Descripción Botánica

Planta rizomatosa de hasta 60 cm. Tallos erectos marrón pálido, huecos y duros, muy ásperos al tacto que crecen a partir de rizomas muy vigorosos. Aparecen antes que los fértiles. Tallos fértiles de hasta 30 cm, terminados en cabezuela (estróbilos) donde se encuentran los esporangios, desde donde se dispersan las esporas y que le dan al conjunto el aspecto de un espárrago. Tallos estériles más altos que los fértiles, estriados, con hojas muy características (micrófilos) que se agrupan en los verticilos y

cuyos bordes están unidos unas a las otras. Tallos más delgados que surgen a partir de los verticilos y formadas por una sucesión de apéndices cada vez más delgados en cuyos nudos aparecen en 4 estrías en forma de rayos de paraguas (6,10).

E. giganteum tiene raíz expandida, tallo erecto, verde, 4 cm de grueso, hasta 9m de altura, con 20-40 ranuras, unidas por placas barbadadas en cada junta, ramas numerosas, esparcidas en cada junta. Ramas fértiles con 6 a 8 ranuras y con una cabezuela conteniendo esporas. *E. hyemale* tiene un tallo siempre verde, 0.5-1.0 m de alto, hinchado en los nodos, rugoso una sola rama; hojas reducidas a fundas, 10-30 dientes, puntas terminales de 8-15 mm de largo (6, 11,12).

6.2.3 Hábitat

Algunas de las especies son nativas de Asia y Europa, aunque se han convertido en cosmopolita (*E. arvense*) y otras son nativas de América desde México hasta Argentina; crecen en lugares húmedos, arenosos y pantanosos, taludes, bordes de caminos, pedregales, hasta 2,000 mm, aunque también se presentan en algunas islas del Caribe. En Guatemala se han descrito en casi todo el país, pero principalmente en el Altiplano (Anexo No. 2) (6).

6.2.4 Agricultura

Crece en forma silvestre en regiones húmedas y templadas del país por lo que su producción es principalmente por recolección, aunque hay pequeñas zonas manejadas. Se sugiere iniciar su conservación, manejo, domesticación y cultivo para garantizar su abastecimiento. La propagación es a través de cortes del rizoma o espora. Los tallos y hojas se usan frescos o secos (Anexo No. 3-4) (6).

6.2.5 Composición

Cola de caballo es rica en ácido silícico y los silicatos, que proporcionan el 2-3% aproximadamente del silicio elemental. El potasio, el aluminio, y el manganeso junto con quince diversos tipos de bioflavonoides se encuentran en la hierba. Se piensa que la presencia de estos flavonoides, así como de saponinas, es la causa de su efecto

diurético, mientras que su contenido de silicio podría fortalecer el tejido conectivo y tener un efecto antiartrítico. Algunos expertos sugieren que el silicio elemental es un componente esencial para la formación de hueso y cartílago (6).

Sus componentes son: campesterol, equisetrina, equisetonina, tiamisina; Ácidos: ascórbico, féulico, salicílico, málico, caféico, gálico, péctico, tánico; alcaloides: nicotina, palustrina, equispermina; Aminoácidos: niacina, fibra y minerales tales como: magnesio, silicio, sílice, selenio, calcio, hierro, manganeso, fósforo, potasio, aluminio, cinc, cromo y cobalto (6, 12).

6.2.6 Usos Agronómicos

La cola de caballo tiene una actividad insecticida contra *Pieris rapae* y contra los insectos de la familia *Aphididae* (mejor conocidos como pulgones). Además tiene actividad en el control del tizón tardío (*Phytophthora infestans*) en el cultivo de tomate (*Lycopersicum esculentum*) (11-16).

Es un insecticida ecológico, ya que el líquido resultante de las decocciones bien concentradas de la cola de caballo puede utilizarse para combatir los insectos antes mencionados. Para ello debe realizarse una decocción al 10% de la planta (En 10 Lts. de agua se hierve 1 Kg. de cola de caballo fresca (o 150 Grs. en polvo) durante 20 a 30 minutos. Luego de enfriado se agrega 1% de silicato sódico para elevar la adherencia.) con la que luego se fumigaran los productos de la huerta, árboles frutales, etc. Su poder para eliminar los hongos y otros insectos aumenta si se combina al 50% con el purín de ortigas (Dejar reposar 200 gr de ortigas en un litro de agua durante 4 días. Tomar del líquido restante y añadir un 80 a 90% más de su peso en agua) (Anexo No. 3) (8, 9-11, 15, 16).

6.2.7 Otros usos populares

Por su alto contenido de sílice y aspecto áspero, la planta se usa para pulir metales y para tanizar cuero, así como para pulir madera. Se usa por vía oral para tratar afecciones gastrointestinales (colitis, diarrea, disentería, diverticulitis, flatulencias,

hemorroides, inflamación anal, tifoidea), respiratorias (amigdalitis, asma, catarro, gripe, pólipos nasal, tos, tuberculosis) y genitourinarias (cistitis, disuria, flujo, gonorrea, hemorragia, hidropesía, inflamación renal, prostatitis, litiasis, retención urinaria, uremia, uretritis, vaginitis), aterosclerosis, diabetes, reumatismo, taquicardia, vértigo, hipertensión, tumores y cáncer. El cocimiento se aplica tópicamente en lavados, gargarismos, enjuagues o cataplasma para evitar la caída del cabello y para lavar abscesos, alergia, heridas, quemaduras, otitis, úlceras, tumores, callosidades, urticaria, tinea y pólipos. La raíz se usa en bebés para aliviar las molestias de la dentición (6,12).

6.3 *Wigandia urens* var. *Caracasana*

6.3.1 Descripción taxonómica

- a) Reino: Plantae
- b) Subreino: Tracheobionta
- c) Superdivision: Spermatophyta
- d) División: Magnoliophyta
- e) Clase: Magnoliopsida
- f) Subclase: Asteridae
- g) Orden: Solanales
- h) Familia: Hydrophyllaceae
- i) Género: *Wigandia* Kunth
- j) Especie: *Wigandia urens* (Ruiz y Pav) Kunth
- k) Variedad: *Wigandia urens* (Ruiz & Pav.) Kunth var. *caracasana* (Kunth) D. Gibson
- l) Nombres Comunes: Chichicaste, Chichicaste de caballo, Mata pulga, Borrajón, Chocón de costa, Hoja de San Pablo, Ortiga, Ortiga de montaña, Ortiga de Tierra Caliente, Palo de San Pablo, Cimarrón, Chocón, Tabaquillo.
- m) Sinónimos: *Wigandia caracasana* H.B.K.; *W. kunthii* Choisy; *W. scorpioides* Choisy.

6.3.2 Descripción botánica

Planta muy desarrollada, subleñosa. Herbácea de hojas grandes de 2-5 metros de alto, tallo con pelusilla blanca. Hojas alternas, grandes, ovaladas obtusas y bicrenadas en el margen, tallo acanalado hispido, 5-60 cm de largo, indentado en la base, agujas en el pecíolo. Flores sésiles, moradas acapanadas de 1-2 cm de ancho, 5 estambres, cáliz persistente, hispido, estigma en clava; ovarios ovoides sedosos, panículas terminales de 50-60 cm de largo. Inflorescencia: se disponen sobre ejes (cuyo ápice tiende a enroscarse) que pueden estar ramificados y se ubican generalmente hacia las puntas de los tallos. Cápsula oblongo-conica, 8 mm de largo, bivalva. Semillas numerosas, pequeñas, rugosas de color café (17).

6.3.3 Hábitat

Se encuentra en sitios áridos, en los barrancos asoleados de la tierra templada, aunque algunas veces llega hasta cerca de la costa. Nativa de México a Perú a 70-3000 msnm. En Guatemala se encuentra en Alta Verapaz, Chimaltenango, Guatemala, Huehuetenango, Quetzaltenango, Quiché, Sacatepequez, Sam Marcos y Santa Rosa. Distribución por tipo de zonas bioclimáticas: Bosque de pino-encino, bosque mesófilo, selva baja caducifolia, matorral xerófilo. Distribución por altitud: Para el Valle de México de los 2250 a los 2600 m. En Guatemala de los 70 a los 3000 m. Para Nicaragua de los 20 a los 1600 m (Anexo No. 2) (18).

6.3.4 Agricultura

En Nicaragua florece y fructifica de octubre a mayo. En México florece y fructifica casi todo el año, pero principalmente de noviembre a abril (18).

6.3.5 Usos medicinales atribuidos

La infusión de hojas y flores se utiliza como antidiarreico, inapetencia e indigestión, retención urinaria, reumatismo, nerviosismo y tos ferina. A la raíz se le atribuyen propiedades diuréticas, febrífugas y sudoríficas. Se ha empleado contra afecciones sifilíticas, reumatismo e insomnio (19).

6.3.6 Farmacología

El tamizaje antibacteriano demuestra que la tintura de las hojas tiene actividad contra *Salmonella typhi*. Se confirma la actividad contra *S. typhi*, *S. pneumoniae* y *S. pyogenes*, los mejores solventes son etanol y acetona. La concentración inhibitoria mínima en disco es de 1.25 mg para *S. pyogenes* y 5 mg para *S. typhi* (19).

6.3.7 Otros usos populares

Tiene usos ceremoniales y religiosos. Se cultiva ocasionalmente como ornamental. Dado su carácter de planta pionera, se ha propuesto como especie inicial para la recuperación de suelos (19).

6.4 *Tagetes erecta*

6.4.1 Descripción taxonómica

- a) Reino: Plantae
- b) Subreino: Tracheobionta
- c) Superdivision: Spermatophyta
- d) Division: Magnoliophyta
- e) Clase: Magnoliopsida
- f) Subclase: Asteridae
- g) Orden: Asterales
- h) Familia: Compositae
- i) Género: *Tagetes*
- j) Especie: *Tagetes erecta* L.
- k) Nombres Comunes: Apátsicua (lengua tarasca), cempoalxóchitl (lengua náhuatl), guie'biguá, guie'coba, picoa, quiepi-goá (lengua zapoteca), kalhpu'xa'm (lengua totonaca), ita-cuaan (lengua mixteca), jondri (lengua otomí), musá, musajoyó (lengua zoque), tinguini (lengua tarasca), cempaxúchil y xumpatsnchitl (20).

6.4.2 Descripción botánica

Planta erecta, de hasta hasta 1.8 m de alto; con un tallo estriado, a veces acostillado, glabro o pubescente. Las hojas están opuestas en la parte inferior, alternas en la parte superior; de hasta 20 cm de largo, pinnadas, de 11 a 17 folíolos, lanceolados a linear-lanceolados, de hasta 5 cm de largo y 1.5 cm de ancho, agudos a acuminados, aserrados a subenteros, los inferiores de cada hoja frecuentemente setiformes (en forma de hilos), los superiores reducidos, a veces completamente setiformes; con glándulas redondas abundante (16, 20).

Cabezuelas solitarias o agrupadas por varias, sobre pedúnculos de hasta 15 cm de largo, provistos de brácteas pinnadas con segmentos cerdiformes en el ápice. Cabezuela/Flores: Cabezuela con involucre campanulado, de 13 a 20 mm de alto y 9 a 25 mm de ancho, con 5 a 11 brácteas, glabras y de ápices triangulares, con dos hileras de glándulas. Flores liguladas: 5 a 8, o más frecuentemente numerosas, amarillas a rojas, sus láminas oblanceoladas a obovadas de 1 a 2 cm de largo. Flores del disco: 150 a 250 en las cabezuelas sencillas, en las "dobles" muestra diferentes grados de transformación en lígulas, corolas amarillas a anaranjadas, de 8 a 10 mm de largo. Aquenios lineares de 7 a 10 mm de largo, glabros o hispídulos en los ángulos, vilano de 1 o 2 escamas acuminadas de 6 a 12 mm de largo y 2 o 3 escamas romas de 3 a 6 mm de largo, más o menos unidas entre sí. Tiene una raíz fibrosa. Muy aromática al estrujarse. En algunas regiones también se encuentran formas rellenas asilvestradas. (16, 20)

6.4.3 Agricultura

Vegetación perturbada, ruderal y arvense. Distribución por tipo de zonas bioclimáticas. Las formas silvestres se encuentran principalmente en la región de la selva baja caducifolia (Anexo No. 2) (21).

6.4.4 Características farmacológicas:

El cempaxúchil (*Tagetes erecta*) es una planta originaria de México; en sus flores se acumula el carotenoide llamado luteína. Los extractos de éstas se utilizan como

aditivo en la elaboración de alimento para aves y peces con el fin de intensificar la pigmentación de su piel. De manera natural existen mutantes, distintas genéticamente, que presentan diferentes coloraciones que van desde el blanco hasta el anaranjado intenso. Esta diferencia en la coloración de las flores se debe principalmente a la presencia de cantidades variables de luteína. Además, los extractos de las diferentes partes de la planta tienen actividad nematocida, fungicida e insecticida. Estas características se deben a los aceites esenciales presentes en la planta y hacen al cempaxúchil un excelente sistema para el estudio de los diferentes compuestos que sintetiza (Anexo No. 3-4) (22, 23).

7. Control de Calidad de la materia vegetal

La calidad es un requisito básico, no solo por su significación intrínseca, sino porque constituye la base sobre la que reposa la reproducibilidad de los parámetros de seguridad y eficacia. Los fitofármacos generalmente constituyen sistemas complejos, mucho más difíciles de caracterizar que con un compuesto puro, sea sintético o natural, debido a que generalmente no se conocen las sustancias responsables de la actividad farmacológica o ésta es producida por diversas sustancias. Por lo tanto, el control de calidad para la materia vegetal se basa en el establecimiento de tres propiedades: identidad, pureza y actividad (24,25).

7.1 Identidad

Se refiere a la confirmación de la identidad del material vegetal. Puede hacerse por comparación del material con los especímenes de herbario de la casa manufacturadora. En otros casos, la confirmación puede basarse en la inspección visual o microscópica del material vegetal y comparada con las monografías de la farmacopea o con literatura de estándares (24,25).

7.1.1 Evaluación organoléptica

Se refiere a la evaluación del material vegetal por medio de los órganos de los sentidos, olor, gusto, tacto, fractura y ocasionalmente el sonido o chasquido (25).

7.1.2 Micromorfología

El examen microscópico revela detalles significativos no sólo para confirmar la identidad de la planta sino también para identificar la naturaleza de adulterantes mezclados, intencionalmente o no, en la droga. Estos caracteres se detallan en la elaboración de cartillas micrográficas de identificación, en la cual se dibujan a mano las diferentes estructuras que diferencian a la planta o le atribuyen su actividad terapéutica (24,25).

7.1.3 Reacciones de Identificación

Entre las pruebas histoquímicas que podemos realizar se encuentran: la detección de paredes celulósicas, lignificadas, suberificada y cutículas, la presencia de granos de almidón, granos de aleurona, cristales de carbonato y oxalato de calcio, grasas, aceites volátiles, resinas, mucílagos, taninos, etc (24,25).

7.1.4 Perfil cromatográfico

El análisis se lleva a cabo para los constituyentes activos principales siguientes: alcaloides, flavonoides, antraglicósidos, saponinas, arbutina, aceites esenciales, glicósidos, cardiotónicos, cumarinas y ácidos fenolcarboxílicos, principios amargos y valepotriatos (25).

7.2 Pureza

El análisis de pureza nos permitirá determinar la ausencia de contaminantes químicos, biológicos y físicos. Las drogas crudas en su forma entera son más difíciles de adulterar que las pulverizadas. La cantidad de materia extraña presente en las drogas pulverizadas puede ser determinada por diferentes métodos (24,25).

7.2.1 Humedad

La cantidad de agua que posee la droga cruda es importante conocerla, porque permite saber si el secado del material vegetal fue el idóneo para conservar la calidad de la droga y prevenir el enmohecimiento, la acción de las enzimas y de las bacterias. El contenido de humedad de las drogas es variable porque la mayor parte son

higróscopicas en mayor o menor intensidad. El método empleado es el de la pérdida por desecación, que consiste en someter la muestra al calor de una estufa a 100°C hasta peso constante. Las drogas crudas que contengan aceites esenciales, éteres u otros compuestos volátiles requieren de métodos especiales (24,25).

7.2.2 Cenizas

Es el residuo de la mineralización de la droga. El residuo originado por los elementos inorgánicos que estén presentes en la planta puede designarse como "ceniza fisiológica". Varía entre límites definidos de acuerdo con el tipo de suelo y su valor puede ser alterado con tierra, arena u otras drogas. La proporción de ceniza insoluble en ácido clorhídrico es la ceniza insoluble en ácidos y es una medida de la arena existente en la droga. Este valor es más importante como medida de la calidad de la droga que la ceniza fisiológica (24).

7.2.3 Materia orgánica extraña

Se determina retirando todas las partes de la muestra que no deben estar presentes. (tallos, peciolas y lo que sea, y pesándolas (24).

7.2.4 Materia volátil

Son los aceites volátiles presentes en drogas como menta, orégano, albahaca y otras, su contenido puede ser determinado por destilación a vapor como un parámetro importante de calidad (24).

7.2.5 Contaminación microbiana

Las plantas medicinales normalmente llevan un gran número de bacterias, hongos o insectos, a menudo del suelo. Los límites microbiológicos en el caso de las drogas vegetales han sido sobreenfatizados. Los límites aplicables a los comestibles son aplicados a las drogas vegetales, a pesar que considerando la cantidad de droga consumida no se justifica poniéndolo a la par de los comestibles. Constituyen un problema durante el almacenamiento (24,25).

7.2.6 Fibra cruda

Es una medida del contenido de celulosa, lignina y corcho en los tejidos de la planta (24).

7.2.7 Materia extractiva

Muchas veces se tienen drogas de buena calidad mezcladas con extractos de drogas adulteradas. Esta adulteración puede ser detectada por el color y el contenido de materia extractiva. Un contenido excesivo de estas últimas indica impurezas. Existen diversos métodos para detectarlas, entre ellos tenemos: macromorfología, micromorfología e histoquímica, mediciones lineales microscópicas, luz ultravioleta, ensayos químicos cuantitativos y solubilidades (24,25).

7.3 Actividad

Consiste en el análisis de los componentes activos o de marcadores. La calidad de la droga vegetal depende del contenido de los constituyentes activos, lo cual depende de numerosos factores que afectan a la calidad de la droga cruda. Cuando los constituyentes activos se conocen con certeza, debe analizarse la cantidad de estos constituyentes. Sin embargo, en muchos casos, la información de estos constituyentes es incompleta o los componentes activos no son conocidos del todo (24).

7.3.1 Métodos físicos o químicos.

Los métodos químicos empleados en el análisis de drogas puras son del mismo tipo que los usados para compuestos químicamente puros (gravimetría, hidrovolumetría, colorimetría, espectrofotometría, cromatografía, etc.), pero en muchos casos debe primero alcanzarse una determinada concentración del compuesto ensayado para eliminar interferencias de otros constituyentes. En los últimos años el desarrollo de métodos de separación y aislamiento por medio de adsorción, intercambio iónico y cromatografía de gases han facilitado muchos análisis (24).

7.3.2 Métodos bioquímicos

Muchas drogas puede no ser determinadas por métodos químicos, ya sea por la presencia de interferencias o por la ausencia de un método químico adecuado y por el hecho de que la actividad de la droga es debida a una mezcla de sustancias. En tales casos se recurre a métodos bioquímicos los cuales se basan en la habilidad de una droga de provocar una respuesta especifica en un sistema biológico determinado (microbios, plantas, tejidos vivos). Evidentemente la respuesta de un test debe ser medible y la dosis debe ser elegida de tal modo que la intensidad de la reacción pueda ser relacionada con la dosis (24).

IV. JUSTIFICACIÓN

En Guatemala existen muchos datos empíricos sobre el uso popular de las plantas como plaguicidas. Sin embargo, hacen falta estudios que permitan la caracterización adecuada de las plantas. La determinación de caracteres farmacobotánicos contribuye a recabar información que permita la posterior elaboración de monografías de control de calidad que establezcan los estándares de calidad que deben ser cumplidos en la selección de materia prima vegetal.

La importancia de este estudio reside en que se contribuye al uso adecuado de estas plantas para la elaboración de productos en la agricultura y garantizar la competitividad de la producción de alimentos orgánicos.

En estudios anteriores, *Freire, A. 1990* hace énfasis que, el empleo de extractos vegetales para el control de plagas y enfermedades en el marco de una agricultura sostenible constituye una alternativa promisoría, debido a su elevada efectividad, bajo costo y no ser contaminantes del ambiente. De tal forma que el campo de la elaboración de insumos agrícolas haciendo uso de los propios recursos, reduce costos y a la vez estimula la producción orgánica (1,26).

V. OBJETIVOS

A. Generales:

1. Determinación de caracteres farmacobotánicos de cuatro especies vegetales de uso popular en el tratamiento de hongos fitopatógenos.
2. Contribuir a la elaboración de monografías de control de calidad de las plantas en estudio.

B. Específicos:

1. Establecer las características anatómicas mínimas para la correcta determinación botánica de *Equisetum arvense*, *Wigandia urens var. caracasana*, *Bougainvillea* spp y *Tagetes erecta*.
2. Preparar ejemplares de herbarios para la correcta identificación de las plantas estudiadas.
3. Preparar un muestrario de droga seca de las especies de las plantas en estudio.
4. Describir y documentar las características micromorfológicas del material fresco y seco de cada una de las especies en estudio.
5. Determinar la presencia de sustancias ergásticas y metabolitos secundarios mediante el uso de pruebas microquímicas.
6. Establecer aquellas características que permitan la clara identificación de cada una de las especies, detallándolas en cartillas micrográficas.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Recursos

1.1 Humanos:

- a) Estudiantes: Br. Antonio Alejandro Galindo Ruíz; Br. Ronald Omar Kestler Ordoñez; Br. David Antonio Méndez Pinto.
- b) Asesora: Licda. María Eugenia Paredes

1.2 Sitios de Trabajo:

- a) Laboratorios del Departamento de Citohistología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- b) Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

1.3 Materiales:

- a) Portaobjetos.
- b) Cubreobjetos.
- c) Vasos de precipitado.
- d) Hojas de afeitar.
- e) Pincel.
- f) Lupa.
- g) Laminas de duroport.
- h) Vidrio de reloj.

1.4 Equipo:

- a) Microscopios.
- b) Balanza analítica.
- c) Balanza de humedad
- d) Desecador.
- e) Estufa.
- f) Baño de María.

1.3. Reactivos:

- a) Alcohol al 96%.
- b) Hidroxido de sodio al 5%.
- c) Safranina al 1%.
- d) Gelatina-glicerina.
- e) Hidróxido de potasio al 10%.
- f) Ácido crómico al 25%.
- g) Reactivo de Dragendorff.
- h) Reactivo de Lugol.
- i) Reactivo Sudán IV.
- j) Azul de cresil al 1%.
- k) Ácido sulfúrico concentrado.
- l) Reactivo de sulfato férrico.
- m) Agua destilada.
- n) Carbonato de sodio al 20%.
- o) Tungstato de sodio dihidratado.

p) Acido fosfomolibdico.

q) Acido fosfórico.

r) Acido tánico.

2. Procedimiento

2.1 Diseño de la investigación

Estudio de tipo descriptivo.

