

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**Caracterización farmacobotánica de tres poblaciones del género *Cnidocolus*  
(chaya) con fines de cultivo y comercialización**



**Aurora del Carmen Orozco Andrade**

**Química Bióloga**

**Guatemala, noviembre 2013**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**Caracterización farmacobotánica de tres poblaciones del género *Cnidocolus*  
(chaya) con fines de cultivo y comercialización**



**INFORME DE TESIS**

**Presentado por**

**Aurora del Carmen Orozco Andrade**

**Para optar al título de**

**Química Bióloga**

**Guatemala, noviembre 2013**

## Índice

<b>Resumen</b>	<b>1</b>
<b>I. Introducción</b>	<b>3</b>
<b>II. Antecedentes</b>	
A. Generalidades	5
B. <i>Cnidoscolus</i> spp.	
1. Hábitat y descripción geográfica	5
2. Usos y propiedades	6
3. Composición química de las hojas de <i>Cnidoscolus</i>	7
4. Especies reportadas de <i>Cnidoscolus</i>	8
5. Tipos de tóxicos encontrados en el género <i>Cnidoscolus</i>	9
6. Especie reportada en Guatemala	10
7. Descripción botánica de selecciones nativas o cultivares de chaya domésticas reportadas en Guatemala	11
C. Identificación botánica	12
1. Técnicas histoquímicas	12
2. Cromatografía de capa fina	13
3. Evaluación de actividad biológica en <i>Artemia salina</i>	13
<b>III. Justificación</b>	<b>14</b>
<b>IV. Objetivos</b>	<b>16</b>
<b>V. Hipótesis</b>	<b>17</b>
<b>VI. Materiales y métodos</b>	<b>18</b>
<b>VII. Resultados</b>	<b>25</b>
<b>VIII. Discusión de resultados</b>	<b>40</b>
<b>IX. Conclusiones</b>	<b>44</b>
<b>X. Recomendaciones</b>	<b>45</b>
<b>XI. Referencias</b>	<b>46</b>
<b>XII. Anexos</b>	<b>54</b>

## ACTO QUE DEDICO

**A DIOS:** fuente de amor infinito, que este y todos los logros alcanzados en mi vida sea una muestra de su amor y misericordia.

**A LA VIRGEN MARÍA:** mujer de fe llena de gracia.

**A MIS PADRES:** Luis Orozco que con sus lucha constante me ha enseñado a no dejar batallas a medio camino, a mi madre Leticia Andrade mujer honorable y leal que siempre está pendiente de mi a distancia, este triunfo es para ustedes que son el pilar de mi vida.

**A MIS HERMANAS:** Angela Leticia, Ana Luisa y Andrea Carolina por ser testigos y ayuda emocional de mis desveladas, risas, logros y derrotas siendo para mi ejemplo vivo de solidaridad y amor.

**A MIS TÍOS:** Hombres protagonistas de su buena historia y testimonio de vida, que han contribuido al desarrollo de nuestra sociedad, especialmente al ausente Oscar Orozco por su apoyo, cariño y solidaridad.

**A MIS TÍAS:** Lilian Andrade y Verenice Orozco por su apoyo y ejemplo de mujeres forjadoras.

**A MIS PRIMOS Y PRIMAS:** hombres y mujeres de bien y paz.

**A MIS AMIGOS DE UNIVERSIDAD:** Luisa, Yescenia, Blanca, Julio, Erick, Christian, Hugo con los que compartí sueños, luchas e ilusiones.

**A MIS AMIGOS EN GENERAL:** a mis innumerables amigos que con su afecto acrecentaron el ideal de mi superación.

## AGRADECIMIENTOS

**A LA TRICENTENARIA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA:** mi *alma mater* donde he forjado conocimientos para poder contribuir al servicio de nuestra sociedad guatemalteca y de esta manera retribuir parte de lo que la misma sociedad me ha dado.

**A FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA:** por ser mi segundo hogar, donde pase bueno y difíciles momentos, donde aprendí el amor y pasión por mi carrera.

**A DEPARTAMENTO DE CITOHIISTOLOGÍAS:** por permitir formarme como profesional, a los licenciados docentes de este departamento, por recibirme siempre con una sonrisa franca y sincera, me llevo de ellos el recuerdo y la percepción de un verdadero catedrático.

**A LICDA. MARIA EUGENIA PAREDES Y LIC. ARMANDO CÁCERES:** por su orientación y supervisión de los conocimientos adquiridos a través de esta investigación.

**A LICDA. ISABEL GAITÁN Y DRA. ZULY CRUZ** por su ayuda, orientación y apoyo en esta investigación.

## RESUMEN

En Guatemala, como en muchos otros países, las plantas constituye una fuente natural de principios activos, que pueden ser útiles como materia prima para la generación de nuevos fármacos, aditivos alimenticios, plaguicidas, fuente de nutrientes esenciales o como coadyuvantes en enfermedades, por lo que para este estudio se escogió a *Cnidoscolus aconitifolius* sub especie *aconitifolius*, planta conocida popularmente como chaya, a la que se le reconoce, además de su contenido nutricional, diversas propiedades medicinales como diuréticas, normotensiva e hipoglucemiante.

El material vegetal utilizado consistió en hojas tiernas y maduras de tres cultivares (estrella, mansa y picuda) de *C. aconitifolius* ssp. *aconitifolius*, procedentes de una parcela experimental, ubicada en la zona 15 de la ciudad capital de Guatemala, este estudio consistió en establecer características farmacobotánicas, tales como morfología macroscópica y microscópica, características histoquímicas y fitoquímicas, así como datos preliminares de actividad biológica, características asociadas a la droga cruda de la planta. Todo esto con la finalidad de establecer caracteres útiles para el control de calidad de la especie, especialmente cuando esta se comercialice seca y/o fragmentada.

Producto del análisis macroscópico se estableció que los tres cultivares de chaya están constituidos por arbustos robustos, de tallo no leñoso, con abundante látex y altura promedio de 3 – 5 m, diferenciándose entre sí, únicamente por la forma de sus hojas.

La droga fresca de los tres cultivares se caracterizó por hojas grandes, verdes con poco brillo, dispuestas en forma alterna, simples y lobuladas. En la droga seca las hojas se fragmentan con facilidad y se observa una disminución de la intensidad del color.

Microscópicamente las tres láminas foliares presentan nerviación palmeada y reticulada, el mesófilo con una estructura dorsiventral y anfistomática, con estomas de tipo paracítico. En ambas epidermis se observaron células ovaladas de tamaño irregular, con una cutícula delgada. El parénquima es empalizada, formado por células rectangulares fuertemente empaquetadas que ocupan aproximadamente la mitad del

grosor del mesófilo, se extiende sobre casi la totalidad de la nervadura central. El parénquima esponjoso está formado por células pequeñas y aerénquima. A nivel del nervio medio, se observaron ligeras diferencias morfológicas entre los tres cultivares, consistentes en la forma y distribución de los tejidos parenquimáticos. Todos los haces vasculares presentaron una disposición de tipo colateral abierto, rodeado por una vaina esclerenquimática, se observa colénquima angular por debajo de ambas epidermis. En todos los parénquimas se observaron cristales de oxalato en forma de drusa en diversos tamaños (50 – 200  $\mu\text{m}$ ) en los tres cultivares se observaron tricomas simples unicelulares y en pares.

En el tamizaje fitoquímico se evidenció reacción positiva para alcaloides, almidones, mucilago, grasas y aceites, con pequeñas variantes en cuanto a la intensidad de la reacción y el lugar donde esta se concentraba. La cromatografía de capa fina (CCF) evidenció la presencia de quercetina, rutina, ácido clorogénico, así como el mismo patrón y variedad de flavonas que *Cnidoscolus chayamansa*.

El ensayo de actividad biológica *in vitro* con nauplios de *Artemia salina* para este estudio, determinó que ninguno de los extractos analizados presenta actividad citotóxica.

Se concluye que los tres cultivares presentes en la parcela son fácilmente diferenciables por la forma de sus hojas en estado fresco, sin embargo, aunque se observaron diferencias a nivel medio, en cuanto a la distribución del parénquima en empalizada y la forma de la nervadura en la cara adaxial, estas características no son fácilmente observables en droga seca y fragmentada. Al no encontrarse diferencia en el contenido de metabolitos ni en el grado actividad biológica, se deduce que los tres cultivares pueden usarse para los mismo propósitos, aunque por estudios etnobotánicos se sabe que el cultivar estrella, es el más aceptado por la población. Si en estudios posteriores se evidenciara la necesidad de diferenciar entre los cultivares, se recomienda realizar estudios cuantitativos que puedan arrojar alguna diferencia significativa que permita identificarlas cuando se comercializan seca y fragmentadas.

## I. INTRODUCCIÓN

Desde tiempos prehistóricos el hombre ha ido experimentando en su propio cuerpo las propiedades de las plantas, a veces cobrando recompensa al descubrir la comestibilidad de una especie, otras ha tenido que pagar con su propia vida su falta de experiencia. Aun cuando las plantas nos proporcionan una fuente inherente de nutrientes, debido a la adaptación al medio o como resultado de sus procesos metabólicos, algunas han ido desarrollando componentes tóxicos que limitan su consumo (Díaz-Bolio, 1975; Sosa, 1997).

La riqueza florística y el desarrollo cultural de nuestra región, han hecho importantes aportes a la seguridad alimentaria de la humanidad, una de esas contribuciones es la chaya, especie utilizada como alimento desde tiempos prehispánicos por los mayas. Su combinación con maíz y semillas de calabaza en forma de tamal era una fuente importante de su equilibrio nutricional. A la chaya (*Cnidoscolus* spp.) se le atribuye valor nutricional y medicinal por su alto contenido de proteínas, vitaminas, minerales, oligoelementos y enzimas. En la actualidad, la explotación de esta especie ha ido en descenso y aunque su valor nutricional y medicinal está bien comprobado, también se sabe de la existencia de varias especies tóxicas de este género vegetal (Cambranis, 2005; Ross-Ibarra & Molina-Cruz, 2002; Molina-Cruz, Cifuentes, Arias y Bressani, 2000).

En Guatemala existen cuatro poblaciones de *C. aconitifolius* ssp. *aconitifolius*, llamadas poblaciones domésticas, selecciones o cultivares, que no corresponden en morfología a las reportadas en el resto de Mesoamérica y en otras partes del mundo, como la variedad peruana *Cnidoscolus cajamarcensis* y *Jatropha urens* var. *inemis* (*Jatropha ethiopica* L.) de la familia *Euphorbiaceae* de Cuba; a la fecha no se tienen definidas las características de identidad y de toxicidad de todas las poblaciones de chaya, lo que puede hacer peligroso su consumo (Salas, Piñera, Del Valle, Lannes y Márquez, 2000).

La presente investigación tuvo como objetivo describir características de identidad y actividad biológica de tres cultivares de chaya (estrella, mansa, picuda), producto de la siembra de una parcela experimental en la zona 15 de la Ciudad de

Guatemala, de las cuales se conoce su distribución geográfica, descripción botánica y valor nutritivo. Para ello se realizó un estudio micromorfológico que permitió establecer las estructuras histológicas específicas y comunes entre cada una de las poblaciones en estudio. El método histoquímico sobre cortes de material fresco permitió caracterizar los metabolitos secundarios en las tres poblaciones. La cromatografía de capa fina (CCF) determinó la presencia o ausencia de flavonoides en los tres cultivares, así como en la especie mexicana *Cnidoscolus chayamansa*. Los tres cultivares de *C. aconitifolius* ssp. *aconitifolius* fueron evaluados frente *Artemia salina* para determinar su actividad biológica.

Con la información obtenida en el presente estudio se determina las características farmacobotánica de *C. aconitifolius* ssp. *aconitifolius*, que permiten obtener información sustentada en metodología científica para el uso adecuado de esta especie y sus cultivares (Ross-Ibarra et al., 2002; Molina-Cruz et al., 2000).

## II. ANTECEDENTES

### A. Generalidades

En el conocimiento y validación de los usos populares de las plantas, ya sea como fuente de alimento o de medicamento, participan muchas ramas científicas afines a la Botánica y la Farmacología. Entre ellas, la Etnobotánica permite identificar especímenes de la flora de una región o población particular y tomando en cuenta, que las plantas útiles son una mezcla de especies nativas e introducidas, su aplicación es muy variada y se ve enriquecida por la diversidad de grupos étnicos existentes en nuestra población (Murray, 2006; Obón de Castro y Rivera, 1991).

La Fitoterapia juega un papel protagónico en la salud comunitaria y popularmente entre los usos medicinales atribuidos a las plantas. Actualmente las nuevas corrientes en salud se esfuerzan más por realizar una medicina preventiva y hacen énfasis en la importancia de una buena alimentación para mantener una buena salud (Sosa, 1997).

La Farmacobotánica, disciplina que se desprende de la Farmacognosia, se dedica a aportar datos importantes de las plantas, que permitan su adecuado control de calidad, especialmente en lo que a identidad de las mismas se refiere, incluyendo para ello la caracterización botánica de las especies, el análisis macro y microscópico, así como el tamizaje fitoquímico entre otros (Arévalo-Domínguez, 2010).

