

**Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia**

The seal of the Universidad de San Carlos de Guatemala is a circular emblem. It features a central shield with a blue background. Inside the shield, there is a figure of a man in a red and white robe, possibly a saint or a historical figure, riding a white horse. Above the figure is a golden crown with a cross on top. To the left and right of the figure are golden lions rampant. The shield is set against a background of green hills. The entire seal is surrounded by a grey border containing the Latin text "CETERIS ORBIS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER".

Características de identidad y pureza, útiles para el control de calidad de cuatro especies de interés medicinal, conocidas popularmente como Madrecacao, Loroco, Pepitoria y Macuy.

**Nancy Gabriela Escobar Mena
Claudia Lucía Mata Asifuina
Nely Mariela Marroquín de Paz
Claudia Alejandra Osorio Salguero**

QUÍMICAS BIÓLOGAS

Guatemala, febrero de 2014

**Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia**

The seal of the Universidad de San Carlos de Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a knight on a white horse, holding a lance and a shield, set against a background of green hills and a blue sky. Above the knight is a golden crown with a cross on top, flanked by two golden lions. The entire scene is enclosed within a circular border containing the Latin motto "CETERA DESCONSPICUA CAROLINA AC ACADEMIA COAETEMALENSIS INTER".

Características de identidad y pureza, útiles para el control de calidad de cuatro especies de interés medicinal, conocidas popularmente como Madrecacao, Loroco, Pepitoria y Macuy.

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN

PRESENTADO POR

**Nancy Gabriela Escobar Mena
Claudia Lucía Mata Asifuina
Nely Mariela Marroquín de Paz
Claudia Alejandra Osorio Salguero**

**PARA OPTAR AL TÍTULO DE
QUÍMICAS BIÓLOGAS**

Guatemala, febrero de 2014

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cóbar Pinto, Ph.D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Rodrigo José Vargas Rosales	Vocal III
Br. Lourdes Virginia Nuñez Portales	Vocal IV
Br. Julio Alberto Ramos Paz	Vocal V

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por darnos la vida, la sabiduría y la oportunidad para culminar esta meta de nuestra vida profesional.

A NUESTROS PADRES

Por su apoyo incondicional, su gran amor y comprensión.

A NUESTROS HERMANOS

Por su apoyo, cariño y compañía durante todos estos años.

A NUESTRA FAMILIA

A nuestros abuelos, tíos y primos por su apoyo y cariño.

A NUESTROS AMIGOS

Por los buenos momentos compartidos a lo largo del camino y hacerlo memorable.

A NUESTRA ASESORA Y REVISORA

M.A. María Eugenia Paredes y M.A. Ana Margarita Paz por su asesoría y apoyo para la realización de este trabajo.

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA, EN ESPECIAL A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA, ESCUELA DE QUÍMICA BIOLÓGICA

Por brindarnos los conocimientos y enseñanzas necesarias para nuestra formación académica.

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. ÁMBITO DE INVESTIGACIÓN	3
3. ANTECEDENTES	4
3.1 Características de identidad	4
3.2 Proceso de identificación	5
3.3 Descripción botánica y morfología vegetal	6
3.4 Clasificación taxonómica de las plantas de estudio	8
3.5 Control de Calidad	9
3.6 Materia vegetal del presente estudio	14
4. JUSTIFICACIÓN	36
5. OBJETIVOS	37
6. MATERIALES Y MÉTODOS	38
7. RESULTADOS	55
8. DISCUSIÓN	124
9. CONCLUSIONES	137
10. RECOMENDACIONES	139
11. BIBLIOGRAFÍA	140
12. ANEXOS	151

1. RESUMEN

Actualmente ha adquirido mucha popularidad el uso de fitoterapéuticos, comercializándose ya sea como plantas enteras o molidas, pulverizadas, frescas, secas, jugos, aceites esenciales, etc., lo que hace importante el control de calidad para asegurar su autenticidad y eficacia.

Con el fin de determinar las características de identidad y pureza útiles para el control de calidad de cuatro plantas medicinales conocidas popularmente como madrecaao, loroco, pepitoria y macuy, se llevó a cabo la descripción macroscópica y microscópica diagnóstica de las plantas, por medio de la elaboración de ejemplares de herbario, cortes a mano alzada, diafanizado de las hojas, disociado de la parte medicinal; tamizaje fitoquímico e histoquímico de metabolitos secundarios, análisis organoléptico de la droga seca, toxicidad aguda así como la determinación de cenizas totales, cenizas ácidas y porcentaje de humedad como pruebas de pureza.

La descripción macroscópica realizada durante la colecta del material vegetal coincidió con lo reportado por otros autores respecto a lo observado en las plantas estudiadas. Se preparó un ejemplar de droga seca, por medio de la cual fue posible llevar a cabo la descripción organoléptica de dichas muestras. Por medio de cortes a mano alzada, complementando con las técnicas de diafanizado y disociado, se realizó la descripción microscópica, caracterizando el tejido epidérmico (tipos de células, tricomas y estomas), de sostén y vascular, así como también presencia de cristales.

Según las características de pureza establecidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) el porcentaje de cenizas totales de una planta luego de incinerarla debe ser menor del 5 % , en la determinación de las cenizas totales de las cuatro plantas de estudio únicamente la pepitoria presentó un valor por debajo del 5 % (semilla 4.00 - 4.31 %; tegumento 1.45 -1.74 %; semilla sin tegumento 4.50 -4.68 %). Las tres plantas restantes

reportaron valores mayores al 5% por lo cual se llevó a cabo la determinación de cenizas solubles en ácido, obteniéndose así el valor establecido, siendo los rangos para madrecaao 1.63 - 1.97 %, loroco 1.11 - 1.36 % y macuy 1.44 - 1.69 %. El alto porcentaje de cenizas totales obtenido (>5 %) indica una gran cantidad de minerales y materia inorgánica en la planta, descartándose la presencia de metales pesados y sílice que son insolubles en ácido. Luego del secado al horno de las plantas de estudio, se logró obtener el porcentaje de humedad recomendado por la OMS el cual es menor al 10%, garantizando la pureza del material vegetal para su uso en las pruebas posteriores.

La determinación de metabolitos secundarios es importante debido a que están asociados a diversas propiedades medicinales; en las plantas estudiadas se encontraron alcaloides, saponinas, flavonoides, cumarinas, grasas y aceites, estos hallazgos se correlacionaron con los reportados en el proyecto FODECYT 28-2007 (Cáceres, 2009) utilizado como marco de referencia para este estudio, encontrándose discrepancia únicamente en los resultados obtenidos para cumarinas en madrecaao y macuy.

En el ensayo de toxicidad aguda frente a *Artemia salina* ninguno de los extractos de las plantas estudiadas presentó una actividad tóxica importante, a pesar de que el macuy presentó un CL₅₀ de 3500 µg/mL no se considera tóxico, ya que para ello el valor de CL₅₀ debe ser menor a 1000 µg/mL.

Por medio de todos los procedimientos realizados en este estudio fue posible caracterizar a las plantas aportando datos sobre su identidad y pureza, especialmente cuando se encuentran, secas fragmentadas o pulverizadas. Estos datos pueden ser utilizados en la elaboración de monografías de calidad de las cuatro plantas estudiadas.

2. ÁMBITO DE INVESTIGACIÓN

El establecimiento y descripción de las características de identidad y pureza de plantas medicinales son de importancia para el control de calidad de las mismas, tanto para su identificación como para garantizar el correcto uso según sus propiedades.

Para este estudio fueron seleccionadas las plantas conocidas popularmente como madrecaao, loroco, pepitoria y macuy; por encontrarse en la base de datos del departamento de Citohistología de la Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), como plantas medicinales de uso popular en Guatemala, y además por encontrarse antecedentes de dichas plantas dentro del proyecto titulado “Actividad antioxidante de diez especies nativas como posibles preservantes de alimentos y fuente para el desarrollo de nutracéuticos” del año 2009, del Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONACYT), proyecto FODECYT 28 – 2007. Con esta investigación se espera aportar información valiosa para el control de calidad de las plantas antes mencionadas, especialmente para garantizar su identidad y pureza, cuando las plantas se encuentren secas y fragmentadas.

Este proyecto forma parte de la línea de investigación en plantas con propiedades medicinales que permanentemente se desarrolla en la Unidad de Bioensayos del departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

3. ANTECEDENTES

En la actualidad el interés por las plantas medicinales se ha incrementado debido a las posibilidades terapéuticas que ofrecen los fármacos de origen vegetal, los avances en el uso de plantas medicinales se relacionan con diferentes ramas de las ciencias, entre las que se incluye la Fitoterapia que es la encargada de la utilización de los productos vegetales con una finalidad terapéutica, logrando atenuar, curar o prevenir un estado patológico (Cañigueral, Dellacasa & Bandoni, 2003).

La base de los medicamentos fitoterapéuticos son las drogas vegetales y los productos que se obtienen de las mismas, de aquí la importancia de poder diferenciar los conceptos de planta medicinal, droga vegetal y principio activo. Se entiende por planta medicinal a cualquier planta que en uno o más de sus órganos contiene sustancias que pueden ser utilizadas con finalidad terapéutica. En cambio la droga vegetal es la parte de la planta medicinal utilizada en terapéutica, mientras que el principio activo son todas aquellas sustancias responsables de la acción farmacológica (Cañigueral et al., 2003).

La clínica y la experimentación farmacológica han demostrado que la acción de una planta no se puede explicar solamente por su principio activo, por lo que se habla de los fitocomplejos, que están compuestos por el principio activo, otras moléculas aparentemente inactivas, las sustancias coadyuvantes, etc. La composición y las propiedades de los preparados de plantas medicinales de formas farmacéuticas sólidas dependen de una gran cantidad de factores diferentes tales como, la calidad de la planta, el secado, entre otras (Eder, 1998).

3.1 Características de identidad.

Entre las plantas que habitan la tierra, las angiospermas o plantas con flores tienen el mayor número de especies y ocupan más tipos de hábitat que cualquier otro grupo. Entre

ellas se incluyen plantas que varían de tamaño desde las lentejas de agua hasta árboles gigantes, y reúnen caracteres que las hacen únicas con respecto a las demás plantas vasculares (Jones, 1988).

Todos los rasgos que comparten las angiospermas permiten no solo integrarlas a este grupo, sino también dan una idea de su clasificación taxonómica. Estos rasgos se pueden describir, medir, comparar y sirven para lograr las primeras clasificaciones de un taxón que incluye géneros y especies.

La clasificación e identificación de la plantas se basa principalmente en sus detalles externos, por lo que es de vital importancia conocer la morfología vegetal que incluye la descripción de las plantas, de todos sus componentes conocidos como órganos, los cuales se subdividen en: órganos vegetativos (raíces, tallos y hojas) y órganos reproductivos (flor, fruto y semilla) (Jones, 1988).

En algunas ocasiones las descripciones realizadas basadas en rasgos externos no son suficientes para lograr identificar y separar especies que son demasiado parecidas por lo que es necesario observar estructuras microscópicas específicas, como por ejemplo: para lograr la identificación y distinción de cinco especies diferentes del género *Solanum* presentes en el área tropical de Venezuela fue necesario acudir a la cualidad y grado de pubescencia de la epidermis en las hojas (Benítez, 1991). Además Stenglein (2001), logró la identificación de *Solanum glaucophyllum* entre 10 especies de este género ya que no presentó ningún tipo de tricomas, característica microscópica que la diferencio del resto.

3.2 Proceso de identificación.

El proceso de identificación de una planta inicia en el momento que se recolecta; es recomendable que el ejemplar sea fresco y se encuentre en floración. Las anotaciones que son necesarias para identificar a una especie son: lugar y fecha de recolección, nombre

común de la planta, referencias sobre sus características más importantes, diferencias morfológicas notables, variaciones como la altura y otras medidas (así como de sus partes), presencia de pilosidad, espinas, color de los diversos órganos; en general todas aquellas características que pueden perderse o alterarse durante el secado, al marchitarse o con el tratamiento de medios de conservación. Entre otras anotaciones se recomienda colocar el tipo de formación o asociación vegetal que integra el ejemplar colectado y las características del suelo, exposición del terreno, altitud, latitud geográfica, etc. (Guía de buenas prácticas de recolección y manufactura de plantas medicinales, 2005).

3.3 Descripción botánica y morfología vegetal.

La botánica es una rama de la biología que se ocupa del estudio de las plantas, incluyendo su descripción, clasificación, distribución, y relaciones con los otros seres vivos; por medio de esta ciencia se logra la identificación de ciertos caracteres de la flor, el fruto, la hoja y el tallo (Jones, 1988).

Es esencial el conocimiento de la morfología vegetal que incluye tanto los caracteres externos como los internos para poder entender la función de cada una de sus partes (Müller, 2000). Muchas de estas estructuras características son observadas a simple vista, con lupa o con microscopio óptico para luego ser descritas y esquematizadas, obteniendo así una fuente accesible de información descriptiva de cada planta (Anexo 1) (Jones, 1988).

La utilización de la estructura anatómica como guía en la identificación de vegetales data del año de 1847 cuando Schleiden, en el trabajo sobre “zarzaparrilla”, mostró que era posible por ese medio distinguir las variedades comerciales, identificando los elementos histológicos de diagnóstico según el órgano estudiado (Salama, 2005).

La caracterización de las plantas es fácil cuando están completas, pero en muchas ocasiones es difícil obtener esta muestra ideal y lo único disponible son materias primas incompletas, fragmentadas, pulverizadas o productos manufacturados por lo que su caracterización es más compleja. En ocasiones mucha información valiosa debe ser desechada, y es en esos casos en los que las técnicas anatómicas e histológicas aportan los elementos taxonómicos necesarios para completar el estudio etnobotánico, que pueden ser de tipo cualitativo o cuantitativo (González & Casares, 1996). La identificación de material vegetal en condiciones fragmentarias, parcialmente descompuesta o sin órganos reproductores, solo puede llevarse a cabo mediante métodos de histología comparada, pero es necesario conocer anticipadamente estructuras vegetales de la planta como referencia (Metcalf & Chalk, 1979).

Un método aplicable de histología comparada es la micrografía, el cual se basa en el reconocimiento y valoración cualitativa y cuantitativa de sus elementos histológicos. Este requiere el manejo de la microscopía y conocimientos básicos de Histología, Anatomía y Taxonomía Vegetal, y puede llegar a superar a los métodos microanalíticos químicos en cuanto a rapidez, facilidad de ejecución y resolución. Las muestras a ser analizadas pueden requerir o no un tratamiento previo que facilite la observación (técnica de diafanizado, disociado débil, disociado fuerte, reacciones específicas de coloración, etc.); si se trata de órganos o trozos de órganos en general se recurre previamente a efectuar cortes histológicos transversales a mano alzada o con micrótopo. Las técnicas micrográficas son muy útiles en la determinación de la calidad de una planta aromática, medicinal, alimenticia o tóxica permitiendo establecer rápidamente la existencia o no de una adulteración. Los elementos histológicos que pueden encontrarse en la materia vegetal dependen del órgano (Anexo 2) (Spegazzini, 2007; Salama, 2005).

3.4 Clasificación taxonómica de las plantas.

En 1957 Arthur Cronquist propuso un sistema de clasificación de familias y ordenes de dicotiledóneas basado en estudios de embriología, anatomía, palinología y serología. Cronquist denominó a las Gimnospermas, Pinophyta, y a las Angiospermas, Magnoliophyta, agrupándolas en Magnoliopsida (Dicotiledóneas) y Liliopsida (Monocotiledóneas), consideradas estas últimas como originadas de las dicotiledóneas primitivas. Este sistema tiene una gran difusión y uso en los Estados Unidos y otros países de habla inglesa (Marzocca, 1985).

Durante la década de 1990, los nuevos conocimientos de la filogenia de las angiospermas revelaron deficiencias en las clasificaciones utilizadas hasta entonces, las cuales estaban basadas en similitudes morfológicas en lugar del análisis cladístico de secuencias de ADN, gen nuclear 18S ADNr, gen plastídico *rbcl* y *atpB* u otras formas de datos sistemáticos, además de la morfología (Soltis, Soltis, Chase, Mort, Albac, Zanis, Savolainen, Hahn, Hoot, Fay, Axtell, Swensen, Prince, Kress, Nixon & Farris, 2000; Bremer, Bremer, Chase, Reveal, Soltis, Soltis & Stevens, 2003). Se hizo evidente que ninguna de las anteriores clasificaciones reflejan con precisión las relaciones filogenéticas de las angiospermas y conforme la evolución de las plantas la clasificación taxonómica se hizo más difícil. Por esta razón, un equipo de investigadores estadounidenses y europeos, propuso un nuevo sistema de clasificación que considera toda la información disponible sobre las familias conocidas hasta ese entonces. Este equipo se hizo llamar Grupo para la Filogenia de las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group, APG) y sus trabajos son citados como sistema de clasificación APG (1998), APG II (2003) y APG III (2009) (Bremer, et al., 2003). En esta última clasificación las plantas dicotiledóneas están clasificadas en seis grupos monofiléticos, el mayor de ellos es denominado Eudicotyledoneae (García, 2011). La clasificación APG III también describe ciertos metabolitos secundarios que son característicos para cada orden dentro de dicha clasificación (Theodor, 2010).

3.5 Control de calidad.

El control de calidad se basa en garantizar la calidad, seguridad y eficacia de los preparados fitoterapéuticos para avanzar hacia una medicina natural más segura y eficaz prestando atención a las plantas más utilizadas y a las menos conocidas. Es por esto que los ensayos morfológicos y anatómicos, en conjunto con los ensayos físico-químicos cualitativos y cuantitativos son indispensables para el control de calidad de la planta medicinal y drogas vegetales obtenidas de las mismas, especialmente cuando van a ser empleadas en medicamentos fitoterapéuticos (Jorge, 2006).

Las materias primas utilizadas para la elaboración de fitofármacos en Latinoamérica provienen, en la mayoría de los casos, de la recolección en los bosques tropicales y aunque estos países cuenten con monografías sobre el control de calidad de dichas materias primas, no existen criterios establecidos para determinar la autenticidad, pureza y calidad de las mismas, afectando el proceso de fabricación y el hallazgo de los principios bioactivos benéficos para la salud (García, Cañigueral & Gupta, 2004).

Además existe una serie de problemas relacionados con el control de calidad en la elaboración, comercialización y prescripción de los productos fitoterapéuticos, siendo uno de ellos el uso indiscriminado de plantas sin conocer el riesgo de su utilización (Jorge, 2006).

3.5.1. Pruebas de Identidad.

Estas sirven para confirmar la identidad de la planta o droga ayudando a detectar posibles adulteraciones o falsificaciones, además de dar una idea de su manipulación y conservación. Se incluyen dentro de estos ensayos morfológicos tanto macroscópicos como microscópicos y determinación de metabolitos secundarios (Palomino, 2001).

3.5.1.1 Herborización de ejemplares frescos.

La herborización permite apreciar la forma y estructura de las plantas con la mayor aproximación a la realidad posible aun después de un largo período de tiempo (Sólis, De Solis, Gattuso & Cáceres, s.f.).

3.5.1.2 Descripción macroscópica.

Se observa la morfología macroscópica a simple vista y con microscopio estereoscópico; logrando la determinación de características como la forma, dimensiones, pilosidad, nervación, superficie, fractura, sección, grosor, dureza de la planta entera o de sus partes, presencia de material extraño, etc. (Solis et al., s.f.). En el análisis organoléptico los caracteres a evaluar son el olor, el color, el sabor y la textura, los cuales dan una idea de la planta o parte que se está analizando. La observación minuciosa de las características morfológicas propias de cada órgano permitirá una correcta identificación de la mayoría de las drogas (Palomino, 2001).

3.5.1.3 Descripción microscópica.

Las características microscópicas se evalúan mediante cortes histológicos de droga entera o fragmentada, pero no en droga pulverizada, la cual usualmente está constituida por hoja. Este análisis consiste en observar al microscopio elementos celulares como pelos, vasos, escleridas, estomas, y elementos acelulares como cristales y granos de almidón. Para definir las estructuras vegetales y obtener información histológica del material vegetal se utilizan técnicas como: cortes a mano alzada, diafanizado, tinción con safranina, tinción con Fast Green, disociado débil de hoja y tallo y elaboración de cartillas de identificación (Solis et al., s.f.; Gattuso & Gattuso, 1999; Soria, 1994).

El corte a mano alzada es una técnica que permite observar la disposición de los tejidos ayudando a confirmar la identidad de la planta por medio de detalles significativos de la misma. En cortes histológicos de las hojas se puede distinguir la epidermis, constituida por

células íntimamente unidas entre sí con contorno irregular el cual forma un único estrato, en la epidermis destacan los estomas los cuales se distribuyen por ambas caras de la hoja o por una sola, su distribución presenta un patrón no aleatorio, separados a una distancia mínima entre sí. También se observa el mesófilo o tejido de relleno fotosintético, donde la característica citológica fundamental es la abundancia de cloroplastos. Por último la observación de tejidos vasculares que se organizan en venas que conducen la savia (Alonzo, 2011).

Por otra parte las técnicas de diafanizado, el disociado y las técnicas de tinción permiten una mejor observación de las partes que se observan mediante los cortes histológicos. El diafanizado es el proceso de aclaración o eliminación completa de cualquier plastidio, para observar de forma más clara las estructuras presentes. El disociado débil de hoja y tallo tiene la finalidad de disgregar o separar los tejidos de un órgano vegetal específico y observar por separado las células y estructuras que lo conforman y mediante técnicas microscópicas asegurar la calidad de la droga. Las técnicas de tinción con safranina y Fast Green son coloraciones de diferenciación. En la tinción con safranina las partes lignificadas y cutícula se tiñen de color rojo intenso y las paredes celulósicas se tornan color rosado, mientras que en la tinción de Fast Green las paredes lignificadas se tiñen de color rojo intenso y las paredes celulósicas de color celeste verdoso. Por último, la elaboración de cartillas de identificación se lleva a cabo en base a las distintas partes de la planta diferenciadas al microscopio; se realizarán dibujos a mano alzada, estableciendo características de referencia en el control de calidad del material vegetal (Solis et al., s.f.; Gattuso & Gattuso, 1999; Soria, 1994).

3.5.1.4 Determinación de metabolitos secundarios.

La determinación de metabolitos se realiza por medio de técnicas histoquímicas y fitoquímicas, permite la detección cualitativa mediante reacciones de coloración de

compuestos químicos, mediante una evaluación rápida, sensible, reproducible y de bajo costo (Solis et al., s.f.; Gattuso & Gattuso, 1999).

En las técnicas histoquímicas los metabolitos son identificados mediante la aplicación de reactivos específicos para cada metabolito sobre cortes transversales de la planta y la observación de cambios de color al microscopio. Los metabolitos que se pueden identificar son: alcaloides, aleuronas, carbonato de calcio, celulosa, inulina, lignina, pectato y sustancias pécticas, grasas y aceites, mucílagos, saponinas, taninos y almidón (Solis et al., s. f.; Gattuso & Gattuso, 1999).

El tamizaje fitoquímico permite la determinación cualitativa de grupos químicos en un planta, consiste en la extracción de la planta con disolventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración para la identificación de alcaloides, flavonoides y antocianinas, antraquinonas, cumarinas, cardenólicos y bufadienólicos, esteroides o triterpenoides saponinas, glicósidos cianogénicos, aceites volátiles, esteroides insaturados, sesquiterpenlactonas, aceites grasos, valepotriatos y taninos (Santa Cruz, s.f.; Lock, 1994; Sharapin, 2000; Real Farmacopea Española, 2002).

3.5.2 Pruebas de Pureza.

Las pruebas de pureza son realizadas con el fin de determinar si la planta se encuentra en condiciones aptas para ser procesada. Con la medición de cenizas totales se determinan posibles contaminantes o adulteraciones, que pueden ser fertilizantes, metales pesados, tierra, sílices, etc. El correcto proceso de secado de las plantas se determina por medio del porcentaje de humedad indicando si la planta aun contiene cierta cantidad de agua que afecte su conservación (Palomino, 2001).

3.5.2.1 Cenizas totales.

Representa el contenido de sales minerales o materia inorgánica de la planta, suele ser alrededor del 5 %, es constante y permite descubrir falsificaciones por otras plantas, tierra u otros minerales. Se miden por el método de incineración. Las cenizas se pueden clasificar en varios tipos: totales, sulfúricas e insolubles. La determinación de las cenizas totales se basa en calcinar la materia vegetal hasta obtener cenizas blancas, este residuo corresponde a las cenizas derivadas del tejido vegetal (cenizas fisiológicas) y a las de la materia extraña (cenizas no fisiológicas). Las cenizas sulfúricas son mucho más estables que las totales y se obtienen al agregar ácido sulfúrico (H_2SO_4) antes de calcinar la materia vegetal. Por otra parte, las cenizas insolubles en ácido clorhídrico (HCl) son el residuo que resta tras extraer las totales o las sulfúricas con HCl. La sílice es insoluble en HCl, por lo que es un indicador de la presencia de arena o tierra (Palomino, 2001).

3.5.2.2 Determinación de humedad.

La humedad de la muestra vegetal representa el porcentaje de agua y todo el material volátil que pueda contener, para una buena conservación del material vegetal debe ser inferior al 10 %. La técnica utilizada es termogravimetría, por diferencia de peso antes y después de calentar, hasta que el mismo sea constante, permite conocer el porcentaje de humedad (Palomino, 2001).

3.5.3 Determinación de Toxicidad Aguda.

La determinación de la toxicidad aguda se refiere a los efectos adversos que ocurren a un corto tiempo después de la administración de una única dosis de sustancia a animales de prueba, con el fin de clasificarla y poder establecer su toxicidad relativa. Se expresa como el valor de la dosis letal del 50 % de los individuos expuestos (CL_{50}) (Van Leeuwen & Vermeire, 2007).

La toxicidad aguda se puede evaluar mediante el tamizaje de la actividad citotóxica que consiste en poner de manifiesto la tolerancia de las larvas de *Artemia salina* a una concentración del extracto, fracción o compuesto en condiciones estándar previamente determinadas (Michael, Thompson & Abramovitz, 1956; Wah, 1993).

3.6 Materia vegetal del presente estudio

Las plantas incluidas en el presente estudio fueron seleccionadas por ser nativas de la región, comercializadas libremente y utilizadas comúnmente con diversos fines medicinales; son conocidas popularmente como madrecaao (*Gliricidia sepium*), loroco (*Fernaldia pandurata*), pepitoria (*Cucurbita argyrosperma*) y macuy (*Solanum nigrescens*), que además de ser utilizadas como alimento también se les atribuyen propiedades medicinales.

3.6.1 *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud (Madrecaao).

3.6.1.1 Clasificación taxonómica.

3.6.1.1.1 Según Cronquist.

Reino Plantae – Plantas

Subreino Tracheobionta – Plantas vasculares

Supervisión Spermatophyta – Plantas con semilla

División Magnoliophyta – Plantas con flores

Clase Magnoliopsida – Dicotiledóneas

Subclase Rosidae

Orden Fabales

Familia Fabaceae – Familia de los guisantes

Genero *Gliricidia* Kunth

Especie *Gliricidia sepium* (Jacq.)Steud (Plants Database).

3.6.1.1.2 Según APG III.

Angiospermas

Eucotiledoneas

Eudicotiledoneas basales

Clase Rosidae

Subclase Fabidae (W.S. Judd)

Orden Fabales (Bromhead)

Familia Fabaceae (Lindl)

Sub Familia Faboideade

Género *Gliricidia* (Kunth)

Especie *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud (Bremer, B., Bremer, K., Chase, Fay, Reveal, Soltis, D., Soltis, P. & Stevens, 2009).

El madrecaao se encuentra en la clase Rosidae, por su clasificación molecular y anatómicamente por la tendencia a la organización de las flores en receptáculos anchos y a la reducción en el número de óvulos por carpelo (Davis, 2012). Se clasifica dentro del orden Fabales, las plantas pertenecientes a dicho orden comparten ciertos metabolitos que son alcaloides, aminoácidos y lectinas (Theodor, 2010).

3.6.1.2 Nombres comunes.

Madrecaao, Kante, Kasmin, Madriado, Matasarna, Sacyab, Yaite, Acacia, Desnudo florecido, Mata ratón, Piñon florido, Sangre de drago, Amor y celos, Bien vestido, Florezco, Piñon amoroso, Palo de hierro, Canté, Kansím, Macera negra, Lengua de perico, Cahua, Nande, Cacahuanano, Cacahuananche, Balo, Bala, Madera negra, Rabo ratón, Cocoite, Cochito, Sayab, Sayuiab, Cacante (Cáceres, 2006; Cáceres, 2009).

3.6.1.3 Descripción botánica.

Árbol de 10 m de alto, copa extendida, tronco de 30 cm de diámetro, corteza café oscuro; ramas puberulentas de jóvenes, luego glabras. Hojas deciduas, lanceoladas, 3 a 7 cm de largo, pinnadas, 2 a 15 folios. Flores en racimos, 5 a 10 cm de largo densamente floreado; cáliz puberulento o glabro, color rosada a blanca. Vaina café oscuro, glabra, plana, 10 a 22 cm de largo. Semillas lenticulares, café oscuro (Cáceres, 2006).

3.6.1.4 Hábitat y distribución.

Nativo de la América tropical, crece en las laderas hasta 1,600 msnm, en todo el mundo tropical. Se ha descrito en la mayoría de regiones cálidas en Guatemala. Desde la época precolombina la especie se ha cultivado e introducido extensamente mucho más allá de su área de distribución natural. Se ha naturalizado en las Indias Occidentales, desde Cuba y Jamaica, hasta las Antillas Menores, Trinidad y Curacao, y en Hawaii, África Occidental, el Sur de África, la India, Sri Lanka, Tailandia, Las Filipinas, Indonesia y Australia (Cáceres, 2006; Zuluaga, Upegui, Rodríguez, Ocampo, Restrepo, Parra & Torres, 2005).

3.6.1.5 Obtención.

Crece en clima tropical cálido, húmedo, se utiliza en reforestación, no tiene mayores exigencias de suelos. Se propaga por semilla o estaca. La siembra por semilla se practica poco, ya que las estacas enraízan fácilmente. Se usan estacas de 40 a 50 cm de largo de 6 a 12 meses de edad, cortadas en chaflán, se entierran directamente en el sitio hasta 15 a 30 cm de profundidad en la estación lluviosa. Las hojas se colectan en cualquier época del año, aunque se prefiere la época de lluvia y se secan a la sombra (Cáceres, 2006).

3.6.1.6 Comercialización.

Las flores, que son utilizadas como alimento, se recolectan directamente del árbol y no se les encuentran en los mercados (Chízar, 2009). Se comercializan productos fitoterápicos como infusión, polvo y tintura (Cáceres, 2006).

3.6.1.7 Usos y propiedades medicinales.

Se usa desde la era precolombina y fue importante su uso en el principio de la colonia española en las labranzas agrícolas rudimentarias como la fabricación de cercas vivientes, forraje para la alimentación de ganado principalmente cabras, uso del polen en la industria apícola, producción de carbón vegetal, fertilizante orgánico, insecticida, fabricación de muebles resistentes a la pudrición y a las termitas y con propiedades para la declorinación reductiva del dicloro difenil tricloroetano (DDT) sin propiciar la formación de metabolitos secundarios tóxicos. Además se indica su uso como sombra de los cacaotales, de donde viene su nombre, ya que en esta asociación el Cacao crece mejor por su capacidad fijadora de nitrógeno y la actividad rodenticida de sus raíces. Según Pardo, Burgos y Cruz (2011), en cuanto al uso comestible cabe mencionar que es costumbre recolectar sus flores en época de verano (Cáceres, 2006; Zuluaga et al., 2005).

El madre cacao es un árbol apreciado desde tiempos remotos por sus propiedades medicinales, se refiere su uso contra el ardor de las fiebres. Además, se le atribuye propiedad antihistamínica, antimalárica, antiséptica, antifúngica, cicatrizante, diurética, expectorante, febrífuga e hipotensora (Cáceres, 2006).

El cocimiento de hojas y corteza se usa por vía oral para tratar afecciones gastrointestinales, respiratorias y de la piel (erupciones, erisipela, impétigo, gangrena, granos, jiole, gonorrea, quemaduras, picaduras de insectos, úlceras), paludismo, paperas; la decocción de las hojas se usa en el tratamiento de hipertensión. El conocimiento de las raíces se toma para aliviar el dolor de garganta, afecciones del riñón, ictericia y edema (Cáceres, 2006).

Tópicamente las hojas y corteza, frescas o cocidas, se aplican como lavados, compresas, emplastos o sobados sobre empeines, erisipela, impétigo, intertrigo, jiole, granos,

raspones, salpullido, sarna, úlcera y otras enfermedades de la piel; como baños se aplica para el tratamiento de alergias (Cáceres, 2006).

Por una técnica de difusión se determinó que los frutos poseen actividad contra *Staphylococcus aureus* y las hojas y la raíz contra *Streptococcus pyogenes*. Se demostró que la raíz, corteza y flores poseen actividad contra *Pseudomonas aeruginosa* (Juárez, 1992). La tintura de la corteza y hojas no inhibe enterobacterias patógenas ni *Candida albicans*. La decocción de las hojas es activa contra el *Microsporum canis* y *Trichophyton mentagrophytes*, con CIM de 100-200 mg y actividad fungicida y fungistática. La maceración etanólica de las hojas es activa contra *Neisseria gonorrhoea* y un espectro de inhibición de un 80 % de cepas patógenas (Gupta, 1995).

La actividad antiinflamatoria de un extracto de etanol-agua (1:1) fue demostrada en el modelo de inducción de edema en la pata de ratas, al ser administrado por vía oral a dosis de 0.375 mg/kg. Al mismo extracto se le evaluó la actividad diurética en ratas por vía oral a dosis de 0.185 mg/kg, obteniéndose resultados positivos. Estudios de farmacología experimental demuestran que el extracto hidroalcohólico de la corteza no tiene actividad analgésica, antimicrobiana, anticonvulsivante, antiviral, antilevaduras (*C. albicans* y *C. neoformans*) e hipoglucemiante (Cáceres, 1996).

3.6.1.8 Farmacología experimental y clínica.

La tintura de hojas es activa contra *Microsporum canis* y *Trichophyton mentagrophytes* con actividad fungicida y bacteriostática; los órganos más activos son la corteza, flor y raíz; el mejor disolvente es el etanol; el extracto clorofórmico y metanólico son antifúngicos. Las semillas y raíces tienen actividad insecticida, repelente y rodenticida (Cáceres, 2006).

El extracto etanólico de la corteza es antiterogénico e inhibe la liberación de histamina, no tiene actividad diurética, antimicrobiana, antiinflamatoria y endócrina (anabólica y

andrógena). La decocción de hojas es expectorante. El extracto acuoso de corteza y hojas disminuye la actividad motora, tono muscular y reactividad, produce piloerección y ptosis parpebral (Cáceres, 2006).

La administración intraperitoneal (IP) al ratón del extracto hidroalcohólico de hojas demostró actividad antiinflamatoria, en ratas en un modelo inducido por carragenina y es diurética con carga salina, es hipotérmica en ratón y espasmolítica en ileón de cobayo, no es anticonvulsivante ni hipoglicémica. Los extractos de corteza inhiben la liberación de histamina (Cáceres, 2006).

3.6.1.9 Composición química y principios activos.

El tamizaje fitoquímico de las hojas indica la presencia de alcaloides no cuaternarios, saponinas, esteroides insaturados, flavonoides y polifenoles. Las hojas y corteza contienen flavonoides (2'-o-metilsepiol, 7,3', 4'trihidroflavona, sepiol, robinetina), carbohidratos (pinitol, cumarinas) y ácidos o-cumarínico y melilótico. El análisis proximal de 100 g de hojas frescas contiene: 52 calorías, agua (84.7 g) proteínas (2.4 g) grasas (0.5 g), carbohidratos totales (11.9 g), fibra (1.3 g), cenizas (0.5 g), calcio (17 g), fósforo (34 mg), hierro (0.8 mg), tiamina (0.14 mg), riboflavina (0.08 mg), niacina (1.0 mg) y ácido ascórbico (12 mg) (Cáceres, 2006).

Todo árbol es rico en flavonoides, compuestos que tienen múltiples actividades farmacológicas. La corteza contiene taninos y triterpenos. La médula contiene isoflavinas, una isoflavina fenólica y gliricidina, sepinol, sepiol y gliricidol. La raíz contiene triterpenos. Se han reportado además: astragalina, 2,7-dihidroxi-3-metoxiisoflavano, gliricidina, siomucronulatol, robinina, sepinol, sepiol y trifolina, canavanina, pinitol y sacarosa. El duramen contiene flavonoides (isoflavanes, 2 butin flavona), isoflavan fenólico, isoflavana (gliricidin 6 alfa). La canavanina de las semillas posee una potente actividad inhibidora del crecimiento de varios organismos (Cáceres, 2006).

Según Cáceres (2009), las flores de *G. sepium* poseen alta cantidad de flavonoides y antocianinas, lo cual fue evidenciado mediante cromatografía de capa fina (TLC) observándose la aparición de cinco bandas. Al mismo tiempo, se evaluó la actividad antioxidante observándose la formación de tres bandas en la TLC con leve intensidad considerándose el mismo como positivo para tal actividad. De igual forma, se realizó el tamizaje para antraquinonas, aceites esenciales, cumarinas y taninos los cuales no fueron detectados (Anexo 3).

3.6.1.10 Toxicología.

El extracto acuoso de semillas no es tóxico a peces dorados; la canavavina es tóxica a mamíferos, la L-canavanina induce ciertos cambios hematológicos y anormalidades serológicas en monos que asemejan el lupus eritematoso sistémico. El extracto hidroalcohólico de partes aéreas no coagula el semen ni tiene actividad espermicida. La corteza, raíz y semillas son tóxicas a ratones pero no a ratas, se acostumbra a hacer una masa de maíz como veneno para roedores; se dice que la corteza y hojas son tóxicas a caballos, vacunos y cabras. La DL_{50} del extracto etanólico por vía IP en ratón es 0.75 g/kg (Cáceres, 2006).

3.6.1.11 Indicaciones terapéuticas.

No es de uso oficial, por lo que no se encuentran en ninguna farmacopea (Cáceres, 2006).

3.6.1.12 Otros estudios.

En un estudio realizado para determinar la composición química, metabolitos secundarios, valor nutritivo y aceptabilidad de diez árboles forrajeros, entre los cuales se estudió a *G. sepium*, se encontró que esta presentó un porcentaje de materia seca del 39.58 %, proteína cruda 20.01 %, fibra detergente neutra 43.48 %, fibra detergente ácida 20.12 %, carbohidratos solubles 16.72 %, Fósforo 0.24 % y cenizas 9.80 %. Con respecto a los niveles de metabolitos secundarios se encontró que *G. sepium* posee un 2.22 % de

polifenoles totales, 0.46 % de taninos totales, 0.41 % de taninos que precipitan proteínas, 0.40 % de taninos condensados, 0 % de taninos hidrolizables, 1.73 % de saponinas y 0.04 % de alcaloides totales, además de poseer un valor nutritivo aceptable así como una mayor factibilidad nutricional para ovinos (García, 2006).

3.6.2 *Fernaldia pandurata* (A. DC.) Woodson (Apocynaceae) (Loroco).

3.6.2.1 Clasificación taxonómica.

3.6.2.1.1 Según Cronquist.

Reino Plantae – Plantas

Subreino Tracheobionta – Plantas vasculares

Supervisión Spermatophyta – Plantas con semilla

División Magnoliophyta – Plantas con flores

Clase Magnoliopsida – Dicotiledóneas

Subclase Asteridae

Orden Gentianales

Familia Apocynaceae – Familia de las adelfas

Genero *Fernaldia* Woodson – fernaldi

Especie *Fernaldia pandurata* (A. DC.) Woodson (Plants Database).

2.6.2.1.2 Según APG III.

Angiosperma

Eucotiledonea

Eudicotiledoneas basales

Clase Asteridae

Subclase Lamidae (Euasteridae I)

Orden Gentianales (Juss. ex Bercht. & J. Presl)

Familia Apocynaceae (Juss.)

Subfamilia Apocynoideae

Género *Fernaldia* (Woodson)

Especie *Fernaldia pandurata* (A. DC.) Woodson (Bremer et al., 2009).

El loroco pertenece a la clase Asteridae debido a que es herbácea, con flores hermafroditas, cigomorfa (de simetría bilateral), polinizadas por insectos por sus estambres dispuestos en círculos y los pétalos de la corola unidos entre si formando un tubo. El gineceo está formado por dos carpelos soldados y las flores se organizan a menudo en inflorescencias apretadas (Valencia, 2011). Se encuentra dentro del orden Gentianales, lo que indica que presenta como metabolitos alcaloides indólicos e iridoides, que son una clase de metabolitos secundarios que se encuentran en una amplia variedad de plantas y en algunos animales. Estos son monoterpenos biosintetizados a partir de isopreno y con frecuencia son productos intermedios en la biosíntesis de alcaloides (Theodor, 2010).

3.6.2.2 Nombres comunes.

Loroco, Oloroso y Quiliete (Chízmar, 2009).

3.6.2.3 Descripción botánica.

El loroco es una hierba trepadora, pequeña o grande, densamente puberulenta o cortamente aterciopelada-pilosa en todas partes. Sus hojas son membranosas, en pecíolos de 1 a 2 cm de largo, oblongo-elípticas o ampliamente ovaladas, de 4 a 13 cm de largo y de 1.5 a 8 cm de ancho, cortamente acuminadas, las hojas de abajo algunas cortadas en la base, las superiores obtusas o truncadas, usualmente muy densas y suavemente pilosas en el envés. La inflorescencia consta de 8 a 18 flores, brácteas, ovaladas, de 1 a 2 mm de largo, cáliz con lóbulos ovalados, agudos u obtusos, de 2 a 3 mm de largo. Corola blanca internamente, verduzca exteriormente y glabra, el tubo de 20 a 22 mm de largo, y de 7 a 9 mm de ancho, los lóbulos ciliados de 10 a 13 mm de largo, densamente velludo-aracnoides al interior de la base (Rzedowski, 1998).

3.6.2.4 Hábitat y distribución.

Se encuentra bien distribuido en Guatemala y El Salvador, en regiones calientes y secas. También se puede encontrar en México, Honduras, Nicaragua y Costa Rica. Crece desde el nivel del mar hasta los 1000 m y prefiere suelos arenosos, además se desarrolla fácilmente entre el maíz. En Guatemala se encuentra en los departamentos de Izabal, Zacapa, Chiquimula y Jutiapa. Las flores del loroco son débiles al manejo y susceptibles al deterioro (Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 1993).