2.2 Material vegetal:

El material vegetal de las especies en estudio, en estado fresco se obtuvo de las regiones Centro y Occidente del país.

2.3 Pruebas de identidad:

Las pruebas de identificación se realizaron por duplicado.

2.3.1 Caracterización macroscópica y descripción botánica.

2.3.1.1 *Herborización de ejemplares frescos:* Las muestras recolectadas se colocaron entre papel periódico para que su secado, observando así todos los detalles de la planta, esto incluyó las flores y los frutos; luego se colocaron entre cartones y prensas de madera y se dejaron secar en secadores. Para finalizar se colocaron en los formatos adecuados para este propósito y se identificaron claramente (27).

2.3.1.2 *Muestrario patrón de droga cruda:* Muestra de la materia médica (droga cruda) de las especies en estudio, se colocaron en frascos de vidrio adecuados y debidamente identificados con etiquetas (27).

2.3.1.3 *Determinación de los requisitos macromorfológicos:* Se revisaron a simple vista y utilizando microscopio estereoscopio todas las características de la corteza fresca y seca (27).

2.3.1.4 *Descripción botánica:* Se realizó una descripción botánica en base a la bibliografía especializada, que permitió una identificación clara (27).

2.4 Caracteres micromorfológicos e histológicos.

La información micromorfológica se realizó de acuerdo a las técnicas siguientes:

2.4.1 *Diapinizado para las hojas:* Se colocaron las hojas de las plantas en estudio en un vaso de precipitar con alcohol al 96%, se llevaron a ebullición en baño de María por 10 minutos. Luego se pasó el material en una solución de partes iguales de alcohol al 96% e hidróxido de sodio al 5% y se llevaron a ebullición en baño de María durante 10 minutos. El material así tratado se lavó cuidadosamente con agua destilada tibia varias veces hasta que el agua quedó totalmente limpia. Se pasó con mucha precaución el material a cajas de Petri conteniendo hipoclorito de sodio al 50%, ahí se dejó aproximadamente 15 minutos hasta que las hojas quedaron blanco-transparente y se descartó la solución. Se lavó cuidadosamente con agua destilada, hasta que se eliminó totalmente el hipoclorito de sodio y se agregó hidrato de cloral (5:2) y se reposó durante 15 minutos, hasta que se tornó transparente. Se dejaron en esta solución hasta el momento que se colorearon y se montaron definitivamente. Al material, así tratado, se le realizó una coloración con safranina al 1% en agua y se montaron con gelatina-glicerina. Se observaron al microscopio con aumentos de 100X, 400X y se fotografiaron los resultados (27).

2.4.2 *Disociado para la corteza de las plantas en estudio:* En un vaso de precipitar se colocaron los materiales y se hirvieron con hidróxido de sodio al 5% durante 5 minutos. Se lavaron con agua hasta eliminar el hidróxido de sodio. El material se colocó en un tubo de ensayo con ácido crómico al 25% y se dejó actuar durante 30 minutos hasta que al pinchar el material tuvo una consistencia de manteca. Se lavó con agua tibia. En el último lavado se agitó fuertemente el tubo de ensayo contra la palma de la mano, de manera que todo el material se disgregó contra las paredes del mismo. Se colocó una pequeña cantidad del material, con ayuda de un pincel, sobre un porta objeto, se aplastó con una aguja histológica, se le añadió una gota de safranina al 1% en agua. Se dejó escurrir el excedente y se montó con gelatina-glicerina. Se observaron las

laminas al microscopio con aumentos de 100X y 400X, se describieron y fotografiaron (27).

2.4.3 Coloración con safranina: Se realizaron 5 lavados, de 3 minutos cada uno, con agua destilada. Luego se agregó una gota de solución de safranina al 1% en agua, y se dejó actuar durante 5 minutos, se lavaron con agua destilada y se montaron con gelatina-glicerina (27).

2.5 Tamizaje fitoquímico:

Las especies vegetales se caracterizan por la presencia de determinados compuestos químicos, la identificación microquímica incluyó: determinación de alcaloides, almidón, grasas, aceites esenciales, mucílagos y taninos. Para ello se utilizó cortes de material fresco de la siguiente forma:

2.5.1 Preparación de cortes a mano alzada de plantas frescas: Se colocó un trozo del material de las especies en estudio, entre dos láminas de duroport, se sostuvieron fuertemente con una mano el material a cortar y con la otra mano se deslizó de manera perpendicular una hoja de afeitar nueva. Se recibieron los cortes obtenidos sobre un vidrio de reloj con aguja y se seleccionaron los cortes más delgados y parejos, con la ayuda de una lupa. Se observaron al microscopio con un aumento de 100X y 400X. Se anotaron y fotografiaron los resultados (27).

2.5.2 Alcaloides: Los cortes de material vegetal se colocaron sobre un portaobjetos, se agregó una gota de reactivo de Dragendorff, se dejó actuar durante unos minutos y se observó al microscopio, la presencia de un precipitado rojo ladrillo se consideró positivo. La ausencia de este precipitado se consideró negativo (27).

2.5.3 Almidón: Se colocaron cortes en el portaobjetos, se agregó una gota de reactivo de lugol, se observaron al microscopio, la presencia de una coloración azul o azul violáceo en el citoplasma de las células se consideró positivo. La ausencia de la coloración azul o azul violáceo en el citoplasma se consideró negativo (27).

2.5.4 *Grasas y aceites esenciales*: Se colocaron cortes sobre un portaobjeto y se les agregó una gota de reactivo Sudán III, se dejó actuar por 10 minutos y se observó al microscopio, la presencia de una coloración roja o rosada se considero positivo. La ausencia de una coloración roja o rosada se considero negativo (27).

2.5.5 *Mucilagos*: Se colocaron cortes sobre un portaobjetos y se les agregó una gota de azul cresil al 1%, se observó al microscopio y la aparición de una coloración azul se considero positivo. La ausencia de la coloración azul se considero negativo (27).

2.5.6 *Saponinas*: Los cortes se colocaron en un portaobjetos y se les agregó una gota de ácido sulfúrico concentrado, se observó al microscopio. La aparición de una coloración amarilla que a los 30 minutos cambio a color rojo y finalmente a un color azul verdoso o lila se considero positivo. La ausencia de esta coloración amarilla o su cambio a color rojo y finalmente a un color azul verdoso o lila se considero negativo (27).

2.5.7 *Taninos*: Se colocaron los cortes sobre portaobjetos, se le agregó una gota de reactivo de sulfato férrico, se observó al microscopio y la aparición de una coloración azul verdosa se considero positivo. La ausencia de una coloración azul verdosa se considero negativo (27).

2.6 Elaboración de cartillas de identificación

Después de haber observado todas las láminas fijas de cortes transversales, disociados y diafanizados, se procedió a seleccionar solamente las características especiales y particulares de cada especie vegetal. Con esto se hizo una descripción completa de la droga cruda y se hicieron los dibujos de la microscopía, de la manera más exacta y precisa (27).

2.7 Pruebas de pureza:

2.6.1 *Cenizas totales*: Al ser incineradas las drogas vegetales dejan una ceniza inorgánica. El porcentaje de cenizas producidas es indicativo del cuidado tomado

durante el procesamiento del material vegetal, especialmente para las partes subterráneas. Las cenizas solubles en agua, y las ácido insolubles se determinan utilizando métodos estándar. *Procedimiento:* Se colocaron aproximadamente 1gr. de droga seca de cada una de las especies en estudio, en crisoles de porcelana, previamente calcinados y a peso constante. Se introdujo el crisol con la muestra en el interior de un horno a 55⁰C: hasta que se obtuvieron cenizas blancas, gris claro o gris-rojo. Se dejaron enfriar los crisoles en el desecador. Se pesaron rápidamente y se anotaron los resultados (se hicieron tres repeticiones) (27).

2.8 Humedad

Por humedad del material se entiende la materia volátil que se elimina por calentamiento, conduciendo a la pérdida de peso de la muestra. Esta materia puede estar constituida por agua, grasas, aceites, alcoholes, disolventes, materias aromáticas, componentes volátiles y productos de descomposición. *Procedimiento:* Se selecciono una parte representativa del total de la muestra, se homogenizó y mezcló. Se encendieron las balanzas de Humedad y se selecciono el programa de 15 minutos a 105⁰C: . Se abrió la cámara y se colocó el platillo. Se determinó la tara del platillo y se agregó la muestra. Se colocó en el platillo una capa fina y homogénea, de aproximadamente 1-2 gr. Se cerró el aparato y se determinó el peso inicial. Se inició el programa de secado y se esperó a leer el resultado. Se hicieron tres repeticiones por cada droga (27).

VII. RESULTADOS

1. *Bougainvillea* spp.

1.1 Descripción diagnóstica: arbusto trepador y espinoso; tallo leñoso de aproximadamente 10mts. de alto y hojas alargadas ovadolanceoladas de 3-8 cm. de largo. Posee tres flores rodeadas por brácteas u hojas de llamativos colores de 3-4 cm. de largo (Figura 1). La muestra seca lista para su uso es quebradiza, fragmentada, en ella se encuentran todas las partes de la planta (Figura 2) (Anexo No. 6). Se preparó e identificó el ejemplar de herbario, para el Herbario Biología Guatemala (BIGU), Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala (Anexo No. 7).



Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 1: Ejemplo de material botánico de *Bougainvillea* spp.



Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 2: Droga seca de *Bougainvillea* spp.

1.2 Caracteres micromorfológicos e histológicos para identificar la droga cruda de *Bougainvillea* spp.

1.2.1 Diafanizado de la hoja de *Bougainvillea* spp.

La hoja posee células rectangulares con paredes moderadamente onduladas (Figura 3 y 4). Se observaron tricomas de diversos tipos y cristales aciculares (Figura 3). Además, se observaron tricomas en el ves y envés de la hoja (Figura 5). Los estomas son anomocíticos en ambos lados de la hoja (Figura 4). La nerviación de la hoja es abierta y reticulada (Figura 5).



Fig. 3: Epidermis adaxial (1) Cristales aciculares. (2) Base de tricoma. (400x). Tinción: Safranina al 1%.
Fuente: Procedimiento experimental



Fig. 4: Se observan estomas anomocíticos en epidermis adaxial. (400x). Tinción: Safranina al 1%.
Fuente: Procedimiento experimental

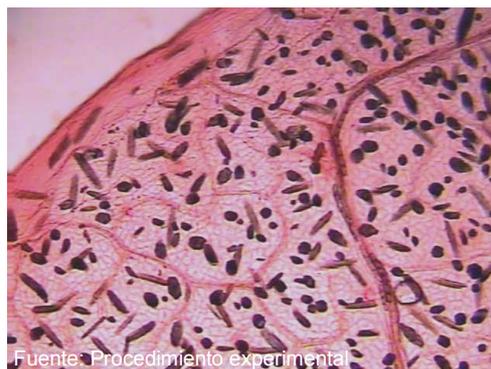


Fig. 5: Se observa nerviación abierta y reticulada. (100x) Tinción: Safranina al 1%.
Fuente: Procedimiento experimental

1.2.2 Disociado del tallo de *Bougainvillea* spp.

En el tallo se observó la presencia de cristales aciculares en acúmulos e individuales (Figura 6 y 7). Se pudieron observar las células de la epidermis y subepidermis, estas son de forma poligonal (Figuras 8, 9 y 12). Además se pudieron visualizar células y gránulos de reserva (Figuras 10 y 15). Las células del esclerénquima se encuentran en acúmulos e individuales (Figura 11 y 13). Se encontraron fibras, placas y vasos perforados (Figuras 14, 18 y 19). En el haz, los tricomas son pluricelulares de tipo glandular (Figura 22 y 23). Los tricomas pueden estar formados por 2 a 6 células, aunque la mayoría de los tricomas posee un máximo de 5 células. La célula basal del tricoma suele ser más gruesa que el resto de las células, mientras que la célula terminal suele ser fina y puntiaguda (Figura 24). Se observó xilema secundario (Figura 25).



Fig. 6: Acúmulos de cristales aciculares. (400x). Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 7: Cristales aciculares sueltos y en manojos. (400x). Tinción: Safranina al 1%.

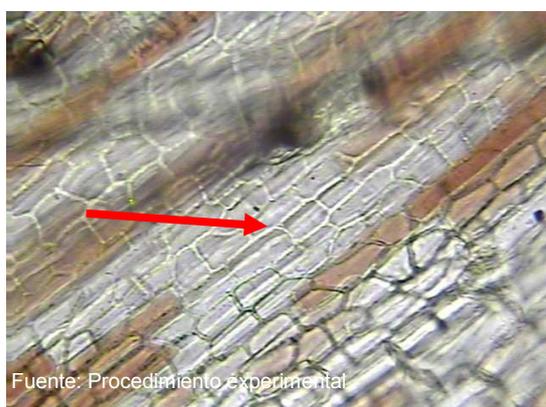


Fig. 8: Células de la subepidermis. (400x). Tinción: Sulfato férrico.



Fig. 9: Células epidérmicas. (400x). Tinción: Sulfato férrico.

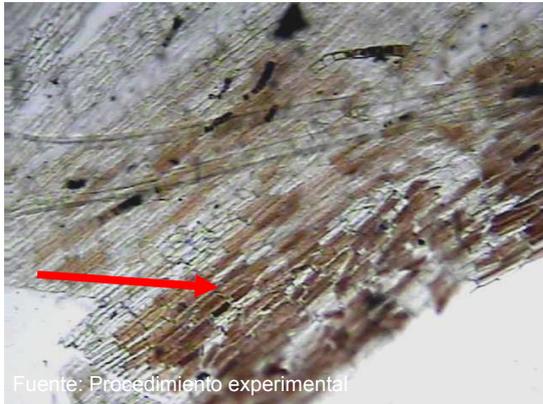


Fig. 10: Células de reserva.
(400x). Tinción: Sulfato férrico.



Fig. 11: Células del esclerénquima.
(400x). Tinción: Sulfato férrico.

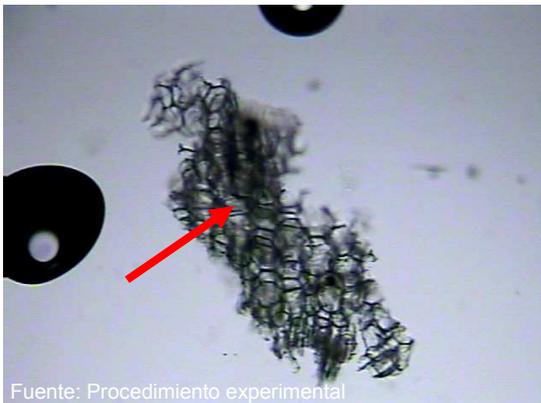


Fig. 12: Células de la subepidermis.
(400x). Tinción: Sulfato férrico.



Fig. 13: Esclereidas
(400x). Tinción: Azul de cresil al 1%.



Fig. 14: Fibras perforadas alargadas. (400x).
Tinción: Safranina al 1%.

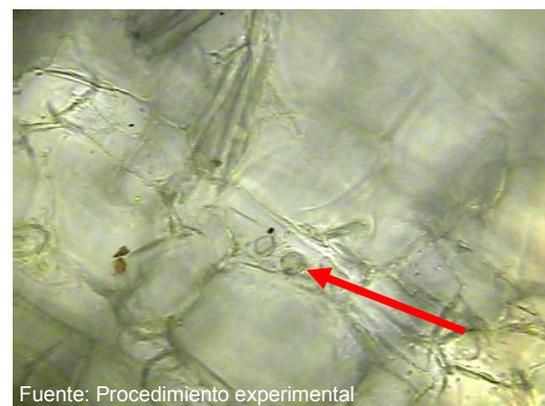


Fig. 15: Gránulos de reserva
(400x). Tinción: Sulfato férrico.



Fig. 16: Haces del xilema anulares. (400x).
Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 17: Haces del xilema helicoidales. (400x). Tinción: Safranina al 1%.

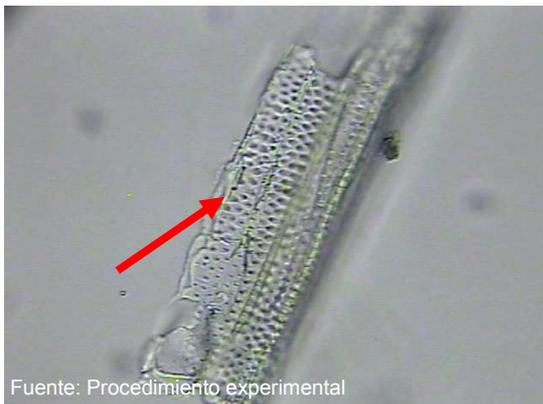


Fig. 18: Placas perforadas del floema. (400x). Tinción: Sulfato férrico.

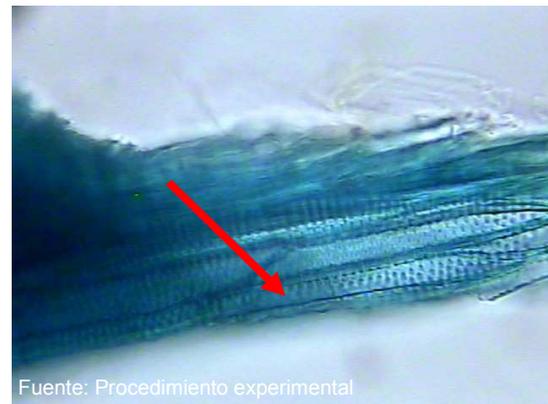


Fig. 19: Placas perforadas. (400x). Tinción: Azul de cresil al 1%.



Fig. 20: Vasos perforados. (400x). Tinción: Azul de cresil al 1%.

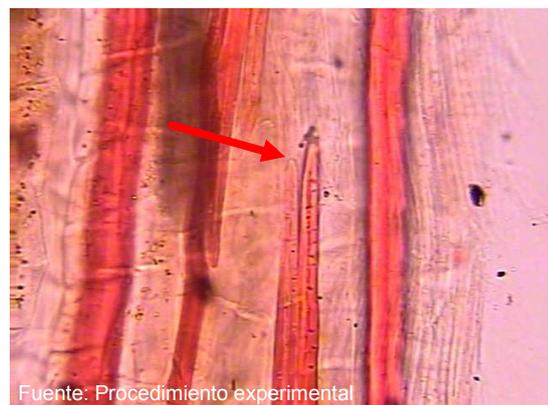


Fig. 21: Placas perforadas. Nótese la punta de la fibra. (400x). Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 22: Tricoma pluricelular grande. (400x). Tinción: Sulfato férrico



Fig. 23: Tricomas glandulares. (400x). Tinción: Sulfato férrico.

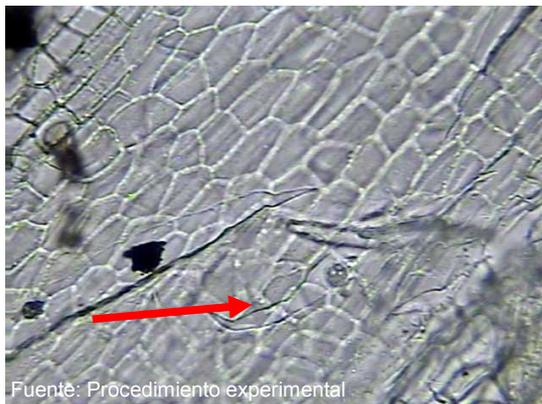


Fig. 24: Se observan tricomas unicelulares. (400x). Tinción: Sulfato férrico.

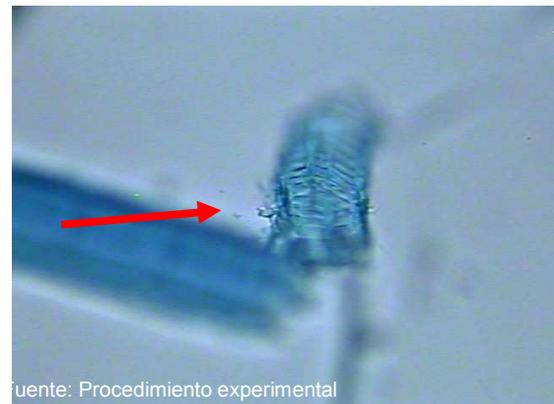


Fig. 25: Se observa xilema secundario. (400x). Tinción: Azul de cresil al 1%.

1.2.3 Estructuras micromorfológicas de *Bougainvillea* spp.

Se observaron los tejidos vasculares en la nervadura central (Figuras 26 y 33); en esta se pueden visualizar algunos gránulos de reserva (Figura 28). Los tricomas están formados de 2 a 4 células. La célula basal del tricoma suele ser más gruesa que el resto de las células al igual que la célula final, con coloración característica (Figuras 31 y 32). Se observó xilema y floema (Figuras 27 y 30 y 34). Se pudo diferenciar el parénquima en empalizada y parénquima esponjoso, el primero suele tener células alargadas. Algunas hojas presentan una sola capa de parénquima en empalizada y otras pueden presentar hasta dos capas. Cuando el parénquima esponjoso está diferenciado, éste es de aspecto irregular. Las células suelen ser más pequeñas y un

poco más redondeadas que las células del parénquima en empalizada y con menor cantidad de cloroplastos. Son de diferentes tamaños y se encuentran distribuidas en todo el mesófilo de forma irregular formando espacios intercelulares. (Figuras 29 y 35). Además se encontró una capa de células corcho o súber (Figura 36).

En el corte transversal de tallo se encontró la presencia de colénquima y parénquima, estos de forma angular (Figuras 43, 38 y 39). Además se observó una capa característica de esclerénquima alrededor de los haces vasculares, estos distribuidos en la misma forma a lo largo de todo el tallo (Figura 40). Los haces vasculares están distribuidos debajo de la capa de esclerénquima y en toda la médula del tallo de manera irregular (Figura 37 y 41). Se visualizó la forma de lignificación del tallo (Figura 47). La célula basal del tricoma suele ser más gruesa que el resto de las células, mientras que la célula terminal suele ser fina y puntiaguda (Figuras 42 y 44 a 46).



Fig. 26: Nervadura central. (100x). Tinción: Sulfato férrico.

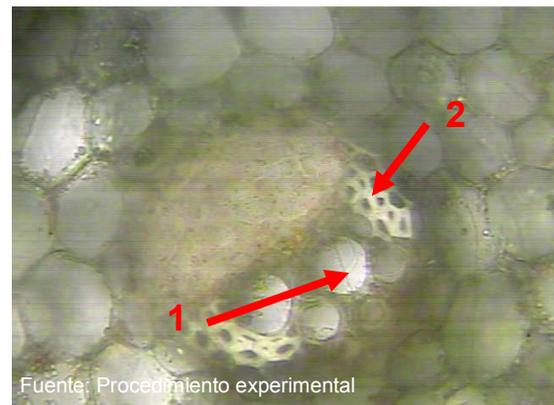


Fig. 27: (1) Xilema y (2) floema. (400x). Tinción: Sulfato férrico.