### B. *Cnidoscolus* ssp.

#### 1. Hábitat y distribución geográfica

Se distribuye de manera natural desde la península de Yucatán, pasando por Guatemala, hasta la parte norte de Honduras. Crece desde el nivel del mar hasta los 1500 msnm en varios tipos de clima que son por lo general libres de heladas y con un nivel alto de precipitación. Naturalmente ocurre en diversos tipos de vegetación incluyendo secos y lluviosos, espinosos y bosques verdes. Frecuentemente es utilizado como cerco vivo, matorrales maderables, arroyos rocosos y dunas costaneras. Crece en suelos que van desde arcillas café hasta lateritas y en suelos derivados de roca madre ígnea y piedras limosas (Molina-Cruz, 1998).

La chaya, una aportación de los mayas al mundo, es un arbusto domesticado la evidencia sugiere que la chaya era una planta importante para los antiguos mayas de la península de Yucatán y tal vez en otras partes de la región maya (Molina-Cruz, 1998).

Es un arbusto que llega a medir hasta 3 m de alto, con ramillas delgadas de 1 cm de diámetro, corteza gruesa, casi blanca y pelillos un poco urticantes (Ross-Ibarra & Molina, 2002; Obón de Castro y Rivera, 1991).

La chaya es resistente a la sequía por lo que es una valiosa cosecha en las zonas con corto periodo de lluvia, la propagación es simple y requiere poco mantenimiento, no hay enfermedad o plaga importante en la planta. Investigaciones realizadas en el género *Cnidoscolus* han dado a conocer que la chaya se adapta bien a regiones tropicales húmedas y secas (Retalhuleu, Suchitepéquez en Guatemala y en la península de Yucatán) con distintas clases de suelo; su crecimiento principia a los cuatro meses de haber sido sembrada y pueden ser podadas al año (Peregrine, 1983; Quezada, Acero, Fuantos, Martínez, González y Guzmán, 2006; Reyes y Flores, 1999).

## 2. Usos y propiedades

La hoja de chaya (*C. chayamansa*) ha sido utilizada como alimento desde la época precolombina, lo cual fue documentado por Diego de Landa; las hojas eran utilizadas por los mayas para mezclarlas con maíz (de Landa, 1982).

El interés en la hoja de chaya se debe a su excepcional composición química y nutricional, posee propiedades que permiten utilizarla como un alimento alternativo, por su excelente contenido de calcio, ácido ascórbico, hierro, retinol y proteína cruda, como medicina alternativa es utilizada en el tratamiento de enfermedades crónico degenerativas como la diabetes y el cáncer, de esto deriva su reconocimiento como “la planta maravillosa” (Montoya, 2005; Jimoh, Babalola & Yakubu, 2009; Sarmiento-Franco, Sandoval, Quijano y Reyes, 2003). La chaya tradicionalmente ha sido recomendada para una serie de enfermedades como obesidad, cálculos renales, hemorroides, acné, antiparasitario y problemas de los ojos; los brotes de chaya y las hojas se han tomado como laxante, diurético, lactógeno, estimulante de la circulación, de la digestión, y para endurecer las uñas, se emplea como protector hepático, ya que

reduce en un 40 % el aumento de enzimas hepáticas (aspartato aminotransferasa AST, transaminasa glutámico pirúvica TGP), (Miranda-Velásquez, Oranday-Cardenas, Lozano-Garza, Rivas-Morales, Chamorro-Cevallos y Cruz-Vega, 2010; Palos-Suárez, 2005) también su látex es utilizado para eliminar verrugas. Se ha determinado que por su alto contenido en ácido ascórbico (vitamina C) actúa como un buen antioxidante, es por esto que se debe incluir entre el grupo de vegetales que proporcionan micronutrientes beneficiosos para la salud (Oboh, 2006; Kuti & Torres, 1996).

Actualmente se consumen la hoja tierna en la cocina tradicional, aun sabiendo científicamente que la edad del brote no es significativa en su composición química (Jimoh et al., 2009), utilizando variadas formas de presentación, como ensaladas, guisos, sopas, infusiones y hasta refrescos (Palma, 2008). La concentración de vitamina C en el proceso de cocinado (fritura) no representa una baja significativa (Fillion & Henry, 1998).

En la industria alimentaria se utiliza para la elaboración de queso y como suavizante de carnes, debido a la enzima proteolítica (Galdámez, 1996), se presume que esta enzima puede ser muy parecida a la encontrada en la yuca (linamarasa) que permite la liberación de HCN, cuando las hojas por acción mecánica son trituradas o fragmentas la enzima entra en contacto con el cianuro ligado, produciéndose la liberación del tóxico (Alvarado y Nuñez, 2012). En Chiquimula la infusión del *C. aconitifolius* conocida como shatate, es utilizada para calmar la diarrea (Galdámez, 1996).

### 3. Composición química de las hojas

La composición química de las hojas de chaya (*C. aconitifolius*) es importante para la nutrición humana el contenido de vitamina C de la hoja es siete veces mayor que la naranja (59 mg/100 g de hoja fresca) y el limón (51 mg/100 g de hoja fresca) así como el contenido de proteína en base seca es superior al fríjol (25 %). La vitamina C tiene un efecto protector, ya que reducen significativamente la probabilidad de padecer de cáncer de esófago, estómago, colon y de recto (Cifuentes, Molina-Cruz, Arias y Gómez, 1999). *C. aconitifolius* es un fuente rica de antioxidantes naturales especialmente en las hojas crudas, los principales flavonoides aislados de esta especie fueron kaempferol-3-0-glucosido y el glucósido-quercetina-3-0, teniendo *C.*

*aconitifolius* mayor cantidad de glucósidos flavonoides en comparación con *C. chayamansa* (Kuti, & Konuro, 2004; Ohigashi & Murakami, 2008).

El reconocido valor nutricional de la chaya ha motivado a muchos investigadores nacionales y extranjeros al estudio de este material vegetal, entre las investigaciones podemos mencionar que en Costa Rica se ha iniciado una investigación para rescatar algunos cultivos, el proyecto se inició con el análisis de tres plantas: el chicasquil (*C. aconitifolius*), las hojas de chaya (*C. chayamansa*) y el zorrillo (*Cestrum racemosum*) realizándoles análisis químicos en el laboratorio para determinar los componentes nutricionales y así saber el nivel de antioxidantes, fibra, proteína y carbohidratos. Los primeros resultados indican que el chicasquil y el zorrillo tienen niveles de fibra más altos que frutas como el higo y la anona, considerados muy ricos en fibra. El nivel de antioxidantes es alto en la chaya y el chicasquil. El chicasquil tiene 564 ORAC (unidad de medición de antioxidantes), y la chaya, 614 ORAC. Estos valores son superiores a los de frutas como el jorco o borojó (*Garcinia intemedia*). Lo que nos indica que estas hojas son alimentos funcionales que proporcionan nutrientes y protegen de enfermedades (Rodríguez, 2010; Herrera, 1998).

La chaya (*C. aconitifolius*) presenta valores de proteína cruda (PC) de 16.5 %, materia seca (MS) de 42.4 % y de digestibilidad (DIVMS) de 86.6 % *in vitro* esto la convierte en una excelente planta para alimento de bovinos, sin embargo estudios en Guatemala determinaron que la chaya proveniente de Peten posee PC 29.9% en hojas apicales y 27.1 % en hojas basales, por lo que contribuye en mayor medida a la nutrición del ganado (Gutiérrez-Orellana, 1999; Cifuentes, Poll, Bressani y Yurrita, 2010). *C. aconitifolius* presenta metabolitos secundarios como alcaloides, compuestos amargos, terpenoides, esteroides, flavonoides y fenoles en cantidades moderadas (García, Medina, Domínguez, Baldizan, Humbria y Cova, 2006).

#### 4. Especies reportadas de *Cnidoscolus*

El nombre chaya se aplica a diversas especies del género *Cnidoscolus* ssp. en varios estados mexicanos, especialmente en Yucatán. Es voz maya, deriva de la raíz chay que significa “lo que aumenta”, probablemente porque germina con mucha facilidad (Fillion & Henry, 1998).

*C. chayamansa* se cultiva con mayor frecuencia al sureste de la república mexicana. *C. sauzae* llamada también chaya silvestre, tsah, chichay tza, es usada como medicina alternativa limpiando las vías urinarias; su hábitat es Yucatán Quintana Roo (Reyes y Flores, 1999). Mientras *C. multilobus* también puede estar registrado como *Jatropha multiloba* Pax. entre los nombres común se encuentran chaya de monte, chichicaste de caballo, mala mujer, pia-pica blanca, chichiclaste, chichicaste, intrigosa, ortiga, tepo, totopo. Se cultiva en el este y sur de México así también en Guatemala, se puede encontrar hasta los 900 m de altitud, Alta Verapaz, El Progreso, Jutiapa, Suchitepéquez (Montoya, 2005; Poll, 2006; Callaghan y Hayden, 2004).

*C. multilobus* y *C. urens* son de las especies con mayor efecto tóxico en la piel, ya que poseen glándula con pelos urticantes (espinas muy finas), que presentan oxalatos, esta sustancia es inyectada en el organismo a través de los pelos urticantes, que se rompen quedando dentro de la piel frecuentemente acompañado de hinchazón y ampollas en la parte afectada, el látex (resina) provoca quemaduras en la piel y mucosa, cuando es ingerido provoca vómitos, trastornos estomacales, trastornos nerviosos, *C. urens* es considerada la planta urticantes más dolorosas de Centroamérica, debido a la cantidad de oxalatos que produce (Flores, Canto-Avilés y Flores-Serrano, 2001; Cruz, 2001; Poll, 2006).

##### 5. Tipo de tóxicos encontrados en el género *Cnidoscolus*

Las hojas contienen glucósidos cianogénicos que pueden formar ácido cianhídrico (HCN) al hidrolizarse, el cual es tóxico, este compuesto es eliminado con el vapor y no se retiene en el agua de cocción (Fillion & Henry, 1998; Fernando-Casas, 2007).

El Centro Provincial de Toxicología Médica (TOXIMED) de Santiago de Cuba y el Centro Nacional de Toxicología (CENATOX), tienen conocimiento, que el género *Cnidoscolus* que puede ser clasificada taxonómicamente en el género *Jatropha* (*J. ethiopica* L.) de la familia *Euphorbiaceae*, contiene diversas toxinas como la cursina (fitotoxina toxialbúmina) encontrada en las semillas, frutos y savia, altamente irritante con características propias de un antígeno que provoca la aglutinación de los eritrocitos. El ácido cianhídrico que genera cianuros también está presente en *J. urens* var. *inemis*, así como atropina que es un alcaloide altamente tóxico (desencadenante de

las acciones depresoras del SNC) y un glucósido, causante de la depresión cardiovascular y respiratoria (Salas et al., 2000).

#### 6. Especie reportada en Guatemala

*C. aconitifolius* conocida comúnmente como chaya, árbol de espinaca, papayuelo, copapayo, chichicastil, shatate, es un árbol que alcanza hasta 5 m de hojas perennes. Las hojas son largas, pecioladas, con 5 picos y látex abundante. Algunas de sus variedades presentan las hojas urticantes. Las flores son blancas pequeñas agrupadas en inflorescencia (Molina-Cruz et al., 2000).

En Guatemala se han llevado a cabo algunas investigaciones sobre la chaya: en el departamento de Chiquimula se confirmó que al utilizar *C. aconitifolius* como principal dieta en las cabras, aumenta la producción de leche en estas (Galdámez, 1996).

Por parte de la Universidad del Valle, se han realizado investigaciones de *C. aconitifolius* ssp. *aconitifolius* determinando que existen cuatro variedades domesticas o cultivares de esta especie determinadas como estrella, mansa, picuda y plegada (Molina-Cruz et al. 2000); Las diferencias en morfología y de defoliación son las principales características encontradas (Blanco, 2001). Los cultivares de *C. aconitifolius* ssp. *aconitifolius* pueden defoliarse completamente sin detrimento de su recuperación y producción (Cifuentes, Molina-Cruz y Arias, 2000). La investigación más reciente realizada en esta casa de estudio reporta la composición química, molecular, botánica y agronómica de las selecciones domésticas de la chaya determinando que los cultivares de chaya presentaban un alto contenido de ceniza (9.2 %), proteína (31.2 %), grasa (7.9 %) y minerales como Fe (21.5 mg / 100 g de hoja), Mn (4.3 mg / 100 g de hoja), Ca (880 mg / 100 g de hoja), Zn (7.2 mg / 100 g de hoja), Cu (1.3 mg / 100 g de hoja) y Mg (484 mg / 100 g de hoja), así como elementos anti-nutricionales como HCN (34.7 mg / 100 g de hoja) pero ningún material fue superior a todos los parámetros químicos registrados por *C. aconitifolius* en otros países. La composición química de la chaya fue influenciada mínimamente por los efectos de sitio, cultivo y época de corte, lo cual garantiza que la composición se mantiene independiente del lugar de donde dicha planta se cultive (Cifuentes et al., 2010).