3.6.2.5 Obtención.

Una nueva planta de loroco es fácilmente obtenible por medio de la trasplatación de retoños que emergen de las raíces. Los suelos que favorecen su crecimiento son los suelos arenosos con buen drenaje. El loroco requiere de sol para su crecimiento, no prospera en suelos muy irrigados; además responde bien a fertilizantes balanceados en cuanto a su contenido de nitrógeno, fósforo y potasio. Las plantas silvestres mueren durante inviernos severos, pero reviven rápidamente en temporadas soleadas (Morton, 1990).

3.6.2.6 Comercialización.

La flor se recolecta en plantaciones y de plantas que crecen en forma silvestre. Se puede encontrar en los mercados y supermercados y también se exporta (Chízmar, 2009).

3.6.2.7 Usos y propiedades medicinales.

Las flores y yemas florales se consumen, como fuentes de vitaminas y minerales en estado crudo, y cocidas para condimentar las comidas. No se ha demostrado su valor suplementario a los cereales, con los cuales el loroco es consumido. Sin embargo, introduce un sabor agradable al alimento (Ayala, 1999). En cuanto a su uso medicinal las flores se comen cocidas para estimular la producción de leche materna (Chízmar, 2009).

3.6.2.8 Farmacología experimental y clínica.

No se encontró.

3.6.2.9 Composición química y principios activos.

100 g de hojas frescas contiene 79 g de humedad, 1.65 g de cenizas, 8.25 g de proteína, 1.94 g de fibra cruda, 7.23 g totales de carbohidratos, 421 mg de calcio, 63 mg de fósforo, 11.61 g de hierro, 8.52 caroteno, 0.23 mg de timina, 0.35 mg de rivotravina, 1.74 mg de niacina y 274 mg de ácido ascórbico (Duke, 2000).

En un estudio realizado por Cáceres (2009), de un extracto de las inflorescencias de esta planta se detectaron una gran cantidad de flavonoides y antocianinas, reportándose cinco bandas mediante TLC. Por este mismo método se analizaron antraquinonas, aceites esenciales y cumarinas para los cuales se obtuvieron resultados negativos. La actividad antioxidante también fue determinada observándose dos bandas con leve intensidad, lo cual indica una actividad positiva. Por otra parte, utilizando un método macrométrico cualitativo se analizó la presencia de taninos la cual también fue negativa (Anexo 3).

3.6.2.10 Toxicología.

El Departamento de Farmacología y Química Federal de Santa Catalina, Florianópolis, Brasil, estudio extractos de rizomas cultivado en Minas Gerais, Brasil, donde se usa como un tratamiento efectivo para las mordeduras de serpientes. Se encontró que los extractos crudos poseen acción de bradicinina en úteros aislados de ratas, y se asumió que existen tres potenciales compuestos (posiblemente terpenos) que varían en actividad que producen el efecto y dan credibilidad a la práctica local (Morton, Álvares & Quiñones, 1990).

Las raíces son consideradas muy tóxicas ya que poseen dos alcaloides pirrolizidínicos (metabolitos secundarios) llamados lorocina y loroquina; las cuales tienen principios

activos en la presión arterial y además el rizoma posee un fuerte olor oleáceo que es tóxico (Quintanilla, 2007). Dichas sustancias al ser ingeridas pueden causar náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal, cefalea, fiebre, astenia, alucinaciones, deshidratación, shock, trastornos hepáticos, depresión neurológica, debilidad, temblores musculares, convulsiones, coma, y depresión respiratoria (Saldaña, Guzmán, Morales & Vega, 2010).

Las pirrolizidinas se encuentran principalmente en las familias *Compositae*, *Boraginocae*, *Leguminosae* y *Apocynacae*, familia a la cual pertenece el lorocho. El contenido varía con cada especie, pero puede llegar a ser un porcentaje importante del peso seco. La mayor concentración se encuentra en raíces y es mayor en hojas jóvenes, inflorescencias y capullos que en hojas más viejas. La toxicidad de la pirrolizidinas en humanos ha sido subestimada debido a la falta de asociación de los síntomas con las plantas. Sin embargo, la ingestión de estos alcaloides ha sido asociada con daños severos en el hígado por oclusión de los vasos del hígado por tejido conectivo (veno-oclusión). También afectan a otros órganos elevando los niveles de presión arterial, hipertrofia del ventrículo derecho, cambios morfológicos y oclusión de arterias, megalocitosis en riñones y páncreas. Además, producen daños al tejido del pulmón que se hacen evidentes a 9 días de la exposición al alcaloide (Castillo, 2007).

3.6.2.11 Indicaciones terapéuticas.

No es de uso oficial, por lo que no se encuentran en ninguna farmacopea.

3.6.3 *Cucurbita argyrosperma* Huber (Cucurbitaceae) (Pepitoria).

3.6.3.1 Clasificación taxonómica.

3.6.3.1.1 Según Cronquist.

Reino Plantae – Plantas

Subreino Tracheobionta – Plantas vasculares

Supervisión Spermatophyta – Plantas con semilla

División Magnoliophyta – Plantas con flores

Clase Magnoliopsida – Dicotiledóneas

Subclase Dilleniidae

Orden Violales

Familia Cucurbitaceae – Familia del pepino

Genero *Cucurbita* J.C. Huber

Especie *Cucurbita argyrosperma* J.C. Huber, 1867 (Plants Database).

3.6.3.1.2 Según APG III.

Angiospermas

Eucotiledoneas

Eudicotiledoneas basales

Clase Rosidae

Subclase Fabidae (W.S. Judd)

Orden Cucurbitales (Juss. ex Bercht. & J. Presl)

Familia Cucurbitaceae (Juss.)

Subfamilia Cucurbitoideae

Género *Cucurbita* (J.C. Huber)

Especie *Cucurbita argyrosperma* (J.C. Huber) (Bremer et al., 2009).

La pepitoria se encuentra en la clase Rosidae, por su clasificación molecular y anatómicamente por la tendencia a la organización de las flores en receptáculos anchos y a la reducción en el número de óvulos por carpelo (Davis, 2012). La pepitoria y las plantas pertenecientes al orden Cucurbitales poseen como metabolitos característicos cucurbitacinas (Theodor, 2010).

3.6.3.2 Nombres comunes.

Pepitoria, Saquil, Pipián, Chihua, Calabaza de pepita gruesa, Tinu, Calabaza chompo, Tzompo, Ka, Xka, Xtop, K'alam, Cushaw, Calabaza, Babaskil Imai, Alimai, Vavuli, Bajchi, Arota, Cherota, Haal, Aali, Calabaza caliente, Calabaza de aguas, Calabaza pinta, Tecomata, Salayota, Chuma, Calabaza criolla, Calabaza tupona, Calabaza pipiana, Calabaza criolla, Pepita gruesa, Tamalayote (Lira, 1995; León, 2000).

3.6.3.3 Descripción botánica.

Plantas rastreras o trepadoras de ciclo anual, monoicas, de vellosas a pubescentes, en ocasiones hirsutas, con tricomas cortos, rígidos, algo engrosados y punzantes. Sus raíces son fibrosas, mientras que sus tallos son rígidos ligeramente angulosos y surcados. Las hojas ovando-cordadas usualmente poseen manchas blancas o plateadas a lo largo de las venas, son profundamente lobuladas pero no palmitificadas con lóbulos triangulares a elípticos con márgenes denticulados a serrado-dentados. Las flores con corola blanco-amarillenta a naranja en el limbo pueden ser pentámeras, solitarias y/o axilares con filamentos glabros, gradualmente angostándose desde la base hasta el ápice: el pedúnculo es rígido, anguloso o no excepto en el punto de unión con el fruto, liso o costado, el cual frecuentemente es muy engrosado, tornándose cilíndrico, claviforme o subgloboso (Lira, 1995).

La forma y tamaño del fruto es variable 14 a 50 cm de largo y de 14 a 25 cm de diámetro, globoso, ovoide, piriforme o claviformes, estos últimos rectos o encorvados en la parte más delgada; la superficie del fruto generalmente lisa, sin costillas, algunas veces con excrecencias leñosas que parecen extenderse desde el pedúnculo hacia el ápice del fruto. Usualmente el color es blanco con franjas reticuladas verdes o verde con manchas y franjas irregulares blancas o crema, algunas veces totalmente blancos o verde oscuro, tornándose de color amarillo, pardo claro, anaranjados o raramente bicolors al madurar.

La pulpa del fruto es ligeramente fibrosa a fibrosa de color blanco-verdoso, amarillo pálido o anaranjado claro (Lira, 1995).

Las semillas son elípticas a lanceoladas, planas y ligeramente infladas, hasta 35 mm de largo; testa lisa, rígida y delgada (<1 mm de grosor). Su color es comúnmente blanco, pero pueden ser también blanco opacas, pardas o bronceadas; márgenes del mismo color que el centro de la semilla o poco más oscuros, algunas veces amarillento a dorando o azul-grisáceo-verdoso (Lira, 1995).

Cabe agregar que los cultivares de México tienen el pedúnculo del fruto grueso, cilíndrico o cónico y hojas con lobos más desarrollados y semillas grandes. Los de Guatemala tienen el pedúnculo con cinco lados, hojas menos recortadas y semillas con el borde azulado (León, 2000).

3.6.3.4 Hábitat y distribución.

Esta especie se encuentra distribuida desde los Estados Unidos de Norteamérica hasta Nicaragua. Habita en clima cálido desde el nivel del mar hasta 1,200 msnm. Específicamente en Guatemala es cultivada en Petén, Baja Verapaz, Quiché, Chimaltenango y Escuintla, a elevaciones de 0 a 1400 msnm. Generalmente es cultivada en regiones tropicales y subtropicales no muy húmedas y secas; de forma espontánea en el centro-sur de México y Centroamérica; recientemente se cultiva en China y Suramérica (Lira, 1995; Bisognin, 2002).

3.6.3.5 Obtención.

La única forma de propagación es la siembra de semilla, que se realiza junto con algunos de los cultivos tradicionales de este modelo de agricultura (maíz, frijoles y otras especies de *Cucurbita*). En algunas regiones de México (Yucatán, Quintana Roo y Oaxaca), es frecuente que las semillas de *C. argyrosperma* sean las primeras en ser plantadas en las

milpas. La siembra se realiza poco antes del inicio de las lluvias y de la siembra de los otros cultivos asociados (Lira, 1992).

3.6.3.6 Comercialización.

Se produce por semilla que es obtenida del mismo fruto el cual se cultiva ya sea en las casas o de forma industrial. Tanto el fruto como la semilla se pueden encontrar a la venta en mercados y supermercados (Chízmar, 2009).

3.6.3.7 Usos y propiedades medicinales.

En toda su área de distribución, las flores, tallos jóvenes, frutos tiernos y frutos maduros se consumen como verdura. Los frutos maduros raramente se emplean para la elaboración de dulces, y más frecuentemente se utilizan como forraje para ganado y aves de corral. Las semillas se consumen enteras, asadas, tostadas o molidas, y constituyen el principal ingrediente de salsas usadas para la elaboración de diferentes comidas. En algunas regiones de México, las semillas y también los frutos inmaduros de los taxa silvestres se emplean como alimento; estos últimos se consumen después de ser lavados y hervidos varias veces, para quitarles el sabor amargo que les confieren las cucurbitacinas presentes en la pulpa y las placentas. En Guatemala se prepara un dulce hecho con semillas tostadas y un jarabe de azúcar llamado pepitoria. Se emplean en preparaciones indígenas como el aguashte, aguashte, aguante o guasote, que es común ver sobre el atol de maíz o dentro de tamales o guisos de iguana. Se preparan refrescos con semillas molidas (FAO, 1993).

En cuanto a su uso medicinal el consumo total de la planta estimula el apetito. La pulpa en fresco de frutas maduras se emplea en quemaduras y promover la cicatrización de llagas del seno. En cuanto a las hojas estas son estrujadas y utilizadas para la curación de granos o erupciones. Sin embargo, las semillas son el producto más importante, principalmente por su alto contenido de aceite (39 %) y proteína (44 %); estas son preparadas con agua y

usadas como antihelmítico y para estimular la producción de leche materna. También en caso de hemorroides, se pone el aceite de las semillas crudas y descascaradas (Lira, 1995; Argueta, 1999).

3.6.3.8 Farmacología experimental y clínica.

No se encontró.

3.6.3.9 Composición química y principios activos.

La *C. argyrosperma* está compuesta por ácido linoléico (35.67 a 47.68 %), ácido palmítico (13.52 a 21-8 %) y ácido esteárico (6.33 a 10.44 %). Además contiene metacarboxifenilalanina y cucurbitita (Argueta, 1999).

Según Cáceres (2009), *C. argyrosperma* no posee flavonoides, antocianinas, cumarinas, antraquinonas, ni tampoco actividad antioxidante, pero si monoterpenos (aceites esenciales); metabolitos determinados mediante el análisis fitoquímico por TLC. Por otro lado, no presentó taninos utilizando el método macrométrico cualitativo (Anexo 3).

3.6.3.10 Toxicología.

No se encontró.

3.6.3.11 Indicaciones terapéuticas.

No es de uso oficial, por lo que no se encuentran en ninguna farmacopea.

3.6.4 *Solanum nigrescens* Mart & Gal (Solanaceae) (Macuy).

3.6.4.1 Clasificación taxonómica.

3.6.4.1.1 Según Cronquist.

Reino Plantae – Plantas

Subreino Tracheobionta – Plantas vasculares

Supervisión Spermatophyta – Plantas con semilla

División Magnoliophyta – Plantas con flores

Clase Magnoliopsida – Dicotiledóneas

Subclase Asteridae

Orden Solanales

Familia Solanaceae – Familia de la papa

Genero *Solanum* L.

Especie *Solanum nigrescens* (Plants Database).

3.6.4.1.2 Según APG III.

Angiospermas

Eucotiledoneas

Eudicotiledoneas basales

Clase Asteridae

Subclase Lamidae (Euasteridae I)

Orden Solanales (Juss. ex Brecht. & J. Presl)

Familia Solanaceae (Juss.)

Subfamilia Solanoideae

Género *Solanum*

Especie *Solanum nigrescens*. Mart. & Gal (Bremer et al., 2009).

El macuy pertenece a la clase Asteridae debido a que es herbácea, con flores hermafroditas, cigomorfa (de simetría bilateral), polinizadas por insectos por sus estambres dispuestos en círculos y los pétalos de la corola unidos entre si formando un tubo. El gineceo está formado por dos carpelos soldados y las flores se organizan a menudo en inflorescencias apretadas (Valencia, 2011). Se encuentra incluido en el orden Solanales, debido a que las plantas de tal orden poseen como metabolitos alcaloides no iridoides (Theodor, 2010).

3.6.4.2 Nombres comunes.

Macuy, Hierba-mora, Quilete (Cáceres, 1996), Quequeste, Matafas, Bucano, Tonchichi o Tomatillos del diablo (Martínez, 2006).

3.6.4.3 Descripción botánica.

Planta herbácea de 0.5 a 1.5 m de alto, tallo piloso, hojas en pares o solitarias de diferentes tamaños, forma similar, enteras o dentadas, lanceoladas, 3 a 18 cm de largo, ápice acuminado, base atenuada. Pecíolo 5 a 35 mm de largo, inflorescencia internodal, racemiforme; pedúnculos de 3 cm de largo; cáliz 1 a 1.5 mm de largo lobulado; corola blanca o lila, mancha oscura en la base; filamentos ciliados; anteras 3 a 4 mm de largo; 5 estambres que en conjunto forman un cono de 2 a 3 mm de largo. Flor bisexual; fruto globoso, negro, en baya de 4 a 7 mm de diámetro; semilla 1 a 1.5 mm de largo. (Stanley, 1952).

3.6.4.4 Hábitat y distribución.

Su distribución es cosmopolita y nativa de Centroamérica. Se encuentra en Guatemala al sureste de México y Costa Rica. Sus lugares de origen se han ubicado en el sureste de Estados Unidos de América, Chile y Argentina. Está presente en climas cálidos, semisecos y templados desde el nivel del mar hasta los 3000 msnm. Se encuentra asociada a vegetación perturbada de bosque tropical, matorral, bosques de encino y mixto de pino-encino (Stanley, 1952).

3.6.4.5 Obtención.

Se obtiene por recolección en lugares silvestres, la propagación es por semilla que germina en 15 a 20 días, se siembra a media sombra. La disponibilidad es incluso en el mercado local en forma del follaje. Como alimento el follaje se colecta al inicio de la floración y como medicina al final de la fructificación (Cáceres, 1996).

3.6.4.6 Comercialización.

Se propaga a través de semilla, todo el año, especialmente en la época lluviosa. Las hojas se colectan de la planta cultivada o creciendo en lugares baldíos. Se encuentra a la venta en mercados y supermercados (Chízar, 2009).

3.6.4.7 Usos y propiedades medicinales.

En Guatemala se utiliza comúnmente como alimento, las hojas se comen en caldo o fritas con huevo. En cuanto a sus propiedades medicinales se le atribuye propiedad aperitiva, calmante, depurativa, diurética, desinflamante, emoliente, mineralizante, reconstituyente, sedante y vulneraria (Cáceres, 1996).

El conocimiento de hojas y semillas tiene amplio uso medicinal, por vía oral se administra en el tratamiento de afecciones gastrointestinales (cólico, diarrea, estreñimiento, gastritis, úlcera gástrica) y respiratorias (asma, amigdalitis, tos ferina), anemia (debido a su alto contenido de minerales), cirrosis, dolor de muelas, escorbuto, hinchazón, meningitis, nerviosismo, paludismo, presión alta, retención urinaria y reumatismo. En los casos de reumatismo, se dan baños con el cocimiento de las ramas o frotaciones con la extracción de alcohol. Contra la tos se toma el cocimiento de toda la planta, este mismo en aplicaciones tópicas se emplea para alergias en la piel (Cáceres, 1996).

La decocción de hojas se usa por vía tópica para el tratamiento de afecciones dermatomucosas (acné, abscesos, dermatitis, eczema, erisipela, exantema, heridas, leucorrea, llagas, mezquinos, pústulas, tiña, úlcera y vaginitis), la cataplasma de hojas frescas se usa para tratar erisipela. Para quemaduras, úlceras y tumores se pueden aplicar cataplasmas con las hojas frescas y machacadas o en polvo resultado de la raíz molida. Los frutos se usan para tratar verrugas y eliminar abscesos (Cáceres, 1996).

En dolores de ojos y oídos se usa el jugo de la planta en gotas aplicándolo directamente. Untando en la frente y en las sienas sirve contra el dolor de cabeza. Además, sin especificar parte de la planta se recomienda para problemas de piel tales como eczemas, erisipelas y moretones. También se emplea en heridas, se hierven las ramas y las hojas o se usa toda la planta molida y se pone diariamente hasta que cicatrice la herida (Cáceres, 1996).

3.6.4.8 Farmacología experimental y clínica.

Estudios in vitro realizados en Guatemala demuestran que la decocción de las hojas presenta actividad antibiótica. La decocción posee actividad contra *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, y *Streptococcus pyogenes* pero no contra *Vibrio cholerae*. El mejor disolvente para la actividad antibiótica es el etanol. Estudios antimicóticos demuestran que la decocción y la maceración hidroalcohólica de las hojas tienen actividad contra *Candida albicans*. La infusión de las hojas tiene actividad espasmolítica frente a acetilcolina 640 mg donde se deduce que inhibe el espasmo por mecanismos muscarínicos y musculotrópicos (Cáceres, 1996).

Por otra parte, en experimentos in vivo la decocción de las hojas tiene actividad inmunomoduladora en ratones por un aumento en la población de linfocitos y en los títulos de anticuerpos séricos. Demostró que en pacientes con candidosis vaginal los pacientes tenían un comportamiento similar al ser tratados con óvulos de *S. nigrescens* y con óvulos de nistatina. Existe un actividad similar entre el tratamiento contra verruga vulgaris al utilizar frutos secos de *S. americanum* en nitrógeno líquido (Cáceres, 1996).

3.6.4.9 Composición química y principios activos.

El estudio fitoquímico de las hojas demuestran la presencia de en mayor cantidad de flavonoides, triterpenoides y esteroides y en una menor cantidad alcaloides, taninos y polifenoles. La actividad fungicida se atribuye a la cantalosaponina (Gómez, 2003).

Por otra parte, en un estudio de Cáceres (2009) se detectaron la presencia de flavonoides y antocianinas, mediante TLC debido a la formación de cuatro bandas. Por este mismo método no se detectaron antraquinonas, aceites esenciales y cumarinas. Al analizar la presencia de taninos, mediante el método macrométrico cualitativo, se obtuvo un resultado negativo (Cáceres, 2009).

En cuanto a su actividad antioxidante, según un estudio de Calderón (2011), se conoce que posee un IC_{50} de 0.156, lo cual indica que tal actividad es elevada debido a que entre menor sea este valor mayor será su valor antioxidante. Otros estudios muestran de forma cualitativa por medio de TLC una intensidad de dos cruces y cuatro bandas para el valor antioxidante de *S. nigrescens* (Cáceres, 2009). Además, *S. nigrescens* presentó actividad contra *Helicobacter pylori* en ciertas cepas, debido a que induce la producción de Peróxido de Hidrógeno (H_2O_2) creando un ambiente hostil para la bacteria (Quintana, 2012).

3.6.4.10 Toxicología.

Los frutos de *S. nigrescens* se consideran tóxicos al ganado, ovejas, pollos y patos. Los síntomas de intoxicación se atribuyen a la solanina y solanidina, provocando diarrea, vómitos, dolor de cabeza, y estómago, dificultad para ver y hablar, debilidad, sudoración, frío, alteración del pulso, alucinaciones e inconciencia (Cáceres, 1996).

3.6.4.11 Indicaciones terapéuticas.

No es de uso oficial, por lo que no se encuentran en ninguna farmacopea.

4. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años en Guatemala, se ha incrementado el uso de plantas nativas con propiedades medicinales para la prevención o curación de diversas enfermedades. Botánicamente todas las plantas poseen características distintivas que son utilizadas para su identificación, pero las materias medicinales generalmente se expenden secas y fragmentadas lo que hace muy difícil establecer su identidad.

En Guatemala existe muy poca información sobre caracteres de identidad microscópica que faciliten el establecimiento de normas de control de calidad de las plantas nativas, por lo que para este estudio se seleccionaron 4 plantas que forman parte de la base de datos del departamento de Citohistología para la validación de su uso popular; estas son conocidas como madrecaao, loroco, pepitoria y macuy y todas son usadas frecuentemente por la población en diversos usos terapéuticos.

Con este estudio se espera establecer las características de identidad y pureza de las cuatro plantas, para lo cual se determinarán las estructuras macroscópicas y microscópicas particulares, además de sus propiedades fitoquímicas mediante distintas metodologías, de tal manera que se garantice la calidad de la materia prima que se utiliza, tanto por la población como para la producción de fitofármacos.

También este estudio aportará datos de toxicidad aguda de los extractos vegetales de cada planta como una primera aproximación al uso de estas plantas en una concentración inocua.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Establecer las características de identidad y pureza, útiles para el control de calidad de las plantas de interés medicinal, conocidas popularmente como madrecaao, loroco, pepitoria y macuy.

5.2 Específicos

- 5.2.1 Elaborar una descripción botánica diagnóstica de cada una de las plantas de estudio para su correcta identificación en el campo.
- 5.2.2 Establecer parámetros diagnósticos para el control de calidad y elaborar cartillas micrográficas de las plantas de estudio.
- 5.2.3 Demostrar la presencia y ubicación de metabolitos secundarios de las plantas de estudio por métodos histoquímicos y fitoquímicos.
- 5.2.4 Determinar la toxicidad aguda de las cuatro especies de estudio frente a larvas de *Artemia Salina*.
- 5.2.5 Establecer la pureza de cada una de las plantas de estudio por medio de la determinación del porcentaje de cenizas totales y humedad.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Recursos.

6.1.1 Humanos.

- ✓ Estudiantes: Br. Nancy Gabriela Escobar Mena, Br. Claudia Lucia Mata Asifuina, Pc. Nely Mariela Marroquín de Paz, Br. Claudia Alejandra Osorio Salguero.
- ✓ Asesora: Licda. María Eugenia Paredes.
- ✓ Revisora: Licda. Ana Margarita Paz

6.1.2 Institucionales.

- ✓ Laboratorio de Bioensayos del Departamento de Citohistología, edificio T-11 de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- ✓ Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), edificio T-10 de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- ✓ Laboratorio de Anatomía Vegetal, Facultad de Agronomía.

6.2 Universo de Trabajo.

Plantas Medicinales nativas de la región.

6.3 Muestra.

Cuatro especies de plantas medicinales: *Gliricidia sepium* (madrecacao), *Fernaldia pandurata* (loroco), *Cucurbita argyrosperma* (pepitoria) y *Solanum nigrescens* (macuy).

6.4 Listado de Material.

6.4.1 Material biológico.

- ✓ *G. sepium*
- ✓ *F. pandurata*
- ✓ *C. argyrosperma*
- ✓ *S. nigrescens*

✓ Huevos de *Artemia salina*

6.4.2 Instrumentos.

- ✓ Agitador Magnético
- ✓ Aguja de disección e histológica
- ✓ Balanza de humedad marca Santorius
- ✓ Balanza semianalítica
- ✓ Baño de María
- ✓ Bomba de oxígeno para pecera
- ✓ Desecador
- ✓ Estufa eléctrica
- ✓ Horno
- ✓ Lámpara de Luz blanca
- ✓ Lámpara de Luz UV
- ✓ Lupa
- ✓ Microscopio
- ✓ Microscopio con cámara incorporada
- ✓ Mufla
- ✓ Pipetas automáticas
- ✓ Pecera para cultivo de larvas
- ✓ Refrigeradora

6.4.3 Materiales.

- ✓ Bolsas de plástico
- ✓ Cartón
- ✓ Cucharita
- ✓ Esmalte de uñas
- ✓ Etiquetas
- ✓ Filtro Whatman 1

- ✓ Folders
- ✓ Goma
- ✓ Hojas de afeitar
- ✓ Láminas cubreobjetos
- ✓ Láminas de duroport
- ✓ Láminas portaobjetos
- ✓ Marcador indeleble
- ✓ Microplaca fondo plano de 96 pozos
- ✓ Palillos descartables
- ✓ Papel filtro
- ✓ Papel manila
- ✓ Papel periódico
- ✓ Papel secante
- ✓ Prensa de madera
- ✓ Puntas amarillas de 200 μ l
- ✓ Regla
- ✓ Tijeras de podar
- ✓ Virutas de magnesio

6.4.4 Cristalería.

- ✓ Cajas de Petri
- ✓ Crisoles de porcelana
- ✓ Embudo
- ✓ Erlenmeyer
- ✓ Frasco de vidrio estériles
- ✓ Pipetas Pasteur
- ✓ Probeta
- ✓ Tubos de ensayo

- ✓ Varilla de Vidrio
- ✓ Vasos de precipitar
- ✓ Vidrios de reloj

6.4.5 Reactivos.

- ✓ Ácido bórico
- ✓ Ácido clorhídrico al 25 %
- ✓ Ácido clorhídrico al 2N
- ✓ Ácido clorhídrico diluido
- ✓ Ácido sulfúrico concentrado
- ✓ Agua destilada
- ✓ Alcohol etílico al 100 %
- ✓ Alcohol etílico al 70 %
- ✓ Alcohol etílico al 80 %
- ✓ Alcohol etílico al 96 %
- ✓ Anhídrido acético
- ✓ Azul de cresil al 1 %
- ✓ Cloruro de cinc
- ✓ Cloruro de sodio al 10 %
- ✓ Cloruro férrico o Sulfato férrico al 10 %
- ✓ Gelatina – Glicerina
- ✓ Hidróxido de amonio al 10 %
- ✓ Hidróxido de sodio al 5 %
- ✓ Hipoclorito de sodio al 50 %
- ✓ Lugol
- ✓ Metanol
- ✓ Reactivo de Drangendorff
- ✓ Reactivo de Mayer's
- ✓ Reactivo de Wagner

- ✓ Sal de mar
- ✓ Safranina al 1 %
- ✓ Solución Test de amonio
- ✓ Sudán IV
- ✓ Tolueno

6.5 Metodología.

6.5.1 Pruebas de identidad.

6.5.1.1 Herborización de ejemplares frescos.

La Herborización de los ejemplares frescos se realizó en dos pasos: Colecta y secado, montaje y etiquetado.

- Se recolectaron cinco ejemplares de cada una de las plantas en estudio, cortando todas las partes respectivas: hojas, tallos, flores y frutos (si poseía).
- Los ejemplares fueron colocados en medio de dos hojas de papel periódico y este dentro de cartón corrugado formando una pila de muestras.
- La pila de muestras se colocó entre prensa de madera y se guardaron en la secadora del Herbario Biología Guatemala (BIGU) durante 24 horas o mayor tiempo dependiendo si el secado fue adecuado.
- Para el montaje y etiquetado se colocaron cada una de las muestras secas en una hoja de cartulina blanca.
- Por último se colocó la etiqueta de identificación que contiene una breve descripción botánica y otros requerimientos establecidos por el Herbario Biología Guatemala (BIGU) en la parte inferior del lado derecho de la cartulina con la muestra (Sólis, De Solis, Gattuso & Cáceres, s.f.).

6.5.1.2 Determinación macroscópica.

- Se observó la morfología a simple vista de cada una de las cuatro plantas en estudio, desde la forma de sus hojas, color, olor, borde, inervación central, la forma de su tallo, etc. (Solis et al., s.f.).

6.5.1.3 Determinación microscópica.

6.5.1.3.1 Corte a mano alzada.

- La parte de la planta que se deseaba cortar fue colocada entre dos trozos de duroport.
- Con la ayuda de una hoja de afeitar se realizaron los cortes de forma transversal sujetando fuerte con una mano el duroport y con la otra la hoja de afeitar.
- Los cortes se dejaron caer en un vidrio de reloj con agua destilada.
- Por último se escogieron solo los cortes más delgados y parejos (Solis et al., s.f.; Gattuso & Gattuso, 1999; Soria, 1994).

6.5.1.3.2 Diafanizado.

- Se colocaron al menos cuatro hojas de la especia vegetal en un cristalizador con alcohol al 96 %.
- Se llevó a ebullición durante 30 minutos, hasta que ya no se observó coloración verde de la planta.
- Las hojas se colocaron a fracciones iguales de alcohol al 96 % e hidróxido de sodio al 5 %.
- Se hirvió la mezcla nuevamente durante 10 minutos.
- Luego se lavó con agua destilada tibia hasta que quedara limpia.
- Se dejó reposar en hipoclorito de sodio al 50 % hasta que las hojas quedaran de color blanco transparente.

- Se lavó hasta eliminar el hipoclorito de sodio para poder realizar la técnica de tinción escogida (Solis et al., s.f.; Gattuso & Gattuso, 1999).

6.5.1.3.3 Tinción con safranina.

- La parte de planta a colorear se sumergió en un vidrio de reloj con safranina al 1 % durante aproximadamente 3 minutos.
- El material vegetal ya coloreado fue retirado con una aguja de disección y trasladado a un portaobjetos.
- Se agregaron dos gotas de gelatina-glicerina y se cubrió con un cubreobjetos procurando no dejar burbujas.
- Finalmente se sellaron los extremos del cubreobjetos usando esmalte para uñas (Solis et al., s.f.; Soria, 1994).

6.5.1.3.4 Disociado Débil.

- El material vegetal finamente cortado fue colocado en un cristalizador con solución de hidróxido de sodio al 5 %.
- Se llevó a ebullición por 5 minutos.
- El líquido fue lavado hasta que quedó limpio.
- Se coloreó según técnica de coloración con safranina (Solis et al., s.f.; Gattuso & Gattuso, 1999).

6.5.1.3.5 Cartillas de Identificación.

- Se realizaron dibujos a mano alzada en base a las diferencias observadas al microscopio de las distintas partes de la plantas en estudio.
- Por último, las características de control de calidad del material vegetal fueron establecidas.

6.5.1.4 Determinación de metabolitos.

Se llevó a cabo mediante pruebas histoquímicas y fitoquímicas.

6.5.1.4.1 Pruebas Histoquímicas.

- Los cortes de la planta fresca fueron colocados sobre un portaobjetos.
- Se agregó una gota de reactivo según el metabolito a identificar:

Metabolito	Reactivo	Interpretación positiva
Alcaloides	Dragendorff	Precipitado rojo ladrillo
Grasas y aceites	Sudan IV	Coloración roja o rosada luego de lavado con alcohol al 70 %
Mucílagos	Azul de cresil al 1%	Coloración azul franca
Saponinas	Ácido sulfúrico	Coloración amarilla que a los 30 minutos cambia a rojo y finalmente a azul verdoso o lila
Taninos	Sulfato férrico	Coloración azul verdosa
Almidón	Lugol	presencia de gránulos azules en el citoplasma de las células

Fuente: Sólis, P. De Solis, N. Gattuso, S. & Cáceres, A. Manual de Caracterización y Análisis de Drogas Vegetales y Productos Fitoterapéuticos. Proyecto de Desarrollo y Tecnología de Cultivo de Plantas Medicinales y Producción de Fitoterápicos. OEA/AICD/AE 089/03.

- Se observó al microscopio el cambio de color (Solis et al., sf.; Gattuso & Gattuso, 1999).

6.5.1.4.2 Tamizaje fitoquímico.

Alcaloides

- Se pesó 1 gramo de material vegetal.
- Se agregó 2 gotas de hidróxido de amonio al 10 %.
- Se añadió 25 mL de metanol a 60°C.
- Se filtró con papel Whatman 1 y se acidificó el filtrado con ácido clorhídrico 2N.
- La solución resultante fue dividida en cuatro tubos:
 - Tubo 1: se agregaron 5 gotas de reactivos de Mayer's.
 - Tubo 2: se agregaron 5 gotas de reactivo de Dragendorff.
 - Tubo 3: se agregaron 5 gotas de reactivo de Wagner.
 - Tubo 4: fue el testigo.
- Se observó la presencia de precipitados, turbidez o precipitación de complejos en los tubos (Santa Cruz, s.f.; Lock, 1994; Sharapin, 2000; Real Farmacopea Española, 2002).

Flavonoides y antocianinas

- Se extrajeron 3 gramos de material seco pulverizado con 10 mL de etanol al 80 %, se filtró y concentró en baño de maría.
- Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se trituro el residuo con 15 mL de éter de petróleo hasta que la extracción fue incolora.
- El residuo fue disuelto en 30 mL de metanol al 80 %, filtrado y dividido en 7 tubos:
 - Tubo 1: se agregó 0.5 mL ácido sulfúrico concentrado.
 - Tubo 2: se agregó 3 a 5 gotas de cloruro férrico al 10 % (P/V).

- Tubo 3: se agregó 0.5 mL ácido clorhídrico concentrado y calentó en baño maría por 5 minutos.
- Tubo 4: se agregó magnesio metálico y 0.5 mL de ácido clorhídrico concentrado.
- Tubo 5: se agregó hidróxido de sodio al 5 % frente al extracto acuoso.
- Tubo 6: se agregó solución de ácido bórico en anhídrido acético.
- Tubo 7: fue el testigo.
- Por último, se observaron los cambios de color y formación de precipitado comparado con el testigo (Santa Cruz, s.f.; Lock, 1994; Sharapin, 2000; Real Farmacopea Española, 2002).

Antraquinonas

- Se extrajeron 3 gramos de material vegetal pulverizado con 10 mL de etanol al 89 %.
- Se filtró y concentró en baño de maría a 60°C.
- El residuo fue disuelto con 30 mL de agua destilada y filtrado.
- Se extrajo nuevamente con 10 mL de benceno y a la capa bencénica formada se adicionó 5 mL de solución de prueba de amonio y se agitó.
- Se observó el cambio de color que ocurrió en la fase alcalina, color rojo o rosado es interpretación positiva (Santa Cruz, s.f.; Lock, 1994; Sharapin, 2000; Real Farmacopea Española, 2002).

Cumarinas

- Extrajeron 3 gramos de material seco pulverizado con 10 mL de etanol al 80% y la mezcla fue filtrada.
- Se midió 5 mL del filtrado y se le agregó 1 mL de agua destilada hirviendo.
- Se aplicó con ayuda de un capilar dos manchas en papel filtro.
- 1 gota de hidróxido de potasio 0.5N se agregó a una de las manchas.

- Se observó bajo luz UV de 365 nm.
- La aparición de fluorescencia azul o verde fue indicativo de la presencia de cumarinas (Santa Cruz, s.f.; Lock, 1994; Sharapin, 2000; Real Farmacopea Española, 2002).

Saponinas

- Se prepararon 3 tubos:
 - Tubo 1: se agregaron 100 mg de material vegetal pulverizado y seco.
 - Tubo 2: se agregaron 2 mL de control de saponinas al 0.5 %.
 - Tubo 3: se agregaron 2 mL de agua.
- A cada tubo se adicionaron 10 mL de agua destilada.
- Se calentó en baño de maría a 60°C durante 30 minutos.
- Los tubos se dejaron enfriar y se taparon para luego agitarlos vigorosamente durante 30 a 40 segundos y seguidamente dejaron reposar durante 30 minutos.
- La presencia de saponinas se observó por la formación de una capa de espuma mayor de 3 cm la cual debe persistir en la superficie después de 30 minutos (Santa Cruz, s. f.; Lock, 1994; Sharapin, 2000; Real Farmacopea Española, 2002).

Taninos

- Se extrajo 1 gramo de material vegetal con 3 mL de etanol al 80 %.
- Se filtró y evaporó a sequedad.
- Se agregó 25 mL de agua caliente al residuo y se agitó con una varilla dejando enfriar.
- Se agregó 1 mL de la solución de cloruro de sodio al 10 % y se filtró.
- 3 tubos fueron preparados agregando a cada uno 3 mL del filtrado y se evaluó:
 - Tubo 1: fue el testigo.
 - Tubo 2: se agregaron de 4 a 5 gotas de gelatina sal.
 - Tubo 3: se agregaron 3 a 4 gotas de solución de cloruro férrico al 10 %.

- La formación de precipitado y/o cambio de color fue observada (Santa Cruz, s.f.; Lock, 1994; Sharapin, 2000; Real Farmacopea Española, 2002).

6.5.2 Pruebas de Pureza.

6.5.2.1 Determinación de humedad.

- Se colocaron crisoles limpios y secos en horno desecador, numerados por número de repetición.
- Se encendió el horno y se esperó a que alcanzara una temperatura de 105°C (que se mantenga) y se esperó 1 hora. Al concluir la hora se apagó el mismo y se esperó que la temperatura descendiera a aproximadamente 80°C.
- Los crisoles se sacaron con pinzas y fueron colocados en el desecador con silica gel por 20 minutos.
- Se sacaron los crisoles del desecador y se anotó el peso y luego fue tarado. Luego en cada crisol se colocó 1 gramo del material vegetal seco.
- Se colocó en el horno nuevamente y se esperó a que alcanzara una temperatura de 105°C (que se mantenga) y se esperó 1 hora. Al concluir la hora se apagó y se esperó a que la temperatura descendiera a aproximadamente 80°C.
- Los crisoles se sacaron con pinzas y fueron colocados en el desecador con silica gel por 20 minutos.
- Se pesaron los crisoles con el material vegetal y se anotó el peso.
- Por último, se calculó el porcentaje de humedad el cual debía ser menor del 10% para comenzar a trabajar la metodología de cenizas totales, de lo contrario se colocaba todo el material vegetal con el que se va a trabajar en horno desecador por al menos un día a 60°C y se repetía el proceso.

6.5.2.2 Cenizas totales.

- Se colocaron los crisoles limpios y secos en horno desecador, numerarlos por número de repetición.
- Se encendió el horno y se esperó a que alcanzara una temperatura de 105°C (que se mantenga) y esperó una hora. Al concluir la hora se apagó el horno y se esperó a que la temperatura descendiera a aproximadamente 80°C.
- Se sacaron los crisoles del horno con pinzas y se colocaron en el desecador de silica gel por 20 minutos.
- Se sacaron del desecador con pinzas y se pesaron anotando el peso del crisol y posteriormente fueron tarados. Se colocó en cada crisol 1.5 gramos del material vegetal seco, anotando el peso exacto medido para cada repetición.
- Se tomaron los crisoles con materia vegetal pesada, con pinzas y se colocaron dentro de la mufla.
- Se encendió la mufla y esperó a que alcanzara la temperatura de 600°C y luego esperó una hora y se apagó.
- Los crisoles se sacaron de la mufla hasta el día siguiente, colocándolos primeramente en el desecador por 20 minutos ayudándose con pinzas.
- Se pesaron crisoles con el material vegetal incinerado y se anotó el peso.
- Finalmente, se calculó el porcentaje de cenizas totales el cual debía ser menor del 5 %.

6.5.2.3 Cenizas Ácidas.

Si el valor del porcentaje de cenizas totales que se obtuvo fue mayor al 5 % se debía realizar esta metodología.

- Con la materia vegetal ya incinerada en los crisoles durante el proceso de determinación de cenizas totales, se colocaban nuevamente en la mufla ayudándose de pinzas.

- Se encendía la mufla y se esperaba a que alcanzara la temperatura de 600°C y luego esperaba dos horas y se apagaba.
- Los crisoles se sacaban hasta el día siguiente, colocándolos en el desecador por 20 minutos ayudándose siempre con las pinzas.
- Se pesaba nuevamente y se determinaba si el peso era similar al de la primera determinación, si era así el peso se consideraba constante, si no fue este el caso se colocaba de nuevo en la mufla por dos horas más siguiendo el mismo procedimiento antes mencionado.
- Si el peso era constante se anotaba el peso y luego se medía en una probeta 25 mL de ácido clorhídrico 3N y agregaba al material vegetal incinerado en el crisol y dejaba digerir por 5 minutos.
- Se filtraba con un embudo y papel filtro libre de cenizas.
- El papel junto con el filtrado se debía colocar dentro del crisol correspondiente.
- Los crisoles se colocaban en la mufla. Esta se encendía y se esperaba a que llegara a una temperatura de 600°C y se esperaba por dos horas.
- Se sacaba de la desecadora con pinzas y se colocaba en el desecador por 20 minutos.
- Los crisoles se sacaban con pinzas y se pesaban anotando el peso.
- Finalmente se determinaba el porcentaje de cenizas ácidas para cada repetición.