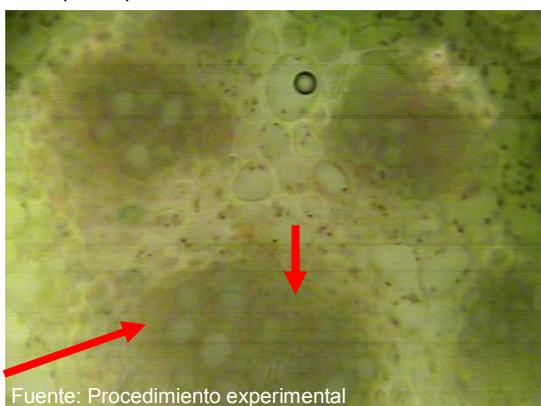


Fig. 28: Gránulos de reserva en la nervadura central. (400x). Tinción: Sudán III.

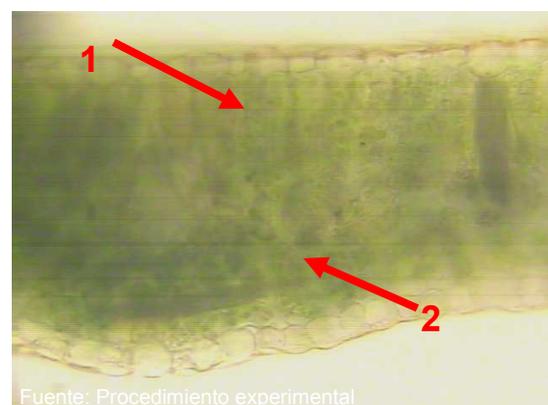


Fig. 29: (1) Capa de células en empalizada y (2) células esponjosas. (400x). Tinción: Sudán III.

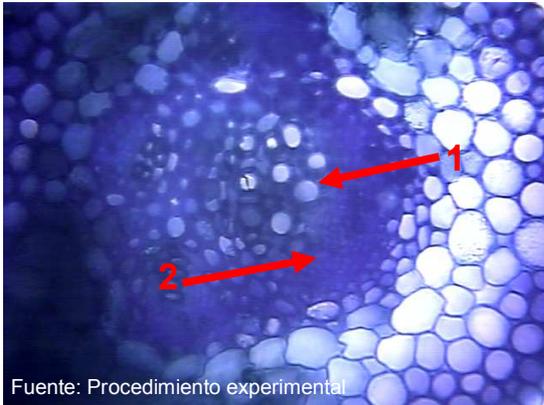


Fig. 30 (1) Haces del xilema y (2) floema. (400x).
Tinción: Azul de cresil al 1%.

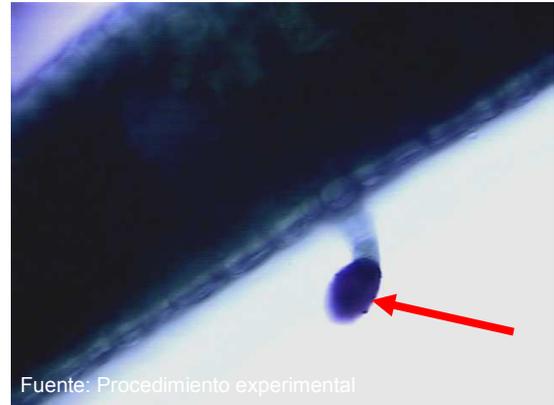


Fig. 31: Tricoma glandular.
(400x). Tinción: Azul de cresil al 1%

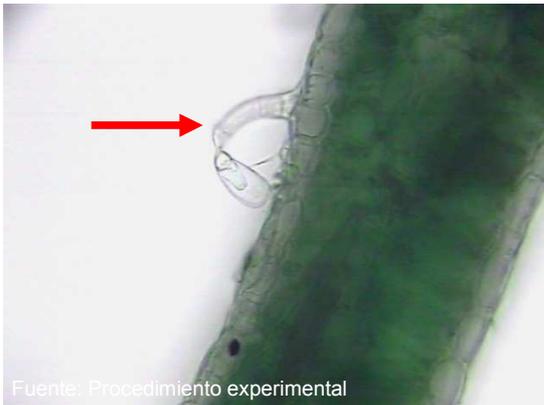


Fig. 32: Tricoma glandular.
(400x). Tinción: Sulfato férrico.

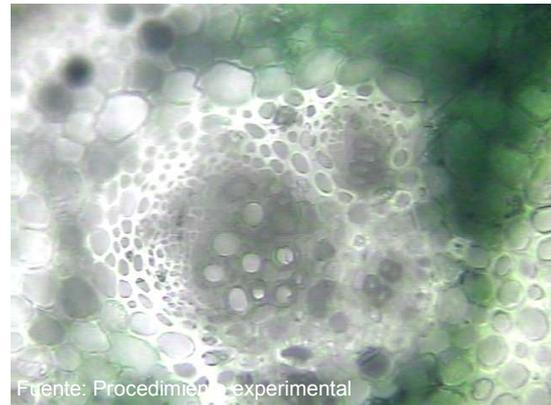


Fig. 33: Nervadura central.
(400x). Tinción: Sudán III.



Fig. 34: Floema.
(400x). Tinción: Sulfato férrico.



Fig. 35: Células en empalizada.
(400x). Tinción: Sudán III.



Fig. 36: Capa de suber o células de corcho. (400x). Tinción: Sulfato férrico.

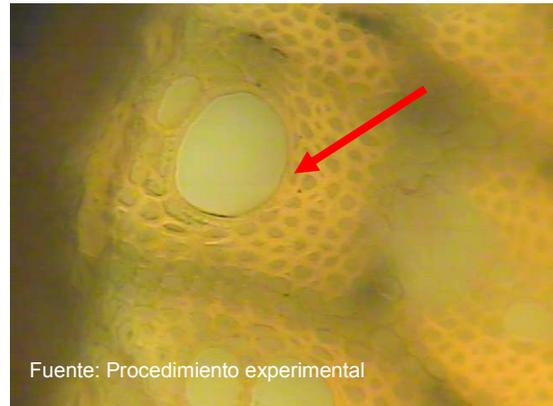


Fig. 37: Xilema. (400x). Tinción: Lugol.

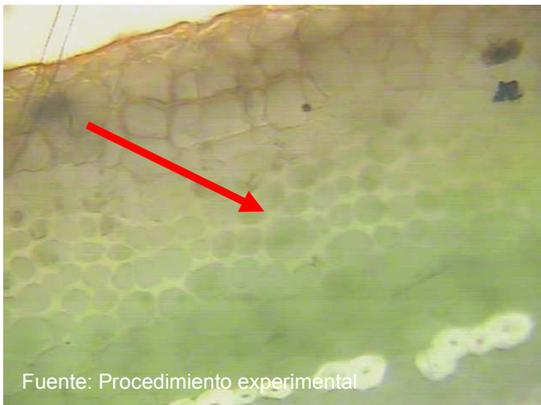


Fig. 38 Capa de colénquima en tallo. (400x). Tinción: Sulfato férrico.



Fig. 39: Epidermis uniestratificada. (400x). Tinción: Sudán III.

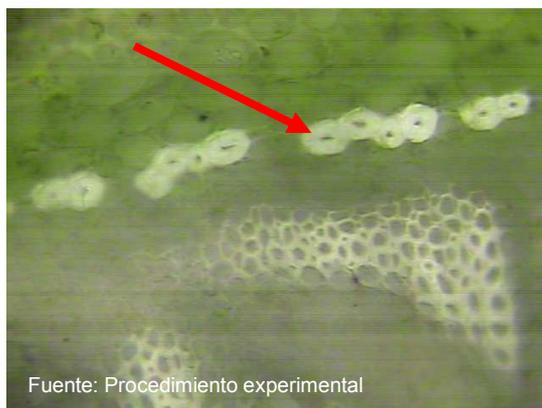


Fig. 40: Capa de esclerénquima en tallo. (400x). Tinción: Sulfato férrico.

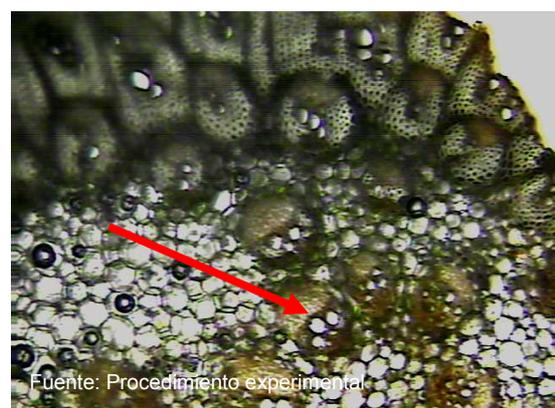
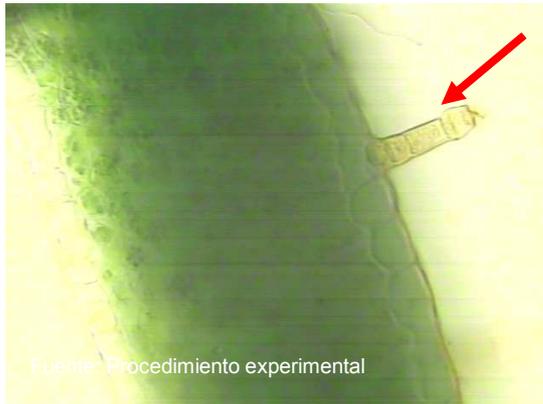


Fig. 41: Haces del xilema. (100x). Tinción: Sudán III.



Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 42: Tricoma pluricelular. (400x). Tinción: Sudán III.



Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 43: Capa de parénquima. (400x). Tinción: Sudán III.



Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 44: Tricoma pluricelular. (400x). Tinción: Sudán III.



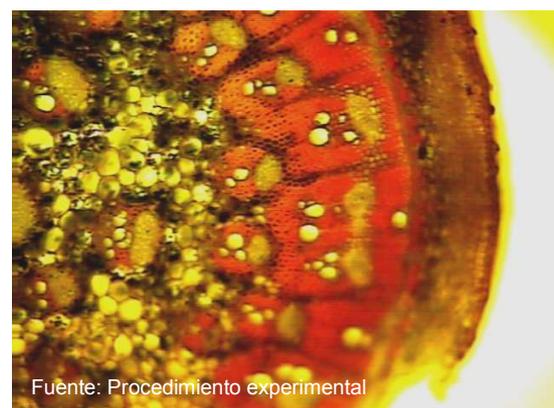
Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 45: Tricoma pluricelular. (400x). Tinción: Sudán III.



Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 46: Tricoma en nervadura central. (400x). Tinción: Sudán III.



Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 47: Lignificación. (100x). Tinción: Sudán III.

1.3 Tamizaje fitoquímico de *Bougainvillea* spp.

En la hoja la reacción resultó negativa para taninos (Figura 48). Se encontraron almidones a lo largo del parénquima en empalizada (Figura 49) mientras que en el parénquima esponjoso se encontraron mucílagos, ya que se observó la presencia de color azul Francia (Figura 50); además mostró reacción positiva para aceites esenciales, principalmente en la epidermis y en algunos tricomas (Figuras 51 y 52). Se encontraron alcaloides distribuidos en toda la nervadura central (Figura 53).

En el tallo se observó en la epidermis la presencia de aceites esenciales y alcaloides (Figuras 54, 55 y 57); además se encontraron gránulos de almidón dispersos por todo el tallo (Figura 56). La prueba para mucílagos dio positivo en el xilema y en el parénquima principalmente (Figura 60). Las pruebas para saponinas y taninos dieron negativo (Figuras 58 y 59). (Ver Tabla No. 1).

1.3.1 Tamizaje fitoquímico de hoja de *Bougainvillea* spp.



Fig. 48: Taninos negativo. (100x). Tinción: Sulfato férrico.



Fig. 49: Almidones positivo en células de parénquima en empalizada. (400x). Tinción: Lugol.

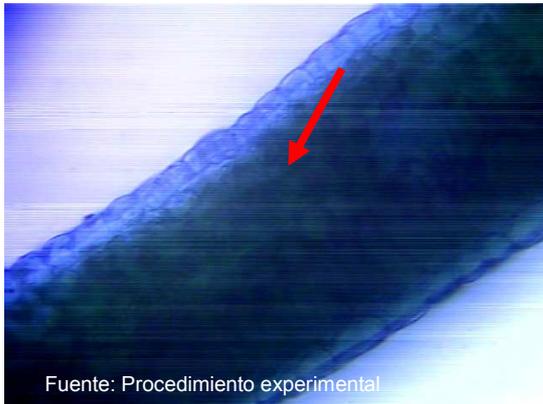


Fig. 50: Mucílago positivo en células de parénquima esponjoso. (400x). Tinción: Azul de cresil al 1%.



Fig. 51: Aceites esenciales positivo en tricomas. (400x). Tinción: Sudán III.



Fig. 52: Aceites esenciales positivo en epidermis. (400x). Tinción: Sudán III.



Fig. 53: Alcaloides positivo. (100x). Tinción: Dragendorff.

1.3.2 Tamizaje fitoquímico de tallo de Bougainvillea spp.

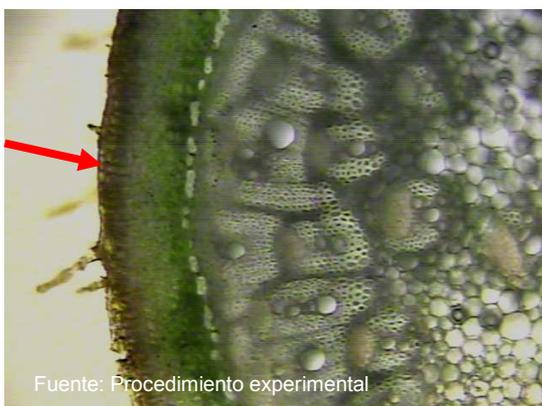


Fig. 54: Aceites esenciales positivo en epidermis. (100x). Tinción: Sudán III.



Fig. 55: Alcaloides positivo en floema y epidermis. (100x). Tinción: Dragendorff.

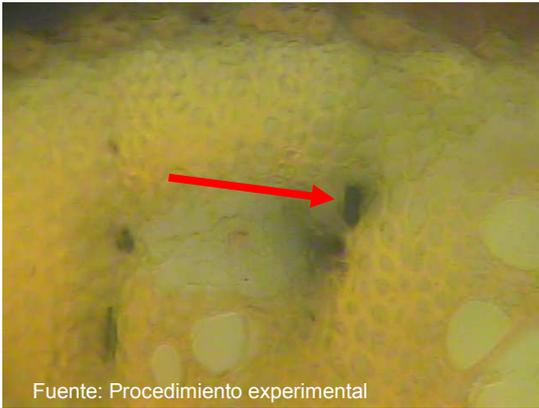


Fig. 56: Almidones levemente positivo, disperso en todo el tallo. (100x). Tinción: Lugol.



Fig. 57: Aceites esenciales positivo en epidermis. (400x). Tinción: Sudán III.



Fig. 58: Saponinas negativo. (100x). Tinción: Lugol.

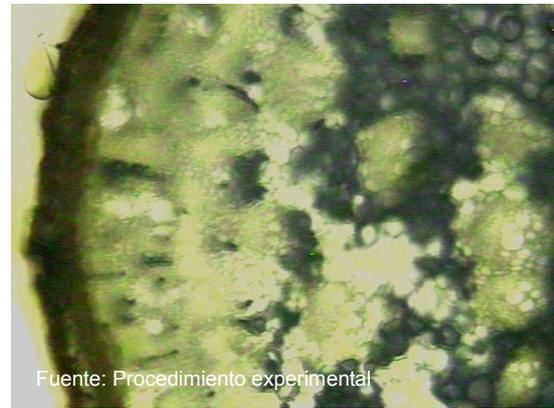


Fig. 59: Taninos negativo. (100x). Tinción: Sudán III.

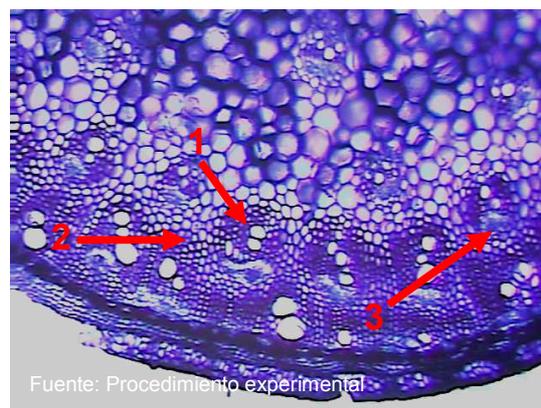
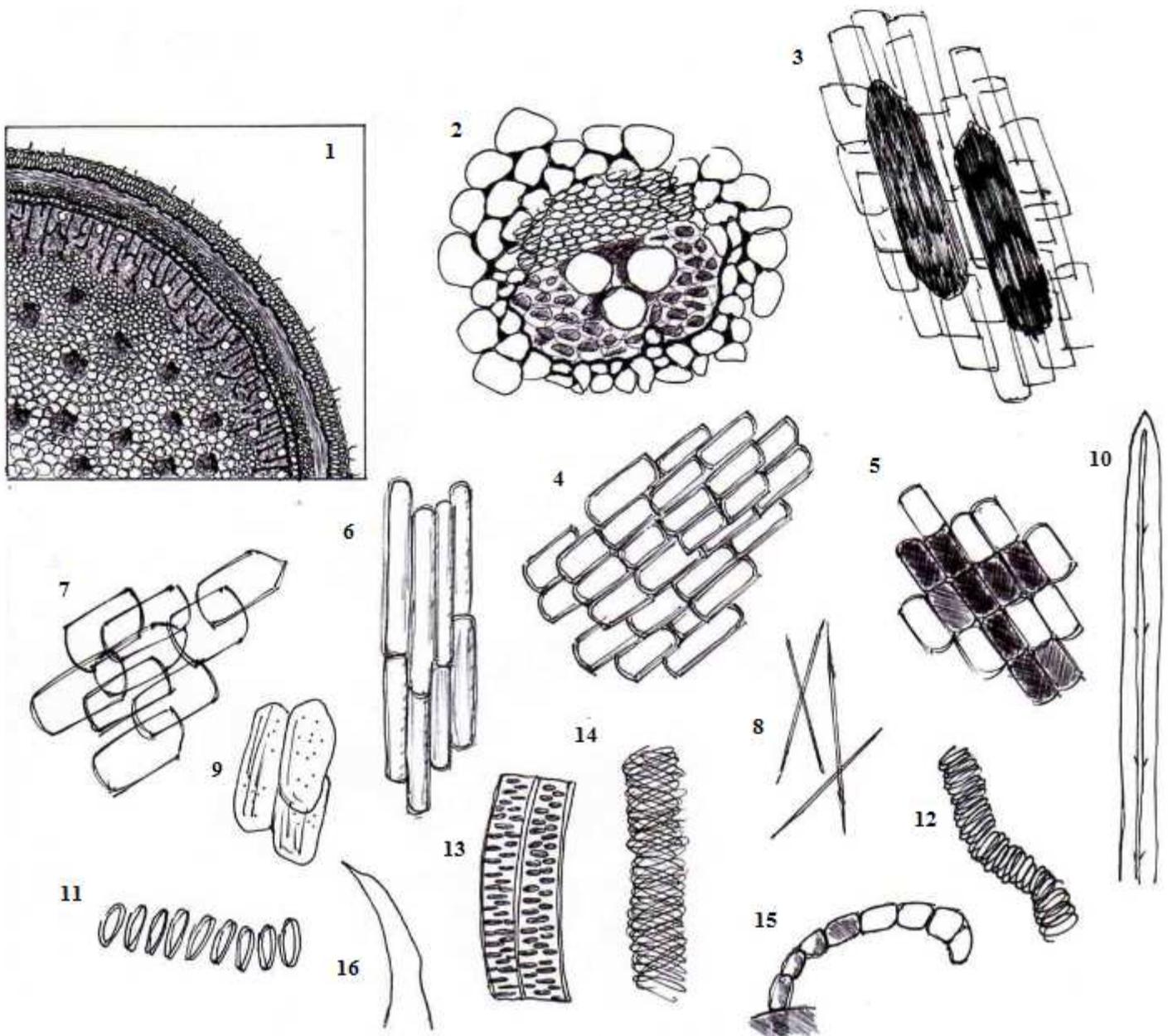


Fig. 60: (1) Mucílagos positivos en xilema y (2) parénquima, (3) Mucílagos negativos en floema. (100x) Tinción: Azul de cresil al 1%.

1.4 Cartilla micrográfica de tallo de *Bougainvillea* sp.

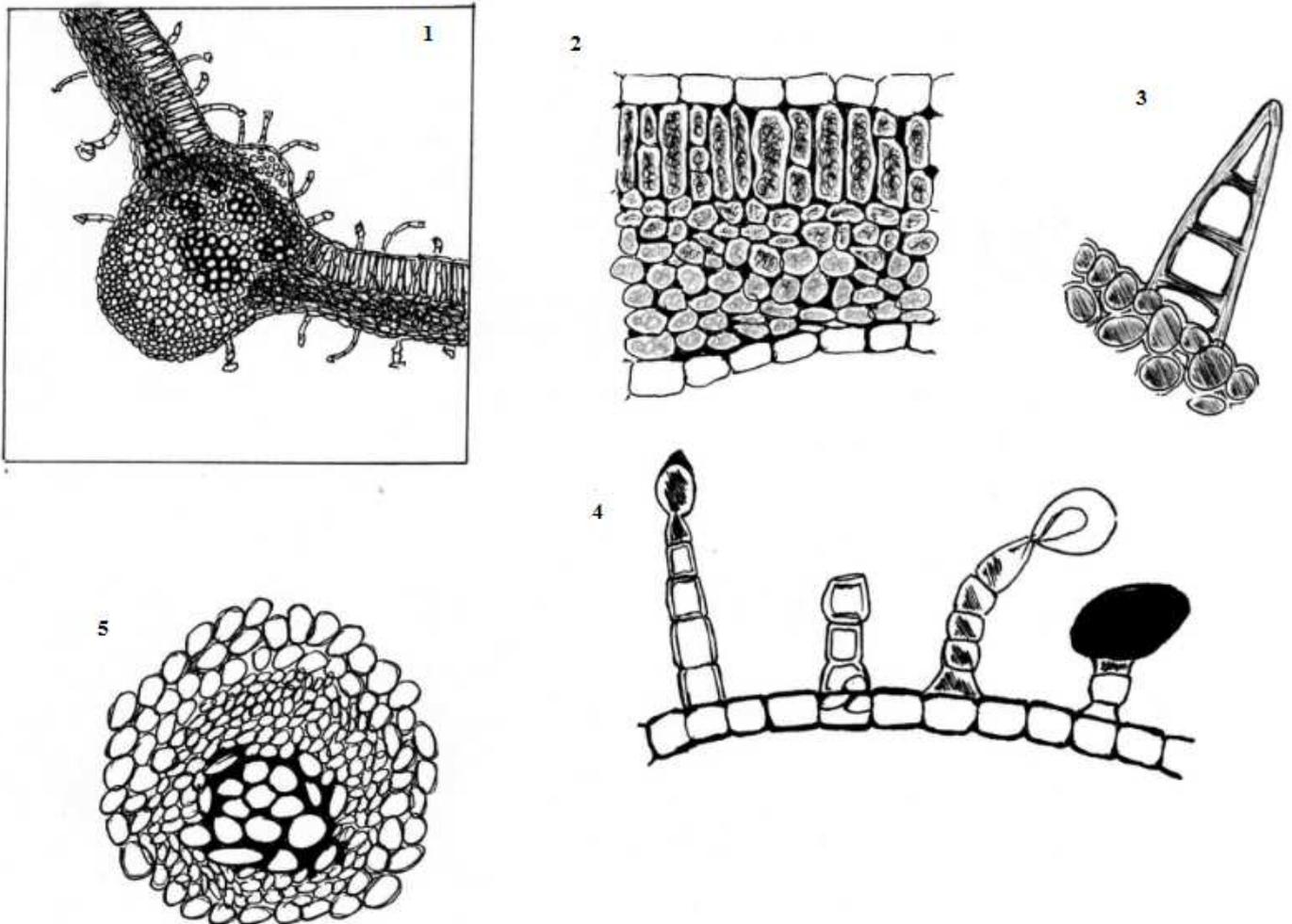
Se presentan las figuras que resumen los caracteres distintivos de la droga cruda.