## 7. Descripción botánica de selecciones nativas o cultivares de chaya doméstica reportadas en Guatemala

En Guatemala existen cuatro cultivares de chaya doméstica que son distinguibles morfológicamente (en la presente investigación solo se utilizaran tres de los cuatro cultivares); se han clasificado como *Cnidoscolus aconitifolius* ssp. *aconitifolius* compartiendo los cuatro cultivares o variedades domésticas una similitud genética de un 25 - 35 % (Cifuentes et al., 2010). Algunos estudios la describen de la siguiente manera (Anexo 1):

- Selección I (Estrella): Es una planta arbustiva con una altura promedio de 3.68 m al año de su plantación. No presenta vellos urticantes. Tiene hojas alternas del tipo palmatipartidas. Los folíolos tienen 17 - 26 cm de largo y 22 - 37 cm de ancho. Poseen 5 lóbulos dentado-picudos que no se traslapan. Las hojas poseen vellos no urticantes en el borde. Los pecíolos tienen 20 - 34 cm de largo y 5.4 - 5.5 mm de diámetro, siendo totalmente glabrescentes. Se ha determinado que únicamente el 6.25 % de las plantas produce flores. Está distribuida en la República desde el nivel del mar hasta 1600 msnm. Se ha encontrado en Baja Verapaz, Santa Rosa, Escuintla, Izabal y Petén (Cifuentes et al., 2010).
- Selección II (Picuda): Es una arbustiva con una altura promedio de 3.35 m al año de haber sido plantada. Tiene hojas alternas pinatipartidas con folíolos de 14.5 - 21.0 cm de largo y 18.8 - 32.8 cm de ancho. Posee cinco lóbulos principales y dos colgantes. El borde de la hoja posee vellos no urticantes. Los pecíolos son glabrescentes con un largo de 15 - 24 cm y un diámetro de 3.5 - 5 mm. Investigaciones han comprobado que el 100% de las plantas produjo flores y frutos, aunque aún no se conoce el nivel de viabilidad de sus semillas, se puede encontrar en Jutiapa a 900 msnm y en la ciudad capital (Cifuentes et al., 2010).
- Selección III (Traslapada o plegada): Es una planta arbustiva con una altura promedio de 2.88 m al año de ser plantada. Tiene tallos con muy pocas espinas. Sus hojas son alternas del tipo trilobuladas. Los folíolos son de 16 - 28 cm de largo y 19 - 37 cm de ancho. Tienen 3 lóbulos que se traslapan. Las hojas son glabrescentes excepto por una densidad de vellos urticantes en su base. Los pecíolos tienen 12 - 15 cm de largo y

un diámetro de 5 - 8.8 mm. Estos poseen vellos urticantes. Se encuentran en las regiones del centro de Petén, Mazatenango y Retalhuleu (Cifuentes et al., 2010).

- Selección IV (Redonda): Actualmente este cultivar es llamado "mansa" (Cifuentes et al. 2010) es una planta arbustiva con una altura promedio de 3.90 m al año de ser plantada, Los tallos son glabrescentes. Las hojas son alternas del tipo trilobulada. Los foliolos tienen de 18 - 30 cm de largo y 16.32 cm de ancho. Posee espinas urticantes en el borde de la parte basal de la hoja. Los pecíolos tienen un largo de 23 - 30 cm y un diámetro de 5 - 8 mm. Produce flores pero no frutos. Se encuentra en el Este del país de 300 a 900 msnm, en zonas bastante secas como Chiquimula, Jutiapa y Zacapa (Cifuentes et al., 2010).

La composición química de la hoja de chaya (Anexo 2) y su valor nutricional varía con cada selección y también con el medio ambiente. Todas las selecciones de chaya presentan una composición nutricional mejor frente a la espinaca y bledo que son de consumo común (Cifuentes et al., 2010).

### **C. Identificación botánica**

La identificación de una droga vegetal o planta se realiza comparándola con una planta o droga patrón. Los procesos directos son los que se realizan a ojo desnudo o con una lupa de poco aumento, definiendo así los caracteres macroscópicos. Los procesos indirectos son aquellos que se encuadran en tres categorías: procesos histológicos de observación del material vegetal frente a ciertos reactivos incluye las técnicas histoquímicas, fisicoquímicos como la cromatografía; procesos químicos, son los que emplean transformaciones químicas, reacciones de caracterización e incineración; y procesos biológicos como hemólisis, hemoaglutinación y otros (Gattuso y Gattuso, 1999).

#### **1. Técnicas histoquímicas**

Las diferentes sustancias en los tejidos vegetales, ya sea como metabolitos primarios o secundarios, forman parte estructural de la célula o como sustancia de reserva, pueden identificarse mediante pruebas histoquímicas, mediante la aplicación de

colorantes específicos que reaccionan y producen coloraciones o precipitados determinados que pueden reconocerse microscópicamente (Sandoval, 2005).

## 2. Cromatografía de capa fina

La cromatografía de capa fina consiste en la separación de los componentes de una mezcla a través de la migración diferencial sobre una capa fina de absorbente, retenida sobre una superficie plana (Sharapin, 2000).

Una solución de la muestra (extracto) que va a ser analizada se aplica por medio de un capilar sobre la superficie de un adsorbente inerte (sílica, alumina, etc.) distribuido sobre una placa de vidrio o aluminio. La placa se coloca verticalmente dentro de una cámara previamente saturada con el vapor del eluente adecuado, de tal forma que la parte inferior de la placa que contiene la muestra entre en contacto con la fase móvil (LIPRONAT, 2005; Domínguez, 1975).

El eluente migra por capilaridad en la placa cromatográfica, separando por migración diferencial los diversos componentes de la mezcla. Después que ha ocurrido la separación, se evapora el eluente y la placa se analiza utilizando luz ultravioleta y luz visible, o aplicando reactivos que dan como resultado reacciones de coloración con las sustancias contenidas en la mezcla analizada (Gattuso y Gattuso, 1999).

## 3. Evaluación de actividad biológica en *Artemia salina*

Los bioensayos de evaluación preliminar de toxicidad permiten determinar el grado de afectación que una sustancia química tiene en organismos vivos y éstos pueden ser agudos o crónicos; el potencial tóxico de los extractos, fracciones y grupos de compuestos se determina mediante la evaluación de su toxicidad para el crustáceo de *Artemia salina* (Barahona & Sánchez-Fortún, 1999). Los camarones salinos han sido utilizados en ensayos o en análisis de residuos de pesticidas, micotoxinas, anestésicos, toxinas dinoflagelares y toxinas en ambiente marinos (Pelka, Danzl, Distler & Petzchelt, 2000). Esto se debe a que la larva de este crustáceo es altamente sensible a una gran variedad de sustancias químicas y extractos de plantas. Valores menores de 1,000 PPM se consideran bioactivos (Solís, Whight, Anderson, Guota & Phillipson, 1993).

### III. JUSTIFICACION

Existe una gran variedad de plantas alimenticias y medicinales, que poseen efectos asombrosos para una buena salud y nutrición. Una de estas plantas es la chaya. Esta planta está asociada con la cultura maya, pues era consumida en mezcla con maíz y semillas de calabaza con el propósito de lograr un equilibrio nutricional.

Se le atribuye además una serie de efectos beneficiosos para el organismo humano entre los que se puede mencionar sus propiedades normotensiva, digestiva, hipoglucemiante e hipocolesterolémica que hacen a la chaya superior a muchos otros vegetales que con frecuencia se utilizan y se consumen.

En Guatemala existen cuatro cultivares, que son diferentes en morfología a las ya conocidas en el resto de Mesoamérica, tres de ellas han sido cultivadas en una parcela experimental privada de la zona 15 de la ciudad capital de Guatemala, con el fin de producir y comercializar harinas integrales y otros productos que se puedan elaborar con estas plantas, las mismas son conocidas como selección I estrella, selección II picuda y selección IV mansa. En la actualidad la explotación de esta material vegetal ha ido en descenso, pese a que el valor nutricional y medicinal de *Cnidoscolus aconitifolius* está comprobado, la información de estas propiedades no ha sido difundida, desperdiciando un recurso natural, económico y al alcance de cualquier guatemalteco.

El reporte del Programa Regional de Seguridad Alimentaria para Centroamérica, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura a través de la Iniciativa, América Latina y Caribe sin hambre y los Programas Especiales para la Seguridad Alimentaria de Centroamérica (2011), indica que en Guatemala para ese año el 22.0 % de la población se encuentra subnutrida, esta definición se refiere a la insuficiencia permanente de alimento en cantidad y calidad adecuada, para satisfacer sus necesidades energéticas. La chaya con su alto valor proteico, minerales, vitaminas, grasas y accesibilidad, puede proporcionar a esta población el balance nutricional que necesita (Herrera, 1998).

Dentro del género *Cnidoscolus* existen varias especies tóxicas, es por esto que, para garantizar el consumo de los cultivares beneficiosos, este estudio determina las características de identidad y actividad biológica de *C. aconitifolius* ssp. *aconitifolius* tomando en cuenta la importancia de contar con datos para la identificación de cada uno de los cultivares incluidos en el estudio. Además determinar los principios activos de este material vegetal que puede servir como base para la investigación de las propiedades medicinales que se le atribuyen a esta especie.

## IV. OBJETIVOS

### A. General

Determinar las características farmacobotánicas de tres poblaciones de chaya doméstica (*Cnidoscolus aconitifolius* ssp. *aconitifolius*) presentes en un parcela experimental privada con fines de comercialización y cultivo, en la zona 15 de la Ciudad Capital de Guatemala.

### B. Específicos

1. Describir las características micromorfológicas de tres poblaciones del género *Cnidoscolus aconitifolius* ssp. *aconitifolius* presentes en el cultivo piloto en estudio.
2. Comparar las características micromorfológicas de las tres poblaciones y establecer si existe parámetros que permitan diferenciar entre los cultivares, especialmente cuando los ejemplares se encuentren incompletos o fragmentados.
3. Establecer en el material vegetal, por métodos histoquímicos y cromatografía en capa fina (CCF), la presencia o ausencia de metabolitos secundarios reportados en la literatura para otras especies del género *Cnidoscolus*.
4. Determinar en los tres cultivares la presencia de sustancias bioactivas, mediante el bioensayo con nauplios de *Artemia salina*.

## **V. HIPOTESIS**

Por ser un estudio descriptivo no cuenta con hipótesis de investigación.

## VI. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Universo

Cultivares de *Cnidoscolus aconitifolius* ssp. *aconitifolius* presentes en un cultivo piloto de la zona 15 de la ciudad capital de Guatemala.

### B. Muestra

Tres cultivares de *Cnidoscolus aconitifolius* ssp. *aconitifolius* (estrella, picuda y mansa), de una cultivo piloto de la zona 15 de la ciudad capital de Guatemala.

### C. Recursos

#### 1. Humanos

Br. Aurora del Carmen Orozco Andrade (Tesista)

Lic. María Eugenia Paredes Sánchez M. Sc (Asesora)

Lic. Armando Cáceres (Revisor)

Dr. Roberto Flores Arzú (Revisor)

#### 2. Institucionales

Departamento de Citohistología, Escuela de Química Biológica, Universidad de San Carlos de Guatemala.

Herbario de la Escuela de Biología (BIGU), Universidad de San Carlos de Guatemala.

Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), Universidad de San Carlos de Guatemala.

Biblioteca del Laboratorio de Productos Naturales Farmaya.

#### 3. Recursos Físicos

##### a. Materiales

- Bolsas plásticas
- Cajas de Petri
- Vasos de precipitar de 10, 50 y 100 ml
- Crisoles de cerámica

- Cubreobjetos
- Duroport
- Erlenmeyer
- Gradilla de metal
- Hojas de afeitar
- Láminas de portaobjetos
- Papel mayordomo
- Pinceles
- Pinzas
- Placas de cristalización
- Probeta de 100 ml
- Tubos de ensayo con tapón
- b. Equipos
  - Balanza analítica
  - Cámara fotográfica digital
  - Cronómetro
  - Desecador tipo
  - Estereoscopio
  - Estufa eléctrica
  - Incubadora
  - Microscopio
  - Rotavapor
- c. Reactivos
  - Hipoclorito de sodio al 50%
  - KOH al 5%
  - Reactivo de Dragendorff
  - Reactivo naranja G
  - Reactivo yodo-iodurada
  - Reactivo ácido acético
  - Reactivo cloruro de zinc
  - Reactivo Sudan IV
  - Reactivo l-naftol

- Reactivo ácido sulfúrico ( 1N )
- Reactivo azul de cresilo 1%
- Reactivo rojo de rutenio
- Reactivo cloruro férrico
- Alcohol a 70° y 96°
- Hidrato de cloral

#### **D. Métodos**

##### 1. Recolección de material vegetal

El material se recolectó en la parcela experimental privada en la zona 15 de la ciudad capital de Guatemala. Se anotaron los datos sobre el lugar donde fue recolectado el material vegetal, o nombre de la institución que proporcionó el espécimen, la latitud o un rasgo geográfico permanente (GPS), el tipo de vegetación o hábitat, la fecha de recolección, el nombre de quién la recolectó y el número de recolecciones que se hicieron (Jones, 1988).

##### 2. Preparación de especímenes de Herbario

Se secó y prensó el material vegetal inmediatamente después de la recolección. Se ató fuertemente la prensa con cuerdas para evitar que se arrugaran, entonces se colocó la prensa para que entrara a la secadora por 12 horas. Cuidando que las hojas de los cultivos conservaran su forma natural y mostrarán sus detalles esenciales para su posterior herborización e identificación (Jones, 1988).

##### 3. Caracterización botánica

La planta se llevó al herbario BIGU para su correcta determinación. A la que se le asignó nombre científico, siguiendo la nomenclatura binomial. En la identificación botánica se tomó como referencia la guía taxonómica, farmacopeas, manual sobre técnicas de laboratorio para la identificación macro y microscópica de las especies estudiada (Jones, 1988).

#### 4. Elaboración de extractos vegetales

Los extractos se prepararon por percolación, pesando 150 g de material seco reducido a pedazos de un tamaño adecuado, mezclado con alcohol al 95% se dejó reposar por 15 min. La mezcla se llevó a un percolador y se añadió cantidad suficiente de disolvente para cubrir toda la masa sólida. La mezcla se dejó percolar lentamente para ser sometida a presión y temperatura constante (rotavapor) y los extractos se dejaron secar, hasta lograr la consistencia deseada (Gattuso y Gattuso, 1999).