6.5.3 Toxicidad Aguda (frente a *Artemia salina*)

Preparación del agua de mar

- Disolver 35 gramos de la sal de mar (procedente de salineras, no utilizar sal comercial ni grado reactivo) en un litro de agua destilada.
- Hacer una marca en el vaso de precipitar para indicar el volumen de agua.
- Hervir por 30 minutos y completar el volumen que se evaporó según la marca.

- Filtrar y refrigerar hasta el momento de usar, es estable por un mes a temperatura de 6 a 8°C (Michael, Thompson & Abramovitz, 1956; Wah, 1993).

Cultivo de *Artemia salina*

- En un vaso de precipitación se colocaban 200 mL del agua de mar y se aireaba por 30 minutos.
- El agua se colocaba en una pecera poseía un compartimento oscuro y uno iluminado por una lámpara de 25W colocada a una distancia aproximada de 30 cm y se agregaba 40 mg de huevecillos en el área cerrada (lado oscuro).
- Se incubaba por 48 horas a temperatura ambiente (25°C) y con luz artificial.
- Al eclosionar, los nauplios (larvas) pasaban al área abierta de la pecera (lado con luz). Los nauplios de no más de 18h de nacimiento fueron utilizadas para la prueba de toxicidad (Michael et al., 1956; Wah, 1993).

Preparación de la solución a ensayar

Extracto

- Se pesó en un tubo de ensayo 1 mg del extracto a ensayar y se disolvió con 1 mL de agua pura.
- Se preparó la cantidad requerida de esta solución, manteniendo la concentración de 1:1.
- Finalmente se sonificó la solución para optimizar la solubilidad (Michael et al., 1956; Wah, 1993).

Prueba de toxicidad

- Se colocó por triplicado en cada pocillo de una microplaca, 100 µL de agua de mar conteniendo 12 individuos (nauplios) con la ayuda de una pipeta automática. Los nauplios se pescaron de dos en dos por 6 veces con un tip amarillo que poseía la

punta del tip si fuese necesario, utilizando una pipeta automática de 20 μL para asegurarse de que queden 12 individuos/100 μL . Fue necesario realizar diluciones.

- Se realizó siempre un control negativo.
- Lugo se incubo a temperatura ambiente siempre con luz artificial por 24 horas.
- Con ayuda de una lupa se contó el número de nauplios muertos
- Era necesario que en el control no se observen nauplios muertos, de lo contrario la prueba no era válida y se debía repetir.
- Con estos datos se calculaba el porcentaje de nauplios muertos y se determinaba el valor de CL_{50} del extracto (Michael et al., 1956; Wah, 1993).

6.6 Diseño Estadístico.

Muestra: Plantas de estudio (Madrecacao, Loroco, Pepitoria y Macuy).

Sitios de obtención de la materia vegetal a estudiar

Madrecacao: Suchitepequéz.

Loroco: Sanarate, El Progreso.

Pepitoria: Salamá, Baja Verapaz.

Macuy: Milpas Altas, Sacatepequéz.

La elección de dichas plantas fue por conveniencia, ya que estas son de uso popular en Guatemala y además formarán parte de la base de datos de las investigaciones realizadas por el departamento de Citohistología de Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

Análisis descriptivo:

Se efectuaron ensayos cualitativos en los que se incluyó la descripción botánica de la planta, su estructura macroscópica y microscópica. Así mismo la determinación de metabolitos secundarios se realizó por quintuplicado y dichos análisis fueron de tipo descriptivo.

En el análisis de toxicidad aguda se midió la acción de cuatro concentraciones distintas (0.5, 0.25, 0.125 y 0.06 mg/mL) de los extractos vegetales frente a diez nauplios por triplicado. Los resultados fueron analizados por medio de una regresión no lineal con transformación probit por el método de Finney y el cálculo de la CL_{50} con un intervalo de confianza del 95 %.

Asimismo, se determinó el porcentaje de cenizas y humedad por medio de cinco mediciones de dichos parámetros para cada planta. El análisis fue de tipo descriptivo y se reportó el promedio, la mediana, la desviación estándar y el rango de los valores obtenidos.

Además, se llevó a cabo una comparación del método de cromatografía de capa fina previamente realizado en el proyecto titulado “Actividad antioxidante de diez especies nativas como posibles preservantes de alimentos y fuente para el desarrollo de nutracéuticos” del año 2009 financiado por Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT), con respecto al tamizaje fotoquímico en tubo. Se realizó un análisis descriptivo y se determinó la cantidad de acuerdos y desacuerdos entre ambos métodos.

7. RESULTADOS

De las cuatro especies de estudio se realizaron pruebas para su identificación y caracterización entre las que se incluyen descripción macroscópica y microscópica, tamizaje histoquímico, tamizaje fitoquímico (pruebas en tubo), determinación de cenizas y de humedad y por último la actividad tóxica frente a *Artemia salina*. Las partes analizadas fueron tallo, pecíolo y hoja para *Fernaldia pandurata*, *Solanum nigrescens* y *Cucurbita argyrosperma* de la cual también se analizó la semilla. Para la especie *Fernaldia pandurata* se analizó, además de las partes antes mencionadas, la flor. En el caso de *Gliricidia sepium* se analizó pecíolo, raquis, peciólulo y foliolo. Los principales hallazgos obtenidos a partir de las pruebas antes mencionadas se describen a continuación.

7.1 *Gliricidia sepium* (Madrecacao).

7.1.1 Descripción diagnóstica de planta fresca.

Árbol de tamaño mediano, de 10 a 15 metros de altura, con copa abierta, rala e irregular, el tronco es de base recta. Las hojas son compuestas, imparipinadas, alternas y deciduas, sus foliolos tienen un ápice agudo, base redondeada, margen entero y venación pinnada (Figura No. 1). Se realizó e identificó un ejemplar el cual se ingresó al Herbario BIGU de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, con número de inventario 64286 (Anexo 4).



Figura No.1 Ejemplar de herbario de *Gliricidia sepium*

7.1.2 Descripción diagnóstica planta seca.

La droga seca está conformada por folíolos, de color verde olivo en la cara adaxial y verde claro en la cara abaxial, la nervadura central es muy notoria de color marfil, su consistencia es blanda y se fragmenta con facilidad, su olor es sutil, agradable de tipo herbal y su sabor es amargo desagradable. Como parte del procedimiento se depositó un ejemplar de planta seca en la colección del departamento de Citohistología, de la Escuela de Química Biológica, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia (Figura No. 2 y 3).

Los haces vasculares del pecíolo y raquis son de tipo concéntrico anficribal, ya que el floema se encuentra circundando al xilema. El floema se observa como un anillo continuo de pocos estratos; el xilema forma filas de células, entre las cuales se dispone tejido esclerenquimático, además el parénquima medular se aprecia en disposición central con células de gran tamaño (Figura No. 4 y 7). Tanto el pecíolo como el raquis poseen haces vasculares accesorios, observándose tres en el pecíolo y dos en el raquis, identificándose además en este último, dos hacecillos vestigiales (Figura No. 5, 7 y 8).

El haz vascular del peciólulo posee una forma arriñonada característica, con ausencia de haces vasculares accesorios. En este el floema se observa en estratos variables en forma de arco con extremos ligeramente invaginados; el xilema en forma de arco semi abierto, con vasos de diferente amplitud que se ensanchan hacia el floema formando filas, y por último la médula, dispuesta en el centro quedando casi rodeada en su totalidad por el xilema y la porción restante la bordea tejido esclerenquimático (Figura No. 10 y 11).

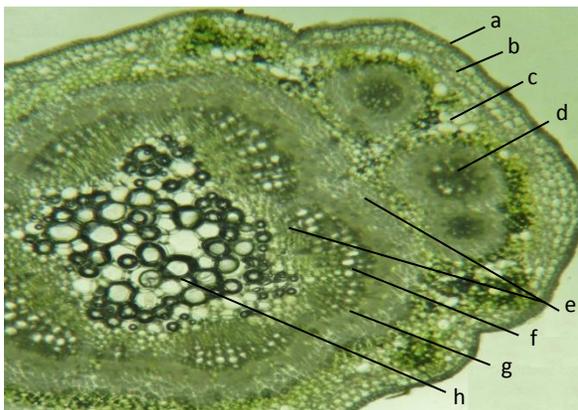


Figura No.4 Pecíolo madrecacao. Preparación en fresco. Aumento: 40x. Descripción: a. Epidermis, b. Colénquima, c. Parénquima, d. Haz vascular accesorio, e. Esclerénquima, f. Xilema, g. Floema, h. Parénquima medular.

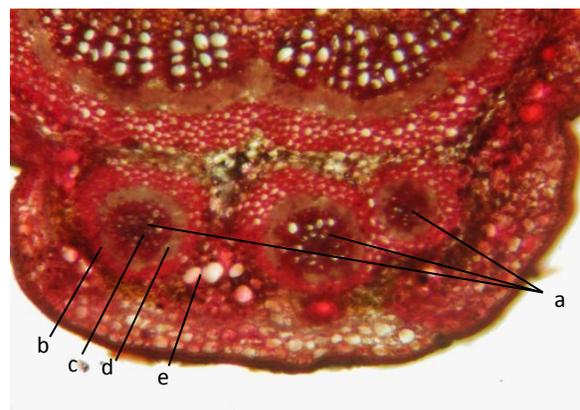


Figura No. 5 Pecíolo madrecacao. Tinción: Safranina 1%. Aumento: 100x. Descripción: a. Haces vasculares accesorios, b. Esclerénquima, c. Xilema, d. Floema, e. Parénquima.

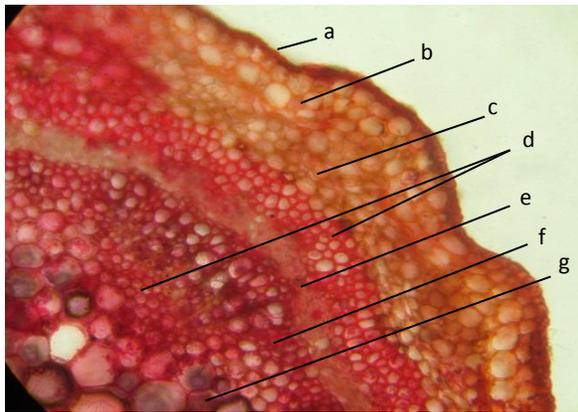


Figura No.6 Pecíolo madrecacao. Tinción: Safranina 1%. Aumento: 400x. Descripción: a. Epidermis, b. Colénquima laminar, c. Parénquima clorenquimático, d. Esclerénquima, e. Floema, f. Xilema, g. Párenquima medular.

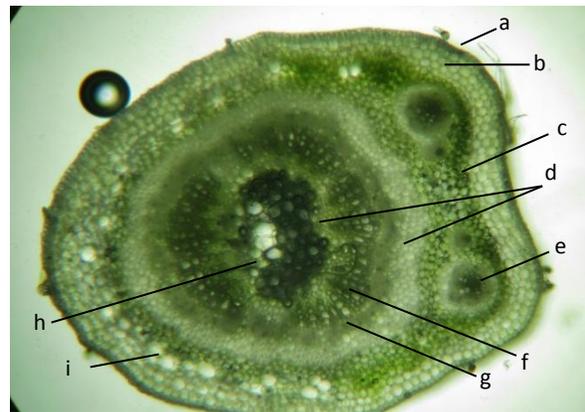


Figura No. 7 Raquis madrecacao. Preparación en fresco. Aumento: 40x. Descripción: a. Epidermis, b. Colénquima, c. Parénquima clorenquimático, d. Esclerénquima, e. Haz vascular accesorio, f. Xilema, g. Floema, h. Parénquima medular, i. Parénquima.

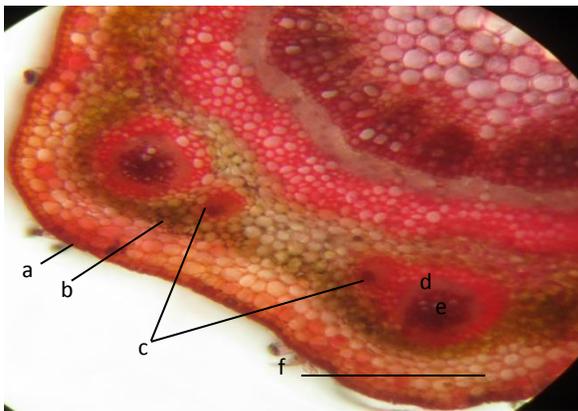


Figura No. 8 Raquis madrecacao Tinción Safranina 1%. Aumento: 400x. Descripción: a. Epidermis, b. Parénquima clorenquimático, c. Hacecillos vestigiales, d. Floema, e. Xilema, f. Colénquima.



Figura No. 9 Raquis madrecacao. Reactivo: Azul de Cresil 1%. Aumento: 100x. Descripción: a. Tricomas no glandulares unicelulares con pie curvo.

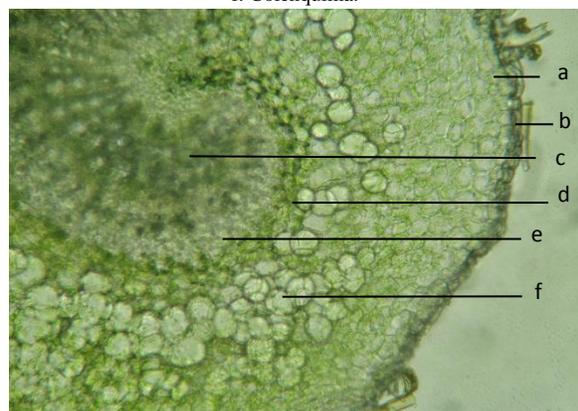


Figura No. 10 Pecíólulo madrecacao. Preparación en fresco. Aumento: 100x. Descripción: a. Colénquima, b. Epidermis, c. Xilema, d. Parénquima clorenquimático, e. Floema, f. Parénquima.



Figura No. 11 Pecíólulo madrecacao. Tinción: Safranina 1%. Aumento: 100x. Descripción: a. Epidermis, b. Colénquima, c. Parénquima, d. Esclerénquima, e. Floema, f. Xilema, g. Pie de tricoma.

7.1.3.2 Caracteres micromorfológicos de foliolo.

En el corte transversal de la lámina foliar, se observa una capa de células epidérmicas cuadrangulares con cutícula levemente gruesa y lisa (Figura No. 12). En el diafanizado se aprecian estas células epidérmicas con bordes rectos y paredes gruesas de aproximadamente 20 a 40 micras en ambas caras de la lámina (Figura No.13). Además en el diafanizado, en la cara abaxial, se observan estomas de tipo paracítico, los cuales también pudieron apreciarse en el corte de sección paradérmica y en el disociado, con un tamaño de 20 micras aproximadamente (Figura No. 14,15 y 16). De igual forma que en las otras partes analizadas los tricomas son de tipo no glandular unicelulares simples de paredes gruesas y lisas, rectos en toda su extensión y con terminación en punta, el pie es corto y angosto, siendo el tamaño aproximado de los tricomas 200 micras de largo; de todos los tricomas observados se puede distinguir algunos con caracteres particulares como pared birrefringente y otros con un pie curvo corto. Los tricomas se encuentran dispuestos en ambas caras de la hoja y a lo largo de la nervadura central siendo en el foliolo en donde se aprecia una mayor cantidad comparada con las otras partes analizadas (pecíolo, raquis y peciólulo) (Figura No. 17, 18, 19 y 20). Los tricomas presentan bases en forma de roseta de cinco a siete células (Figura No. 21).

En el corte transversal de la lámina foliar se pudo apreciar que es de tipo bifacial, diferenciándose de una a tres capas de parénquima en empalizada; seguido de éste de forma irregular el parénquima esponjoso sin estratos definidos. Además se observa de una a dos capas de células parenquimáticas de gran tamaño orientada hacia la cara abaxial (Figura No. 12).

En el corte transversal del foliolo, a nivel de la nervadura central, las células epidérmicas se estrechan observándose de forma elíptica a cuadrangular (Figura No. 22); sobre estas se pudo apreciar en el diafanizado gran cantidad de tricomas, los cuales al desprenderse dejan una cicatriz angosta de forma anular (Figura No. 23 y 24).

En el corte transversal en la nervadura central, el colénquima es de tipo angular, disponiéndose hacia la cara adaxial, formado de una a dos capas de células. Las células parenquimatosas se observan en una a dos capas dispuestas hacia la cara adaxial y formando un mayor número de capas hacia la cara abaxial (Figura No. 22); de igual forma estas células se pudieron apreciar en el disociado del foliolo estableciendo que poseen un tamaño variable de 20 a 40 micras (Figura No. 25). El esclerénquima rodea al haz vascular con una mayor cantidad de capas hacia la cara abaxial (Figura No. 22). Las células esclerenquimáticas se observan en el disociado, de forma rectangular con aproximadamente 80 micras de largo, estas rodeando a un elemento traqueal de tipo espiral (Figura No. 26); asimismo se observa una esclereida de aproximadamente 200 micras de grosor, dispuesta entre nervadura secundaria (Figura No. 27). Además en la nervadura central el haz vascular es de tipo arco abierto, en el cual el floema se orienta hacia la cara adaxial, seguido a este se observa el xilema formando filas de células de tamaño variable (Figura No. 22)

También en el diafanizado se evidencia gran cantidad de cristales de tipo estiloides achatados y ligeramente aplanados, los cuales se observan distribuidos principalmente paralelos a las venas secundarias, con tamaños variables entre 40 y 60 micras (Figura No. 28, 29 y 30). En el disociado también se observaron abundantes cristales estiloides y cristales prismáticos solitarios y en parejas.

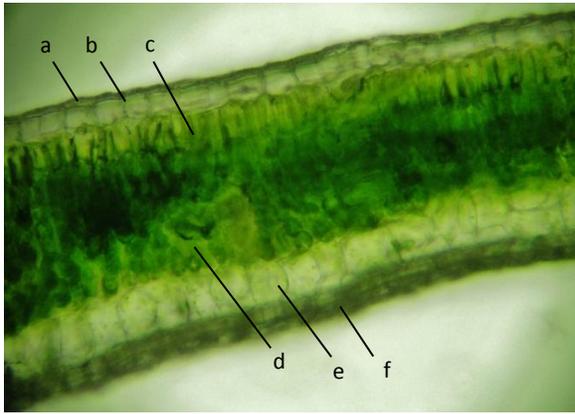


Figura No. 12 Foliolo madrecaao. Preparación en fresco. Aumento: 100x. Descripción: a. Cutícula, b. Epidermis adaxial, c. Parénquima en empalizada, d. Parénquima esponjoso, e. Parénquima, f. Epidermis abaxial.



Figura No.13 Diafanizado madrecaao. Tinción: Safranina. Aumento 400x Descripción: Epidermis adaxial.

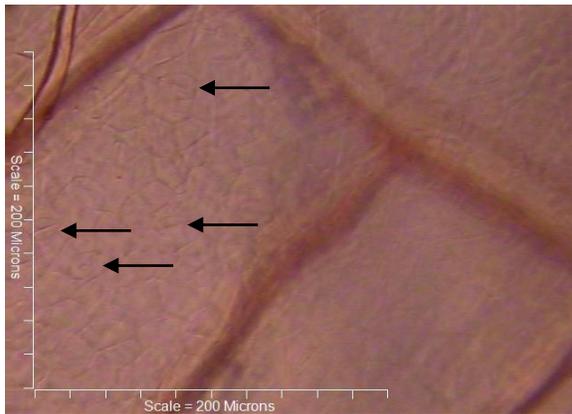


Figura No. 14 Diafanizado madrecaao. Tinción: Safranina. Aumento 400x. Descripción: Estomas paracíticos.

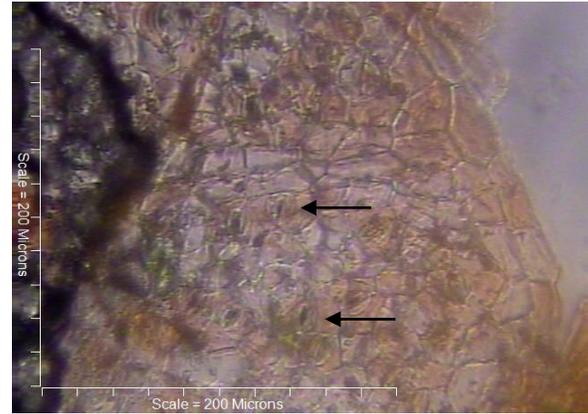


Figura No 15. Corte de sección paradérmica abaxial madrecaao. Aumento 400x. Descripción: Estomas paracíticos.

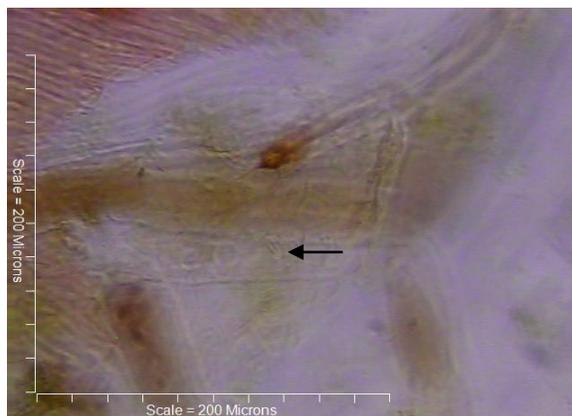


Figura No. 16 Disociado de foliolo madrecaao. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Estomas.

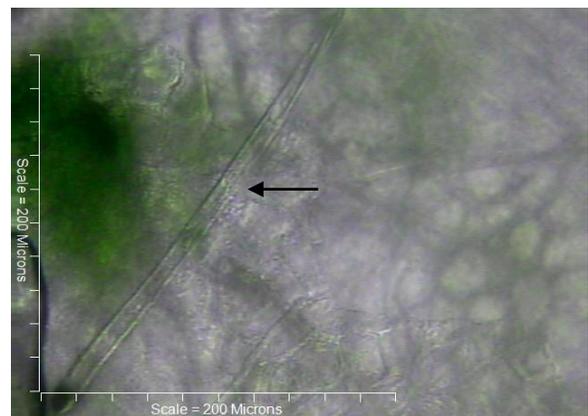


Figura No.17 Diafanizado madrecaao. Tinción: Safranina. Aumento 400x. Descripción: Tricoma liso de pared birrefringente.



Figura No. 18 Diafanizado madrecaaco. Tinción: Safranina. Aumento 400x. Descripción: Tricoma no glandular unicelular simple.

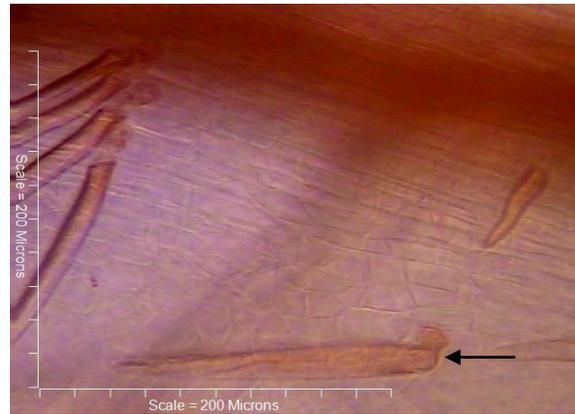


Figura No 19. Diafanizado madrecaaco. Tinción: Safranina. Aumento: 400x Descripción: Tricomas a nivel de la nervadura central y tricoma con pie curvo.



Figura No.20 Disociado de foliolo madrecaaco. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Tricoma acostado.



Figura No. 21 Disociado de foliolo madrecaaco. Tinción: Safranina. Aumento: 200x. Descripción: Base de tricoma en roseta.

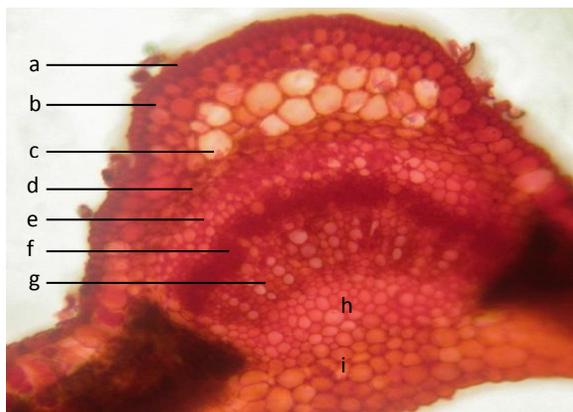


Figura No. 22 Foliolo madrecaaco. Tinción: Safranina 1%. Aumento: 100x. Descripción: a. Epidermis, b. Colénquima angular, c. Parénquima, d. Parénquima clorenquimático, e. Esclerénquima, f. Floema, g. Xilema, h. Esclerénquima, i. Parénquima.

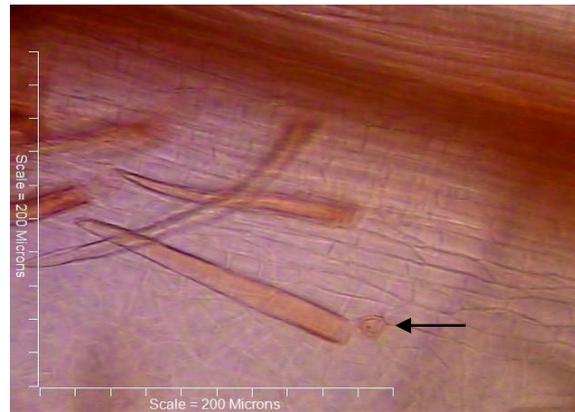


Figura No. 23 Diafanizado madrecaaco. Tinción: Safranina. Aumento 400x. Descripción: Tricoma simple unicelular y cicatriz.



Figura No. 24 Disociado de foliolo madrecaao. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Cicatrices por desprendimiento de tricoma en epidermis de nervadura.

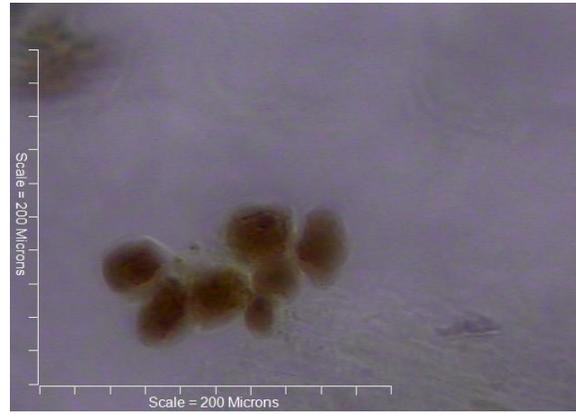


Figura No. 25 Disociado de foliolo madrecaao. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Células parenquimáticas.

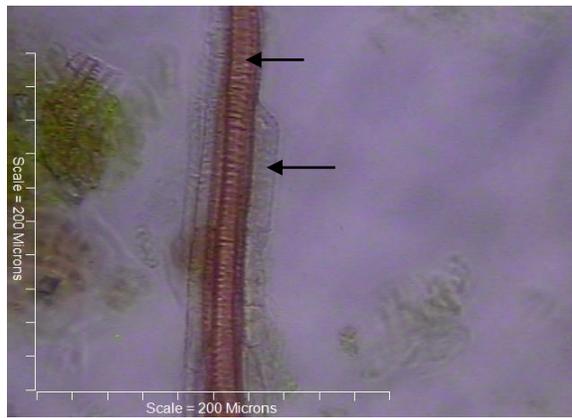


Figura No. 26 Disociado de foliolo madrecaao. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Elemento traqueal en espiral rodeado de células esclerenquimáticas.

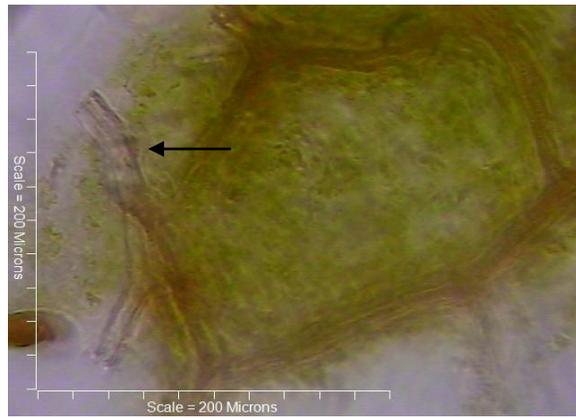


Figura No. 27 Disociado de foliolo madrecaao. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Esclereida.



Figura No.28 Diafanizado madrecaao. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Cristales estiloides.



Figura No.29 Diafanizado madrecaao. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Cristales estiloides y venación con terminación abierta.

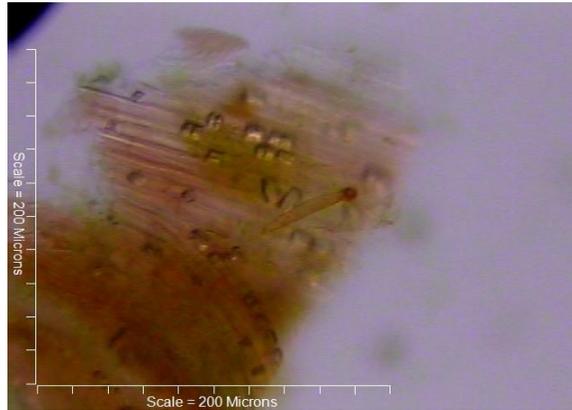


Figura No. 30 Disociado de foliolo madrecaao.
Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Cristales.

7.1.4 Tamizaje Histoquímico.

7.1.4.1 Alcaloides: Se encontraron positivos en el xilema del raquis (Figura No. 31) y peciólulo (Figura No. 32) y en el floema de la nervadura central del foliolo (Figura No. 33).

7.1.4.2 Saponinas: Se observó una reacción positiva en raquis, peciólulo y foliolo (Figura No. 34, 35 y 36).

7.1.4.3 Taninos: La reacción fue positiva en el parénquima del peciólulo (Figura No. 38) y en el parénquima esponjoso del foliolo (Figura No. 39). La reacción fue negativa en el raquis (Figura No. 37).

7.1.4.4 Almidón: No se encontraron en raquis, peciólulo y foliolo (Figura No.40).

7.1.4.5 Grasas y aceites: Se encontraron positivos en la cutícula de la epidermis del raquis, peciólulo y foliolo (Figura No. 41, 42 y 43) y también en el parénquima del foliolo y xilema del peciólulo (figura No. 43).

7.1.4.6 Mucílagos: Positivos en el parénquima del peciólulo, nervadura central de foliolo (Figura No. 45 y 46) y en el parénquima medular del raquis (Figura No. 44).

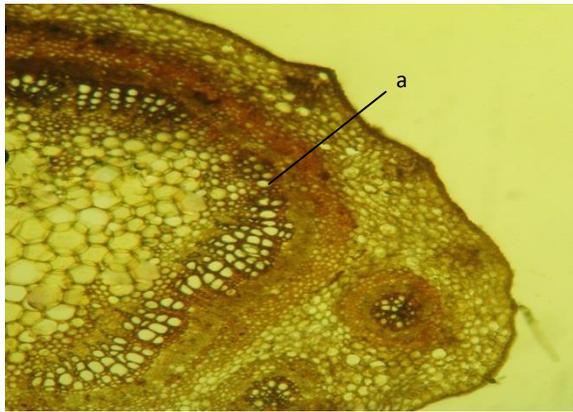


Figura No. 31 Raquis madrecaao Reactivo: Dragendorff. Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para alcaloides en a. Xilema.

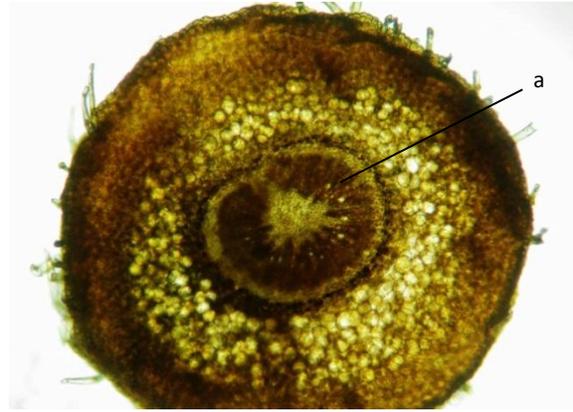


Figura No. 32 Peciólulo madrecaao Reactivo: Dragendorff. Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para alcaloides en a. Xilema.



Figura No. 33 Foliolo madrecaao Reactivo: Dragendorff. Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para alcaloides en a. Floema.

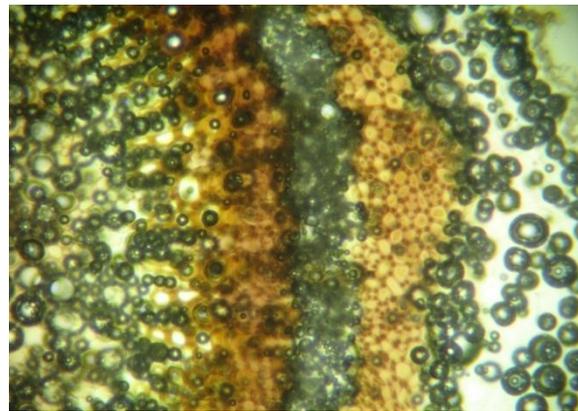


Figura No. 34 Raquis madrecaao Reactivo: Ácido sulfúrico. Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para saponinas.



Figura No. 35 Peciólulo madrecaao Reactivos: Ácido Sulfúrico. Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para saponinas.



Figura No. 36 Foliolo madrecaao Reactivos: Ácido sulfúrico. Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para saponinas.



Figura No. 37 Raquis madrecaao Reactivos: Sulfato férrico. Aumento: 100x. Descripción: Reacción negativa para taninos.

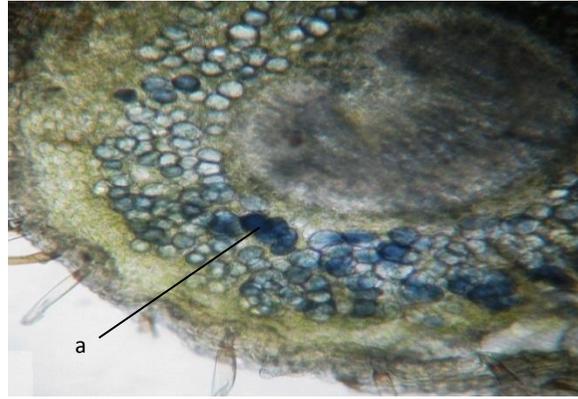


Figura No. 38 Peciólulo madrecaao Reactivos: Sulfato férrico. Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para taninos en: a. Parénquima.



Figura No. 39 Foliolo madrecaao Reactivos: Sulfato férrico. Aumento: 400x. Descripción: Reacción positiva para taninos en parénquima esponjoso.



Figura No. 40 Raquis madrecaao Reactivos: Lugol. Aumento: 400x. Descripción: Reacción negativa para almidón.



Figura No. 41 Raquis madrecaao Reactivos: Sudan VI. Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para grasas y aceites en a. Cutícula de epidermis.

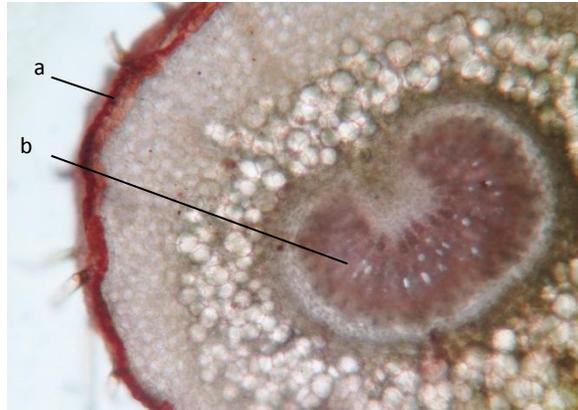


Figura No. 42 Peciólulo madrecaao Reactivos: Sudan VI. Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para grasas y aceites en a. Cutícula de epidermis, b. xilema.

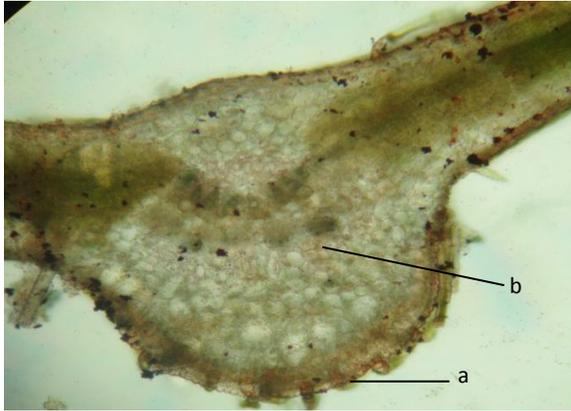


Figura No. 43 Foliolo madrecaao Reactivos: Sudan VI. Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para grasas y aceites en a. Cutícula de epidermis, b. Parénquima.

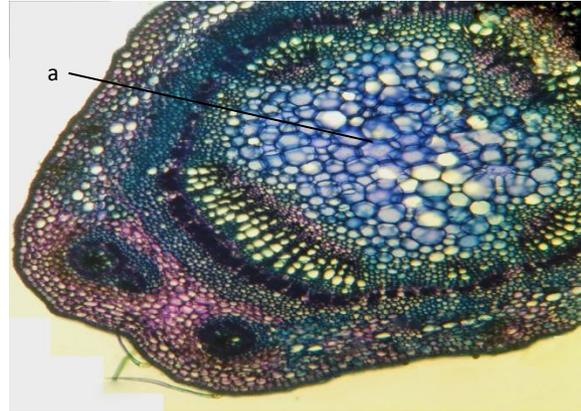


Figura No. 44 Raquis madrecaao Reactivos: Azul de cresil 1%. Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para mucílagos en a. Parénquima medular.

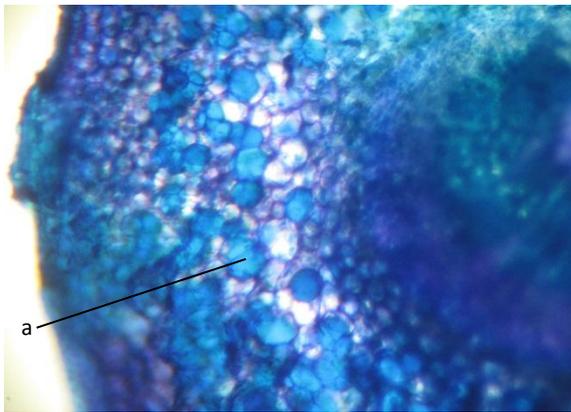


Figura No. 45 Peciolulo madrecaao Reactivos: Azul de cresil 1%. Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para mucílagos en a. Parénquima.

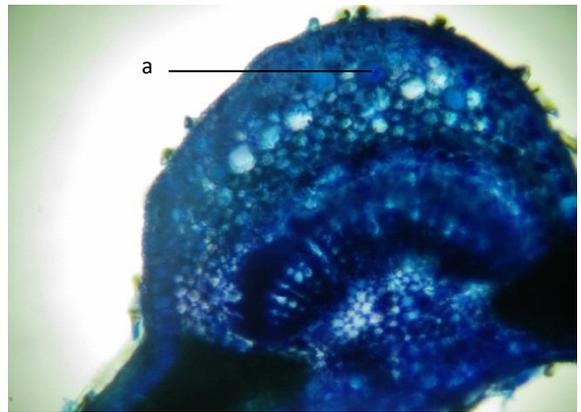
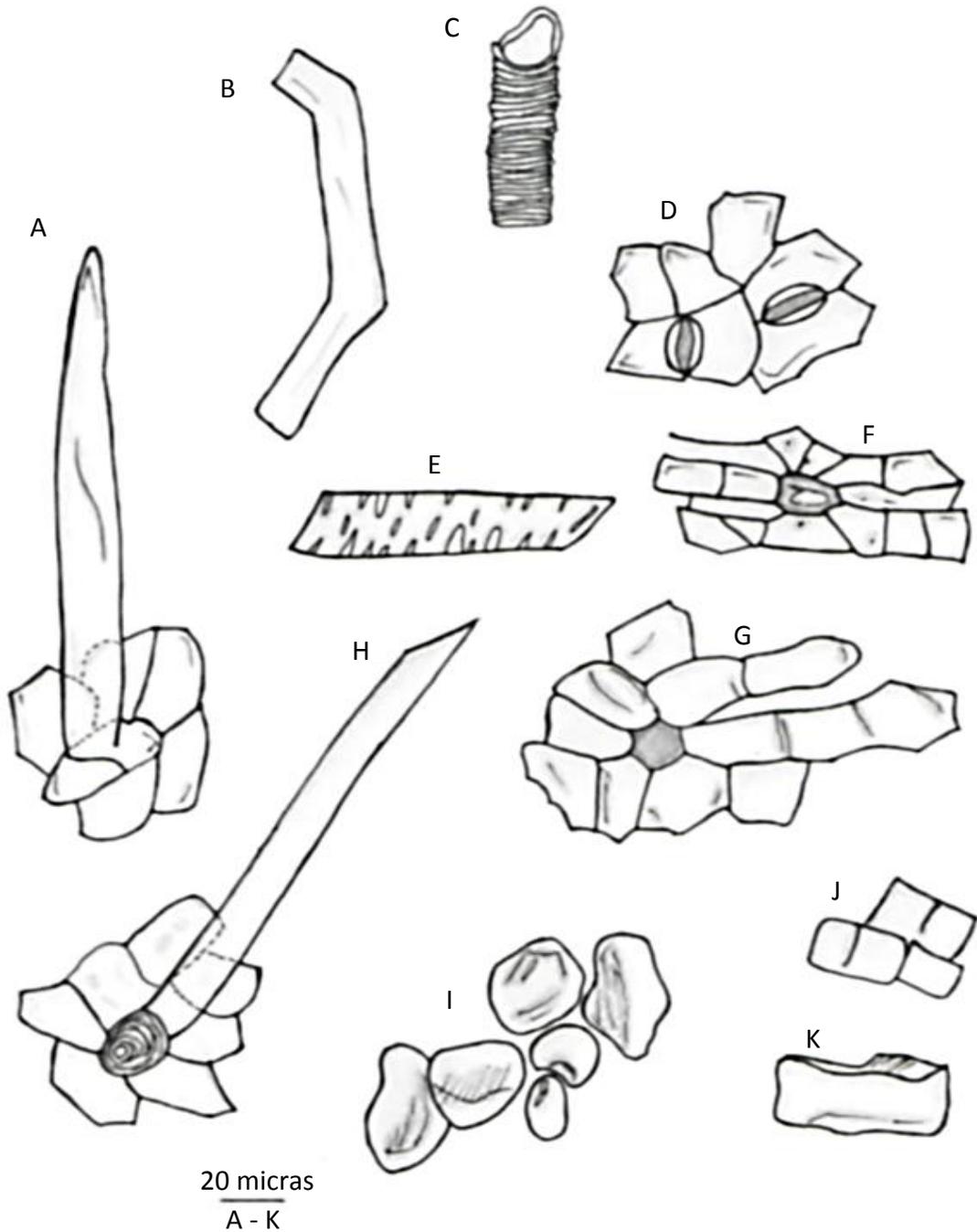


Figura No.46 Foliolo madrecaao Reactivos: Azul de cresil 1%. Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para mucílagos en a. Parénquima.