CARTILLA NO. 1 (1) Acercamiento de corte transversal de tallo de *Bougainvillea* sp. Nótese la cantidad de xilema y floema. (2) Xilema y floema. (3) Acúmulos de cristales aciculares. (4) Células de la subepidermis. (5) Células de reserva. (6) Células del esclerénquima. (7) Células epidérmicas. (8) Cristales aciculares. (9) Esclereidas. (10) Fibras. (11) Haces del xilema anulares. (12) Haces del xilema helicoidales. (13) Placa perforada. (14) Vaso perforado. (15) Tricoma pluricelular. (16) Tricoma unicelular.

1.5 Cartilla micrográfica de hoja de *Bougainvillea* sp.

Se presentan las figuras que resumen los caracteres distintivos de la droga cruda.



CARTILLA NO. 2 (1) Acercamiento de corte transversal de hoja de *Bougainvillea* sp. Nótese los tricomas en ambos lados de la hoja. (2) Epidermis seguido de mesófilo en empalizada. Por debajo mesófilo esponjoso y epidermis inferior. (3) Tricoma pluricelular. (4) Tricomas pluricelulares glandulares. (5) Xilema y floema en la nervadura central.

2. *Equisetum arvense*

2.1 Descripción diagnóstica: Los tallos estériles son de color verde, hueco por dentro y duros; las ramas secundarias son cuadrangulares, compactas y se disponen en verticilos. Las hojas están soldadas, formando una vaina foliar de 6-12 dientes con la extremidad de color negro (Figura 61). La muestra seca lista para su uso es quebradiza, fragmentada, de consistencia dura, en ella se encuentran todas las partes de la planta (Figura 62) (Anexo No. 6). Se preparó e identificó el ejemplar de herbario, para el Herbario Biología Guatemala (BIGU), Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala (Anexo No. 7).



Fig. 61: Ejemplo de material botánico de *Equisetum arvense*.



Fig. 62: Droga seca de *Equisetum arvense*.

2.2 Caracteres micromorfológicos e histológicos para identificar la droga cruda de *Equisetum arvense*.

2.2.1 Disociado de la hoja de *Equisetum arvense*.

En el tallo se encontraron dos tipos de xilema, el primero de forma helicoidal y el otro anular (Figuras 63 y 64). Se encontraron esclereidas (Figura 65); además se observó una placa perforada (Figura 66). Se observaron elementos del floema (Figura 67). La característica de esta planta son las células oclusivas, estas se encuentran distribuidas a lo largo del tallo y son de forma redonda y de gran tamaño (Figura 68). También se pudieron visualizar células parenquimatosas (Figura 69).



Fig. 63: Haces del xilema helicoidal. (400x). Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 64: Haces del xilema anular. (400x). Tinción: Lugol.

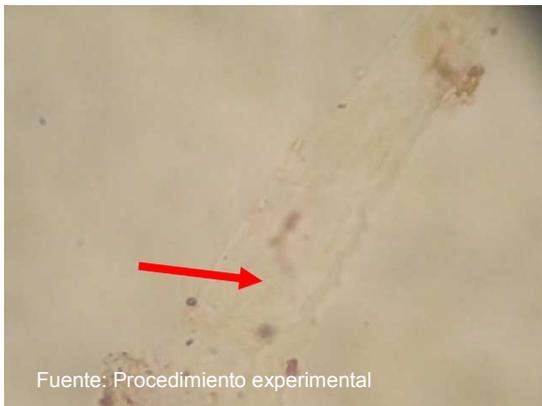


Fig. 65: Esclereidas.
(400x). Tinción: Safranina al 1%



Fig. 66: Placa perforada.
(400x). Tinción: Sulfato férrico.

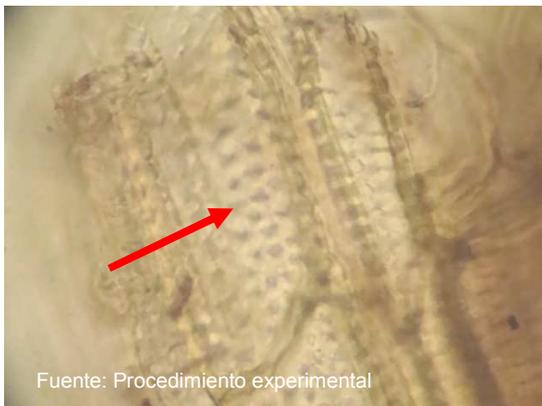


Fig. 67: Elemento del floema.
(400x). Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 68: Células oclusivas de los estomas del tallo.
(400x). Tinción: Naranja G.



Fig. 69: Células parenquimatosas.
(400x). Tinción: Safranina al 1%.

2.2.2 Estructuras micromorfológicas de *Equisetum arvense*.

En el tallo de esta planta se observó una estructura parenquimatosa denominada aerénquima (Figuras 70, 71 y 77). Posee proyecciones de células del colénquima intercaladas con células del esclerénquima (Figuras 72 y 76); además se encontró que la planta posee una epidermis uniestratificada de células cuadrangulares planas (Figura 75). Entre los elementos vasculares de la planta se pudieron observar elementos del xilema de forma helicoidal (Figura 73), haces del xilema (Figura 78) y elementos perforados del floema (Figura 74, 79).

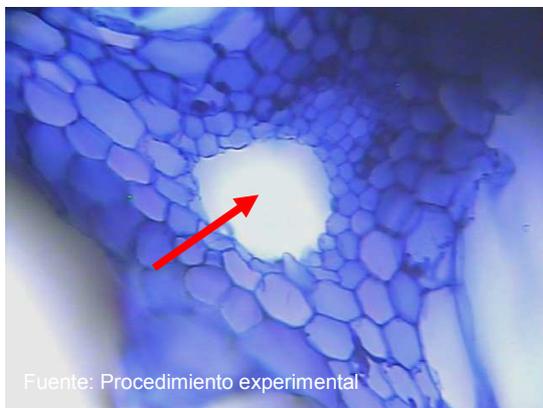


Fig. 70: Aerénquimas del tallo. (400x). Tinción: Azul de cresil al 1%.



Fig. 71: Células parenquimatosas. (400x). Tinción: Naranja G.

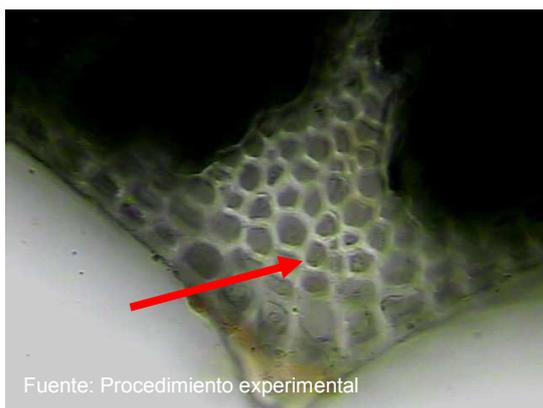


Fig. 72: Colénquima del tallo. (400x). Tinción: Sulfato férrico



Fig. 73: Elemento helicoidal del xilema. (400x). Tinción: Sulfato férrico.



Fig. 74: Elemento perforado del floema. (400x).
Tinción: Sulfato férrico.

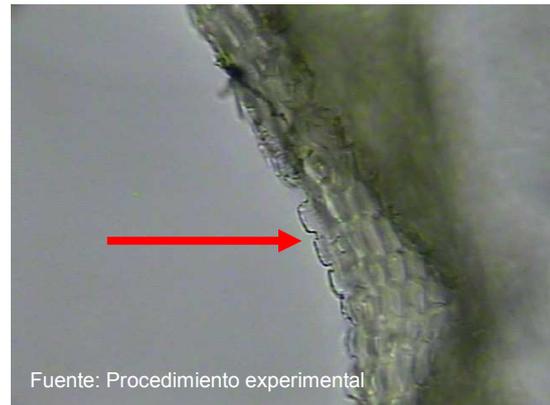


Fig. 75: Epidermis uniestratificada de células cuadrangulares planas. (400x). Tinción: Sulfato férrico.



Fig. 76: Esclerénquima intercalado entre el colénquima. (400x). Tinción: Sulfato férrico.



Fig. 77: Elementos vacíos del tallo. (100x).
Tinción: Sulfato férrico.



Fig. 78: Haces del xilema. (400x).
Tinción: Naranja G.

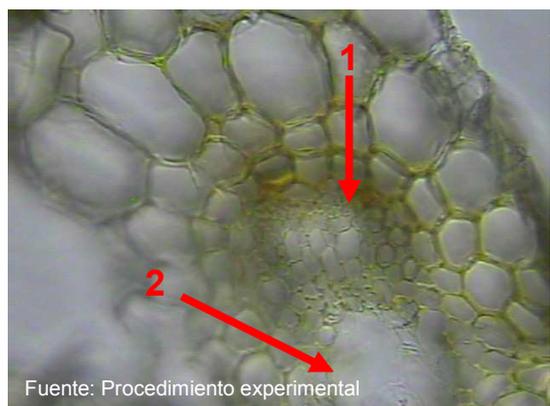


Fig. 79: (1) Xilema y (2) floema. (400x).
Tinción: Naranja G.

2.3 Tamizaje fitoquímico de *Equisetum arvense*.

Se encontró una pequeña cantidad de almidones en la epidermis (Figura 81); además se encontraron mucílagos y alcaloides en xilema y floema (Figuras 82 y 83). El resto de pruebas realizadas a la planta resultaron negativas. No hubo presencia de aceites esenciales, taninos y saponinas (Figuras 80, 84 y 85). (Ver Tabla No.1).



Fig. 80: Aceites esenciales negativo. (400x). Tinción: Sudan III.



Fig. 81: Almidones levemente positivo en epidermis. (400x). Tinción: Lugol.

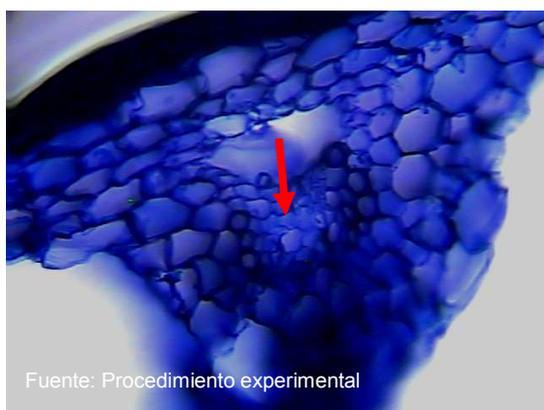


Fig. 82: Mucílagos positivo en xilema y floema. (400x). Tinción: Azul de Cresil al 1%.



Fig. 83: Alcaloides positivo en xilema y aerénquima. (100x). Tinción: Dragendorff.

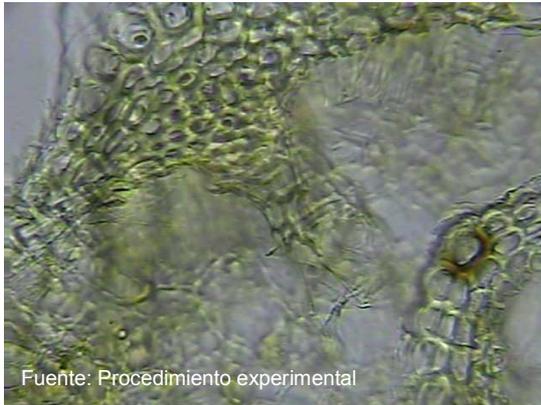


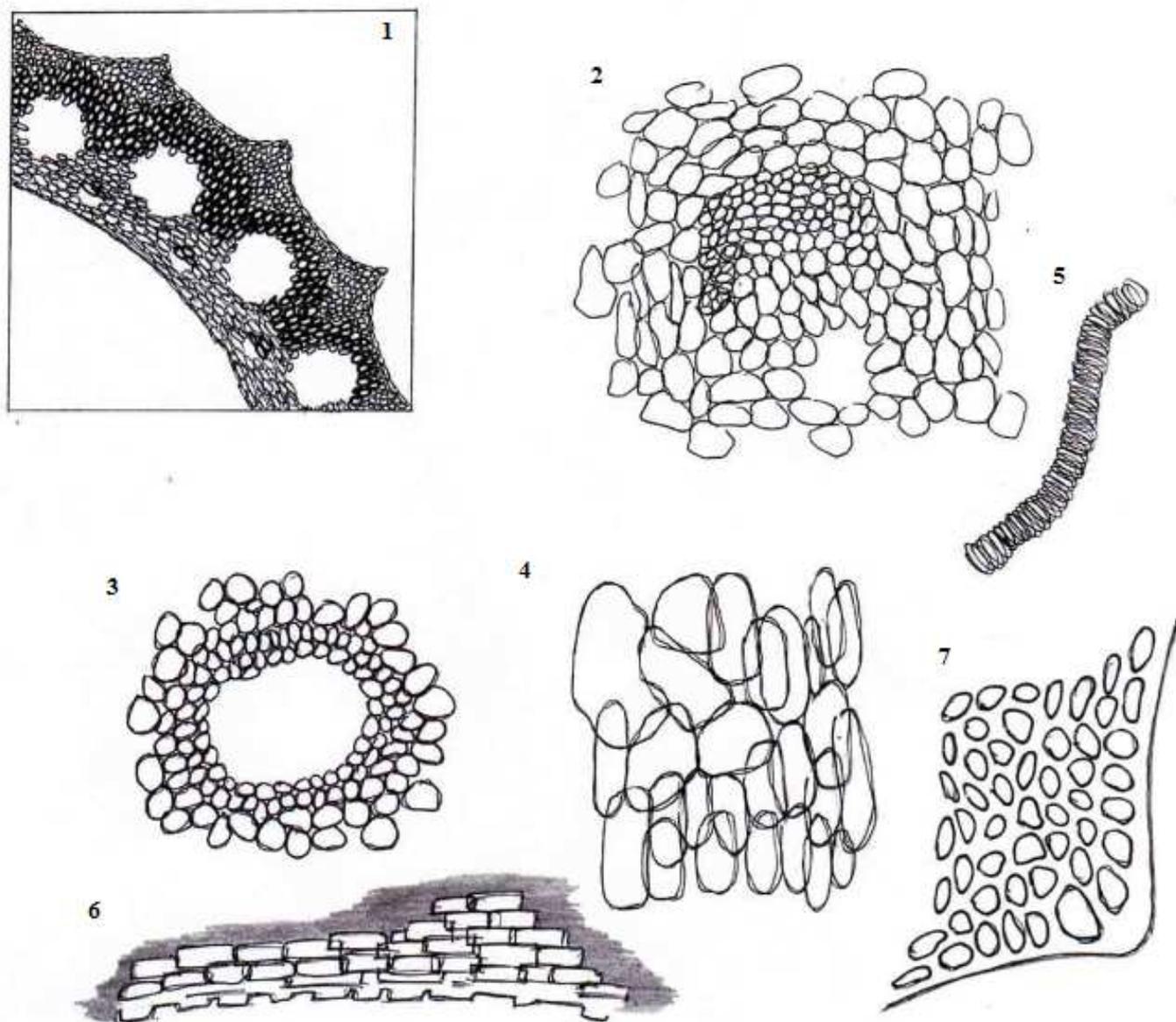
Fig. 84: Taninos negativos.
(400x). Tinción: Sulfato férrico.



Fig. 85: Saponinas negativo
(400x). Tinción: Acido sulfúrico.

2.4 Cartilla micrográfica de *Equisetum arvense*.

Se presentan las figuras que resumen los caracteres distintivos de la droga cruda.



CARTILLA NO. 3 (1) Acercamiento de corte transversal de tallo de *Equisetum arvense*. Nótese los aerénquimas en la estructura, estructura de tallo con centros vacíos. (2) Xilema y floema. (3) Aerénquimas del tallo. (4) Células parenquimatosas. (5) Haz del xilema helicoidal. (6) Epidermis uniestratificada de células cadrangulares planas. (7) Colénquima.

3. *Wigandia urens* var. *caracasana*

3.1 Descripción diagnóstica: Arbusto erguido, no muy ramoso que podremos identificar por sus grandes hojas pelosas y sus flores violáceas. Tallo acanalado de 5-60 cm de largo, indentado en la base y agujas en el peciolo. Las hojas son alternas, grandes, ovaladas, pubescentes y pegajosas de 2-5 metros de alto, con pelusilla blanca y bicrenadas en el centro. Las flores moradas y acapanadas de 1-2 cm de ancho (Figura 86). La muestra seca lista para su uso es quebradiza, fragmentada, de consistencia dura, en ella se encuentran todas las partes de la planta (Figura 87) (Anexo No. 6). Se preparó e identificó el ejemplar de herbario, para el Herbario Biología Guatemala (BIGU), Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala (Anexo No. 7).



Fig. 86: Ejemplo de material botánico de *Wigandia urens* var. *caracasana*.



Fig. 87: Droga seca de *Wigandia urens* var. *caracasana*.

3.2 Caracteres micromorfológicos e histológicos para identificar la droga cruda de *Wigandia urens* var. *caracasana*.

3.2.1 Diafanizado de la hoja de *Bougainvillea* spp.

En la hoja se observó que la nervación es de tipo anastomosada y reticulada (Figura 88). Además se visualizaron los elementos traqueales en la nervadura central de forma helicoidal (Figura 89). En el envés de la hoja se observó mayor cantidad de tricomas. La mayoría de tricomas era de tipo urticante y en menor proporción de tipo glandular (Figuras 90 a 94). Se observaron estomas de tipo anomocítico (Figura 97) así como acúmulos de cristales de oxalato de calcio dispersos en la hoja y la cabeza de los tricomas (Figura 95).



Fig. 88: Nervación anastomosada reticulada. (100x). Tinción: Safranina al 1%.



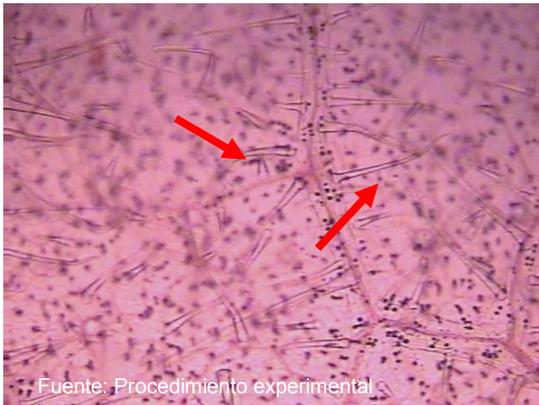
Fig. 89: Elementos traqueales en la nervadura central. (400x). Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 90: Base del tricoma urticante. (400x). Tinción: Safranina al 1%.

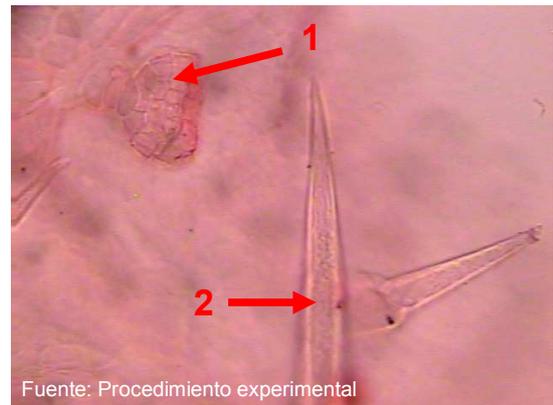


Fig. 91: Tricomas urticantes. (100x). Tinción: Safranina al 1%.



Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 92: Tricomas unicelulares. (100x). Tinción: Safranina al 1%.



Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 93: (1) Tricoma glandular pluricelular, (2) Tricoma unicelular. (400x). Tinción: Safranina al 1%.



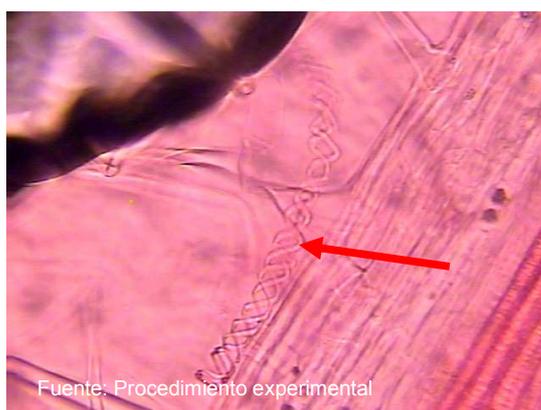
Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 94: Tricomas glandulares pluricelulares. (400x). Tinción: Safranina al 1%.



Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 95: Cristales de Oxalato de calcio. (400x). Tinción: Safranina al 1%.



Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 96: Haces del xilema helicoidal. (400x). Tinción: Safranina al 1%.



Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 97: Estomas anomocíticos. (400x). Tinción: Safranina al 1%.

3.2.2 Disociado del tallo de *Wigandia urens* var. *Caracasana*

En el tallo se encontraron principalmente tricomas. La mayoría de tricomas era de tipo urticante (Figura 107) y en menor proporción de tipo glandular pluricelular, con oxalato de calcio en su cabeza (Figuras 98, 99, 104 y 105). Se observaron además tricomas unicelulares en el borde de la hoja (108 y 109). Se visualizaron estomas anomocíticos (Figuras 110 y 111).



Fig. 98: Base del tricoma glandular. (400x). Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 99: Base del tricoma glandular. (400x). Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 100: Cristales de oxalato de calcio en nervación y en tricomas. (100x). Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 101: Cristales de Oxalato de calcio en tricomas. (400x). Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 102: Durasas de Oxalato de calcio. (400x). Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 103: Tricomas glandulares pluricelulares. (100x). Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 104: Tricomas glandulares. (400x). Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 105: Cuerpo multicelular del tricoma. (400x). Tinción: Safranina al 1%.

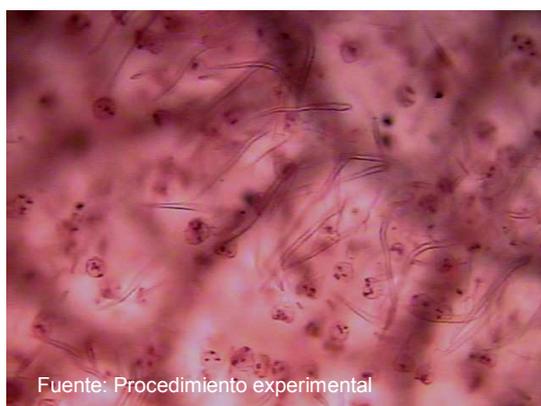


Fig. 106: Tricomas en cara adaxial. (100x). Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 107: Tricoma urticante. (400x). Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 108: Tricomas unicelular.
(400x). Tinción: Safranina al 1%.