#### 5. Elaboración de diafanizados

a. Técnica de semidiafanizado: Se seleccionó el material se colocó en un vaso de precipitar con una mezcla de alcohol a 96° e hidróxido de potasio (KOH) al 5% en partes iguales y se colocó en una estufa a 60°C durante media hora. Se enjuagó con agua tibia hasta que el líquido quedó limpio. Se montó con gelatina glicerina (Gattuso y Gattuso, 1999).

b. Técnica de diafanizado: Se colocó la materia vegetal en un vaso de precipitar con alcohol al 96°, se llevó a ebullición (en baño María) durante 10 min. Se pasó a una solución de partes iguales de alcohol de 96° e hidróxido de potasio (KOH) al 5%, se llevó a ebullición (en baño María) durante 5 - 10 minutos. Se lavó con agua destilada tibia varias veces hasta que el agua quedara totalmente limpia. Se trasladó el material con mucha precaución a una caja de Petri que contenía hipoclorito de sodio al 50 %, dejándolo hasta que quedar blanco-transparente. El tiempo dependía del material, se lavó con agua destilada, hasta eliminar totalmente el hipoclorito de sodio. Se colocó en hidrato de clorar (5:2) durante 10 - 15 min. como mínimo, hasta que se tornó transparente (Gattuso y Gattuso, 1999).

#### 6. Determinación de metabolitos secundarios por pruebas histoquímicas

El estudio microscópico de una droga vegetal, exige siempre la elaboración de cortes del material en estudio. Estos cortes fueron hechos a mano libre, el que se realizó colocando el material vegetal en estudio dentro de dos cilindros, que se

sostuvieron fuertemente y cortando con una hoja de afeitar, se recibió el material vegetal en un vidrio de reloj con agua, con la ayuda de un pincel se recogieron los cortes más delgados. Luego se procedió con la técnica seleccionada (Gattuso y Gattuso, 1999).

Las pruebas se realizaron en cortes finos de material fresco sobre un portaobjetos o laminilla.

a. Alcaloides (Reactivo de Dragendorff): A la muestra se agregó una gota del reactivo, se dejó actuar durante unos minutos. En la presencia de alcaloides apareció un precipitado color rojo ladrillo (Gattuso y Gattuso, 1999).

b. Almidón (reactivo yodo-iodurada): Se agregó una gota de reactivo, los granos de almidón se colorearon de azul o azul-violáceo. Alternativamente se agregó un pequeño volumen de etanol/glicerol y se examinó con un microscopio de luz polarizada, se observó, en cada grano de almidón, una cruz de malta birrefringente (Gattuso y Gattuso 1999).

c. Grasas, aceites, aceites volátiles y resinas (Reactivo Sudán IV): Se agregó 1 - 2 gotas de reactivo durante 10 min, se calentó suavemente, flameando el porta objetos (Gattuso y Gattuso 1999).

d. Mucílagos (Reactivo azul de cresilo 1%): Se agregó 1 gota de reactivo y se deja actuar 2 - 3 minutos, se lavó con agua destilada. El mucílago dan una coloración azul Francia (Gattuso y Gattuso , 1999).

## 7. Cromatografía de capa fina

Extracto: se pesó 0.100 g de extracto de chaya (estrella, mansa y picuda) se disolvió en 5ml de metanol.

Fase fija: se utilizó una cromoplaca de sílica gel 60F<sub>254</sub>.

Estándares: quercetina , rutina, ácido clorogenico, hiperósido.

Fase Móvil: acetato de etilo (10 ml), ácido fórmico (1.1 ml), ácido acético glacial (1.1), agua (2.7 ml). N- butanol (4 ml), ácido acético (1ml), agua (5 ml).

Se saturó la cámara con la mezcla de la fase móvil adecuada, esto dependerá del metabolito que se deseaba identificar, se dividió la sílica gel en cada punto se colocó el

extracto, solución testigo y las muestras, se dejó correr la cromatografía por 30 min aproximadamente, la placa fue llevada a una luz UV (25 U nm) luego se colocó reactivos fijadores y revelantes como (NP) difenilboriloxietiamina y (PEG) polietilenglicol 4000, leyendo la CCF a un luz UV 365 nm (LIPRONAT, 2005).

#### 8. Determinación de citotoxicidad en *Artemia salina*

- a. Cosecha de nauplios: Se preparó agua de mar (35 g de sal de mar / 500 ml de agua destilada), se oxigenó por una hora, se agregaron 50 - 65 mg de huevos de *A. salina* en el agua marina, se colocó en luz artificial por 48 horas, para que eclosionaran los nauplios y llegaran a la parte abierta de la pecera.
- b. Preparación de extractos: Se disolvieron 20 mg del extracto de chaya en 2 ml de agua de mar, se disolvió con un vortex, preparando diluciones de 1,000, 100 y 10 ppm.
- c. Determinación de citotoxicidad: Se colocó en una microplaca por quintuplicado 100  $\mu$ l de las concentraciones correspondientes más 100  $\mu$ l de agua de mar junto a 10 - 15 nauplios por cada pozo, lo mismo se realizó con el control positivo (furosemida 2 mg /ml). Incubando a temperatura ambiente por 24 horas.
- d. Conteo de nauplios: se contaron, el número de nauplios muertos.
- e. Interpretación: Se analizaron los datos en computadora para determinar el Probit o prueba de Finney que identificó los valores de concentración letal 50 (CL<sub>50</sub>). Los valores <1,000 ppm se consideraron activos (Cáceres, 1996).

### **E. Diseño de Investigación**

#### 1. Tipo de estudio

No experimental descriptivo

#### 2. Número de muestra

Se tomaron por conveniencia cinco ejemplares de cada población para realizar los ensayos y sus repeticiones así:

Características microscópicas: Tres repeticiones de cada uno de los cinco ejemplares de las tres poblaciones en estudio, para un total de 45 láminas.

Características químicas: Tres repeticiones de cada uno de los metabolitos en las cinco ejemplares de cada variedad, para un total de 45 pruebas histoquímicas.

Determinación de actividad biológica: Se hicieron 10 repeticiones para cada concentración del extracto de las tres poblaciones en estudio (10 ppm, 100 ppm, 1000 ppm).

Las réplicas o repeticiones se hicieron por conveniencia.

### 3. Análisis de resultados

a. Características macroscópicas, microscópicas, histoquímicas y cromatografía de capa fina: Se determinaron de forma descriptiva (hallazgos cualitativos presencia/ausencia), que permitieron concluir con características específicas que identificaron mejor a una variedad con respecto a la otra.

b. Características de actividad biológica: Para el estudio preliminar de bioactividad se realizó un análisis de regresión no paramétrica, utilizando la transformación Probit y se calculó el  $DL_{50}$  con su respectivo intervalo de confianza al 95%.

## VII. RESULTADOS

### A. Recolección y herborización de *Cnidoscolus aconitifolius* ssp. *aconitifolius*

El material fresco se obtuvo mediante la visita a la parcela experimental, ubicada en la zona 15 de la ciudad capital, campus de Universidad del Valle de Guatemala (UVG), altitud de 1550 msnm, localización norte 14° 36' 16.4"; Oeste 90° 29' 20.8". Se realizaron colectas de los diferentes cultivares (estrella, mansa y picuda) durante las cuatro visitas, aproximadamente 1Kg por visita.

También se colectaron ejemplares de cada cultivar para ser depositados en el herbario BIGU de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Adicionalmente se recolectaron ejemplares en cámara húmeda para el análisis histoquímico que se realizó.

### B. Características de ejemplares en estudio

#### 1) Chaya cultivar estrella

- a) Descripción botánica diagnóstica de *C. aconitifolius* ssp. *aconitifolius* cultivar estrella

Es un árbol pequeño de una altura aproximada de 2 - 3 m, con un tallo color café no leñoso con un diámetro aproximado de 3 cm, con ramillas delgadas con abundante látex de color blanco. Las hojas permanecen verdes, con lóbulos bien definidos, el nombre del cultivar se debe a la forma de su hoja (Fotografía 1).

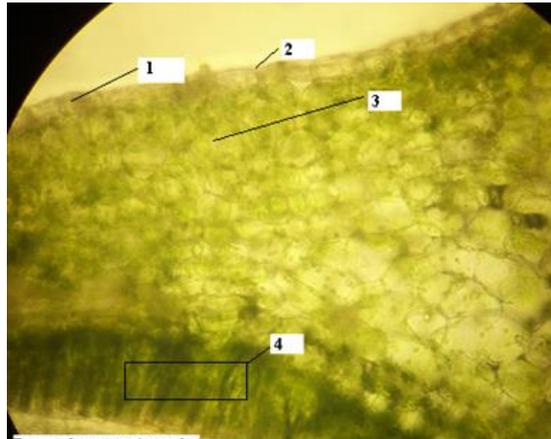


Fuente: datos experimentales

Fotografía 1: chaya estrella 1) lóbulos que definen el nombre del cultivar, 2) tronco café no leñoso.

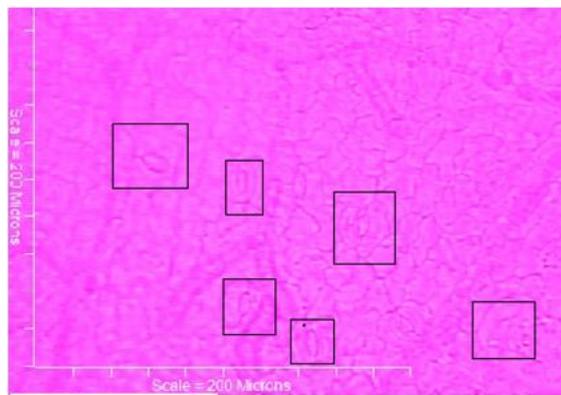
b) Descripción micromorfológica de Chaya estrella

Se observó en el corte transversal y el diafanizado del foliolo la epidermis compuesta de una sola capa de células sinuosas de forma irregular con una delgada capa de cutícula. La hoja de *C. aconitifolius* ssp. *aconitifolius* estrella es bifacial y anfistomática con presencia de estomas de tipo paracítico (Fotografía 2 y 3).



Fuente : datos experimentales

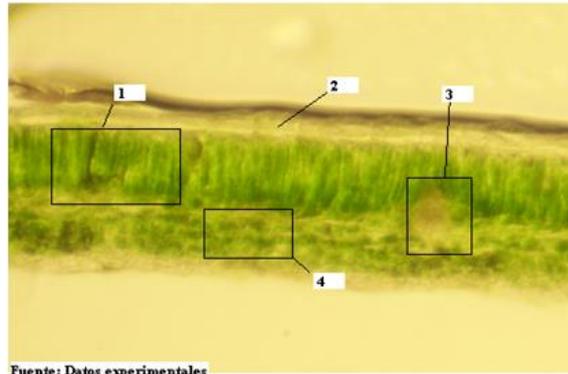
Fotografía 2 : chaya estrella, corte transversal de hoja bifacial, 1) epidermis 2) cutícula 3) mesófilo 4) parenquima empalizada



Fuente: Datos experimentales

Fotografía 3: diafanizado chaya estrella, estomas paracíticos.

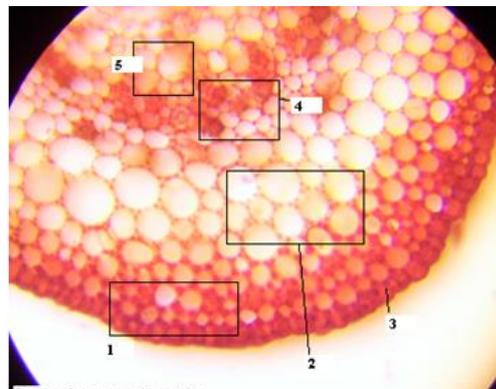
Por debajo de la epidermis abaxial se observó parénquima en empalizada con células alargadas distribuidas en el mesófilo, que representan las dos terceras partes y que se extienden hasta la nervadura central. En la epidermis adaxial se observó parénquima esponjoso de aspecto irregular con presencia de aerénquima y estomas. El esclerénquima fue visible solo en acúmulos dispersos en algunas partes de la hoja (fotografía 4).



Fuente: Datos experimentales

Fotografía 4: chaya estrella 1) empalizada 2) epidermis adaxial 3) nervadura secundaria 4) parenquima esponjoso

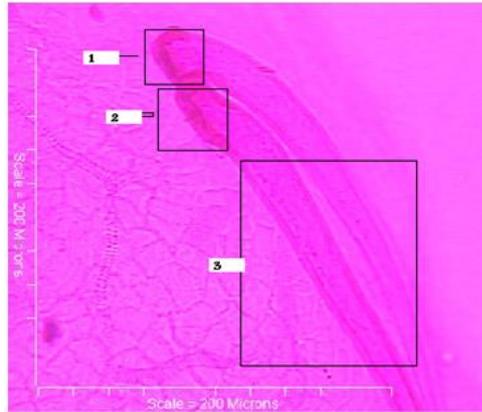
La nervadura central es angular hacia la superficie adaxial y semicircular hacia la cara abaxial en su corte transversal, se observó colénquima por debajo de la epidermis superior e inferior, así como el segmento distal de la hoja. También se evidenció presencia de fibras extra xilemáticas y haces vasculares trancurrentes rodeados de esclerénquima a lo largo del mesófilo, los haces vasculares están dispuestos en forma semicircular y son de tipo colateral abierto (Fotografía 5).