Figura No. 47 Cartilla micrográfica.



A - K. A: Tricoma con pie acostado, B: Esclereida, C: Elemento traqueal, D: Estomas paracíticos, E: Células esclerenquimáticas, F: Cicatriz por desprendimiento de tricoma en epidermis de nervadura, G: Base de tricoma en roseta, H: Tricoma no glandular unicelular simple, I: Células parenquimáticas, J: Cristales prismáticos, K: Cristales estiloides.

7.2 *Fernaldia pandurata* (Loroco).

7.2.1 Descripción diagnóstica de planta fresca.

Es una planta trepadora de mediano tamaño, densamente aterciopelada en todas sus partes, el tallo es una enredadera delgada débil con base leñosa, que al ser partido libera un líquido lechoso de color blanco, sus hojas aterciopeladas son oblongas con ápice cuspidado, base redondeada y margen ondulado, su venación es pinnada semicraspedódroma, una vena media da origen a venas secundarias laterales, las cuales se ramifican cerca del margen, una ramificación termina en el margen y la otra se arquea uniéndose a la vena secundaria continua (Figura No. 48). Se preparó un ejemplar de herbario el cual fue identificado e ingresado al Herbario BIGU de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala con el número de inventario 64284 (Anexo 4).

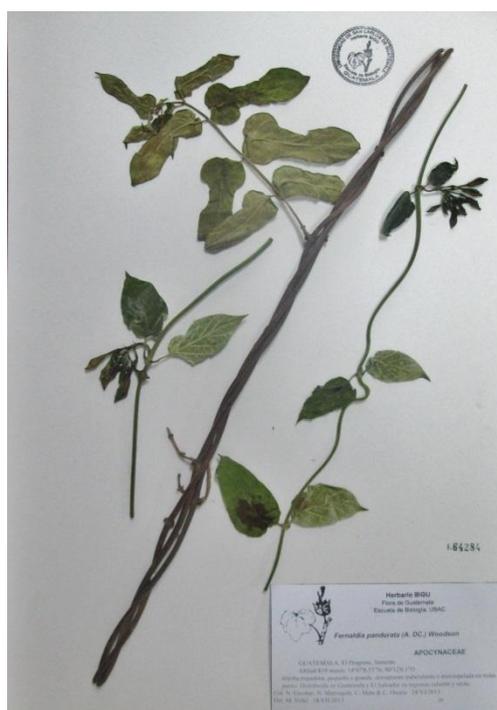


Figura No. 48 Ejemplar de herbario *Fernaldia pandurata*

La inflorescencia del loroco consta de aproximadamente de 8 a 18 flores que se distribuyen en forma de racimo (Figura No.49), el racimo mide aproximadamente 70mm de largo y las flores más grandes aproximadamente 50mm de largo (Figura No. 50 y 61).



Figura No.49 Inflorescencia



Figura No.50 Medidas



Figura No. 51 Flor

La flor de loroco según la posición del cáliz y la corola, logra distinguir la estivación del perianto de tipo convoluta ya que las piezas del perianto se enrollan parcialmente; por su simetría radial es de tipo actinomorfa y pentámera. Tanto el cáliz como la corola constan de 5 pétalos y 5 sépalos soldados entre sí (Figura No. 52, 53 y 54). Los pétalos y sépalos al estar unidos se les llaman gamopétalos o simpétalos y gamosépalo o sinsépalo, respectivamente (Figuras No. 52).



Figura No. 52 pétalos de flor



Figura No. 53 Sépalos Aumento: 40x



Figura No. 54 Sépalos Aumento: 40x

El androceo está constituido por los estambres y anteras que se distribuyen también de tipo pentámero (Figura No. 55 y 56). La antera según su unión con el estambre es de tipo basifija ya que este se une directamente de la base de la antera (figura No.57 y 58).



Figura No.55 Estambres individuales para cada antera. Aumento: 40x

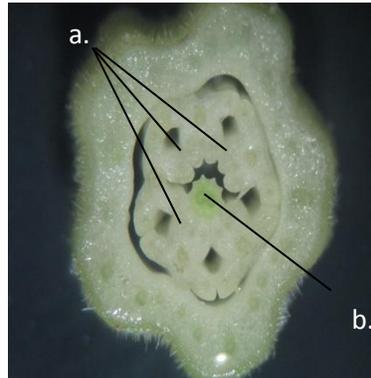


Figura No.56 Corte transversal de flor de loroco. Aumento: 40x
Descripción: a. Antera y b. Estigma.



Figura No.57 Anteras unidas
Aumento: 40x



Fuente: Datos experimentales

Figura No.58 Anteras con gránulos de polen. Aumento: 40x

El gineceo de la flor del loroco es bicarpelar con sus carpelos separados o apocárpicos y con forma apical; cada carpelo consta de un ovario, estilo y estigma (Figura No. 59 y 60). Los ovarios según su posición en el receptáculo son súperos en relación con el cáliz que es ínfero (Figura No. 59), tienen forma ovalada de aproximadamente 2.2mm. Los estilos recorren gran parte de la base de la flor hasta llegar al nivel de las anteras donde se disponen los estigmas (Figura No. 59 y 61).

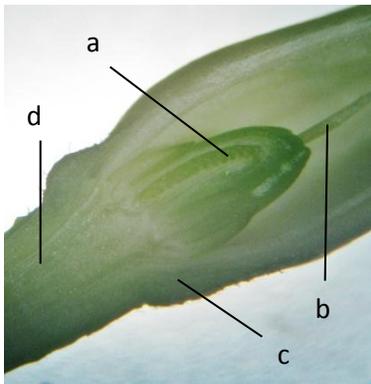


Figura No. 59 Gineceo Aumento:40x
 Descripción: parte de un carpelo
 a. Ovario, b. Estilo, c. Cáliz, d.
 Receptáculo

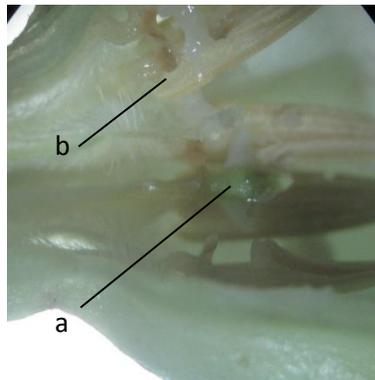


Figura No. 60 Carpelos Aumento: 40x
 Descripción: a. Estigma, b. Anteras.

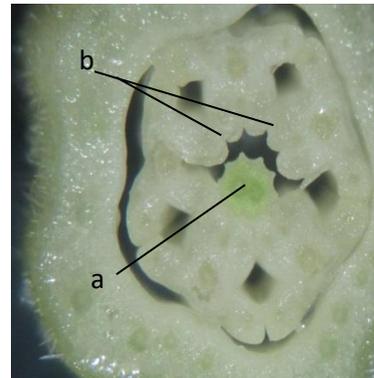


Figura No. 61 Corte transversal
 Aumento: 40x
 Descripción: a. Estigmas, b. Anteras.

7.2.2 Descripción diagnóstica de droga seca.

La droga seca está conformada por la flor, es de color café en diferentes tonalidades, su consistencia es dura con forma alargada, con un extremo prominente y el otro delgado. Su olor es agradable, penétrate ligeramente dulce y sabor levemente amargo. Como parte del procedimiento se depositó un ejemplar de planta seca en la colección del departamento de Citohistología, de la Escuela de Química Biológica, de la facultad de ciencias Químicas y Farmacia (Figura No. 62 y 63).



Figura No. 62 Ejemplar de droga
 seca



Figura No. 63 Droga seca

7.2.3 Caracteres micromorfológicos e histológicos para identificación.

7.2.3.1 Caracteres micromorfológicos de tallo.

En corte transversal se observa en el tejido epidérmico dos estratos celulares lo que le da un mayor grosor, en la capa más externa la cutícula es muy evidente (Figura No. 65). Del tejido fundamental en corte transversal primero se observa el parénquima clorenquimático, que está compuesto por dos capas de células por debajo de la epidermis, luego se encuentran seis capas de células de colénquima de tipo laminar, el esclerénquima está dispuesto en grupos de células de pared gruesa localizadas entre el colénquima y el floema, además también se evidencia esclerénquima localizado de manera dispersa dentro del parénquima medular. Por último se encuentran las células del parénquima medular que poseen diferentes tamaños, pero una morfología similar localizadas en el interior del haz vascular (Figura No. 64y 66).

El haz vascular compuesto por el xilema y el floema es un anillo continuo de tipo concéntrico anficribal, ya que el floema se encuentra externo al xilema (Figura No. 64 y 66).

En el tallo del loroco fue posible evidenciar cristales prismáticos de oxalato de calcio (Figura No. 67).

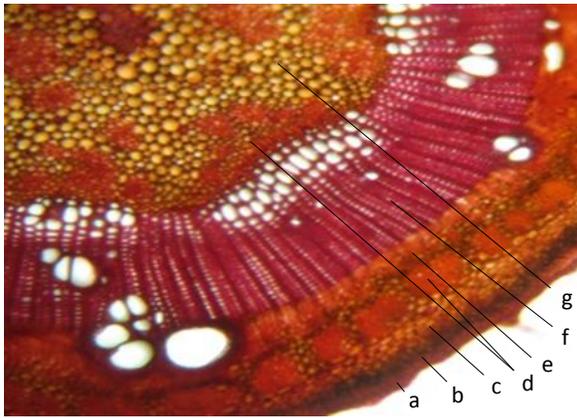


Figura No.64 Tallo loroco. Tinción: Safranina.
Aumento: 100x. Descripción: a. Epidermis, b. Parénquima cloroenquimático, c. Colénquima, d. Esclerénquima, e. Floema, f. Xilema, g. Médula.

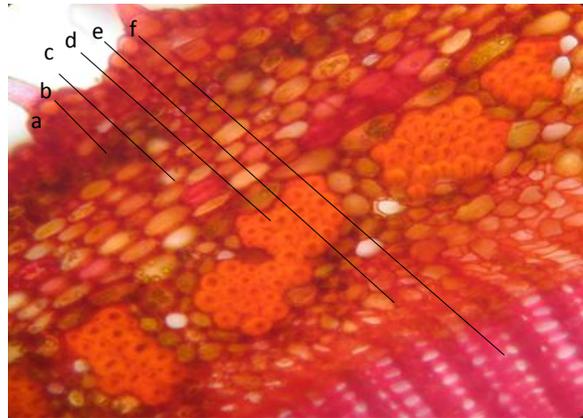


Figura No. 65 Tallo loroco. Tinción: Safranina.
Aumento: 400x. Descripción: a. Epidermis, b. Parénquima cloroenquimático, c. Colénquima, d. Esclerénquima, e. Floema, f. Xilema.

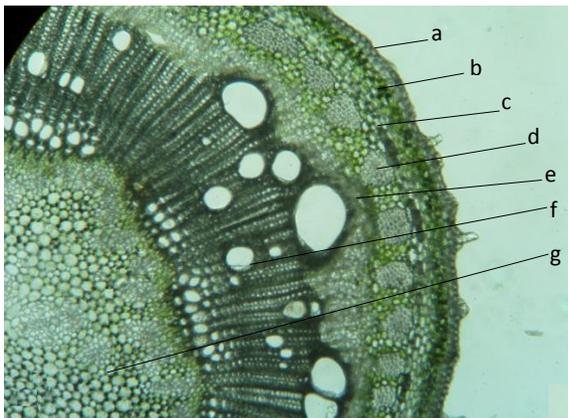


Figura No. 66 Tallo loroco. Preparación en fresco.
Aumento: 100x. Descripción: a. Epidermis, b. Parénquima cloroenquimático, c. Colénquima, d. Esclerénquima, e. Floema, f. Xilema, g. Médula.

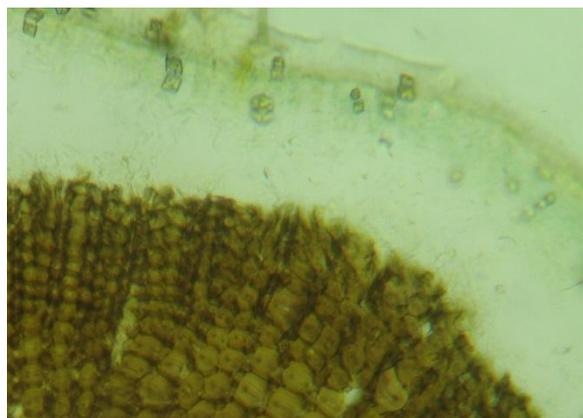


Figura No.67 Tallo loroco. Reactivo: Ácido sulfúrico.
Aumento: 200x. Descripción: Cristales prismáticos de oxalato de calcio en tallo de loroco.

7.2.3.2 Caracteres micromorfológicos de pecíolo.

Mediante corte transversal fue posible evidenciar que el pecíolo tiene cara adaxial cóncava lo que le da una forma bilobada epidermis monoestratificada de células con forma redondeada y cutícula evidente, formando un margen entero de donde surgen tricomas en abundante cantidad de tipo multicelular acicular (Figura No. 69).

Del tejido fundamental en el corte transversal se observan tres capas de células de colénquima de tipo angular justo debajo de la epidermis, luego se encuentra el

parénquima que compone el resto de la estructura interrumpido únicamente por el haz vascular, el cual es un arco abierto con disposición del floema biclateral con dos haces accesorios (Figura No. 68).

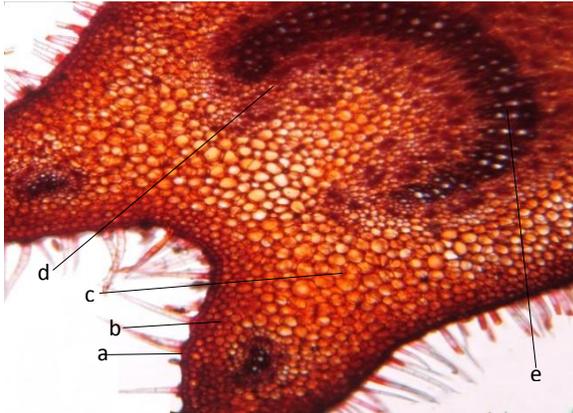


Figura No.68 Pecíolo loroco. Tinción: Safranina.
Aumento: 100x. Descripción: a. Epidermis, b. Colénquima,
c. Parénquima, d. Floema, e. Xilema.

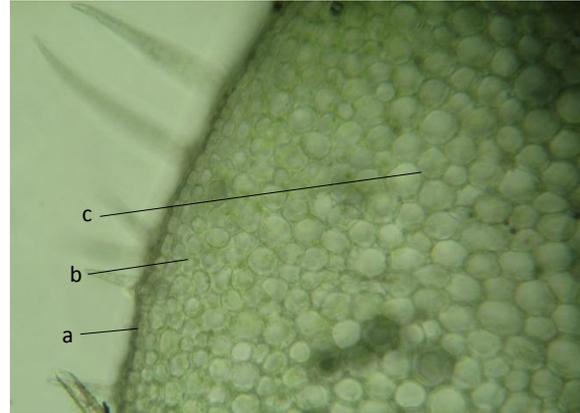


Figura No. 69 Pecíolo loroco. Preparación en fresco.
Aumento: 400x. Descripción: a. Epidermis, b. Colénquima,
c. Parénquima.

7.2.3.3 Caracteres micromorfológicos de hoja.

En corte transversal de la lámina foliar y nervio medio del loroco es posible observar en la cara adaxial una capa bien diferenciada de epidermis de células redondeadas con una cutícula muy evidente y en la cara abaxial la epidermis no es tan diferenciada y de ella emergen numerosos tricomas (Figura No. 70 y 72). Los tricomas presentes son de diversos tipos entre ellos están los tricomas de forma acicular multicelulares de entre tres a ocho células (Figura No. 70), así como de tipo subulado verrucoso multicelular de pared gruesa (Figura No. 71) y tricomas papilares (Figura No. 98).

En el diafanizado de la hoja de loroco se observa que las células de la epidermis adaxial de la lámina foliar miden entre 40 y 60 micras con bordes delgados sinuosos (Figura No. 74). En la cara abaxial se observan estomas de tipo paracítico, rodeados por células guardianas con tamaño y morfología similar a las observadas en la superficie adaxial. Además dentro de los estomas es posible observar numerosos cloroplastos (Figura No. 78 y 80).

En ambas caras de la epidermis se observan tricomas de aproximadamente 200 micras de tamaño y se presentan en diversos tipos, siendo estos tricomas multicelulares de extremo romo (Figura No. 74), tricomas cónicos multicelulares de pared gruesa (Figura No. 75) y tricomas cónicos unicelulares verrucosos (Figura No. 76).

En corte transversal de la hoja, se observa una lámina foliar dorsiventral, con una capa de parénquima en empalizada hacia la superficie adaxial y parénquima esponjoso hacia la superficie abaxial (Figura No. 72); a nivel del nervio medio de la hoja se observan de 2 a 3 capas de células de colénquima, el cual es seguido por el parénquima donde está inserto el haz vascular (Figura No. 71), además localizados en el parénquima se aprecian cristales prismáticos de oxalato de calcio (Figura No. 73). Se observa el haz vascular en forma de arco con disposición bicoloral, el floema, situado más próximo a la cara abaxial. (Figura No. 70).

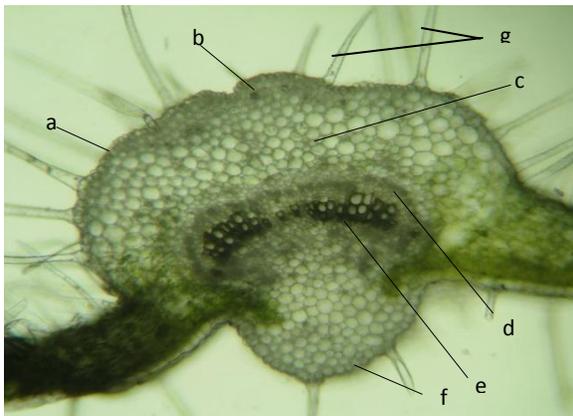


Figura No. 70 Hoja loroco. Preparación en fresco. Aumento: 100x. Descripción: a. Epidermis abaxial, b. Colénquima, c. Parénquima d. Floema, e. Xilema, f. Epidermis adaxial, g. Tricoma acicular multicelular

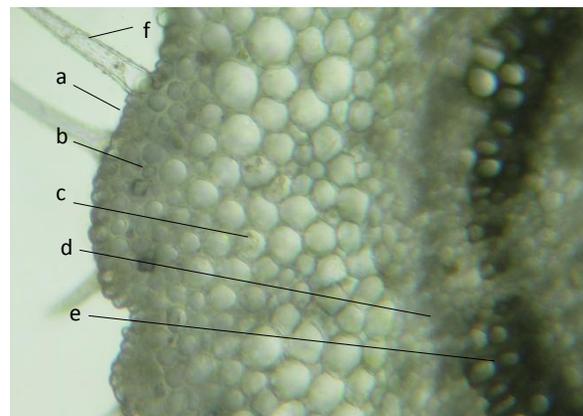


Figura No. 71 Hoja loroco. Preparación en fresco. Aumento: 400x. Descripción: a. Epidermis, b. Colénquima, c. Parénquima, d. Floema, e. Xilema, f. Tricoma verrucoso subulado

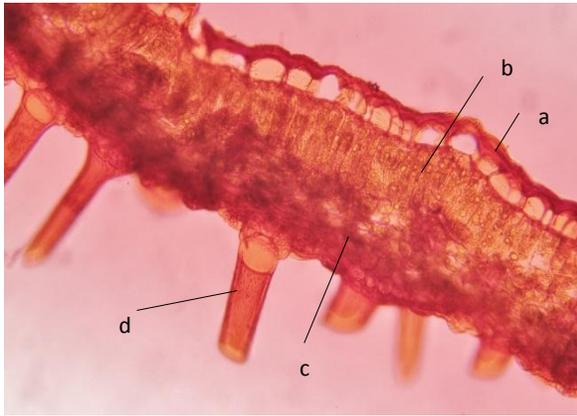


Figura No. 72 Hoja loroco. Tinción: Safranina Aumento: 200x. Descripción: a. Epidermis adaxial b. Parénquima en empalizada, c. Parénquima esponjoso, d. Tricoma.

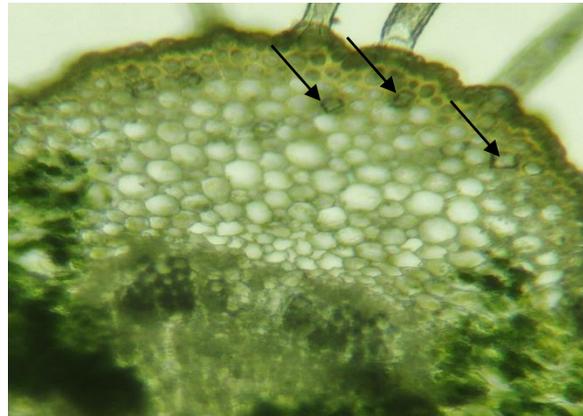


Figura No.73 Hoja loroco. Reactivo: Sulfato férrico. Aumento: 100x. Descripción: Cristales de oxalato de calcio en el parénquima de la nervadura central de hoja.

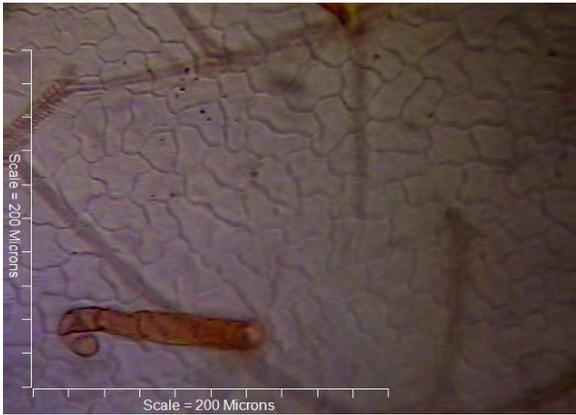


Figura No. 74 Diafanizado loroco. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Tricoma pluricelular de extremo romo en epidermis adaxial.

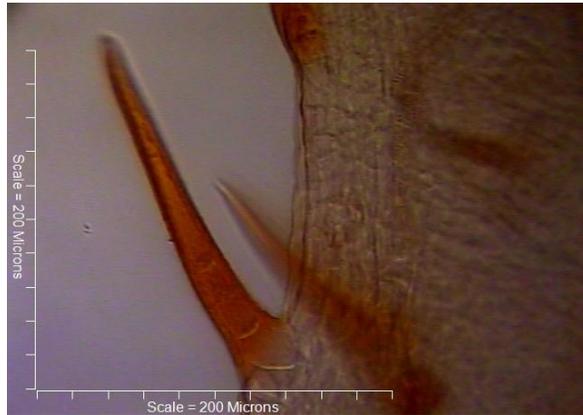


Figura No. 75 Diafanizado loroco. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Tricoma pluricelular de pared gruesa y base en el borde de la hoja.

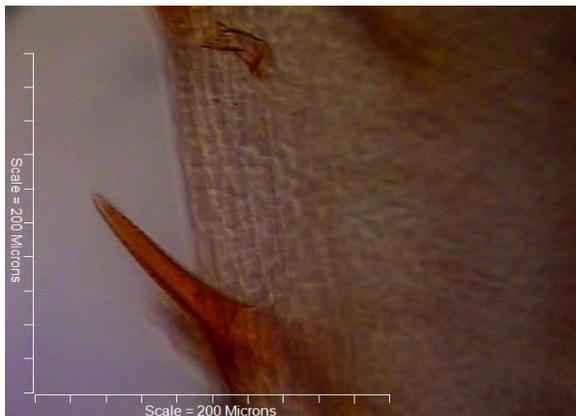


Figura No. 76 Diafanizado loroco. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Tricoma unicelular cónico verrucoso y base.



Figura No. 77 Diafanizado loroco. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Tricoma unicelular cónico y base en epidermis adaxial.



Figura No. 78 Diafanizado loroco. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Estomas de tipo paracítico con cloroplastos en epidermis abaxial.



Figura No. 79 Diafanizado loroco. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Estomas de tipo paracítico con cloroplastos en epidermis abaxial y base de tricoma.

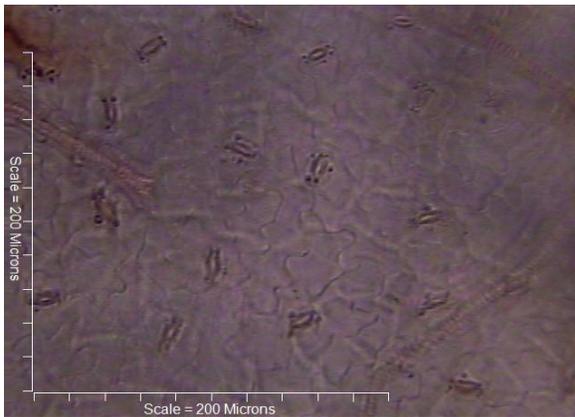


Figura No. 80 Diafanizado loroco. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Estomas de tipo paracítico con cloroplastos en epidermis abaxial. Traqueidas de terminación libre

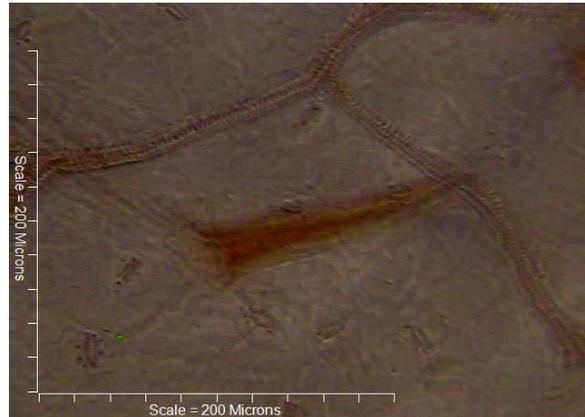


Figura No. 81 Diafanizado loroco. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Estomas de tipo paracítico con cloroplastos y tricoma cónico en epidermis abaxial.

7.2.3.4 Caracteres micromorfológicos de la flor.

Mediante un corte transversal del pétalo de la flor de loroco se observa la epidermis que está conformada por una capa de células redondeadas con una cutícula evidente tanto en la cara adaxial como en la cara abaxial (Figura No. 82). En el caso del disociado de la flor se observa epidermis del pétalo, conformada por células de forma circular con un tamaño de aproximadamente 20 micras, adheridos a estas células se observan tricomas papilares transparentes refringentes con un tamaño de 60 micras (Figura No. 88 y 89).

En cuanto al tejido fundamental de los pétalos del loroco mediante corte transversal se observan tres a cuatro capas de células de colénquima de tipo laminar tanto del lado adaxial como del lado abaxial y en el centro del pétalo el parénquima es de tipo aerénquima (Figura No. 82). En cuanto al tejido fundamental evidenciado luego del disociado de la flor están las células parenquimáticas con un tamaño aproximado de 40 micras y de forma oval y bordes gruesos (Figura No.86).

En el corte transversal de los pétalos se observan los haces vasculares que se encuentran solitarios entre el parénquima y la disposición del floema es de tipo bicolateral (Figura No. 82). En el disociado se observan restos de este tejido vascular en donde se evidencia floema helicoidal (Figura No. 90, 91) y xilema de tipo anular, midiendo cada disco aproximadamente 40 micras de diámetro (Figura No. 92 y 93).

En un corte transversal de antera es posible observar su interior donde se evidencian los sacos polínicos (Figura No. 83), en estos es donde maduran los gránulos de polen que miden aproximadamente entre 60-80 micras, tienen forma circular y cuentan con aproximadamente entre cuatro y cinco aperturas de tipo poro (Figura No. 84), además de observar los granos de polen en fresco también es posible observarlos en el disociado de la flor (Figura No. 85), dicho gránulo guarda su tamaño original y aunque varía levemente en su forma aún es posible observar los poros. Por medio del disociado de la flor fue posible evidenciar tejido de las anteras, conformado por células con forma rectangular de aproximadamente 120 micras de largo por 20 micras de ancho (Figura No.87).

Por último también se llevó a cabo un corte longitudinal de un ovario de la flor que mide aproximadamente 200 micras, y dentro de él se observa un lóculo con aproximadamente ocho a nueve óvulos que miden de 20 a 40 micras cada uno (Figura No. 94 y 95).

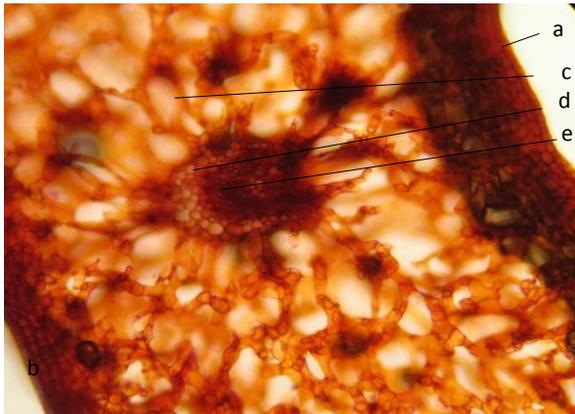


Figura No. 82 Flor loroco. Tinción: Safranina Aumento: 200x.
 Descripción: a. Epidermis adaxial, b. Epidermis abaxial, c. Parénquima lagunar, d. Xilema, f. Floema.



Figura No. 83 Corte transversal de antera. Tinción: safranina 1%. Aumento: 200x. Descripción Gránulos de polen dentro de sacos polínicos.

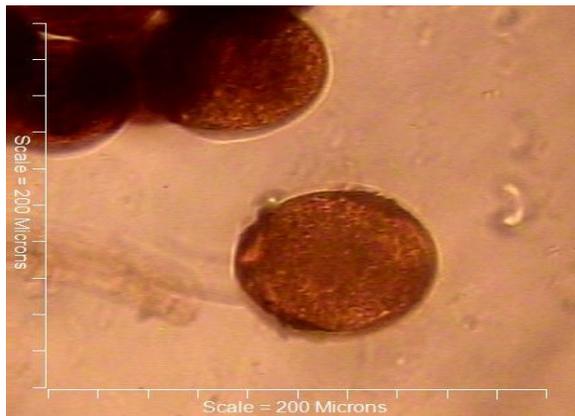


Figura No.84 Gránulos de polen Tinción: Safranina 1%. Aumento: 400x.

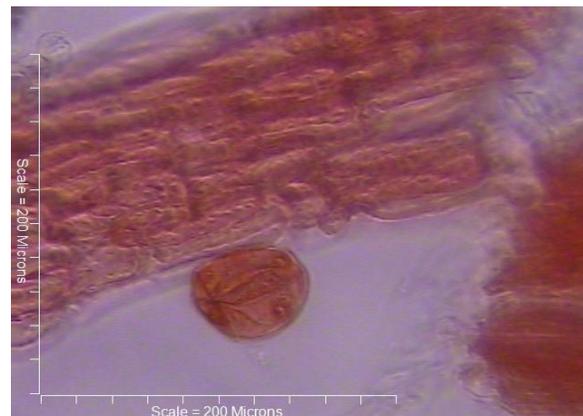


Figura No. 85 Disociado flor loroco. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: polen



Figura No. 86 Disociado flor loroco. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Células parenquimáticas



Figura No. 87 Disociado flor loroco. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Células de las anteras.



Figura No. 88 Disociado flor loroco. Tinción: Safranina.
Aumento: 400x. Descripción: Tricoma papilar.



Figura No. 89 Disociado flor loroco. Tinción: Safranina.
Aumento: 200x. Descripción: Tricomas papilares.

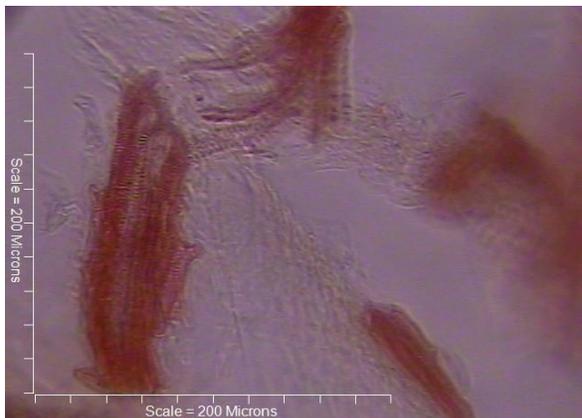


Figura No. 90 Disociado flor loroco. Tinción: Safranina.
Aumento: 400x. Descripción: Fragmentos de tejido vascular.



Figura No. 91 Disociado flor loroco. Tinción: Safranina.
Aumento: 200x. Descripción: Tejido vascular (xilema anular y floema).



Figura No. 92 Disociado flor loroco. Tinción: Safranina.
Aumento: 400x. Descripción: Xilema anular y floema.



Figura No. 93 Disociado flor loroco. Tinción: Safranina.
Aumento: 400x. Descripción: Xilema anular.

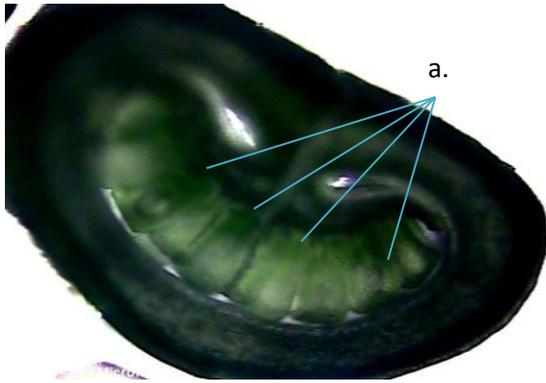


Figura No. 94 Corte transversal ovario con sus 8-9 óvulos.
Aumento: 400x



Figura No. 95 Corte transversal de ovarios Aumento: 400x

7.2.4 Tamizaje Histoquímico.

7.2.4.1 Alcaloides: Se observó una reacción positiva en la epidermis, parénquima y parénquima medular en el tallo (Figura No. 96), en el caso del pecíolo fueron positivos en la epidermis y el floema (Figura. No. 97); para la hoja del loroco se manifestó una reacción positiva en la epidermis, xilema y floema de la nervadura central (Figura No. 98), mientras que en la hoja los alcaloides están presentes tanto en el parénquima esponjoso como en el parénquima en empalizada (Figura No. 99); también se encontró una reacción positiva en la epidermis adaxial en el caso de la flor (Figura No. 100).

7.2.4.2 Saponinas: Se observó una reacción positiva en el pecíolo, hoja y nervadura central de la hoja, así como también en los tricomas (Figura No. 102, 103 y 104); mientras que en el caso del tallo y de la flor se observó una reacción negativa (Figura No. 101 y 105).

7.2.4.3 Taninos: No se observó presencia de taninos en el tallo, pecíolo, hoja ni flor (Figura No. 106 y 107).

7.2.4.4 Almidón: Se observó almidón en el parénquima medular del tallo del loroco (Figura No. 108), así como también en el parénquima esponjoso y parénquima en empalizada de

la hoja (Figura No. 110); mientras que ni en el pecíolo ni la flor se evidenció una reacción positiva (Figura No. 109 y 111).

7.2.4.5 Grasas y aceites: Se observó unan reacción positiva en la epidermis de la nervadura central de la hoja (Figura No. 114), mientras que para el tallo, el pecíolo y la flor únicamente se observó la reacción en la cutícula de la epidermis (Figura No. 112, 113 y 115).

7.2.4.6 Mucílagos: No se evidenciaron mucílagos en el tallo (Figura No. 116), mientras que en pecíolo, hoja y flor los mucílagos fueron observados únicamente en los tricomas (Figura No. 117, 118 y 119).



Figura No. 96 Tallo loroco. Reactivo: Dragendorff. Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para alcaloides en a: Parénquima, b: Epidermis, c: Parénquima medular.

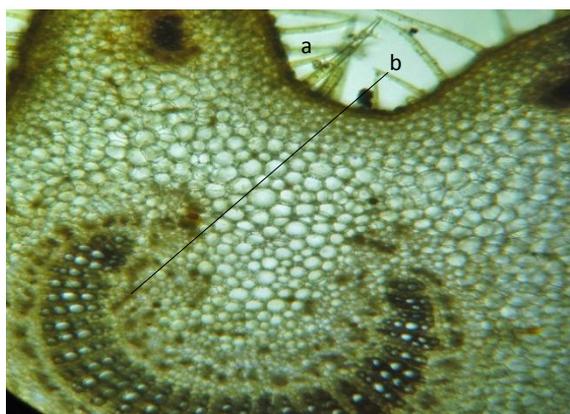


Figura No.97 Pecíolo loroco. Reactivo: Dragendorff. Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para alcaloides en a. Epidermis, b. Floema.

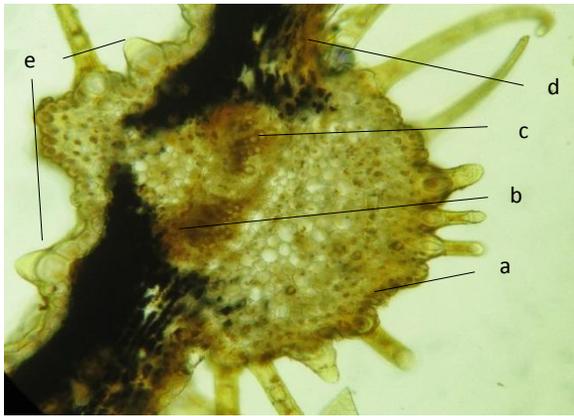


Figura No. 98 Hoja loroco. Reactivo: Dragendorff. Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para alcaloides en a. Epidermis, b. Floema, c. Xilema, d. Parénquima esponjoso, e. Tricomas Papilares.

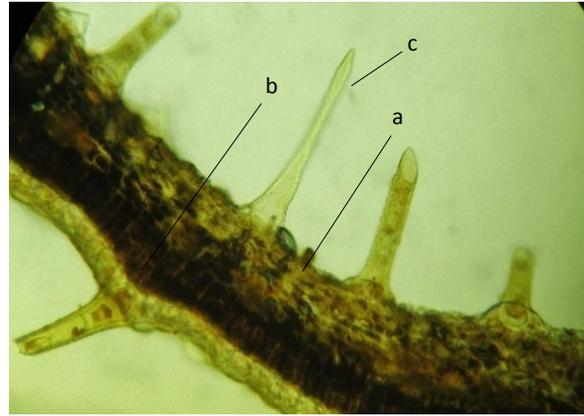


Figura No. 99 Hoja loroco. Reactivo: Dragendorff. Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para alcaloides en a. Parénquima esponjoso, b. Parénquima en empalizada, c. Tricoma cónico.



Figura No. 100 Flor loroco. Reactivo: Dragendorff. Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para alcaloides en a. Epidermis adaxial.



Figura No. 101 Tallo loroco. Reactivo: Ácido sulfúrico. Aumento: 200x. Descripción: Reacción negativa para saponinas.

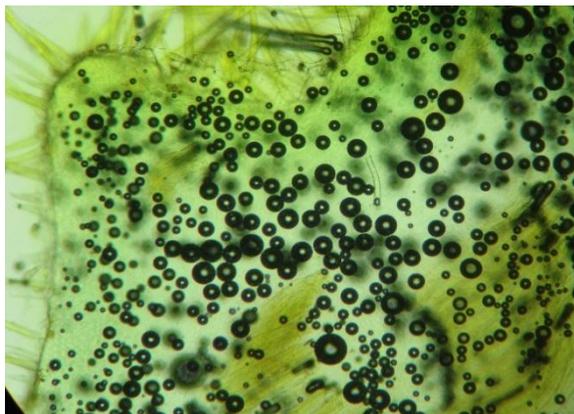


Figura No. 102 Pecíolo loroco. Reactivo: Ácido sulfúrico. Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para saponinas.

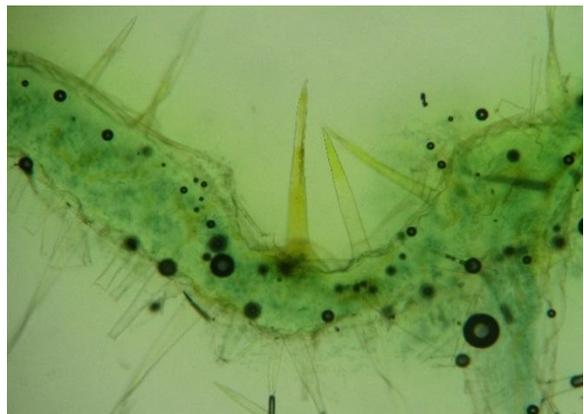


Figura No.103 Hoja loroco. Reactivo: Ácido sulfúrico. Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para saponinas.



Figura No.104 Hoja loroco. Reactivo: Ácido sulfúrico. Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para saponinas.



Figura No.105 Flor loroco. Reactivo: Ácido sulfúrico. Aumento: 200x. Descripción: Reacción negativa para saponinas

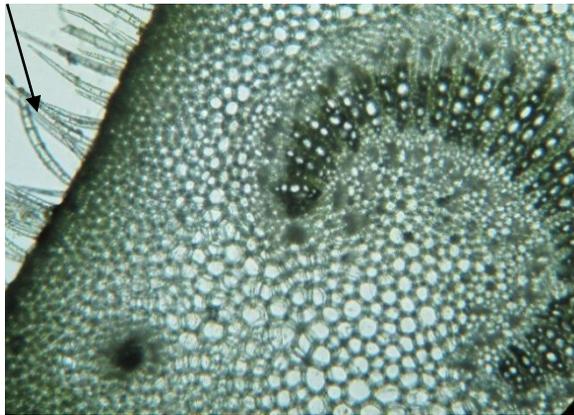


Figura No.106 Pecíolo loroco. Reactivo: Sulfato férrico. Aumento: 200x. Descripción: Reacción negativa para taninos. Se observan tricomas aciculares multicelulares.