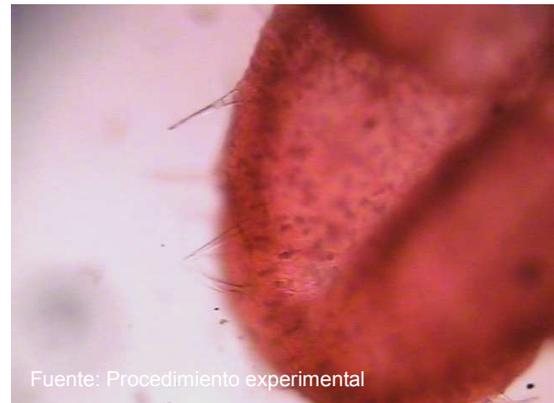


Fig. 109: Borde de la hoja.
(100x). Tinción: Safranina al 1%.

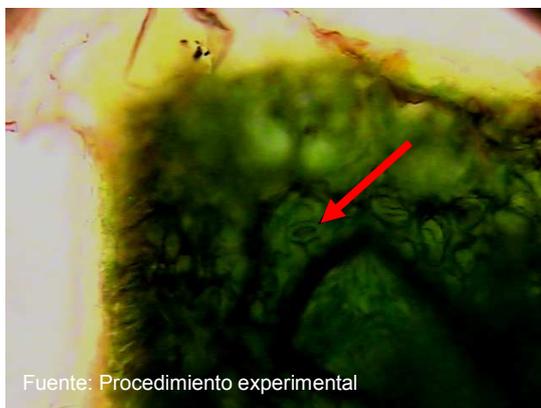


Fig. 110: Estoma de la hoja.
(100x). Tinción: Safranina al 1%.

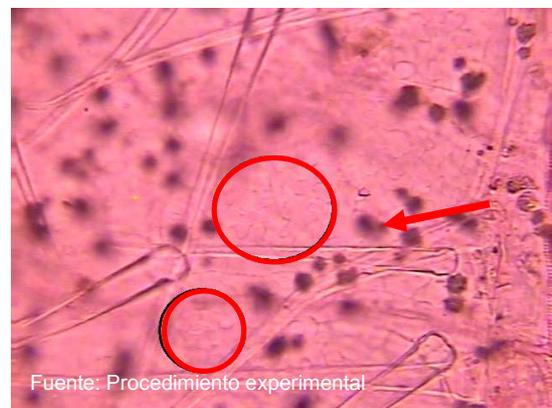


Fig. 111: Estomas anomocíticos.
(400x). Tinción: Safranina al 1%.

3.2.3 Estructuras micromorfológicas de *Wigandia urens var. caracasana*.

En la hoja se observaron tricomas de tipo glandular pluricelular y tricomas de tipo unicelulares con punta de aguja (Figuras 115, 116, 119, 120 y 124). Se pudo diferenciar el parénquima en empalizada y parénquima esponjoso (Figuras 117 y 118).

En el tallo se visualizaron diversas capas de tejidos histológicos, entre ellas una capa de colénquima (Figuras 121 y 122) así como parénquima medular primario y posiblemente secundario (Figura 123), xilema helicoidal y floema (Figuras 112, 125 y 126). Se observó una capa de epidermis de forma uniestratificada; además de la presencia de algunas células secretoras. (Figura 114 y 118).

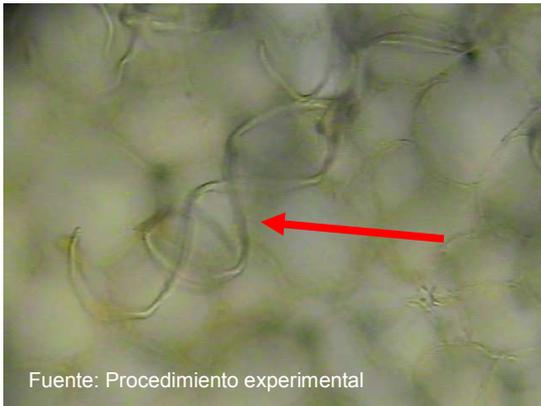


Fig. 112: Esclereidas en tallo. (400x). Tinción: Naranja G.



Fig. 113: Xilema secundario en tallo. (400x). Tinción: Lugol.



Fig. 114: Capa que recubre a la epidermis de la hoja. (400x). Tinción: Azul de Cresil al 1%



Fig. 115: Tricomas glandulares pluricelulares en hoja. (400x). Tinción: Dragendorff.

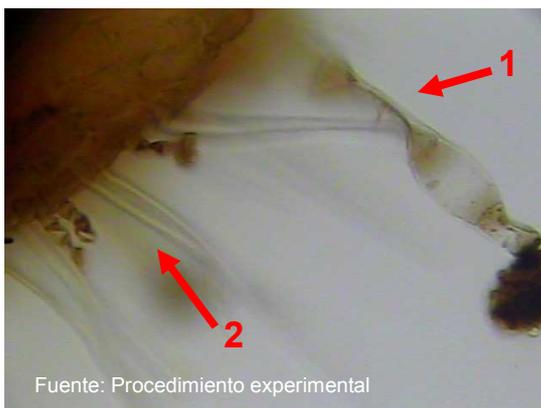


Fig. 116: (1) Tricoma glandular pluricelular y (2) tricoma unicelular. (400x). Tinción: Sudan III.

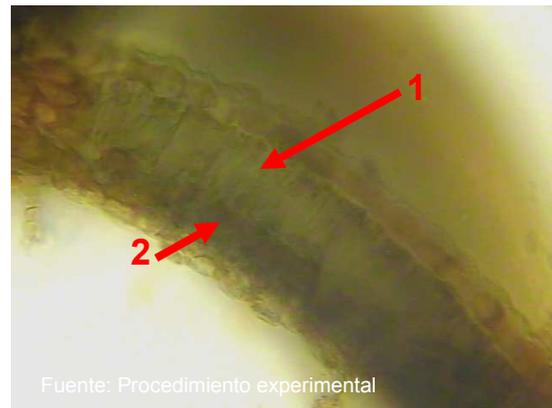


Fig. 117: (1) Células en empalizadas y (2) células esponjosas. (400x). Tinción: Dragendorff.

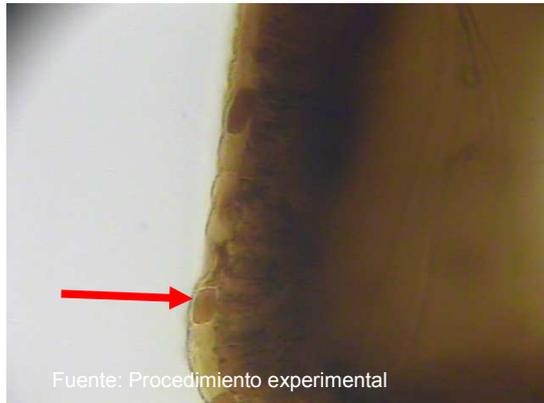


Fig. 118: Células secretoras de epidermis adaxial. (400x). Tinción: Sudan III.

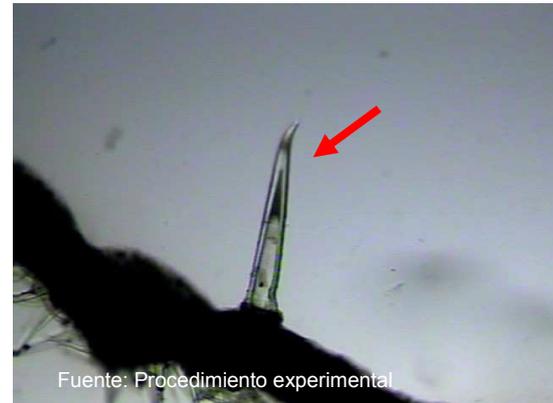


Fig. 119: Tricoma unicelular en aguja. (400x). Tinción: Sulfato férrico.



Fig. 120: Tricomas únicamente del lado interior de la hoja. (400x). Tinción: Dragendorff.

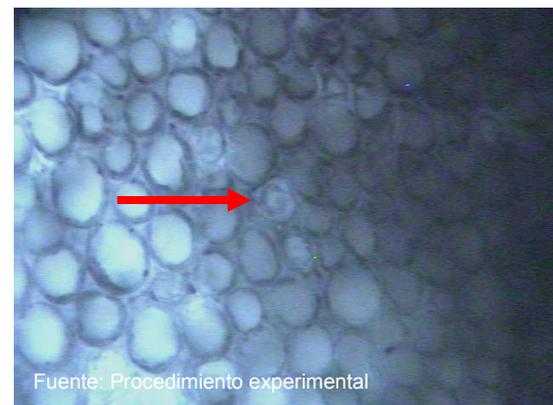


Fig. 121: Colénquima angular. (400x). Tinción: Azul de Cresil al 1%.

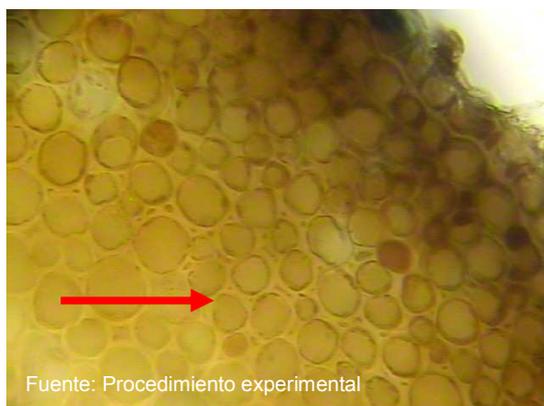


Fig. 122: Colénquima. (400x). Tinción: Naranja G

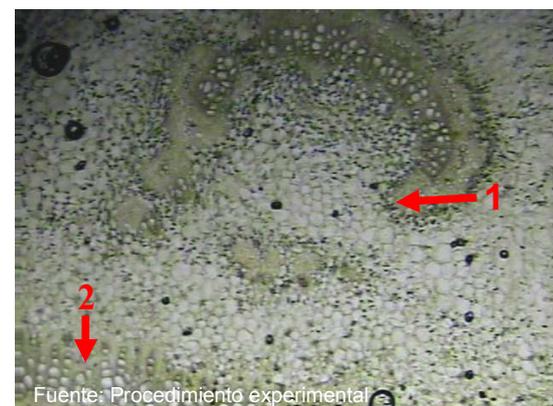
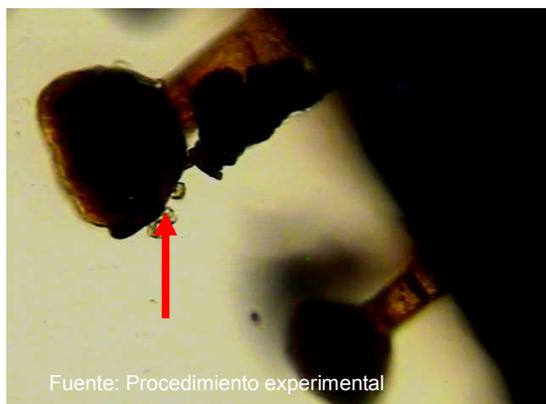


Fig. 123: (1) Parénquima medular primario y (2) posible secundario en tallo. (400x). Tinción: Sulfato férrico.



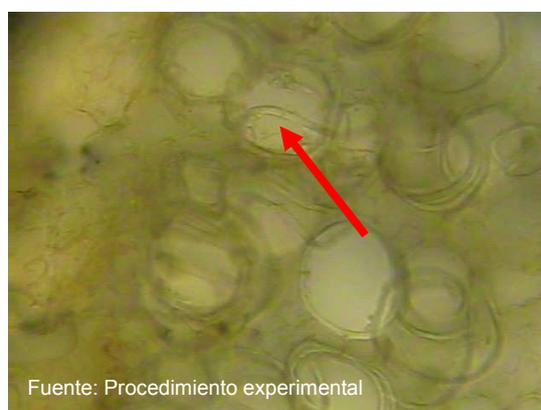
Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 124: Tricoma glandular. (400x). Tinción: Dragendorff.



Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 125: (1) Xilema, (2) floema y (3) parénquima esponjoso. (100x). Tinción: Sulfato férrico.



Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 126: Xilema helicoidal. (400x). Tinción: Naranja G.

3.3 Tamizaje fitoquímico de *Wigandia urens* var. *caracasana*.

Se evidenció la reacción positiva para alcaloides en la epidermis de la hoja y en algunos tricomas (Figura 127 y 128), células de la médula y en los tricomas del tallo (Figuras 133). Además se evidenció la reacción positiva para almidones en la hoja en el parénquima en empalizada (Figura 129) y a lo largo de todo el corte del tallo (Figura 138). También se encontró la reacción positiva para taninos en el parénquima de la nervadura central de la hoja (Figura 130); además del xilema y células de la médula del tallo (Figura 136). Los aceites esenciales están presentes en los tricomas de la hoja y tallo (Figuras 132 y 134). Por último, los mucílagos resultaron negativos para la hoja, mientras que en el tallo se encontraron mucílagos en las células de la médula (Figuras 131 y 136).

3.3.1 Tamizaje fitoquímico de hoja de *Wigandia urens* var. *caracasana*.

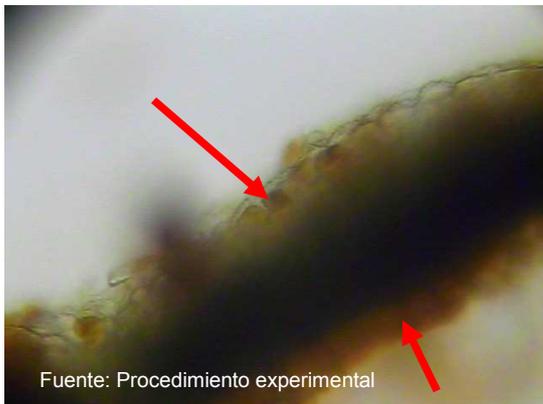


Fig. 127: Alcaloides positivo en epidermis. (400x). Tinción: Dragendorff.



Fig. 128: Alcaloides positivos en tricomas (400x). Tinción: Dragendorff.



Fig. 129: Almidones positivo en parénquima en empalizada. (400x). Tinción: Lugol.

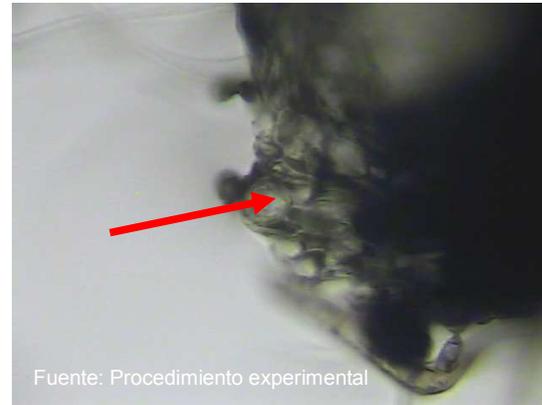


Fig. 130: Taninos positivo. (400x). Tinción: Sulfato férrico.

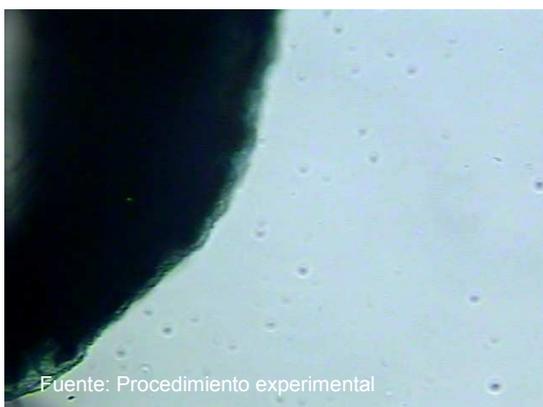


Fig. 131: Mucilagos negativo. (400x). Tinción: Azul de Cresil al 1%.



Fig. 132: Aceites esenciales positivos en tricomas glandulares. (400x). Tinción: Sudan III.

3.3.2 Tamizaje fitoquímico de tallo de *Wigandia urens* var. *caracasana*.



Fig. 133: Alcaloides positivo dentro de las células de la médula, parénquima de reserva y xilema. (400x). Tinción: Dragendorff.



Fig. 134: Aceites esenciales en tricomas. (400x). Sudán III.

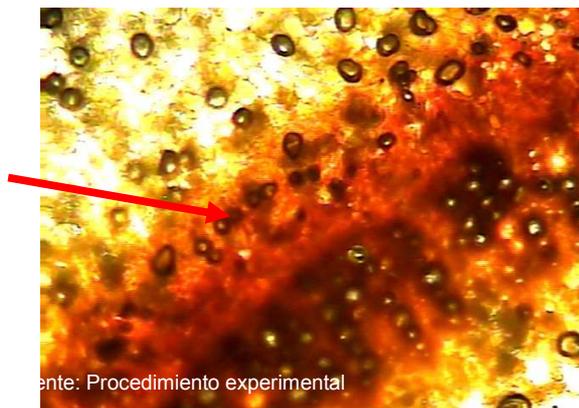


Fig. 135: Aceites esenciales en tejido vascular. (400x). Sudán III.

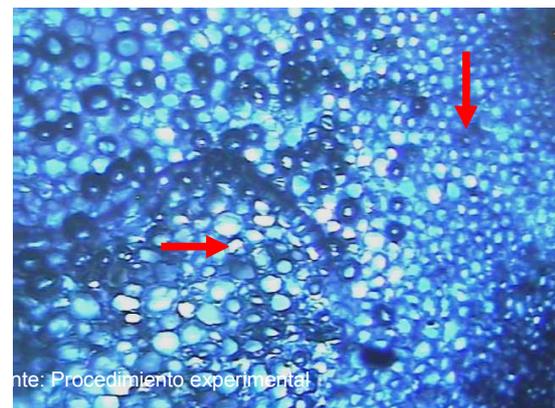


Fig. 136: Mucílagos positivo. (400x). Tinción: Azul de Cresil al 1%.

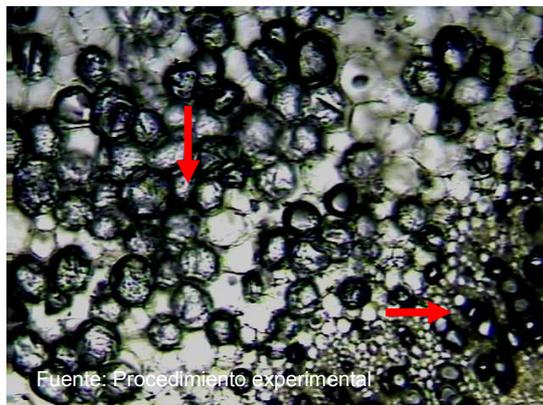


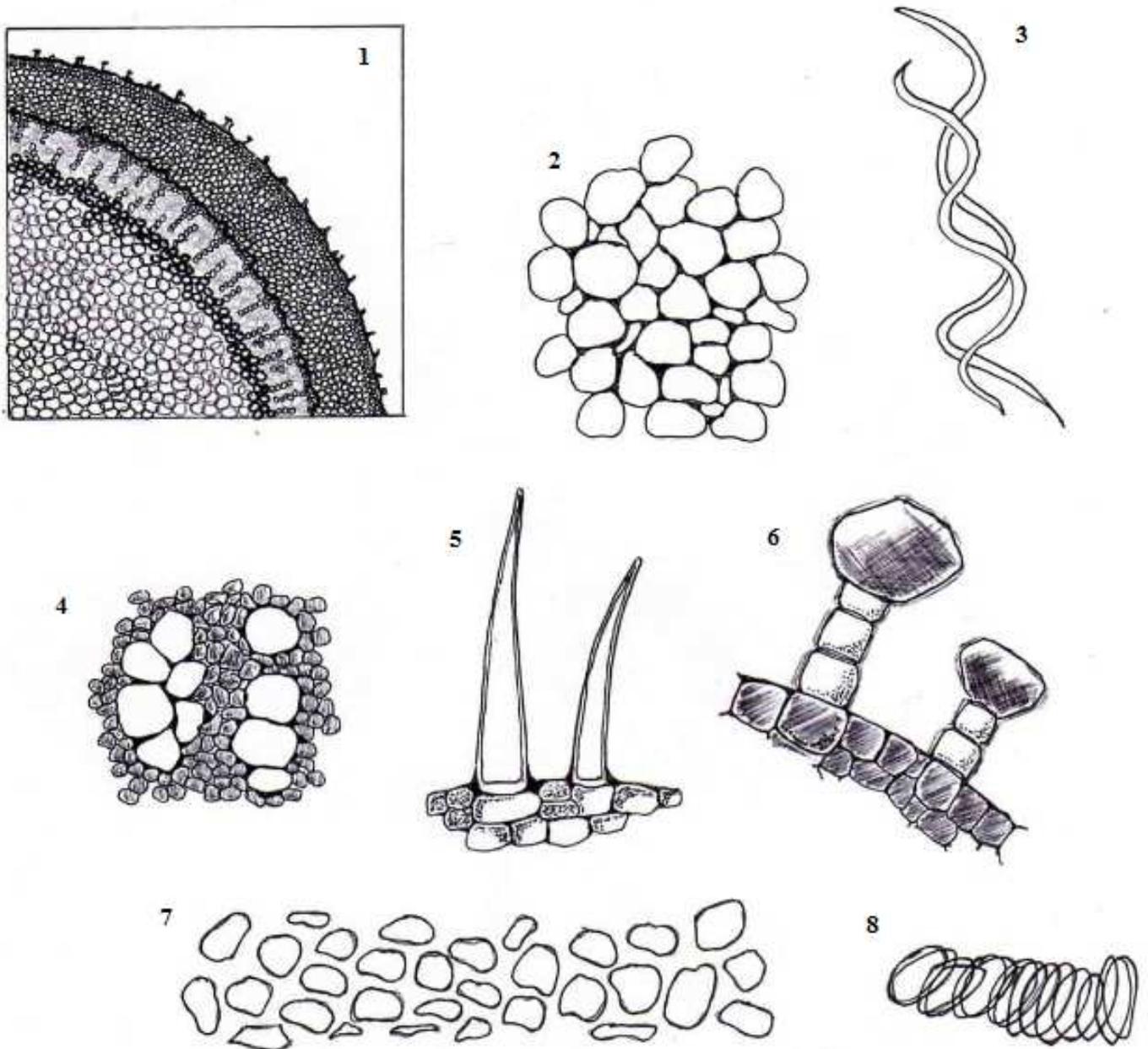
Fig. 137: Taninos positivo en xilema y médula central. (400x). Tinción: Sulfato férrico.



Fig. 138: Almidones positivo dispersos a lo largo del corte. (400x). Tinción: Lugol.