Fuente: datos experimentales

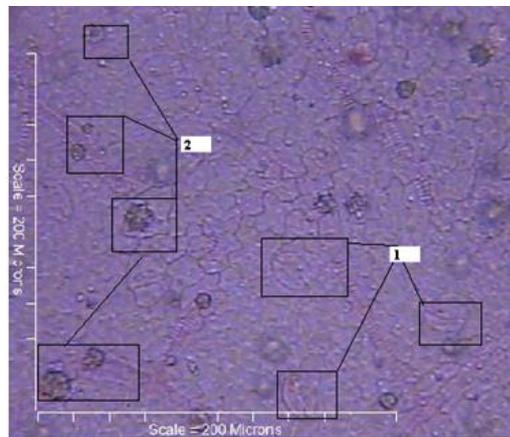
Fotografía 5: chaya estrella 1) colénquima 2) parénquima 3) epidermis 4) floema 5) xilema

La cutícula se observó en mayor cantidad en la epidermis adaxial y en menos cantidad que en la epidermis abaxial. En la epidermis se encontraron tricomas unicelulares en pareja así como tricomas glandulares (Fotografía 6). Chaya estrella presentó drusas de oxalato abundantes de distintos tamaños (50 - 200  $\mu\text{m}$ ), éstas se encuentran dentro de las células de la empalizada y en la nervadura central (Fotografías 7 y 8).



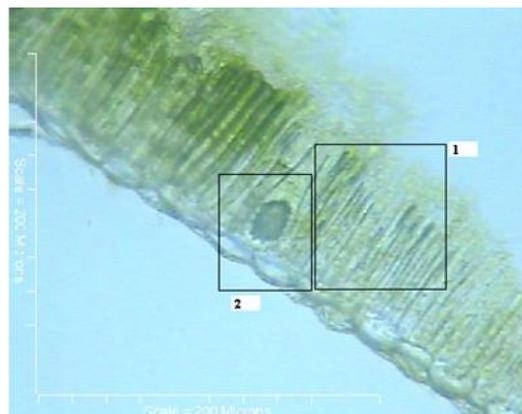
Fuente: datos experimentales

Fotografía 6: tricomas de chaya estrella, diafanizado  
1) base cuadrada 2) base redonda 3) unicelular



Fuente: datos experimentales

Fotografía 7: Diafanizado chaya estrella  
1) estomas paracíticos 2) drusa de oxalato

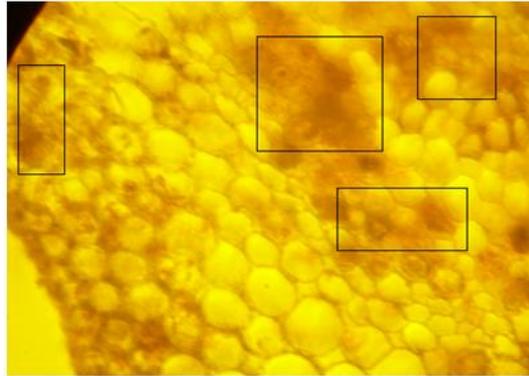


Fuente: datos experimentales

Fotografía 8: chaya estrella 1) empalizada 2) drusa de oxalato dentro de empalizada

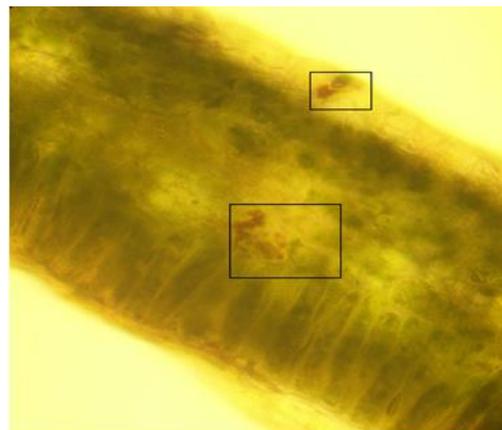
c) Tamizaje fitoquímico de *Cnidoscolus aconitifolius* ssp. *aconitifolius* cultivar estrella

El tamizaje fitoquímico permitió evidenciar la abundante presencia de alcaloides tanto en la nervadura central como en el parénquima medular (Fotografía 9). La prueba para almidones determinó que estos se encontraban en mayor cantidad en el parénquima medular (Fotografía 10).



Fuente: datos experimentales

Fotografía 9: chaya estrella reactivo de dragendorff  
reacción positiva, presencia de precipitado rojo ladrillo



Fuente: datos experimentales

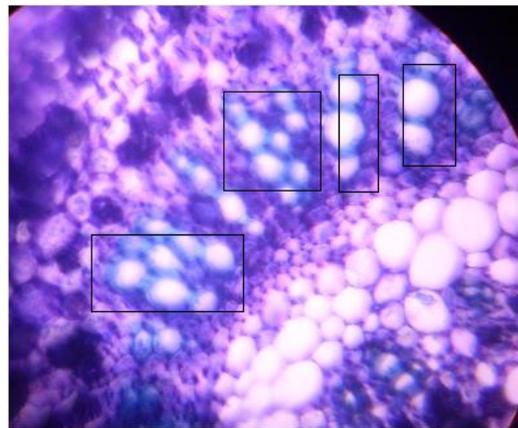
Fotografía 10: chaya estrella, reactivo de lugol  
reacción positiva para almidones

Los aceites y grasas fueron evidentes en la nervadura central, peridermis y haces del xilema (Fotografía 11), los mucílagos se encuentran distribuidos en todo el tejido de la hoja (Fotografía 12). Mientras que los taninos, la lignina y las saponinas fueron ausentes en *C. aconitifolius* ssp. *aconitifolius* cultivar estrella (Anexo 3).



Fuente: datos experimentales

Fotografía 11: chaya estrella reactivo sudán IV  
reacción positiva para grasas y aceites



Fuente: datos experimentales

Fotografía 12: chaya estrella reactivo azul de crecil 1%  
reacción positiva para mucilago coloración azul Francia

## 2) Chaya cultivar mansa

- a) Descripción botánica diagnóstica *Cnidoscolus aconitifolius* ssp. *aconitifolius*  
cultivar mansa

Es un arbusto pequeño que no presenta flores en ninguna época del año permanece pequeño al igual que sus hojas, estas son pequeñas no lustrosas y con abundante látex. Requiere poco mantenimiento y se expande por vástagos (Fotografía 13).

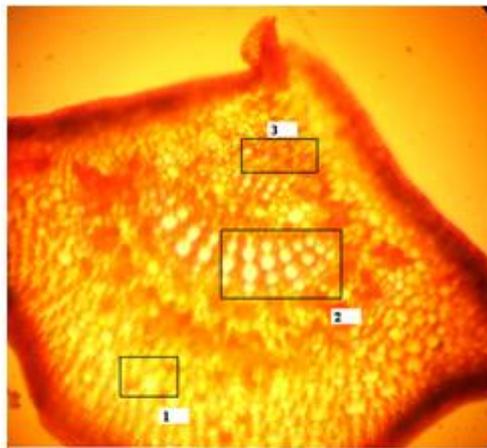


Fuente: datos experimentales

Fotografía 13: chayamansa tronco leñoso, hoja no lustrosa

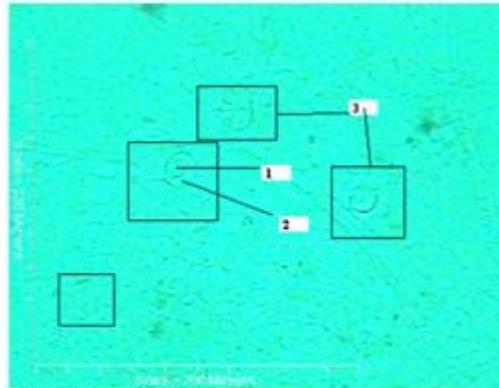
b) Descripción micromorfológica de *Cnidoscolus aconitifolius* ssp. cultivar mansa

Se observó en el corte transversal de materia fresca y el diafanizado del foliolo epidermis compuesta de una sola capa de células irregulares (Fotografía 14). La hoja de *C. aconitifolius* ssp. *aconitifolius* cultivar mansa es de tipo bifacial y anfiestomática con presencia de estomas de tipo paracítico en ambos lados con prevalencia en la cara abaxial (Fotografía 15).



Fuente: datos experimentales

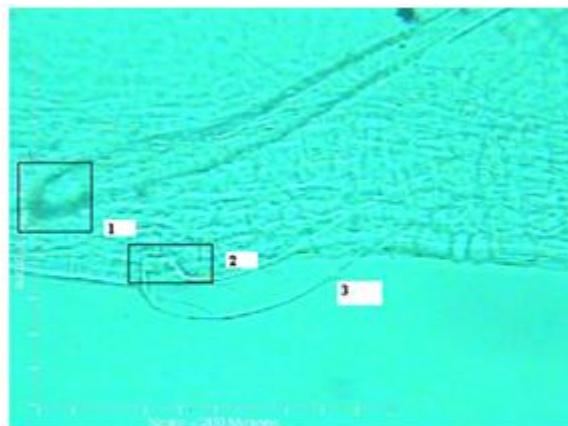
Fotografía 14: chayamansa, coloración safranina 1) colénquima 2) xilema 3) floema



Fuente: datos experimentales

Fotografía 15: chaya mansa, diafanizado  
1) ostiolo 2) células oclusivas 3) estomas  
parásitos

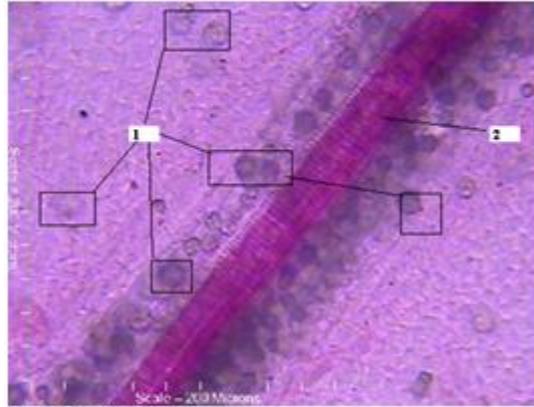
La nervadura central hacia la cara adaxial termina en punta con la disminución gradual del parénquima en empalizada, la cara abaxial es semicircular en un corte transversal de materia fresca, se observó colénquima en el mesófilo superior e inferior, los haces vasculares dispuestos en forma semicircular de tipo colateral abierto rodeados de vaina esclerenquimática. La cutícula se observó en mayor cantidad en la epidermis adaxial, se observaron tricomas en pareja unicelulares con dos bases diferentes (cuadrada y redonda) (Fotografía 16).



Fuente: datos experimentales

Fotografía 16: chaya mansa, diafanizado, tricoma  
doble. 1) base cuadrada 2) base redonda 3) tricoma  
en forma de garfio

La presencia de drusas de oxalato de diferentes tamaños (50 - 200  $\mu\text{m}$ ), distribuidas en el ápice de la hoja y la nervadura central (fotografía 17 y 18).



Fuente: datos experimentales

Fotografía 17: chayamansa, diafanizado 1) drusa de oxalato 2) nervadura central

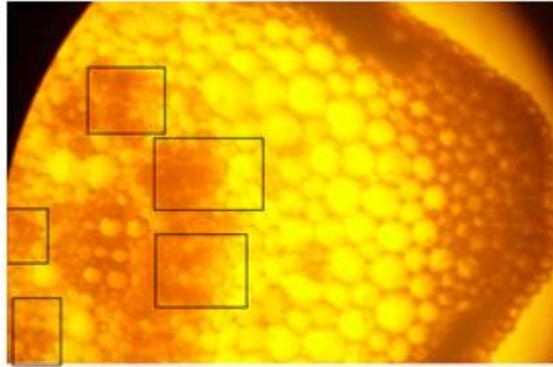


Fuente: Datos Experimentales

Fotografía 18: chayamansa, diafanizado 1) drusa de oxalato en empalizada 2) empalizada

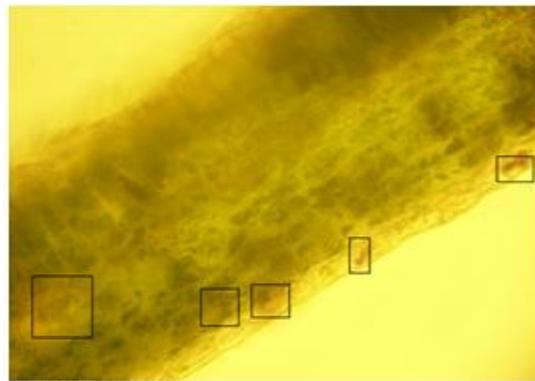
- c) Tamizaje fitoquímico de *Cnidoscolus aconitifolius* ssp. *aconitifolius* cultivar mansa

La presencia de alcaloides en la nervadura central y parénquima medular fue abundante en, la prueba con lugol evidenció el almidón presente y en mayor cantidad en el parénquima medular (Fotografía 19 y 20).



Fuente: datos experimentales

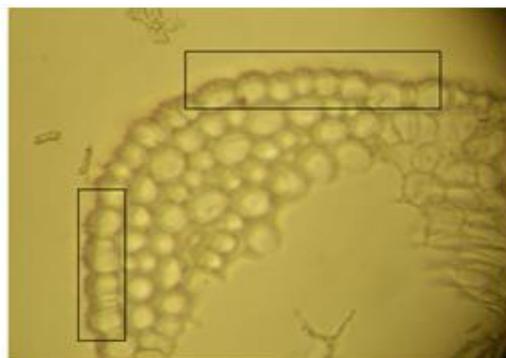
Fotografía 19: chaya mansa, reactivo Dragendorff  
reacción positiva para alcaloides, precipitado color rojo ladrillo



Fuente: datos experimentales

Fotografía 20: chaya mansa reactivo lugol,  
reacción positiva para almidones

Los aceites y grasas son positivos especialmente para la peridermis de la nervadura central y haces del xilema, las reacciones para taninos, saponinas, lignina y mucílago son negativas (Anexo 3) (Fotografía 21).