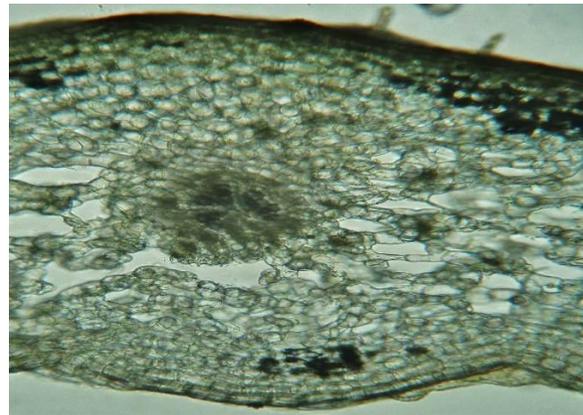


Figura No.107 Flor loroco. Reactivo: Sulfato férrico. Aumento: 200x. Descripción: Reacción negativa para taninos.

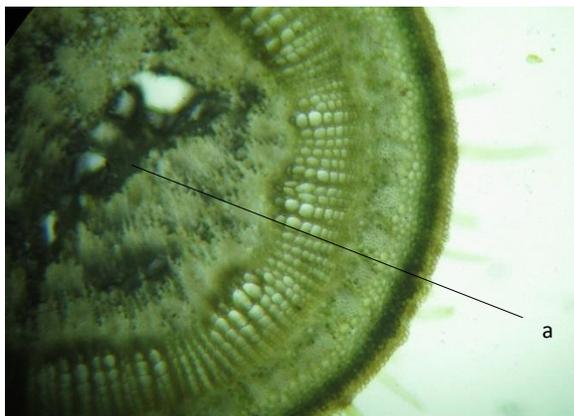


Figura No.108 Tallo loroco. Reactivo: Lugol. Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para almidón en a. Parénquima medular.



Figura No.109 Pecíolo loroco. Reactivo: Lugol. Aumento: 100x. Descripción: Reacción negativa para almidón.

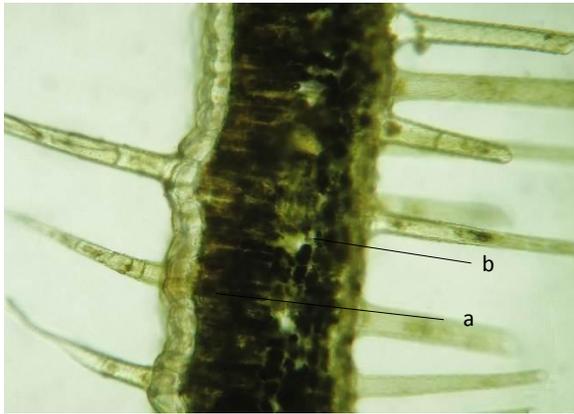


Figura No.110 Hoja loroco. Reactivo: Lugol. Aumento: 100x.
Descripción: Reacción positiva para almidón en a. Parénquima en empalizada, b. Parénquima esponjoso.

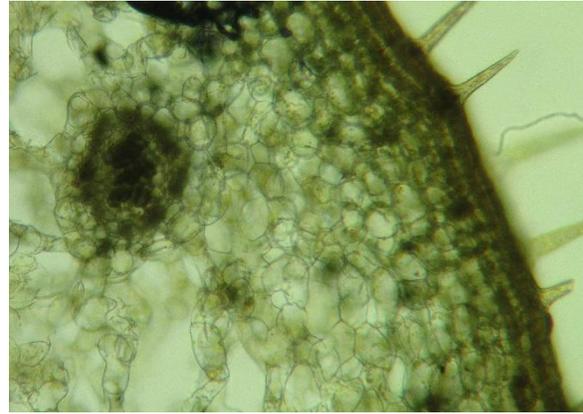


Figura No.111 Flor loroco. Reactivo: Lugol. Aumento: 200x.
Descripción: Reacción negativa para almidón.

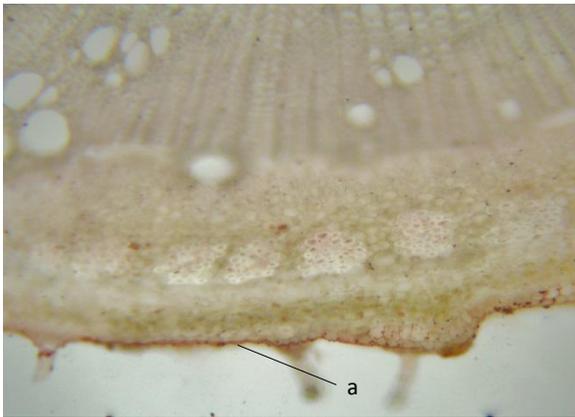


Figura No.112 Tallo loroco. Reactivo: Sudán IV. Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para grasas y aceites en a. Cutícula.

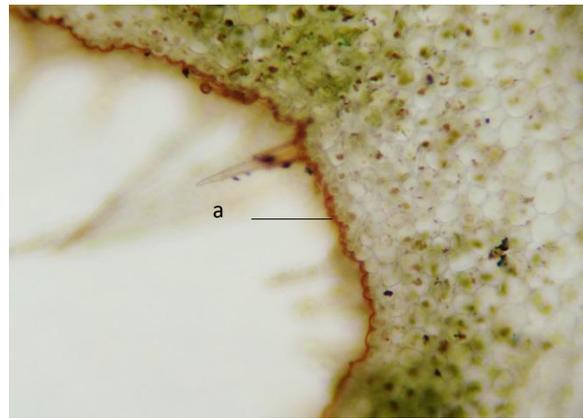


Figura No.113 Pecíolo loroco. Reactivo: Sudán IV. Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para grasas y aceites en a. Cutícula.



Figura No.114 Hoja loroco. Reactivo: Sudán IV. Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para grasas y aceites en a. Epidermis.

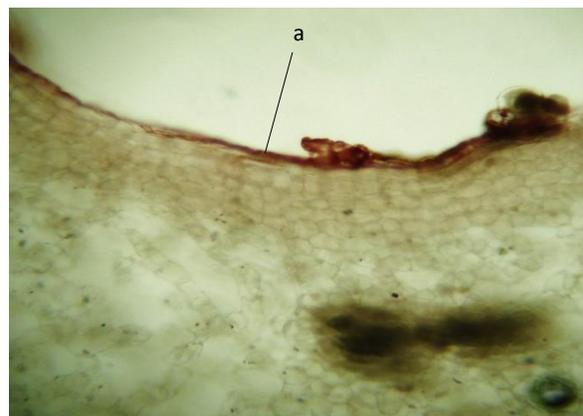


Figura No.115 Flor loroco. Reactivo: Sudán IV. Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para grasas y aceites en a. Cutícula de epidermis adaxial.

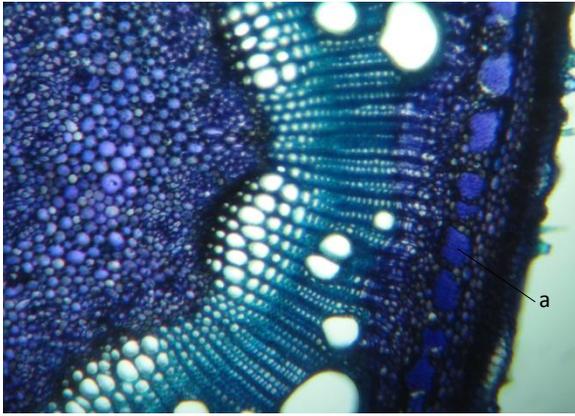


Figura No.116 Tallo loroco. Reactivo: Azul de cresil 1%.
Aumento: 200x. Descripción: Reacción negativa para mucílagos

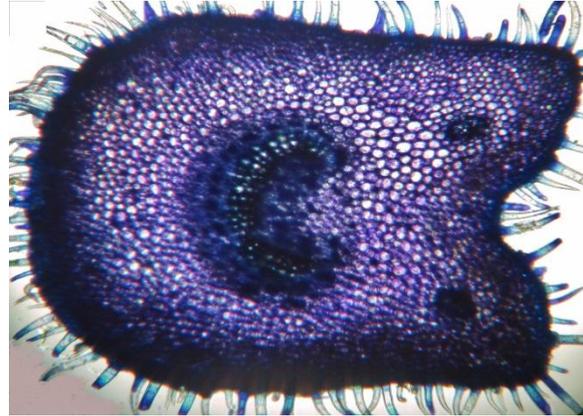


Figura No.117 Pecíolo loroco. Reactivo: Azul de cresil 1%.
Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para mucílagos en tricomas.

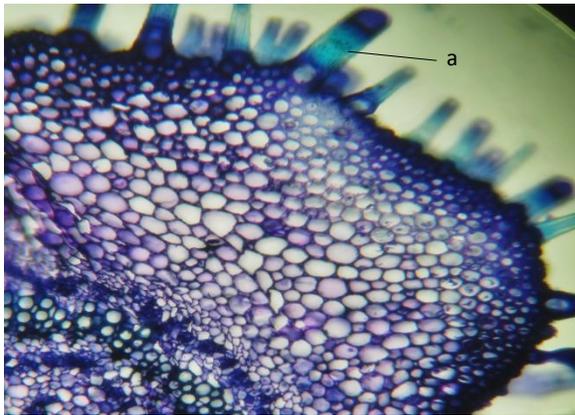


Figura No.118 Hoja loroco. Reactivo: Azul de cresil 1%.
Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para mucílagos en a. Tricomas.

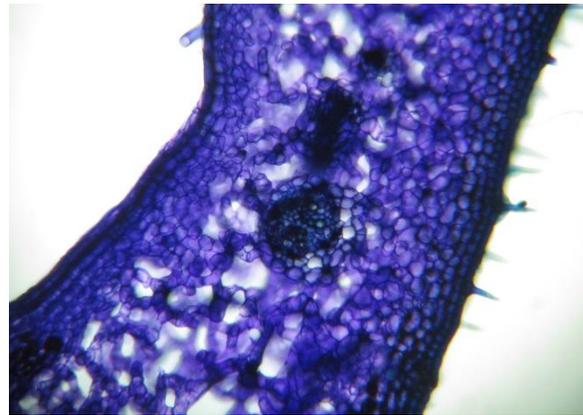
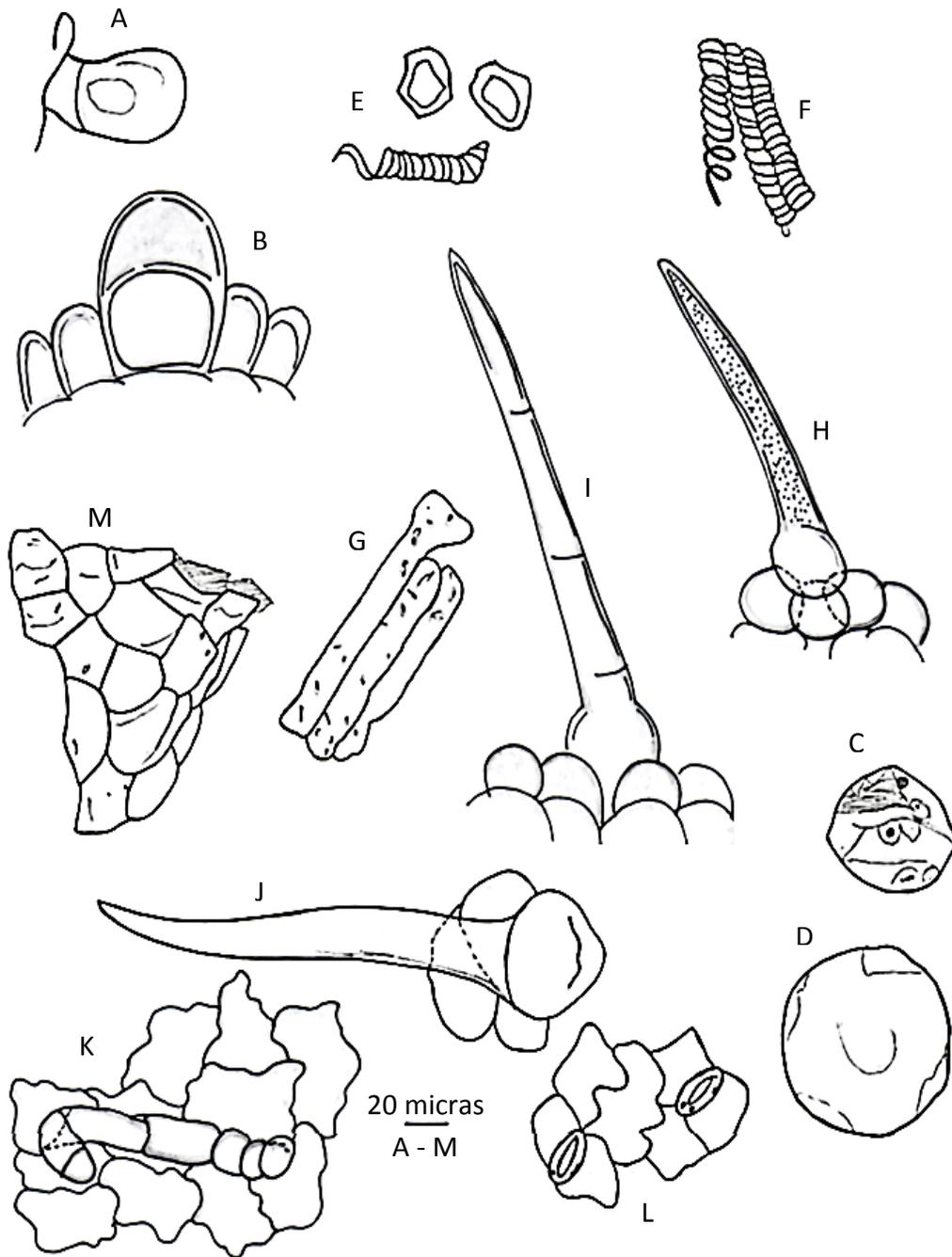


Figura No.119 Flor loroco. Reactivo: Azul de cresil 1%.
Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para mucílagos en tricomas

Figura No. 120 Cartilla micrográfica.



A - M. A y B: Tricoma papilar, C y D: Polen, E: Xilema anular y floema, F: Tejido vascular, G: Células de las anteras, H: Tricoma unicelular cónico verrucoso, I: Tricoma pluricelular de pared gruesa, J: Tricoma unicelular cónico, K: Tricoma pluricelular de extremo romo en epidermis adaxial, L: Estomas paracíticos con cloroplastos en epidermis abaxial, M: Células parenquimáticas.

7.3 *Cucurbita argyrosperma* (Pepitoria).

7.3.1 Descripción diagnóstica de planta fresca.

Es una planta rastrera o trepadora de textura vellosa, los tallos son rígidos ligeramente angulosos y surcados, sus hojas poseen lóbulos triangulares profundos con márgenes denticulados, base cordada, venación palmada con manchas blancas o plateadas a lo largo de ésta. La semilla es elíptica a lanceolada y ligeramente inflada, el tegumento es liso, rígido y delgado de color blanco, los márgenes son engrosados y del mismo color que el centro de la semilla (Figura No. 121). Se preparó un ejemplar de herbario de la planta, el cual fue ingresado con el número 066492 en el Herbario BIGU, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala (Anexo 4).

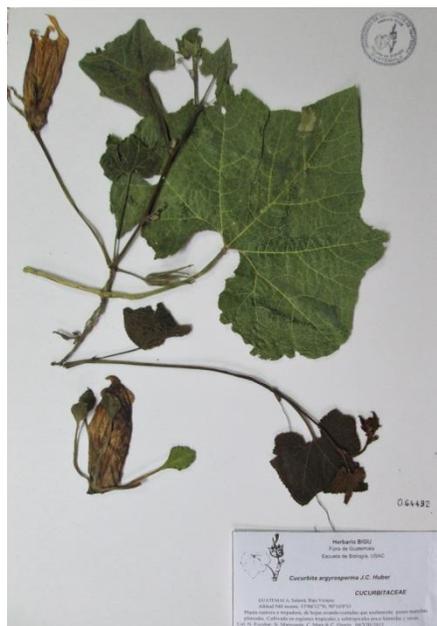


Figura No. 121 Ejemplar de herbario de *Cucurbita argyrosperma*

La semilla mide aproximadamente dos cm y tiene una forma ovalada (Figura No. 122). Tiene un tegumento externo suave de color marfil que la cubre por completo y un tegumento delgado de color verde oliva que recubre los cotiledones. Al realizar un corte longitudinal se observan los cotiledones de color blanco (Figura No. 123 y 124).



Figura No. 122 Semilla de pepitoria
a. Tegumento externo y b. Tegumento interno.

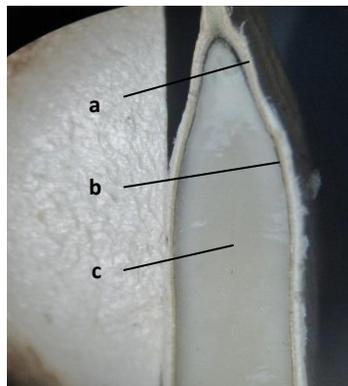


Figura No. 123 Corte longitudinal de semilla Aumento: 40x Descripción: a. Tegumento externo, b. Tegumento interno, c. Cotiledón.



Figura No. 124 Corte longitudinal de semilla Aumento: 40x Descripción: Se observan las capas de los tegumentos tanto internos como externo y los cotiledones.

7.3.2 Descripción diagnóstica de planta seca.

Consiste en la semilla sin tegumento externo, es de color verde olivo en el exterior y color blanco en el interior, de consistencia dura conservando su forma ovalada o fragmentada por acción física; olor agradable, sutil ligeramente ácido y sabor salado. Como parte del procedimiento se depositó un ejemplar de planta seca en la colección del departamento de Citohistología, de la Escuela de Química Biológica, de la facultad de ciencias Químicas y Farmacia (Figura No. 125 y 126).



Figura No. 125 Ejemplar de droga seca



Figura No. 126 Droga seca

7.3.3 Caracteres micromorfológicos e histológicos para identificación.

7.3.3.1 Caracteres micromorfológicos de tallo.

En el corte transversal se observa la epidermis conformada por una sola capa de células grandes ovaladas, además de presencia de tricomas pluricelulares (Figura No. 127). En cuanto al tejido fundamental, se aprecia debajo de la epidermis de cuatro a cinco capas de colénquima anular alternado con parénquima clorenquimático como haces discontinuos, a los cuales le siguen dos capas de colénquima laminar dispuesto en forma concéntrica. Luego se encuentra el parénquima que es compacto y está formado de 10 a 12 capas de células redondas de diversos tamaños, las cuales incluyen a los haces vasculares. Los haces vasculares son bicolaterales, el floema se encuentra arriba y abajo del xilema. Además, poseen esclerénquima dispuesto en casquetes en la parte más externa al floema de cada haz y su ubicación es variada, algunos próximos la luz del tallo y otros en la periferia (Figura No. 127 y 128).

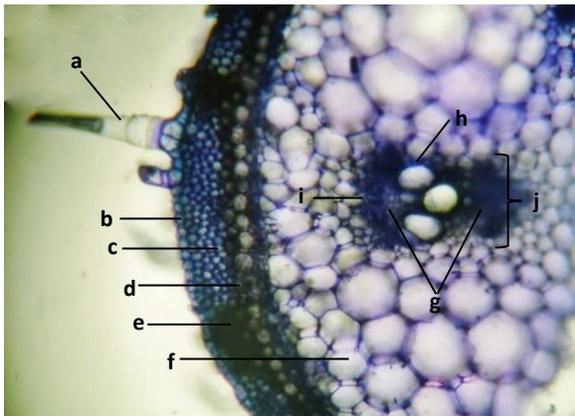


Figura No. 127 Tallo pepitoria. Reactivo: Azul de Cresil 1 %. Aumento: 100x. Descripción: a. Tricoma pluricelular, b. Epidermis, c. Colénquima angular, d. Colénquima laminar, e. Parénquima clorenquimático, f. Parénquima, g. Floema, h. Xilema, i. Esclerénquima, j. Haz vascular bicolateral.

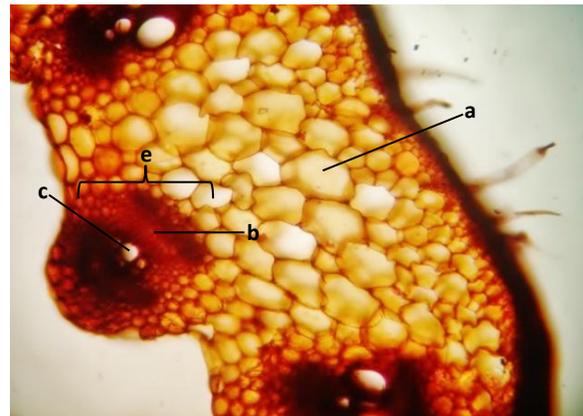


Figura No. 128 Tallo pepitoria. Tinción: Safranina 1 %. Aumento 100x. Descripción: a. Parénquima, b. Floema, c. Xilema, e. Haz vascular.

7.3.3.2 Caracteres micromorfológicos de pecíolo.

En el corte transversal se observa la epidermis conformada por un estrato de células grandes ovaladas, las cuales se ensanchan a nivel de haz vascular, además de presencia de tricomas pluricelulares y aduncados (Figura No. 129 y 131). Debajo de la epidermis se observan, al igual que en tallo, de cuatro a cinco capas de colénquima anular a nivel de haz vascular, alternado con parénquima clorenquimático como haces discontinuos. Seguido a estos tejidos se encuentra el parénquima, el cual es compacto y está formado de 8 a 10 capas de células redondas de diversos tamaños, las que incluyen a los haces vasculares. Los haces vasculares son de tipo biclateral, el floema se encuentra arriba y abajo del xilema. Estos poseen esclerénquima dispuesto en casquetes en la parte más externa al floema de cada haz vascular y su ubicación próxima a la luz del pecíolo (Figura No. 129 y 130).

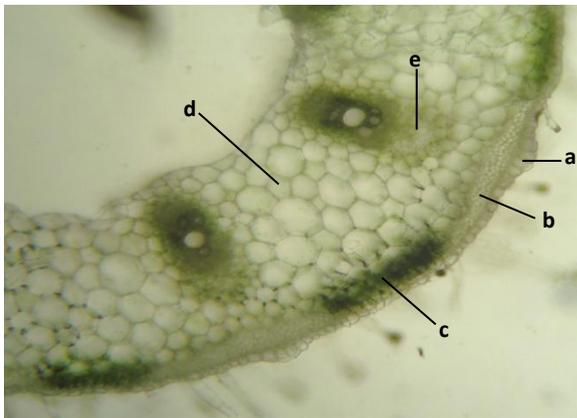


Figura No. 129 Pecíolo pepitoria. Preparación en fresco. Aumento: 100x. Descripción: a. Epidermis, b. Colénquima angular c. Parénquima clorenquimático, d. Parénquima, e. Esclerénquima.

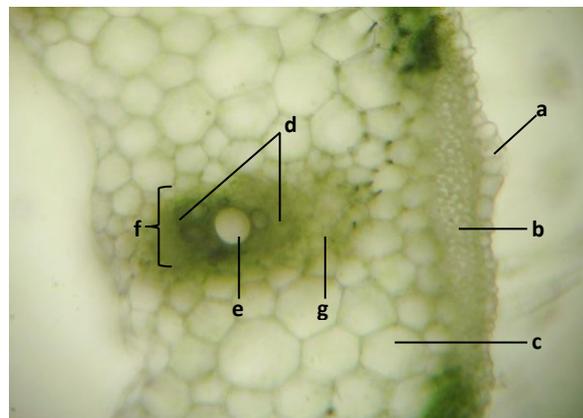


Figura No. 130 Pecíolo pepitoria. Preparación en fresco. Aumento: 200x. Descripción: a. Epidermis, b. Colénquima angular, c. Parénquima, d. Floema, e. Xilema, f. Haz vascular, g. Esclerénquima.

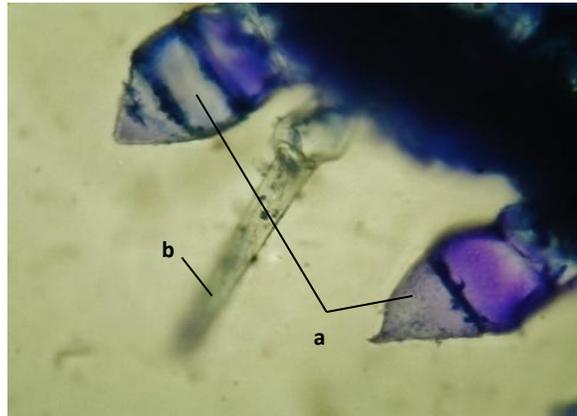


Figura No. 131 Pecíolo pepitoria. Reactivo: Azul de cresil 1 %.
Aumento: 400x. Descripción: a. Tricomas pluricelulares,
b. Tricoma aduncado.

7.3.3.3 Caracteres micromorfológicos de hoja.

En el corte transversal a nivel del nervio medio se observa la epidermis uniestrata de células grandes ovaladas, continua a dos o tres capas de colénquima anular de disposición concéntrica, además de tricomas pluricelulares. Luego, se encuentra el parénquima, el cual es compacto y está formado por capas de células redondas de diversos tamaños, las que incluyen a los haces vasculares bicolaterales. Cabe resaltar que, al igual que en tallo y pecíolo, en la parte más externa al floema de cada haz vascular se observa esclerénquima dispuesto en casquetes (Figura No. 132).

En cuanto al corte transversal a nivel de lámina se aprecia que la hoja es bifacial. La epidermis de la cara adaxial está conformada por un solo estrato de células rectangulares medianas. Además, aprecia varias capas de parénquima clorenquimático esponjoso de células redondas irregulares debajo de la epidermis abaxial, al cual le sigue una capa de parénquima clorenquimático en empalizada de células alargadas. Cabe resaltar que no es posible observar la epidermis abaxial (Figura No. 133). En cambio en el diafanizado a nivel de la lámina se puede observar que tanto la cara adaxial como abaxial están conformadas por células pequeñas, irregulares y de pared delgada, distinguiéndose una de la otra en que la primera los bordes de la células son rectos (Figura No.134); mientras que la cara abaxial presenta bordes sinuosos (Figura No.135). Cabe resaltar que las células de ambas

epidermis tienen un tamaño aproximado de 200 micras. Solamente en la epidermis abaxial se observan estomas de tipo anomocítico, de 200 micras aproximadamente, distribuidos de manera uniforme, rodeados por células guardianas iguales a la epidermis (Figura No. 135). Así mismo, se observan abundantes tricomas de distintos tipos tanto en la cara abaxial como adaxial (Figura No. 136). En las figuras No. 137 y 138 se pueden observar tricomas pluricelulares de extremo cónico de hasta tres células con cristales de oxalato de calcio internos y algunos con ausencia de los mismos, además de tricomas petalados de forma circular los cuales están formados por dos distintos tipos de células, la parte central compuesta por células irregulares seguidas por un segundo tipo formado por células pequeñas rectangulares (Figura No. 139). Todos los tricomas anteriormente mencionados poseen un tamaño aproximado de dos mm. Los tricomas pluricelulares se encuentran unidos a la epidermis por medio de una base ancha de tamaño variable y forma de roseta conformada de dos hasta 12 células (Figura No. 140, 141 y 142). Las células de la base de los tricomas poseen bordes redondos y una disposición circular, parten desde el centro de la roseta ensanchándose hacia la epidermis y miden aproximadamente de 200 a 400 micras, dependiendo del número de células por el cual esté conformada la base (a mayor número de células, mayor tamaño) (Figura No. 140, 141 y 142).

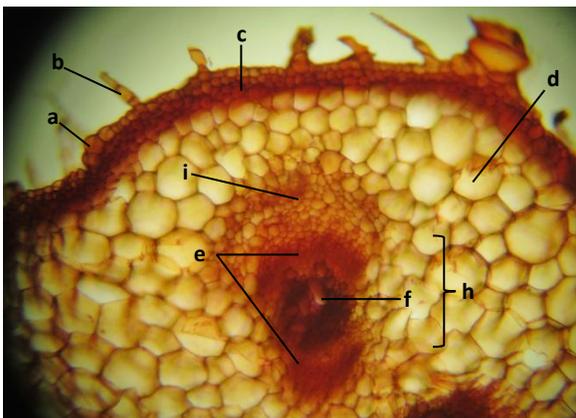


Figura No. 132 Hoja pepitoria. Tinción: Safranina 1 %. Aumento: 200x. Descripción: a. Epidermis, b. Tricoma pluricelular, c. Colénquima, d. Parénquima, e. Floema, f. Xilema, h. Haz vascular, i. Esclerénquima.

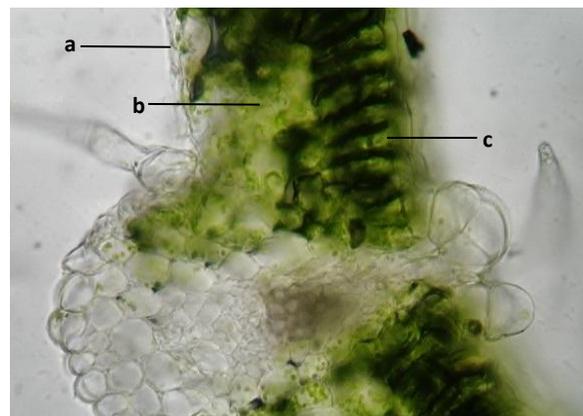


Figura No.133 Hoja pepitoria. Preparación en fresco. Aumento: 400x. Descripción: a. Epidermis adaxial, b. Parénquima esponjoso, c. Parénquima empalizada.



Figura No. 134 Diafanizado pepitoria. Tinción: Safranina.
Aumento: 400x. Descripción: Epidermis adaxial.



Figura No. 135 Diafanizado pepitoria. Tinción: Safranina.
Aumento: 400x. Descripción: Estomas anomocíticos y epidermis abaxial.

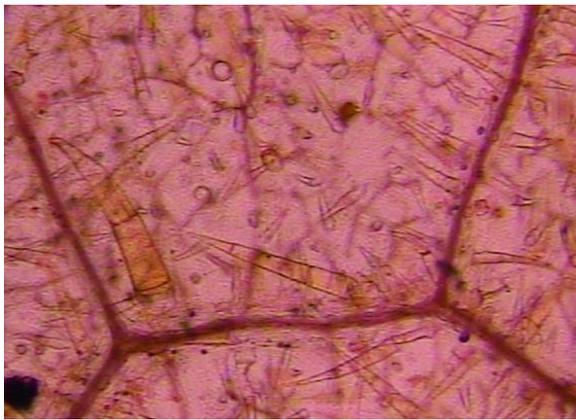


Figura No. 136 Diafanizado pepitoria. Tinción: Safranina.
Aumento: 100x. Descripción: Tricomas abundantes en epidermis.



Figura No. 137 Diafanizado pepitoria. Tinción: Safranina.
Aumento: 400x. Descripción: Tricoma pluricelular con cristales.

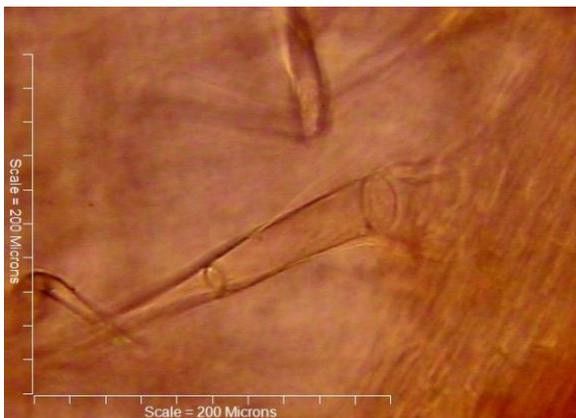


Figura No. 138 Diafanizado pepitoria. Tinción: Safranina.
Aumento: 400x. Descripción: Tricoma pluricelular.



Figura No. 139 Diafanizado pepitoria. Tinción: Safranina.
Aumento: 200x. Descripción: Tricoma petalado.



Figura No. 140 Diafanizado pepitoria. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Base de tricoma de 4 células.

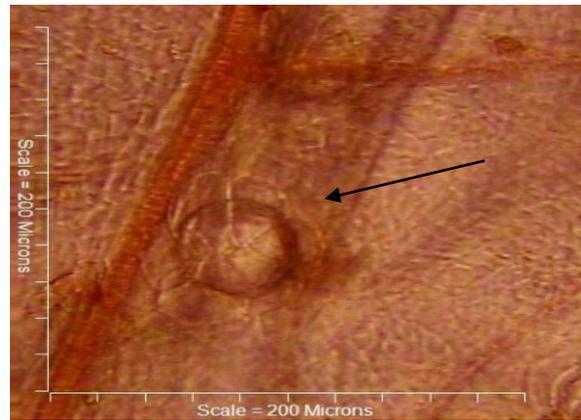


Figura No. 141 Diafanizado pepitoria. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Base de tricoma de 6 células.



Figura No. 142 Diafanizado pepitoria. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Base de tricoma de 8 células.

7.3.3.4 Caracteres micromorfológicos de semilla.

En el corte longitudinal se observa que esta es de tipo dicotiledónea (Figura No. 143). Así mismo, se aprecia el tegumento o testa, la cual está constituida por células esclerenquimáticas y se divide en tres estratos seguidos uno del otro: La exotesta o epidermis, la mesotesta o hipodermis y la endotesta o empalizada esclerótica (Figura No. 143 y 144). Las capas de células esclerenquimáticas de la exotesta presentan una forma irregular (Figura No. 144), cuya superficie en el disociado se aprecia reticulada y posee ondulaciones resultado de las delimitaciones de las esclereidas (Figura No. 146). La

mesotesta está conformada por un estrato de macroesclereidas columnares sin espacios intercelulares (Figura No. 144), en el disociado se aprecia que poseen una pared gruesa y forma de varilla de 200 micras de ancho y alto variable de dos a dos punto seis milímetros (Figura No. 147). Por otra parte, en el corte longitudinal se observa que la endotesta posee una sola capa de células ovoides, más anchas que altas y que se unen entre sí sin dejar espacios (Figura No. 144). A continuación, es posible apreciar varias capas de aerénquima bien diferenciadas (Figura No. 143 y 144), a las cuales le siguen una capa delgada de tegmen o tegumento interno, que a su vez recubre el tejido parenquimático del endospermo conformado por ambos cotiledones (Figura No. 143 y 145). El tejido parenquimático de ambos cotiledones posee dos tipos de células, redondas y alargadas, las cuales fueron observadas tanto en el disociado como en el corte transversal y longitudinal. Las células del tejido parenquimático constituido por varios estratos de células redondas e irregulares miden alrededor de 400 micras (Figura No. 143, 145, 148 y 149), y estas rodean a las dos capas de parénquima de células cuboides alargadas de 400 micras de ancho y 200 micras de largo en cada uno de los cotiledones (Figura No. 143, 145 y 150).

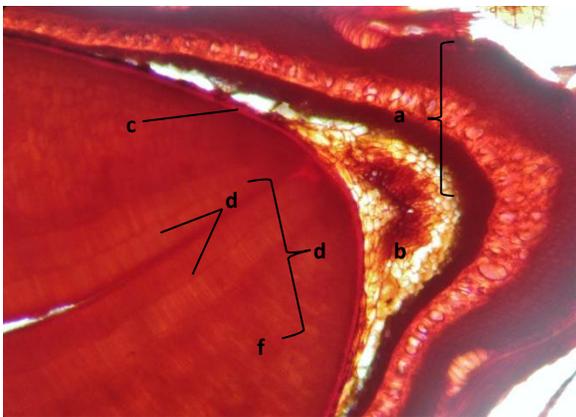


Figura No. 143 Semilla pepitoria, corte longitudinal. Tinción: Safranina 1%. Aumento: 100x. Descripción: a. Testa, b. Aerénquima, c. Tegmen, d. Parénquima del endospermo (cotiledones), e. Células alargadas, f. Células redondas.

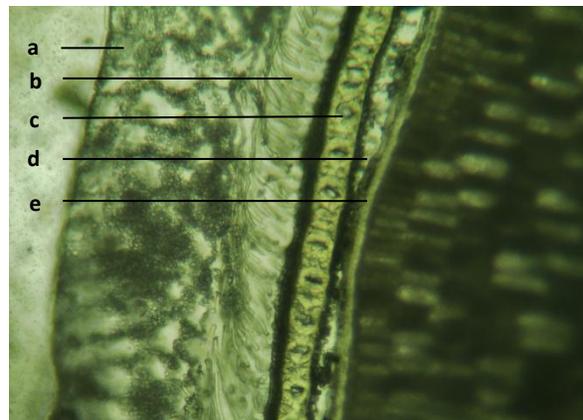


Figura No. 144 Semilla pepitoria, corte longitudinal. Preparación en fresco. Aumento: 200x. Descripción: a. Exotesta, b. Mesotesta, c. Endotesta, d. Aerénquima, e. Tegmen.

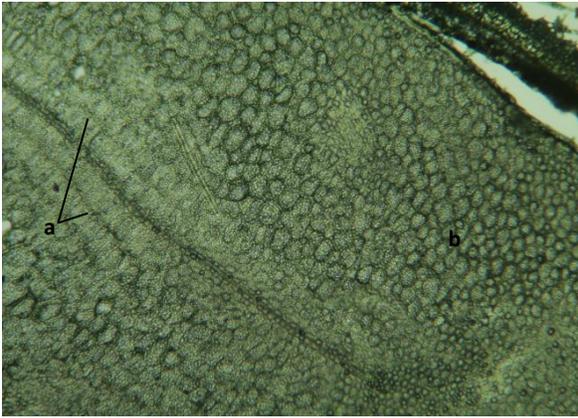


Figura No. 145 Semilla pepitoria, corte transversal. . Preparación en fresco. Aumento: 200x. Descripción: a. Parénquima de cotiledón, a. Células alargadas, b. Células redondas.

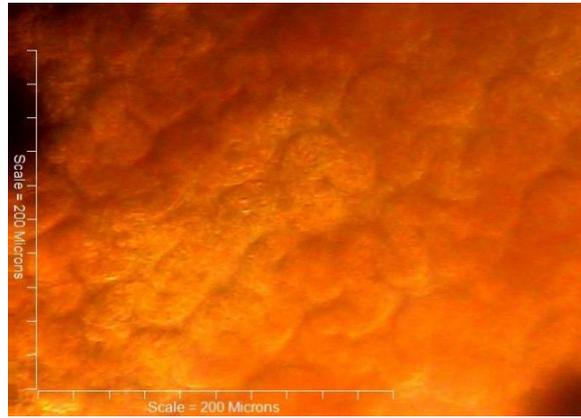


Figura No. 146 Disociado de semilla pepitoria. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Superficie de exotesta.

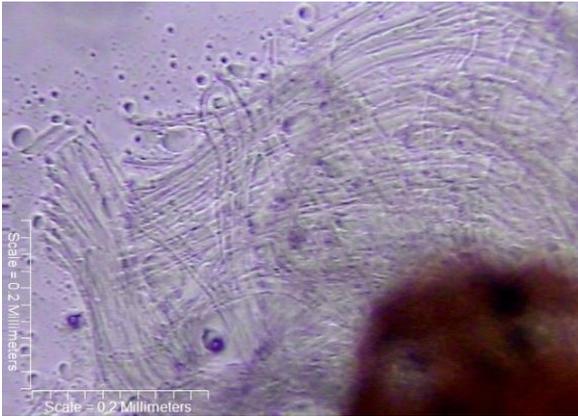


Figura No. 147 Disociado de semilla pepitoria. Tinción: Safranina. Aumento: 200x. Descripción: Macroescleridas.



Figura No. 148 Disociado de semilla pepitoria. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Células de parénquima con inclusiones de aceite.

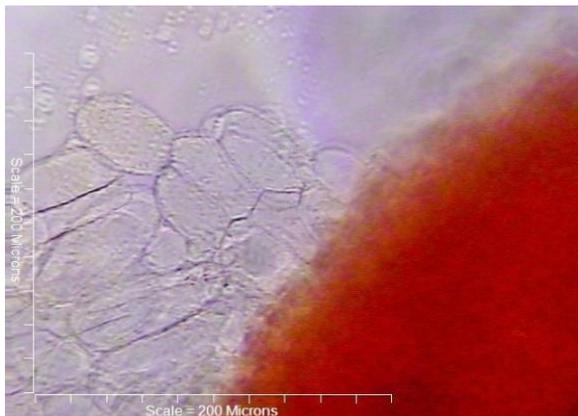


Figura No. 149 Disociado de semilla pepitoria. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Células de parénquima.



Figura No. 150 Disociado de semilla pepitoria. Tinción: Safranina. Aumento: 400x. Descripción: Células de endosperma con inclusiones de aceite.

7.3.4 Tamizaje Histoquímico.

7.3.4.1 Alcaloides: Los cortes para tallo, pecíolo y hoja de pepitoria poseen alcaloides. El tallo presentó una reacción positiva con el reactivo de Dragendorff en la epidermis y floema (Figura No. 151); mientras que el pecíolo en epidermis y la hoja en el parénquima empalizada (Figura No. 152 y 153).

7.3.4.2 Saponinas: Todos los cortes examinados para pepitoria no poseen saponinas (Figura No. 154).

7.3.4.3 Taninos: Todos los cortes examinados para pepitoria no poseen taninos (Figura No. 155).

7.3.4.4 Almidón: De los cortes examinados para pepitoria, únicamente en el pecíolo se evidenció la presencia de almidón en el parénquima (Figura No. 157); mientras que las otras partes presentaron una reacción negativa (Figura No. 156).

7.3.4.5 Grasas y aceites: Tanto el tallo, pecíolo y hoja de pepitoria se evidenció la presencia de grasas y aceites. El tallo y el pecíolo presentaron una reacción positiva para Sudán IV en epidermis (Figura No. 159 y 160), xilema y floema (Figura No. 158 y 160); mientras que la hoja solamente en la epidermis (Figura No. 161).

7.3.4.6 Mucílagos: De los cortes examinados para pepitoria, únicamente en el tallo se evidenció la presencia de mucílagos en epidermis (Figura No.162); siendo las demás partes negativas para esta reacción (Figura No. 163).