3.4 Cartilla micrográfica del tallo de *Wigandia urens* var. *caracasana*

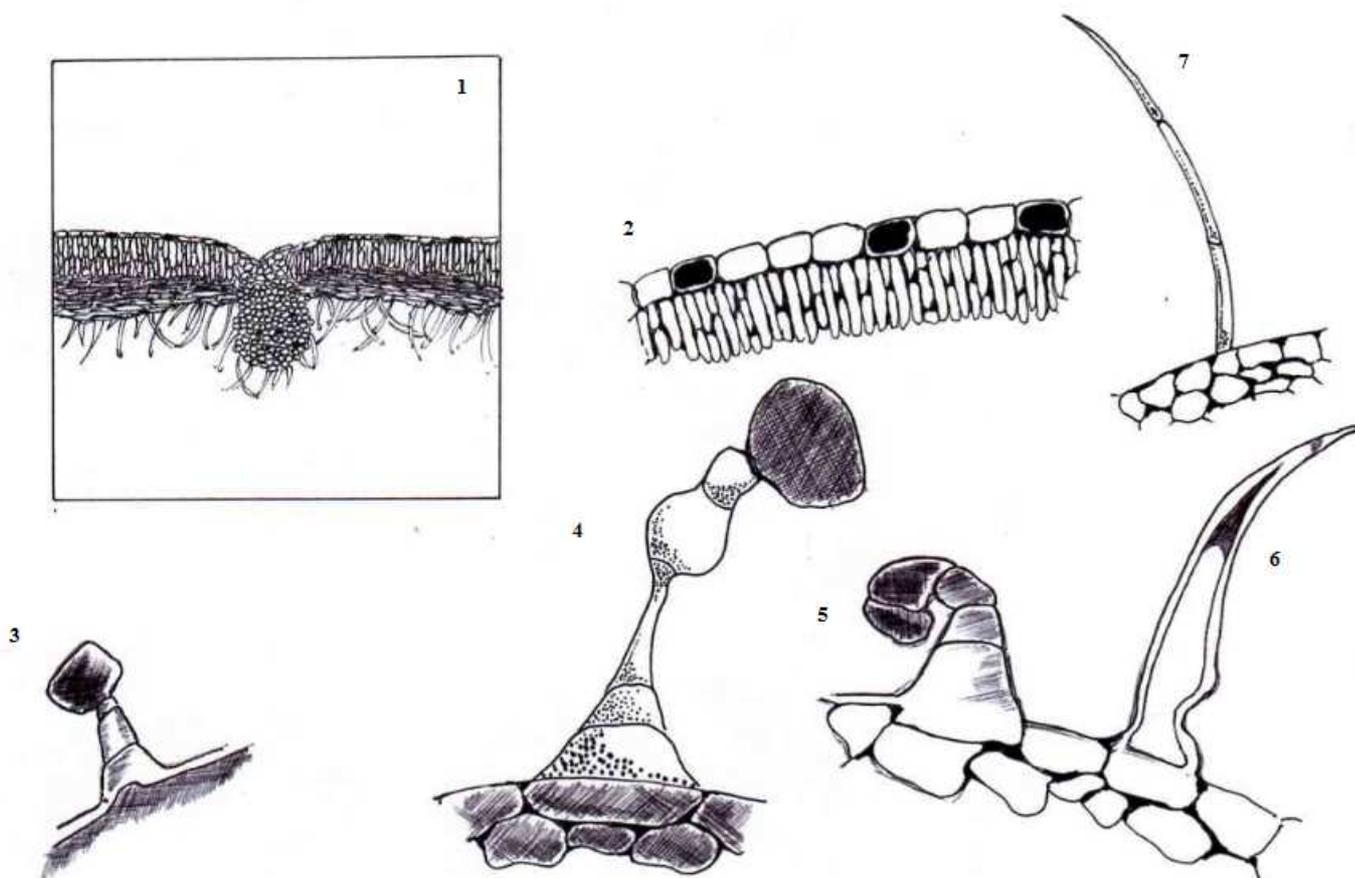
Se presentan las figuras que resumen los caracteres distintivos de la droga cruda.



CARTILLA NO. 4 (1) Acercamiento de corte transversal de tallo de *Wigandia urens*. Nótese la diferenciación de capas superficiales. (2) Parénquima esponjoso. (3) Esclereidas. (4) Xilema secundario. (5) Tricomas unicelulares cónicos. (Basados en esquemas de Payne, 1978). (6) Tricomas glandulares. (7) Colénquima angular. (8) Haces del Xilema helicoidal.

3.5 Cartilla micrográfica de la hoja de *Wigandia urens* var. *caracasana*

Se presentan las figuras que resumen los caracteres distintivos de la droga cruda.



CARTILLA NO. 5 (1) Acercamiento de corte transversal de hoja de *Wigandia urens*. Nótese la gran cantidad de tricomas en envés. (2) Epidermis axial con células secretoras en la epidermis. Debajo capa de células de parénquima en empalizada. (3) Tricoma glandular. (4) Tricoma pluricelular glandular. (5) Tricoma pluricelular. (6) Tricoma unicelular cónico. (7) Tricoma pluricelular acicular.

4. *Tagetes erecta*

4.1 Descripción diagnóstica: Es una planta erecta con flor compuesta, muy aromática, y cuyas tonalidades van desde color naranja hasta amarillo. Posee una altura desde 30 hasta 110 cm. Sus hojas son opuestas, pinnadas, subdivididas en segmentos lanceolados o dentados y ciliados (Figura 139). La muestra seca lista para su uso es quebradiza, fragmentada, de consistencia dura, en ella se encuentran todas las partes de la planta (Figura 140) (Anexo No. 6). Se preparó e identificó el ejemplar de herbario, para el Herbario Biología Guatemala (BIGU), Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala (Anexo No. 7).



Fig. 139: Ejemplar del material botánico



Fig. 140: Muestra patrón de droga seca

4.2 Caracteres micromorfológicos e histológicos para identificar la droga cruda de *Wigandia urens* var. *caracasana*.

4.2.1 Diafanizado de la hoja de *Bougainvillea* spp.

La hoja presenta una nervación reticulada y abierta (Figura 141), posee células epidérmicas uniestratificadas (Figuras 142 y 144). Se pudieron visualizar acúmulos de cristales de oxalato de calcio a nivel del parénquima en empalizada (Figura 143). Posee estomas de tipo anomocítico (Figura 144).



Fig. 141: Nervadura reticulada abierta. (100x). Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 142: Células epidérmicas. (400x). Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 143: Células en empalizada gruesa, cara adaxial. (400x). Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 144: Estomas anomocíticos. (400x). Tinción: Safranina al 1%.

4.2.2 Disociado del tallo de *Tagetes erecta*.

El tallo posee células de epidermis agrupada, rectangular con bordes irregulares (Figura 145). Se hallaron células del esclerénquima (Figuras 146 y 148) y células del parénquima (Figuras 147 y 150). Se observaron fibras del floema, xilema de forma helicoidal (149, 152, 156 y 157), placas perforadas (Figura 151) y tricomas de tipo unicelulares y pluricelulares (Figuras 153 y 154).



Fig. 145: Células de la epidermis. (400x). Tinción: Sulfato férrico.



Fig. 146: Esclerénquima. (400x). Tinción: Sulfato férrico.



Fig. 147: Células Parenquimatosas. (400x). Tinción: Sulfato férrico



Fig. 148: Esclereidas. (400x). Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 149: Fibras del floema. (400x).
Tinción: Sulfato férrico

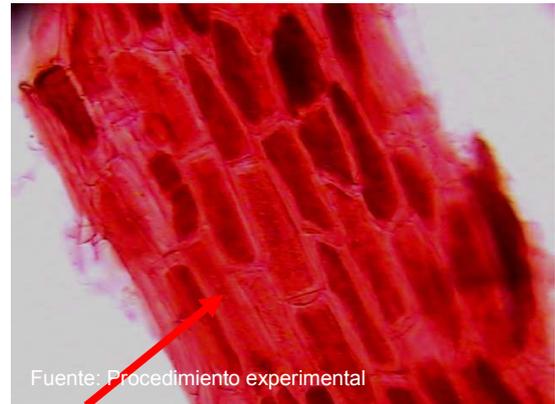


Fig. 150: Parénquima de almacenamiento (corcho). (400x). Tinción: Safranina al 1%.



Fig. 151: Placa perforada. (400x).
Tinción: Sulfato férrico.

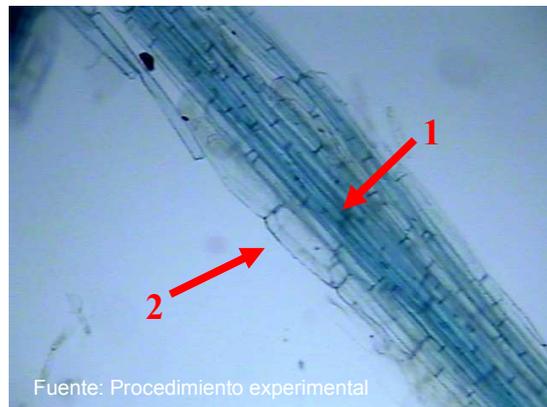


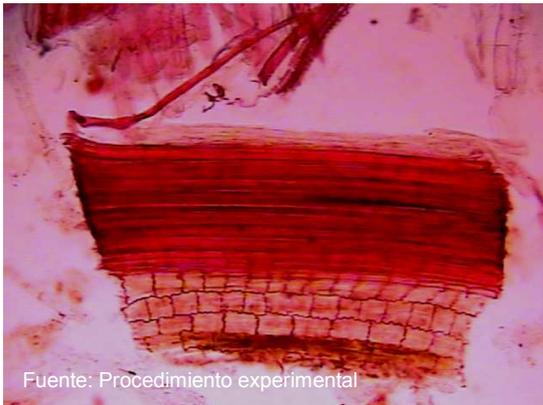
Fig. 152: (1) Rayos del xilema (2) células epidérmicas. (400x). Tinción: Azul de Cresil al 1%



Fig. 153: Tricoma.
(100x). Tinción: Sulfato férrico.



Fig. 154: Tricoma pluricelular de origen celular.
(400x). Tinción: Safranina al 1%.



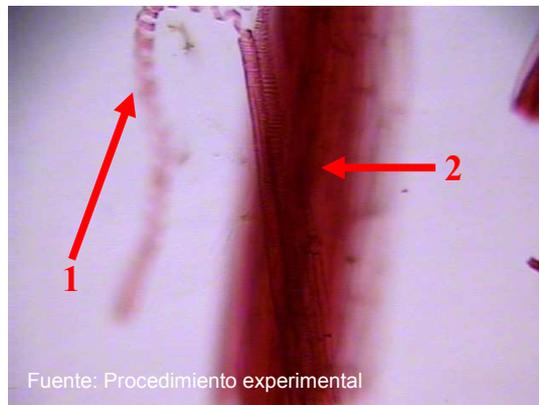
Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 155: Diferentes morfologías celulares. (100x).
Tinción: Safranina al 1%



Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 156: Xilema helicoidal. (400x). Tinción:
Sulfato férrico.



Fuente: Procedimiento experimental

Fig. 157: (1) Xilema y (2) floema. (400x).
Tinción: Safranina al 1%

4.2.3 Estructuras micromorfológicas de *Tagetes erecta*.

Se determinó que el tallo posee protuberancias de colénquima en cada uno de los vértices, intercalados con esclerénquima (Figura 158 y 159). Además se visualizó la capa de la subepidermis (Figura 162 y 169). También se visualizó el cilindro vascular, la médula central del tallo (Figuras 160 y 161); además del floema, placas perforadas y las estructuras del xilema de forma helicoidal (Figuras 163 – 166, 168). Se observaron tricomas en escasa cantidad (Figura 167).

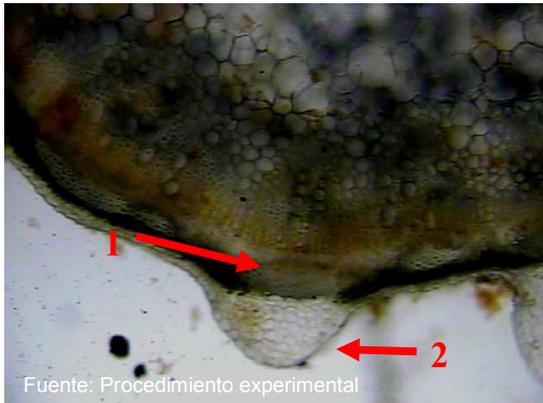


Fig. 158: (1)Capa de esclerénquima y (2) protuberancia de colénquima. (400x). Tinción: Lugol.



Fig. 159: Engrosamiento del colénquima. (400x). Tinción: Sudan III.

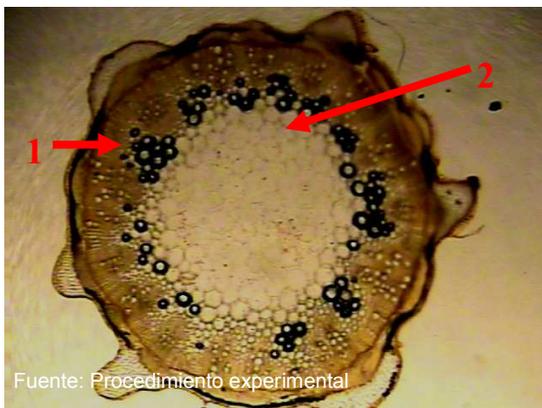


Fig. 160: (1) Cilindro vascular y (2) médula central. (400x). Tinción: Sudan III.



Fig. 161: Cilindro vascular unido. (400x). Tinción: Sudan III.

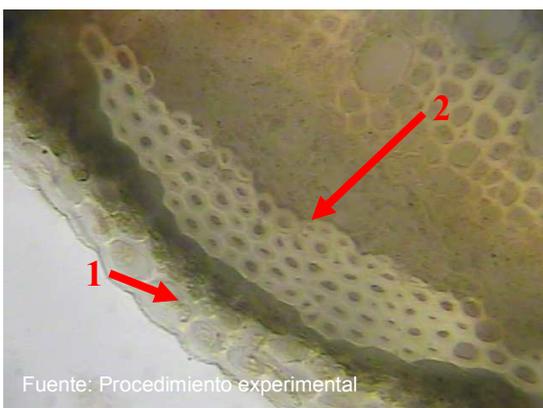


Fig. 162: Epidermis y esclerénquima. (400x). Tinción: Lugol.

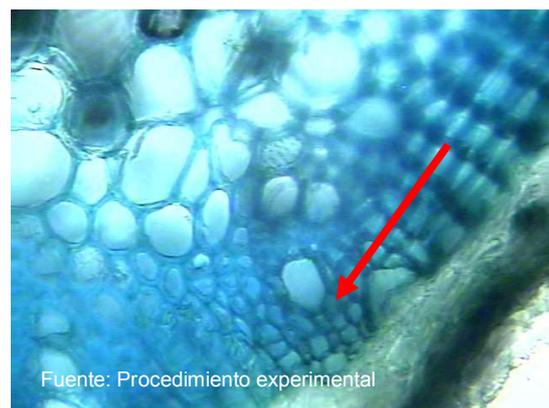


Fig. 163: Floema. (400x). Tinción: Azul de Cresil al 1%

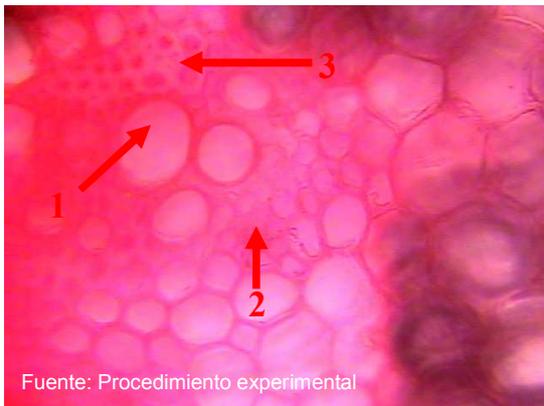


Fig. 164: (1) Xilema, (2) Floema rodeado de (3) esclerénquima. (400x). Tinción: Safranina al 1%



Fig. 165: Haces del xilema helicoidal. (400x). Tinción: Dragendorff.



Fig. 166: Placa perforada del tejido vascular. (400x). Tinción: Sulfato férrico.



Fig. 167: Tricomos del tallo. (400x). Tinción: Sulfato férrico.



Fig. 168: Tejido helicoidal del xilema. (400x). Tinción: Sulfato férrico



Fig. 169: Subepidermis del tallo. (400x). Tinción: Sulfato férrico.

4.3 Tamizaje fitoquímico de *Tagetes erecta*.

En la hoja se encontraron aceites esenciales en la epidermis (Figuras 170 y 172). Se hallaron almidones en los estomas (Figura 171) y alcaloides en el parénquima (Figura 173).

También se evidenció reacción levemente positiva para almidones en la epidermis (Figura 174); y mucílago positivos en el parénquima y subepidermis del tallo (Figuras 175 y 177). Los taninos se resultaron positivos para subepidermis del tallo (Figura 176). La reacción para aceites esenciales resultó positiva en el tejido vascular y la epidermis del tallo (Figura 178). Además se hallaron alcaloides en el parénquima (Figura 179).

4.3.1 Tamizaje fitoquímico de hoja de *Tagetes erecta*.

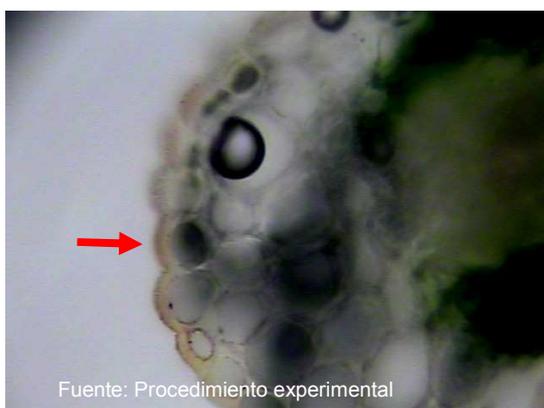


Fig. 170: Aceites esenciales en epidermis. (400x). Tinción: Sudan III.

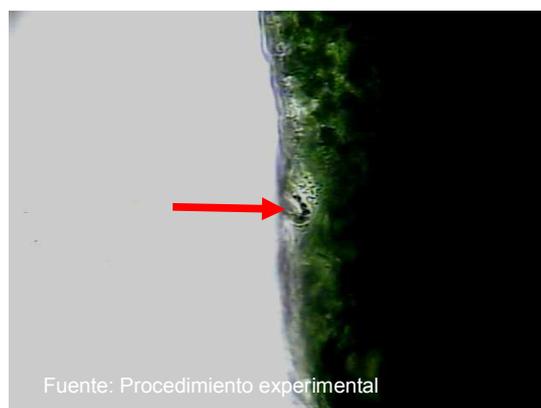


Fig. 171: Almidones en estomas. (400x). Tinción: Lugol

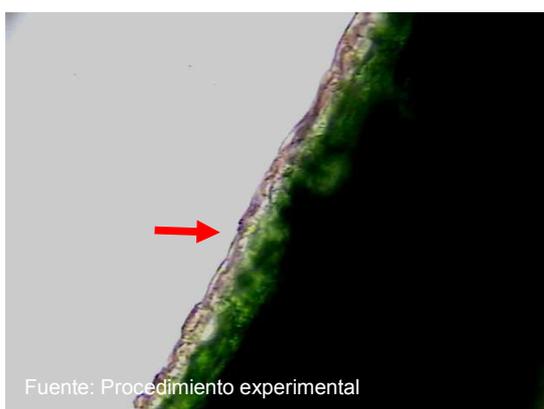


Fig. 172: Aceites esenciales en epidermis. (400x). Tinción: Sudan III.

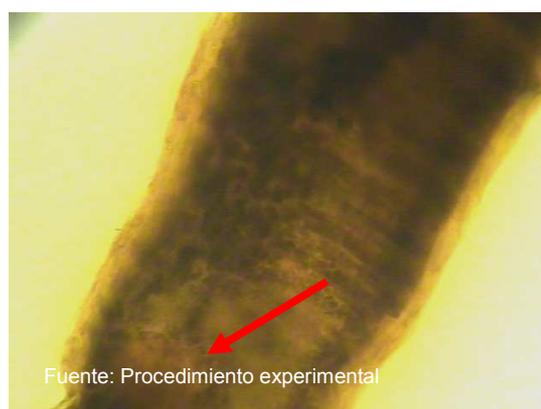


Fig. 173: Alcaloides en parenquima. (400x). Tinción: Dragendorff.

4.3.2 Tamizaje fitoquímico del tallo de *Tagetes erecta*.

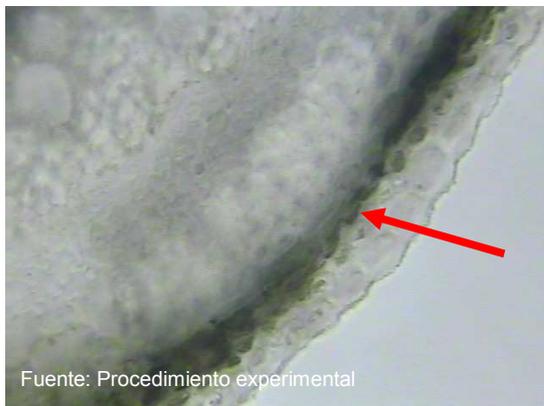


Fig. 174: Almidones levemente positivos. (400x).
Tinción: Lugol.

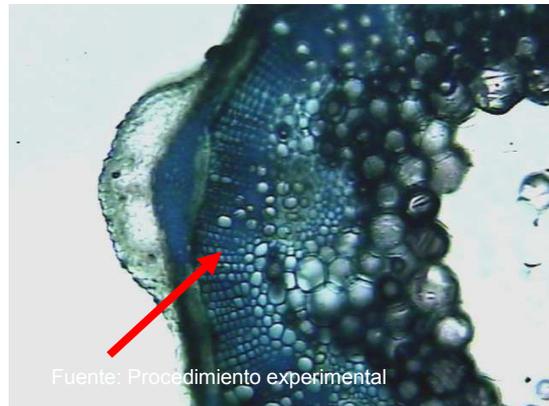


Fig. 175: Mucílagos positivos. (400x).
Tinción: Azul de cresil al 1%.



Fig. 176: Taninos positivos.
(400x). Tinción: Sulfato férrico.

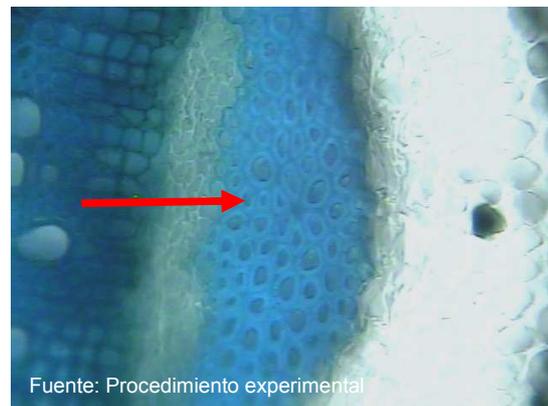


Fig. 177: Mucílagos positivos en esclerénquima.
(400x). Tinción: Azul de cresil al 1%.



Fig. 178: Aceites esenciales positivo en tejido vascular y epidermis. (400x). Tinción: Sudan III.