Fuente: datos experimentales

Fotografía 21: chaya mansa reactivo  
floroglucina, precipitado color rojo positivo  
para grasas y aceites

### 3) Chaya cultivar picuda

#### a) Descripción botánica diagnóstica *Cnidoscolus aconitifolius* ssp. *aconitifolius* cultivar picuda

Es la única de los cultivares estudiados que presenta flores blancas, abundante látex, su tronco no leñoso y alcanza altura de 2 - 3 m, su hojas permanecen verdes y no lustrosas (Fotografía 22).

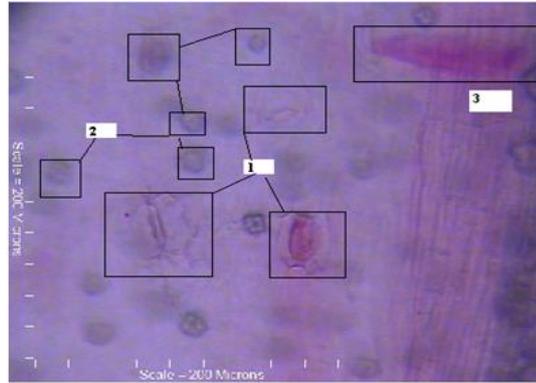


Fuente: datos experimentales

Fotografía 22: chaya picuda, parcela experimental  
1) hojas no lustrosas 2) tronco no leñoso color café

#### b) Descripción micromorfológica de chaya picuda

Se observó en el corte transversal y diafanizado del foliolo una hoja bifacial y anfistomática con presencia de estomas de tipo paracítico. Se encontraron células sinuosas e irregulares en la epidermis, rodeadas de una pequeña capa de cutícula, así como tricomas unicelular de base cuadrada, redonda y en forma de garfio, las drusas de oxalato son abundantes especialmente en el ápice de la hoja y la nervadura central (Fotografía 23).

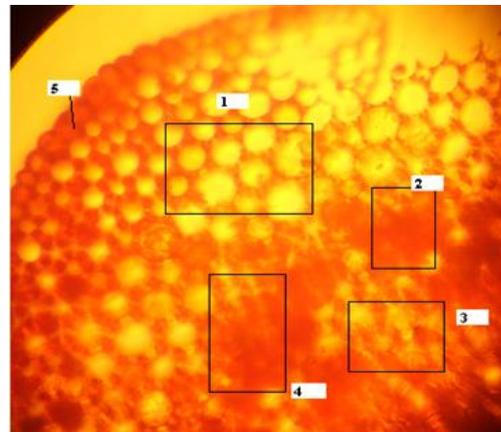


Fuente: datos experimentales

Fotografía 23: chaya picuda, diafanizado

- 1) estomas parásitos 2) drusa de oxalato  
3) tricomas en garfio

Se observó que la nervadura central hacia la cara adaxial es angular con el parénquima en empalizada sin perder su tamaño y densidad, en la cara abaxial la nervadura central es semicircular, por debajo de la epidermis, se observó la presencia de colénquima, parénquima esponjoso y células de aspecto irregular. El esclerénquima fue observado en acúmulos dispersos en diferentes partes de la hoja. Los haces vasculares observados fueron de tipo colateral abierto rodeados de una vaina de colénquima, dispuestos en una forma semicircular (Fotografía 24).



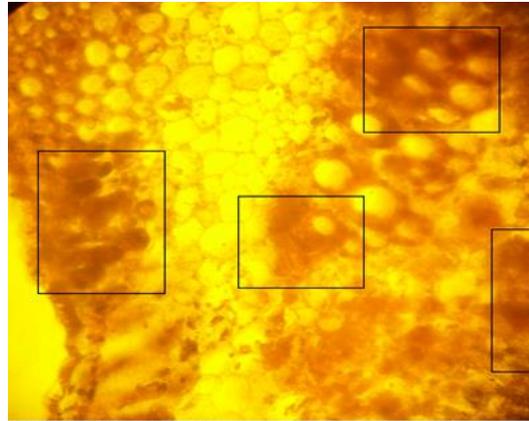
Fuente: datos experimentales

Fotografía 24: chaya picuda colorante safranina

- 1) colénquima 2) floema 3) xilema 4) esclerenquima  
5) epidermis

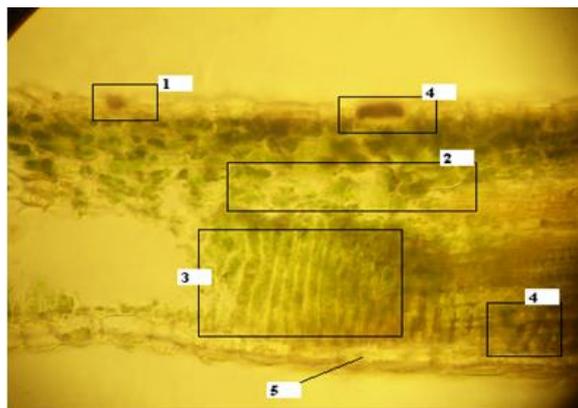
c) Tamizaje fitoquímico de *Cnidoscolus aconitifolius* ssp. *aconitifolius* cultivar picuda

La presencia de alcaloides fue positiva para la nervadura central y parénquima medular; el reactivo de lugol evidenció la presencia de almidón especialmente en la epidermis adaxial (Fotografía 25 y 26).



Fuente: datos experimentales

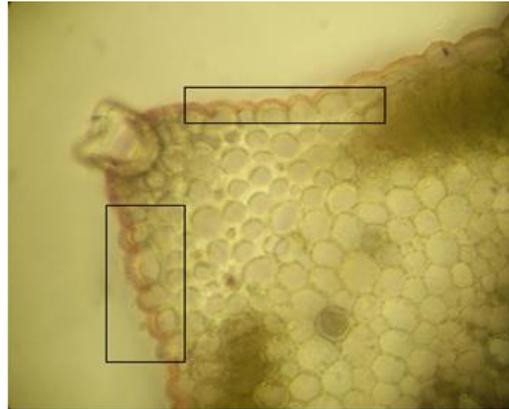
Fotografía 25: chaya picuda reactivo dragendorff  
reacción positiva para alcaloides, precipitado color rojo ladrillo



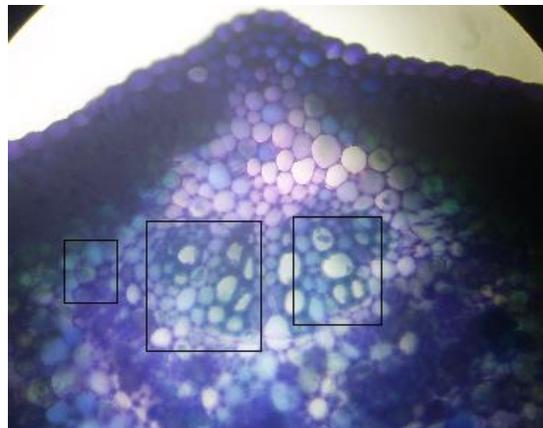
Fuente: datos experimentales

Fotografía 26: chaya picuda, reactivo lugol  
1) estoma 2) parénquima esponjoso 3) empalizada  
4) almidón 5) epidermis

La presencia de grasas y aceites fue evidente con el reactivo de floroglucina, el mucílago está presente tanto en la nervadura central como en el parénquima medular de la hoja de chaya picuda. La presencia de saponina y taninos son negativos para esta hoja. (Anexo 3) (Fotografía 27 y 28).



Fuente: datos experimentales  
 Fotografía 27: chaya picuda reactivo floroglucina  
 reacción positiva precipitado rojo



Fuente: datos experimentales  
 Fotografía 28: chaya picuda reactivo azul de cresil 1 %  
 reacción positiva para mucilago, coloracion azul  
 Francia

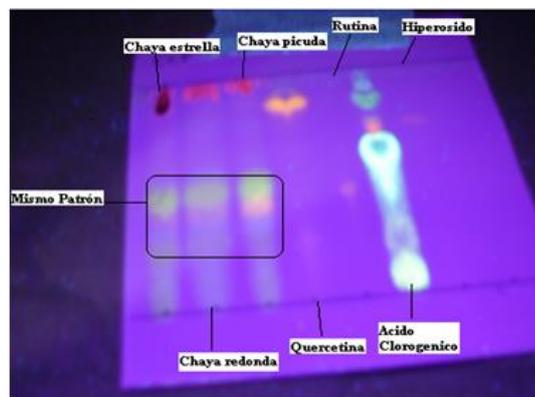
#### 4) Evaluación de actividad biológica en nauplios de *A. salina*

Se obtuvieron extractos con etanol al 95% de los tres cultivares de chaya, encontrando que chaya estrella presenta el mayor porcentaje de rendimiento con un 18.7% seguido de chaya picuda con un 16.8% y por último chaya mansa con un 14.5%.

La evaluación de la actividad biológica con larvas de *A. salina* mediante ensayos en placa por quintuplicado, determinando que a una concentración de 2 mg / ml los extractos analizados no causan muerte al nauplio de *A. salina*, por lo tanto *C. aconitifolius* ssp. *aconitifolius* y sus tres cultivares en este estudio no presentan ninguna actividad biológica importante (Anexo 4).

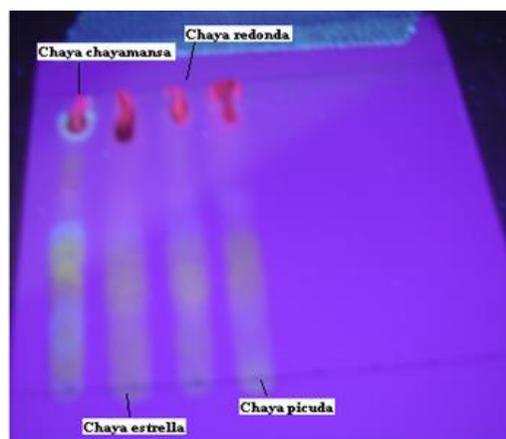
## 5) Cromatografía de capa fina (CCF) para flavonoides

Se determinó la presencia de flavonoides por medio de cromatografía de capa fina usando como estándares, quercetina, rutina, ácido clorogénico e hiperósido, cromatoplaaca de sílica gel 60F<sub>254</sub>, mezcla de fase móvil para flavonoides, encontrando la misma diversidad en los tres cultivares (Fotografía 28). Se realizó una segunda cromatografía de capa fina, ahora con la presencia de *Cnidoscolus chayamansa* encontrando que estos materiales vegetales presenta similitud en cuanto a los flavonoides que las componen (fotografía 29 y 30).



Fuente: datos experimentales

Fotografía 29: Cromatografía de Capa Fina (CCF) determinación de flavonoides. los tres cultivares presentan el mismo patrón.



Fuente: datos experimentales

Fotografía 30: Cromatografía de Capa Fina (CCF) determinación de flavonoides para los tres cultivares y chayamansa

## VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El estudio se realizó con la finalidad de establecer características farmacobotánicas que permiten diferenciar entre los cultivares de *C. aconitifolius* ssp. *aconitifolius* (estrella, mansa y picuda) presentes en una parcela experimental de la zona 15 de la ciudad de Guatemala.

Las características macroscópicas de *C. aconitifolius* ssp. *aconitifolius* y sus tres cultivares son diferentes en la forma de sus hojas, donde cada cultivar recibe su nombre por esta característica particular, sin embargo su forma de cultivo, expansión, cantidad de látex, tronco, raíz y tiempo de crecimiento son similares en los tres cultivares, estos fueron recolectados en una parcela experimental a la misma altitud y temperatura.

Las características microanatómicas de las hojas estudiadas son similares, en los tres cultivares de chaya disponibles en la parcela experimental, donde los tres se caracterizan por la presencia de parénquima en empalizada con células alargadas en 2/3 partes de su estructura, nervadura central con haces vascular empaquetados, estomas paracíticos en ambos lados, presencia de drusas de oxalato dentro de empalizada y tres tipos de tricomas. Existe una pequeña diferencia en la nervadura central hacia la cara adaxial de los tres cultivares, la chaya estrella termina en forma angular, la mansa de forma angular picuda, perdiendo progresivamente las células alargadas del parénquima en empalizada y la picuda en su cara adaxial tiene una forma angular manteniendo la densidad del parénquima en empalizada hasta el final, sin embargo, esta diferencia no es determinante, en los metabolitos que posee la planta, pero si para la diferenciación microanatómica en materia fresca.

En la literatura se reporta que las hojas de chaya presentan alcaloides, flavonoides y mucílago. Experimentalmente el tamizaje fitoquímico de los tres cultivos de chaya presentó reacción positiva para estos compuestos, así como también para almidones, aceites y grasas. Por lo tanto el tamizaje fitoquímico cualitativo de estos tres cultivos (estrella, mansa y picuda) permite orientar futuras investigaciones para fraccionar y/o extraer el compuesto de mayor interés (Figueroa-Valverde, Díaz-Cedillo, Camacho y López, 2009; García, et al., 2006).