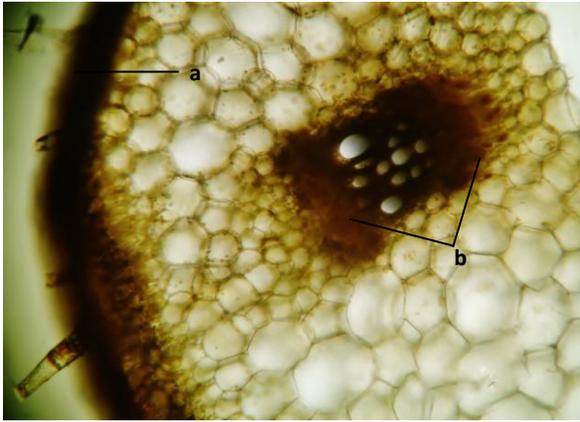


Figura No. 151 Tallo pepitoria. Reactivo: Dragendorff.
Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para alcaloides en a. Epidermis, b. Floema.



Figura No. 152 Pecíolo pepitoria. Reactivo: Dragendorff.
Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para alcaloides en a. Epidermis.

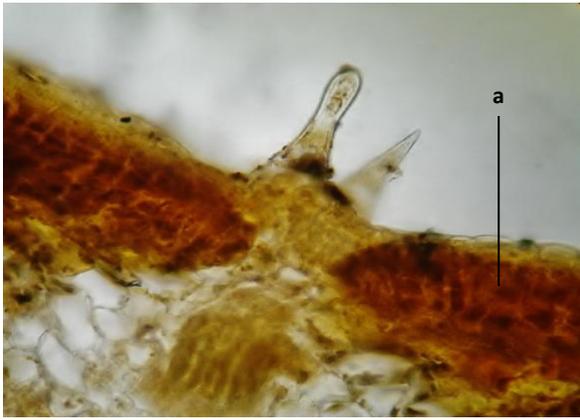


Figura No. 153 Hoja pepitoria. Reactivo: Dragendorff.
Aumento: 400x. Descripción: Reacción positiva para alcaloides en a. Parénquima empalizada.

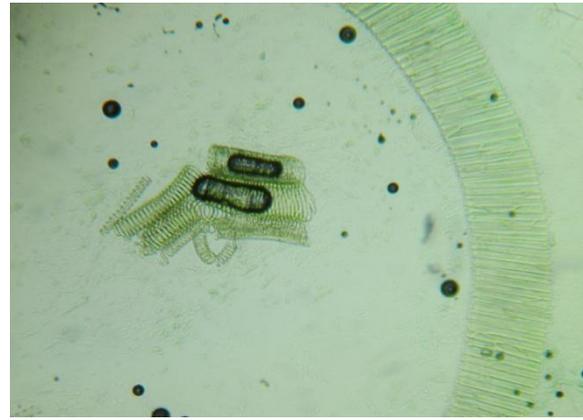


Figura No. 154 Tallo pepitoria. Reactivo: Ácido sulfúrico.
Aumento: 100x. Descripción: Reacción negativa para saponinas.



Figura No. 155 Pecíolo pepitoria. Reactivo: Sulfato férrico.
Aumento: 100x. Descripción: Reacción negativa para taninos.

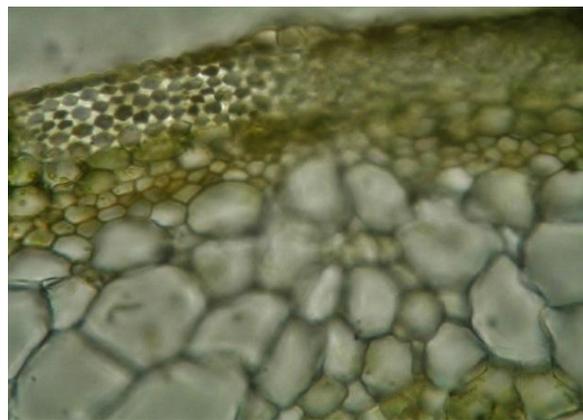


Figura No. 156 Tallo pepitoria. Reactivo: Lugol.
Aumento: 400x. Descripción: Reacción negativa para almidón.



Figura No. 157 Pecíolo pepitoria. Reactivo: Lugol. Aumento: 400x. Descripción: Reacción positiva para almidón en a. Parénquima.

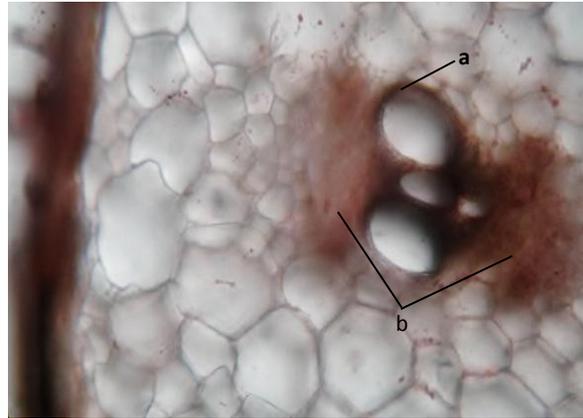


Figura No. 158 Tallo pepitoria. Reactivo: Sudán IV. Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para almidones en a. Xilema y b. Floema.



Figura No. 159 Tallo pepitoria. Reactivo: Sudán IV. Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para almidones en a. Epidermis.



Figura No.160 Pecíolo pepitoria. Reactivo: Sudán IV. Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para almidones en a. Epidermis, b. Xilema, c. Floema.

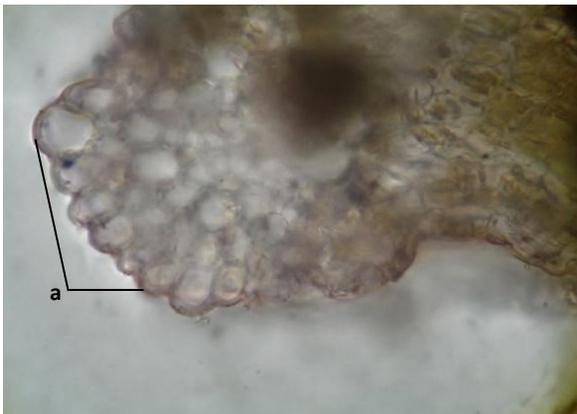


Figura No.161 Hoja pepitoria. Reactivo: Sudán IV. Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para grasas y aceites en a. Epidermis.



Figura No. 162 Tallo pepitoria. Reactivo: Azul de cresil 1 %. Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para mucílagos en a. Epidermis.

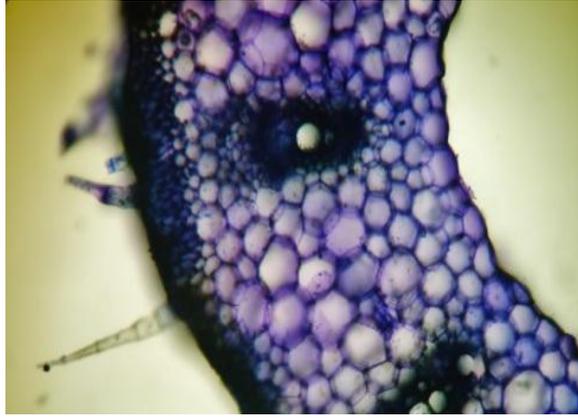
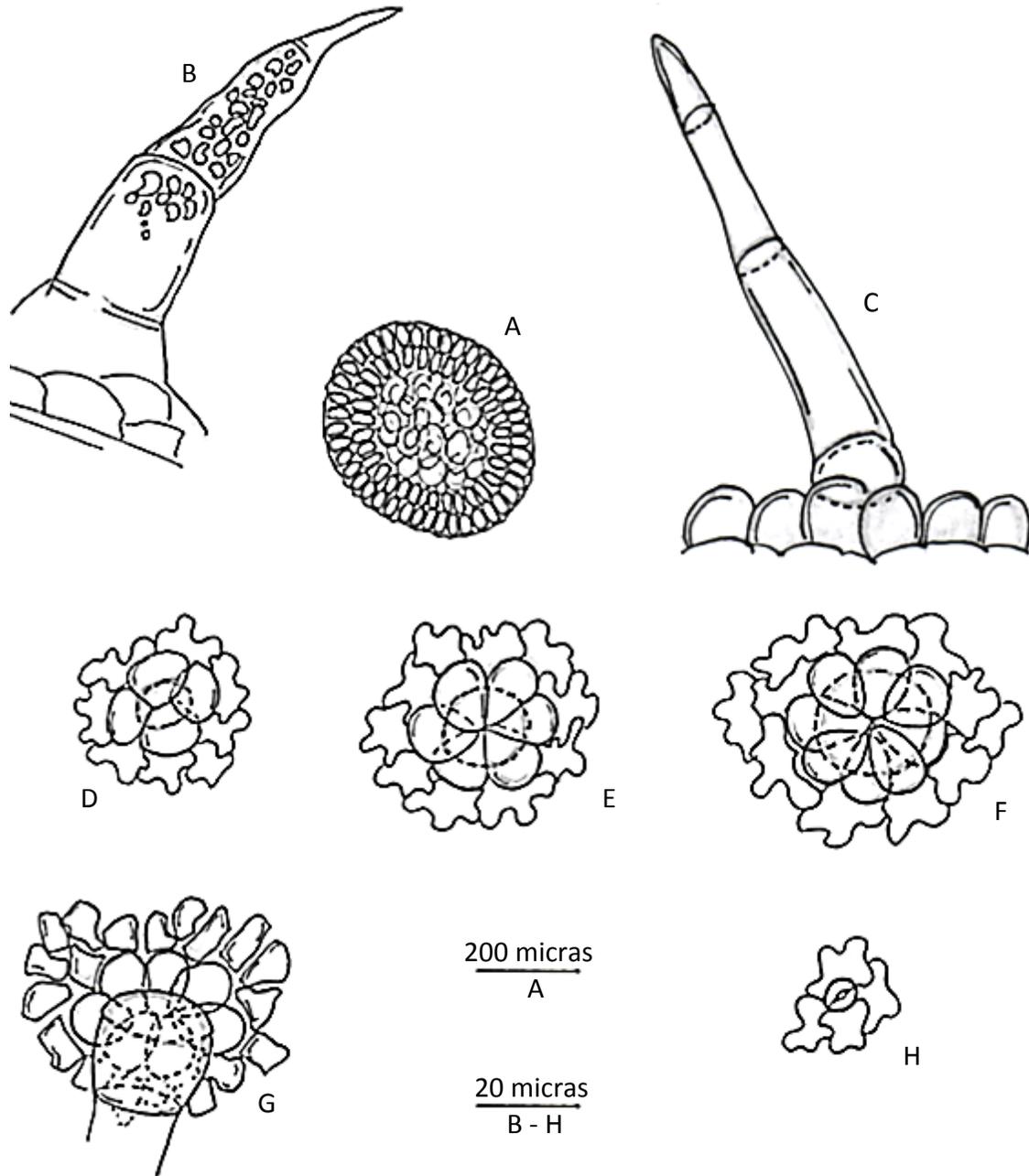
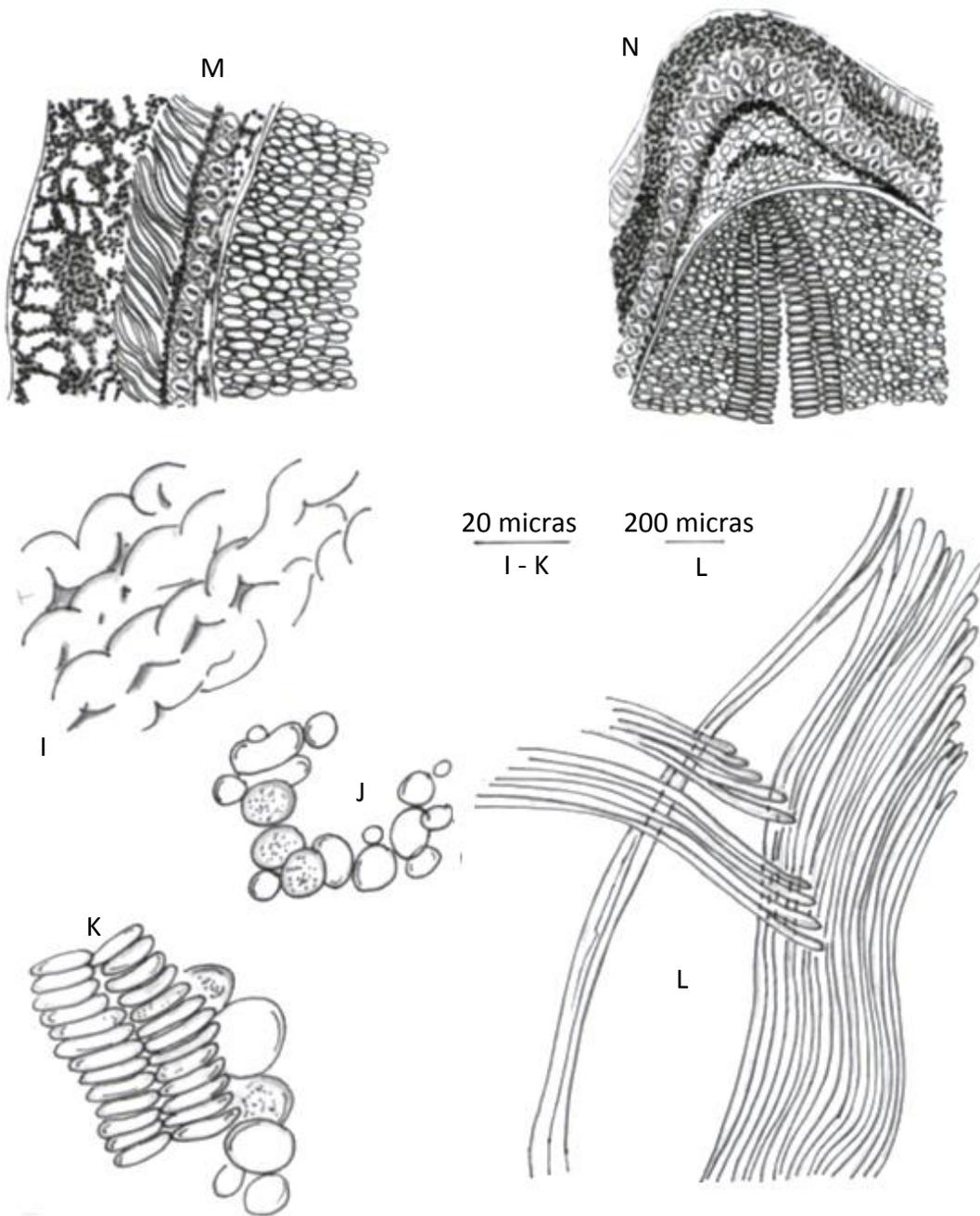


Figura No. 163 Pecíolo pepitoria. Reactivo: Azul de cresil 1 % .
Aumento: 100x. Descripción: Reacción negativa para mucílagos.

Figura No. 164 Cartilla micrográfica.



A-H. A: Tricoma petalado, B: Tricoma cónico pluricelular con cristales de oxalato de calcio, C: Tricoma cónico pluricelular, D: Base en roseta de tricoma de cuatro células, E: Base en roseta de tricoma de seis células, F: Base de tricoma en roseta de ocho células, G: Epidermis adaxial, H: Epidermis abaxial y estoma anomocítico.



I-M. I: Superficie de exotesta de semilla, J: Células de parénquima con inclusiones de aceite, K: Células de endosperma con inclusiones de aceite, L: Macroscleireidas, M y N: Corte longitudinal de semilla.

7.4 *Solanum nigrescens* (Macuy).

7.4.1 Descripción diagnóstica de planta fresca.

Planta herbácea de hasta 1.5 m de alto, tallo piloso, hojas en pares o solitarias de diferentes tamaños, de forma lanceolada, con ápice acuminado de base atenuada, margen entero y venación pinnada; las flores en racimo y frutos globosos, verdes o negros en baya (Figura No. 165). Se preparó un ejemplar de herbario que se identificó e ingresó en el Herbario BIGU, Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala con el número de inventario 64285 (Anexo 4).

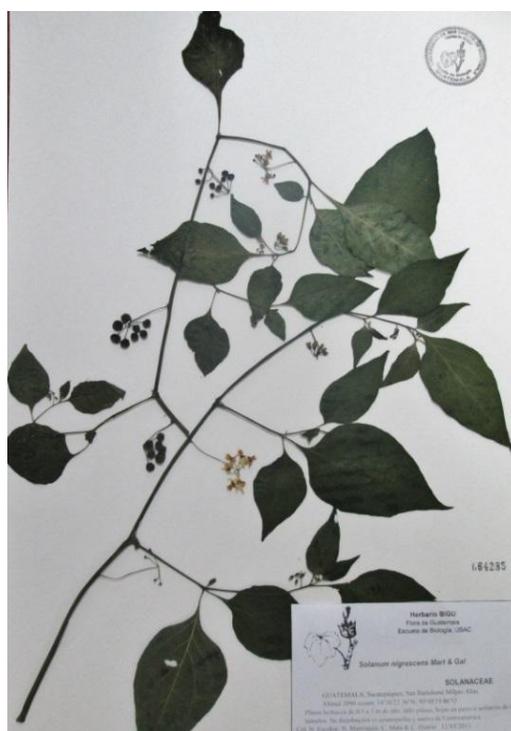


Figura No. 165 Ejemplar de herbario de *Solanum nigrescens*

7.4.2 Descripción diagnóstica de droga seca.

La droga seca está conformada por hojas pecioladas, que toman un color verde oscuro o café, de consistencia blanda fácilmente fragmentable, con un olor agradable, penetrante de tipo herbal y un sabor desagradable amargo. Como parte del procedimiento se depositó un ejemplar de planta seca en la colección del departamento de Citohistología,

de la Escuela de Química Biológica, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia (Figura No. 166 y 167).



Figura No. 166 Ejemplar de droga seca



Figura No. 167 Droga seca

7.4.3 Caracteres micromorfológicos e histológicos para identificación.

7.4.3.1 Caracteres micromorfológicos de tallo.

En el corte transversal se observa el tejido epidérmico formado por una capa de células altas, de forma redondeada e irregular con una cutícula visible en su lado más externo (Figura No. 168).

En el tejido fundamental se diferencia el parénquima clorenquimático como una capa celular por debajo de la epidermis, luego se observan tres capas de colénquima de tipo angular, seguido de esta se evidencian células parenquimáticas de gran tamaño, a continuación se presenta una capa de células de pared gruesa que corresponde al esclerénquima, por último se encuentra el parénquima medular, localizado en el área central de la estructura por debajo del haz vascular (Figura No. 168 y 169). En el centro de la estructura del tallo se observa un espacio rodeado por células desintegradas denominado cavidad lisígena (Figura No. 169).

En el corte trasversal se observa un haz vascular como anillo concéntrico continuo con disposición del floema biclateral (Figura No. 169).



Figura No. 168 Tallo macuy. Reactivo: Sudán IV. Aumento: 400x. Descripción: a. Epidermis, b. Parénquima clorenquimático, c. Colénquima, d. Parénquima, e. Floema biclateral, f. Xilema, g. Médula, h. Esclerénquima

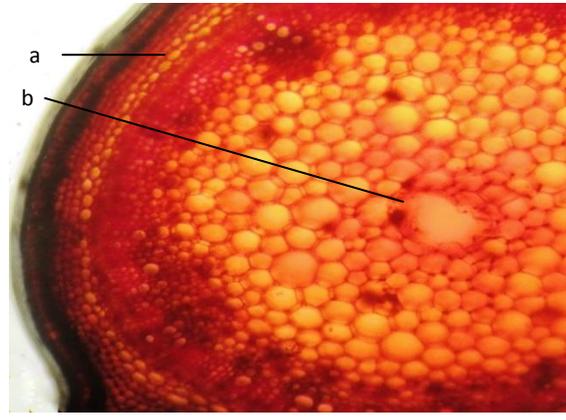


Figura No.169 Tallo macuy. Tinción: Safranina 1%. Aumento 100x. Descripción: a. Colénquima angular, b. Cavityad lisígena

7.4.3.2 Caracteres micromorfológicos de pecíolo.

El tejido epidérmico en corte trasversal se observa como una capa de células de forma redondeada irregular con una cutícula visible en su lado más externo (Figura No. 170). Entre las células de la epidermis se logra visualizar células de mayor tamaño que dan origen a bases de tricomas de tipo pluricelular verrucoso (Figura No. 170 y 171).

Como parte del tejido fundamental en el corte trasversal se observan de dos a tres capas de colénquima angular, seguido de estas ocupando la mayor parte de la estructura se encuentra el parénquima como células poligonales de gran tamaño y por último alrededor de los haces vasculares las células del esclerénquima (Figura No. 170). En cuanto al tejido vascular en el pecíolo se observan tres haces vasculares con disposición biclateral del floema, por encima del floema y entre los haces se disponen de dos a tres capas de esclerénquima como tejido de sostén (Figura No. 170).

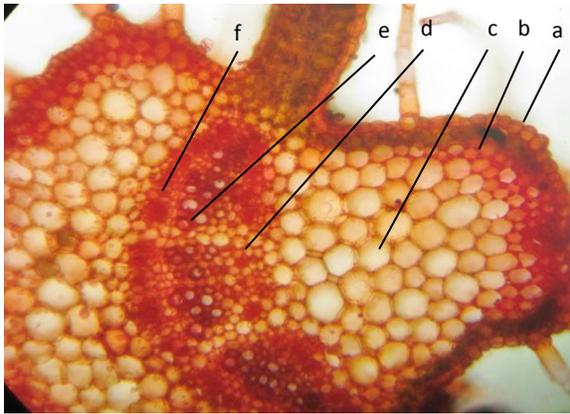


Figura No.170 Pecíolo macuy, Tinción: Safranina 1%
Aumento: 200x. Descripción: a. Epidermis , b. Colénquima angular, c. Parénquima, d. Esclérenquima , e. Xilema, f. Floema

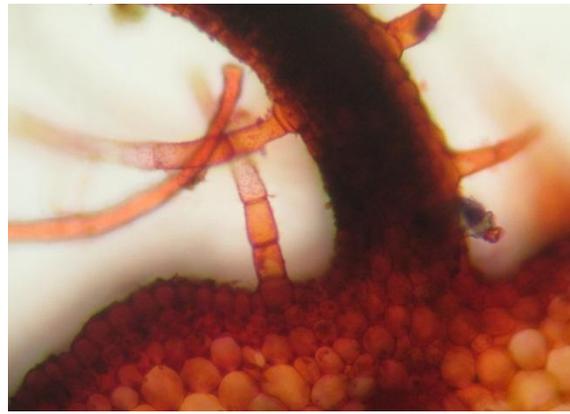


Figura No.171 Pecíolo macuy Tinción: Safranina 1%
Aumento: 400x. Descripción: Tricomas multicelulares verrucosos

7.4.3.3 Caracteres micromorfológicos de la hoja.

En el corte transversal de la lámina de la hoja, la epidermis se distingue como una capa de células grandes con forma rectangular y con una cutícula poco visible (Figura No. 172), a nivel del nervio medio, la epidermis se sigue observando como células grandes de forma rectangular en la cara adaxial y con una forma redondeada en la cara abaxial (Figura No. 173). Tanto en la lámina como en la nervadura central de la hoja se logran apreciar tricomas pluricelulares verrucosos, (Figuras No. 172 y 173) sobre la lámina también se distinguen tricomas glandulares (Figura No. 175). En la técnica del diafanizado se puede observar la epidermis adaxial con células grandes de aproximadamente 50 micras de longitud con paredes anticlinales sinuosas y refringentes (Figura No. 176), distribuidas entre las células epidérmicas de la cara abaxial se disponen las células guardianas que rodean a los estomas de tipo anomocítico que miden aproximadamente 40 micras de largo (Figura No. 177). Dentro de la misma técnica y sobre toda la lámina de la hoja es posible observar varios tipos de tricomas entre ellos los glandulares con pie unicelular de aproximadamente 60 micras (Figura No. 178), globosos con pie corto unicelular de aproximadamente 20 micras (Figura No. 179), pluricelulares verrucosos (Figura No. 180), pluricelulares con pie unicelular y base de cuatro células (Figura No. 181 y 184), simples con extremo romo (Figura No. 182), unicelulares con base de cuatro y seis células (Figura

No. 183 y 185), todos estos últimos de tamaño variable entre 15 micras y 200 micras; en el disociado es posible encontrar estos mismos tipos de tricomas ya sea unidos todavía a su base en la epidermis o desprendidos debido al procedimiento de la técnica (Figura No. 187, 188 y 189).

La lámina de la hoja del macuy en su corte transversal es bifacial observándose una capa de parénquima en empalizada hacia la cara adaxial, mientras que en su cara abaxial ocupando mayor espacio el parénquima esponjoso (Figura No. 172); la nervadura central es prominente en ambas caras, en la cara abaxial está conformada principalmente por parénquima de células grandes redondas, y en la cara adaxial se observa principalmente el parénquima en empalizada que entra de la lámina. Rodeando el haz vascular se pueden apreciar varias capas de tejido esclerenquimático, las que disminuyen entre más se aleja del pecíolo (figura No. 173 y 174). En el disociado de la hoja peciolada se observan los tipos de células del tejido de sostén como el tejido esclerenquimático de diferentes tipos y tamaños encontrándose, las fibroesclereidas que se observan como células alargadas y continuas de aproximadamente 40 micras (Figura No. 190), las braquiesclereidas de forma ovalada con pared gruesa de aproximadamente 80 micras (Figura No. 191), macroesclereidas de aproximadamente 100 micras a 200 micras de largo (Figura No. 192) y fibras (Figura No. 193). Otras células de sostén que se observan son las células de parénquima con forma ovalada de aproximadamente 90 micras (Figura No. 194) y las células de la empalizada (Figura No. 195).

En el corte transversal de la hoja, a nivel del nervio medio se observa un único haz vascular en forma de arco plano, con disposición del floema bicolateral (Figura No. 173 y 174); en la técnica del diafanizado se observa en el tejido vascular cristales de oxalato en forma de drusas que se observan como círculos de color oscuro de aproximadamente 200 micras (Figura No. 186). En el disociado el haz vascular se logra separar observándose fragmentos de xilema con disposición helicoidal y floema (Figura No. 196).

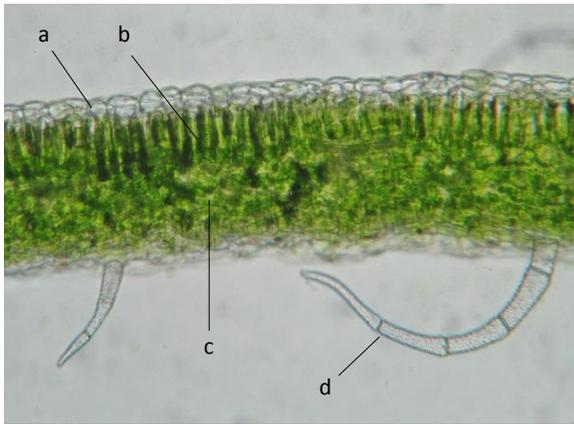


Figura No.172 Hoja macuy. Preparación en fresco.
Aumento: 200x. Descripción: a. Epidermis adaxial
b. Parénquima en empalizada, c. Parénquima esponjoso,
d. Tricoma multicelular.

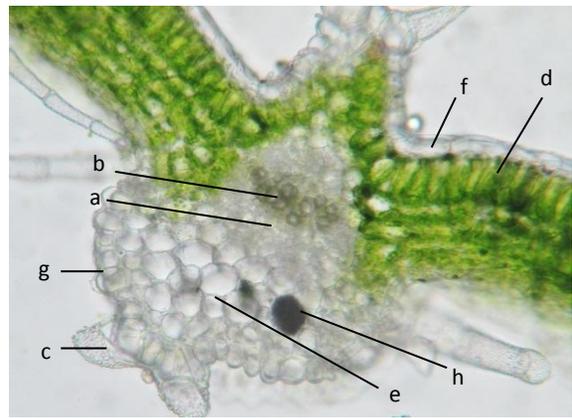


Figura No173 Hoja macuy. Preparación en fresco.
Aumento: 200x. Descripción: Nervadura central, a. Floema,
b. Xilema, c. Tricomas, d. Parénquima en empalizada,
e. Parénquima, f. Epidermis adaxial, g. Epidermis, h. glándula
secretoria

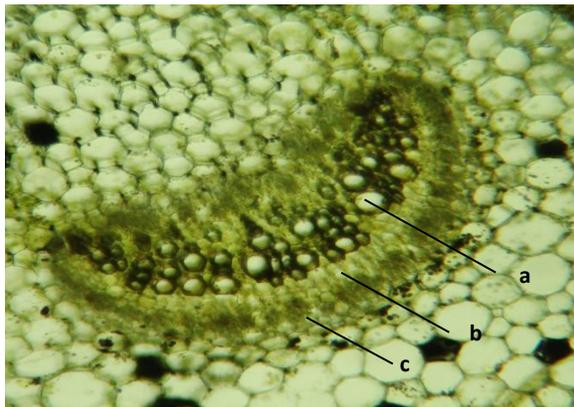


Figura No. 174 Hoja macuy. Reactivo: Lugol Aumento: 400x
Descripción: a. Xilema, b Floema bicollateral, y
c. Esclerénquima

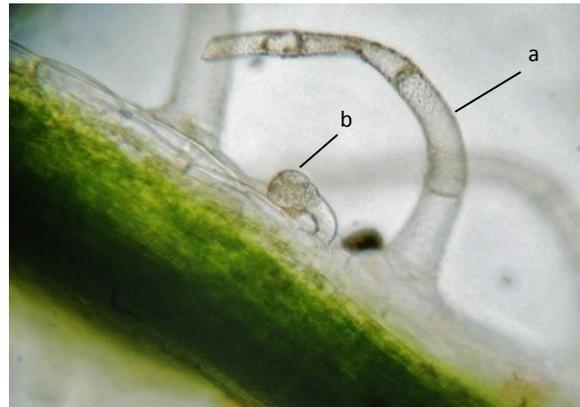


Figura No.175 Hoja macuy. Preparación en fresco.
Aumento: 200x. Descripción: a. Tricoma multicelular
verrucoso y b. Tricoma glandular

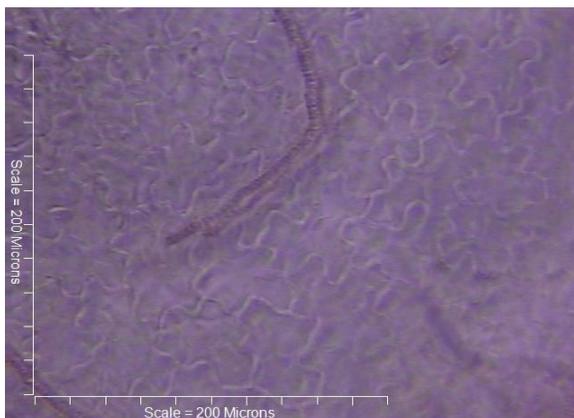


Figura No.176 Diafanizado macuy Tinción: Safranina
Aumento: 400x. Descripción: Epidermis adaxial, con células
anticlinales sinuosas de pared refringente.

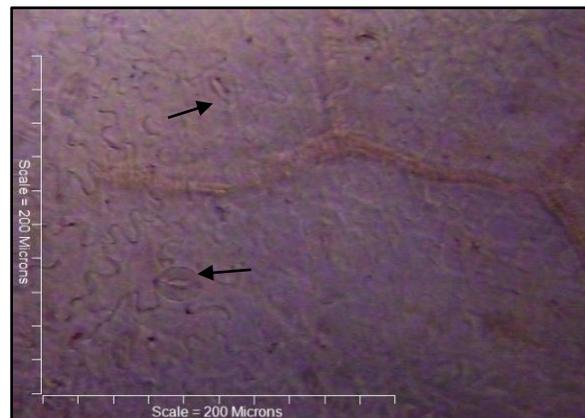


Figura No.177 Diafanizado macuy Tinción: Safranina
Aumento: 400x. Descripción: Estomas anomocíticos en
epidermis abaxial.

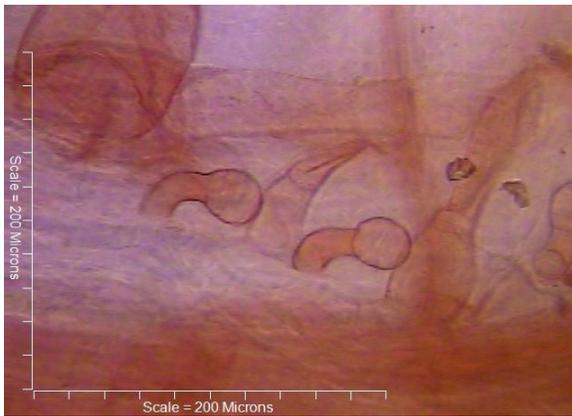


Figura No.178 Diafanizado macuy Tinción: Safranina
Aumento: 400x. Descripción: Tricoma glandular de pie unicelular.

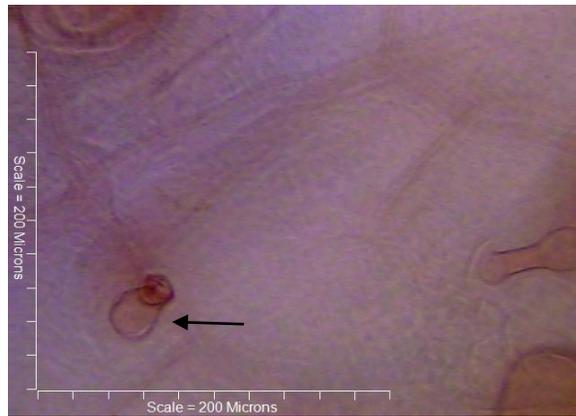


Figura No.179 Diafanizado macuy Tinción: Safranina
Aumento: 400x. Descripción: Tricoma globoso de pie corto unicelular.



Figura No.180 Diafanizado macuy Tinción: Safranina
Aumento: 200x. Descripción: Tricoma pluricelular verrucoso.



Figura No.181 Diafanizado macuy Tinción: Safranina
Aumento: 200x. Descripción: Tricoma pluricelular con pie unicelular.



Figura No. 182 Diafanizado macuy Tinción: Safranina
Aumento: 200x. Descripción: Tricoma simple con extremo romo y base de dos células.



Figura No. 183 Diafanizado macuy Tinción: Safranina
Aumento: 200x. Descripción: Tricoma unicelular.



Figura No. 184 Diafanizado macuy Tinción: Safranina
Aumento: 200x. Descripción: Tricoma pluricelular con base de cuatro células.



Figura No. 185 Diafanizado macuy Tinción: Safranina
Aumento: 400x. Descripción: Base de tricoma unicelular con cuatro y seis células.

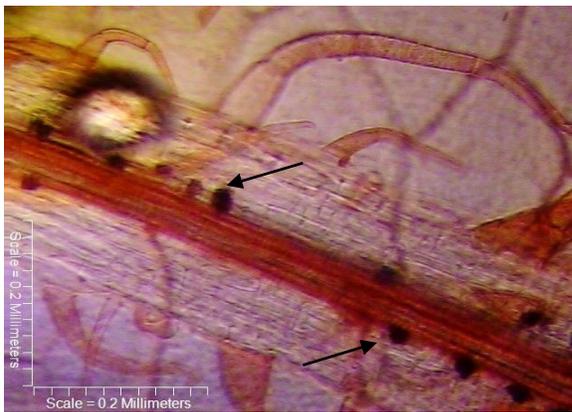


Figura No. 186 Diafanizado macuy Tinción: Safranina
Aumento: 200x. Descripción: Drusas en nervadura central.



Figura No. 187 Disociado hoja macuy Tinción: Safranina
Aumento: 400x. Descripción: Tricoma con pie unicelular.

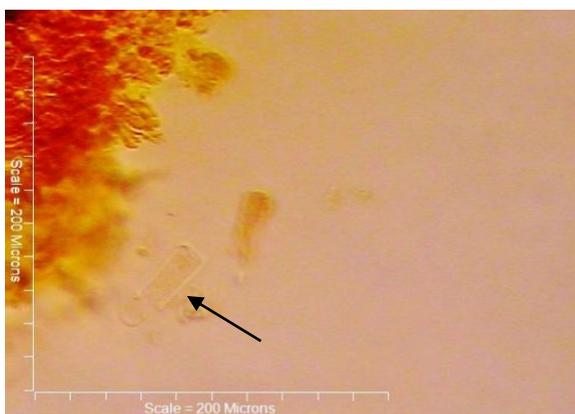


Figura No. 188 Disociado hoja macuy Tinción: Safranina
Aumento: 400x. Descripción: Tricoma con extremo romo.

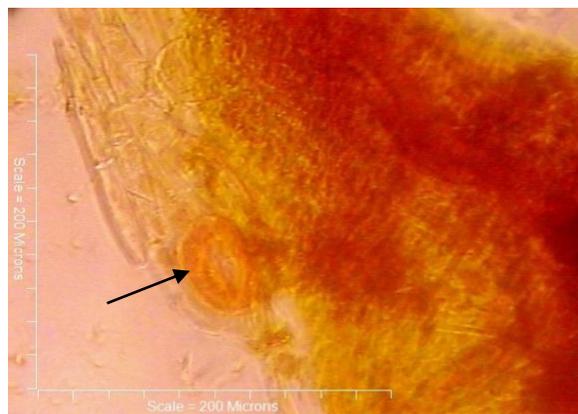


Figura No. 189 Disociado hoja macuy Tinción: Safranina
Aumento: 400x. Descripción: Base de tricoma.



Figura No. 190 Disociado hoja de macuy Tinción: Safranina
Aumento: 200x. Descripción: Abundantes fibroesclereidas.



Figura No. 191 Disociado hoja macuy Tinción: Safranina
Aumento: 400x. Descripción: Braquiesclereida.



Figura No. 192 Disociado hoja macuy Tinción: Safranina
Aumento: 400x. Descripción: Células de esclerénquima con pared refringente.

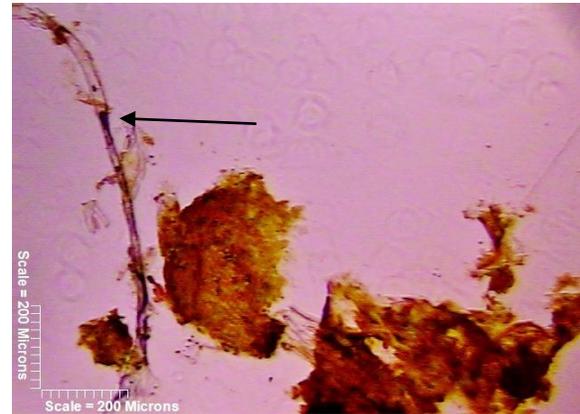


Figura No. 193 Disociado hoja macuy Tinción: Safranina
Aumento: 200x. Descripción: Fibra.



Figura No. 194 Disociado hoja macuy Tinción: Safranina
Aumento: 400x. Descripción: Célula del parénquima.

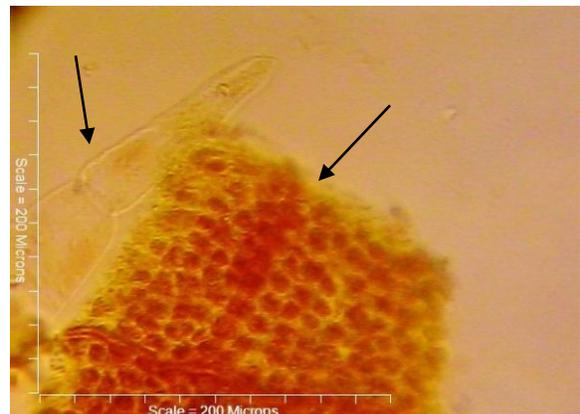


Figura No. 195 Disociado hoja macuy Tinción: Safranina
Aumento: 400x. Descripción: Fragmento de células en empalizada, vista superficial y tricoma pluricelular.



Figura No. 196 Disociado hoja macuy Tinción: Safranina
Aumento: 400x. Descripción: Fragmento de haz vascular
(floema y xilema)

7.4.4 Tamizaje Histoquímico.

7.4.4.1 Alcaloides: Se observa una reacción positiva en la epidermis y en el xilema del tallo (Figura No. 197), en el caso del pecíolo se observa una reacción negativa para alcaloides (Figura No. 198), mientras que el caso de la hoja se observa reacción positiva en el parénquima empalizada (Figura No. 199).

7.4.4.2 Saponinas: Se observa reacción positiva para saponinas en el tallo, pecíolo y en la hoja de macuy (Figura No. 200, 201 y 202).

7.4.3.3 Taninos: No se evidenciaron taninos en el tallo, pecíolo ni en la hoja (Figura No. 203).

7.4.4.4 Almidón: Se observan granos de almidón en el parénquima clorenquimático del tallo del macuy (Figura No. 204), mientras que en el pecíolo se evidencian en el parénquima (Figura No. 205), el caso de la hoja es una reacción negativa para almidón (Figura No. 206).

7.4.4.5 Grasas y aceites: En el tallo de macuy se observa una reacción positiva en la epidermis y en el xilema (Figura No. 207), en el caso del pecíolo se hacen evidentes únicamente en la cutícula de la epidermis (Figura No. 208) y por último en la hoja se observa una reacción positiva en la epidermis de la nervadura central (Figura No. 209).

7.4.4.6 Mucílagos: Tanto en el tallo como en el pecíolo de macuy se observa una reacción positiva para mucílagos en la epidermis y parénquima (Figura No. 210 y 211), mientras que en la hoja se observa una reacción positiva en la epidermis adaxial, y en epidermis y xilema de la nervadura central (Figura No. 212).



Figura No. 197 Tallo macuy Reactivo: Dragendorff. Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para alcaloides en a. Epidermis, b. Xilema



Figura No. 198 Pecíolo macuy Reactivo: Dragendorff. Aumento: 100x. Descripción: Reacción negativa para alcaloides.

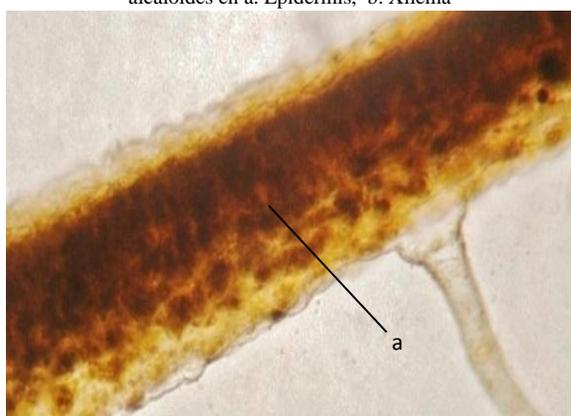


Figura No. 199 Hoja macuy. Reactivo: Dragendorff. Aumento: 400x. Descripción: Reacción positiva para alcaloides en a. Parénquima en empalizada

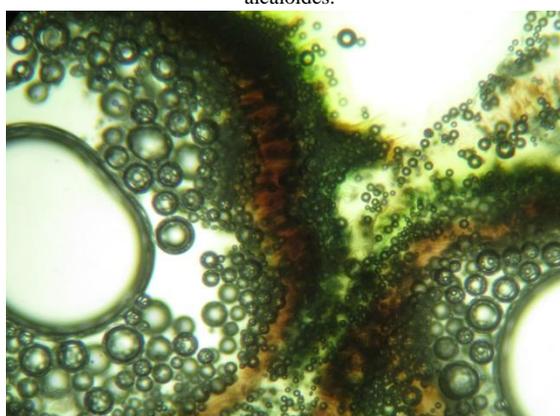


Figura No. 200 Tallo macuy Reactivo: ácido sulfúrico. Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para saponinas

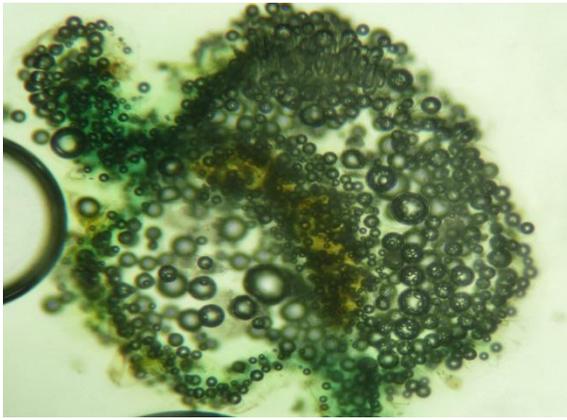


Figura No. 201 Pecíolo macuy. Reactivo: ácido sulfúrico.
Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para saponinas

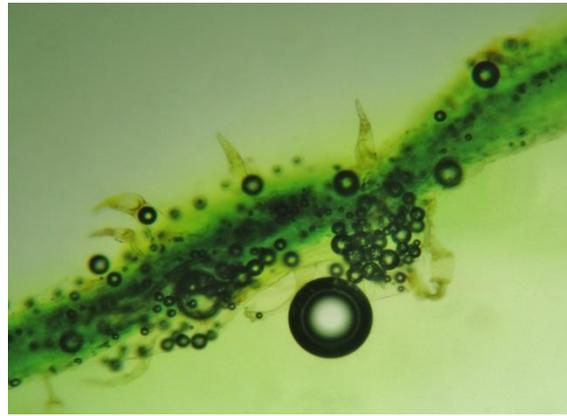


Figura No. 202 Hoja macuy. Reactivo: ácido sulfúrico.
Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para saponinas



Figura No. 203 Hoja macuy Reactivo: Sulfato férrico.
Aumento: 200x. Descripción: Reacción negativa para taninos

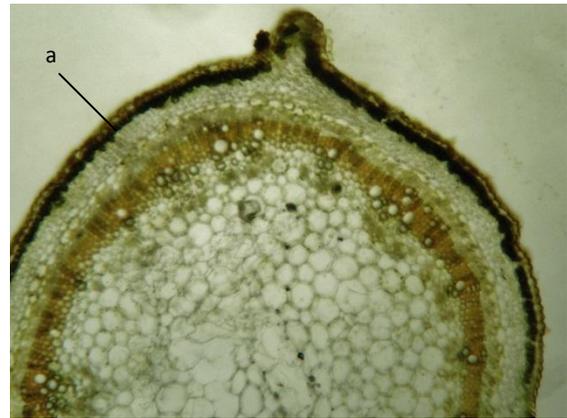


Figura No. 204 Tallo macuy. Reactivo: Lugol.
Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para almidón en a. Parénquima cloroenquimático

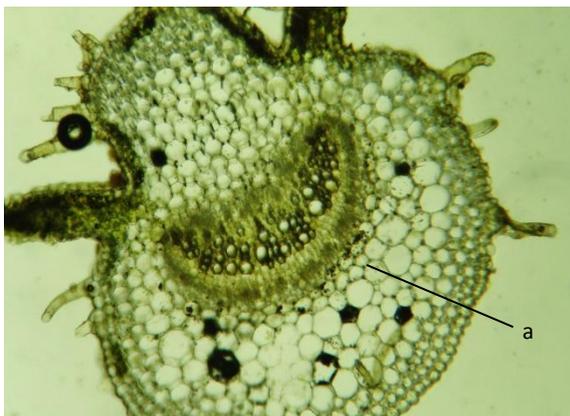


Figura No. 205 Pecíolo macuy. Reactivo: Lugol.
Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para almidón en a. Parénquima

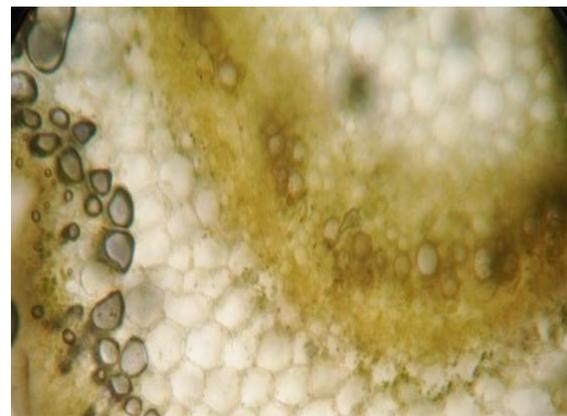


Figura No. 206 Hoja macuy Reactivo: Lugol. Aumento: 400x.
Descripción: Reacción negativa para almidón



Figura No. 207 Tallo macuy Reactivo: Sudán IV
Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para grasa y aceites en a. Epidermis, b. Xilema



Figura No. 208 Pecíolo macuy. Reactivo: Sudán IV.
Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para grasas y aceites en a. Cutícula de la epidermis.



Figura No. 209 Hoja macuy. Reactivo: Sudán IV. Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para grasas y aceites en a. Epidermis

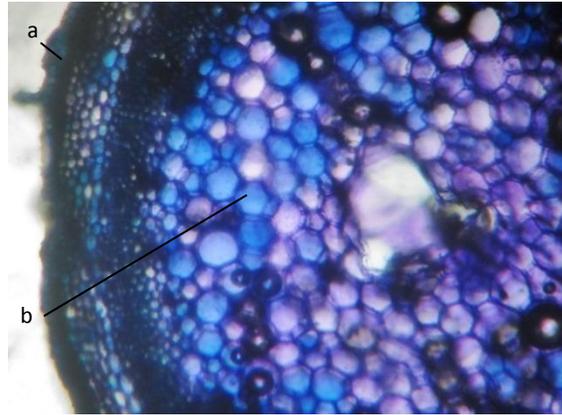


Figura No. 210 Tallo macuy Reactivo: Azul de cresil 1%
Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para mucílagos en a. Epidermis y b. Parénquima.

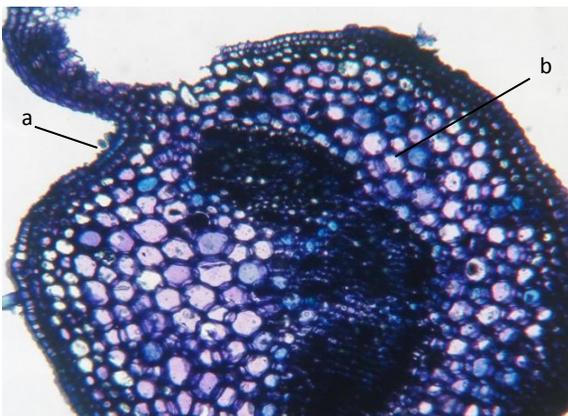


Figura No. 211 Pecíolo macuy Reactivo: Azul de cresil 1%
Aumento: 100x. Descripción: Reacción positiva para mucílagos en a. Epidermis y b. Parénquima.

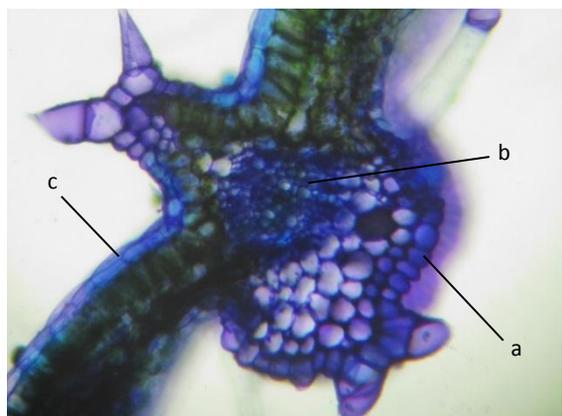
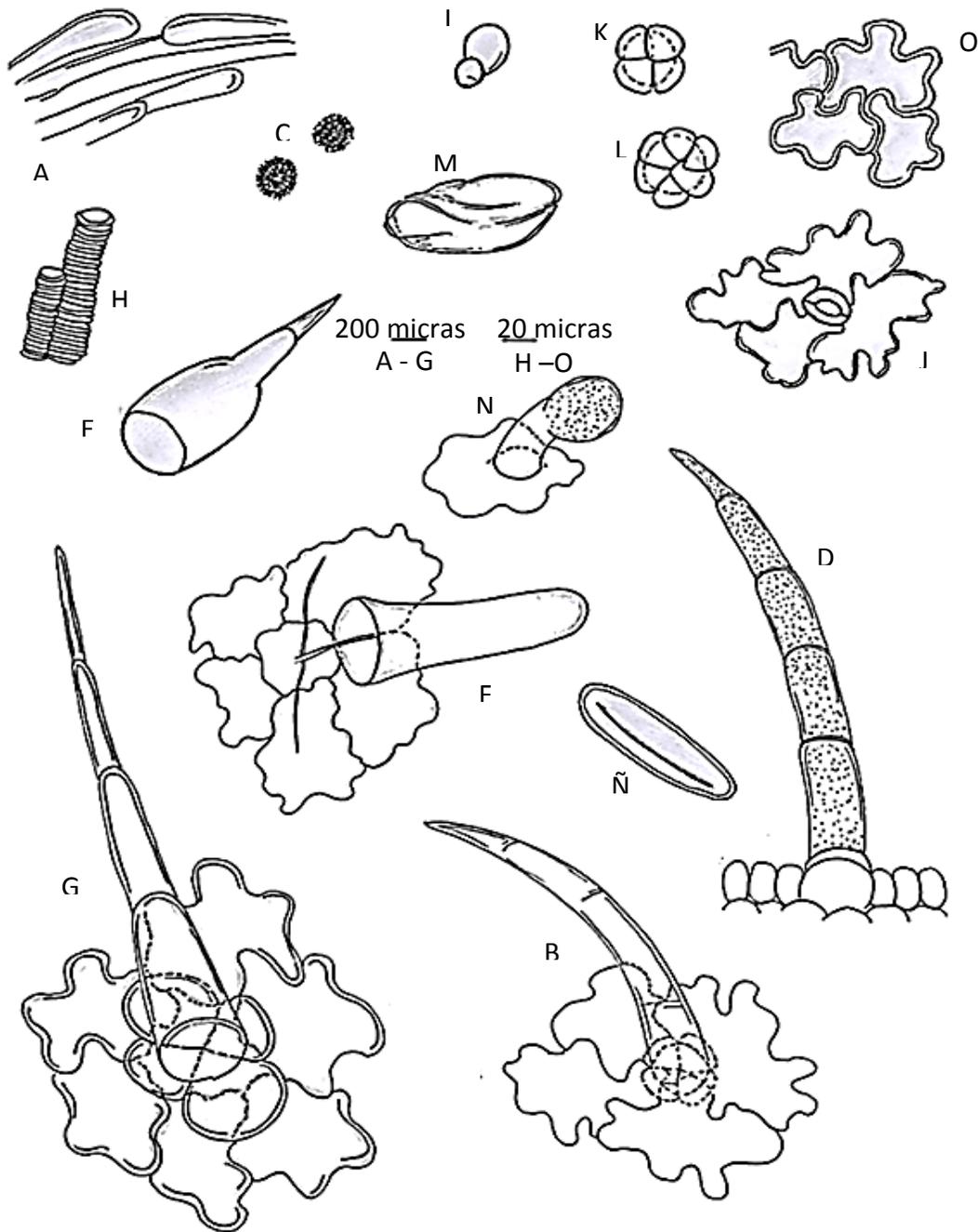


Figura No. 212 Hoja macuy Reactivo: Azul de cresil 1%
Aumento: 200x. Descripción: Reacción positiva para mucílagos en a. Epidermis y b. Xilema, c. Epidermis adaxial.

Figura No. 213 Cartilla micrográfica



A - O: A: Fibroesclereidas, B: Tricoma unicelular, C: Drusas, D: Tricoma pluricelular verrucoso, E: Tricoma pluricelular con pie unicelular, F: Tricoma simple con extremo romo, G: Tricoma pluricelular con base de cuatro células, H: Fragmento de haz vacular (floema y xilema), I: Tricoma globoso de pie corto unicelular, J: Estomas anomocíticos en epidermis abaxial, K: Base de tricoma unicelular con cuatro células, L: Base de tricoma unicelular con seis células, M: Braquiesclereida, N: Tricoma glandular de pie unicelular, Ñ: Células de esclerénquima, O: Epidermis abaxial con células sinuosas.

7.5 Pruebas de identidad: Tamizaje fitoquímico e histoquímico y comparación con cromatografías de capa fina.

La tabla 1 muestra una síntesis de los resultados obtenidos en las pruebas histoquímicas para la determinación de metabolitos secundarios en las diferentes partes de las especies de estudio, siendo estas raquis, peciólulo y foliolo de *G. sepium*; y tallo peciolo y hoja en las otras tres especies, además de flor en *F. pandurata* y semilla en el caso de *C. argyrosperma*.

Tabla No. 1 Tamizaje histoquímico y localización de los metabolitos en las estructuras analizadas.

Metabolito	Reactivo	<i>G. sepium</i>			<i>F. pandurata</i>			<i>C. argyrosperma</i>			<i>S. nigrescens</i>			
		Raquis	Peciólulo	Foliolo	Tallo	Peciolo	Hoja	Flor	Tallo	Peciolo	Hoja	Tallo	Peciolo	Hoja
Alcaloides	Dragendorff	+ ^a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	- ^b	+
Saponinas	Ácido sulfúrico concentrado	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+
Taninos	Sulfato férrico	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Almidón	Lugol	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-
Grasas y Aceites	Sudán IV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mucilagos	Azul de cresil 1 %	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+

a:Positivo; b: Negativo.

(n= 5 para cada planta y órgano).

Fuente: Datos experimentales.

La tabla 2 muestra los resultados obtenidos mediante tamizaje fitoquímico de las cuatro especies de estudio y se comparan dichos resultados con los obtenidos por cromatografía en capa fina en el estudio FODECYT 28 – 2007. Los metabolitos determinados fueron alcaloides, taninos, saponinas, cumarinas, antraquinonas, flavonoides y antocianinas. El tamizaje de cumarinas mediante cromatografía de capa fina en el estudio FODECYT 28 -

2007 permite evidenciar presencia de umbeliferona, ácido p-cumárico y cumarinas (estándar de canela).

Tabla No. 2 Tamizaje fitoquímico (prueba en tubo) y comparación con cromatografías FODECYT 28 – 2007.

Metabolito Secundario	Tamizaje fitoquímico						Cambio esperado	Cromatografías FODECYT 28 – 2007.			
	<i>G. sepium</i> *	<i>F. pandurata</i>	<i>C. argyrosperma</i>			<i>S. nigrescens</i>		<i>G. sepium</i> *	<i>F. pandurata</i>	<i>C. argyrosperma</i>	<i>S. nigrescens</i>
			S ^a	T ^b	SST ^c						
Alcaloides	+ ^d	+	- ^e	-	-	+	Presencia de precipitado y/o turbidez.	NR ^f	NR	NR	NR
Antraquinonas	-	-	-	-	-	-	Cambio de coloración.	-	-	-	-
Cumarinas	+	+	-	-	-	+	Fluorescencia.	-	+	-	-
Flavonoides y Antocianinas	+	+	-	-	-	+	Cambio de color y/o formación de precipitado.	+	+	-	+
Taninos	-	-	-	-	-	-	Cambio de color y/o formación de precipitado.	NR	NR	NR	NR
Saponinas	-	-	-	-	-	+	Espuma mayor a 3 cm ^g , después de 30 minutos.	NR	NR	NR	NR

a: Semilla; b: Tegumento; c: Semilla sin tegumento; d:Positivo; e: Negativo; f: No realizado; g: centímetros. (n= 5 para cada planta, en el caso de los datos experimentales).

*En el caso de *Gliricidia sepium* la parte de la planta analizada en tamizaje fitoquímico fueron foliolos y en el proyecto FODECYT 28-2007 se analizó la flor.

Fuente: Cáceres, A. (2009). Actividad Antioxidante de diez especies nativas como posibles preservantes de alimentos y fuente para el desarrollo de nutriceúticos. Guatemala: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT), 134pp y datos experimentales.

7.6 Pruebas de pureza: cenizas y humedad.

Se determinó el porcentaje de cenizas totales, dicha medición se realizó por quintuplicado y a partir de estos datos se calcularon los valores estadísticos, en el caso de

las muestras que sobrepasaron el porcentaje de cenizas totales establecido, fue necesaria la determinación de las cenizas ácidas.

Tabla No.3 Valores estadísticos del porcentaje de cenizas totales y ácidas de las plantas de estudio.

Tipo de ceniza	Valores calculados	Material vegetal					
		<i>G. sepium</i>	<i>F. pandurata</i>	<i>C. argyrosperma</i>			<i>S. nigrescens</i>
				S ^a	T ^b	SST ^c	
Cenizas totales	Media	8.38	10.82	4.15	1.62	4.58	11.37
	Desviación estándar	0.11	0.35	0.13	0.12	0.06	0.22
	Mediana	8.37	10.70	4.15	1.63	4.58	11.33
	Rango	8.28-8.57	10.44-11.39	4.00-4.31	1.45-1.74	4.50-4.68	11.11-11.67
Cenizas ácidas	Media	1.79	1.28				1.55
	Desviación estándar	0.14	0.10	NA ^d	NA	NA	0.10
	Mediana	1.79	1.30				1.58
	Rango	1.63-1.97	1.11-1.36				1.44-1.69

a: Semilla; b: Tegumento; c: Semilla sin tegumento; d: No aplica.

(n= 5 para cada planta).

Fuente: Datos experimentales.

Se midió por quintuplicado el porcentaje de humedad del material seco de cada una de las especies de estudio luego de ser secadas durante aproximadamente 24 horas en horno.

Tabla No.4 Valores estadísticos del porcentaje de humedad de las plantas de estudio.

Material Vegetal	Media	Desviación Estándar	Mediana	Rango
<i>G. sepium</i>	8.67	0.48	8.78	7.83-9.08
<i>F. pandurata</i>	5.52	0.13	5.47	5.40-5.66
<i>C. argyrosperma</i> S ^a	2.43	0.34	2.36	1.97-2.87
<i>C. argyrosperma</i> T ^b	7.50	0.83	7.32	6.61-8.83
<i>C. argyrosperma</i> SST ^c	4.87	0.27	4.89	4.50-5.12
<i>S. nigrescens</i>	5.20	0.67	5.37	4.30-6.08

a: Semilla; b: Tegumento; c: Semilla sin tegumento.

(n= 5 para cada planta).

Fuente: Datos experimentales.

7.7 Prueba de toxicidad.

De las cuatro plantas de estudio, únicamente *Solanum nigrescens* mostró actividad frente a *Artemia salina* luego de realizar 4 diluciones (1:2, 1:4, 1:8 y 1:16) a partir de una concentración inicial de 1 mg/mL, obteniéndose un CL₅₀ de 0.35 mg/mL con un límite de confianza al 95% de 0.30 a 0.35 mg/mL. Las otras tres plantas al no mostrar actividad biosida, no se obtuvieron valores de CL₅₀.

8. DISCUSIÓN

Con el fin de establecer las características de identidad y pureza, útiles para el control de calidad de las plantas de interés medicinal, conocidas popularmente como madrecacao, loroco, pepitoria y macuy; estudiadas en el proyecto FODECYT 28-2007 y que forman parte de la base de datos del departamento de Citohistología, se planteó este estudio para ampliar la información recabada sobre dichas plantas. Por lo cual se evaluaron los caracteres micromorfológicos que permiten identificar estructuras características y garantizar la ausencia de materia extraña o algún tipo de adulterante en la droga seca. Los caracteres anatómicos de mayor importancia para la separación de especies son la ubicación de los estomas, los tipos de tricomas y el tipo y disposición de los haces vasculares (Lapp, Jáuregui & Ruíz, 2004).

Las características macroscópicas que fueron observadas en las hojas (parte medicinal) de *Gliricidia sepium* al momento de la colecta del material vegetal y que fueron seleccionadas como descripción diagnóstica, coinciden con lo descrito en la literatura (Cáceres, 2009). Las características de la droga seca, constituida por los foliolos peciolados de color verde más claro en su cara abaxial, fácilmente fragmentable, de olor sutil herbal y sabor amargo; no han sido reportadas en estudios anteriormente realizados sobre esta especie.

Debido a que *G. sepium* posee hojas compuestas se analizaron las estructuras microscópicas del pecíolo, raquis, peciólulo y foliolo. Algunas de las características encontradas, principalmente a nivel del foliolo, han sido igualmente descritas en otros géneros de la familia Fabaceae. Zamora y Terrazas (2012), reportan en pecíolos de especies de *Lipinus*, células epidérmicas de forma similar a las encontradas en el presente estudio en raquis, pecíolo y peciólulo de *G. sepium*. De igual forma en nuestro estudio se encontró un raquis con contorno bilobado y una disposición de tejidos muy similar a nivel de pecíolo, raquis y nervio medio del foliolo, como fue descrito por otros autores, para la especie *Tipuana tipu* (Arambarri, Freire, Byon, Colares, Monti, Novoa & Marcelo, 2009).

En cuanto a las células epidérmicas especializadas *G. sepium* presentó únicamente tricomas no glandulares unicelulares en todas las estructuras analizadas, siendo este tipo de tricomas los que se presentan predominantemente en la familia Fabaceae (Chauhan & Daniel, 2011). Sobre la lámina del foliolo los tricomas presentaron bases en roseta de cinco a siete células, esta forma de las bases fue descrita en las especies *Lipinus aschenbornii*, *L. exaltatus*, *L. montanus* y *L. reflexus*, con la diferencia que el número de células que las conforman varía entre siete y catorce (Zamora & Terrazas, 2012).

Los estomas se observaron solamente en la cara abaxial del foliolo, estos de tipo paracítico que según Percy y Santana (1997), se encuentran presentes mayoritariamente en Fabaceae. No se observaron estomas sobre elevados ni hundidos, aunque otros estudios realizados a varias especies de la familia reportan diferentes tipos de estomas con disposición variable, estableciendo que el tipo y ubicación de los mismos obedecen a factores como la disponibilidad de agua, incidencia de la luz solar y frecuencia de los vientos (Arambarri et al., 2009).

Se observó en *G. sepium* mesófilo de tipo bifacial con parénquima en empalizada formado por una a tres capas de células, lo que es común en miembros de esta familia (Zamora & Terrazas, 2012). Cristales estiloides como los encontrados en este estudio también fueron reportados por de Lima, Cavalcanti, Mendonça, de Andrade, de Mendonça, Higinio y de Albuquerque (2003), en la especie *Indigofera microcarpa*. También fue posible observar gran cantidad de cristales prismáticos solitarios y en parejas los cuales según Arambarri (2002), además de las drusas, son un rasgo predominante de la familia Fabaceae. La caracterización de los cristales encontrados para esta especie puede ser de utilidad en el análisis de la droga vegetal procesada, ya que debido a la estabilidad que estos poseen pueden apreciarse en fragmentos o polvo de la droga, con las mismas características como cuando se observan en fresco, por lo que son un aporte importante en la

identificación y validación de la autenticidad de la droga vegetal comercializada (Arambarri, 2002).

Loroco es el nombre común que se le da a *Fernaldia pandurata* en Mesoamérica, en el caso de Guatemala según Palencia (2003), también se le da este nombre común a *Fernaldia brachypharynx*, endémica del departamento de Escuintla, en este estudio se describieron las características de importancia para *F. pandurata* específicamente.

Respecto a la droga seca de *F. pandurata* conformada por la flor, esta es de color café en diferentes tonalidades, su consistencia es dura con forma alargada, su olor es agradable, penetrante ligeramente dulce y sabor levemente amargo, en un artículo publicado se reporta que entre más madura la flor esta se vuelve más amarga (Roldán, 2007).

El caso de las características macroscópicas del tallo se observó que es una liana de base leñosa de color café de consistencia más dura que la parte en crecimiento, que es más frágil y de color verde, coincidiendo con la literatura sobre género *Fernaldia* (Morales, 2005), además el tallo al ser cortado mostró un líquido lechoso, coincidiendo con el látex blanco reportado para la familia Apocynaceae (Rzedowski & Calderón, 1998)

El pecíolo de *F. pandurata* se observó de margen entero con numerosos tricomas multicelulares y acanalado en la cara adaxial, con forma bilobada; es descrito por Alvarado (2004), como una estructura adaxialmente acanalada y glabra, esto último no coincide con lo observado, sin embargo en un estudio sobre la familia Apocynaceae de Rzedowski y Calderón (1998), se indica que las estructuras se vuelven glabrescentes con la edad; por lo que los tricomas observados se deben a que la planta utilizada era joven. En Alvarado (2004), se describen diversos tipos de margen para el pecíolo de la familia Apocynaceae, entre ellos margen entero, evidenciado en *F. pandurata*.

Las hojas simples, opuestas y alternas, corresponden a las descritas para la familia Apocynaceae por Morales (2009), además de ser densamente aterciopeladas y de color más intenso en la cara adaxial. Por medio del corte transversal de la lámina foliar se observó que el mesófilo es bifacial lo cual también se describe en un estudio de *Amsonia orientalis*, especie de la familia Apocynaceae (Akyalçin, Özen, Başaran, 2006), lo que indica que esta es una característica de la familia. Por medio del diafanizado se observaron estomas de tipo paracítico en la epidermis abaxial, características que fueron igualmente encontradas en un estudio sobre *Rauvolfia schuelii* Speg. donde también se observaron estomas de tipo anisocítico, hemiparacítico y tetracíticos (Debes, Luque, Arias & Albornoz, 2008).

El nervio medio de la hoja está conformado por epidermis con cutícula evidente en ambos lados, presentando la misma diversidad de tricomas que los descritos en la lámina foliar. Entre el parénquima del nervio medio se encuentran insertos cristales prismáticos de oxalato de calcio, en el estudio de Debes, et al. (2008), reportan la presencia de cristales de oxalato de calcio, pero en forma de drusas.

Las características macroscópicas de importancia observadas en la flor de *F. pandurata* son que los lóbulos de la corola son densa a moderadamente vellosos en la superficie adaxial, de color blanco, conspicuos y largos, de varios milímetros de longitud y las inflorescencias estrictamente racemosas, lo cual coincide con lo reportado por Morales (2005). Además de lo antes descrito también se observó que tanto el cáliz como la corola son de tipo pentámera y la unión de los pétalos es de tipo simpétalo al igual que lo reportado por Rzedowski y Calderón (1998).

En corte trasversal de la antera fue posible observar los sacos polínicos conteniendo los granos de polen que miden entre 80 y 90 micras con cuatro a cinco aberturas tipo poro.

En el disociado se observaron granos de polen con un tamaño muy similar, pero con morfología diferente, esto debido al procedimiento que implica la técnica, además fue posible observar tricomas papilares los cuales no han sido reportados en otros estudios para esta especie.

La droga seca de *Cucurbita argyrosperma* consiste en la semilla sin tegumento externo, de color verde olivo en el exterior y blanco en el interior con olor sutil ácido y consistencia dura. Ninguna de las características descritas han sido reportadas en estudios previos sobre esta especie.

Las características más importantes para la determinación de la familia de Cucurbitaceae provienen de la morfología del androceo y gineceo, pedúnculo, tipos de zarcillos, estructura del polen y la micromorfología de la cubierta de la semilla; además de los estomas, tricomas, células epidérmicas, subsidiarias y guardianas de la hoja (Rodríguez, Montes, Rangel, Mendonza & Latournerie, 2009; Abdulrahaman, Oyedotum & Oladele, 2011; Ajmal, Al-Hemaid, Pandey & Lee, 2013). Los caracteres macroscópicos de la planta como de la semilla de *Cucurbita argyrosperma* descritos coinciden con lo reportado por la literatura (Lira, 2005). La observación macro y microscópica del pedúnculo, zarcillos, flor, fruto y estructura del polen no se llevó a cabo debido a que la parte de la planta de interés en este estudio es la semilla. Sin embargo, se apreciaron las características microscópicas de tallo, pecíolo y hoja para una identificación más completa de esta planta.

Entre las características micromorfológicas de tallo y pecíolo de *C. argyrosperma* se observa una sola capa de epidermis con abundantes tricomas, lo cual coincide con lo descrito por Agbagwa y Ndukwu (2004), para algunas especies de *Cucurbita*. Por otra parte, los haces vasculares son de tipo biclateral, al igual que en la hoja, que es característico de la familia Cucurbitaceae (Flores, 1999; Mercy, Ajuru & Okoli, 2013). Según lo reportado por Agouru y Okoli (2012), el número de capas de tejido

parenquimático y haces vasculares que se encuentran en el tallo y pecíolo permiten separar entre especies de la familia. El tallo de *C. argyrosperma* posee de diez a doce capas de parénquima, diferenciándose así de *C. moschata* y *C. máxima*, que poseen de tres a cuatro, y *C. pepo* de dos a tres (Agbagwa & Ndukwu, 2004).

Las características que se observaron en el mesófilo de la hoja bifacial de *C. argyrosperma* son comunes para varias de las especies incluidas en el género *Cucurbita*, por lo cual esto es una característica del mismo (Agbagwa & Ndukwu, 2004). *C. argyrosperma* muestra en el diafanizado de la hoja células epidérmicas con pared irregular de bordes sinuosos en la cara abaxial, mientras que en la adaxial son rectos, lo cual coincide con lo descrito por otros autores como característica de las hojas de varias especies de la familia Cucurbitaceae, las cuales poseen una epidermis de pared irregular o poligonal con células anticlinales curvas, rectas, redondeadas u onduladas de diversos tamaños (Abdulrahman et al., 2011). Además se observaron estomas de tipo anomocítico dispuestos únicamente en la cara abaxial, carácter variable para las especies de la familia ya que se han reportado estomas de tipo actinocítico, anisocítico, diacítico, cicloclítico, paracítico y estaurocítico, los cuales se pueden encontrar en la cara adaxial o abaxial presentando distintos tamaños (Abdulrahman et al., 2011). Además en esta especie se encontraron tricomas no glandulares de diversos tipos, aunque en el estudio realizado por Kolb y Müller (2004), se describe que la mayoría de las *Cucurbita* poseen tricomas glandulares y no glandulares como característica anatómica común de plantas superiores.

Existe una enorme variabilidad en la morfología de semillas dentro de los géneros de la familia Cucurbitaceae. La literatura reporta que la cubierta de la semilla de la familia presenta un patrón similar, mientras que las características micromorfológicas de la testa varían enormemente entre géneros y pueden ser utilizadas como marcadores para la identificación (Ajmal et al., 2013). *C. argyrosperma* presenta un exospermo o cubierta reticulada y no pilosa, lo cual concuerda con la literatura ya que otros autores reportan

que esta familia puede presentar una cubierta rugulada, reticulada o coliculada, pilosa o no (Ajmal et al., 2013). En los cortes longitudinales y transversales de semilla se muestra que los diferentes tejidos que la conforman son los mismos que se han reportado por otros autores y es una característica general para la familia Cucurbitaceae (Flores, 1999; Agbagwa & Ndukwu, 2004; Lema, 2009).

Las características macroscópicas del tallo observadas durante la colecta de *Solanum nigrescens* fueron, su aspecto piloso, rígido generalmente erecto pudiendo alcanzar una altura de hasta 1.5 metros, siendo estas características ya reportadas para otras especies del género *Solanum* (García, 2011). La droga seca de *S. nigrescens* está conformada por hojas pecioladas con tonalidad verde oscuro y algunas de color café, de aroma herbal penetrante y sabor desagradable amargo, de igual forma que para las otras plantas estudiadas no se encontró reportes previos sobre estas características.

Para *S. nigrescens* se realizaron cortes transversales del tallo que muestran una capa de epidermis con una cutícula bastante visible, esta característica es evidente en varias especies de *Solanum* como es el caso de *S. chenopodioides* (Figueroa, Dorotti & Cosa 2008).

El tejido de sostén del tallo de *S. nigrescens* muestra varios estratos similares para el género *Solanum*, entre los más importantes su colénquima de tipo angular, algo característico de la especie son sus capas de tejido esclerenquimático que rodean el haz vascular, ya que para algunas especies este tejido está presente en menor cantidad o incluso ausente (Figueroa et al., 2008).

Según Flores (1999), es característico encontrar en todas las partes de las plantas del género *Solanum* haces de tipo biclateral, para *S. nigrescens* todas sus partes muestran

esta disposición del floema y xilema pero dependiendo de la parte de la planta el haz tiene diferente forma.

Otra de las características observadas para el pecíolo de *S. nigrescens* son las extensiones laterales descritas como alas, que tienen diferente longitud dependiendo de la altura a la que se realiza el corte ya que entre más cerca de la hoja, las alas tienen mayor longitud. Esta característica es común para las especies del género *Solanum* esto debido a que las hojas tiene una base de tipo atenuada (Benítez & Ferrarotto, 2012).

En este estudio *S. nigrescens* muestra a nivel del pecíolo una epidermis uniestratificada con células de forma redondeada, siendo la forma de estas células una característica útil para diferenciarla entre otras especies; ya que en el estudio de “Micromorfología y anatomía del pecíolo en especies de *Solanum*, sección Geminata” se hace referencia a las características del pecíolo de 18 especies de *Solanum* en Venezuela, donde definen la epidermis de esta estructura como uniestratificada resaltando que la forma de las células varía según la especie entre rectangulares, redondeadas y poligonales (Benítez & Ferrarotto, 2012).

Para *S. nigrescens* los tricomas que se muestran en mayor cantidad en el pecíolo son los de tipo pluricelular verrucoso, en el estudio de Benítez y Ferrarotto (2012), se logran encontrar diferencias entre las especies de *Solanum* por los tipos de sus tricomas en pecíolo, pero solo se hace referencia a tricomas glandulares, simples y ramificados.

En el diafanizado *S. nigrescens* mostró estomas de tipo anomocítico únicamente en la cara abaxial lo cual sugiere que el lugar de procedencia posee condiciones óptimas para el crecimiento de la planta, esto debido a que es común encontrar hojas anfiestomáticas en las plantas del género *Solanum* que le permiten resistir condiciones de déficit o exceso de agua, por lo que esta característica está relacionada con la adaptación al ambiente

(Jáuregui & Benítez, 2002). En diferentes especies de *Solanum* es común encontrar diversos tipos de estomas predominando los anomocíticos y los anisocíticos, siendo más abundantes los primeros (Figuroa et al., 2008).

En su hoja *S. nigrescens* mostró tricomas glandulares y no glandulares de diversos tipos, como los reportados en la hoja de varias especies del género *Solanum* por Figuroa et al., (2008); Cosa, Hadid, Dorotti y Bruno (2002), por lo cual la presencia de estos es característica del género.

Cerca del nervio medio de la hoja de *S. nigrescens* se observó por medio del diafanizado acumulación de cristales de oxalato de calcio en forma de drusas arenosas. En el estudio de Granáda y Benítez (2004), se describe en cuatro especies del género *Solanum* este tipo de cristales como arenas cristalíferas de mesófilo mostrando diferencia en cuanto al número dependido de su hábitat de crecimiento.

Para garantizar la calidad del material vegetal previo a determinar los metabolitos y toxicidad de las plantas de estudio, se realizaron pruebas de pureza las cuales incluyen cenizas totales y humedad. La determinación del porcentaje de humedad del material vegetal seco se realizó con el fin de garantizar que el secado fue apropiado, y con ello lograr una adecuada conservación evitando la proliferación de microorganismos; dicho porcentaje según la Organización Mundial de la Salud (1998), debe ser menor del 10%. Como se observa en la tabla No. 4 las especies de estudio cumplen con el porcentaje establecido, dejando apto el material para las pruebas posteriores, ya que las cuatro especies de estudio presentaron un porcentaje de humedad menor a 10, además el valor de desviación estándar obtenido indica la precisión de los valores entre cada medición, la media y la mediana son muy parecidas entre si haciendo evidente una distribución simétrica de los resultados indicando la confiabilidad de las mediciones y la variación

mostrada entre cada planta nos indica que la humedad luego del secado es característico de las especies.

Además se realizó la determinación de cenizas totales para establecer la cantidad de materia inorgánica presente en el material vegetal seco y así detectar adulteraciones por otras plantas, fertilizantes inorgánicos y materia extraña proveniente del suelo; por lo que dicho parámetro debe estar por debajo de un 5%, (Martínez, Querevalú, De Los Ríos & Ruiz, 2007). Como se observa en la tabla No. 3 *G. sepium*, *F. pandurata* y *S. nigrescens* mostraron un porcentaje por encima de este valor, por tal motivo fue necesaria la medición de cenizas ácidas, obteniendo como resultado el porcentaje estipulado y demostrando que el alto contenido de cenizas totales es debido a minerales y no a contaminantes (Salas, García, Cuéllar & Scull, 2012). Cabe resaltar que tanto en la determinación de las cenizas totales, como en las cenizas ácidas se calculó la desviación estándar, evidenciando muy poca dispersión de los resultados de cada medición respecto a la media; además la media y la mediana no son muy diferentes evidenciando distribuciones bastante simétricas dando confiabilidad a las mediciones, por lo cual el valor obtenido de cenizas en este estudio es útil en la caracterización de las especies.

Los metabolitos son compuestos químicos que las plantas producen, se clasifican como primarios y secundarios, siendo estos últimos sintetizados debido a influencias del entorno y la importancia de determinarlos radica en que algunos están asociados a propiedades medicinales y pueden ser útiles para la identificación de algunas plantas (Díaz, 2009).

De los metabolitos examinados, *G. sepium* presentó reacciones positivas para alcaloides, taninos, mucílagos, cumarinas, flavonoides, grasas y aceites. Muchos estudios han determinado que *G. sepium* posee actividad antimicrobiana frente a varios microorganismos y esto ha sido atribuido a la presencia de estos metabolitos. Según

Zuluaga, Upegui, Rodríguez, Ocampo, Restrepo, Parra y de Galvis (2005), hacen mención que *G. sepium* posee terpenos, flavonoides, fotocumarinas, taninos, lignanos, benzenoides, alcanos, saponinas, glúcidos y fenilpropanoides los cuales poseen acción antimicótica. También en un estudio sobre la evaluación de la actividad antibacterial del aceite esencial de las hojas de *G. sepium*, reporta una pronunciada actividad contra bacterias gram positivas y negativas (Beena & Joji, 2010). Además se le ha atribuido a *G. sepium* actividad antihelmíntica probablemente por las lecitinas (tipo de grasa) que posee, las cuales tienen propiedades inhibitorias en el desarrollo de helmintos (Sousa, Falcao, Barbosa, Melo & Batista, 2013).

En *F. pandurata* a nivel de tallo, pecíolo y hoja se determinó histoquímicamente la presencia de alcaloides, saponinas, almidón, mucílagos, grasas y aceites, sin embargo a ninguna de las estructuras antes mencionadas se le han atribuido propiedades medicinales, inclusive existen reportes que indican que *F. pandurata* es tóxica posiblemente por alcaloides como la loroquina y la lorocina (Palencia, 2003). En el caso de la flor se encontró la presencia de alcaloides, grasas, aceites, cumarinas, flavonoides y antocianinas, y se le atribuye únicamente la propiedad de estimular la producción de leche materna y actividad antioxidante (Chízmar, 2009; Cáceres, 2009). La estimulación de la producción de la leche materna puede asociarse a la presencia de flavonoides, ya que la estimulación se debe a sustancias presentes en las plantas denominadas fitoestrógenos, los cuales son principalmente isoflavonas, un tipo de flavonoide de estructura muy similar a los estrógenos humanos que tienen la capacidad de unirse a los receptores de estrógenos en el organismo, (Romero, Tarragó, Muñoz, Arista & Rosado, 1996). Respecto a la actividad antioxidante reportada para *F. pandurata*, puede asociarse tanto a la presencia de flavonoides y antocianinas y/o a la presencia de cumarinas (Cáceres, 2009).

La familia Cucurbitaceae posee varios compuestos con potencial terapéutico o tóxico; ninguno de los metabolitos determinados en el tamizaje fitoquímico de semilla de *C.*

argyrosperma pudo relacionarse con sus propiedades terapéuticas, ya que para todos ellos se obtuvo un resultado negativo. Cabe resaltar que la determinación de terpenos en esta parte de la planta hubiera sido de utilidad, ya que para la familia Cucurbitaceae se ha reportado que posee cucurbitacinas, tipo de terpeno que le da sabor amargo a las plantas con acción nematocida (Almeida, 2002; Sepúlveda, Porta & Rocha, 2003).

Las saponinas se han reportado en la familia Solanaceae como un metabolito al que se le atribuyen propiedades anticancerígenas, antimicrobianas y hemolíticas, además de elevar el número de anticuerpos séricos, entre otras (Díaz, 2009) *S. nigrescens* mostró un resultado positivo en ambos métodos para la presencia de saponinas, las cuales en esta especie se relacionan únicamente con la capacidad de aumentar anticuerpos séricos (Cáceres, 1996).

La determinación de cumarinas se llevó a cabo mediante la prueba de fluorescencia, que es un tamizaje general que permite evidenciar si hay presencia de cualquier tipo de cumarina, dicho tamizaje fue comparado con la cromatografía realizada en el estudio FODECYT 28 – 2007 donde fueron tamizados el ácido p-cumárico y la umbeliferona (estándar de canela), según se muestra en la tabla No.2 se observa que *S. nigrescens* tuvo un resultado negativo en la cromatografía, por lo cual se puede decir que esta especie no posee ácido p-cumárico ni umbeliferona, sino que posee otro tipo de cumarinas que son responsables del resultado positivo para la prueba de fluorescencia y a las cuales se les pueden atribuir propiedades antibacterianas, como las demostradas in vitro por medio de la decocción de las hojas frente a *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, y *Streptococcus pyogenes* (Cáceres, 1996).

La presencia de flavonoides se ha asociado en el tratamiento de enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios y antialérgicos, (Cartaya & Reynaldo, 2001, Cuevas, Antezana & Winterhalter, 2008), por lo que el resultado positivo de este

metabolito para *S. nigrescens* en el método fitoquímico se relaciona con las propiedades de sus hojas como desinflamatorio (Cáceres, 1996).

En la determinación de la toxicidad aguda de los extractos etanólicos de las plantas de estudio sobre *Artemia salina*, fue empleado un blanco del solvente para garantizar que la toxicidad mostrada no fuera a causa de este, sino a la presencia de metabolitos secundarios. Como se observa en los resultados, los extractos de *G. sepium*, *F. pandurata* y *C. argyrosperma* no mostraron actividad biocida, por tal razón no fue posible calcular su CL_{50} . En el caso de *S. nigrescens* según el porcentaje de nauplios muertos en cada dilución se obtuvo una CL_{50} de 0.35 mg/mL el cual es equivalente a 3500 $\mu\text{g/mL}$, por lo cual dicho extracto no es considerado tóxico ya que un extracto es activo cuando su CL_{50} es menor a 1000 $\mu\text{g/mL}$ indicando que la actividad biocida se logra a bajas concentraciones (Mongelli, Coussio & Ciccía, 1995).

Según Silva, Nascimento, Batista, Agra & Camara (2007), la actividad biocida del género *Solanum* es atribuida a la presencia de metabolitos como alcaloides y saponinas, lo cual coincide con lo encontrado para *S. nigrescens* en este estudio.

9. CONCLUSIONES

- 9.1. Fue posible establecer parámetros diagnósticos macroscópicos y microscópicos para la correcta identificación de las plantas de estudio, siendo los microscópicos los más importantes.
- 9.2. Los parámetros microscópicos de relevancia, útiles para el control de calidad, encontrados en la droga vegetal constituida por hojas de *G. sepium* son la presencia de tricomas no glandulares unicelulares, estomas paracíticos y cristales estiloides y prismáticos solitarios.
- 9.3. La droga vegetal de *F. pandurata* está constituida por la flor que posee polen con aperturas tipo poro de un tamaño aproximado de 60 a 80 micras, tricomas papilares y los sépalos y pétalos presentan estomas de tipo paracíticos al igual que todo el filoma siendo estos el caracteres útiles en el control de calidad.
- 9.4. Para la correcta identificación de la droga vegetal de *C. argyrosperma* constituida por semilla se debe tomar en cuenta el tipo de cubierta la cual es irregular no pilosa, con superficie reticulada y ondulaciones.
- 9.5. Entre las características más importantes determinadas en la droga vegetal de *S. nigrescens* constituidas por las hojas pecioladas son los estomas anomosíticos, cristales de oxalato de calcio en forma de drusas y la variedad de tricomas de tipo unicelular, pluricelular verrucoso, pluricelular de pie unicelular, simple de extremo romo, pluricelular de base de cuatro células, globoso de pie corto unicelular y glandular de pie unicelular.

- 9.6. En *F. pandurata* la estimulación de la producción de la leche materna es posible asociarla a la presencia de flavonoides y su actividad antioxidante a los flavonoides y las antocianinas y/o a la presencia de cumarinas.
- 9.7. En *S. nigrescens* la capacidad de aumentar anticuerpos séricos es asociado a la presencia de saponinas y las propiedades antibacterianas, y desinflamatorias a la presencia de cumarinas y flavonoides respectivamente.
- 9.8. Ninguno de los extractos de las plantas estudiadas presentó una actividad importante en la prueba de toxicidad aguda frente a larvas de *Artemia salina*.
- 9.9. Todas las materias vegetales utilizadas para el estudio reunieron las características de pureza recomendadas por OMS.

10. RECOMENDACIONES

- 10.1. Continuar con el estudio de los metabolitos secundarios que puedan estar asociados a las propiedades medicinales de las plantas analizadas.
- 10.2. Estudiar todas las partes de las plantas analizadas, que son utilizadas con fines medicinales por la población.
- 10.3. Confirmar la actividad medicinal reportada en la literatura por medio de bioensayos específicos.
- 10.4. Evaluar las condiciones del entorno y su influencia en el desarrollo de caracteres micromorfológicos y en la producción de metabolitos secundarios.
- 10.5. Continuar con estudios que aporten nuevos datos sobre las plantas estudiadas con el fin de recabar más información y así elaborar una monografía completa.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Abdulrahaman, A., Oyedotum, R., & Oladele, F. (2011). Diagnostic Significance of Leaf Epidermal Features in the family Cucurbitaceae. *Insight Botany*, 1(2), 22-27.
- Agbagwa, I., & Ndukwu, B. (2004). The value of morpho-anatomical features in the systematics of *Cucurbita* L. (Cucurbitaceae) species in Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 3 (10), 541-546.
- Aguoru, C., & Okoli, B. (2012). Comparative stem and petiole anatomy of West African species of *Momordica* L (Cucurbitaceae). *African Journal of Plant Science*, 6(15), 403-409.
- Ajmal, A., Al-Hemaid, F., Pandey, A., & Lee, J. (2013). Taxonomic significance of spermoderm pattern in cucurbitaceae. *Bangladesh Association of Plant Taxonomists*, 20(1), 61-65.
- Akyalçın, H., Özen, F., & Başaran, D. (2006). Anatomy, morphology, palynology and antimicrobial activity of *Amsonia orientalis* Decne. (Apocynaceae) growing in Turkey. *International Journal of Botany*, 2(1), 93 – 99.
- Almeida, D. (2002). *Cucurbitáceas hortícolas*. Facultad de Ciencias, Universidad do Poto. Recuperado de <http://dalmeida.com/hortnet/apontamentos/Cucurbitaceas.pdf>
- Alonzo, J (2011). *Manual de Histología Vegetal*. México: Mundi-Prensa, 171-174pp.
- Alvarado, L. (2004). Flora del Valle de Tehuacán – Cuicatlán: Apocynaceae Juss. Instituto de Biología, Universidad Autónoma de México, 38, 1- 57.
- Arambarri, A. (2002). *Morfología, Anatomía y Formaciones Cristalinas en Especies del Género Senna, Sección Clamaefistila de la Argentina (Leguminosae-Caesalpinoideae-Casseieae-Cassinae)*. (Tesis Doctoral). Facultad de Ciencias Exactas, Universidad nacional de la Plata, Argentina.
- Arambarri, A., Freire, S., Byon, N., Colares, N., Monti, C., Novoa, C., & Marcelo, M. (2009). Morfoanatomía foliar de árboles foliares de la Provincia Biogeográfica de las Yungas (Argentina). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8(5), 342-379.

- Argueta, A. (1999). *Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana*. México: Instituto Nacional Indigenista, 583pp.
- Ayala, H. (1999). *Agrobiodiversidad de Guatemala*. Guatemala: Serviprensa.
- Beena, J., & Joji, R. (2010). Evaluation of antibacterial activity of the leaf and flower essential oils of *Gliricidia sepium* from south India. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 2, 20-22.
- Benítez, C., & Ferrarotto, M. (2012). Morfología y anatomía del pecíolo en especies de *Solanum*, sección geminata. *Polibotánica*, 34, 157 – 170.
- Benitez, C., & Rodríguez, P. (1999). Taxonomía y Anatomía de *Solanum* Sect. *Brevantherum seithe* (*Solanaceae*) en Venezuela. *Anales Jardín. Botánico. Madrid*. 49 (1), 67-76.
- Bisognin, D. A. (2002). Origin and evolution of cultivated cucurbits. *Ciencia Rural*, (32) 5. Recuperado el 20 de Julio 2012 de http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782002000400028&script=sci_arttext
- Bremer, B., Bremer, K., Chase, M., Fay, M., Reveal, J., Soltis, D., Soltis, P., & Stevens, P. (2009). An update of Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of Linnean Society*, (161), 105-121pp.
- Bremer, B., Bremer, K., Chase, M., Reveal, J., Soltis, D., Soltis, P., & Stevens, P. (2003). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141, 399–436.
- Cáceres, A. (1996). *Plantas de uso Medicinal en Guatemala*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Editorial Universitaria, 313pp.
- Cáceres, A. (2006). *Vademécum Nacional de Plantas Medicinales*. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS) Departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y Afines. Programa Nacional de Medicina Popular

- Tradicional y Alternativa. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, 131-132pp.
- Cáceres, A. (2009). Actividad Antioxidante de diez especies nativas como posibles preservantes de alimentos y fuente para el desarrollo de nutriceúuticos. Guatemala: Consejo nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT), 134pp.
- Calderón, M. (2011). *Determinación de la capacidad antioxidante total y concentración de fenoles totales en S. americanum sometida al proceso de escaldado, deshidratado y almacenamiento*. (Tesis de licenciatura). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Cañigueral, S., Dellacasa, E., & Bandoni, A. (2003). Plantas Medicinales y Fitoterapia. Indicadores de dependencia o Factores de Desarrollo. *Latin American Journal of Pharmacy*. 22(3), 265-278pp.
- Cartaya, O., & Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivo tropicales*, 22(2), 5-14.
- Castillo, E., & Martínez, I. (2007). *Manual de fitoterapia*. España: ELSEVIER.
- Chauhan, D., & Daniel, M. (2011). Foliar micromorphological studies on some members of the family Fabaceae. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(4), 603-611.
- Chízar, C. (2009). *Plantas comestibles de Centroamérica*. Heredia, Costa Rica: InBio., 44pp.
- Cosa, M., Hadid, M., Dorotti, N., & Bruno, G. (2002). Anatomía de órganos vegetativos en *Solanum palinacanthum*, *S. sisymbriifolium* y *S. euacanthum* (Solanaceae). *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica*, 73(1), 27-38.
- Cronquist, A. (1987). *Introducción a la Botánica*. (2ª. Ed.). México: Continental, S.A.
- Cuevas, E., Antezana, A., & Wintherhalter, P. (2008). Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (*Zea mays*) Boliviano. *Red-Alfa Lagrothec*, 79-95.

- Davis, H. (2012). Angiosperm Phylogeny Website. Recuperado el 09 de agosto de 2012 de <http://www.mobot.org/mobot/research/apweb/>
- De Lima, A., Cavalcanti, E., Mendonça, T., de Andrade, C., deMendonça, R., Higino, J., & Albuquerque, U. (2003). Estudio farmacognóstico de Indigofera microcarpa Des.(FAaceae). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 39(4), 374-379.
- Debes, M., Luque, A., Arias, M., & Albornoz, P. (2008). Anatomía foliar de Rauvolfia schuelii (Apocynaceae), en la provincia de Tucumán, Argentina. *Lilloa*, 45(1-2), 39-46.
- Díaz, L. (2009). Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos. *Estudios transdisciplinarios*. 1(2), 32-55.
- Duke, J.A., & Atchley, A.A. (2000). *Handbook of Proximate Analysis Tables of Higher Plants*. Boca Raton, CRC press, 74pp
- Eder, M., & Mehnert, W. (1998). The important of concomitant compounds in plant extracts. *Pharmazie*. 53 (5), 285-293pp.
- Espíndola, C. (s.f.). *Prácticas de biología de organismos multicelulares*. Pontificia Universidad Javeriana, 99pp.
- Figueroa, S., Dorotti, N., & Cosa, M. (2008). Anatomía de órganos vegetativos en Solanum chenopodioides (Solanaceae). *Amaldoa*, 15(2), 247 – 254.
- Flores, E. (1999). *La Planta: estructura y función*. (Vol. II). Costa Rica: Tecnológica. Pp 449, 712-714.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (1993). *Valor nutritivo y usos en alimentación humana de algunos cultivos autóctonos subexportados de Mesoamérica*. Chile: FAO, 50-53pp. Recuperado el 20 de Julio de 2012 de <http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro11/home11.htm>
- García, C., (2011). Caracterización de variedades locales de Solanáceas. (Proyecto final de Master). Escola Agrària de Manresa, Barcelona, España.

- García, D., & Medina, M. (2006). Composición química, metabolitos secundarios, valor nutritivo y aceptabilidad relativa de diez árboles farrajeros. *Zootecnia Tropical*, 24(3).
- García-Gonzales, M., Cañigüeral, S., & Gupta, M., (2004). Legislación en Iberoamérica sobre fitofármacos y productos naturales medicinales. *Fitoterapia*, 4(1), 53-62.
- Gattuso, M., & Gattuso, S. (1999). *Manual de Procedimientos para el análisis de Drogas en Polvo*. Argentina: Universidad Nacional De Rosario. 50pp.
- Gómez, H. (2003). *Estudio fitoquímico de algunas plantas promisorias del Caribe colombiano*. Informe TRAMIL. Grupo de productores Naturales, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de Cartagena, Cartagena de las Indias, Colombia.
- González, M. y Casares, M. (1996). La anatomía vegetal como método de identificación en entobotánica. *Monografías del Jardín Botánico de Córdoba*, 3, 33-37.
- Granada & Benítez (2004). Anatomía foliar de cuatro especies de Solanum L. sección Acanthophora Dunal en Venezuela. *Acta Científica Venezolana*, 55(1), 13-26.
- Guía de buenas prácticas de recolección y manufactura de plantas medicinales, (2005). Proyecto de asistencia sanitaria de base con remedios a partir de plantas medicinales en las provincias de Santa Fe, misiones y Buenos Aires.
- Gupta, M. (1995). 270 Plantas Iberoamericanas. Bogotá, Convenio Andrés Bello y Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo (CYTED), 617pp.
- Jáuregui, D., & Benítez, C. (2002). Estudio morfológico de la hoja de Solanum imberbe Bitter, especie notable por su hábitat fluvial. *Pittieria*, 31, 7 -15.
- Jones, S. (1988). *Sistemática Vegetal*. (2ª. Ed.). México: McGraw-Hill. 511pp.
- Jorge, M. (2006). Un ingrediente activo con acción antihelmíntica a partir de las semillas de *Cucurbita moschata* Duch: Estudios analíticos y de preformulación. Cuba: Departamento de tecnología y control de los medicamentos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana, 134pp.

- Juárez, X.E. (1992). *Estudio Integral de la Actividad Antimicrobiana de Gliricidia sepium y Rhizophora mangle*. Guatemala. (Tesis de licenciatura). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC, Guatemala.
- Kolb, D., & Müller, M. (2004). Light, Conventional and Environmental Scanning Electron Microscopy of the Trichomes of *Cucurbita pepo* subsp. *pepo* var. *styriaca* and Histochemistry of Glandular Secretory Products. *Annals of Botany*, 94, 515-526.
- Lapp, M., Jáuregui, D., & Ruiz, T. (2004). Anatomía foliar de ocho especies venezolanas del género *Oyedaea* DC. (Asteraceae- Heliantheae). *Acta Botánica Venezuelica*, 27 (1), 1-16.
- Lema, V. (2009). Criterios de selección en los procesos de manipulación vegetal: el aporte de la etnobotánica a la interpretación de restos arqueobotánicos de *Cucurbita* sp. *Darwiniana*, 47(1), 35-55.
- León, J. (2000). *Botánica de los cultivos tropicales*. Costa Rica: IICA. 153pp.
- Lira, R. & Montes-Hernández (1992). Cucurbits (*Cucurbita* spp.) Neglected crops: 1492 from a different perspective.
- Lira, R. (1995). Estudios Taxonómicos y Econogeográficos de las Cucurbitaceae Latinoamericanas de Importancia Económica. Systematic and Ecogeographi Studies on CorpGenepoles. *International Plant Genetic Resources, Rome, Italy*. 281pp.
- Lock, O. (1994). *Investigación Fitoquímica*. (2ª. Ed.). Perú: Fondo Editorial. 300pp.
- Martínez, A. (2006). *Hierba Mora, Chipilín y Jícama para alimentarse con calidad y economía*. Guatemala: Serviprensa, 63pp.
- Martínez, M., Querevalú, L., De Los Ríos, E., & Ruiz, S. (2007). Características farmacognósticas de las hojas de *Capparis avicennifolia*. *Medica Vallejiana* 4(2), 121-131.
- Marzocca, A. (1985). *Taxonomía vegetal*. (1ª. Ed.). Costa Rica: Centro Interamericano de Documentación e Información Agrícola (CIDIA).

- Mercy, G., Ajuru., & Okoli, B. (2013). Comparative Vegetative Anatomy of Some Species of the Family Cucurbitaceae Juss in Nigeria. *Jornal of Botany*, 8(1), 45-23.
- Metacalfe, C. & Chalk. L. (1979). *Anatomy of Dicotyledons*. (2a. Ed.). London: Oxford University Press.
- Michael, A., Thompson, C. G., & Abramovitz, M. (1956). Artemia salina as a test organims for bioassay. *Science*, 123-464.
- Mongelli, E., Coussio, J., & Ciccía, G. (1995). Estudio de toxicidad aguda de plantas medicinales argentinas mediante el bioensayo de Artemia Salina Leach. *Dominguezia* 12 (1).35-42.
- Morales, J. (2005). Estudios en las Apocynaceae neotropicales XIX: La familia Apocynaceae S.STR. (Apocynoideae, Rauvolfioideae) de Costa Rica. *Darwaniana*, 43(1-4),90-191.
- Morales, J. (2009). Estudios de las Apocynaceae neotropicales XXXIX: Revisión de las Apocynoideae y Rauvolfioideae de Honduras. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 66(2), 217 – 262.
- Morton, J.F., Álvarez, E., & Quiñonez, C. (1990). Loroco, Fernaldiapandurata (Apocynaceae) a popular edible flower of Central America. *Economic Botany* , 44, 301 – 310.
- Müller, L. (2000). *Manual de Laboratorio de Morfología vegetal*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Costa Rica, 292pp
- Palencia, H. (2003). Diagnóstico preliminar de las enfermedades fungosas y bacterianas en el cultivo de loroco (Fernaldia pandurata Wodson). (Tesis Licenciatura). Facultad de Agronomía, Universidad de san Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Palomino, O. (2001). *Métodos analíticos para la identificación de Plantas Medicinales*. Apuntes del Curso de la Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI).
- Pardo, P., Burgos, C., & Cruz, H. (2011). *Plantas Medicinales y Comestibles de la Reserva Natural de Usos Múltiples Monterrico – RNUMM*, Taxisco, Santa Rosa,

- Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), Centro de Estudios Conservacionistas (CECON), Programa de Investigación Universitaria en Recursos Naturales y Ambiente (PUIRNA), Dirección General de Investigación (DIGI), 102pp.
- Percy, D., & Santana, J. (1997). Patron estomático paracítico en Leguminosas. *Actividades Biológicas*, 5,80-87.
- Plants Database. Classification for Kingdom *Plantae*. Usa; National Resources Conservation Service. Recuperado el 20 de Julio de 2012 de <http://plants.usda.gov/classification.html>
- Quintana, M.C., & Yax, R. (2012). *Aislamiento de Helicobacter pylori e inhibición de la bacteria por diez extractos de plantas medicinales utilizadas popularmente en el tratamiento de infecciones gastrointestinales*. (Tesis de Licenciatura). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala, 47pp.
- Quintanilla, K. (2007). Establecimiento In vitro del Loroco (*Fernaldia pandurata* Woodson). *Agronomía Mesoamericana*, 18(1), 75-84.
- Real Farmacopea Española. (2002). (2ª. Ed.). Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo. 2801pp.
- Rodríguez, R., Montes, S., Rangel, J., Mendoza, M., & Lautournerie, M. (2009). Caracterización morfológica de la calabaza pipiana (*Cucurbita argyrosperma* Huber). *Agricultura Técnica en México*, 35(4), 378-388.
- Roldán, I. (2007, Marzo). Flores comestibles. *Revista D*, (141).
- Romero, C., Tarragó, M., Muñoz, R., Arista, R., & Rosado, A. (1996). Síndrome estrogénico en vacas lecheras por consumo de alfalfas con grandes cantidades de coumestrol. *Revista veterinaria México*, 28(1), 25-30.
- Rzedowski, J. (1998). *Flora de Bajío y regiones adyacentes*. Instituto de ecología de A.C., Centro regional de bajío, Michoacan, México, 64pp.
- Rzedowski, J., & Calderón, G. (1998). Apocynaceae. *Flora del Bajío y de regiones adyacentes*, 70, 1- 64.

- Salama, A. (2005). *Manual de farmacognosia: Análisis microscópico y fitoquímico, y usos de plantas medicinales*. Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Salas, E., García, S., Cuellar, A., & Scull, R. (2012). Estudio fitoquímico del extracto de *Alternanthera sessilis* y su evaluación para el tratamiento de la psoriasis. *Colombiana de ciencia animal*. 4(1), 130-138.
- Saldaña, D., Guzmán, C., Morales, J., & Vega, J. (2010). *Plantas tóxicas de Guatemala. Heredia*. Costa Rica :INBio. 182pp.
- Santa Cruz, L. (s.f.). *Manual de Selección Fitoquímica, Guía Práctica para laboratorios de Química de Productos Naturales y Fitoquímica*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. 92pp.
- Sepúlveda, G., Porta, H., & Rocha, M. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3), 355-363.
- Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos*. Santa Fé de Bogotá: Convenio Andrés Bello y CYTED. 247pp.
- Silva, T., Nascimento, R., Batista, M., Agra, M., & Camara, C. (2007). Brine Shrimp bioassay of some species of *Solanum* from Northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 17(1), 35-38.
- Sólis, P. De Solis, N. Gattuso, S. & Cáceres, A. (s.f.). *Manual de Caracterización y Análisis de Drogas Vegetales y Productos Fitoterapéuticos*. Proyecto de Desarrollo y Tecnología de Cultivo de Plantas Medicinales y Producción de Fitoterápicos. OEA/AICD/AE 089/03.
- Soltis, D., Soltis, P., Chase, M., Mort, M., Albach, D., Zanis, M., Savolainen, V., Hahn, W., Hoot, S., Fay, M., Axtell, M., Swensen, S., Prince, L., Kress, W., Nixon, K., & Farris, J. (2000). Angiosperm phylogeny inferred from 18S rDNA, rbcL, and atpB sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 133: 381–461.
- Soria, R. (1994). *Farmacobotánica*. Perú: Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 48pp

- Sousa, R. G., Falcão, H. S., Barbosa, J. M., Melo, M. F., & Batista, L. M. (2013). Actividade anti-helmíntica de plantas nativas do continente americano. *Campinas*, 15(2), 287-292.
- Spegazzini, E. (2007). La micrografía en la identidad de los vegetales. *Redalyc. Boletín Latinoamericano y del Caribe de las Plantas Medicinales y Aromáticas*, 6 (5), 165.
- Standley, P., & Steyermark, J. (1952). Flora of Guatemala. Fieldiana Botany. *Chicago Natural History Museum*, 24(3), 342.
- Standley, P.C. ,& Steryermark, J.A. (1946). Flora of Guatemala. Fieldiana: *Botany*, 24(4), 49.
- Stenglein, S. (2001). Características Epidérmicas de la Hoja de las Especies Medicinales del género *Solanum* L. (*Solanaceae*) de la Provincia Biogeográfica Pampeana. *Acta Farm. Bonaerense*, 20 (4), 565-74.
- Theodor, C., & Hilger, H. (2010). Angiosperm Phylogeny: Flowering Plant Systematics. Recuperado el 27 de septiembre del 2012 de http://herbario.udistrital.edu.co/herbario/images/stories/apg_2010.pdf
- Valencia, G. (2011). Clasificación del A.P.G. 2009. Programa de Farmacia. Facultad de Química y Farmacia. Universidad del Atlántico, Barranquilla. Recuperado el 20 de Julio de 2012 de <http://es.scribd.com/doc/67660021/Sistema-de-Clasificacin-APG-III-Por-Finnnn>
- Van Leeuwen, C.J., & Vermeire, T.G. (2007). *Risk assessment of chemicals: An introduction*. (2ª. Ed.). Springer.
- Wah Sam, T. (1993). Toxicity testing using the bride shrimp: *Artemia salina*. In colegate FM & Molineux RJ. Bioactive Natural Products. Detection, Isolation and Structural Determination. Boca Raton. CRC Press, pp. 441 -456.
- World Health Organization (1998). Quality methods for medicinal plant materials. *World Health Organization*. Geneva, Switzerland Recuperado el 6 de septiembre 2013 de: <http://www.who.org>.

- Zamora, J., & Terrazas, T. (2012). Anatomía foliar y del peciolo de cuatro especies de *Lipinus* (Fabaceae). *Mexicana de Biodiversidad*, 83, 687-697. Doi: 10.7550/rmb.27264.
- Zamudio, S. (1998). Situación Taxonómica de *Pinguicula orchidioides* DC. (Lentibulariaceae). *Acta Botánica Mexicana*, 42,7-13.
- Zuluaga, A., Upegui, R., Rodríguez, C., Ocampo, M., Restrepo, M., Parra, G., & Torres, Y. (2005). Ensayo clínico fase I para evaluar la terapia con *Gliricidia sepium* en lesiones cutáneas de primates de la familia Cebidae. *CES Medicina*, 9-19.

12. ANEXOS

Anexo 1. "Descripción de la morfología vegetal según el órgano de la planta"

Segmento de la planta	Descripción
Raíz	Tipo de sistema apical (Axomorfo, fibroso, napiforme, etc.) y longitud de la raíz principal.
Tallo	Tipo de tallo (monopólico, simpódico, estípide, culmo, etc.), clasificación de las ramas y modificación del tallo si las hubiera (zarcillos, espinos, etc.), presencia de lenticelas en ramas, longitud de tallo principal y de tallos modificados, además del hábito de la planta (arbórea, arbustiva, herbácea, sufrutescente, trepadora, etc.).
Hojas	Filotaxiz de las hojas del tallo, composición de las hojas, medidas (largo de pecíolo, largo y ancho de la hoja en mm), forma de lámina, tipo de borde, tipo de base, tipo de ápice, tipo de nervadura, presencia de estípulas y modificaciones de la hoja si las hubiese.
Flores	Tipo de polinización de la flor, fórmula floral, simetría de la flor, verticilios presentes, medida de ancho en mm. Para cada verticilio describir el Cáliz (forma, color y número de sépalos), la Corola (forma, ornamentos, aroma y prefloración), el Androceo (descripción de forma, tamaño y número de las anteras y los estambres) y el Gineceo (capelos, óvulos y ovarios).
Inflorescencia	Clasificación técnica, largo y ancho
Fruto	Nombre técnico, carpelos, semillas, epicarpio, mesocarpio, endocarpio y medidas.
Semillas	Forma, tamaño y características de las semillas; descripción de la testa, tejidos de reserva y embrión.

Fuente: Cronquist, A. (1987). Introducción a la Botánica. (2ª. Ed.). México: Continental, S.A.

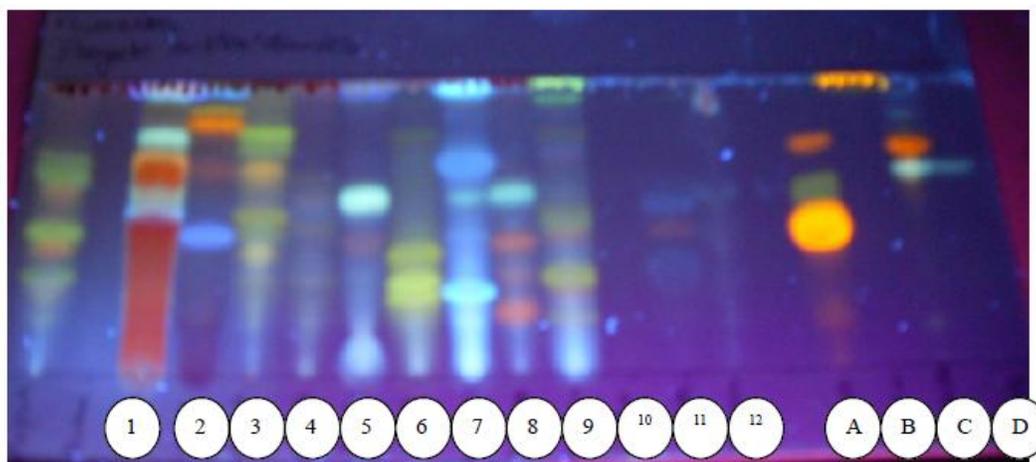
Anexo 2. "Descripción de las características micromorfológicas de la plana"

Segmento de la planta	Descripción
Célula	Citoplasma, retículo endoplásmico, aparato de Golgi, plastidios, microsomas, ribosomas, esferosomas, microtúbulos, núcleo, vacuolas, sustancias ergásticas.
Meristemos	Clasificación, citología y desarrollo
Parénquima	Forma y disposición, estructura y contenido
Colénquima	Posición, estructura y disposición.
Esclerénquima	Fibras y esclereidas.
Xilema	Elementos traqueales.
Floema	Elementos cribosos y su filogenia, células anejas y albuminíferas, protofloema y metafloema.
Conductos secretores	Tipos y estructuras.

Fuente: Cronquist, A. (1987). Introducción a la Botánica. (2ª. Ed.). México: Continental, S.A.

Anexo 3."Resultados de cromatografía en capa fina, FODECYT 28-2007"

Figura 1. Cromatografía de capa fina para flavonoides y antocianinas.

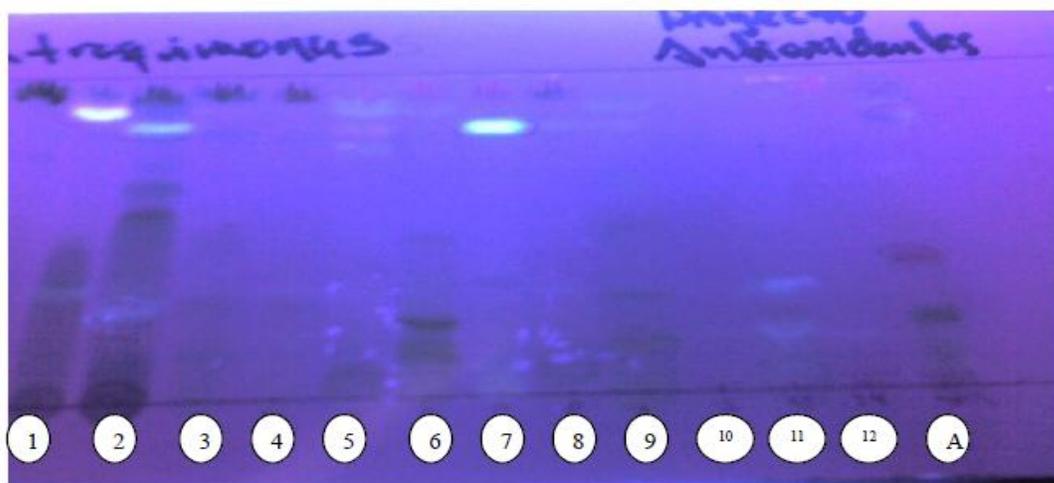


Fuente: FODECYT 28-2007

- | | | | |
|---------------|---------------|---------------|--------------------|
| 1. Pericón | 2. Laurel | 3. Sta. María | 4. Chaya |
| 5. Ramón | 6. Pito | 7. Loroco | 8. Hierbamora |
| 9. Madrecacao | 10. Chico | 11. Jocote | 12. Pepitoria |
| A. Rutina | B. Quercetina | C. Hiperósido | D. Ac. Clorogénico |

Fuente: Cáceres, A. (2009). Actividad Antioxidante de diez especies nativas como posibles preservantes de alimentos y fuente para el desarrollo de nutraceuticos. Guatemala: Consejo nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT), 36pp.

Figura 2. Cromatografía de capa fina para antraquinonas.



Fuente: FODECYT 28-2007

- | | | | |
|--------------------|-----------|---------------|---------------|
| 1. Pericón | 2. Laurel | 3. Sta. María | 4. Chaya |
| 5. Ramón | 6. Pito | 7. Loroco | 8. Hierbamora |
| 9. Madrecacao | 10. Chico | 11. Jocote | 12. Pepitoria |
| A. Extracto de Sen | | | |

Fuente: Cáceres, A. (2009). Actividad Antioxidante de diez especies nativas como posibles preservantes de alimentos y fuente para el desarrollo de nutraceuticos. Guatemala: Consejo nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT), 37pp.

Figura 3. Cromatografía de capa fina para monoterpenos (aceites esenciales).

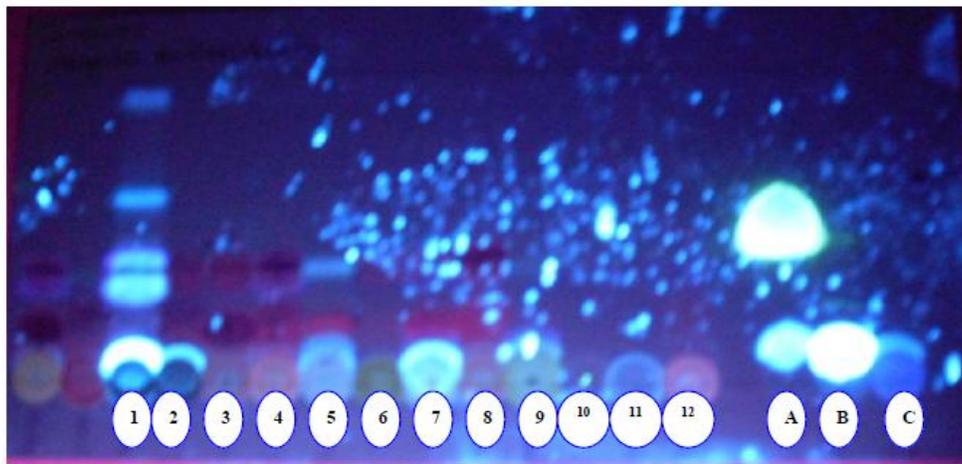


Fuente: FODECYT 28-2007

- | | | | |
|---------------|-----------|---------------|---------------|
| 1. Pericón | 2. Laurel | 3. Sta. Maria | 4. Chaya |
| 5. Ramón | 6. Pito | 7. Loroco | 8. Hierbamora |
| 9. Madrecacao | 10. Chico | 11. Jocote | 12. Pepitoria |
| A. Limoneno | B. Citral | | |

Fuente: Cáceres, A. (2009). Actividad Antioxidante de diez especies nativas como posibles preservantes de alimentos y fuente para el desarrollo de nutraceuticos. Guatemala: Consejo nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT), 38pp.

Figura 4. Cromatografía de capa fina para cumarinas.

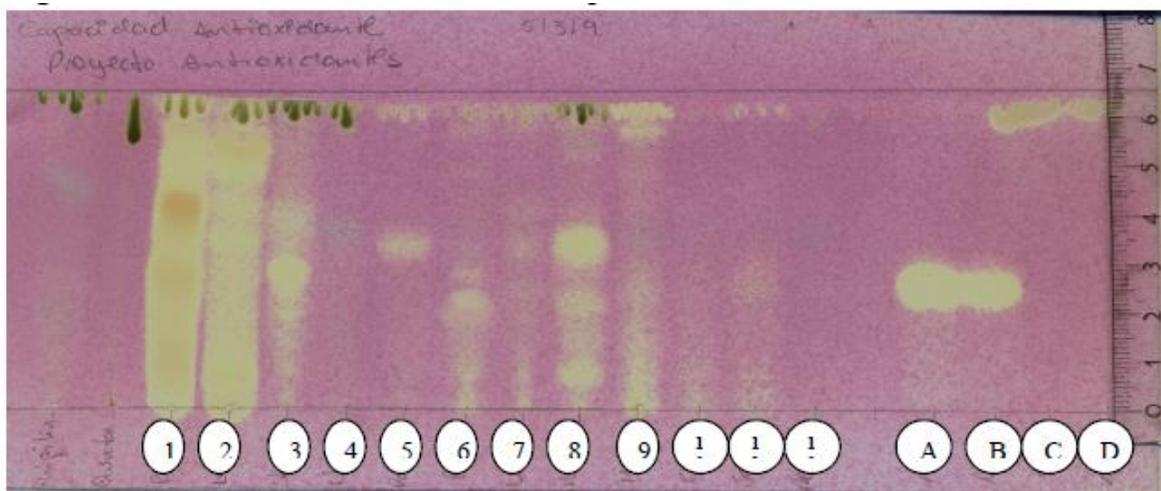


Fuente: FODECYT 28-2007

- | | | | |
|---------------|-----------------|---------------------|---------------|
| 1. Pericón | 2. Laurel | 3. Sta. Maria | 4. Chaya |
| 5. Ramón | 6. Pito | 7. Loroco | 8. Hierbamora |
| 9. Madrecacao | 10. Chico | 11. Jocote | 12. Pepitoria |
| A. Cumarina | B. Umbeliferona | C. Ácido p-cumárico | |

Fuente: Cáceres, A. (2009). Actividad Antioxidante de diez especies nativas como posibles preservantes de alimentos y fuente para el desarrollo de nutraceuticos. Guatemala: Consejo nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT), 39pp.

Figura 5. Cromatografía de capa fina de actividad de antioxidante por la técnica de 1,1-difenil-2-picilhidrazilo.



Fuente: FODECYT 28-2007

- | | | | |
|--------------------------|----------------------|-----------------------------|-------------------------|
| 1. Pericón | 2. Laurel | 3. Sta. Maria | 4. Chaya |
| 5. Ramón | 6. Pito | 7. Loroco | 8. Hierbamora |
| 9. Madrecacao | 10. Chico | 11. Jocote | 12. Pepitoria |
| A. Ácido gálico (1mg/ml) | B. Ácido gálico 1/80 | C. Ácido ascórbico (1mg/ml) | D. Ácido ascórbico 1/12 |

Fuente: Cáceres, A. (2009). Actividad Antioxidante de diez especies nativas como posibles preservantes de alimentos y fuente para el desarrollo de nutriceúticos. Guatemala: Consejo nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT), 42pp.

Tabla 1. Resultados para taninos utilizando el método macrométrico cualitativo.

Muestra	Gelatina 1%	Gelatina-Sal	FeCl ₃ 10%	Resultado
<i>Brosimum alicastrum</i>	-	-	-	Negativo
<i>Cnidocolus chayamansa</i>	-	-	-	Negativo
<i>Cucurbita argyrosperma</i>	-	-	-	Negativo
<i>Erythrina berteroaana</i>	-	-	+	Negativo
<i>Fernaldia pandurata</i>	-	-	-	Negativo
<i>Gliricidia sepium</i>	-	-	-	Negativo
<i>Litsea guatemalensis</i>	+	+	+	Positivo
<i>Manilkara zapota</i>	-	-	-	Negativo
<i>Piper auritum</i>	-	-	-	Negativo
<i>Solanum nigrescens</i>	-	-	-	Negativo
<i>Spondias mombin</i>	-	-	-	Negativo
<i>Tagetes lucida</i>	-	-	-	Negativo

Fuente: FODECYT 28-2007

Fuente: Cáceres, A. (2009). Actividad Antioxidante de diez especies nativas como posibles preservantes de alimentos y fuente para el desarrollo de nutriceúticos. Guatemala: Consejo nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT), 41pp.

Tabla 3. Resultados de cromatografía de capa fina de actividad de antioxidante.

Muestra	Número de bandas	Intensidad	Resultado
Estándar: Ácido gálico (1mg/ml)	1	+++	Positivo
Estándar: Ácido gálico 1/80	1	+	Positivo
Estándar: Ácido ascórbico (1mg/ml)	1	+++	Positivo
Estándar: Ácido ascórbico 1/12	1	+	Positivo
<i>Brosimum alicastrum</i>	1	+	Positivo
<i>Cnidocolus chayamansa</i>	0	-	Negativo
<i>Cucurbita angyrosperma</i>	0	-	Negativo
<i>Erythrina berteroana</i>	2	+	Positivo
<i>Fernaldia pandurata</i>	2	+	Positivo
<i>Gliricidia sepium</i>	3	+	Positivo
<i>Litsea guatemalensis</i>	5	+++	Positivo
<i>Manilkara zapota</i>	0	-	Negativo
<i>Piper auritum</i>	2	++	Positivo
<i>Solanum nigrescens</i>	4	++	Positivo
<i>Spondias mombin</i>	0	-	Negativo
<i>Tagetes lucida</i>	3	+++	Positivo

Fuente: FODECYT 28-2007

Fuente: Cáceres, A. (2009). Actividad Antioxidante de diez especies nativas como posibles preservantes de alimentos y fuente para el desarrollo de nutraceuticos. Guatemala: Consejo nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT), 42pp.

Anexo 4 "Carta Herbario BIGU"

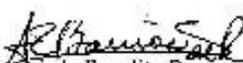
Guatemala 12 de agosto de 2013.

A QUIEN INTERESE

Por medio de la presente se hace constar que los estudiantes NANCY GABRIELA ESCOBAR MIÑA (Carné 200710708), CLAUDIA LUCÍA MATA ASIFUINA (Carné 200710719), NELY MARIELA MARROQUÍN DE PAZ (200710671) y CLAUDIA ALEJANDRA OSORIO SALGUERO (200717760) de la carrera de Química Biológica ingresaron a la colección del Herbario BIGU los siguientes especímenes: *Glycicida sepium* (FABACEAE) número vaucher 64286, *Fernaklia pandurata* (APOCYNACEAE) número vaucher 64284, *Solanum nigrescens* (SOLANACEAE) número de vaucher 64285 y *Cucurbita argyrosperma* (CUCURBITACEAE) número de vaucher 64492.

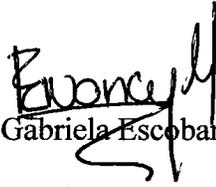
Para los usos que a las interesadas convengan, se extiende la presente constancia.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"


Licenciada Rosalito Barrios
Coordinadora Colecciones de Referencia
Herbario BIGU, Escuela de Biología



Cc/archivo.



Nancy Gabriela Escobar Mena

Autora



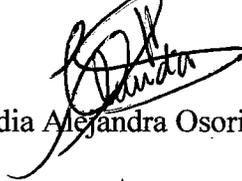
Nely Mariela Marroquín de Paz

Autora



Claudia Lucia Mata Asifuina

Autora



Claudia Alejandra Osorio Salguero

Autora



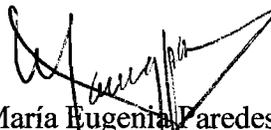
M.A. María Eugenia Paredes

Asesora



M.A. Ana Margarita Paz

Revisora



M.A. María Eugenia Paredes

Directora



Dr. Oscar Cobar Pinto

Decano