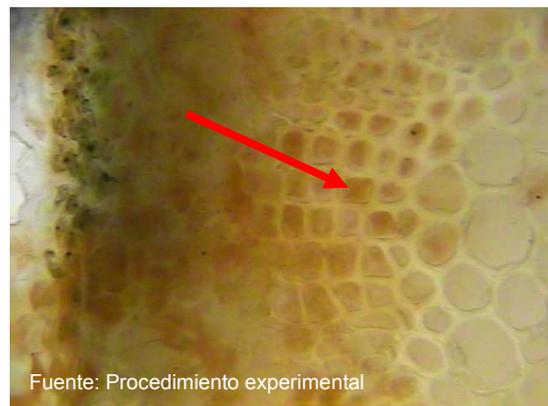
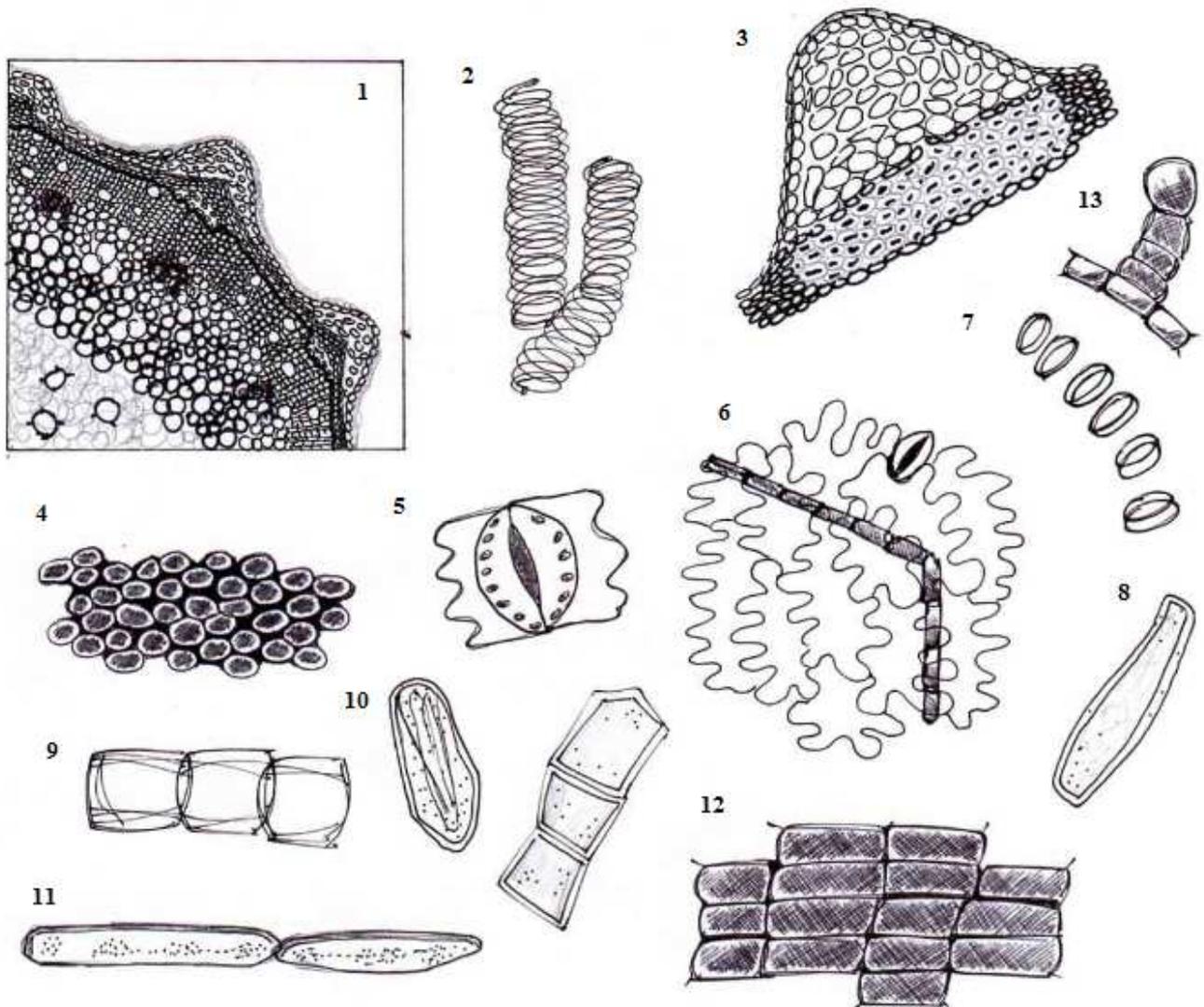


Fig. 179: Alcaloides positivos en células parenquimatosas. (400x). Tinción: Dragendorff.

4.4 Cartilla micrográfica del tallo de *Tagetes erecta*

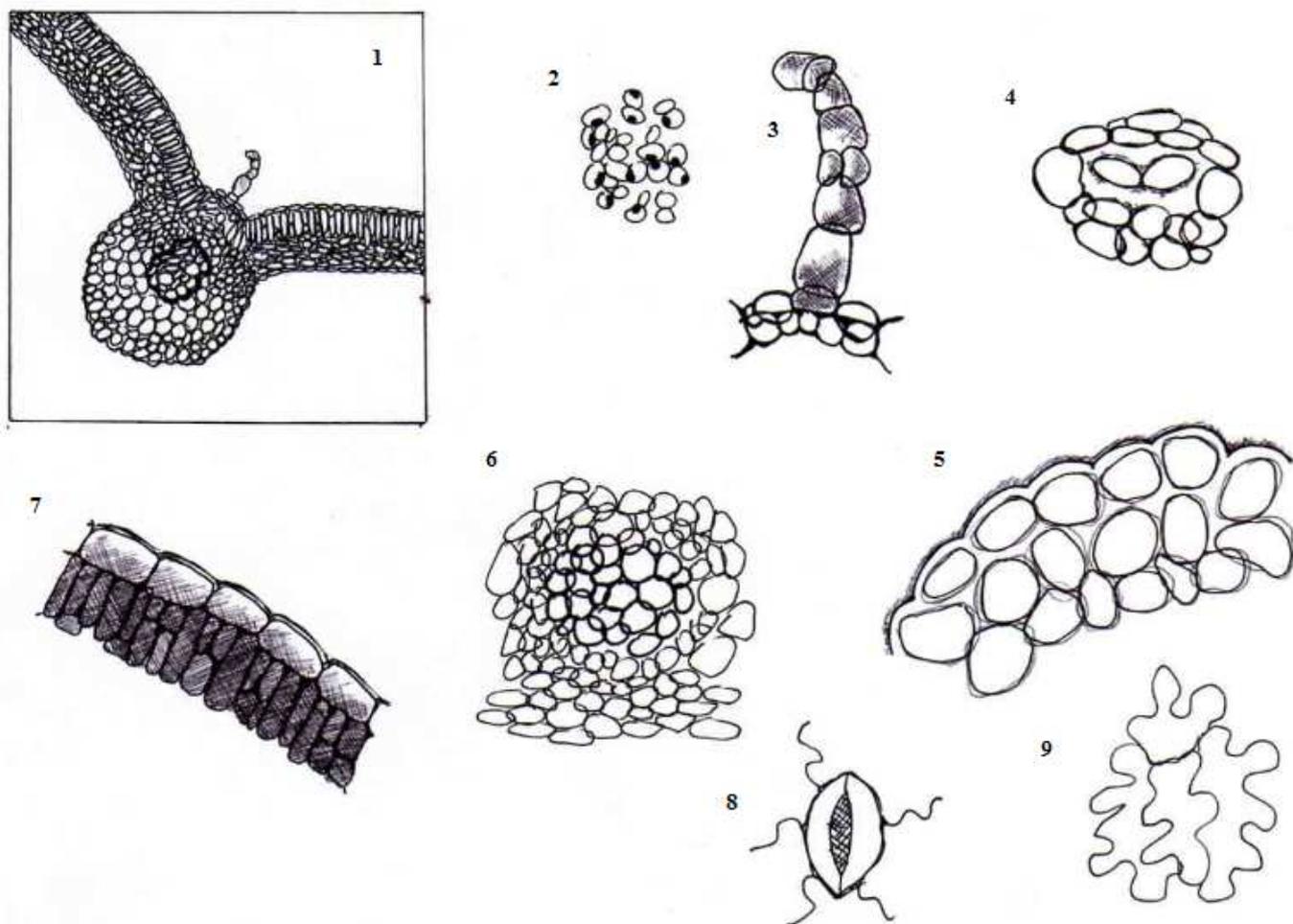
Se presentan las figuras que resumen los caracteres distintivos de la droga cruda.



CARTILLA NO. 6 (1) Acercamiento de corte transversal de tallo de *Tagetes erecta*. Nótese proyección de la capa de colénquima alrededor de la epidermis. (2) Elementos de xilema helicoidales. (3) Capa mas externa: epidermis, seguido de protuberancia de colénquima y células de esclerénquima. (4) Células del esclerénquima. (5) Estoma anomocítico. Nótese el poro estomático rodeado de las células oclusivas. (6) Células de la epidermis en vista superficial. (7) Tejido helicoidal del xilema. (8) Placa perforada del tejido vascular. (9) Células parenquimatosas. (10) Esclereidas. (11) Fibras del floema. (12) Parénquima de almacenamiento (células corcho). (13) Tricoma pluricelular.

4.5 Cartilla micrográfica de la hoja de *Tagetes erecta*

Se presentan las figuras que resumen los caracteres distintivos de la droga cruda.



CARTILLA NO. 7 (1) Acercamiento de corte transversal de hoja de *Tagetes erecta*. Nótese el tricoma único. (2) Gránulos de almidón. (3) Tricoma pluricelular. (4) Capa de colénquima debajo del tricoma único. (5) Capa de colénquima en la parte inferior de la nervadura central. (6) Xilema y floema. (7) Capa de mesófilo en empalizada cubierta por células epidérmicas. (8) Estoma anomocítico de 4 células. (9) Células de la epidermis en vista superficial.

Tabla No. 1

Resumen de las características microquímicas más importantes de 4 plantas de uso popular contra hongos fitopatógenos:

Planta / Prueba	<i>Bougainvillea</i> spp.	<i>Equisetum</i> spp.	<i>Wigandia urens</i> var. <i>Caracasana</i>	<i>Tagetes erecta</i> L.
Taninos	Negativos en hoja y tallo.*	Positivo.*	Positivo en xilema de la hoja y en xilema y médula central de tallo.*	Positivos en la subepidermis de la hoja.*
Mucílagos	Positivos en células esponjosas de la hoja. Positivo en xilema y parénquima del tallo.	Positivo en xilema y floema del tallo.	Negativo en hoja y positivos en xilema y floema de tallo	Positivos en xilema de la hoja y esclerénquima del tallo.
Almidones	Positivos en células empalizada de la hoja y levemente positivos dispersos en el tallo.	Levemente positivo dispersos en el tallo.	Positivo en células empalizada de la hoja y dispersos alrededor del tallo.	Levemente positivos a lo largo de la hoja, principalmente en estomas.
Aceites esenciales	Positivos en tricomas y epidermis de la hoja y tallo	Negativos en hoja y tallo.	Positivos en tricomas glandulares pluricelulares de tallo y hoja.	Positivo en tejido vascular y epidermis de la hoja y del tallo
Alcaloides	Positivo en xilema de la hoja y en floema y epidermis del tallo.	Positivo en xilema y aedenquimas del tallo.	Positivo en epidermis y tricomas pluricelulares de la hoja y dentro de las células de la médula, parénquima de reserva y xilema del tallo.	Positivos en células parenquimatosas del tallo.
Saponinas	Positivo.*	Positivo.*	Positivo.*	Positivo.*
Flavonoides	Negativo en hoja y tallo.*	Negativo en hoja y tallo.*	Positivo.*	Positivo.*

Fuente: Datos experimentales

*: Resultado confirmado con prueba en tubo, no se pudo determinar su presencia en pruebas histoquímicas (Anexo No. 5).

5. Determinación de Humedad y Cenizas Totales del material botánico en estudio.

Tabla No. 2

Datos de Porcentaje de Humedad del material botánico

	<i>Bougainvillea</i> spp.	<i>Equisetum</i> <i>arvense</i>	<i>Wigandia</i> <i>urens</i> var. <i>Caracasana</i>	<i>Tagetes</i> <i>erecta</i>
Tiempo de secado (hrs.)	56	56	48	48
Peso (gr.)	8.64	7.12	6.55	7.64
% Humedad	6.77	7.48	8.55	6.86
Límite autorizado *	≤10%	≤10%	≤10%	≤10%

* World Health Organization. *Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials*, World Health Organization, Geneva, Switzerland; 1998. Disponible en <http://www.who.org>

Tabla No. 3

Determinación de Porcentaje de Cenizas Totales (%CT) de las muestras. ¹

	Peso 1	Peso 2	Peso 3	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	% CT1	% CT2	% CT3	Límite Autorizado *
<i>Bougainvillea</i> spp.	24.8059	29.9447	27.4202	1.0289	1.0832	1.0726	10.2	10.5	10.0	≤10%
<i>Equisetum</i> <i>arvense</i> ²	24.8127	29.9520	27.4280	1.0103	1.0138	1.0125	10.8	10.1	10.9	≤10%
<i>Wigandia</i> <i>urens</i> var. <i>Caracasana</i>	29.5530	25.0979	22.5039	1.0087	0.5807	1.0120	11.1	9.5	10.4	≤10%
<i>Tagetes</i> <i>erecta</i>	29.7660	29.5043	28.0828	1.0089	1.0061	1.0017	10.2	10.1	10.1	≤10%

* World Health Organization.

¹ Cálculo para cenizas totales:
$$\frac{(\text{Peso X} + \text{Peso Muestra}) - \text{Peso crisol vacío}}{\text{Peso Muestra}} * 100$$

² Para el material de *Equisetum arvense* al finalizar la marcha para cenizas totales se halló que posee Ceniza Ácidas, razón por lo cual se llevó a cabo este procedimiento: Se extrajo la masa quemada (Ceniza ácida) con agua caliente; luego se pasó este residuo insoluble por papel filtro libre de ceniza, el cual se incineró posteriormente.

VIII. DISCUSION

El presente estudio contribuyó a definir los caracteres sobre los que debe basarse la identificación y control de calidad de las especies *Bougainvillea* spp, *Equisetum arvense*, *Tagetes erecta* y *Wigandia urens* var. *Caracasana* en los laboratorios fitofarmacéuticos (25).

Las especies vegetales que se utilizan para control de plagas se caracterizan por la presencia de determinados compuestos de origen natural, los cuales forman parte de las estrategias defensivas de las plantas y se consideró necesario evaluar la presencia de metabolitos secundarios específicos, que le confieran a las plantas en estudio, su actividad plaguicida (8).

En el material botánico de *Bougainvillea* spp se determinó en el diafanizado que la nervación de la hoja es abierta (Los nervios grandes finalizan libremente en el mesófilo en lugar de estar conectados por anastomosis con otros nervios) y reticulada (Nervios secundarios en la lámina foliar que forman un sistema anastomosado, pareciéndose el conjunto a una red). Los estomas son de tipo anomocítico (sin células anexas) en el haz y en el envés (Fig. 3-5) (29).

Al realizar el disociado se encontró que presenta varios acúmulos de cristales aciculares, constituidos de oxalato de calcio, los cuales se agrupan en haces denominados ráfides o rafidios; estos actúan como agujas, pinchando y lesionando las estructuras celulares del animal o insecto que ataca a la planta. (Fig. 6,7) (29).

Las características micromorfológicas prominentes de *Bougainvillea* spp es que posee tricomas glandulares pluricelulares, tanto en la hoja como en el tallo; los cuales actúan como barreras que dificultan el acceso o el movimiento de los insectos. Los tricomas glandulares además, eliminan compuestos pegajosos que atrapan a los insectos o sustancias tóxicas que los irritan, matan o modifican su comportamiento (Fig. 31,32,44-46) (29).

El tamizaje fitoquímico del material vegetal mostró altas cantidades de aceites esenciales en la epidermis del tallo, a lo largo de toda la nervadura central de la hoja en forma de depósitos y menor proporción en los tricomas de hoja y tallo. Los aceites esenciales son el constituyente fundamental de los principios odoríferos de la planta, los cuales actúan como repelentes de insectos (Fig. 51, 52, 54,57) (8, 29,30).

Presentó además alcaloides, especialmente en el floema y epidermis del tallo y hoja; metabolitos en forma de sales que regularmente se encuentran en las plantas combinados con los ácidos más simples de los vegetales y que le confieren a la planta su acción antibacteriana (Fig. 53,55) (8,30).

Se encontraron también almidones en las células empalizada de la hoja y dispersos a lo largo del corte del tallo, constituyente de la reserva energética y del tejido de sostén de las plantas; este es muy difícil de digerir, algo que la mayoría de los animales e insectos aprenden rápidamente (Fig. 49,56) (8,30).

Además se evidenció una reacción positiva para los mucílagos en xilema y parénquima del tallo, y en la hoja, únicamente en las células del parénquima esponjoso; metabolito relacionado con las características de protección de las plantas, debido a que estos se tornan muy viscosos al contacto con el agua fría, se hinchan y forman geles. Por el contrario, en agua caliente se disuelven formando soluciones coloidales, que igualmente se gelifican al enfriar; lo cual le confiere protección contra los microorganismos fitopatógenos y su capacidad de retención de agua (Fig. 50,60) (8,30).

El material botánico de *Equisetum arvense*, sobresalieron del disociado de tallo las células oclusivas de los estomas, células de la epidermis con forma de medialuna, que funcionan como órganos de respiración; éstos forman el estoma y regulan el tamaño de su apertura llamada ostiolo. En conjunto, las células oclusivas y anexas conforman el aparato estomático (Fig. 68) (7,10).

La característica prominentes de la micromorfología de *Equisetum arvense* es que posee aerénquimas en el tallo, constituido de células del parénquima, asociadas a los tejidos de conducción, que sirven tanto para el almacenamiento de sustancias de reserva como para el transporte; anexas a elementos vacíos que le confieren resistencia estructural al tallo. Otra característica, es que el tallo posee una placa abundante de colénquima con células de esclerénquima intercaladas, en cada uno de los vértices del tallo, formando complejos de células que otorgan a la planta resistencia a los estiramientos, torceduras, pesos y presiones. En algunos casos la fortaleza y

elasticidad de las paredes secundarias de ciertas células sirven como medio defensivo, ya que otorgan a la planta resistencia contra las partes bucales, garfios y oviposidores de los insectos (Fig. 70-72,76) (30).

Además la epidermis posee una capa extra de células uniestratificadas, cuadrangulares y planas, que le confieren protección a las células del colénquima del tallo (Fig. 75) (29).

El material botánico de *Equisetum arvense* se considera una planta tóxica por su alto contenido de alcaloides en xilema y aerénquimas del tallo, que le confieren a la planta su acción antibacteriana. Además se encontraron almidones en escasa cantidad en el colénquima del tallo, lo cual evidencia la presencia de otros mecanismos de metabolismo energético y de sostén en esta planta (Fig. 81,83) (8,30).

Además mostró reacción positiva para los mucílagos en xilema y floema del tallo, los cuales le confieren las características de protección (Fig. 82) (8,30).

Se determinó en diafanizado de *Wigandia urens var. caracasana* que la nervación de la hoja es anastomosada (Nerviación grande de la hoja caracterizada por nervios que se unen) y reticulada (Nervios secundarios en la lámina foliar que forman un sistema anastomosado, pareciéndose el conjunto a una red). Los estomas son de tipo anomocítico (sin células anexas) en el haz y en el envés (Fig. 88,97) (29).

En el disociado se determinó la presencia de tricomas de tipo urticante (Que producen picor o escozor), una de sus defensas contra especies fitopatógenas. Además se observó la presencia de drusas de oxalato de calcio en las inervaciones y en la cabeza de los tricomas glandulares, confiriendo otro mecanismo de defensa (pinchan y lesionan) (Fig. 100-107) (29).

Las características micromorfológicas prominentes del tallo y la hoja es que ambos poseen dos tipos de tricomas, uno de tipo glandular pluricelular y otro de tipo unicelular en aguja; ambos para defensa de insectos. Sin embargo una característica particular en la hoja, es que los dos tipos de tricoma sólo crecen en el lado interior de ella. Además el tallo posee una capa densa con 2 tipos de colénquima: angular (el engrosamiento de la pared está localizado en los ángulos de la célula) y laminar (los engrosamientos están localizados en las paredes tangenciales interna y externa). Además se encontró una capa extra de células que recubren a la epidermis del tallo, la cual posee células secretoras (Fig. 115-122) (29).

El tamizaje fitoquímico de *Wigandia urens* var. *caracasana*, se encontró alcaloides en abundante cantidad dentro de las células de la médula, parénquima de reserva y xilema del tallo y en los tricomas y epidermis de la hoja, los cuales le confieren a la planta su acción contra agentes fitopatógenos. Una característica sobresaliente, es que posee una abundante cantidad de taninos en el xilema y médula central del tallo, y epidermis de la hoja, el cual tiene función de ligar las proteínas, para transformarlas en sustancias insolubles resistentes o la formación de coloides por sus

polímeros fenólicos; lo que coincide con su acción antibacteriana y antifúngica (Fig.127,128,133) (8,30).

Posee también aceites esenciales en el tejido vascular y los tricomas de tipo glandular pluricelular, confiriéndole una de sus características odoríferas a la planta y para repeler insectos. Los mucílagos se encontraron en todo el tallo, lo cual le confiere su alta capacidad para retener agua, ya que esta planta crece en ambientes muy arenosos (Fig. 132,134,135,136) (8,30).

Los almidones se encontraron dispersos en todo el corte del tallo y únicamente en las células en empalizada de la hoja, siendo ésta la principal reserva carbonada de la planta y de sostén (Fig. 129,138) (8,30).

Se determinó que en el diafanizado de *Tagetes erecta* la nervación de la hoja es abierta (Los nervios grandes finalizan libremente en el mesófilo en lugar de estar conectados por anastomosis con otros nervios) y reticulada (Nervios secundarios en la lámina foliar que forman un sistema anastomosado, pareciéndose el conjunto a una red). Además se determinó que la hoja posee estomas de tipo anomocítico (sin células anexas) en el haz y en el envés (Fig. 141,144) (29).

Para la técnica de disociado del tallo para las cuatro plantas, no solo se realizó la coloración con safranina para la diferenciación de las estructuras, sino que se realizaron otras coloraciones con diferentes reactivos: Azul de cresil al 1%, Naranja G,

Sudán III y lugol. Lo cual ayudo a la diferenciación e identificación micromorfológica adecuada.

La característica prominente de la micromorfología de *Tagetes erecta* es que posee una placa abundante de colénquima por encima del esclerénquima en cada uno de los vértices del tallo, formando complejos de células que otorgan a la planta resistencia a los estiramientos, torceduras, pesos y presiones. En algunos casos la fortaleza y elasticidad de las paredes secundarias de ciertas células sirven como medio defensivo, ya que otorgan a la planta resistencia contra las partes bucales, garfios y oviposidores de los insectos (Fig. 156, 158, 160, 162,164) (29).

El tamizaje fitoquímico demostró que *Tagetes erecta* posee alcaloides en abundante cantidad dentro de las células del parénquima del tallo y hoja, los cuales le confieren a la planta su acción antibacteriana. Una característica importante, es que posee una abundante cantidad de taninos en subepidermis del tallo, el cual tiene función de ligar las proteínas, para transformarlas en sustancias insolubles resistentes, o la formación de coloides por sus polímeros fenólicos, lo cual le confiere su acción nematicida (Fig. 173,176,179) (8,30).