En cuanto a la intensidad de las reacciones histoquímicas entre un cultivar y otro no fueron determinantes, debido a que las muestras provenían del mismo sitio de siembra y colección, los estudios realizados determinaron que estos cultivares se ven afectados levemente en su composición por la fluctuación en temperatura, precipitación, humedad y altitud sobre el nivel de mar por lo que sería conveniente comprobar si existe tal diferencia a nivel histoquímico (Cifuentes et al., 2000).

Los metabolitos secundarios presentes en abundancia en el tejido vegetal son los alcaloides, aceites y grasa, mientras que en cantidad moderada se presentó el mucílago y los almidones, ausentes fueron los taninos y la lignina.

La presencia de almidones como reserva de energía en las hojas le da su beneficio antiinflamatorio y emoliente, la presencia de mucilago que es una fibra soluble, determina su efecto antiinflamatorio, laxante y antitusivo, (Herrera, 2009; Morton, 1990).

Los alcaloides son positivos en la prueba cualitativa con dragendorff, para los tres cultivares, que le confieren propiedades farmacológicas, estimulante como el cambio en la motilidad del intestino, hasta efecto insecticida (Cruz y Rodríguez - Ortiz, 2011; Carrasco, *et al.*, 2013) es necesario tipificar este tipo de metabolito, así como, determinar si la época del año influye en la cantidad y rendimiento de estos en este género específico (Méndez, Fuentes, Soler, Villanueva, Lenés y Rodríguez, 2001).

Los tres cultivares presentan estomas con dos células subsidiarias de tipo paracítico, en ambos lados de la hoja, las proyecciones de la epidermis son de tipo no glandular unicelular en parejas, con diferencias en el pie del tricoma (cuadrados y redondos) y su forma es alargado simple y alargado enrollado, así como la presencia de tricoma de tipo glandular.

Los tres cultivares presentaron drusa de oxalato de diferentes tamaños (50 – 200  $\mu\text{m}$ ) dentro del parénquima en el mesófilo de las hojas, estos compuestos son de interés en las investigaciones taxonómicas y filogenéticas dada la estabilidad de estos cristales y su tipo de distribución (Arrambari, 2002).

Los extractos etanólicos de las hojas de *C. aconitifolius* ssp. *aconitifolius* y sus tres cultivares se obtuvieron por medio del método de percolación y concentración en rotavapor, obteniendo un buen porcentaje de rendimiento, teniendo mayor rendimiento *C. aconitifolius* ssp. *aconitifolius* cultivar estrella con 18.7 %, este porcentaje se ve afectado por el órgano utilizado de la planta (raíz, tallo, hoja, semilla), la época de corte, así como el disolvente utilizado (Rakshit, Devappa y Klauss, 2010).

La CCF para determinar los flavonoides presentes en los tres cultivares (estrella, mansa y picuda) estableció la presencia de quercetina rutina y ácido clorogénico en las tres muestras, sin embargo el tamizaje de estos metabolitos no fue efectivo, debido a que no se encontraron los estándares que determinaran la presencia de flavonoides de interés farmacológico como la amentoflavona y la dihidromiricetina, presentes en *C. chayamansa*, estos flavonoides tienen marcado interés en este material vegetal debido a que estos le proporciona la propiedad hipoglucemiante e hipocolesterolémico, por esta razón se realizó una CCF comparando *C. chayamansa* y los tres cultivares, determinando que las muestras presentan las mismas bandas y por lo tanto la misma diversidad de flavonoides, pudiendo inferir que los cultivares de chaya domesticados en Guatemala poseen también efecto hipoglucemiante e hipocolesterolémico (Figueroa-Valverde, Díaz-Cedillo, Camacho y López, 2009).

Los metabolitos secundarios determinados en estos cultivares le dan sentido a las propiedades farmacéuticas y nutricionales. La presencia de flavonoides como quercetina, rutina y ácido clorogénico son antioxidantes en el sistema biológico, con alta actividad farmacológica, ya que al unirse a polímeros biológicos como enzimas, transportadores hormonales y ADN, así como quelar iones metálicos transitorios ( $Fe^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ), catalizar el transporte de electrones y depurar radicales libres, proporcionan efectos protectores en patologías como diabetes mellitus, cáncer, cardiopatías, infecciones víricas, úlceras estomacales y duodenales e inflamaciones (Martínez-Flores, Gonzales-Gallego, Culebras y Tuñón, 2002). La quercetina por su estructura y distribución se clasifica entre los flavonoles primarios junto al kampferol; es el que mejor reúne los requisitos para ser un efectivo antioxidante 4.7 mM Trolox (5 veces mayor que la vitamina C) siendo el más predominante de los flavonoles, en general, los flavonoides tienden a mejorar la resistencia capilar e inhibir la inflamación,

atrapan radicales libres e inhiben una variedad de enzimas. Por ser polifenoles que el ser humano no puede producir estos deben ser consumidos como alimento o como suplemento (Martínez-Flores et al., 2002).

Para obtener un perfil mejor del comportamiento de los extractos de los tres cultivares de chaya en estudio, se realizó una evaluación preliminar de toxicidad (Barahona & Sanchez-Fortún, 1999) mediante el ensayo de con nauplios de *A. salina*, que evalúan la presencia de sustancias bioactivas en los extractos de las plantas, sin embargo, ninguno de los extractos analizados (*C. aconitifolius* ssp. *aconitifolius* y sus tres cultivares estrella, mansa y picuda) presentaron actividad biológica importante, estos resultados difieren de lo reportado por estudios anteriores (Yoc et al., 2012) quienes analizaron los cultivares estrella y mansa, determinando que hay actividad contra nauplios de *A. salina* a una concentración menor de 1 mg/ml.

Se determina que los tres cultivares de *C. aconitifolius* estudiados son fácilmente distinguibles por la morfología de sus hojas en materia fresca, a nivel microscópico las diferencias encontradas no son suficiente para establecer una diferencia entre cada cultivar, especialmente cuando este material vegetal se encuentre fragmentado o seco, no existe ninguna diferencia entre los metabolitos encontrados en los tres cultivares, por lo que los tres cultivares pueden ser utilizados para el mismo propósito.

## IX. CONCLUSIONES

1. Las características microanatómicas como tricomas, parénquima, drusas de oxalato, estomas, nervadura central de los tres cultivares de *C. aconitifolius* spp. *aconitifolius* no pueden ser utilizados como instrumento de diferenciación intra-cultivo, cuando la materia vegetal está seca y/o fragmentada, ya que son un denominador común en este material vegetal.
2. Los tres cultivares estudiados, presentan los mismos metabolitos reportados para *C. aconitifolius* (alcaloides, almidón, grasas y aceites fijos) y la ausencia de taninos y lignina.
3. Para este estudio se encontró además la presencia histoquímica de mucílagos, metabolito que no había sido reportado con anterioridad.
4. Los tres cultivares, presentaron quercetina y rutina, flavonoides que podrían estar relacionados con algunas de las propiedades medicinales que se le atribuyen a la chaya.

## I. RECOMENDACIONES

1. Investigar si los factores ambientales (temperatura, altitud, humedad) pueden afectar las características fitoquímicas de los cultivares, así como afectan la productividad de los cultivos.
2. En la CCF utilizar estándares de metabolitos como amentoflavona y dihidromircetina que determinan las propiedades medicinales que se le atribuyen a la especie en estudio.
3. Determinar cuantitativamente los metabolitos secundarios para establecer si hay alguna diferencia de concentración, que pueda ser utilizada como parámetro de identidad, para el control de calidad.
4. Evaluar por bioensayos las propiedades hipoglucemiante e hipocolesterolémica de los tres cultivares en estudio, mencionadas para la especie por otros investigadores.
5. Utilizar técnicas cuantitativas para evaluar los caracteres epidérmicos de los tres cultivares.
6. Confirmar la presencia o ausencia de actividad biológica en los extractos de los cultivares de chaya presentes en la parcela experimental.

## II. REFERENCIAS

- Alvarado, L. y Nuñez, M. 2012. Proyecto de factibilidad para la elaboración y comercialización de té de chaya para la ciudad de Guayaquil. (Tesis de Ingeniero Comercial Mención Comercio Exterior). Universidad de Politecnica Salesiana. Facultad de Ciencias Administrativas y Económicas. Ecuador.
- Arévalo-Domínguez, J. (2010). Museo de Farmacobotánica. *Revista Reflexión*, 543, 151 – 154.
- Argueta, V., Cano-Asseleih, I. & Rodarte, M. (1994). *Atlas de las plantas de la Medicina Tradicional Mexicana*. México: Instituto Nacional Indigenista.
- Arambarri, A. 2002. Morfología, anatomía y formaciones cristalinas en especies del género *Senne*, sección *chamaefistula* de la Argentina (Leguminosae-caesalpinioideae-Cassieae- Cassineae). *Journal of Food Science*, 63, 25 – 28.
- Azeez, O., Oyagbemi, A., Oyeyemi, M. & Odetola, A. (2010). Ameliorative effects of *Cnidoscolus aconitifolius* on alloxan toxicity in Wistar rats. *African Health Sciences*, 10, 283 – 291.
- Barahona, M.V. & Sánchez-Fortún, S. (1999). Toxicity of carbamates to the brine shrimp *Artemia salina* and the effect of atropine, BW284c51, iso-OMPA and 2-PAM on carbaryl toxicity. *Environmental Pollution*, 104, 469-476.
- Blanco, V. (2001). Efecto tipo de estaca, densidad de siembra y nivel de nitrógeno sobre la producción y composición de Chaya (*Cnidoscolus aconitifolius* ssp). Tesis de Ingeniero en Ciencias Agrícolas, Universidad del Valle de Guatemala, Facultad de Ciencias y Humanidades. Guatemala.
- Breckon, G.J. (1975). *Cnidoscolus, section Caliptrosolen (Euphorbiaceae) in México and Central América*. Madrid: Fontqueria.

- Bressani, R. (1993). *Valor nutritivo y uso en alimentación humana de algunos cultivos autóctonos subexplotados de Mesoamérica*. Guatemala: Food and Agricultura Organization of United National.
- Cáceres, A. (1996). *Plantas de uso medicinal en Guatemala*. Guatemala: Editorial Universitaria.
- Cáceres, A. (2006). *Vademécun nacional de plantas medicinales*. Guatemala: Editorial Universitaria
- Carrasco, J., Fortalino, A., Sánchez, A., Lujan, J., Pachas, A., Castilla, L., Nuñez, R., Osorio, K., Alvarado, A., Loja, B. y Salazar, A. (2013). Efecto sobre la motilidad intestinal del extracto de alcaloides de semilla de *Jatropha curcas* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18, 84-91.
- Callaghan, J. y Hayden. J. (2004). La Reserva Biocultural Helen Moyers en Rancho Kiuic, Yucatán, México: Una introducción a la Reserva y su flora botánica. *Revista Tecnológica Avanzada*, 63, 169.
- Cambranis, S. (2005. Abril 22). Nutrientes de la Chaya chayamansa. El periódico de los universitarios, p. 174.
- Cifuentes, R., Molina-Cruz, A. y Arias, C. (2000). Evaluación de cuatro selecciones de chaya y dos niveles de defoliación en cuatro regiones de Guatemala. *Revista de la Universidad del Valle de Guatemala*, 5, 12 – 16.
- Cifuentes, R., Pöll, E., Bressani, R. y Yurrita, S. (2010). Caracterización botánica, molecular, agronómica y química de los cultivares de chaya (*Cnidoscolus aconitifolius*) de Guatemala. *Revista de la Universidad del Valle de Guatemala*, 21, 34 - 49.
- Cifuentes, R., Molina-Cruz, A., Arias, C. y Gómez, E. (1999). Impacto de varios factores agronómicos sobre la reproducción, producción de biomasa y composición química de la hoja y cogollo de chaya (*Cnidoscolus aconitifolius*; *Euphorbiaceae*). Guatemala. *Revista de la Universidad del Valle de Guatemala*, 22, 50 – 66.

- Cruz, C. (2001, Febrero 16). Tipos de tóxico en las *hojas de Cnidoscolus aconitifolius* Universidad Veracruzana. Centro de Estudios y Servicios en Salud de la Universidad de Veracruz. Periódico Universo, p. 44.
- Cruz, A., Rodríguez, C. y Ortiz, C. (2011). Efecto insecticida *in vitro* del extracto etanólico de algunas plantas sobre la mosca adulta *Haematobia irritans*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16, 216 – 226.
- Díaz-Bolio, J. (1975). *Chaya (Cnidoscolus chayamansa, Euphorbiaceae), a marvellous food*. Chaya y soya. México: Tierra
- Domínguez, X. (1975). *Cromatografía en papel y en capa delgada*. Washington: Unión Panamericana. Dpto. de Asuntos Científicos. Serie Química.
- Donkoh, A., Kese, A. G., & Atuahene, C. C. (1990). Chemical composition of chaya leaf meal (*Cnidoscolus aconitifolius* Mill.) Johnston) and availability of its amino acids to chicks. *Animal Feed Science and Technology*, 30(1), 155-162.
- De Landa, D. (1982). *Relación de las Cosas de Yucatán*. México: Editorial Porrúa S.A.
- Fernando-Casas, F.J. (2007). *Cnidoscolus notulae: C. aconitifolius (Miller) I.M. Johnston subsp. aconitifolius*. Madrid: Adumbrationes Ad Summe Editionem.
- Figuroa-Valverde, L., Díaz-Cedillo, F., Camacho, L. y López, M. (2009). Efecto inducido por *Ruta graveolens* L., *Cnidoscolus chayamansa* McVaugh y *Citrus aurantium* L. sobre los niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos en un modelo de ratas diabéticas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19, 898 - 907
- Fillion, L. & Henry, C.J.K. (1998). Nutrient losses and gain during frying. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2, 157 – 168.
- Flores, J., Canto-Avilés, G. y Flores –Serrano, A. (2001). Plantas de la flora yucatanense que provoca alguna toxicidad en el humano. *Revista Biomédica*, 12, 86 – 96.

- Galdámez, N. (1996). Utilización del follaje en producción alimentadas a base de rastrojo de maíz (*Zea mays*) La Fragua, Zacapa. Tesis Ingeniero Agrónomo, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. Guatemala.
- García, D., Medina, M., Domínguez, C., Baldizán, A., Humbría J. y Cova, L. (2006). Evaluación química de especies no leguminosas con potencial forrajeo en el estado de Trujillo, Venezuela. *Zootecnia tropical*, 24, 401 – 415.
- Gattuso, M.A. y Gattuso, S.J. (1999). *Conocimientos básicos de técnicas histológicas en material vegetal*. Santa Fe, Argentina: UNR editora.
- Gattuso, M.A. y Gattuso, S.J. (1999). *Manual de procedimientos para el análisis de drogas en polvo*. Santa Fe, Argentina: UNR editora.
- Gutiérrez- Orellana, M.A. (1999). Caracterización de especies arbóreas y arbustivas nativas con potencial para alimentación de bovinos en los municipios de Ixcán, Quiché y Fray Bartolomé de las Casas, Alta Verapaz. Tesis licenciatura en Zootecnia, Universidad San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Herrera, C.L. (2009). Características de identidad de las valerianas de Guatemala. Tesis Licenciatura en Química Biológica, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.
- Herrera, E.P. (1998). Efecto antioxidante de la hoja de chaya (*Cnidoscolus ssp*) en alimentos. Tesis Ingeniero en Ciencias Agronómicas, Universidad del Valle de Guatemala, Facultad de Ciencias y Humanidades. Guatemala.
- Jimoh, F.O., Babalola, S.A & Yakubu, M.T. (2009). Assessment of the antioxidant potential of *Cnidoscolus chayamansa*. *Journal pharmaceutical Biology*, 42, 903 – 909.
- Jones, S. (1988). *Sistemática Vegetal México*: McGraw-Hill Interamericana.
- Juárez, S. (1996). Evaluación citotóxica de diez extractos de plantas en larvas de *A. salina*. Tesis Licenciatura en Química Biológica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.

- Kuti, J. & Konuro, H. (2004). Antioxidant capacity and phenolic content in leaf extracts of tree spinach (*Cnidoscolus spp.*). *Agricultural and Food Chemistry*, 52, 117 – 121.
- Kuti, J. & Torres, E. (1996). Potential nutritional and health benefits of tree Spinach. *National Academy of Science*, 2, 516 – 520.
- Loarca-piña, G., Mendoza, S., Ramos-Gómez, M. & Reynoso, R. (2010). Antioxidant, antimutagenic, and antidiabetic activities of edible leaves from *Cnidoscolus chayamansa* Mc Vaugh. *Journal of Food Science*, 75, 68-72.
- Manual de Operaciones LIPRONAT. (2005). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Martínez-Flores, S., Gonzáles-Gallegos, J., Culebras, J. y Tuñón, M. (2002). Los Flavonoides: propiedad y acciones antioxidantes. *Revista Nutrición Hospitalaria*, 6, 271 – 278.
- McLaughlin, J., Chang, C. & Smith, D. (2005). Bench top “bioassay for the discovery of bioactive natural products: an update”. In A. Rahman, *Studies en Natural Products Chemistry* (pp 383 - 409). Amsterdam: Elsevier.
- Meneses, A. (2000). Caracterización Agromorfológica de once selecciones de chaya (*Cnidoscolus aconitifolius ssp.*) doméstica y silvestre. Tesis de Ingeniero en Ciencias Agrícolas. Universidad del Valle de Guatemala. Facultad de Ciencias y Humanidades. Guatemala.
- Méndez, G., Fuentes, V., Soler, B., Villanueva, G., Lemes, C. y Rodríguez, C. (2001). Variación de índices farmacognósticos en *Passiflora incarnata* L. con la época y hora de cosecha de la droga. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 6, 98 – 104.
- Miranda-Velasquez, L., Oranday-Cardenas, A., Lozano-Garza, H., Rivas-Morales, C., Chamorro-Cevallos, G. & Cruz-Vega, D. (2010). Hypocholesterolemic activity from the leaf extracts of *Cnidoscolus chayamansa*. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65(4): 392 - 395

- Molina Cruz, A. (1998). La chaya una hoja muy nutritiva que muy pocos aprovechan. *Revista Agricultura*, 2, 47 – 52.
- Molina-Cruz, A., Cifuentes, R., Arias, C. y Bressani, R. (2000). La chaya (*Cnidoscolus aconitifolius*): Variedad, composición y distribución en Guatemala. XLVI Reunión Anual del PCCMCA, San Juan, Puerto Rico.
- Montoya, G. (2005). Las maravillas de la “chaya” medicinal. *Revista el Agro*, 21, 22 – 24.
- Morton, J. (1990). Mucilaginous plants and their uses in medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 29, 245 – 266.
- Murray, W. (2005). *Introducción a la Botánica*. Madrid: Addison Wesley.
- Oboh, G. (2006). Tropical green leafy vegetables prevent garlic-induced hepatotoxicity in the rat. *Journal of Medicine Food*, 9, 545 – 551.
- Obón de Castro, C. y Rivera, D. (1991). *Las plantas medicinales de nuestra región*. Murcia, España: Regional de Murcia.
- Ohigashi, H y Murakami, A. (2008). *Food factors for cancer prevention*. Tokio: Springer-Verlag.
- Oyagbemi, A., Odetola, A. & Azeez, O. (2011). Phytochemical investigation and proximate analysis on the leaves of *Cnidoscolus aconitifolius*. *Journal of Medicinal Food*, 14, 322 – 324.
- Palos-Suárez G. (2005). Evaluación del té de chaya (*Cnidoscolus chayamansa*) en un modelo experimental de diabetes en ratas. *Revista Tecnología Avanzada*, 2, 35 - 40.
- Palma, C. (2008, Mayo 22). Investigadores estudian a la chaya, el manjar de los mayas. El periódico, p 42-43.
- Pelka, M., Danzl, C., Distler, W. & Petschelt, A. (2000). A new screening test toxicity testing of dental materials. *Journal of Dentistry*, 28, 341-345.

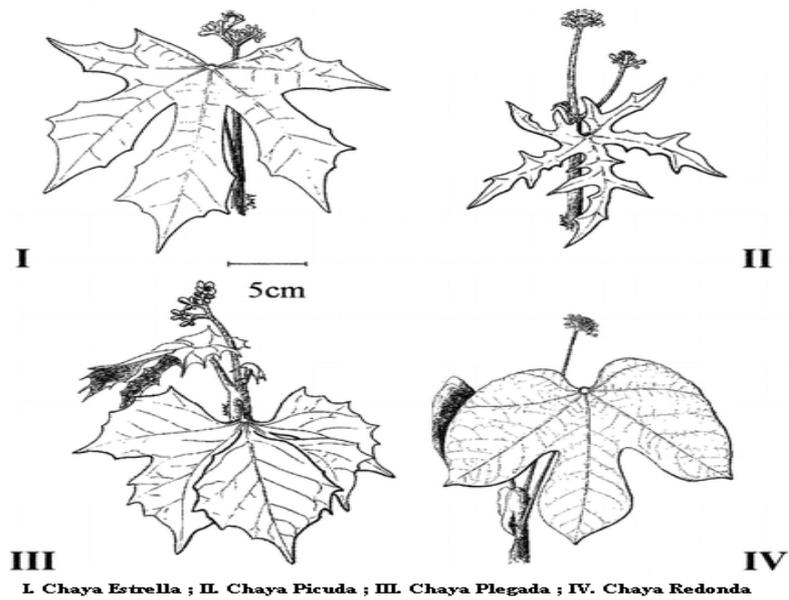
- Poll, E. (2006). Doce plantas tóxicas de Guatemala. *Revista de la Universidad del Valle de Guatemala*, 15, 80-89.
- Programa Regional de Seguridad Alimentaria para Centroamérica, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura a través de la Iniciativa, América Latina y Caribe Sin y los Programas Especiales para la Seguridad Alimentaria de Centroamérica. (2011). Datos de seguridad alimentaria nutrición y agricultura familia. *Revista Centroamérica en cifras*, 2, 3- 12.
- Quevedo- Estrada, I. (2009). Contenido de vitamina A y aceptabilidad de la chaya (*Cnidoscolus acanitifolius* Mil) fresca y deshidratada. Tesis de Licenciatura en Nutrición. Universidad Rafael Landívar. Facultad de Ciencias de la Salud. Guatemala.
- Quezada, T., Acero, G., Fuantos, J., Martínez, R., González, M. y Guzmán, S. (2006). Características morfológicas de las hojas de chaya (*Cnidoscolus* spp.) colectadas en 13 estados de la república. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 16, p 45.
- Rakshit, K., Devappa, H. & Klaus, B. (2010). Jatropha Toxicity - A Review. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 13, 476-507
- Rodríguez, I. (2010, Febrero 5). *Proyecto Recuperara Plantas Comestibles que los Ticos olvidaron. Nacion.com.*, p 21.
- Ross-Ibarra, J. & Molina-Cruz, A. (2002). The ethnobotany of chaya (*Cnidoscolus aconitifolius* ssp. *aconitifolius* Breckon): A nutritious Maya vegetable. *Economic Botany*, 56, 350 – 365.
- Reyes, S. y Flores, J. (1999). Registro de plantas tóxicas para ganado en el estado de Veracruz México. *Revista Científica de América latina y el Caribe*, 30, 79 – 94.
- Salas, M., Piñera, M., Del Valle, S., Lannes, R. y Márquez, E. (2000). Intoxicación exógena por *Jatropha urens* (chaya). *Publicación de Centro Provincial de Ciencias Medicas, Santiago de Cuba*, 6, 103 – 106.

- Sarmiento-Franco, L., Sandoval, C., Quijano, R & Reyes, R. (2003). Effect of Age of Regrowth on chemical composition of chaya (*Cnidoscolus aconitifolius*) leave. *Journal of the Sciences of Food and Agriculture*, 83, 609 - 612.
- Sandoval, E. (2005). *Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal*. México: editorial universitaria.
- Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos*. Bogotá: Quebecort- Impreandes.
- Solís, P., Wright, C., Anderson, M., Gupta, M. & Phillipson, J. (1993). A microwell cytotoxicity assay using *Artemia salina*. *Planta Medica*, 59, 250–255.
- Sosa, R. (1997). *El poder medicinal de las plantas*. México: Asociación publicadora interamericana.
- Yoc, A., Soto, V., Gutiérrez, J. y Arriola, M. (2012). Estudio de actividad biocida, citotóxica y genotóxica de tres plantas medicinales de la familia *Euphorbiaceae*: *Euphorbiaceae lancifolia*, *Cnidoscolus aconitifolius* var. mansa y *Cnidoscolus aconitifolius* var. estrella. Tesis de graduación para optar el título de Químico Biólogo, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

### III. ANEXOS

#### A. ANEXO 1

#### Fotografía de los cuatro cultivares de chaya



**B. ANEXO 2****Tabla 1.** Composición Química de cuatro selecciones de chaya doméstica

Selección	Hum %	Proteína.		Grasa		ceniza		Fibra		CHO		Energía		Vit. C			
		g/100g										mg/100g		cal		g/100g	
		BS	BF	BS	BF	BS	BF	BS	BF	BS	BF	BS	BF	BS	BF	BS	BF
<b>I</b>	76.6	30.8	7.2	6.6	1.5	10.3	2.4	10.9	2.5	51.9	12.2	393	92.3	1434	322		
<b>II</b>	77.9	30.8	6.8	6.3	1.3	10.8	2.3	10.8	2.3	52.1	11.7	388	86.9	1237	253		
<b>III</b>	83.8	31.0	5.0	6.2	1.0	12.8	2.0	12.0	1.9	49.4	8.1	379	61.9	1572	217		
<b>IV</b>	80.2	28.3	5.6	7.0	1.4	11.6	2.2	12.0	2.3	52.7	10.5	388	76.6	1693	292		

BS: Base seca    BF: Base fresca.

Fuente: Meneses A. 2000.

### C. ANEXO 3

**Tabla 1: tamizaje fitoquímico de los tres cultivares en estudio.**

	Alcaloides	Almidón	Grasas y aceites	Mucílago	Lignina	Taninos
<b>chaya estrella</b>	positivo	positivo	Positive	positivo	positivo	Positivo
<b>chaya redonda</b>	positivo	positivo	Positive	negativo	positivo	Positivo
<b>chaya picuda</b>	positivo	positivo	Positive	Positive	negativo	Positive

Fuente: datos experimentales

### D. ANEXO 4

	Nauplios vivos					Nauplios vivos después de 48 hrs				
<b>chaya estrella</b>	10	10	12	10	10	10	9	11	10	9
<b>chaya redonda</b>	12	12	10	11	11	12	12	10	11	11

<b>chaya picuda</b>	10	11	12	10	13	10	11	12	10	10
<b>control positivo</b>	13	12	13	15	12	0	0	0	0	0

fuelle: datos  
experimentales

---

Aurora Orozco Andrade

Tesista

---

Licda. María Eugenia Paredes M. Sc.

Asesora