Posee también aceites esenciales en el tejido vascular y epidermis del tallo y hoja, confiriéndole una de sus características odoríferas a la planta y para repeler insectos. Los mucílagos se encontraron en el parénquima del tallo y el esclerénquima de la hoja, lo cual le confiere a este su alta capacidad para retener agua y formación de

coloides o geles no digeribles por parásitos del suelo (Fig. 170, 172, 175, 177,178) (8,30).

Los almidones se encontraron en escasa cantidad en la sub epidermis del tallo y únicamente en los estomas de la hoja, lo cual evidencia la presencia de otros mecanismos de metabolismo energético y de sostén en esta planta (Fig. 171,174) (8,30).

Se adicionó la confirmación para las cuatro plantas la presencia de los metabolitos secundarios: saponinas, flavonoides y taninos, debido a que no coincidieron los resultados con lo reportado en estudios anteriores por *Martínez Arévalo J. V et al 2005*, al momento de realizar las pruebas histoquímicas, por lo cual se procedió a realizar una determinación en tubo con la materia vegetal seca y de esta forma confirmar los resultados obtenidos en las pruebas histoquímicas. Con esta metodología se observó que las 4 cuatro plantas analizadas en este estudio poseen saponinas. Para la prueba de flavonoides, se encontró que: *Tagetes erecta* y *Wigandia urens* var. *caracasana* presentaron una reacción positiva para dicha prueba. Por último se confirmó la presencia de taninos en tubo, encontrándose que las plantas que tuvieron reacción positiva fueron: *Equisetum arvense*, *Tagetes erecta* y *Wigandia urens* var. *caracasana* (Tabla No. 1) (8).

Todas estas características agrupadas le confieren a las plantas en estudio la actividad contra hongos fitopatógenos, evaluadas en investigaciones recientes por *Alonzo, G. et al. 2009* (31).

Se entiende por humedad el agua libre que contiene el material vegetal. Para una buena conservación, el contenido ha de ser inferior al 10%. Este proceso de deshidratación de la materia se realiza para interrumpir los procesos de degradación causados por enzimas o fermentos, los cuales impiden el desarrollo de microorganismos y reacciones de oxidación e hidrólisis; por lo tanto se sugiere que el secado debe hacerse tan pronto como la recolección haya concluido. En general todo el material vegetal analizado contiene un importante contenido de agua. Se demostró que las 4 plantas presentan factibilidad del secado en horno a 40 °C, como metodología para eliminar la cantidad de agua adecuada y de esta forma obtener un porcentaje que se encuentre dentro de los valores autorizados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para materia de uso medicinal que eviten el crecimiento microbiano (Tabla No. 2) (28,32).

Una práctica a tener en cuenta, es que no existen referencias al tiempo de secado como tal, por lo cual recomendamos que al observar que las partes más duras de la planta se puedan partir con facilidad, las más endebles conserven cierta rigidez sin romperse al manipularlas ligeramente, la materia vegetal ya se encuentra lista para ser objeto de las pruebas necesarias para medir el porcentaje de humedad. En el caso de los especímenes estudiados los tiempos variaron de acuerdo a la especie, por lo que

para *Bougainvillea* spp se determino un tiempo de 56 horas, para *Equisetum arvense* un tiempo de 56 horas, para *Wigandia urens* var. *Caracasana* 48 horas y finalmente para *Tagetes erecta* un tiempo de 48 horas para alcanzar una determinación por debajo del 10% de humedad (Tabla No. 2) (32).

En cuanto a las cenizas totales, éstas confieren una idea del conjunto de los minerales de la materia vegetal analizada; estos elementos o minerales se encuentran en combinaciones como sales inorgánicas u orgánicas. Las sales inorgánicas, tales como fosfatos, carbonatos, cloruros, sulfatos y nitratos de sodio, potasio, calcio, son comunes al igual que las sales de ácidos orgánicos tales como málico, oxálico, acético o péctico. Es muy importante mencionar que la composición característica de las cenizas depende lógicamente de la naturaleza del material cuya calcinación las ha producido (Tabla No. 3) (33,34).

Al verificar los resultados para cenizas totales, estos se encontraban dentro de los valores referidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para concentraciones de cenizas totales en materia vegetal para uso médico (menor a 10%); aunque estos valores varían, debido a que los límites permitidos son muy amplios, por tanto, tiene escaso valor para fines de tipificación, por lo que su importancia radica en mostrar el comportamiento del material vegetal de cada especie analizada (Tabla No. 3) (28,33).

Es importante mencionar que al material obtenido de la planta *Equisetum arvense* se le realizó la determinación de cenizas insolubles en ácidos, ya que presentó valores

de cenizas totales fuera del rango de referencia; debido a que posee de 6-8% de sílice en la epidermis y colénquima del tallo, propiedad que le confiere resistencia estructural (Tabla No. 3) (14).

IX. CONCLUSIONES

1. Este estudio permitió recopilar la información necesaria para la posterior elaboración de monografías farmacopeicas de control de calidad, para establecer los estándares que deben cumplirse en la selección de la materia vegetal adecuada para el control de plagas.
2. El uso de diferentes coloraciones permite identificar y diferenciar de mejor forma las estructuras de la microanatomía vegetal.
3. Se establecieron las características específicas para cada especie botánica a partir de técnicas histológicas e histoquímicas para el desarrollo tecnológico de la agricultura orgánica.
4. Las plantas estudiadas presentan estructuras y metabolitos secundarios relacionados con su actividad contra agentes fitopatógenos.
5. La presencia de cristales de oxalato de calcio en las plantas *Bougainvillea* spp y *Wigandia urens* var. *caracasana* apoya su uso popular en el control de plagas.
6. Los valores encontrados de humedad y cenizas totales de las drogas secas utilizadas en este estudio están ajustadas a la norma de la Organización Mundial de Salud (OMS).
7. La presencia de cenizas insolubles, comprobó la presencia de sílice en la especie de *E. arvense*, tal como lo reporta la literatura.

X. RECOMENDACIONES

1. Recabar aún más información sobre las diferentes propiedades de las especies vegetales, tales como: materia extraña, contaminación microbiana, aflatoxinas, radioactividad, constantes físicas, residuos tóxicos, metales pesados, condiciones de cultivo, etc.
2. Evaluar la actividad de estas cuatro plantas contra diferentes agentes fitopatógenos.
3. Realizar diferentes coloraciones para la técnica de disociado en tallo, para lograr la clara identificación de características micromorfológicas de las especies vegetales.
4. Emplear los métodos de cromatografía por capa fina, para cuantificar e identificar que otros metabolitos secundarios se encuentran en la materia vegetal.
5. Determinar los caracteres farmacobotánicos de otras plantas con propiedades repelentes contra especies fitopatógenas, para que lleguen a ser recursos medicinales ante las tantas enfermedades que aquejan la agricultura en Guatemala.

XI. REFERENCIAS

1. Martínez Arévalo J. V *et al* 2005. Detección de plantas utilizadas para el manejo y control de enfermedades fungosas en los principales cultivos alimenticios y evaluación preliminar de su actividad *in vitro* con miras a la formulación de funguicidas orgánicos. Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación-DIGI. Editorial Universitaria. 46pp.
2. Restrepo J. 1998. Consultor internacional en agricultura orgánica para América Latina y El Caribe. Consultado 15 abril 2005. Disponible en <http://www.cedeco.or.cr/docus/camino3.pdf>
3. Escobar J y Rivera M. 1997. Fitopatógenos. Encuentros en la Biología; 36: 1134-8496.
4. Agrios G. 1996. Fitopatología. Trad. Por Manuel Guzmán. Editorial Limusa. México. 838 p.
5. Martínez M. 1979. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Fondo de Cultura Económica. INSS; 45: 123-128.
6. Cáceres A. 1996. Plantas de Uso Medicinal de Guatemala. Primera Edición. Editorial Universitaria, USAC. 101 – 140 pp
7. Tang C. 1982. Plant Physiology. 69:155-160 pp
8. Rodríguez H. 2005. Plantas Plaguicidas en Costa Rica. Trad. Michael Grainge y Saleen Ahmed. Primera Edición. Editorial Universitaria Nacional de Heredia. San José de Costa Rica. ISBN 1977-65-213-9
9. Grainge M. y Ahmed S. Handbook of Plants whit Pest-Control Properties. Wiley Interscience Publication. New York, USA. ISBN 1986-48-211-7

10. Piedras J, *et al* Propiedades de la Cola de Caballo: Resultados Preliminares. Revista Virtual: El Mundo de las Plantas: "Botanical On-Line" [on line]. Junio2000.http://209.85.207.104/search?q=cache:0DUyOFeUQ9oJ:www.botanicalonline.com/medicinalsequiseto.htm+Equisetum+arvenses&hl=es&ct=clnk&cd=4&gl=gt&lr=lang_es
11. Núñez E. 1986. Plantas Medicinales de Costa Rica y su Folclore. Segunda Edición. Editorial de la Universidad de Costa Rica. Costa Rica. 318pp
12. Jacobson M. 1975. Insecticides from Plants a review of the literature. HDBK No. 461-ARS-USD. Beltsville, MD. 1:199-299pp
13. Miranda Vásquez M. 1996. Evaluación de cuatro concentraciones de cola de caballo (*Equisetum arvens*) en el control de tizón tardío (*Phytophthora infestans*) en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum*), en el caserío San Gabriel, San Antonio Palopó, Sololá. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 51pp
14. Gómez M. 1993. Evaluación del efecto fungicida de cola de caballo (*Equisetum arvense*) en arveja china (*Pisum sativum*) y su acción sobre el rendimiento. Investigación Temática. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 54pp
15. Rzedowski G. *et al* 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro, Michoacán, México.
16. Standley, P. y Williams L. O. 1970. Flora of Guatemala. Fieldiana Botany 24(9/1 y 2).
17. Stevens W. D. *et al* 2001. Flora de Nicaragua. Vol. 85, tomos I, II y III. Missouri Botanical Garden Press. St. Louis Missouri.

18. Villaseñor Ríos J. L. y Espinosa García F.J. 1998. Catálogo de malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México, Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario y Fondo de Cultura Económica, México, D.F.
19. Cáceres A. y Samayoa B. Tamizaje de la actividad Antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de afecciones gastrointestinales. Cuaderno de Investigación No. 6-89. Guatemala. Dirección General de Investigación USAC. 138 p.
20. Santos N.M. 2007. Nemátodos fitoparásitos asociados al cultivo de *Tagetes erecta* en el distrito Virú, La Libertad, Perú. Asociación peruana de Helmintología e Invertebrados Afines, APHA. Neotropical Helminthology, vol 1, No. 1, p. 15-20.
21. Sosa Leonardo J.F. 1999. Evaluación de cuatro sustancias diluyentes-dispersantes de polen para producir semilla híbrida en cuatro cultivantes de marigold (*Tagetes erecta* L.) mediante polinización artificial, en condiciones de invernadero. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 63p.
22. Loarca Morales J. J. 2000. Evaluación de nueve horarios de polinización artificial y dos sustancias dispersantes para la producción de semilla híbrida de dos cultivantes de marigold (*Tagetes erecta* L.) en Villa Canales, Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 76p. 27 ref.
23. Marin Cardona, C. S. Evaluación de N y K aplicados al suelo y cuantificación de la acumulación de macronutrientes en diferentes etapas de desarrollo de la planta de marigold (*Tagetes erecta* L.) en la producción de semilla híbrida, en el municipio de Amatitlán, Guatemala. EPSA. Investigación inferencial.

Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 39 pp.

24. Bruneton, J. 1991. Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia. Ed. Esp. Acribia. Zaragoza 15-50pp.
25. Paredes M.E. 2005. Determinación de Algunos Estándares de Identidad y Pureza de Cuatro Plantas Medicinales Comercializadas en Guatemala. Guatemala: USAC (tesis de graduación, MUPLAM) 12-15pp
26. Gattuso M. y Gattuso SJ. 1999. Manual de Procedimientos para el Análisis de Drogas en Polvo. Argentina: CYTED, UNR Editora.
27. Freire, A.V. 1990. Efecto Repelente y/o insecticida de algunos extractos vegetales sobre la población de mosca blanca (*Bemisia tabaci* (Genn.)), en plantas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis Licenciada en Biología. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 32pp
28. World Health Organization. *Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials*, World Health Organization, Geneva, Switzerland; 1998. Disponible en <http://www.who.org>
29. Curtis R. 1986. Micromorfología Vegetal. México D.F, México: Editorial Trillas, 10-150 pp
30. DuPont, M. *et al.* 1990. Preparación y uso de plaguicidas naturales. Altermec. Guatemala. 87 p.
31. Alonzo, G. *et al.* 2009. Actividad inhibitoria de extractos vegetales sobre hongos fitopatógenos. Seminario de Investigación: Licenciatura en Química

Biológica. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 43p

32. Egan, H *et al.* 1991. Análisis Químico de Plantas Medicinales de Pearson, 4^{ta} edición, Compañía Editorial Continental, México, 13-17pp, 19-39pp.
33. Ministerio de Salud Pública. 1992. Medicamentos de origen vegetal: droga cruda. Métodos de ensayos. La Habana: MINSAP; NRSP, No. 309
34. Miranda M y Cuéllar A. 2001. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Editorial Félix Varela; 141pp.

XII. ANEXOS

Anexo No.1

Principales enfermedades, provocadas por hongos, que dañan a los cultivos en Guatemala.

Enfermedad	Agente (s) causal	Cultivos que daña
Mal del talluelo	<i>Fusarium, Rhizoctonia, Phytium</i>	Mayoría de cultivos en la etapa de semillero Papa, tomate, chile, frijol, soya, aguacate, manzano, cacao, cítricos, árboles forestales, plantas ornamentales.
Manchas foliares, Tizón tardío	<i>Phytophthora</i> spp.	Mango, aguacate, banano, anona, hule, melón, sandia, cebolla, tomate, cereales.
Antracnosis y manchas foliares	<i>Colletotrichum</i> spp. <i>Puccinia</i> spp.	Cereales (arroz, trigo, cebada), cebolla, espárrago.
Royas	<i>Uromyces phaseoli</i> <i>Hemileia vastatrix</i> <i>Tranzchelia discolor</i> <i>Cronartium</i> sp.	Frijol Café Durazno y ciruelo Pino
Carbones	<i>Ustilago</i> spp.	Maíz, trigo, caña de azúcar.
Cenicillas	<i>Erysiphe</i> sp.	Cucúrbitas (Melón, pepino) leguminosas (frijol, arveja)
Mildiu	<i>Pseudoperonospora cubensis</i> <i>Sclerospora graminicola</i> <i>Ceratocystis</i> spp.	Cucurbitáceas Cereales Pino, roble, hule, cacao, piña, plátano, mango.
Marchitamientos vasculares	<i>Fusarium oxysporum</i>	Tomate, cebolla, banano, crisantemo.
Cáncer en tallos	<i>Ceratocystis fimbriata</i>	Cacao, café, hule, frutales de hueso.
Enfermedades de los frutos	<i>Venturia inaequalis</i> <i>Monilia fruticola</i> <i>Diplodia</i> sp.	Manzana, Frutos de hueso Cítricos.

Fuente: Martínez Arévalo, J. V et al 2005. Detección de plantas utilizadas para el manejo y control de enfermedades fungosas en los principales cultivos alimenticios y evaluación preliminar de su actividad *in vitro* con miras a la formulación de funguicidas orgánicos. Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación-DIGI. Editorial Universitaria. 46pp.

Anexo No. 2

Especies vegetales encontradas en las diferentes regiones muestreadas.

Nombre	Nombre científico	Familia	Occidente	Central	Oriente	Norte
Ajo	<i>Allium sativum</i> L.	<i>Liliaceae</i>		X		
Apazote	<i>Teloxis ambrosioides</i> (L.) Weber	<i>Chenopodiaceae</i>	X			
Apacín	<i>Petiveria alliacea</i> L.	<i>Phytolaccaceae</i>			X	
Bambú	<i>Bambusa</i> spp.	<i>Poaceae</i>				X
Buganvilla	<i>Bougainvillea</i> spp.	<i>Nyctaginaceae</i>	X			
Caña de Castilla	<i>Arundo phragmites</i> L.	<i>Poaceae</i>		X		
Cebolla	<i>Allium cepa</i> L.	<i>Liliaceae</i>		X		
Chocón	<i>Wigandia urens</i> var. Caracasana	<i>Hydrophyllaceae</i>	X			
Cola de caballo	<i>Equisetum</i> spp.	<i>Equicetaceae</i>	X	X		
Encino ó Roble	<i>Quercus</i> spp.	<i>Fagaceae</i>		X		
Flor de muerto	<i>Tagetes erecta</i> L.	<i>Asteraceae</i>			X	
Hierba mora	<i>Solanum</i> spp.	<i>Solanaceae</i>	X			
Jocote	<i>Spondias</i> spp.	<i>Anacardiaceae</i>	X			X
Manzanilla	<i>Matricaria recutita</i> L.	<i>Asteraceae</i>	X	X	X	
Papaya	<i>Carica papaya</i> L.	<i>Caricaceae</i>			X	
Sauce	<i>Salix bomplandiana</i> HBK.	<i>Salicaceae</i>	X		X	X
Sáuco	<i>Sambucus canadensis</i> L.	<i>Caprofiliceae</i>	X	X		
Cebolla + ajo	<i>Allium cepa</i> L. + <i>Allium sativum</i> L.		X		X	X
Cebolla + flor de muero	<i>Allium cepa</i> + <i>Tagetes erecta</i> L.		X			
Chile chiltepe + ajo	<i>Capsicum annum</i> L. + <i>Allium sativum</i> L.		X			
Cola de caballo + manzanilla	<i>Equisetum</i> spp. + <i>Matricaria recutita</i> L.					X
Cola de caballo + Papaya	<i>Equisetum</i> spp. + <i>Carica papaya</i> L.		X			
Flor de muerto + ruda	<i>Tagetes erecta</i> L. + <i>Ruta chalepensis</i> L.		X			
Residuos cosecha de <i>Brassicaceae</i>	<i>Brassica</i> spp.	<i>Brassicaceae</i>		X		
		Frecuencia	14	8	6	5

Fuente: Martínez Arévalo, J. V et al 2005.

Anexo No. 3

Usos como fungicidas de especies vegetales usadas popularmente.

Nombre Común	Nombre Científico	Hábito	Parte Utilizada	Cultivo en que se Aplica
Buganvilla	<i>Bougainvillea</i> spp.	Trepadora leñosa	planta completa	Tomate, chile
Cola de caballo	<i>Equisetum</i> spp.	herbácea	planta completa	Región Occidente: Semilleros de especies forestales (Pino, aliso, ciprés)
Chocón	<i>Wigandia urens</i> var. <i>Caracasana</i>	Arbusto	hoja	Hortalizas (Papa, zanahoria, haba).
Flor de muerto	<i>Tagetes erecta</i> L.	Herbácea	planta completa	Hortalizas

Fuente: Martínez Arévalo, J. V et al 2005.

Anexo No. 4

Preparación de los plaguicidas a partir de la materia prima

Nombre común	Enfermedad objetivo	Combinaciones
Flor de muerto	tizón, mildiu	1 libra de material vegetal + 1 galón de agua
Buganvilia	Tizón, mal de talluelo	2 libras de material vegetal + 1 galón de agua
Cola de caballo	Mal del talluelo	1 planta en 1 litro de agua
Chocón	Tizón y mildiu	1 libra de material vegetal en 1 galón de agua

Fuente: Martínez Arévalo, J. V et al 2005.

Anexo No. 5

Pruebas adicionales para la identificación para metabolitos secundarios.

- **Reconocimiento de Flavonoides.**

En un tubo de ensayo colocar 10 gr. de materia vegetal seca finamente desmenuzada. Añadir un volumen suficiente de agua hirviendo que cubra toda la muestra y le confiera fluidez. Enfriar. Agregar 1 gota de Acido clorhídrico y observar cambio de coloración. La aparición de colores naranja, rosado, rojo o violeta es prueba positiva para la existencia de flavonoides en la muestra.

- **Ensayo para saponinas**

Desmenuzar 10 gr. de materia vegetal seca, con ayuda de unos pocos mililitros de agua hirviendo. Agitar en un tubo de ensayo tapado, unos 4 ml de la solución, vigorosamente durante un minuto. La formación de una espuma abundante y estable es prueba presuntiva de la presencia de saponinas en la muestra.

- **Ensayo para taninos**

Desmenuzar 10 gr. de materia vegetal seca, con ayuda de unos pocos mililitros de agua hirviendo en un tubo de ensayo. Añadir 2 -3 gotas de solución de cloruro férrico al 10%. La aparición de colores o precipitados verdes, azules o negros es prueba positiva de la presencia de taninos en la muestra.

Anexo No. 6

Ficha de identificación de la materia vegetal seca de las 4 plantas en estudio.

Ficha para identificación para *Bougainvillea* spp

- **IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA**

Nombre Científico: *Bougainvillea* spp.

Nombre Común: Boganbilia

Procedencia: San Lucas, Sacatepéquez

Número de Herbario: Registro No. 50711

- **ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO**

Color: Café

Olor: Aromático, agradable

Gusto: Amargo

Aspecto: Planta completa

- **PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS**

% De Humedad: 6.77%

% De Cenizas: 10.3%

Ficha para identificación para *Equisetum arvense*

- **IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA**

Nombre Científico: *Equisetum arvense*

Nombre Común: Cola de Caballo

Procedencia: Zona 12, Ciudad Capital

Número de Herbario: Registro No. 50714

- **ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO**

Color: Café

Olor: Poco aromático, característico

Gusto: Amargo

Aspecto: Planta completa

- **PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS**

% De Humedad: 7.48%

% De Cenizas: 10.7%

Ficha para identificación para *Wigandia urens* var. *Caracasana*

- **IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA**

Nombre Científico: *Wigandia urens* var. *Caracasana*

Nombre Común: Chocón

Procedencia: San Lucas, Sacatepéquez

Número de Herbario: Registro No. 50713

- **ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO**

Color: Amarillo

Olor: Desagradable, no putrefacto

Gusto: Amargo

Aspecto: Planta completa

- **PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS**

% De Humedad: 8.55%

% De Cenizas: 10.30%

Ficha para identificación para *Tagetes erecta*

- **IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA**

Nombre Científico: *Tagetes erecta*

Nombre Común: Flor de Muerto

Procedencia: Tecpán Guatemala, Chimaltenango

Número de Herbario: Registro No. 50712

- **ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO**

Color: Amarillo

Olor: Putrefacto intenso desagradable

Gusto: Amargo

Aspecto: Planta completa

- **PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS**

% De Humedad: 6.86%

% De Cenizas: 10.1%

Anexo No. 7

Constancia de entrega de material botánico al Herbario BIGU.

f. _____
Licda. María Eugenia Paredes
Asesora

f. _____
Licda. Margarita Paz
Revisora

f. _____
Br. Ronald Kestler
Tesisista

f. _____
Br. David Méndez
Tesisista

f. _____
Br. Antonio Galindo
Tesisista

f. _____
MSc. Vivian Matta
Directora
Escuela de Química Biológica

f. _____
Dr. Oscar Cobar Pinto
Decano
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia