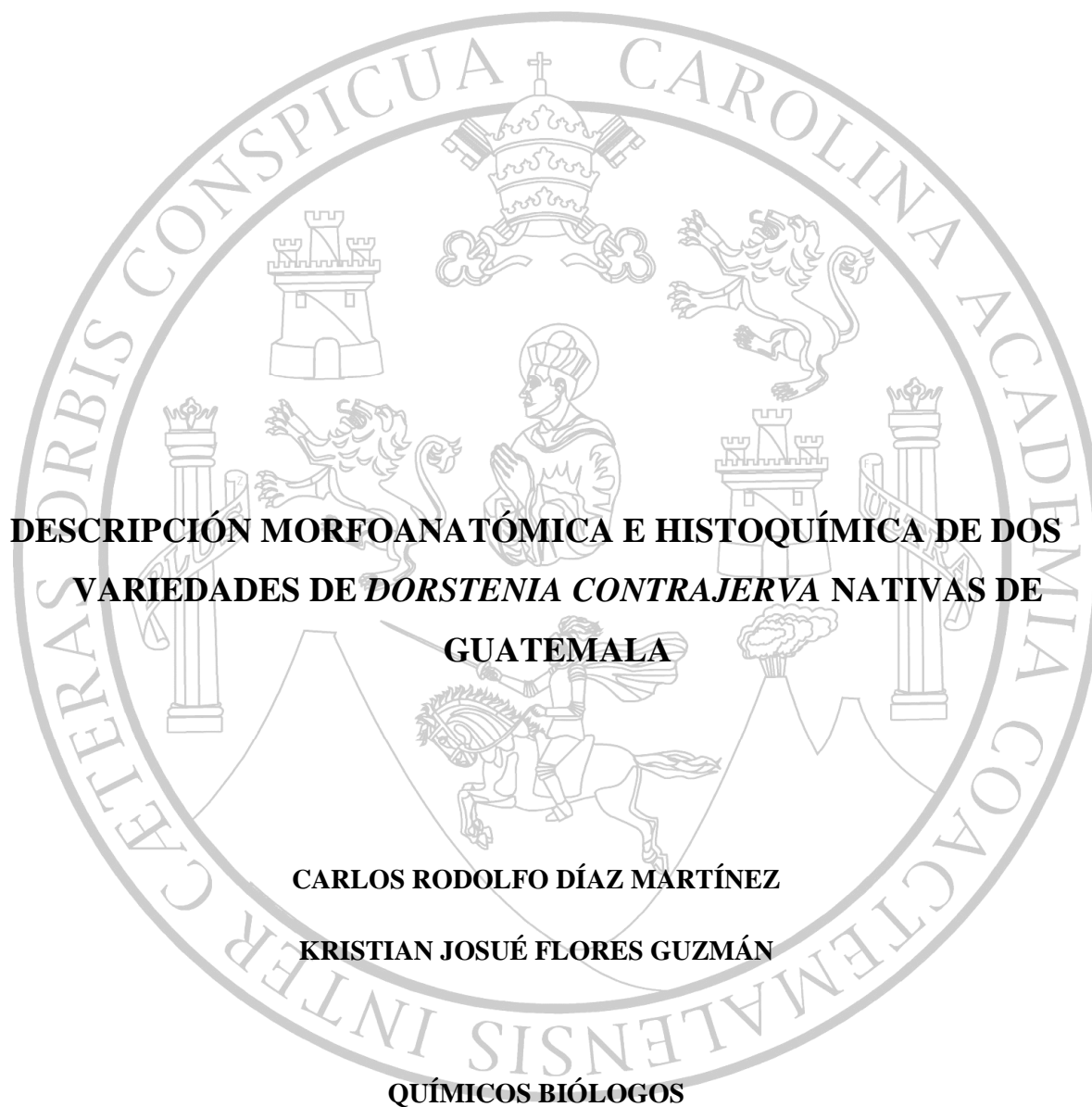


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



**DESCRIPCIÓN MORFOANATÓMICA E HISTOQUÍMICA DE DOS
VARIEDADES DE *DORSTENIA CONTRAJERVA* NATIVAS DE
GUATEMALA**

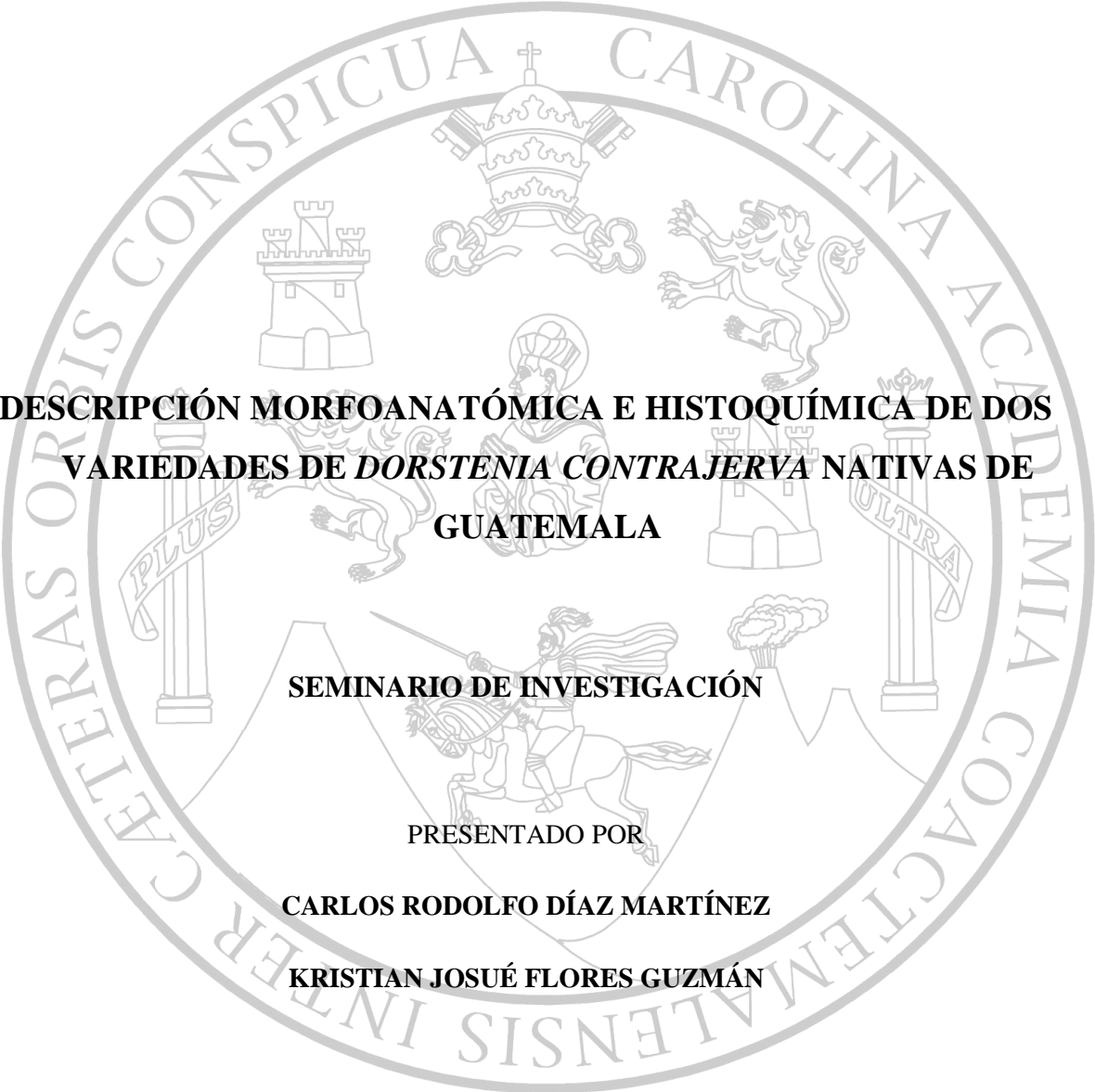
CARLOS RODOLFO DÍAZ MARTÍNEZ

KRISTIAN JOSUÉ FLORES GUZMÁN

QUÍMICOS BIÓLOGOS

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2015

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

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a large, circular emblem in the background. It features a central figure of a knight on horseback, surrounded by various heraldic symbols including a crown, a lion, and a castle. The Latin motto "CETERAS ORBIS CONSPICUA CAROLINA ACCADEMIA COACTEMALENSIS INTER PLUS ULTRA" is inscribed around the perimeter of the seal.

**DESCRIPCIÓN MORFOANATÓMICA E HISTOQUÍMICA DE DOS
VARIETADES DE *DORSTENIA CONTRAJERVA* NATIVAS DE
GUATEMALA**

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN

PRESENTADO POR

CARLOS RODOLFO DÍAZ MARTÍNEZ

KRISTIAN JOSUÉ FLORES GUZMÁN

PARA OPTAR AL TÍTULO DE

QUÍMICOS BIÓLOGOS

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2015

Junta Directiva

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda	Decano
Licda. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza, M.A	Secretaria
Msc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	Vocal I
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal II
Br. Michael Javier Mó Leal	Vocal IV
Br. Blanqui Eunice Flores De León	Vocal V

AGRADECIMIENTOS

A la licenciada Maria Eugenia Pardes por su incondicional apoyo y ayuda en la realización de este trabajo, a la licenciada Dayrin Ortiz, al Departamento de Citohistología, al Laboratorio de productos Naturales (LIPRONAT). Al Licenciado Armado Cáceres por su apoyo en la colecta del material de estudio.

DEDICATORIA

A Jehová Dios Todopoderoso ya que él es el creador de todas las cosas, y nos ha dado la oportunidad de culminar tan importante trabajo.

A Nuestros Padres, ya que somos el reflejo de su excelente trabajo ya que gracias su esfuerzo, ayuda, paciencia, amor y apoyo nos hemos convertido en los profesionales que somos.

A Nuestros hermanos, por habernos apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores y su motivación constante.

A Nuestra Asesora y Revisora

Por su gran apoyo y motivación para la culminación de nuestros estudios profesionales y para la elaboración de este trabajo de investigación.

A la Unidad de Bioensayos, Departamento de Citohistología de la facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC

Por permitimos realizar la presente investigación en el mencionando departamento.

A la Tricentenaria Universidad de San Carlos de Guatemala

Por ser nuestra casa de estudios.

A Nuestros amigos

Por su apoyo y ayuda en cada momento de nuestras vidas.

ÍNDICE

1. Ámbito de la investigación	1
2. Resumen	2
3. Antecedentes	4
3.1. La planta	4
3.2. Las plantas medicinales	4
3.3. Control de calidad	10
3.4. Micromorfología y botánica	16
3.5. Características macroscópicas de las plantas	21
3.6. Material vegetal de estudio	23
4. Justificación	28
5. Objetivos	29
6. Hipótesis	30
7. Materiales y métodos	31
8. Resultados	44
9. Discusión	88
10. Conclusiones	93
11. Recomendaciones	94
12. Referencias bibliográficas	95
13. Anexos	100

1. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

Este estudio forma parte de la línea de investigación de plantas medicinales, que durante años ha venido desarrollándose en el departamento de Citohistología, motivada por la diversidad de plantas nativas de Guatemala, su amplia distribución y el difundido uso popular de las mismas.

Para la presente investigación se seleccionaron dos variedades de la planta conocida popularmente como Contrajerva, mano de león, hierba de sapo y otros nombres dependiendo del área geográfica del país. Las variedades seleccionadas son *Dorstenia contrajerva* L, y *Dorstenia contrajerva* var. *tenuiloba* (Blake) Standl. & Steyerm, pertenecientes a la familia Moraceae. Con los resultados se espera establecer caracteres farmacobotánicos útiles para contribuir a la elaboración de la monografía de calidad de las especies, así como determinar si existen características microscópicas o fitoquímicas que permitan establecer la identidad de la especie cuando esta se encuentra seca y/o fragmentada.

2. RESUMEN

La recolección silvestre constituye una de las principales prácticas para la obtención de las plantas medicinales, esto es debido a que se utilizan ya sea para su consumo o para su comercialización en mercados o tiendas naturistas. En el caso de *Dorstenia*, no existen cultivos controlados, lo que la hace susceptible de adulteración y/o sustitución por otras especies y por ende corre el riesgo de extinción de su hábitat. Por lo tanto establecer las características de identidad de *Dorstenia contrajerva* L, y *Dorstenia contrajerva* var. *tenuiloba* (Blake) Standl. & Steyerm, especialmente cuando ya se encuentra seca y/o fragmentadas es una herramienta de gran importancia para su control de calidad.

Con este propósito, en este estudio se realizó una descripción de las características macroscópicas, microscópicas e histoquímicas de las dos variedades de *Dorstenia contrajerva* nativas de Guatemala.

Para la identificación y caracterización macroscópica de las variedades, se elaboraron ejemplares de herbario que fueron depositados en el Herbario Biología de Guatemala (BIGU), las descripciones fueron comparadas con las de diversos autores. La caracterización micromorfológica se realizó por medio de cortes a mano alzada y disociado débil de hoja, peciolo, tallo, rizoma, raíz e inflorescencia, diafanizado de hoja y determinación del índice de estomas y de empalizada; por último se realizó la identificación de metabolitos secundarios a través de pruebas histoquímicas y cromatografía en capa fina, todos los resultados fueron registrados por medio de fotografías y se elaboraron cartillas micrográficas de cada variedad estudiada.

Entre las características microscópicas encontradas en las hojas de ambas *Dorstenias* se pueden mencionar: venación reticulada de tipo actinódromo, estructura dorsiventral, hipostomática con estomas anomocíticos y anisocíticos a nivel y hundidos en la epidermis. El tallo y rizoma con morfología circular característica de la familia Moraceae. El colénquima angular, xilema helicoidal y diferentes tipos de tricomas: hipidulos, uncinados y glandulares fueron identificados en hoja como en el tallo de la materia vegetal.

En el tamizaje fitoquímico de la hoja y el tallo dieron positivo los almidones, grasas y aceites, mucílagos, saponinas y cumarinas. Se obtuvo un resultado negativo para alcaloides y taninos, lo cual concuerda con lo reportado en la literatura. También se determinaron otras características de identidad y pureza como el contenido de humedad y cenizas totales.

3. ANTECEDENTES

3.1. La planta

El reino vegetal comprende cientos de miles de especies que viven en una amplia variedad de hábitat, desde los desiertos más áridos pasando por las heladas tundras hasta las selvas tropicales e inclusive en las orillas de los ríos (Solomon, Berg, & Martin, 2001). La presencia de las plantas ha permitido que otras formas de vida, incluidos los seres humanos sobrevivan sobre la tierra, ya que las plantas son fuente de oxígeno y además nos proveen de alimento, techo, armas, combustible, perfumes, medicina, etc (Campbell & Reece, 2007).

3.2. Las plantas medicinales

En 1978 la Organización Mundial de la Salud (OMS), describe a una planta medicinal como cualquier planta que en uno o más de sus órganos contiene sustancias que pueden ser utilizadas con finalidad terapéutica o que son precursores para hemisíntesis (semisíntesis) químico-farmacéutica (Vanaclocha & Cañigueral, 2003).

3.2.1. Historia.

La humanidad ha utilizado plantas medicinales con fines terapéuticos desde miles de años antes de Cristo, desde que el hombre busco la forma de aliviar sus dolores y prolongar la vida, resultado de esas necesidades surgió el conocimiento la fitoterapia (Martín, 2002).

Guatemala es un país privilegiado por la diversidad genética derivada de su ubicación geográfica y la riqueza cultural heredada de nuestros antepasados mayas, y a pesar de ser un país en constante cambio estos conocimientos aún persisten. Estas creencias y prácticas a pesar de ser grandemente valoradas, no siempre coinciden con los sistemas terapéuticos prevalecientes, que son los que reciben el apoyo oficial de las autoridades de salud, por lo cual es necesario lograr la integración de este recurso a los sistemas de salud nacional. Desde 1982 la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, realizan alrededor de 15 o más investigaciones al año, con el fin de detectar y validar las plantas de origen nativo y de las que existe poco o nada información en las fuentes bibliográficas conocidas (Girón & Cáceres, 1994).

3.2.2. Fitoterapia.

Se define a la fitoterapia como la ciencia que estudia el uso de los productos de origen vegetal con una finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, atenuar o curar un estado patológico. Etimológicamente el término fitoterapia involucra una extensa variedad de productos de origen vegetal, independientemente de su potencia farmacológica y su toxicidad. Se aplica a la utilización terapéutica de productos con una actividad suave o moderada, con márgenes terapéuticos amplios, útil para tratar patologías agudas o crónicas (Cañigüeral, Dellacassa, & Bandoni, 2003; Paredes, 2005).

El desarrollo clínico de los fitomedicamentos es un campo de investigación que está actualmente en desarrollo alrededor del mundo. La fármaco-vigilancia se comienza con la búsqueda de nuevos principios activos en productos naturales. Se debe evaluar la seguridad, eficacia y calidad de los medicamentos ya que es un requisito primordial para la adecuada práctica médica. La Organización Mundial de la Salud (OMS) establece un nuevo concepto: fitomedicina, disciplina encargada de la terapéutica con plantas medicinales desde el contexto científico, donde la droga vegetal debe cumplir con diferentes fases metodológicas: ensayos farmacológicos, toxicológicos, preclínicos (Paredes, 2005; Tamayo, 2006).

3.2.3. Metabolitos de las plantas medicinales.

Durante el desarrollo de las plantas medicinales, estas sintetizan y almacenan sustancias, que reciben el nombre de principios activos y sustancias indiferentes o de lastre, pero no todas estas sustancias tienen un valor medicinal aprovechable. Las sustancias indiferentes o de lastre determinan la eficacia del medicamento vegetal, aumentando o disminuyendo la absorción de los principios activos en el organismo, siendo esto una de las peculiaridades de los medicamentos de origen vegetal (Pahlow, 1985).

Los principios activos de la planta medicinal determinan las aplicaciones que tendrá la especie. Además los mismos, no se distribuyen uniformemente en toda la planta, sino que se concentran preferentemente en un órgano. Así mismo, el contenido de principio activo, está influenciado por su hábitat, recolección y su preparación (Pahlow, 1985).

La recolección se debe de realizar en la época en la cual la droga posee el contenido máximo de sus principios activos. En algunas farmacopeas homeopáticas, la monografía de

la droga indica cuál es la mejor época para la recolección. En ausencia de informaciones farmacopéicas es necesario seguir lo siguiente (Sharapin, 2000):

- Plantas enteras: deben ser recolectadas en época de la floración.
- Raíces de plantas anuales o bianuales: deben ser recolectadas al final del periodo vegetativo.
- Hojas jóvenes: deben ser recolectadas inmediatamente después de la eclosión

3.2.3.1. Alcaloides.

Son sustancias orgánicas de origen vegetal con una actividad fisiológica muy intensa en dosis pequeñas. Contienen nitrógeno en su molécula, ya que generalmente se sintetizan a partir de aminoácidos, y con frecuencia se presentan combinados con ácidos orgánicos o taninos. Representan entre el 0,1-3% del peso seco de la planta (Sepúlveda, Porta, & Rocha, 2003) (Pahlow, 1985; Sepúlveda, Porta, & Rocha, 2003).

Los alcaloides se pueden dividir en los siguientes grupos: alcaloides isoquinoléicos, alcaloides quinolizidínicos, alcaloides pirrolizidínicos, alcaloides tropánicos y alcaloides indólicos (Vanaclocha & Cañigüeral, 2003).

3.2.3.2. Glucósidos.

Son sustancias orgánicas, están formados por una o más moléculas de monosacáridos. Se encuentran combinados con grupos no azucarados o agliconas, que son fácilmente hidrolizados por enzimas o ácidos. Siendo de relevancia toxicológica los siguientes glúcidos (Vanaclocha & Cañigüeral, 2003)

3.2.3.2.1. Glucósidos antraquinónicos.

Consisten en una molécula de azúcar unido a un derivado del antraceno. Se emplean como laxantes o purgantes.

3.2.3.2.2. Glucósidos cianogenéticos.

Son heterósidos de 2-hidroxinitrilos que al hidrolizarse por acción de enzimas, liberan azúcar y ácido cianhídrico. Las enzimas se encuentran en el citoplasma, mientras que los glucosidos cianogenéticos se encuentran en vacuolas, por lo que la hidrólisis se producirá al aplastar o romper la planta. El ácido cianhídrico se ha utilizado como estimulante respiratorio y antiespasmódico.

3.2.3.2.3. *Glucósidos goitrogénicos.*

Llamados también heterósidos azufrados o glucosinolatos. La hidrólisis por enzimas específicos presentes en la misma planta pero en compartimientos diferentes y aislados, liberan azúcares y geninas, que son sustancias volátiles azufradas. Empleadas en fitoterapia por su acción irritante sobre las mucosas.

3.2.3.2.4. *Glucósidos cardiacos.*

Son sustancias amargas, derivadas de los esteroides que actúan sobre el corazón (indicados en insuficiencia cardiaca congestiva, taquicardias supraventriculares y fibrilación auricular). Se debe evitar su uso por el estrecho margen terapéutico y su acumulación en el músculo cardiaco.

3.2.3.2.5. *Glucósidos de esteroides.*

Son heterósidos de esteroides o de triterpenos, también llamadas saponinas. Poseen acción hemolítica, esto debió a sus propiedades apolares que interaccionan con los lípidos de membrana del eritrocito. Se utilizan en dosis medicinales como espectorantes o diuréticos.

3.2.3.2.6. *Heterósidos ranunculósidos.*

Son glucósidos que mediante hidrólisis enzimática producen glucosa y protoanemonina, rápidamente transformada en anemonina, sustancia responsable de la actividad farmacológica (López, 2012).

3.2.3.3. *Polifenoles.*

Estas moléculas poseen un anillo bencénico que soporta un grupo hidroxilo. Se pueden unir con azúcares y formar heterósidos aunque también se encuentran libres (López, 2012).

3.2.3.3.1. *Ácidos fenólicos.*

Son aril-carboxílicos, con uno o más grupos OH en el arilo. Entre sus acciones farmacológicas y aplicaciones, está el uso como antioxidantes, analgésicos, coleréticos etc. El eugenol por ejemplo es un antiséptico y anestésico local empleado en odontología. Entre

los fenoles en estado libre, se encuentran constituyentes importantes de las esencias, como el timol y su isómero el carvacrol (esencias de tomillo).

3.2.3.3.2. *Cumarinas.*

Son benzo - α - pironas. Con el nombre de cumarinas se conoce a un grupo muy amplio de principios activos fenólicos que se encuentran en plantas medicinales y tienen en común una estructura química de 2H-1-benzopirán-2-ona, denominada cumarina. Sobre esta estructura se disponen sustituyentes de distinta naturaleza química lo que da lugar a distintos tipos de cumarinas: sencillas y complejas. Las furanocumarinas son cumarinas que poseen unido un anillo de furano al benzeno, estos metabolitos secundarios poseen propiedades fototóxicas, ya que son solo tóxicas en presencia de luz. Los constituyentes fototóxicos comunes a las especies de plantas que las poseen son la furanocumarinas lineales: psoraleno, bergapteno y xantotoxina; las furanocumarinas angulares son débilmente fototóxicas (pimpinellina, anegilina). Las propiedades fotodinámicas del bergapteno y xantotoxina les hacen aplicable a terapia con luz ultravioleta: tratamiento fotoquimioterápico de la psoriasis y otras afecciones dermatológicas, esta técnica tiene sus riesgos.

3.2.3.3.3. *Flavonoides.*

Estos son los pigmentos amarillos derivados de la fenil-benzo γ pirona o fenil cromona. En el reino vegetal se encuentran normalmente en forma de heterósidos. Son una familia muy diversa de compuestos, aunque todos los productos finales se caracterizan por ser polifenólicos y solubles en agua. Existen 6 clases principales, las chalconas, las flavonas, los flavonoles, las antocianidinas, y los taninos condensados, y otras dos más, las xantonas y las auronas.

3.2.3.3.4. *Lignanós.*

Son moléculas cuya estructura resulta de la unión de 2 unidades del fenil propano (C6 - C3). Son muy abundantes en el reino vegetal. Por ejemplo, la podofilotoxina, se encuentra en el rizoma del podófilo (*Podophyllum peltatum*) y es la precursora de 2 sustancias (etopósido y tenipósido) empleadas en terapia antitumoral. También la silimarina, que es hepatoprotectora y se obtiene del cardo mariano (*Silybum marianum*).

3.2.3.3.5. *Taninos.*

Son sustancias complejas que no es posible clasificar dentro de una estructura química única. Son sustancias polifenólicas hidrosolubles no nitrogenadas, de origen vegetal, de peso molecular entre 500 y 3000, que además de dar las reacciones clásicas de los fenoles, precipitan gelatina, sales de alcaloides y metales pesados. El tanino se encuentra principalmente en las raíces, la corteza, y de vez en cuando en las hojas de la planta. Estos compuestos tienen propiedades antibacterianas, astringentes y antisépticas. Se encuentran especialmente en las familias de las Ericáceas, Leguminosas, Rosáceas y Salicáceas (López, 2012).

3.2.3.3.6. *Quinonas.*

Son di-cetonas aromáticas procedentes de la oxidación de fenoles. Hay varios tipos:

- Para-Benzoquinonas: derivadas del benceno. Muy activas (antimicrobianas, antifúngicas)
- Naftoquinonas: derivadas del naftaleno. Antibacterianas y antifúngicas.
- Antracilinas: Derivadas del naftaceno. Constituyen el núcleo de antibióticos muy importantes como la daunomicina y la doxorubicina, y las tetraciclinas.
- Antraquinonas y fenantraquinonas: derivadas del antraceno y el fenantreno, son principios activos laxantes y purgantes, en sus formas de heterósido (López, 2012).

3.2.3.4. *Aceites esenciales de las plantas.*

Los aceites esenciales son líquidos volátiles naturales y aromáticos que se encuentran en arbustos, flores, árboles, raíces, matas y semillas. Los componentes distintivos de los aceites esenciales defienden a las plantas contra los insectos, condiciones medioambientales y las enfermedades. También son vitales para que las plantas vivan, crezcan, desarrollen y adapten a su entorno. Aunque los aceites esenciales a menudo desprenden un aroma agradable, su composición química es compleja y sus beneficios son enormes, lo que los convierte en un producto mucho más importante que sencillamente algo que huele bien (Bruneton, 2001).

3.2.3.4.1. *Terpenóides.*

3.2.3.4.1.1. *Monoterpenos.*

Son los más sencillos de los terpenos, son el resultado de acoplamiento de dos unidades isoprenicas. Son los principales constituyentes de los aceites esenciales. Hay del tipo alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, éteres, peróxidos y fenoles.

3.2.3.4.1.2. *Lactonas sesquiterpénicas.*

Poseen una alta variabilidad y cada vez se conocen más tipos distintos, esta diversidad es debido a su origen, por la capacidad de reacción de su precursor común, el pirofosfato de farnesilo. Biológicamente son fitoalexinas, que son compuestos antimicrobianos mientras otras actúan como reguladoras del crecimiento, atraen o repelen insectos.

3.2.3.4.1.3. *Compuestos aromáticos.*

Son derivados del fenilpropano, y son mucho menos frecuentes. Hay del tipo alil- y propenilfenoles, pocas veces aldehídos, que son característicos de determinados aceites esenciales de Apiaceae (anís, hinojo, perejil, etc.) (Bruneton, 2001).

3.3. Control de calidad

3.3.1. Calidad.

El concepto de calidad tiene una edad aproximada de un centenar de años, al utilizarlo en diferentes disciplinas humanas adquiere diferentes propiedades y características. Además, la calidad se refiere al grado en el que un conjunto de características inherentes a un producto cumple con los requisitos. Representa la naturaleza esencial de un producto y la totalidad de sus atributos y propiedades, que determinan su idoneidad para los propósitos a los cuales se destina (Paredes, 2005). Desde la perspectiva alimentaria, industria cosmética y farmacéutica, la definición más significativa contempla la igualdad de calidad similar a las especificaciones. Las especificaciones de calidad se refieren al rango de aceptabilidad del producto siendo estas sus características de calidad, ya que permiten fijar objetivos de calidad para el mismo, y su respectiva medición a través de la asignación de un valor numérico a la característica de calidad del producto. Estas características tienen relación con el aspecto físico y otras con el aspecto funcional. Las especificaciones establecidas en

forma de requisitos y normas son la única forma de asegurar la reproducibilidad lote tras lote (Fedec & Kolodziejczyk, 2000).

3.3.2. Calidad de las plantas medicinales.

La calidad idónea para el uso provisto de un medicamento está determinado por el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) a través del proceso de fabricación y las características que el producto posee de identidad, pureza, potencia, uniformidad, seguridad, estabilidad y biodisponibilidad, que hacen posible la eficacia terapéutica. La calidad del medicamento no debe limitarse a las operaciones de laboratorio, sino en una fabricación correcta, efectuada bajo control continuo del proceso desde la selección de una materia prima adecuada para cada uno de los constituyentes del medicamento hasta el envase adecuado y etiquetado del producto final (Fedec & Kolodziejczyk, 2000; ISO, 2005; Paredes, 2005).

3.3.3. Control de calidad de las plantas medicinales.

La calidad de las plantas medicinales es un requisito básico de los medicamentos a base de plantas medicinales, no solo por su significación intrínseca, sino porque constituye la base sobre la que reposa la reproducibilidad de los parámetros de seguridad y eficacia (Paredes, 2005).

La calidad de una planta medicinal debe ser alta, tomando en cuenta que influyen muchos factores. El control comienza en el cultivo o manejo de la especie y el procesamiento postcosecha, para lo cual deberán observarse buenas prácticas de colecta (BPC) y buenas prácticas agrícolas (BPA) dentro del concepto de agrotecnología ecológica (Sharapin, 2000). De la planta debe establecerse la parte usada, tallo aéreo, rizoma, raíz, hoja, inflorescencias, semilla, exudados (Solís, Guerrero, Gattuso, & Cáceres, 2003).

3.3.4. Parámetros para el control de calidad de las plantas medicinales.

En sus monografías, la OMS aborda todos aquellos parámetros de control de calidad que en cada caso son convenientes para describir la calidad de un producto a base de plantas medicinales, y que se listan a continuación:

Parámetros de calidad para drogas vegetales:

- Identidad de la droga vegetal
- Características macroscópicas
- Características microscópicas
- Elaboración de esquemas
- Técnicas histoquímicas
- Cromatografía en capa fina
- Pruebas de pureza
- Materia extraña
- Ceniza total
- Determinación de humedad y pérdida por secado

Los aspectos que pueden influir en estos parámetros del control de calidad están: identificación botánica (la correcta determinación del origen botánico de la especie), variabilidad del material vegetal (biodiversidad, quimio tipos, etc.), influencia en el proceso de recolección, secado, almacenamiento y tipo de procesamiento (Cañigual, 2002; Sharapin, 2000; Solís, Guerrero, Gattuso, & Cáceres, 2003; World Health Organization, 2007).

3.3.4.1. Identidad de la droga vegetal.

El examen de identidad de las drogas vegetales, es un análisis farmacobotánico. Su fin es determinar plenamente la identidad vegetal de la especie y la parte usada con fines terapéuticos. Para llevar a cabo esta caracterización es necesario contar con la droga vegetal, esquemas patrón de características macroscópicas y microscópicas, así como, con un ejemplar de herbario de referencia (WHO, 2002).

Las drogas vegetales son generalmente plantas enteras, fragmentadas o pulverizadas, partes de plantas en un estado no procesado, generalmente en forma seca pero algunas veces fresca. Las drogas vegetales se autentifican por el nombre científico botánico, de acuerdo al sistema binomial (género, especie, variedad y autoridad). Las drogas vegetales se obtienen de plantas cultivadas o silvestres. La definición debe especificar de qué está compuesta la materia médica y si se encuentra fresca o seca (Paredes, 2005; Sharapin, 2000).

3.3.4.2. Características macroscópicas.

La identificación macroscópica de la droga vegetal fresca o seca puede realizarse a simple vista o con ayuda de estereoscopio, respectivamente. Siendo la vista el este medio más simple y rápido por el cual se puede establecer la identidad, pureza y calidad. Se basa en la forma de la hoja, tallo e inflorescencia, tamaño, color, además se incluyen características de superficie, textura, fractura y apariencia en el corte de superficie para la droga vegetal seca. Sin embargo, debido a que estas características son evaluadas subjetivamente, pueden existir adulteraciones, por eso es necesario realizar examen micromorfológico del órgano entero, fragmentos o polvo, para brindar elementos significativos de diagnóstico (Gattuso & Gattuso, 1999; Solís, Guerrero, Gattuso, & Cáceres, 2003; WHO, 1998).

3.3.4.3. Características microscópicas.

La microscopía botánica es actualmente aceptada como una de las cuatro principales metodologías para la identificación de los materiales de la droga cruda y droga seca; junto con el aspecto macroscopico, características organolépticas, y la presencia o ausencia de sustancias químicas. La evaluación microscópica, de la droga cruda o seca, permite establecer características de identificación micromorfológica de estructuras vegetales propias, la forma en que se distribuyen en los tejidos y la descripción de algún tipo de especialización celular. La evaluación se realiza a través de cortes del material de estudio ya sea a mano alzada o por cuchillas especializados para botánica (micrótomo), y utilizando técnicas histoquímicas y otras especializadas como: diafanizado, disociado. Cada técnica es utilizada de acuerdo a la estructura o parte de la planta que se va analizar (Gattuso & Gattuso, 1999). El tamaño de las estructuras anatómicas (ej: cristales, tricomas, estomas) nos puede brindar información de valor para la identificación del espécimen, para ello se utiliza un ocular con micrometro, que se puede calibrar o software especializado en la medición, ya que por métodos de medición estándar es muy difícil (Upton, Graff, Jolliffee, Länger, & Williamson, 2011).

3.3.4.4. Elaboración de esquemas.

Las técnicas anatómicas e histológicas aportan los elementos taxonómicos necesarios para establecer la identidad botánica de las muestras (Metclafe & Chalk (1979 citado en

González, & Cáceres, 1996) exponen que “cualquier intento de identificar material vegetal en condiciones fragmentarias, parcialmente descompuesto o sin órganos reproductores, solo puede llevarse a cabo mediante métodos de histología comparada”, las cuales se obtienen por medio de la técnica de micrografía que provee una imagen obtenida a través del microscopio y permite detallar la microestructura de la superficie observada.

3.3.4.5. Técnicas histoquímicas.

Estas son herramientas basadas en procesos químicos se pueden mencionar las técnicas de coloración y las pruebas histoquímicas, estas pruebas se pueden realizar tanto con el material fresco como un espécimen de herbario, siendo de elección usar material fresco, pudiendo realizar estas pruebas a partir de órgano entero, fragmentos o polvo. Estas pruebas demuestran la presencia o ausencia de: alcaloides, aleuronas, almidón, carbonato de calcio, celulosa, grasas, aceites, aceites volátiles, resinas, inulina, lignina, mucilagos, oxalato de calcio, saponinas y taninos (Castillo & Pérez, 2011; Gattuso & Gattuso, 1999).

3.3.4.6. Cromatografía en capa fina.

Es una manera simple y eficiente de control de calidad, basado en la identificación de extractos, tinturas y metabolitos vegetales. Cuando se desconocen los principios activos de una droga, pueden identificarse al realizar una determinación de sustancias características de la planta en estudio (marcadores positivos), inclusive cuando no tengan alguna actividad farmacológica (Sharapin, 2000).

El fundamento de la prueba consiste en la obtención de bandas coloreadas con relación a su posición en un sistema de disolventes específicos y reveladores (cromatograma). Este método es muy útil para identificar posibles alteraciones o falsificaciones cuando se comparan con sustancias de referencia (Sharapin, 2000).

3.3.4.7. Pruebas de pureza.

Sirve para garantizar que la droga cruda proveniente de los campos de cultivo ha sido procesada adecuadamente y almacenada en las condiciones óptimas, evitando la contaminación en todo momento.

3.3.4.7.1. *Materia extraña.*

Los productos fitoterapéuticos, hasta donde sea posible, están libres de impurezas tales como tierra, polvo, suciedad y otros contaminantes como, hongos, insectos y contaminaciones debidas a animales (materia fecal). Tampoco deben mostrar señales de putrefacción. En la farmacopea Europea, a menos que se indique lo contrario en la monografía particular, la cantidad de materia extraña no es mayor de 2% m/m (Solís, Guerrero de Solís, Gattuso, & Cáceres, 2003).

Materia extraña es material que consiste de uno o todos los siguientes:

- **Órganos extraños:** materia que proviene de la planta original, pero que no está definido como la droga.
- **Elementos extraños:** materia que no proviene de la planta de origen y que no es de origen animal ni vegetal (Solís, Guerrero de Solís, Gattuso, & Cáceres, 2003)

3.3.4.7.2. *Cenizas totales.*

Las cenizas totales corresponden a la materia inorgánica (sales minerales) que forma parte constituyente de la droga vegetal seca. (Solís, Guerrero de Solís, Gattuso, & Cáceres, 2003).

Este parámetro está diseñado para medir la cantidad de materia restantes después de la ignición de material de plantas medicinales (WHO, 1998).

3.3.4.7.3. *Determinación de humedad y pérdida por secado.*

La humedad de una muestra no es sólo el contenido de agua. Por humedad del material se entiende toda materia volátil, que se elimina por calentamiento, conduciendo a una pérdida de peso de la muestra. Entre estas sustancias se encuentra: agua, grasas, aceites, alcoholes, disolventes orgánicos, materias aromáticas, componentes volátiles y productos de descomposición (Sharapin, 2000).

El exceso de agua en drogas vegetales es responsable del crecimiento de bacterias y hongos, y también de la hidrólisis de sus constituyentes. Las monografías farmacopéicas limitan el contenido de agua, especialmente en las drogas que tienen la facilidad de absorberla, o en las drogas en las cuales el exceso de agua causa su deterioro. Con pocas

excepciones, el contenido de agua en las drogas vegetales debe variar entre 8 y 14% (Sharapin, 2000).

La determinación de humedad se realiza por el método termogravimétrico, proceso mediante el cual se determina una pérdida de masa, que se produce al calentar una sustancia. Para ello la droga se pesa antes y después de secar a un peso constante, y a continuación se calcula la diferencia entre ambos pesos obtenidos (Sharapin, 2000).

3.4. Micromorfología y botánica

3.4.1. Descripción de las características histológicas y micromorfológicas.

Las plantas presentan dos tipos de tejidos, los meristemos, que están compuestos por células embrionarias que están en constante división, y tejidos permanentes, que sufren ninguna o poca división celular (Paniagua, 2002).

Los tejidos permanentes a su vez se dividen, de acuerdo a su función, en: tejidos fundamentales, tejidos vasculares y tejidos dérmicos.

3.4.1.1. Tejidos simples.

Se le llama así ya que cuentan con un solo tipo de células, como por ejemplo, el parénquima, el colénquima y el esclerénquima.

3.4.1.1.1. Parénquima.

Es un tejido muy poco diferenciado, que desempeñan funciones fotosintéticas (parénquima asimilador, clorénquima), de almacén de sustancias nutritivas como agua, almidón, etc. (parénquima de reserva), parénquima aerífero, en plantas acuáticas o que crecen en lugares encharcados y parénquima acuífero, en plantas de clima seco, sirve de almacenador de agua. Existe una estructura denominada mesófilo que es un tejido comprendido entre la superficie superior o adaxial y la superficie abaxial o inferior de la epidermis de la hoja, que está comprendido fundamentalmente por parénquima y alcanza un grado de desarrollo dependiente del de la cantidad de luz que recibe la hoja. Entre mayor iluminación mayor será el grosor. El parénquima del mesófilo suele estar formado por dos estratos diferentes (Paniagua, 2002)

- **Parénquima en empalizada:** debajo de la epidermis adaxial y lo constituye células prismáticas, alargadas en el sentido dorsiventral, dejando aparentes pocos espacios intercelulares, estas células poseen abundantes cloroplastos (Paniagua, 2002).
- **Parénquima lagunar:** este sigue después del parénquima en empalizada, que se extiende hasta la epidermis opuesta. Sus células son de forma irregular, variable, pero siempre presentan lóbulos que las unen entre sí dejando grandes espacios que son ocupados por el aire y el CO₂ que penetra por los estomas (Paniagua, 2002).

3.4.1.1.2. *Colénquima.*

Es un tejido de sostén preferentemente en los órganos en crecimiento o en órganos maduros de plantas herbáceas, ligeramente modificados por el crecimiento secundario. Las paredes del colénquima muestran varios tipos de lamelación, con alternancia de microfibrillas de celulosa orientadas transversal y longitudinalmente; poseen un contenido normal de celulosa y hemicelulosas, pectinas y agua en grandes cantidades (Flores, 1999). De acuerdo a cómo aumenten de grosor las paredes celulares se clasifican en varios tipos de colénquima:

- **Colénquima anular:** el engrosamiento de la pared determina que el contorno interno de la pared celular resulte circular (Paniagua, 2002).
- **Colénquima angular:** el engrosamiento es muy marcado en los ángulos, con lo que resulta una luz celular poligonal (Paniagua, 2002).
- **Colénquima lagunar:** el engrosamiento sucede principalmente alrededor de los espacios intercelulares, en aquellas paredes celulares que limitan estos espacios (Paniagua, 2002)..
- **Colénquima laminar:** el engrosamiento de la pared no se produce en todas las caras sino sólo en las dispuestas en una dirección determinada (Paniagua, 2002).

3.4.1.1.3. *Esclerénquima.*

Este tejido está formado por células que tienen la membrana totalmente engrosada y ofrecen gran resistencia. Este se origina del parénquima por un engrosamiento de sus membranas celulares, por lignificación o por mineralización de las mismas, así se forman las escleridas (Gola, Negri, & Cappelletti, 1965).

3.4.1.2. *Tejidos compuestos.*

Tipo de tejido con varios tipos celulares, como por ejemplo el xilema, el floema, y la epidermis (Paniagua, 2002).

3.4.1.3. *Tejidos protectores.*

Estos previenen de la pérdida de agua y de la acción de agentes externos, al igual que la piel de los animales.

3.4.1.3.1. *Epidermis.*

Tejido protector que recubre externamente el cuerpo vegetal en los órganos con crecimiento primario. En la raíz se llama rizodermis. Es un tejido complejo que está formado por varios tipos de células de morfología y de fisiología variable: células epidérmicas (parte aérea y en la raíz), estomas (parte aérea), tricomas o pelos (parte aérea) y pelos absorbentes (en la raíz) (Paniagua, 2002).

3.4.1.3.2. *Peridermis.*

Este tejido reemplaza a la epidermis cuando hay un aumento de diámetro o crecimiento secundario en grosor.

3.4.1.3.2.1. *Estomas.*

Son aberturas de la epidermis, rodeadas por dos células oclusivas que, al cambiar de forma, hacen que el poro se abra o se cierre. Siendo su función principal la regulación del intercambio de vapor de agua y de CO₂ entre los tejidos internos de la planta y la atmósfera. En algunas plantas existen células llamadas células vecinas, que rodean los estomas y que no se diferencian de otras células fundamentales de la epidermis. En otras, existen las células anexas o subsidiarias y se observa cuando las células oclusivas limitan con una o más células de tamaño, forma, organización y, a veces, de contenido diferente al de las células epidérmicas normales. En las hojas los estomas pueden hallarse en ambas caras (hoja anfiestomática) o solo en una cara (hoja epiestomática), o normalmente en la inferior (hoja hipoestomática), los tipos de estomas son:

- Tipo anomocítico (ranunculáceo): este tipo no tiene células subsidiarias. El meristemoide da origen solo a células oclusivas.

- Tipo anisocítico (crucífero): el estoma está rodeado usualmente por tres células subsidiarias, una en menor tamaño que las otras dos.
- Tipo paracítico (rubiáceo): el estoma está rodeado por células subsidiarias paralelas. El eje longitudinal de éstas es paralelo a los ejes longitudinales de las células guardianas.
- Tipo diacítico (cariofiláceo): las células subsidiarias presentan una pared común perpendicular al eje longitudinal de las células oclusivas.
- Tipo actinocítico: el complejo estomático contiene varias células subsidiarias, con un eje mayor perpendicular al contorno de las células guardianas (Flores, 1999).

3.4.1.3.2.2. *Tricomas.*

Son un conjunto de apéndices epidérmicos como pelos, pelos papilares y escamas. Pueden hallarse en todas las partes de la planta, durar toda la vida de la planta o desprenderse pronto. Algunos tricomas permanecen vivos; otros mueren y se secan. Aunque los tricomas tienen una estructura muy variable dentro de las familias y de los grupos más pequeños de plantas, a veces son notablemente uniformes en un taxón dado y se ha utilizado mucho con fines taxonómicos (Evert, 2006). Se pueden clasificar de acuerdo a su morfología:

- Papilas: son pequeñas excrescencias epidérmicas, considerados a menudo diferentes a los tricomas.
- Tricomas simples (sin ramificar): un gran grupo de tricomas unicelulares y pluricelulares.
- Tricomas dos-cinco brazos de diversas formas.
- Tricomas estrellados: todos estrellados y de estructura variable.
- Tricomas escamosos o peltados: compuestos por una placa discoidal de células que a menudo
- Tricomas dendríticos (ramificados): se ramifican a lo largo del eje extendido.
- Pelos radicales: hay muchos tipos especializados de tricomas tales como los pelos urticantes, glándulas perla, pelos provistos de cistolitos y vesículas de agua.
- También se pueden utilizar las características anatómicas para facilitar la descripción de los tricomas, como los glandulares o los no glandulares; unicelulares o pluricelulares; uniseriados o multiseriados; características de la superficie, si las hay; diferencias del

grosor en la pared, si las hay; grosor de la cutícula; diferentes tipos de células dentro de los tricomas, de la base o pie (Evert, 2006).

3.4.1.4. Tejidos vasculares o conductores.

Este tipo de tejido esta presente en plantas superiores y constituyen un sistema distribuido a lo largo de toda la planta, desde las raíces hasta la ultima venilla de la nervadura foliar, a través del cual discurre el agua, con todas las sustancias disueltas en ella, como una red de canales (Paniagua, 2002).

3.4.1.4.1. Xilema.

Transporta el agua y sustancias disueltas en ella (sales minerales y compuestos nitrogenados). El xilema también sirve de reserva energética, y a la vez de soporte de la planta por lo cual es llamado leño. Las células conductoras del xilema son los elementos traqueales, ya sea traqueidas y elementos de los vasos. Estas células son de forma más o menos alargada que tienen paredes secundarias lignificadas y no están vivas en la madurez. Se diferencian entre sí ya que las traqueidas son células no perforadas con pares de punteaduras solo en sus paredes comunes, mientras que los elementos de los vasos (tráqueas) tienen también perforaciones, que son zonas desprovistas de paredes primarias y secundarias, a través de las cuales están interconectados los elementos de los vasos, formando verdaderos canales para el transporte de líquidos. En un corte transversal de raíz, se puede observar la falta de médula, mientras que la región central es ocupada por el xilema primario, donde los radios paratraqueales surcan radialmente la estructura, pudiendo aparecer el xilema dispuesto en cuñas (Evert, 2006; Solís, Guerrero de Solís, Gattuso, & Cáceres, 2003).

3.4.1.4.2. Floema.

También conocido como líber o tejido criboso. Este tejido transporta productos de la fotosíntesis (azúcares y materias orgánicas elaboradas) en múltiples direcciones a través de la planta, desde su sitio de producción hasta los lugares donde tales productos son consumidos o almacenados. El floema puede trasladar entre 50 y 300 mg de sólidos por mL, de la que un 90% es sacarosa. También transporta otros azúcares, proteínas estructurales y enzimáticas, aminoácidos, ácidos nucleicos, factores reguladores (fitohormonas), vitaminas,

ATP, ácidos orgánicos, fosfatos orgánicos e iones. Estructuralmente el floema está compuesto por tubos cribosos, que resultan de la superposición de células de forma cilíndrica, unidas entre sí a través de sus bases que, a diferencia de las tráqueas, no quedan perforadas en sentido estricto sino atravesadas por cribas, formando placas cribosas, estas células son llamadas elementos de los tubos cribosos. El floema también está constituido por células cribosas que son similares a los tubos cribosos, pero se superponen sin que las paredes celulares basales formen verdaderas placas cribosas sino tan sólo áreas cribosas (Paniagua, 2002).

3.5. Características macroscópicas de las plantas

Las plantas al igual que otros organismos están compuestas por células que forman tejidos que a su vez forman órganos, estos órganos tienen funciones distintas dependiendo de la planta o de la localización. Dentro de estos órganos, está la raíz que es un sistema radical axonomorfo o primario que penetra profundamente en el suelo de donde obtiene nutrientes y agua. Algunas raíces poseen funciones especializadas, además de anclar la planta y absorber agua y minerales (Nabors, 2006).

También cuentan con un tallo, en el cual el crecimiento primario de la mayoría de los tallos, el tejido vascular forma haces independientes. Una región de transición asegura la continuidad vascular entre raíz y tallo. Algunos tallos poseen funciones especializadas, además del sostén y la conducción (Nabors, 2006).

Las plantas además cuentan con hojas, que son, un primordio foliar que se desarrolla mediante división, crecimiento y diferenciación celulares hasta convertirse en una hoja. La epidermis de la hoja proporciona protección, además de regular el intercambio de gases. El mesófilo, tejido fundamental de las hojas, se encarga de llevar a cabo la fotosíntesis. El tejido vascular de una hoja se dispone en forma de nervios. La forma y disposición de las hojas obedecen a causas medioambientales. La zona de abscisión se origina en el pecíolo de una hoja caduca. Algunas hojas poseen funciones especializadas, además de la fotosíntesis y la transpiración (Nabors, 2006).

3.5.1. Raíz.

Las raíces se clasifican en tuberosas y no tuberosas. Las tuberosas, pueden adoptar la forma de nabo y decimos que son napiformes, otras veces son alargadas y se les denominan fusiformes, también encontramos raíces contráctiles. La superficie puede ser estriada o con ranuras longitudinales y transversales. Muestran las cicatrices dejadas por la raíces de segundo orden cuando éstas caen (Solís, Guerrero de Solís, Gattuso, & Cáceres, 2003).

3.5.2. Tallo.

Las dos funciones principales, son con conducción y el soporte. Las sustancias producidas en las hojas son transportadas a travez de los tallos por vía del floema a los lugares de utilización de estas sustancias, como son las hojas en crecimiento, los tallos y las raíces, así como las flores en desarrollo, las semillas y los frutos. Los tallos herbáceos pueden ser rectos, retorcidos, en sección transversal ser teretes, cuadrangulares, alados, afilos o con hojas dispues en forma alterna, opuesta o verticilada (Solís, Guerrero de Solís, Gattuso, & Cáceres, 2003).

3.5.3. Hoja.

La hoja es una ramificación, brote lateral, apéndice lateral excrescencia, que se origina en los meristemas apicales caulinares, que a nivel microscopico se ve como producto directo del tallo. La hoja verdadera, consta de dos partes, el pecíolo y el limbo. Las hojas pueden tener una consistencia dura, flexible, coriácea, membranácea, papirácea, carnosas o suculentas. El color puede variar dependiendo estado que se encuentre la hoja. La forma, si la hoja se encuentra entera, se puede observar ápice, base, borde, contorno, nervacion, simetría, si posee o no pecíolo, si es simple o compuesta, si lleva anexos etc. La superficie de la lámina por el tacto, puede ser lisa, sedosa, áspera o tomentosa y por la visión, puede ser glabra, pubescente, rugosa o ondulada, hisuta o verrucosa. La transparencia de algunas hojas pueden presentar puntos transparentes, relacionados con la estructura interna del órgano. El pecíolo puede ser estriado, liso, rugoso, piloso, alado, su forma de inserción, etc., (Solís, Guerrero de Solís, Gattuso, & Cáceres, 2003).

3.5.4. Inflorescencia.

Es todo un sistema de ramificación que se resuelve en flores; de manera que toda la inflorescencia supone ramificación y en cada una de esas ramificaciones, una flor u otra inflorescencia. El tipo de inflorescencia, así como de la flor es propio de cada especie; de ahí su importancia desde el punto de vista sistemático y morfológico dado que siendo una ramificación admite muchas variaciones. Se pueden clasificar en: inflorescencias racemosas, cenfrígulas, determinadas o definidas e inflorescencias cimosas, centrípetas, indeterminadas o indefinidas. Tanto las inflorescencias racemosas o cimosas, pueden ser simples o compuestas, y pueden ser con *homotípicas* (las tiene el mismo tipo en su totalidad) y *heterotípicas* (inflorescencias parciales, diferentes a la inflorescencia total). Las flores de las inflorescencias pueden ser pediceladas o sésiles (Solís, Guerrero de Solís, Gattuso, & Cáceres, 2003).

3.6. Material vegetal de estudio

3.6.1. Nombre científico.

Dorstenia contrajerva L.

Dorstenia contrajerva var. *tenuiloba* (Blake) Standl. y Steyermark

3.6.2. Sinónimos.

Dorstenia contrajerva subsp. *tenuiloba* S.F. Blake

Dorstenia contrajerva var. *houstonii* (L.) Bureau DC (Standley & Steyermark, 1946)

Dorstenia alexiteria L.

Dorstenia maculata Lem.

Dorstenia palmata Willd. ex Schult.

Dorstenia quadrangularis Stokes (Mendez, 2012)

3.6.3. Nombres comunes.

Contrahierba; Mano de león (Quetzaltenango)

Hierba de sapo (Petén)

Cambahan (Petén, maya)

Contaúl (Chimaltenango, fide Tejada)

Xcambalhan y cabalhau (Yucatan, Maya) (Standley & Steyermark, 1946)

Descripción taxonómica.

- Reino: Plantae
- Subreino: Viridaeplantae
- División: Tracheophyta
- Subdivisión: Spermatophyta
- Infradivisión: Angiospermae
- Clase: Magnoliopsida
- Superorden: Rosanae
- Orden: Rosales
- Familia: Moraceae
- Género: *Dorstenia*
- Especie: *D. contrajerva* (America, 2011).

3.6.4. Descripción botánica.

Hierba acaulescente o casi acaulescente de 10 a 40 cm de altura, estípulas 2-6 mm de largo. Hojas juntas en la base del ápice del rizoma, pecioladas 8-26 cm de largo. Lámina de la hoja variable en diferentes plantas, lobulada, márgenes dentados suavemente a entero. Inflorescencia solitaria, nace en la base de las hojas, con pedúnculo largo 10-34 cm, receptáculo en forma rectangular pero muy irregular con márgenes lobulados, lóbulos de pocos a muchos. *Dorstenia contrajerva* se reconoce por su inusual receptáculo rectangular y áspero con los bordes de los lóbulos irregulares (Gupta, 2008).

3.6.5. Distribución geográfica y hábitat.

Dorstenia contrajerva, es una hierba con iluminación filtrada a través sitios sombreados en formaciones de bosque siempre verde, tropicales y subtropicales, se extiende territorialmente en Guatemala en los departamentos de Petén, Alta Verapaz, Chiquimula, Jalapa, Santa Rosa, Escuintla, Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltenango, Retalhuleu, Quetzaltenango, Huehuetenango. Desde el caribe hasta Peru y Guayanas en América del Sur (Standley & Steyermark, 1946).

En Costa Rica se encuentra en la costa del caribe y también se observa en la vertiente del Pacífico, desde el nivel del mar hasta 1200 (1400) m de elevación. Está presente normalmente en el campo bajo sombra, como planta aislada, aunque se observa en poblaciones (Gupta, 2008).

Usos etnomédicos y modo de empleo.

3.6.5.1. Hoja. En Guatemala Cáceres, A, 1998 hace referencia al uso de las hojas en decocción para la diarrea, tos y flema.

3.6.5.2. Raíz. En Costa Rica, el extracto acuoso, caliente, de la raíz seca se utiliza como emenagoga. En las Indias occidentales, el té y la infusión del rizoma de contrahierba se utilizan para la disentería, indigestión, fiebre, calenturas, dolores musculares y mordeduras de serpiente. En Nicaragua es frecuente el empleo de la raíz para la diarrea, se menciona que los rizomas secos se emplean como saborizante de cigarrillos, para disminuir el hábito de fumar (Gupta, 2008).

3.6.5.3. La planta entera. En Guatemala, la decocción de la planta se usa para los cólicos, erupciones, tratamiento de mordeduras de animales venenosos en específico mordedura de serpiente. Actúa en patologías gastrointestinales para tratar la diarrea, disentería e indigestión. En Nicaragua se usa como medicina casera contra la fiebre y la diarrea. En Brasil, se utiliza como emenagogo. En México, el extracto acuoso en caliente se utiliza para menstruaciones irregulares. En Venezuela se utiliza en caso de problemas urinarios por exceso de necesidad de orinar (Cáceres & Samayoa, 1989; Standley & Steyermark, 1946). La planta seca en infusión se utiliza como tratamiento para la fiebre. El extracto acuoso caliente se utiliza como emenagogo. Algunas especies de *Dorstenia* contienen furanocumarinas con propiedad analgésica, anti-inflamatorio, antibacterial, antiviral, anticoagulante y actividad fototóxica. Se encuentran chalconas preniladas que pueden tener propiedades antiproliferativas y anticancerígenas. *Dorstenia contrajerva* posee actividad contra *Giardia lamblia*. Esta actividad antiprotozoaria apoya el uso popular para tratar la diarrea y la disentería (Lans, 2007). En Panamá, los indígenas Cunas la emplean como un remedio para el resfrio. (Gupta, 2008).

3.6.6. Composición química.

- 3.6.6.1. Hojas.** Alcaloides, péptidos como la contrayervina y el psoraleno de 5-(3-4-epoxi-2-7-dimetil-6-7-octenoil) (Bokesch, y otros, 2004).
- 3.6.6.2. Rizoma.** Mucílagos, la cumarina dorsteniol y el cardenolido siriogenina.
- 3.6.6.3. Partes aéreas.** Furanocumarinas glucosiladas como α -L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosil-bergaptol, bergapten, 4-[[3-(4,5-dihidro-5,5-dimetil-4-oxo-2-uranyl)butil]oxi]-7H-furo[3,2-g][1]benzopiran-7-one, bergaptol, catequina y epicatequina, geiparvarina, 2,3-dihidro-2-isopropenil-6-metoxibenzofurano, (2S*,1'S*)-2,3-dihidro-2-(1'-hidroxi-1'acetiloximetil)-7H-furo[3,2][1]benzopiran-7-o (Cáceres, y otros, 2001; Terreaux, y otros, 1995; Tovar-Miranda, Cortés-García, Santos, & Joseph, 1998).

3.6.7. Farmacología.

- 3.6.7.1.** Se ha demostrado que el péptido de contrayervina, aislado de *Dorstenia contraejerva*, produce una fuerte inhibición del efecto citopático de la infección del virus de inmunodeficiencia humano HIV (HIV-1RF) en una línea celular de linfocitos T-linfoblastos humana (Bokesch, y otros, 2004).
- 3.6.7.2.** Otros estudios demuestran que el extracto diclorometánico de la hoja ha exhibido una leve actividad larvicida y propiedades antibacteriana. El efecto larvicida fue probado contra larvas de *Aedes aegyptii*; y este fue activo (100% de mortalidad en 24 horas) a una concentración de 125 ppm. Las fracciones del extracto fueron también probadas pero solamente tres de ellas fueron activas (Terreaux, y otros, 1995).
- 3.6.7.3.** La contrayervina aislada (parte no especificada) tiene un efecto inhibitorio citopático contra la infección de una línea del virus HIV (Bokesch, y otros, 2004).
- 3.6.7.4.** La actividad contra las fiebres, diarrea y mordeduras de serpientes se le atribuye a las cumarinas, chalconas, flavonas y flavononas (Bokesch, y otros, 2004).
- 3.6.7.5.** Un estudio *in vitro*, demostró que la geiparvarina, una cumarina 7-substituida, inhibe el carcinoma humano de la nasofaringe (Terreaux, y otros, 1995).

- 3.6.7.6.** El extracto etanólico de la raíz posee actividad inhibidora sobre la vía clásica del Complemento, pero es inactiva en la vía alterna. El extracto etanólico de la flor es inactiva sobre la vía alterna y clásica (Castillo, Osorio, Margarita, & Cáceres, 2005).
- 3.6.7.7.** El extracto etanólico de *Dorstenia contrajerva* no presentó actividad inhibitoria contra *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (Quiñonez, Samayoa, García, Cáceres, & Matta, 2008).

4. JUSTIFICACIÓN

Es bien sabido que la recolección silvestre, constituye una de las principales prácticas para la obtención de las plantas medicinales, ya sea con fines de consumo o de comercialización en mercados y tiendas naturistas. En el caso particular, de la planta objeto de la presente investigación, *Dorstenia contrajerva*, dada su característica de hierba anual no existen cultivos controlados sobre la misma, lo que la hace susceptible de adulteración y/o falsificación.

Es un hecho, que muchas familias de plantas comparten características botánicas similares y que muchas familias diferentes comparten un mismo uso popular. De la misma manera se sabe, que no siempre las especies o variedades de la especie, utilizadas por la población con un mismo fin, comparten las mismas propiedades medicinales e inclusive, en algunos casos especies muy parecidas tienen mayor o menor grado de toxicidad, por lo que establecer la identidad de dichas plantas, especialmente cuando estas ya se encuentran secas y/o fragmentadas, constituye una herramienta importante en los estudios etnobotánicos de una región.

Es objeto de este trabajo de investigación realizarlas descripción de las características macroscópicas, microscópicas e histoquímicas de dos variedades de *Dorstenia contrajerva* nativas de Guatemala con fines de control de calidad.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Describir las características morfoanatómicas e histoquímicas de dos variedades de *Dorstenia contrajerva* nativas de Guatemala con fines de control de calidad.

5.2. Objetivos específicos

- 5.2.1. Establecer las características macroscópicas de *Dorstenia contrajerva* L. y *Dorstenia contrajerva* var. *tenuiloba* (Blake) Standl. y Steyerm, nativas de Guatemala.
- 5.2.2. Definir las características microscópicas de *Dorstenia contrajerva* L. y *Dorstenia contrajerva* var. *tenuiloba* (Blake) Standl. y Steyerm, nativas de Guatemala útiles para el control de calidad.
- 5.2.3. Identificar algunos de los metabolitos secundarios, mediante métodos histoquímicos que puedan ser utilizados como parámetros de identidad y pureza de *Dorstenia contrajerva* L, y *Dorstenia contrajerva* var. *tenuiloba* (Blake) Standl. y Steyerm.

6. HIPÓTESIS

El estudio por ser considerado de tipo descriptivo no requiere del planteamiento de la hipótesis

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Universo de trabajo

Contrayerba obtenida del departamento de Suchitepéquez en la región sur occidente del país de Guatemala.

EL material vegetal de *Dorstenia contrajerva* L., y *Dorstenia contrajerva* var. *tenuiloba* (S. F. Blake) Standl. & Steyerl, fueron recolectadas en la Ecoparcela El Kakawatal ubicada en el cantón Chiguaxté, Municipio de Samayac, Departamento de Suchitepéquez (Altitud: 539 msnm, 14°33'56.66" N; 91°27'53.19" O), en etapa de follaje y floración.

7.2. Recursos

7.2.1. Humanos.

- Carlos Rodolfo Díaz Martínez (estudiante)
- Kristian Josué Flores Guzmán (estudiante)
- Licda. María Eugenia Paredes Sánchez (asesora)

7.2.2. Institucional.

- Departamento de Citohistología, edificio T-11, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC).
- Secadores de Herbario de la Escuela de Biología (BIGU), USAC
- Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), USAC
- Laboratorio de Ecología de la Facultad de Agronomía, USAC

7.3. Listado de materiales

7.3.1. Plantas medicinales. (droga vegetal fresca y seca)

Dorstenia contrajerva L, y *Dorstenia contrajerva* var. *tenuiloba* (Blake) Standl. & Steyerl, perteneciente a la familia Moreceae.

7.3.2. Instrumentos.

- Aguja de disección e histológica
- Balanza de humedad marca Santorius
- Balanza semianalítica

- Baño María
- Centrifuga (2500-3500 rpm 45 °C)
- Desecador
- GPS
- Horno
- Microscopio con cámara incorporada
- Microscopio estereoscópico
- Microscopio óptico
- Mufla

7.3.3. Materiales.

- Agitadores magnéticos
- Cartones con prensa de madera
- Cristalizadores
- Erlenmeyer
- Filtro Whatman I
- Hojas de afeitar marca Gillette
- Láminas cubreobjetos
- Láminas de poliestireno (Duroport)
- Láminas portaobjetos
- Papel manila
- Papel periódico
- Varilla de vidrio
- Vidrio de reloj
- Vaso de precipitado

7.3.4. Reactivos.

- Agua destilada o desionizada
- Ácido sulfúrico concentrado
- Ácido acético glacial

- Alcohol etílico al 70%
- Alcohol etílico al 96%
- Alcohol etílico al 80%
- Alcohol etílico al 100 %
- Azul de cresil al 1%
- Cloruro de cinc
- Cloruro férrico o sulfato férrico al 10%
- Esmalte para uñas
- Gelatina-glicerina
- Hidrato de cloral (5:2)
- Hidróxido de potasio al 5%
- Hidróxido de potasio al 10%
- Hidróxido de sodio al 5%
- Hipoclorito de sodio al 50%
- Iodo
- Ioduro de cinc
- Lugol
- Metanol
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de sudan III o sudan IV
- Rojo de rutenio al 0.1%
- Safranina al 1%
- Safranina en saturación de alcohol de 80%
- Sulfato férrico

7.4. Metodología

7.4.1. Pruebas de identidad.

7.4.1.1. Descripción macroscópica.

- Se revisó a simple vista y con microscopio estereoscopio todos los caracteres que permiten una correcta identificación de la materia vegetal fresca y seca.

7.4.1.2. Descripción botánica.

- Se elaboró una descripción botánica en base a obras florísticas generales y monografías, para la identificación de la planta en estudio.

7.4.2. Herborización de ejemplares.

7.4.2.1. Colecta y secado de muestras.

- Se observaron las plantas de interés para determinar si pueden obtenerse suficientes muestras de ellas y si están sanas.
- Se anotaron en una libreta de campo datos como especie, familia, nombre común, localidad de la colecta, sitio de colección, coordenadas por GPS, altitud y latitud, descripción del hábitat, descripción del espécimen (hábito, hábitat, tamaño, hoja, flor, fruto), usos, número de colecta y fecha de colecta.
- Con la ayuda de tijeras de podar o machete, se obtuvieron al menos 5 ejemplares, completos con sus órganos vegetativos y órganos reproductivos.
- Una vez colectadas, cada muestra se coloca en medio de 2 hojas de papel periódico. Se anotaron los datos básicos sobre el papel periódico con marcador indeleble.
- Se colocaron primero 2 muestras por cada cartón corrugado. Así se formó una pila de muestras. En ambos extremos de la pila se colocó cartón para retener mejor el calor.
- Se colocaron las pila de muestras en una prensa, amarrarla y apretarla lo más posible.
- Se colocaron en prensa en la secadora del herbario durante 24 horas, tiempo después del cual se revisó, si era necesario que permanecieran por otras 24 horas. De ser necesario cambiar el papel periódico para mantener las muestras libres de humedad y evitar así el desarrollo de hongos (Rosales, y otros, 2010).

7.4.2.2. Montaje de muestras y etiquetas.

- Se colocó cada muestra seca sobre una hoja de cartulina blanca de las dimensiones requeridas. Dejando libre la parte inferior derecha para colocar allí la etiqueta de identificación. Se sujetó la planta a la cartulina utilizando goma.

- Si se han caído frutos o semillas de la muestra, elaborar una bolsita con papel kraft y pegar en un espacio adecuado en la cartulina.
- Se elaboraron y pegaron la etiqueta de identificación de acuerdo a los requerimientos del Herbario BIGU.
- Se colocaron en cartulina con la muestra debidamente pegada e identificada en una hoja de papel periódico blanco.
- Se colocaron dentro del fólder que identifica a cada herbario (Rosales, y otros, 2010).

7.4.3. Preparación de láminas de referencia.

- Para el estudio microscópico de las drogas vegetales, se elaboraron cortes del material vegetal en estudio, los cuales se realizaron a mano alzada y con un micrótopo, fueron observados en un microscópico Micrometer II, Fisher Scientific y digitalizadas con el programa Micron USB.

7.4.3.1. Técnica de corte a mano alzada.

- Se coloraron entre dos trozos de duroport, la materia vegetal, hoja o tallo.
- Se sostuvo fuertemente con una mano el material a cortar, ya acondicionado y con la otra mano, se deslizó de manera perpendicular una hoja de afeitar en buenas condiciones, mojando constantemente la superficie de corte con agua.
- Se recibieron los cortes obtenidos en un vidrio de reloj con agua destilada, con la ayuda de una aguja de disección.
- Se seleccionaron los cortes más delgados y parejos con la ayuda de una aguja de disección y colocarlos en láminas portaobjetos.
- Se procesaron según la técnica elegida, y en caso contrario se conservaron en alcohol al 70°.
- Se observaron al microscopio (Gattuso & Gattuso, 1999; Solís, Guerrero, Gattuso, & Cáceres, 2003)

7.4.4. Técnicas de diafanizado (decoloración).

7.4.4.1. Técnica de diafanizado.

- Se colocó el material (hojas, al menos cuatro hojas) en un vaso de precipitado con alcohol al 96o, llevar a ebullición (en baño de María) durante 10 minutos.
- Se pasaron a una solución de partes iguales de alcohol al 96o e hidróxido de sodio al 5 %, llevar a ebullición (en baño de María) por 5-10 minutos, según la consistencia del material.
- Se lavó el material con agua destilada tibia varias veces hasta quedar el agua totalmente limpia.
- Se pasó con mucha precaución el material a una capsula de Petri que contenía hipoclorito de sodio al 50%, dejarlos hasta que se tornen blanco-transparentes. El tiempo dependió del material.
- Se lavaron con agua destilada varias veces hasta eliminar el hipoclorito de sodio.
- Se colocaron en hidrato de cloral (5:2) durante 10-15 minutos como mínimo, hasta que se tornen transparentes. Pudiendo el material permanecer en esta solución hasta momento de colorear y montar.
- Se trasladaron cada hoja a un portaobjetos, cuidando que unas preparaciones fueran de la cara abaxial y otras de la cara adaxial.
- Se montaron con gelatina-glicerina.
- Se cubrieron suavemente con un cubreobjetos procurando no originar burbujas.
- Se sellaron los extremos del cubreobjetos utilizando esmalte para uñas (Gattuso & Gattuso, 1999; Solís, Guerrero de Solís, Gattuso, & Cáceres, 2003).

7.4.5. Métodos de disociado.

7.4.5.1. Método de disociado débil.

Se utilizó para hojas, tallos, herbáceos y cortezas comerciales. Se procedió así:

- Se cortó finamente el material vegetal.
- Se colocó el material cortado finamente en solución de hidróxido de sodio al 5 %.
- Se hirvió durante 5 minutos.
- Se lavó con agua destilada hasta que el líquido quedó limpio.

- Se colocaron con ayuda de aguja histológica una porción del material sobre el portaobjeto y se disgrego con ayuda de una aguja
- Se cubrió con un cubreobjetos procurando no originar burbujas.
- Se montó con gelatina-glicerina, para conservar más tiempo (Gattuso & Gattuso, 1999; Solís, Guerrero de Solís, Gattuso, & Cáceres, 2003).

7.4.6. Determinación de índice de estomas.

El índice de estomas es una constante dentro de ciertos límites y permite la caracterización de hojas por comparación con testigos o con valores ya tabulados.

- Se procedió a diafanizar un trozo de hoja de alrededor de 5 X 5 milímetros.
- Se transfirió a un portaobjetos, cuidando que la epidermis que contiene estomas quedara orientada hacia arriba. Se montó con una gota de hidrato de cloral o con gelatina-glicerina.
- Se observó con microscópico Micrometer II, utilizando el objetivo de 40X y el ocular 10X.
- Se dibujó en el papel el área observada de 2 milímetros de lado utilizando el micrómetro objetivo.
- Se dibujó dentro de esa área una cruz por cada célula epidérmica y un círculo por cada estoma.
- Para cada muestra se realizaron 10 determinaciones y se calculó la media aritmética (Solís, Guerrero de Solís, Gattuso, & Cáceres, 2003).

Se calculó el resultado de la siguiente manera: $I = \frac{S \times 100}{E + S}$

Siendo: **I** el índice de estomas

S el número de estomas en una superficie determinada de la hoja.

E el número total de células epidérmicas en la misma área

(Incluyendo los tricomas que pudieran aparecer)

7.4.7. Determinación de índice de empalizada.

Este método se usa fundamentalmente para el control de calidad de hojas.

- Se procedió a diafanizar un trozo de hoja de alrededor 5x5 milímetros.

- Se transfirió a un portaobjetos, cuidando que la epidermis abaxial quedara orientada hacia arriba. Se montó con una gota de hidrato de cloral o con gelatina-glicerina.
- Se observó con microscópico Micrometer II, utilizando el objetivo de 40X y el ocular 10X.
- Se dibujó en una hoja de papel cuatro células epidérmicas adyacentes.
- Se enfocaron las células del clorénquima en empalizada y se dibujaron tantas como para cubrir la superficie de las 4 células epidérmicas dibujadas anteriormente. Las células del clorénquima en empalizada se observaron sección transversal como pequeños círculos.
- Se contaron las células del clorénquima en empalizada debajo de las 4 células epidérmicas. Si una célula no entrara totalmente se le incluyó solo si más de la mitad está comprendida dentro del área de esas cuatro células epidérmicas.
- Se calculó el valor promedio de células de clorénquima en empalizada por debajo de cada célula epidérmica, dividiendo el número total obtenido por 4.
- Se realizó un total de 10 determinaciones para cada muestra y calculó la media aritmética (Solís, Guerrero de Solís, Gattuso, & Cáceres, 2003).

7.4.8. Técnicas de coloración (tinciones).

7.4.8.1. Coloración con safranina.

- Se seleccionaron los cortes más delgados
- Se clarificaron los cortes con hipoclorito de sodio al 50%, hasta que se observaron blancos
- Se realizaron 5-6 lavados, de 3 minutos cada uno, con agua destilada
- Se colorearon con solución Safranina al 1 % en agua, 2-5 minutos.
- Se lavó con agua destilada.
- Se montó con gelatina-glicerina.
- Se cubrió con un cubreobjetos procurando no originar burbujas.
- Se sellaron los extremos del cubreobjetos utilizando esmalte para uñas.

Resultados: las paredes lignificadas y la cutícula se tiñeron de color rojo intenso y las paredes celulósicas tomaron color rosado (Gattuso & Gattuso, 1999; Solís, Guerrero de Solís, Gattuso, & Cáceres, 2003).

7.4.9. Pruebas fitohistoquímicas.

Las pruebas histoquímicas determinan cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta, tal como algunos metabolitos secundarios. Las pruebas histoquímicas se pueden realizar tanto con material fresco como de herbario y aún conservado, siendo preferible su uso al estado fresco, asimismo la muestra puede trabajarse al estado de polvo o en secciones.

Se procedió, en general, de la siguiente manera: se colocó la muestra sobre un portaobjeto y se agregó sobre ella una gota de reactivo, se dejó actuar y por último se colocó el cubreobjeto presionando suavemente sobre el mismo con una aguja histológica. Se quitó el exceso de reactivo del borde del cubreobjeto, absorbiéndolo con un papel filtro (Gattuso & Gattuso, 1999; Solís, Guerrero, Gattuso, & Cáceres, 2003).

7.4.9.1. Alcaloides.

- Se agregó una gota del reactivo de Dragendorff.
- Se dejó actuar por unos minutos.
- Se colocó un cubreobjetos.
- Se observó al microscopio.
- Resultado: la presencia aparecerá un precipitado rojo ladrillo se considera positiva.

7.4.9.2. Almidón.

- Se agregó una gota de lugol.
- Se colocó un cubreobjetos.
- Se observó al microscopio.
- La presencia de gránulos color azul o azul-violáceo en el citoplasma de las células se consideró positivo

7.4.9.3. Grasas y aceites.

- Se agregó una gota de reactivo sudan IV.
- Se dejó actuar por 10 min o calentar suavemente flameando el portaobjeto.
- Al agregar una gota de alcohol al 70° y calentar, los aceites volátiles y las resinas se disuelven en el disolvente.

- Se colocó el corte en un portaobjetos y cubrir con un cubreobjetos.
- Se observó al microscopio.
- Una coloración roja o rosada se consideró positivo.

7.4.9.4. Mucilagos.

- Se agregó una gota de azul de cresil al 1 %.
- Se transfirió el corte a otro portaobjetos con una gota de agua destilada.
- Se observó al microscopio.
- Una coloración azul Francia se consideró positivo.

7.4.9.5. Saponina.

- Se agregó una gota de ácido sulfúrico concentrado.
- Se observó al microscopio.
- La aparición de una coloración amarilla inmediatamente, que a los 30 min cambia a rojo y finalmente a azul verdoso o lila se consideró positivo.

7.4.9.6. Tanino.

- Se agregó una gota de sulfato férrico.
- Se dejó actuar por 2-3 min.
- Una coloración azul-verdosa se consideró positivo.

7.4.10. Cromatografía en capa fina.

Consiste en la separación de los componentes de una mezcla a través de la migración diferencial sobre una capa fina adsorbente, retenida sobre una superficie plana. Una solución de la muestra que va a ser analizada se aplica por medio de un capilar sobre la superficie de un adsorbente inerte (sílica, alumina, etc.) distribuido sobre una placa de vidrio o aluminio. La placa se coloca verticalmente dentro de una cámara previamente saturada con el vapor del eluente adecuado, de tal forma que la parte inferior de la placa que contiene la muestra entre en contacto con la fase móvil. El eluente migra por capilaridad en la placa cromatográfica, separando por migración diferencial los diversos componentes de la mezcla. Después que ha ocurrido, se evapora el eluente y la placa se analiza utilizando luz ultravioleta o luz visible, o aplicando reactivos que dan como resultado reacciones de

coloración con sustancias contenidas en la mezcla analizada (Solís, Guerrero, Gattuso, & Cáceres, 2003).

7.4.10.1. Investigación de cumarinas.

Ensayo macro y semimicro: se midió 5mL de extracto vegetal metanólico. Se agregó 1mL de agua destilada hirviendo. Con un capilar se aplicó 2 manchas en el papel filtro. A una mancha se agregó 1gota de hidróxido de potasio 0.5N. se observó bajo luz ultravioleta de 365nm (fluorescencia azul o verde: positivo).

Cromatografía en capa fina: a 1g de material vegetal se agregó 10 mL de metanol y se calentó 30 minutos en baño de maría. Se filtró y evaporó hasta 1 mL. Se aplicó 20 µL en una cromatoplaque de sílica gel 60 F254. Se utilizó como estándar canela en metanol al 1 por ciento en metanol, umbeliferona, ácido p-cumárico, cumarinas.

Fase móvil:

Tolueno-acetato de etilo (93:7)

Detección:

Sin tratamiento químico UV 254 nm fluorescencia. UV 365 nm todas la cumarinas muestran una intensa fluorescencia azul o verde –azul.

Solución etanólica de hidróxido de potasio al 5 o 10 %. UV 365 fluorescencia azul o verde (Manual de operaciones LIPRONAT, 2013)

7.4.11. Pruebas de pureza.

7.4.11.1. Cenizas totales.

Esta prueba se realizó sobre el material pulverizado y nos indicó el contenido de minerales que contenía el material en estudio.

- Se calentó un crisol al rojo por 30 min, se permitió que se enfriara en un desecador y se pesó
- Se distribuyó 1 g de la droga vegetal en estudio sobre el crisol
- Se secó a 100-105 °C por una hora la droga vegetal en una estufa eléctrica
- Se colocaron los crisoles dentro de la mufla con una pinza
- Se incineró la droga vegetal hasta peso constante en una mufla con temperatura entre 575 y 625 °C durante tres horas

- Se esperó hasta que disminuya la temperatura de la mufla para extraer los crisoles
- Luego de cada incineración se enfrió los crisoles dentro de un desecador
- No se produjeron llamas en ningún momento durante el procedimiento
- Si luego de una prolongada incineración, no se logra obtener una ceniza libre de carbón, disolver en agua caliente, filtrar a través de papel filtro libre de ceniza e incinerar el residuo junto con el papel filtro. Combinar el filtrado con la ceniza y cuidadosamente evaporar a sequedad e incinerar hasta peso constante
- Transcurrido el tiempo requerido, se pesó en balanza analítica. Se anotó el peso y realizaron cálculos utilizando la siguiente formula (Solís, Guerrero de Solís, Gattuso, & Cáceres, 2003).

$$\% \text{ cenizas totales} = (CC - C)/W$$

En donde:

- CC: Peso de crisol más las cenizas
- C: Peso del crisol vacío
- W: Peso de la muestra

7.4.11.2.Determinación de humedad.

Para determinar el porcentaje de humedad del material vegetal se seleccionó una parte representativa de la cantidad total, como muestra, asegurando su homogeneidad mezclando o agitando, muestreos en varias partes o bien muestreos en intervalos definidos.

- Se evitó toda influencia de calor al moler la muestra, ya que el calor produce pérdida de humedad.
- Se molió la muestra con mortero, en líquidos con componentes sólidos utilizar varilla de vidrio, cucharilla o agitador magnético.
- Se utilizó platillos de muestra desechables, con un diámetro interno=92
- Se distribuyó en el platillo la muestra de manera fina y homogéneamente (2-5mm de altura, 5-15g de muestra)
- Se colocaron muestras líquidas, pastosas o volátiles en filtro fibra de vidrio.
- Se encendió el aparato.
- Se seleccionó el programa de secado.
- Se seleccionó la función programa y seleccionar P1, P2 y P3.

- Abandonar la selección de programa
- Se abrió cámara de muestras.
- Se colocó platillo de muestra.
- Se tapó el platillo de muestra: función tarar.
- Se pesó inicial, cerrar cámara de muestra.
- Se inició presionando el botón entrar o cerrar la cámara de muestras directamente.
- Se leyó el resultado.

7.5. Diseño estadístico.

7.5.1. Origen de la muestra: variedades recolectadas en la ecoparcela El Kakawatal ubicada en el cantón Chiguaxté, municipio de Samayac, departamento de Suchitepequez.

7.5.1.1. Mediciones:

7.5.1.1.1.1. Cualitativas (presencia/ ausencia)

7.5.1.1.1.1.1. Hitoquímicas y morfoanatómicas

7.5.1.1.1.1.2. Cuantitativas: mediciones en escala métrica o cantidades

7.5.1.1.2. Número de muestras: por conveniencia

7.5.1.1.2.1. Numero de réplicas: 5 repeticiones (para cada variedad)

7.5.2. Análisis estadístico: descriptivo

7.5.2.1. Variables cualitativas: descripción de los hallazgos

7.5.2.2. Variables cuantitativas: media, desviación estándar, mediana y rango.

8. RESULTADOS

8.1. *Dorstenia contrajerva* L.

8.1.1 Caracteres macroscópicos y descripción botánica de *Dorstenia contrajerva* L.

8.1.1.1 Recolección y herborización de ejemplares frescos.

Se recolectaron ejemplares frescos de *Dorstenia contrajerva* L., en la región de Guatemala, Suchitepéquez, Samayac, Chiguaxté, Ecoparcela el Kakaguatal, ubicada a una altitud de 539 metros sobre el nivel del mar (msnm), a 14°33'56.66"N; 91°27'53.19"O. Estas muestras fueron llevadas al Herbario de Biología Guatemala (BIGU) donde se identificó como dicha especie según la Flora de Guatemala, además se herborizó y depositó en este herbario un ejemplar de *D. contrajerva* L., el cual fue registrado e incorporado a las colecciones con el número 67412. (Figura 1 y Anexo 1)



Díaz, C. & Flores, K. (2014)

Figura 1: Ejemplar herborizado de *Dorstenia contrajerva* L.

8.1.1.2 Descripción botánica.

Es una planta brevicauca de 20 a 40 cm de altura. La hoja mide entre 4 y 25 cm de largo, de 3.5 a 23 cm de ancho. Presenta una base lobulada decurrente sobre el peciolo; el cual es largo. Sus lóbulos son pinnados y profundos; el ápice puede ser agudo a acuminados, estrecho o ancho. Las hojas muestran una textura áspera al tacto, envés puberulento principalmente sobre las venas, margen crenado-dentado. Los receptáculos de la inflorescencia son cuadrangulares, verdes o con el margen purpuroo, se encuentran encima de largos y delgados pedúnculos insertados excéntricamente; y con lóbulos irregulares y profundos; acrescentes con el tiempo, mide de 2-5 cm de largo y 2-3 cm de alto con grosor de hasta 1cm (Figura 2).



Díaz, C. & Flores, K. (2014)

Figura 2. Ejemplar fresco de *Dorstenia contrajerva* L.

8.1.1.3 Drogra seca.

La muestra seca es de color verde pardo, olor dulce herbal, delgada y quebradiza, formada por todas las partes de la planta (Figura 3).



Díaz, C. & Flores, K. (2014)

Figura 3. Droga seca de *Dorstenia contrajerva* L.

8.1.2 Caracteres micromorfológicos e histológicos.

8.1.2.1 Cortes a mano alzada.

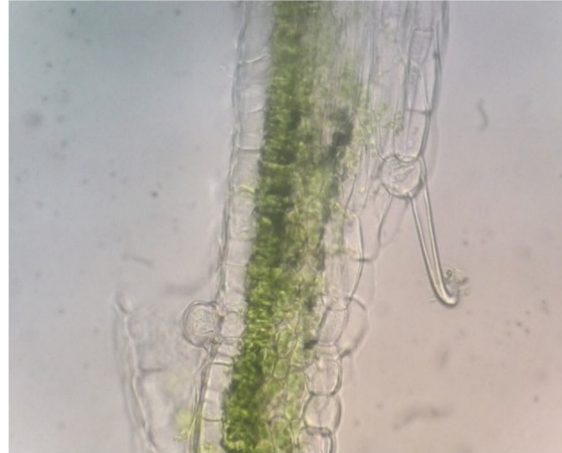
8.1.2.1.1 Hoja.

En los cortes transversales de la lámina foliar, se observó una hoja hipostomática y dorsiventral, ambas epidermis son unistratas con cutícula evidente. Las células epidérmicas adaxiales son grandes, cuadrangulares, con paredes tangenciales rectas y bordes ondulados con diversos tricomas (Figura 4). Por debajo de la epidermis adaxial se encuentra el parénquima en empalizada, 1-celular, formado por células cortas, ligeramente alargadas de tamaños irregulares, con numerosos cloroplastos. El parénquima esponjoso 1-3 celular presenta células redondas de tamaños irregulares. La epidermis abaxial, presenta células grandes, redondas u ovaladas, con bordes ondulados, estomas, tricomas glandulares, tricomas simples y tricomas uncinados principalmente sobre la nervadura central (Figuras 4-6, 8-9). En ambas caras de la hoja se observaron tricomas glandulares capitados, 1-célula basal, un pie corto y una cabeza ovoide 1-2-celular (Figura 5), tricomas tectores unicelulares de diferentes tamaños y formas; tricomas papilares y tricomas hispidulos (Figura 5-6, 8-9). El nervio medio (NM), es cóncavo hacia la epidermis adaxial y convexo hacia la epidermis abaxial, ambas epidermis monoestratificadas, haces vasculares colaterales abiertos,

rodeados de parénquima que continúa con colénquima angular ubicado junto a la epidermis abaxial (Figura 7). El peciolo presento una disposición similar al tallo y rizoma (Figura 10).



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 4: Corte trasversal de hoja.
Parénquima en empalizada y esponjoso.
400X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 5: Corte trasversal de hoja.
Parénquima en empalizada, tricoma uncinado y
tricoma papilar. 400X. Sin teñir



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 6: Corte trasversal de hoja.
Nervadura central; xilema, floema, y tricomas
uncinados. 40X. Tinción safranina.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 7: Corte trasversal de hoja.
Haces vasculares. 400x. Tinción: Safranina.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 8: Corte trasversal de hoja.
Nervadura alterna con tricomas tectores simples.
100X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015)
Figura 9: Corte trasversal de hoja.
Tricoma tector unicelular. 400X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 10: Corte trasversal de peciolo.
Epidermis, colénquima, parénquima y haces.
400X. Sin teñir.

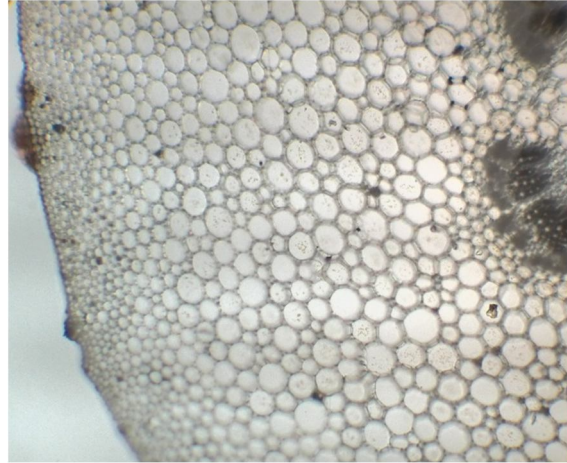
8.1.2.1.2 Tallo y Rizoma.

En los cortes transversales del tallo y el rizoma se observa su forma redonda a ovalada (Figura 11 y 17), con bordes irregulares, una epidermis simple, con cutícula y presencia de tricomas uncinados (Figura 12, 15 y 17). El sistema fundamental está constituido por colénquima de tipo angular localizado debajo de la epidermis, y parénquima amilífero resultado de la histoquímica (Figura 11-13, X). El sistema vascular está compuesto por haces de tipo colateral abierto dispuestos en una eustela (Figura 11 y 17). En los cortes longitudinales se observa la epidermis seguida por células de colénquima de formas alargadas y delgadas, el parénquima está formado por células cuadradas a ovaladas con

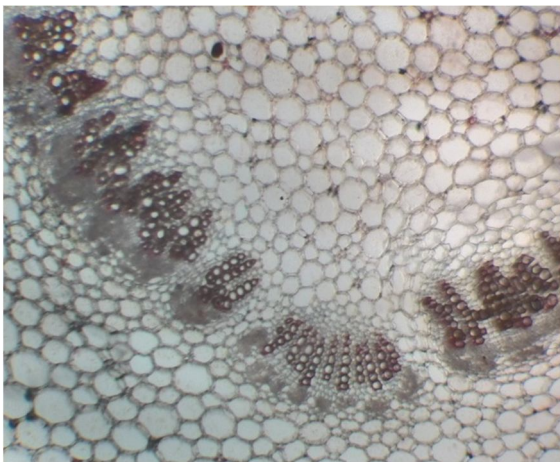
gránulos de almidón en su interior. Los haces vasculares se encuentran bien diferenciados (Figura 14-16). Se observó diferencia en el parénquima del tallo ya que este está formado por clorénquima (Figura 17).



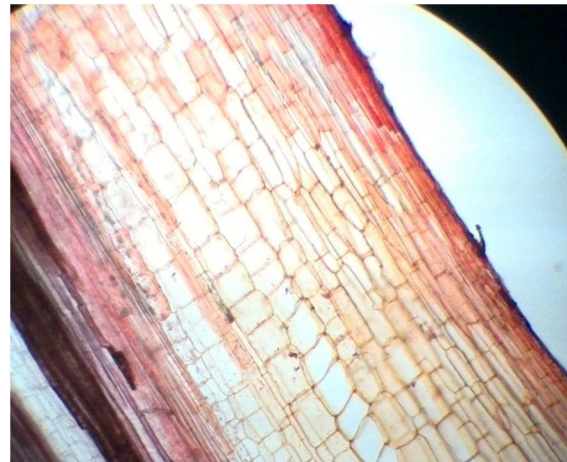
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 11: Corte transversal de rizoma.
Haces vasculares, colénquima y parénquima.
40X. Sin teñir.



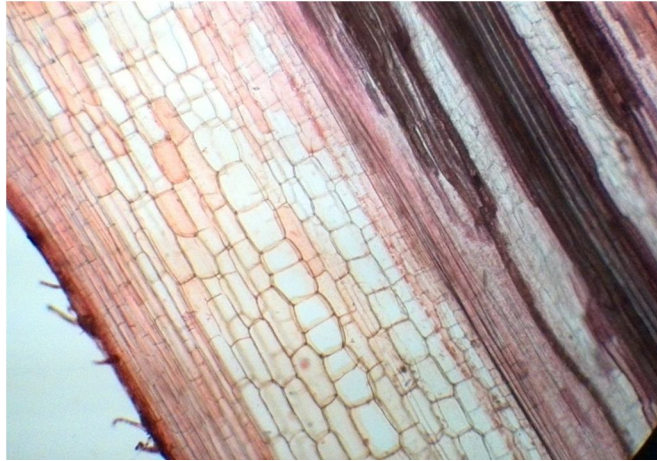
Díaz, C & Flores, K. (2015).
Figura 12: Corte transversal de rizoma.
Colénquima y parénquima con granos de glucógeno
400X. Sin teñir.



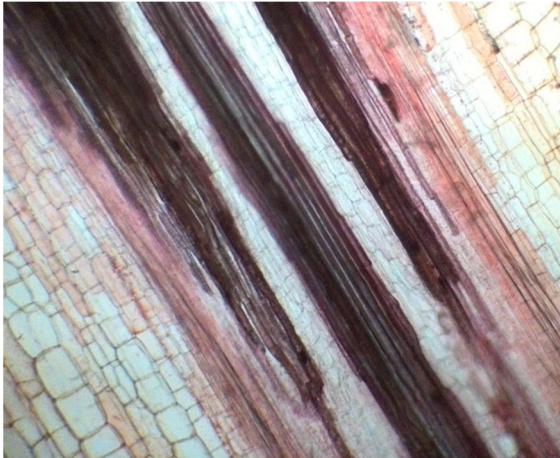
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 13: Corte transversal de rizoma.
Sistema vascular. 400X. Tinción: Safranina.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 14: Corte longitudinal de rizoma.
Colénquima angular y parénquima.
400X. Tinción: Safranina



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 15: Corte longitudinal de rizoma.
 Colénquima angular y parénquima. 400X. Tinción: Safranina.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 16: Corte longitudinal de rizoma.
 Sistema vascular. 400X. Tinción: Safranina.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 17: Corte transversal de tallo.
 Parénquima clorofílico. 100X. Sin teñir.

8.1.2.1.3 Raíz.

En el corte transversal de raíz se observa células rizodérmicas de forma plana y alargadas, exodermis formado de 1 a 3-celular, con células irregulares, seguido de un cortex formado homogéneamente de células redondas, la endodermis formada de células forma xilema y floema en el centro, en disposición de cuatro haces vasculares clasificada como una tetarca (Figura 18).



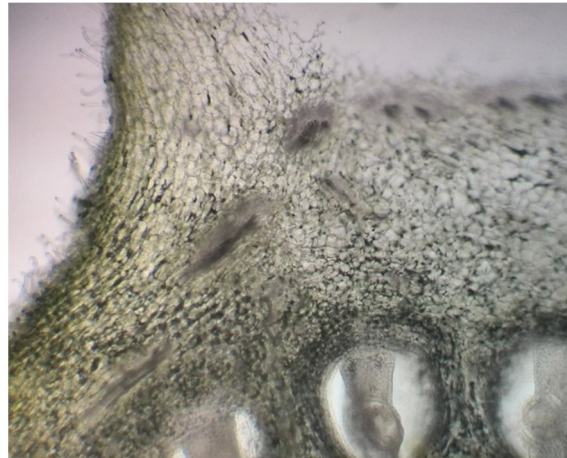
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 18: Corte longitudinal de raíz.
 Parénquima y sistema vascular.
 400X. Tinción: Safranina.

8.1.2.1.4 *Inflorescencia.*

La inflorescencia presentó la epidermis intensamente pilosa, con tricomas tectores unicelulares, tricomas glandulares y sobre la cara abaxial de la inflorescencia está cubierta de tricomas papilares unicelulares (Figura 19-21). Receptáculo bisexual presentó las flores femeninas carpeladas y flores masculinas estaminadas en la parte externa formada por 3 lóbulos oscuros (Figura 22-24). Se observó en el receptáculo tejido de clorénquima en donde se encuentran haces vasculares de tipo colateral abiertos (Figura 20-21).



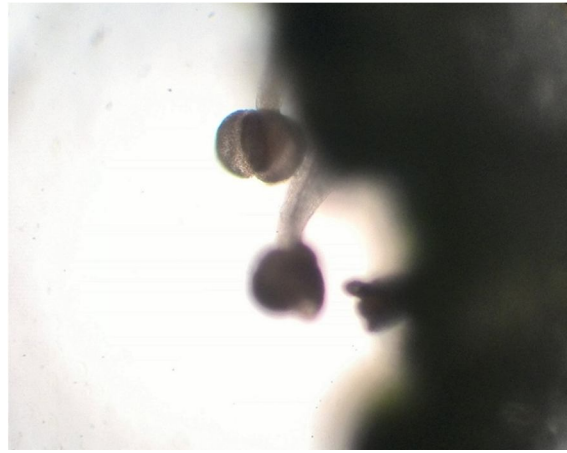
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 19: Corte longitudinal de inflorescencia
 Receptáculo con flores femeninas y masculinas.
 40X. Sin teñir.



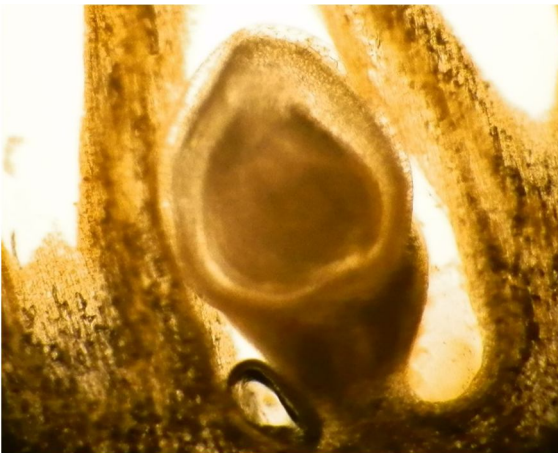
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 20: Corte longitudinal de inflorescencia
 Parénquima clorofílico, haces vasculares.
 100X. Sin teñir.



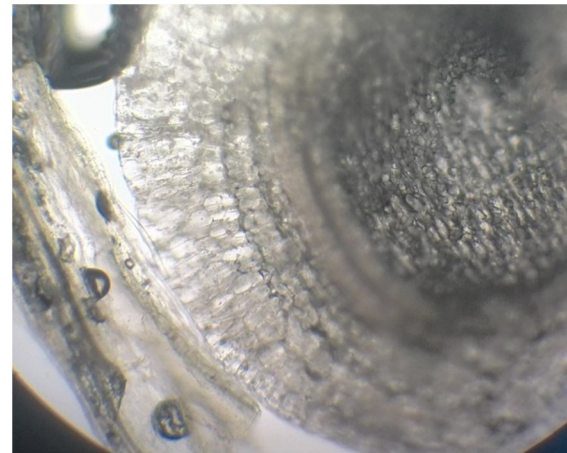
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 21: Corte longitudinal de inflorescencia
 Epidermis abaxial con tricomas y epidermis adaxial.
 con tricomas papilares. 400X. Tinción: Safranina.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 22: corte longitudinal de inflorescencia
 Flores masculinas. 400X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 23: Corte longitudinal de inflorescencia
 Flor femenina. 400X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 24: Corte longitudinal de inflorescencia
 Flor femenina. 400X. Sin teñir.

8.1.2.2 Diafanizado.

Se observó en el diafanizado de hoja estomas únicamente en la cara abaxial de tipo anisocíticos y anomocíticos (Figura 25, 27-28), tricomas papilares unicelulares, 6-celular en la base, tricomas hispidúlos unicelulares, 14-celular en la base y de mayor tamaño que los anteriores (Figura 26-27), tricomas glandulares del tipo capitados, formados anatómicamente de una célula basal, un pie y una cabeza ovoide 2-celular. (Figura 27-29), venación tipo reticular, que llegan al borde de la hoja (Figura 29-31). Sobre el nervio medio se observaron tricomas unicelulares uncinados e hispidúlos (Figura 32). En la cara adaxial

se pudo observar células del clorénquima en empalizada, además de los mismos tipos de tricomas (Figura 33-37).

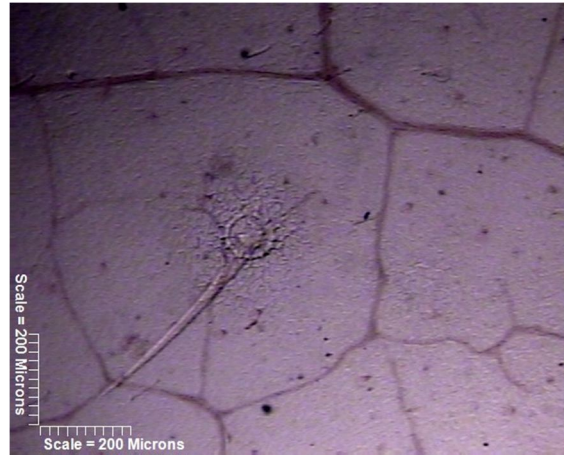


Díaz, C. & Flores, K. (2015).

Figura 25. Diafanizado abaxial de hoja.

Células epidérmicas, tricoma uncinado base 6- celular, traquéidas, estomas y tricoma glandular.

400X. Tinción: safranina



Díaz, C. & Flores, K. (2015).

Figura 26. Diafanizado abaxial de hoja.

Tricoma unicelular hispidulos, 14-celular de base. 100X. Tinción: safranina



Díaz, C. & Flores, K. (2015).

Figura 27. Diafanizado abaxial de hoja.

Tricomas uncinados, glandulares, estomas.

400X. Tinción: safranina



Díaz, C. & Flores, K. (2015).

Figura 28. Diafanizado abaxial de hoja.

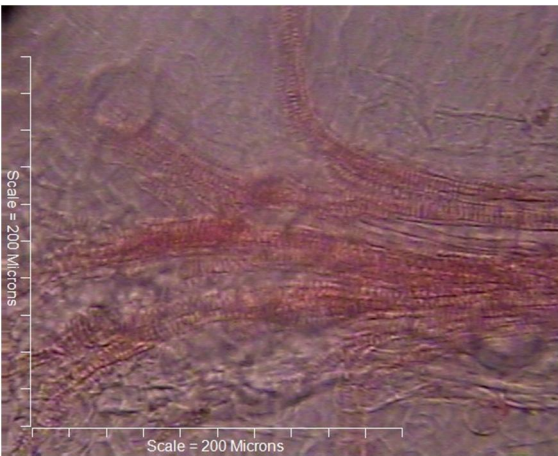
Estomas anisocíticos, células oclusivas, células epidérmicas, tricomas glandulares capitados, 400X. Tinción: safranina



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 29. Diafanizado abaxial de hoja.
 Borde dentado, tricomas papilar unicelulares,
 Tricomas glandulares capitados.
 400X. Tinción: safranina



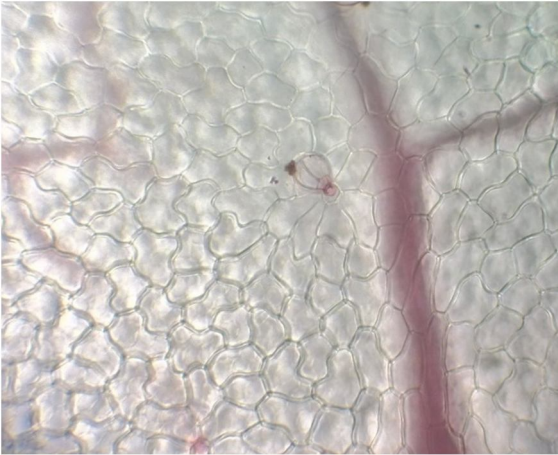
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 30. Diafanizado abaxial de hoja.
 Ápice de la hoja, nervio medio con haces vasculares
 colaterales abiertos. 400X. Tinción: safranina



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 31. Diafanizado abaxial de hoja.
 Haces vasculares en el ápice de la hoja.
 400X. Tinción: safranina



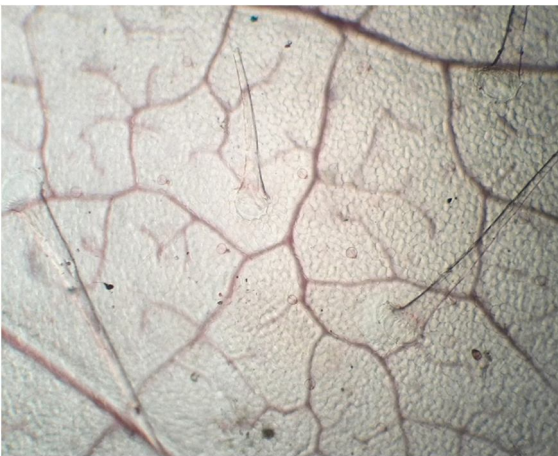
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 32. Diafanizado abaxial de hoja.
 Nervio medio; tricomas, haces del Xilema, células
 rectangulares. 400X. Tinción: safranina.



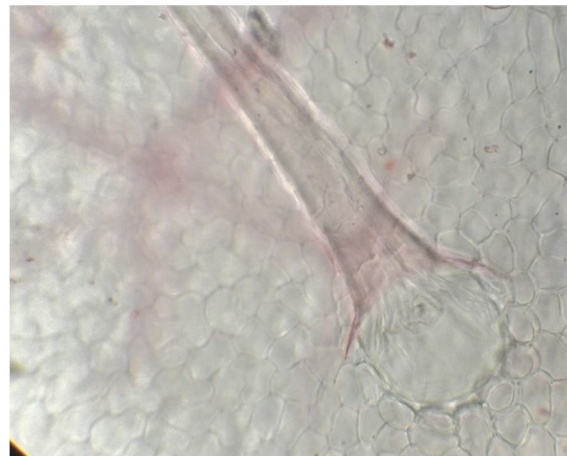
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 33. Diafanizado adaxial de la hoja.
 Células epidérmicas y tricoma glandular capitado.
 400X. Tinción: safranina.



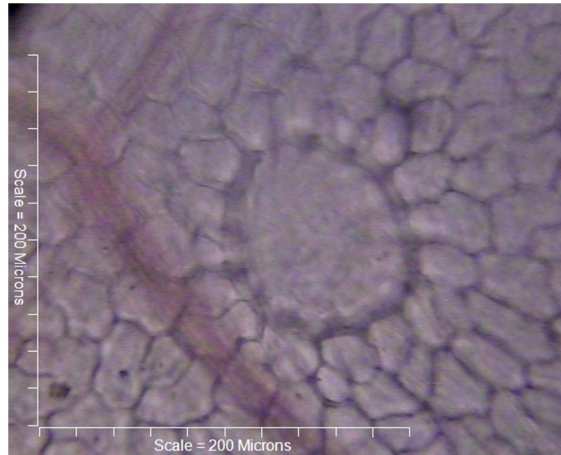
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 34. Diafanizado adaxial de la hoja.
 Células epidérmicas, células epidérmicas y traquéidas.
 400X. Tinción: safranina



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 35. Diafanizado adaxial de la hoja.
 Tricomas unicelulares hispidulos,
 100X. Tinción: safranina.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 36. Diafanizado adaxial de la hoja.
 Tricoma hispidulos y su base 14-celular.
 400X. Tinción: safranina

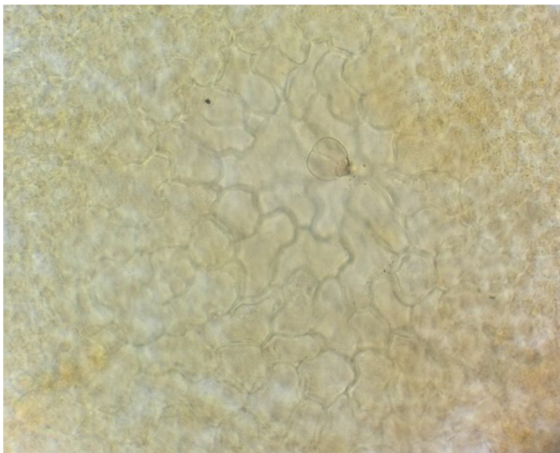


Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 37. Diafanizado adaxial de la hoja.
 Base de tricoma 14-celular.
 400X. Tinción: safranina.

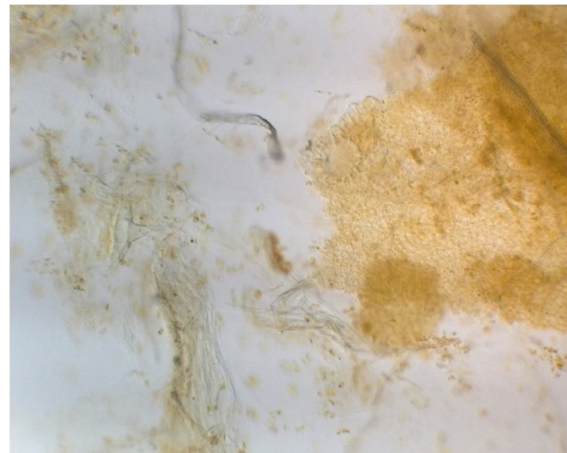
8.1.2.3 *Disociado débil.*

8.1.2.3.1 *Hoja.*

El disociado débil realizado a las hojas indica la presencia de los siguientes elementos anatómicos: fragmentos de ambas epidermis, que se diferencian debido a que la epidermis adaxial no presenta estomas (Figura 38-39); parénquima clorofílico (Figura 41-43), cadenas de xilema helicoidal y esclereidas (Figura 40), traquéidas (Figura 41), estomas anomocíticos y anisocíticos, tricomas papilares, glandulares, hispidúlos y las bases de los tricomas (Figura 39, 41-43).



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 38: disociado. Células epidérmicas
 con tricoma glandular. 400X. Sin teñir.



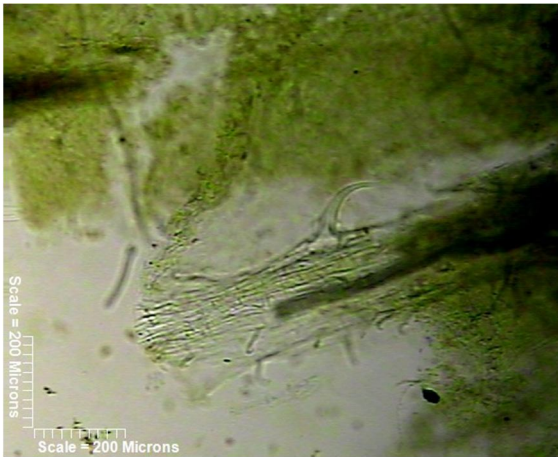
Díaz, C. & Flores, K. (2015)
 Figura 39: disociado. Células de epidermis adaxial,
 base de tricoma, traquéida. 100X. Sin teñir.



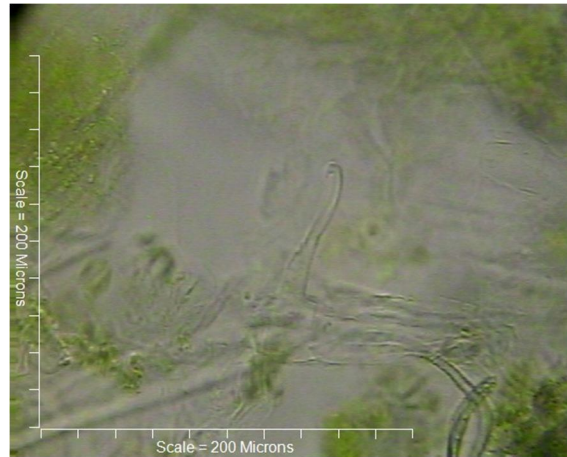
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 40: disociado. Xilema helicoidal
Y esclereidas. 400X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015)
Figura 41: disociado. Tricoma hispidúlos,
Células epidérmicas, traquéida. 100X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 42: disociado.
Fragmento de nervio medio con tricomas.
100X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015)
Figura 43: disociado. Tricoma uncinado.
400X. Sin teñir.

8.1.2.3.2 *Rizoma y tallo.*

Se observó células de la epidermis con tricomas, fragmentos de haces vasculares y cadenas de xilema helicoidal, células del parénquima y de colénquima (Figura 44-47).



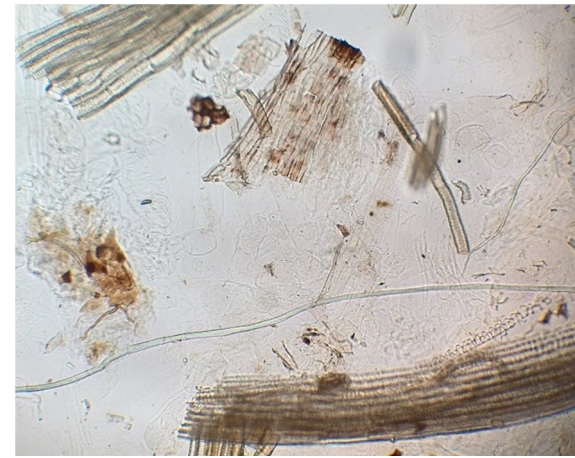
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 44: disociado. Células del parénquima
400X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015)
Figura 45: disociado. Parénquima, xilema helicoidal
400X. Tinción: safranina.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 46: disociado. Células de colénquima
400X. Tinción: safranina.



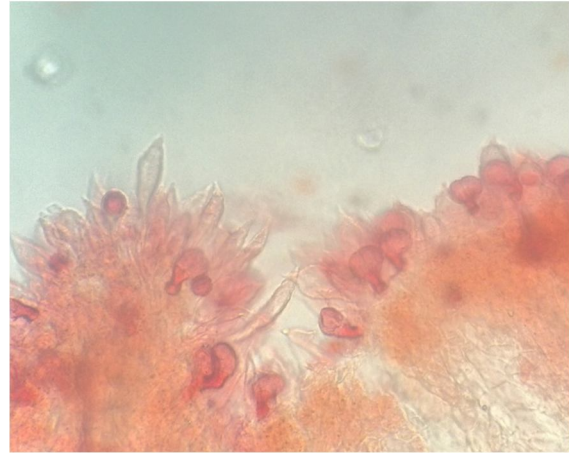
Díaz, C. & Flores, K. (2015)
Figura 47: disociado. Haces vasculares, células de
parénquima y colénquima. 400X. Sin teñir.

8.1.2.3.3 *Inflorescencia.*

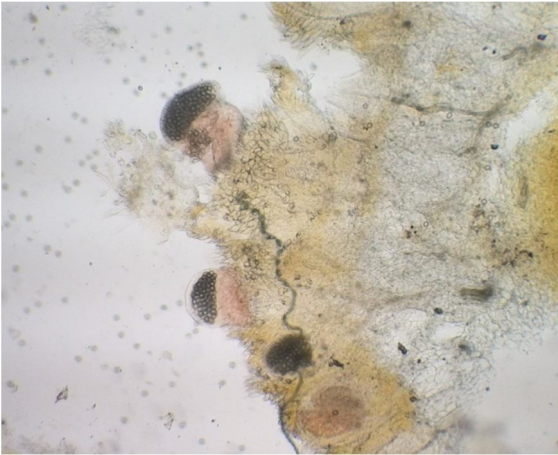
En el disociado de la inflorescencia se observaron los siguientes elementos anatómicos: epidermis con tricomas uncinados (Figura 49), tricomas papilares y glandulares capitados sobre epidermis (Figura 50), flores masculinas con polen y granos de polen (Figuras 51-54), tejido de parénquima, haces vasculares (Figura 52).



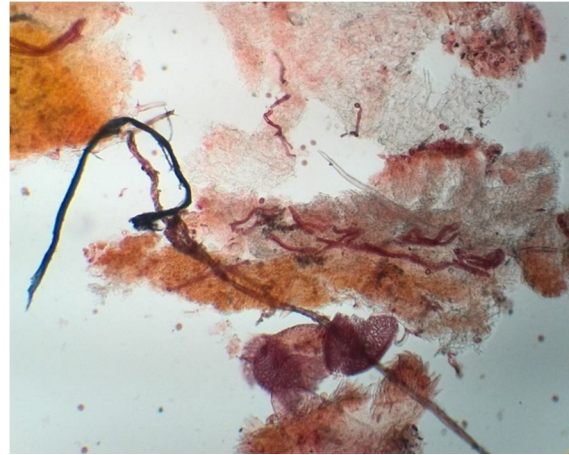
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 49: disociado. Tricomas uncinados
de epidermis. 100X. Sin teñir.



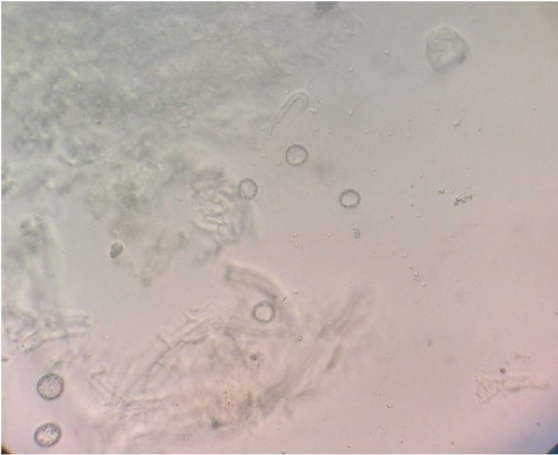
Díaz, C. & Flores, K. (2015)
Figura 50: disociado. Tricomas papilares
y glandulares. 400X. Tinción: safranina.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 51: disociado. Flores masculinas con polen.
100X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015)
Figura 52: disociado.
400X. Tinción: safranina.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 53: disociado. Granos de polen.
100X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015)
Figura 54: disociado Flor masculina.
400X. Sin teñir.

8.1.2.3.4 Raíz.

En el disociado de la raíz se observó fragmentos de cutícula y epidermis, haces vasculares con xilema helicoidal (figura 55-56).



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 55: disociado.
Fragmento de nervio medio con tricomas
100X. Tinción: safranina.



Díaz, C. & Flores, K. (2015)
Figura 56: disociado. Tricoma uncinado.
400X. Tinción: safranina.

8.2. *Dorstenia contrajerva* var. *tenuiloba* Black

8.2.1. Caracteres macroscópicos y descripción botánica de *Dorstenia contrajerva* var. *tenuiloba*.

8.2.1.1. Descripción botánica.

Esta variedad difiere de la *Dorstenia contrajerva* L., en la lobulación de las hojas ya que posee lóbulos profundos, largos y angostos.



Díaz, C. & Flores, K. (2014)

Figura 57. Ejemplar fresco de *Dorstenia contrajerva* var *tenuiloba*.

8.2.1.2. Recolección y herborización de ejemplares frescos.

Se recolectaron ejemplares frescos de *Dorstenia contrajerva* var *tenuiloba* en la región de Guatemala, Suchitepéquez, Samayac, Chiguaxté, Ecoparcela el Kakaguatal, ubicada a una altitud de 539 metros sobre el nivel del mar (msnm), a 14°33'56.66"N; 91°27'53.19"O. Estas muestras fueron llevadas al Herbario de Biología Guatemala (BIGU) donde se identificó como dicha especie según la Flora de Guatemala, además se herborizó y depositó en este herbario un ejemplar de *D. contrajerva* var *tenuiloba*, el cual fue registrado e incorporado a las colecciones con el número 67413. (Anexo 1)



Díaz, C. & Flores, K. (2014)

Figura 59: Ejemplar herborizado de *Dorstenia contrajerva* var *tenuiloba*.

8.2.1.3. Droga seca.

La muestra seca es de color verde pardo, olor dulce herbal, delgada y quebradiza, formada por todas las partes de la planta (Figura 3).



Díaz, C. & Flores, K. (2014)

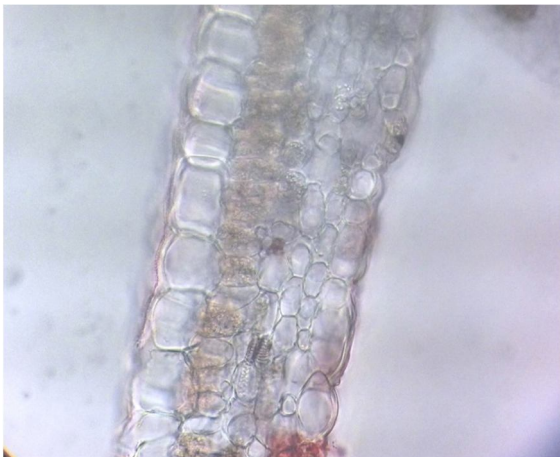
Figura 58. Materia seca de *Dorstenia contrajerva* var *tenuiloba*

8.2.2. Caracteres micromorfológicos e histológicos.

8.2.2.1. Cortes a mano alzada.

8.2.2.1.1. Hoja.

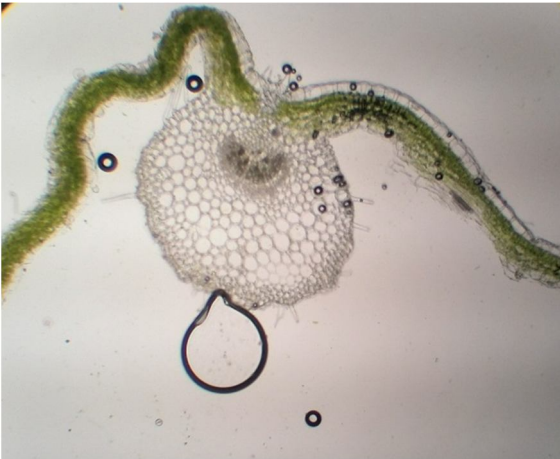
En el corte transversal, se observó una hoja hipostomática y dorsiventral, ambas epidermis son monoestratificadas con cutícula. Las células de la epidermis adaxial de tamaños grandes, cuadrangulares, paredes tangenciales rectas de bordes ondulados con tricomas glandulares con cabeza 1-2 celular (Figura 60-61). Por debajo se encontró parénquima en empalizada 1-celular, formada por células cortas, ligeramente alargadas de tamaños irregulares con numerosos cloroplastos, seguido por parénquima esponjoso 1-3 celular, células de forma redonda de tamaños irregulares. Las células de la epidermis abaxial se observaron grandes redondas u ovaladas, bordes ondulados con estomas y tricomas. En ambas caras de la hoja se observaron tricomas tectores y papilares unicelulares de diferentes tamaños y formas. Se halló también tricomas glandulares y tricomas uncinados principalmente sobre el nervio medio (Figura 63). En el NM se observaron los haces vasculares colaterales abiertos, rodeados de parénquima que continúa con colénquima angular y debajo la epidermis abaxial (Figura 62-63). El peciolo presentó una disposición celular similar a la del rizoma y del tallo (Figura 64). Presenta las misma variedad de tricomas encontrados el tallo y rizoma.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 60: Corte transversal de hoja.
Lámina foliar. 100X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015)
Figura 61: Corte transversal de hoja. Epidermis,
parénquima en empalizada y esponjoso.
400X. Tinción: safranina.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 62: Corte transversal de hoja.
Tricomas tectores simples en NM.
100X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015)
Figura 63: Corte transversal de hoja.
Nervadura alterna, tricomas hispidúlos y uncinados.
100X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 64: Corte transversal de peciolo.
Tricomas, colénquima, parénquima y haces.
100X. Tinción: Dragendorff

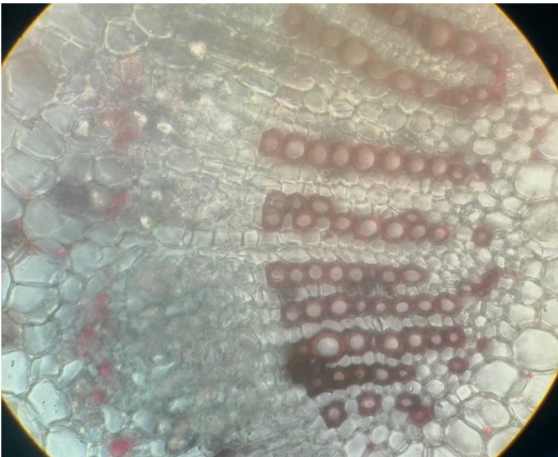
8.2.2.1.2. Tallo y Rizoma.

Se observa de forma redonda a ovalada, en el corte transversal, el tallo y el rizoma (Figura 65), con bordes irregulares, una epidermis simple, cutícula y presencia de tricomas uncinados. El sistema fundamental está constituido por colénquima angular, debajo de la epidermis, y por parénquima esponjoso. El sistema vascular es de tipo colateral abierto dispuestos en una eustela (Figura 65 y 66). Se observaron anastomosis en haces vasculares evidenciado en los cortes longitudinales y transversales (Figura 67). Se observa en los cortes en los cortes longitudinales la epidermis 1-celular, células del colénquima delgadas y

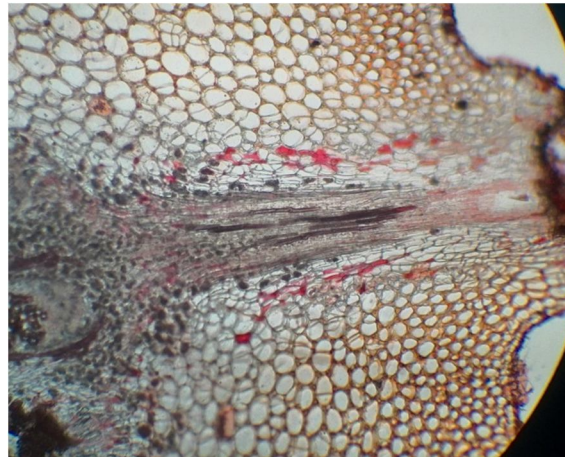
alargadas y parénquima corte cuadrado a ovalado (Figura 68-69). El tallo se diferencia del rizoma ya que este está formado por parénquima clorofílico (Figura 70).



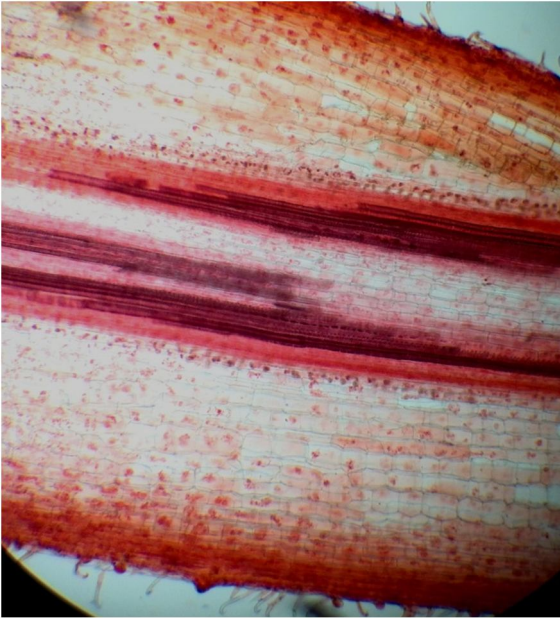
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 65: Corte transversal de rizoma.
40X. Tinción: safranina.



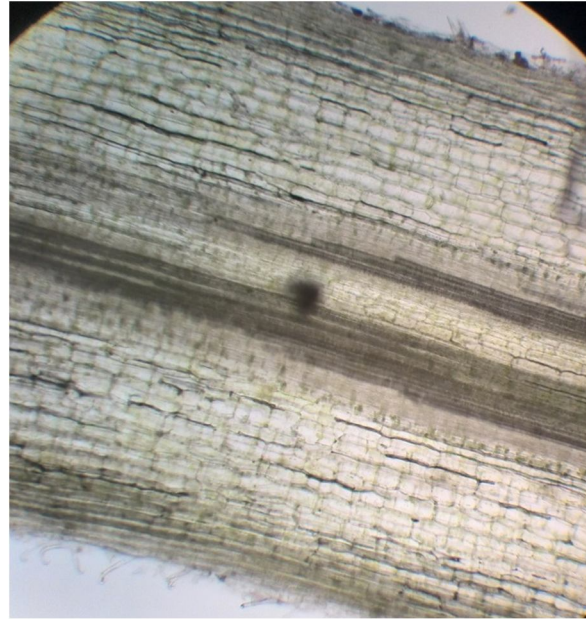
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 66: Corte transversal de rizoma.
Parénquima, floema, xilema, medula.
400X. Tinción: safranina



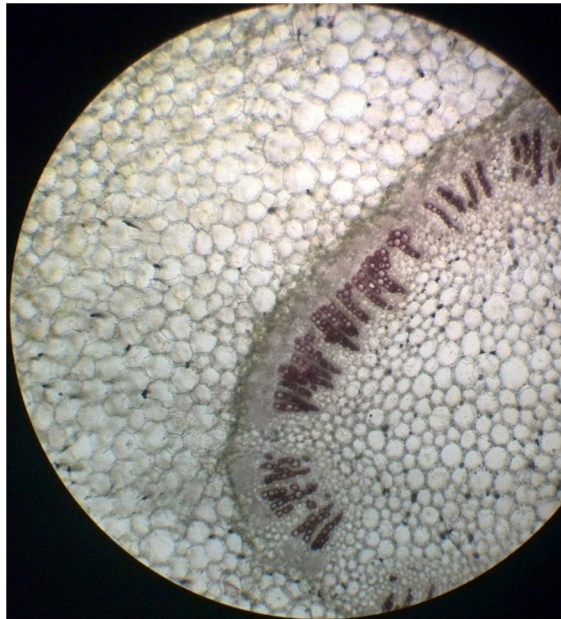
Díaz, C & Flores, K. (2015).
Figura 67: Corte transversal de rizoma.
Anastomosis. 400X. Tinción: safranina.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 68: corte longitudinal de rizoma.
 Tricomas uncinados, colénquima,
 Parénquima y haces. 100X. Tinción: safranina.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 69: corte longitudinal de tallo.
 Parénquima clorofílico y haces vasculares.
 100X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 70: Corte transversal de tallo.
 Parénquima clorofílico, floema y xilema.
 400X. Sin teñir.

8.2.2.1.3. Raíz.

En el corte transversal de raíz se observa una capa de células rizodérmicas planas y alargadas, exodermis 1-3 celular y parénquima cortical rodeando el xilema y el floema. (Figura 71).



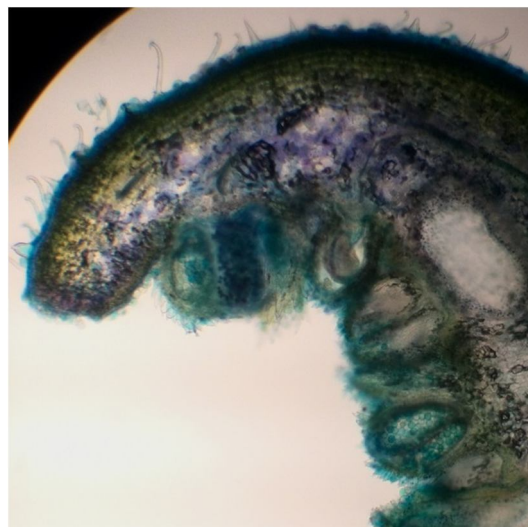
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 71: Corte longitudinal de raíz.
Parénquima y sistema vascular.
400X. Tinción: Safranina.

8.2.2.1.4. *Inflorescencia.*

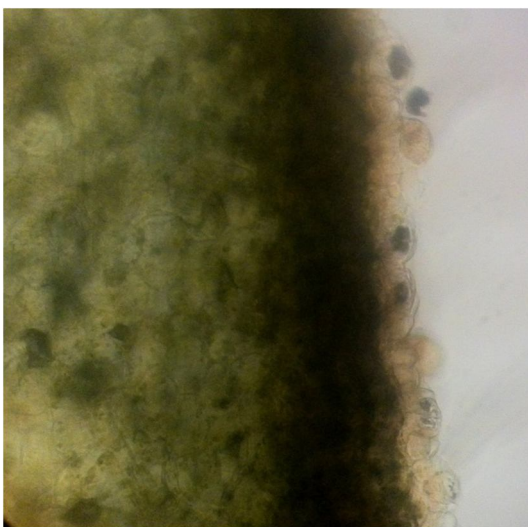
La inflorescencia presentó la epidermis muy pilosa, con tricomas tectores unicelulares, tricomas glandulares (Figura 72-73). El envés de la inflorescencia cubierta de tricomas papilares unicelulares y el haz cubierto por tricomas papilares, uncinados y glandulares (Figura 73-75). Inflorescencia bisexual, flores femeninas carpeladas y flores masculinas estaminadas en la parte externa (Figura 76-79). Se observó en el receptáculo tejido clorénquimático y haces vasculares de tipo colateral abierto (Figura 72-73).



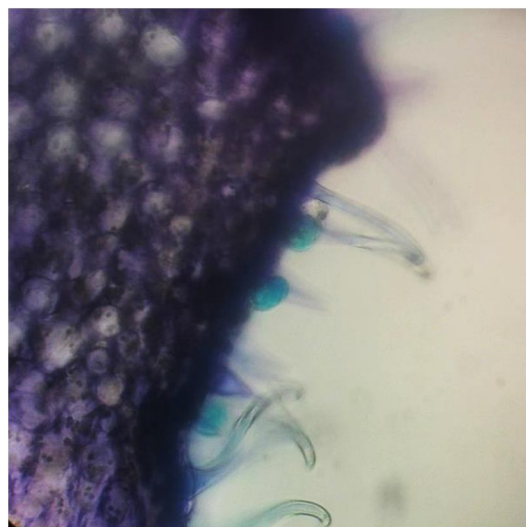
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 72: Corte longitudinal de inflorescencia
 Receptáculo con flores femeninas y masculinas
 40X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 73: Corte longitudinal de inflorescencia
 Parénquima clorofílico, haces vasculares.
 100X. Azul de cresil.



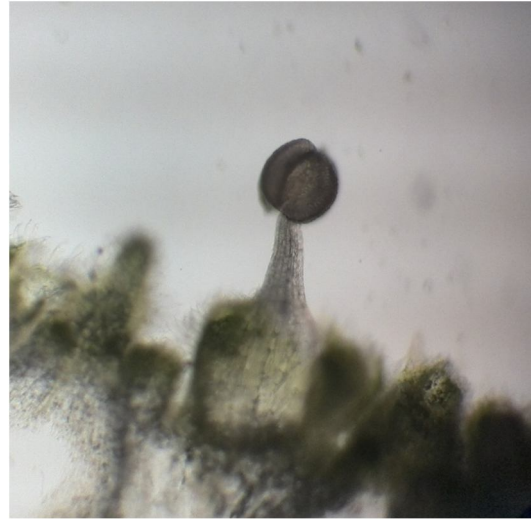
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 74: Corte longitudinal de inflorescencia
 Receptáculo con tricomas glandulares
 400X. Tinción: Dragendorff



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 75: Corte longitudinal de inflorescencia
 Receptáculo con tricomas uncinados.
 400X. Tinción: Azul de cresil al 1%.



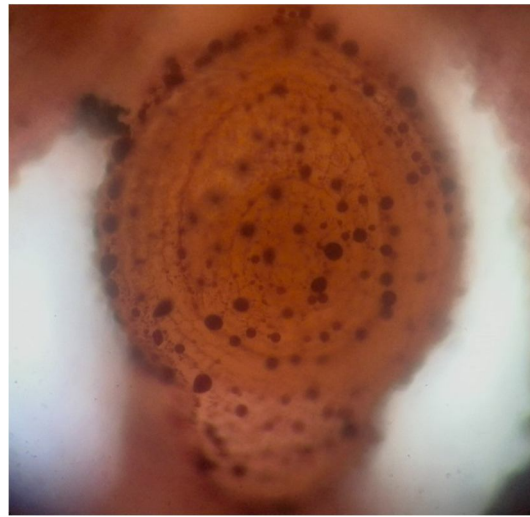
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 76: Corte longitudinal de inflorescencia
Flores masculinas con polen. 400X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 77: Corte longitudinal de inflorescencia
Flor masculina. 100X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 78: Corte longitudinal de inflorescencia
Flor femenina fecundada. 40X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 79: Corte longitudinal de inflorescencia
Flor femenina. 100X. Tinción: sudan I

8.2.2.1.5. *Diafanizado.*

Se observaron estomas únicamente en la cara abaxial de forma anisocíticos y anomocíticos (Figura 80), tricomas glandulares del tipo capitados, formados anatómicamente de una célula basal, un pie y una cabeza ovoide de dos células (Figura 81). Tricomas papilares unicelulares, 6-celular en la base, tricomas hispidúlos unicelulares, 14-celular en la base y de mayor tamaño que los anteriores (Figura 82-83). Sobre el nervio medio se observaron tricomas unicelulares uncinados e hispidúlos (Figura 84-85). La venación es tipo reticular, que llegan al borde de la hoja (Figura 88-90). En la cara adaxial

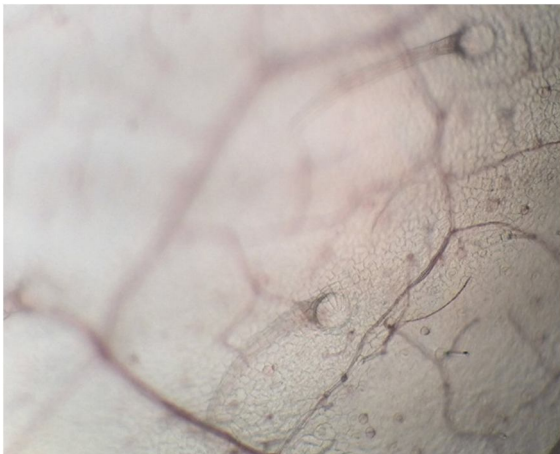
se pudo observar células del clorénquima en empalizada, además de los mismos tipos de tricomas (Figura 86-87).



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 80: Diafanizado abaxial de hoja.
Células epidérmicas, tricomas glandulares, y estomas.
400X. Tinción: safranina



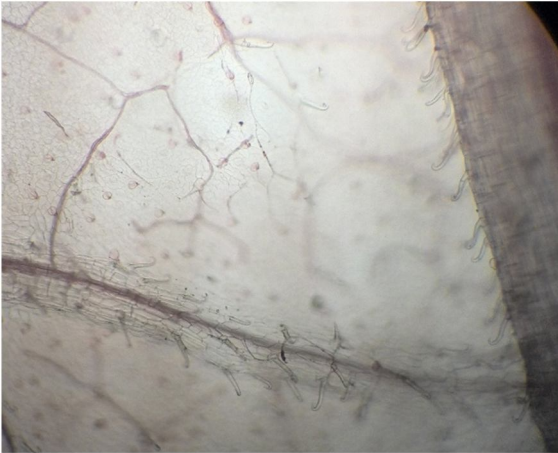
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 81: Diafanizado abaxial de hoja.
Células en empalizada por debajo de la epidermis.
400X. Tinción: safranina.



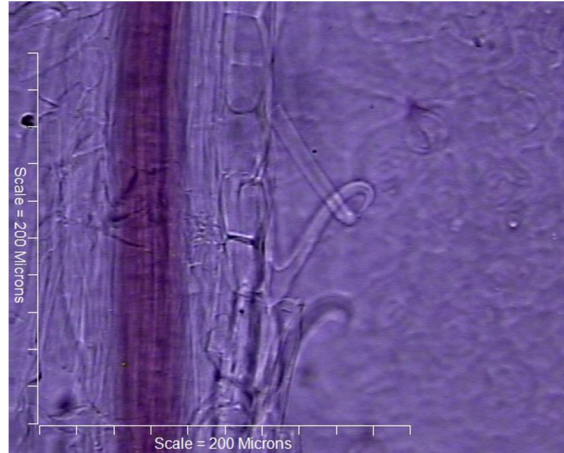
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 82: Diafanizado abaxial de hoja.
Tricomas hispidulos, glandulares.
400X. Tinción: safranina



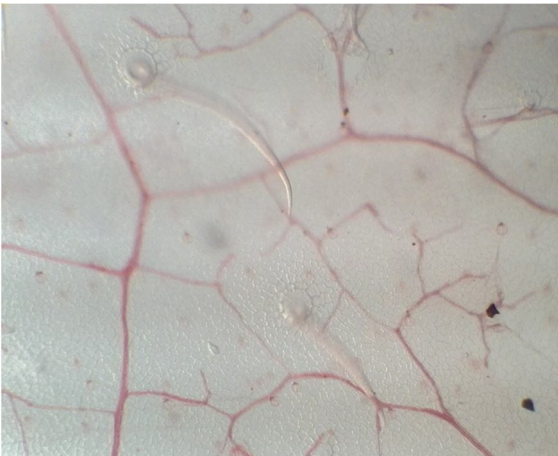
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 83. Diafanizado abaxial de hoja
Estomas anisocíticos, células oclusivas,
células epidérmicas, tricomas glandulares capitados,
400X. Tinción; safranina.



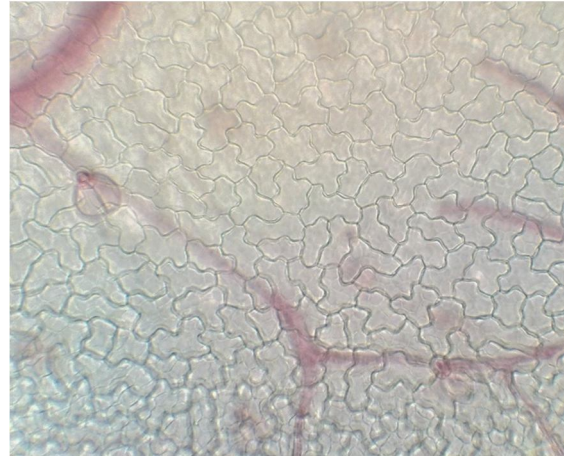
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 84: Diafanizado abaxial de hoja
 Tricomas uncinados, en NM y nervio alterno.
 400X. Tinción: safranina



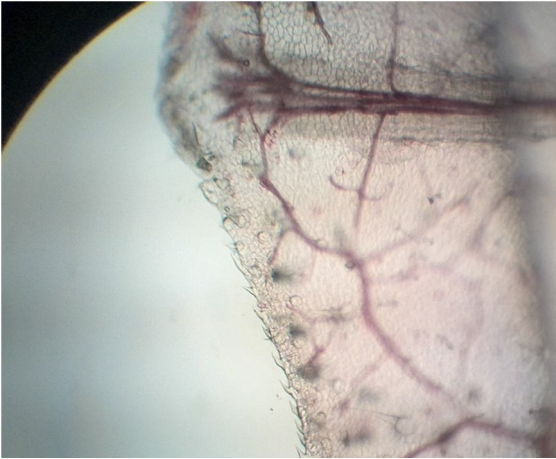
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 85: Diafanizado abaxial de hoja.
 Haz vascular en NM. 400X. Tinción; safranina.



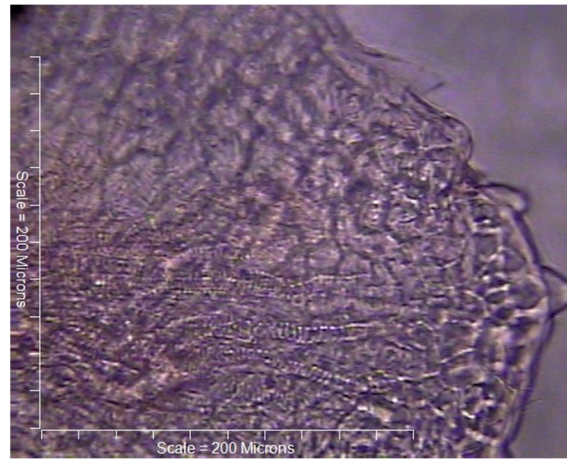
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 86: Diafanizado adaxial de hoja.
 Tricomas hispidúlos. 400X. Tinción: safranina.



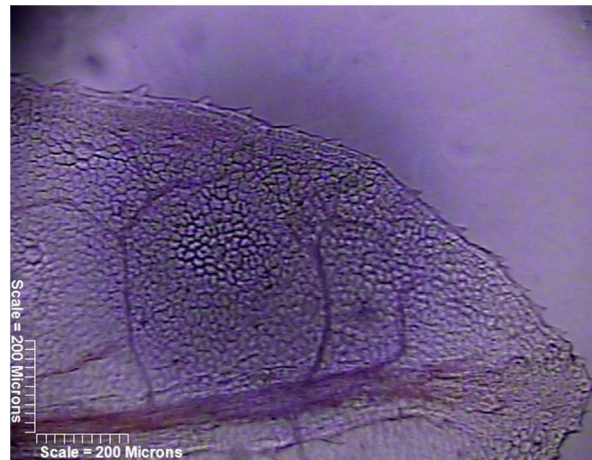
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 87: Diafanizado adaxial de hoja.
 Células epidérmicas. 400X. Tinción; safranina.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 88: Diafanizado adaxial de hoja.
Haces vasculares hasta el borde de la hoja.
400X. Tinción: safranina



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 89: Diafanizado abaxial de hoja.
Haces colaterales abiertos en ápice le hoja
400X. Tinción; safranina.

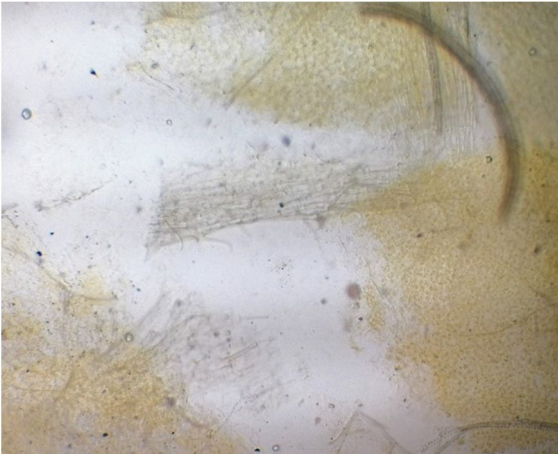


Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 90: Diafanizado abaxial de hoja.
Ápice de la hoja. 100X. Tinción: safranina.

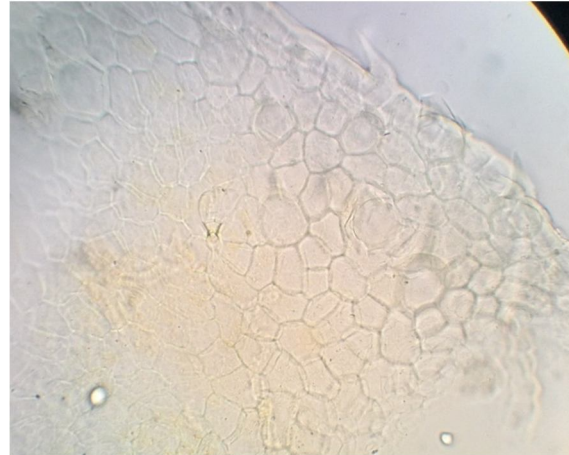
8.2.2.1.6. *Disociado débil.*

8.2.2.1.6.1. *Hoja.*

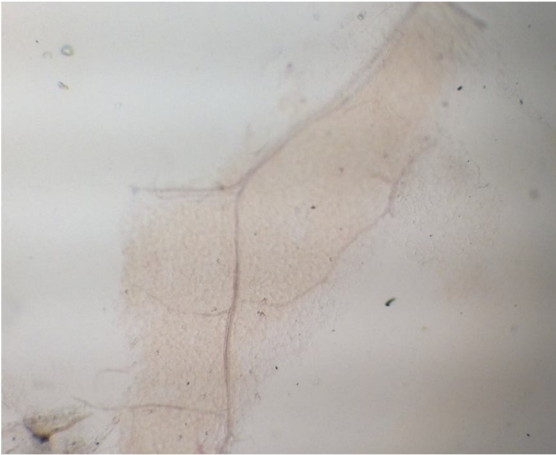
En el disociado de las hojas se observa la presencia de los siguientes elementos anatómicos: fragmentos de ambas epidermis, que se diferencian debido a que la epidermis adaxial no presenta estomas (Figura 91-92); parénquima clorofílico (Figura 91), cadenas de xilema helicoidal y esclereidas (Figura 93), estomas anomocíticos y anisocíticos, tricomas papilares, glandulares, hispidúlos y las bases de los tricomas (Figura 94-95).



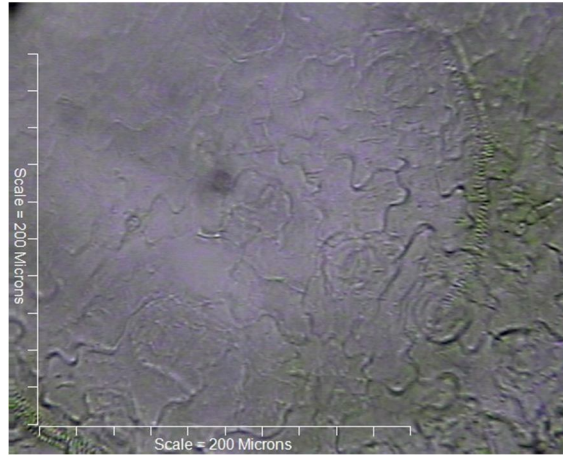
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 91: disociado. Células epidérmicas, NM
con tricoma glandular. 400X. Sin teñir.



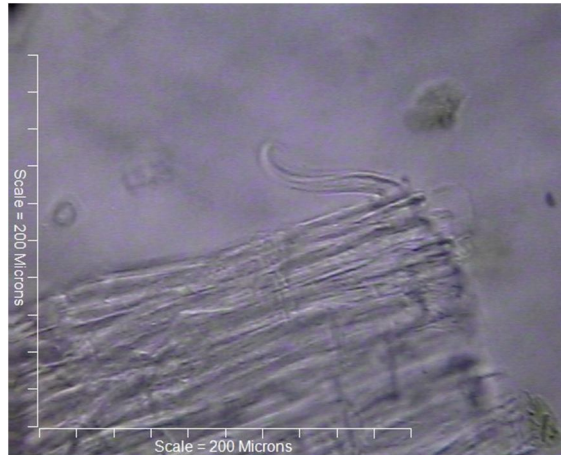
Díaz, C. & Flores, K. (2015)
Figura 92: disociado. Células de epidermis adaxial,
base de tricoma, traquéida. 100X. Sin teñir



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 93: disociado.
Células epidérmicas con tricoma glandular.
400X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015)
Figura 94: disociado. Células del envés, estomas
traquéida. 100X. Sin teñir.



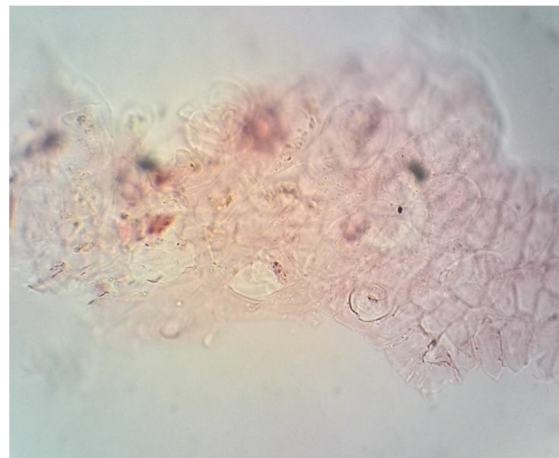
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 95: disociado.
 Células epidérmicas con tricoma glandular.
 400X. Sin teñir.

8.2.2.1.6.2. *Rizoma*.

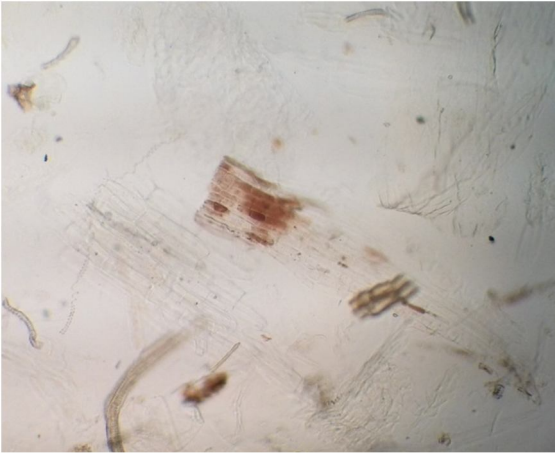
Se observó células de la epidermis con tricomas, fragmentos de haces vasculares y cadenas de xilema helicoidal, células del parénquima y de colénquima (Figura 96-99).



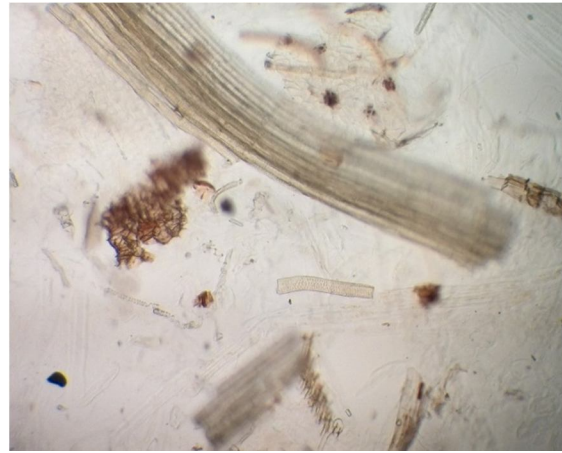
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
 Figura 96: disociado, xilema helicoidal.
 400X. Tinción: safranina.



Díaz, C. & Flores, K. (2015)
 Figura 97: disociado. Células del parénquima
 400X. Tinción: safranina.



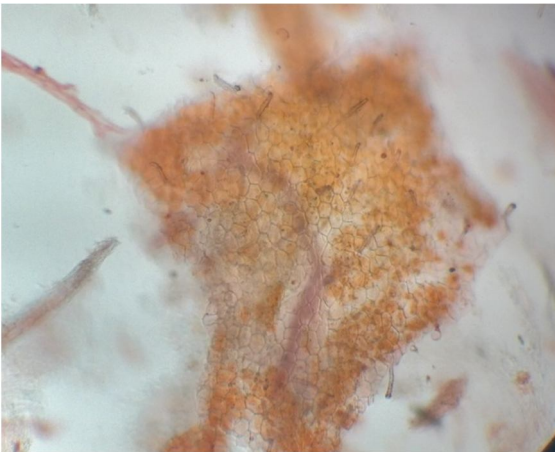
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 98: disociado. Células del parénquima
400X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015)
Figura 99: disociado. parénquima, xilema helicoidal
400X. Sin teñir.

8.2.2.1.6.3. *Inflorescencia.*

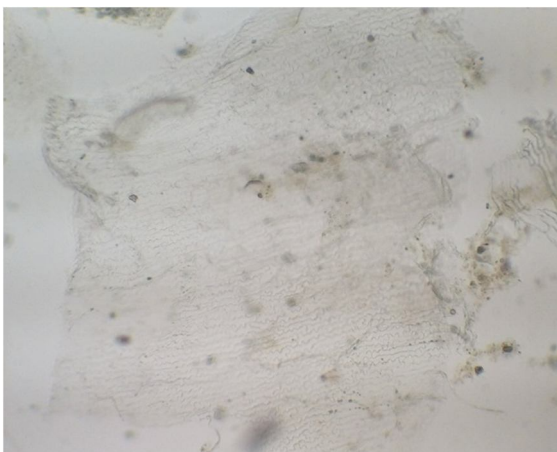
En el disociado de la inflorescencia se observaron los siguientes elementos anatómicos: epidermis con tricomas uncinados, tricomas papilares y glandulares capitados sobre epidermis (Figura 100), flores masculinas con polen y granos de polen (Figuras 101-103), tejido de parénquima, haces vasculares (Figura 101 y 103).



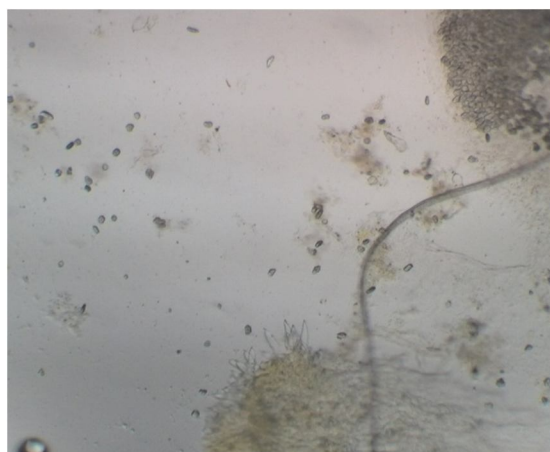
Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 100: disociado.
Tricomas uncinados de epidermis
100X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015)
Figura 101: disociado.
Tricomas papilares u glandulares. 400X. Sin teñir.



Díaz, C. & Flores, K. (2015).
Figura 102: disociado.
Tricomas uncinados de epidermis. 100X. Sin teñir.

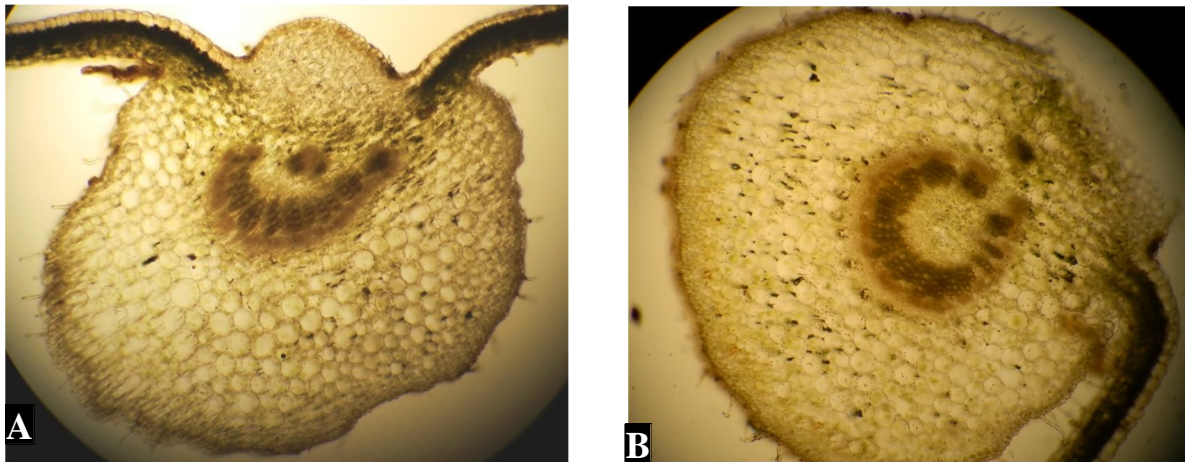


Díaz, C. & Flores, K. (2015)
Figura 103: disociado.
Tricomas papilares u glandulares. 400X. Sin teñir.

8.3. Caracterización histoquímica

Las reacciones histoquímicas para ambas plantas fueron: La reacción de almidón resulto positiva, observándose gránulos de almidón en abundante cantidad en la cantidad en el mesófilo de hoja (figura 1), parénquima y vasos del xilema y floema de tallo y rizoma (figura 2), parénquima de inflorescencia (figura 3) y el cortex de la raíz también se observaron almidones. Moderadamente se observó reacción de almidones en el parénquima del nervio medio de hoja y pecíolo. Se observaron grasas y aceites en la cutícula, epidermis del mesófilo de la hoja, en el tejido fundamental del nervio medio (Figura 5), en el tallo-rizoma se encontraron en la epidermis, colénquima, parénquima y vasos del xilema y floema (Figura 6). En la raíz se observó reacción positivo ha aceites en la exodermis y parénquima (figura 7). En la inflorescencia se observaron grasas y aceites en la epidermis, parénquima y en los carpelos de las flores femeninas (Figura 8). La reacción de mucilagos en la hoja fue positiva en el xilema y floema del nervio medio (Figura 9), en los haces vasculares del xilema y floema en el tallo-rizoma (Figura 10), en la raíz se observó positiva la reacción a mucilago en los haces vasculares y exodermis (Figura 11), en la inflorescencia se observó una coloración azul Francia en la epidermis, haces vasculares y en los gránulos de polen (Figura 12). Se determinó la presencia de saponinas en la hoja, en el tallo-rizoma, en la raíz y de igual manera en la inflorescencia, observándose reacción positiva debido a una coloración amarillo-naranja inmediata al agregar el reactivo y a los treinta minutos se tornó una coloración de rojo ha azul-verdoso (Figura 13-16) respectivamente.

Se observó una reacción negativa, tanto para taninos como para alcaloides en la hoja, rizoma, inflorescencia y raíz.



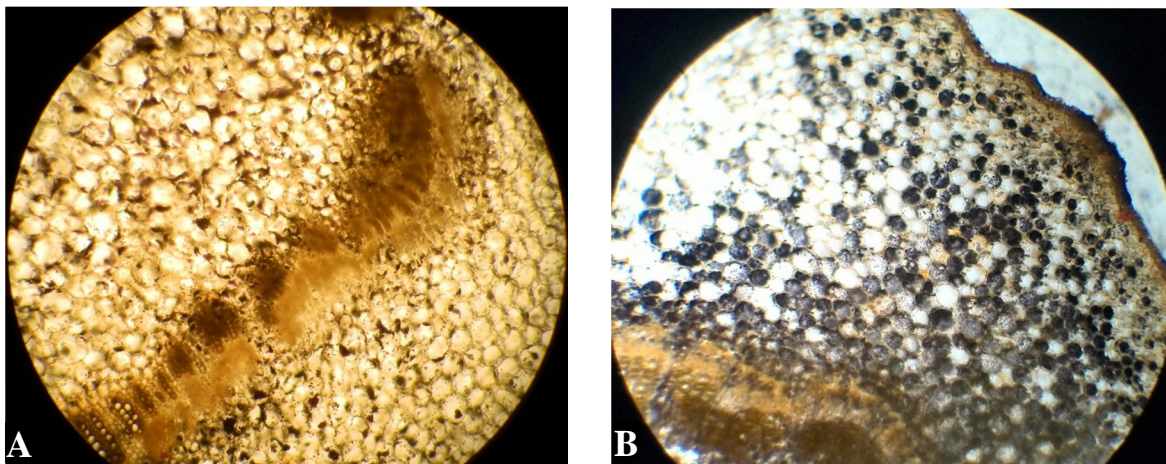
Díaz, C. & Flores, K. (2015)

Figura 1: trans corte de hoja, Prueba de almidón.

Almidón positivo en mesófilo de hoja, colénquima y parénquima del nervio medio.

(A) *D.C.L.* (B) *D.C.T.*

100X. Tinción: lugol.



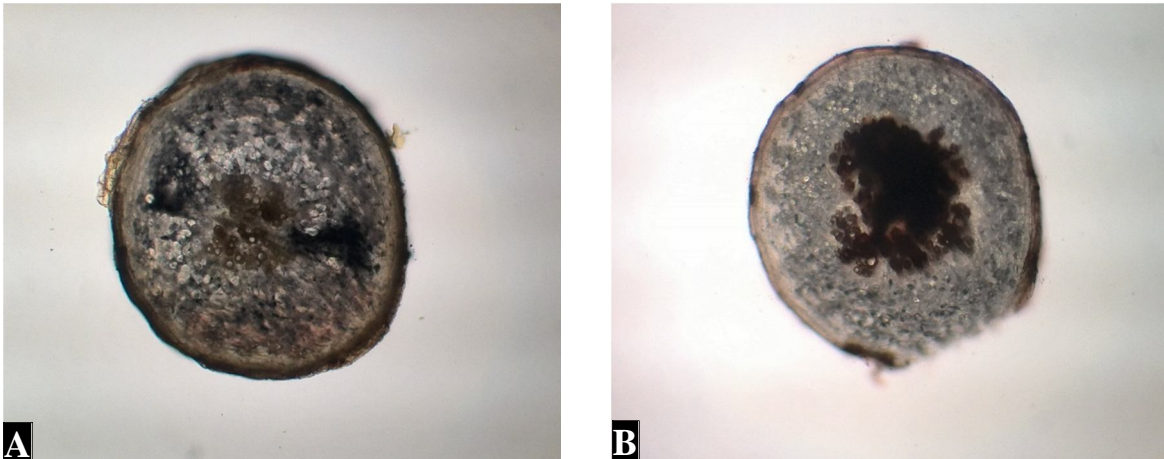
Díaz, C. & Flores, K. (2015)

Figura 2: trans corte de tallo-rizoma, Prueba de almidón.

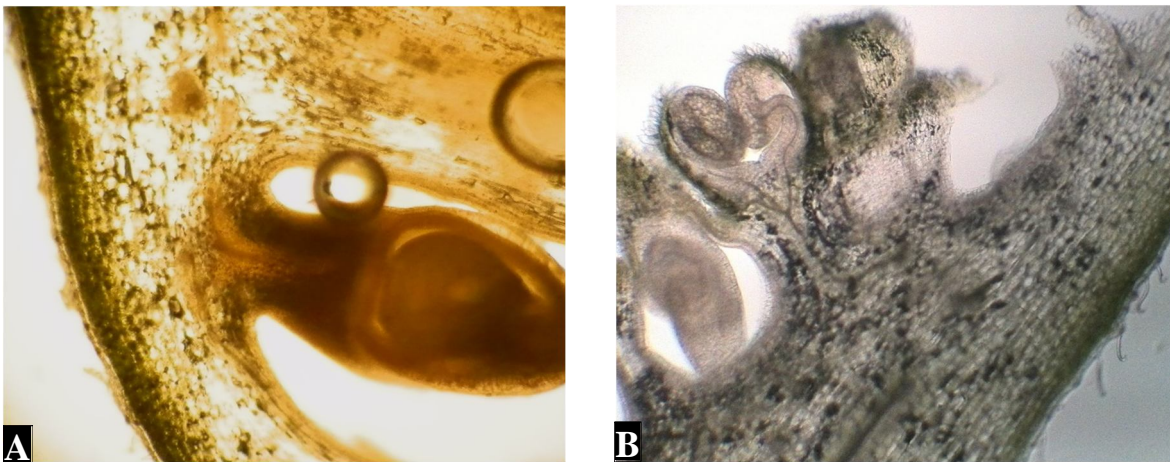
Almidón positivo en parénquima y colénquima.

(A) *D.C.L.* (B) *D.C.T.*

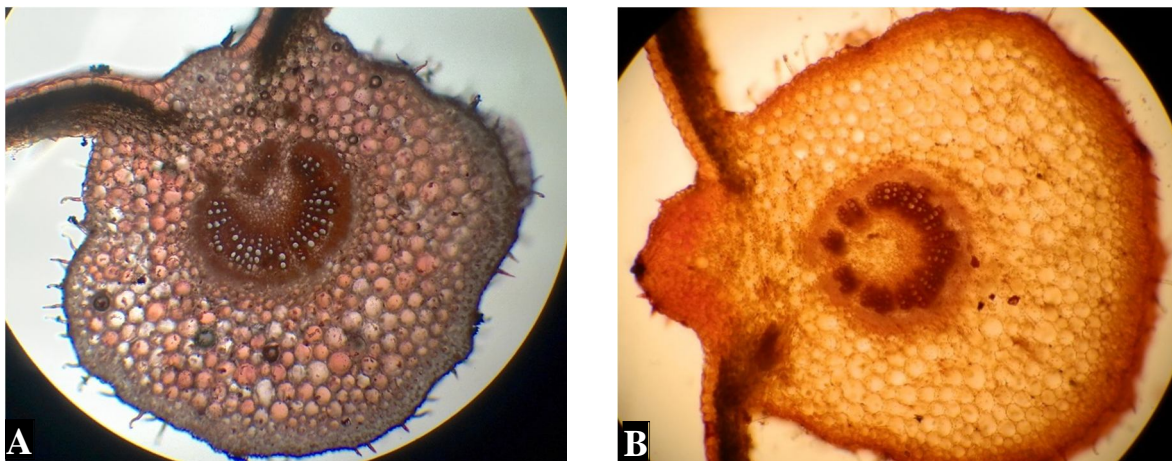
100X. Tinción: lugol.



Díaz, C. & Flores, K. (2015)
 Figura 3: transcorte de raíz, Prueba de almidón.
 Almidón positivo en el parénquima.
 (A) *D.C.L.* (B) *D.C.T.*
 400X. Tinción: lugol.



Díaz, C. & Flores, K. (2015)
 Figura 4: transcorte de la inflorescencia, Prueba de almidón.
 Almidón positivo en parénquima, flores femeninas y masculinas.
 (A) *D.C.L.* (B) *D.C.T.*
 100X. Tinción: lugol.



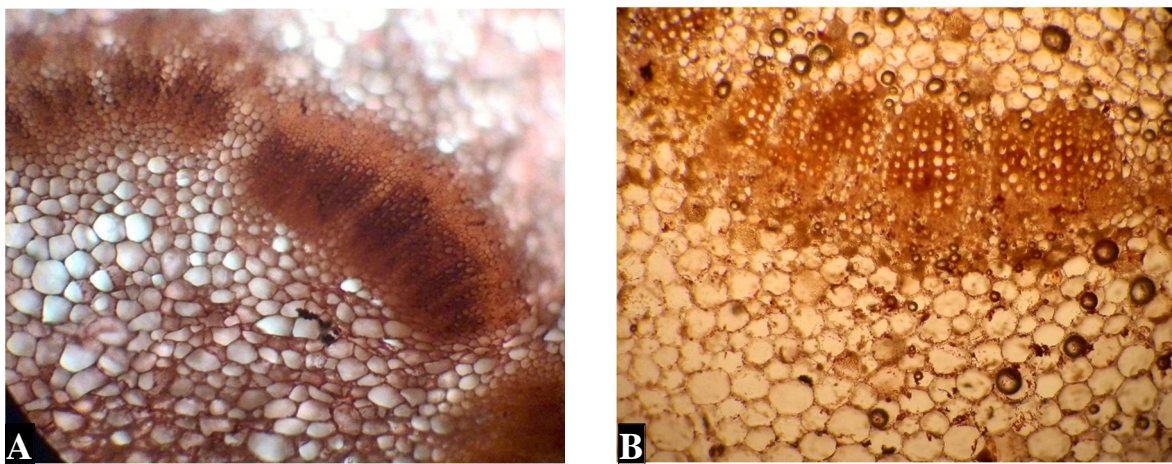
Díaz, C. & Flores, K. (2015)

Figura 5: transcorte de hoja, Prueba de aceites.

Aceites positivo en epidermis, mesófilo, parénquima y colénquima de nervio medio.

(A) *D.C.L.* (B) *D.C.T.*

100X. Tinción: Suda IV.



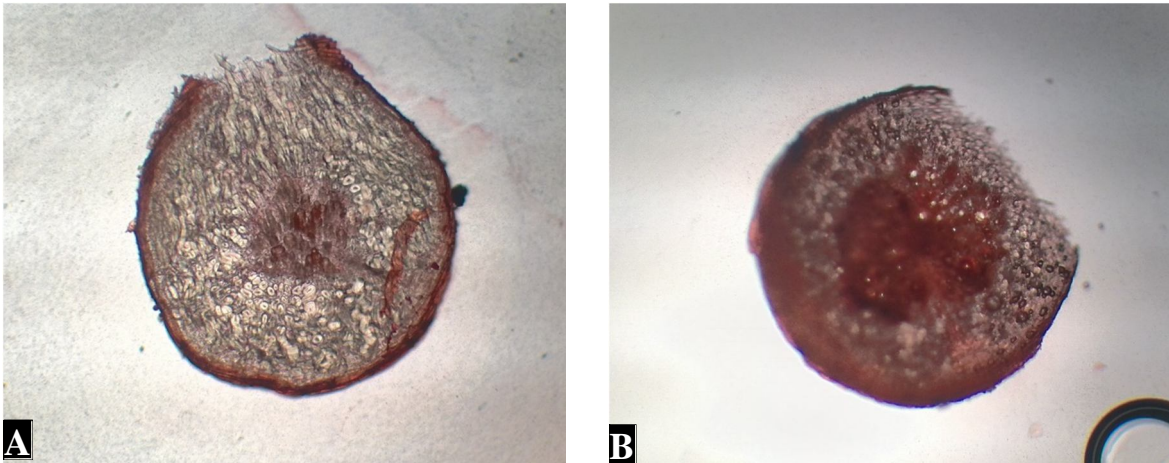
Díaz, C. & Flores, K. (2015)

Figura 6: transcorte de hoja, Prueba de aceites.

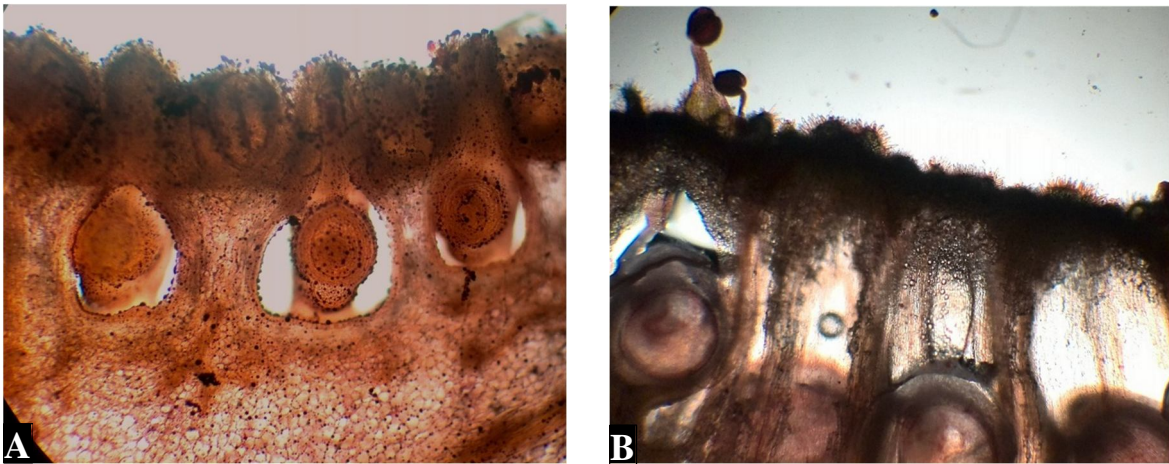
Aceites positivo en epidermis, tejido fundamental y vascular.

(A) *D.C.L.* (B) *D.C.T.*

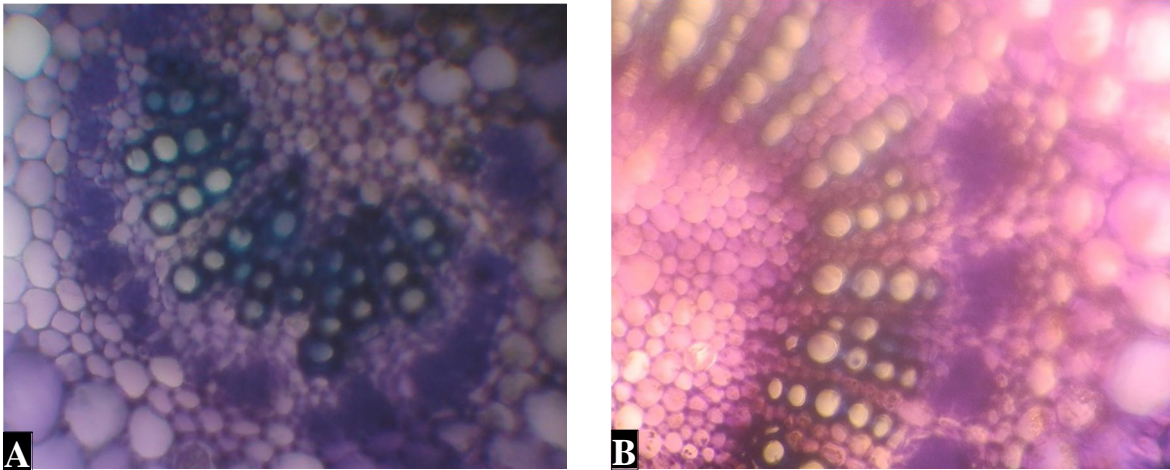
100X. Tinción: Suda IV



Díaz, C. & Flores, K. (2015)
 Figura 7: transcorde de raíz, Prueba de aceites.
 Aceites positivo en la exodermis y parénquima.
 (A) *D.C.L.* (B) *D.C.T.*
 100X. Tinción: Suda IV



Díaz, C. & Flores, K. (2015)
 Figura 8: transcorde de inflorescencia, Prueba de aceites.
 Aceites positivo en clorénquima.
 (A) *D.C.L.* (B) *D.C.T.*
 100X. Tinción: Suda IV

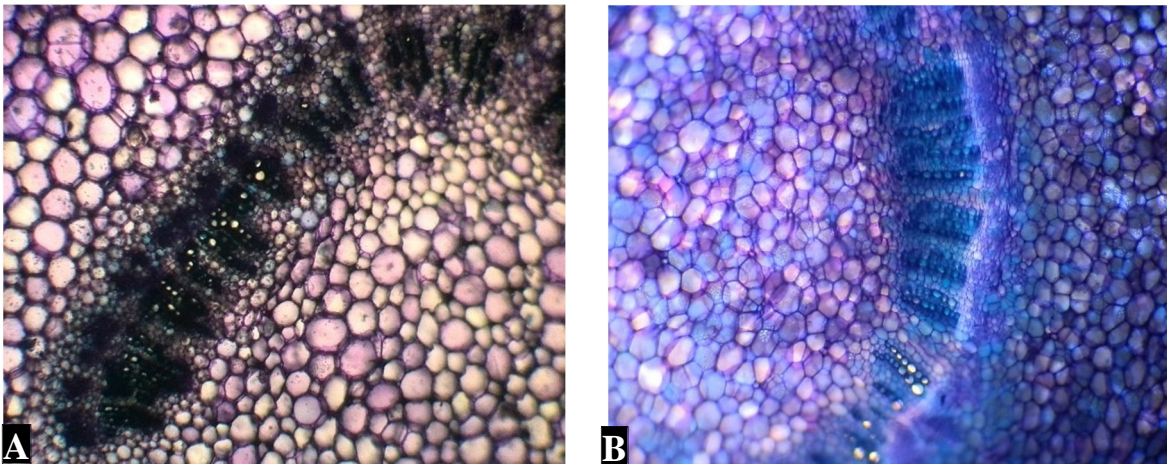


Díaz, C. & Flores, K. (2015)

Figura 9: transcorte de hoja y, Prueba de mucilago.
Mucilago positivo haces vasculares del xilema en nervio medio.

(A) *D.C.L.* (B) *D.C.T.*

400X. Tinción: Azul de Cresil al 1%.

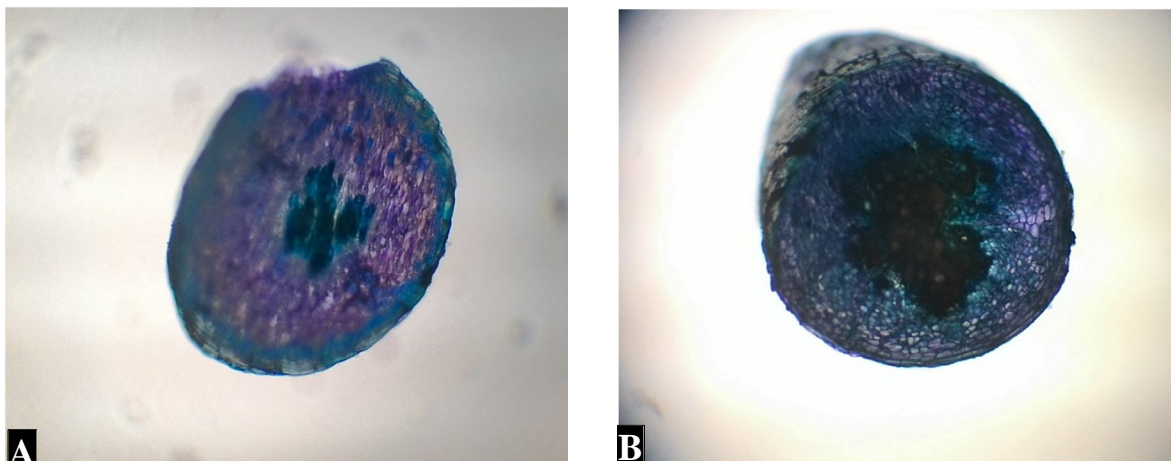


Díaz, C. & Flores, K. (2015)

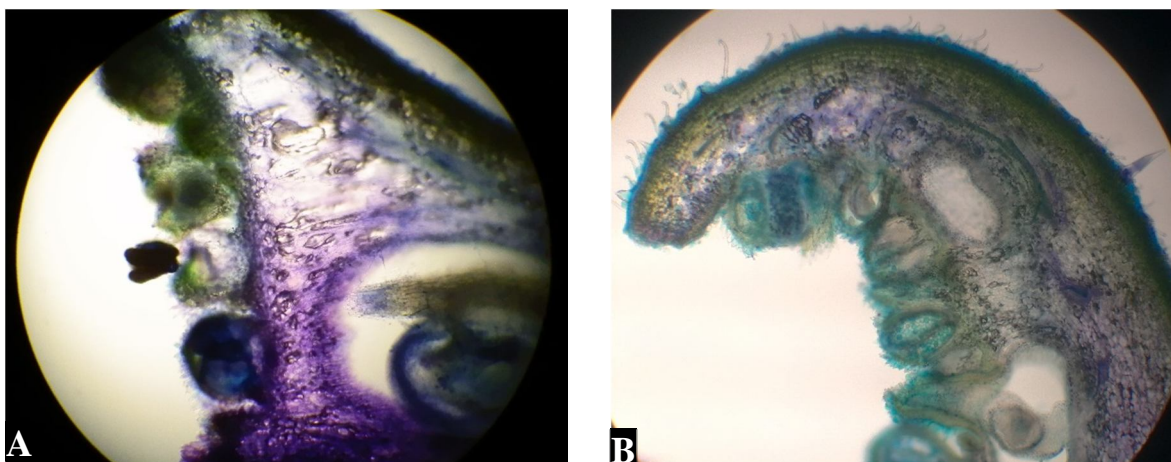
Figura 10: transcorte de hoja y, Prueba de mucilago.
Mucilago positivo en haces vasculares del xilema y floema.

(A) *D.C.L.* (B) *D.C.T.*

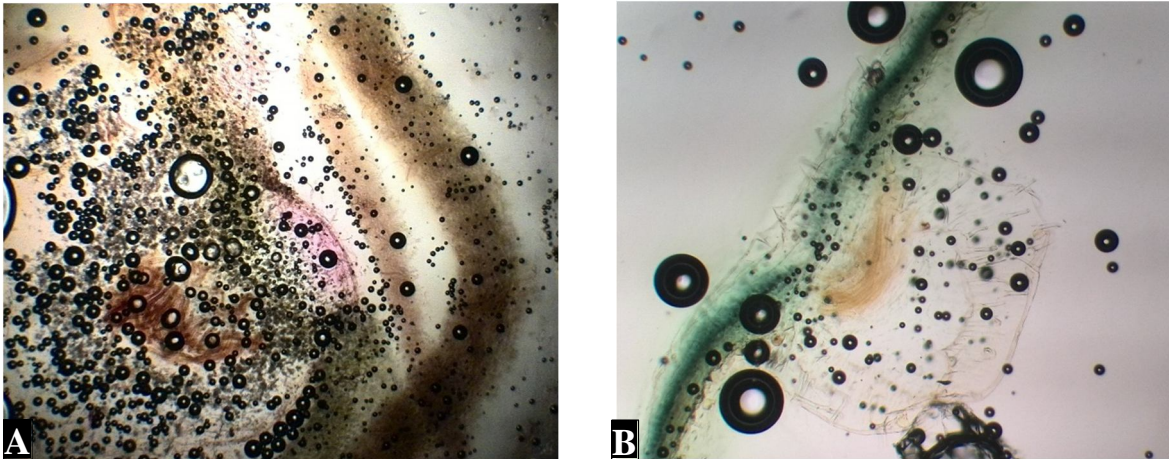
100X. Tinción: Azul de Cresil al 1%.



Díaz, C. & Flores, K. (2015)
 Figura 11: transcorte de raíz, Prueba de mucilago.
 Mucilago positivo en haces vasculares y exodermis.
 (A) *D.C.L.* (B) *D.C.T.*
 400X. Tinción: Azul de Cresil al 1%.



Díaz, C. & Flores, K. (2015)
 Figura 12: transcorte de inflorescencia, Prueba de mucilago.
 Mucilago positivo en epidermis, en granos de polen y haces vasculares.
 (A) *D.C.L.* (B) *D.C.T.*
 100X. Tinción: Azul de Cresil al 1%.



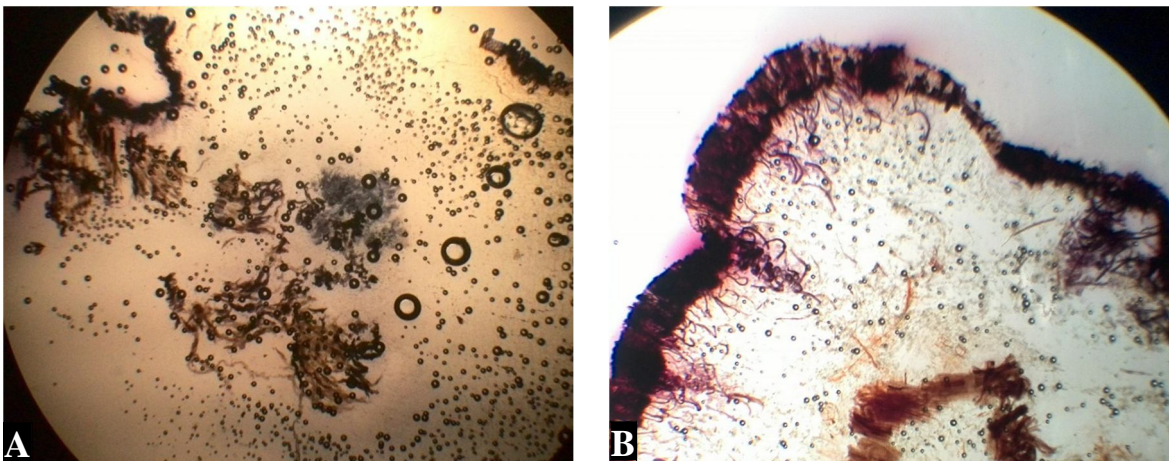
Díaz, C. & Flores, K. (2015)

Figura 13: transcorte de hoja, Prueba de saponinas.

Saponinas positivo en hoja y nervio medio, después de 30 minutos de agregado el reactivo.

(A) *D.C.L.* (B) *D.C.T.*

100X. Tinción: ácido sulfúrico.



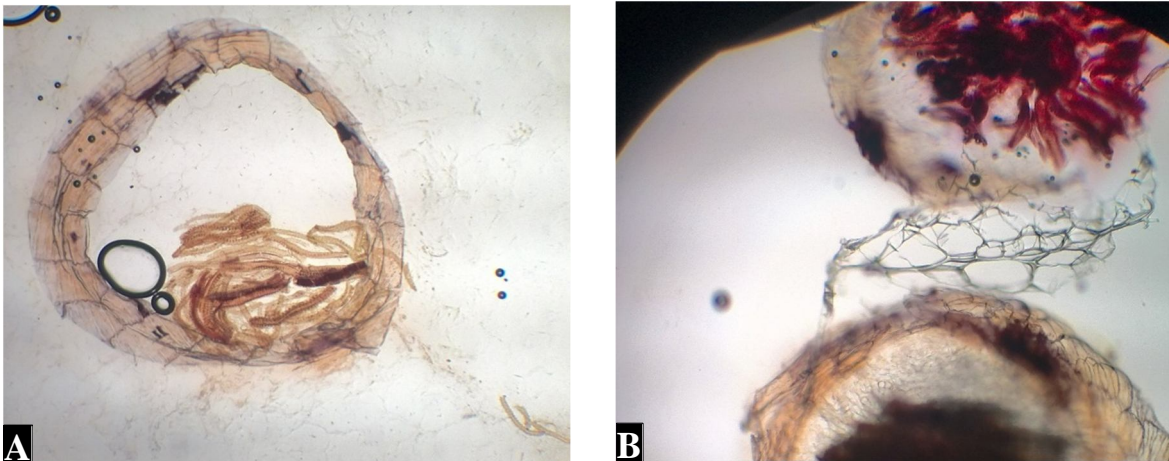
Díaz, C. & Flores, K. (2015)

Figura 14: transcorte tallo-rizoma, Prueba de saponinas.

Saponinas positivo tallo-rizoma, después de 30 minutos de agregado el reactivo.

(A) *D.C.L.* (B) *D.C.T.*

100X. Tinción: ácido sulfúrico.

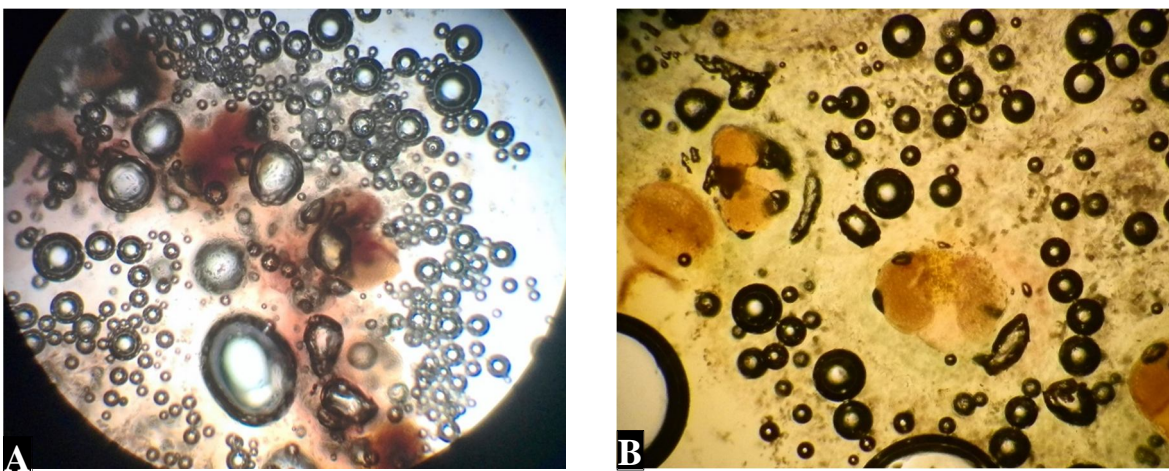


Díaz, C. & Flores, K. (2015)

Figura 15: transcorde raíz, Prueba de saponinas.
Saponinas positivo raíz, después de 30 minutos de agregado el reactivo.

(A) *D.C.L.* (B) *D.C.T.*

100X. Tinción: ácido sulfúrico.



Díaz, C. & Flores, K. (2015)

Figura 16: transcorde inflorescencia, Prueba de saponinas.
Saponinas positivo en inflorescencia, después de 30 minutos de agregado el reactivo.

(A) *D.C.L.* (B) *D.C.T.*

100X. Tinción: ácido sulfúrico.

8.4. Determinación de cenizas totales y porcentaje de humedad

Tabla No. 2: "Porcentaje de humedad de *Dorstenia contrajerva* L. y *Dorstenia contrajerva* var *tenuiloba*."

Muestra/lectura	Porcentaje de humedad (%)						media	DS*	mediana	rango
	No. 1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6				
<i>D. contrajerva</i> L.	12.67	10.45	10.04	10.92	10.34	8.7	10.52	1.293259	10.395	8.6-11.12
<i>D. contrajerva</i> var. <i>tenuiloba</i>	11.77	11.18	10.85	10.17	8.97	7.77	10.118	1.498431	10.51	7.77-11.77

Fuente: Datos experimentales

*DS Desviación estándar

Tabla No. 4: "Contenido de cenizas totales de *Dorstenia contrajerva* L. y *Dorstenia contrajerva* var. *tenuiloba*."

Muestra/lectura	Contenido de cenizas totales (%)						media	DS	mediana	rango
	No. 1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6				
<i>D. contrajerva</i> L.	10.49333	10.76	8.57	10.11	9.39	9.6	9.82056	0.8021067	9.855	8.57-10.76
<i>D. contrajerva</i> var. <i>tenuiloba</i>	10.33	12.18	11.76	10.4	11.95	11.7	11.274	0.8505175	11.7	10.33-12.18

Fuente: Datos experimentales

*DS Desviación estándar

Fuente:

Tabla No. 5: "Contenido de cenizas acidas de *Dorstenia contrajerva* L. y *Dorstenia contrajerva* var. *tenuiloba*."

Dato	Muestra/lectura	Contenido de cenizas acidas (%)						media	DS*	mediana	rango
		No. 1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6				
s	<i>D. contrajerva</i> L.	3.05	2.42	2.23	3.09	2.45	2.23	2.58	0.3920417	2.435	2.23-3.09
expe	<i>D. contrajerva</i> var. <i>tenuiloba</i>	1.79	2.58	2.69	1.69	2.51	2.66	2.32	0.4547527	2.545	1.69-2.69

ntales

*DS Desviación estándar

Tabla No. 6: Resumen de las características microquímicas de *Dorstenia contrajerva* L. y *Dorstenia contrajerva* var. *tenuiloba*

metabolito/muestra	<i>D. contrajerva</i> L.	<i>D. contrajerva</i> var. <i>tenuiloba</i>
Alcaloides	-	-
Almidón	+	+
celulosa	+	+
Grasas y aceites	+	+
Mucilagos	+	+
Taninos	-	-
saponinas	+	+

+: Presente

Fuente: Datos experimentales

-: Ausente

Tabla No. 7: Determinación de cumarinas como metabolitos secundarios utilizando cromatografía en capa fina

Solución de referencia	<i>D. contrajerva</i> L.	<i>D. contrajerva</i> var. <i>tenuiloba</i>	FR* <i>Dorstenia</i> <i>contrajerva</i> L.	FR* <i>Dorstenia</i> <i>contrajerva</i> var. <i>tenuiloba</i>
Cumarinas: zona verde oscura fluorescente	Una zona verde oscura fluorescente (cumarina)	Una zona verde oscura fluorescente (cumarina)	0,6489	0,6489
Cumarinas: zona verde clara fluorescente	Una zona verde clara fluorescente (cumarina)	Una zona verde clara fluorescente (cumarina)	0,2802	0,2802
Umbeliferona: zona aqua fluorescente	una zona aqua-azul fluorescente (cumarina)	una zona aqua-azul fluorescente (cumarina)	0,2138	0,2138

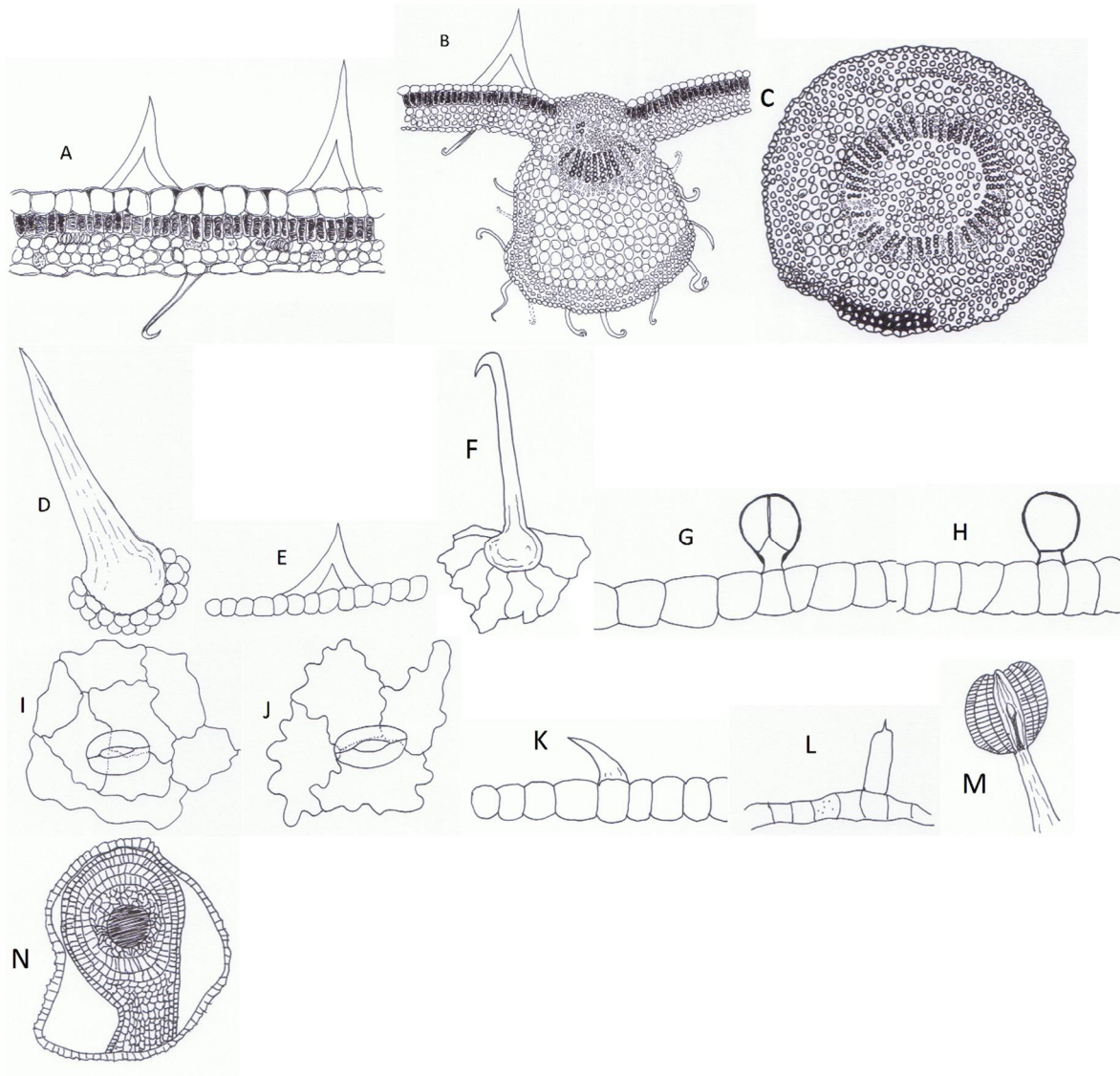
Fuente: Datos experimentales

FR: frente revelación

Anexo 3.

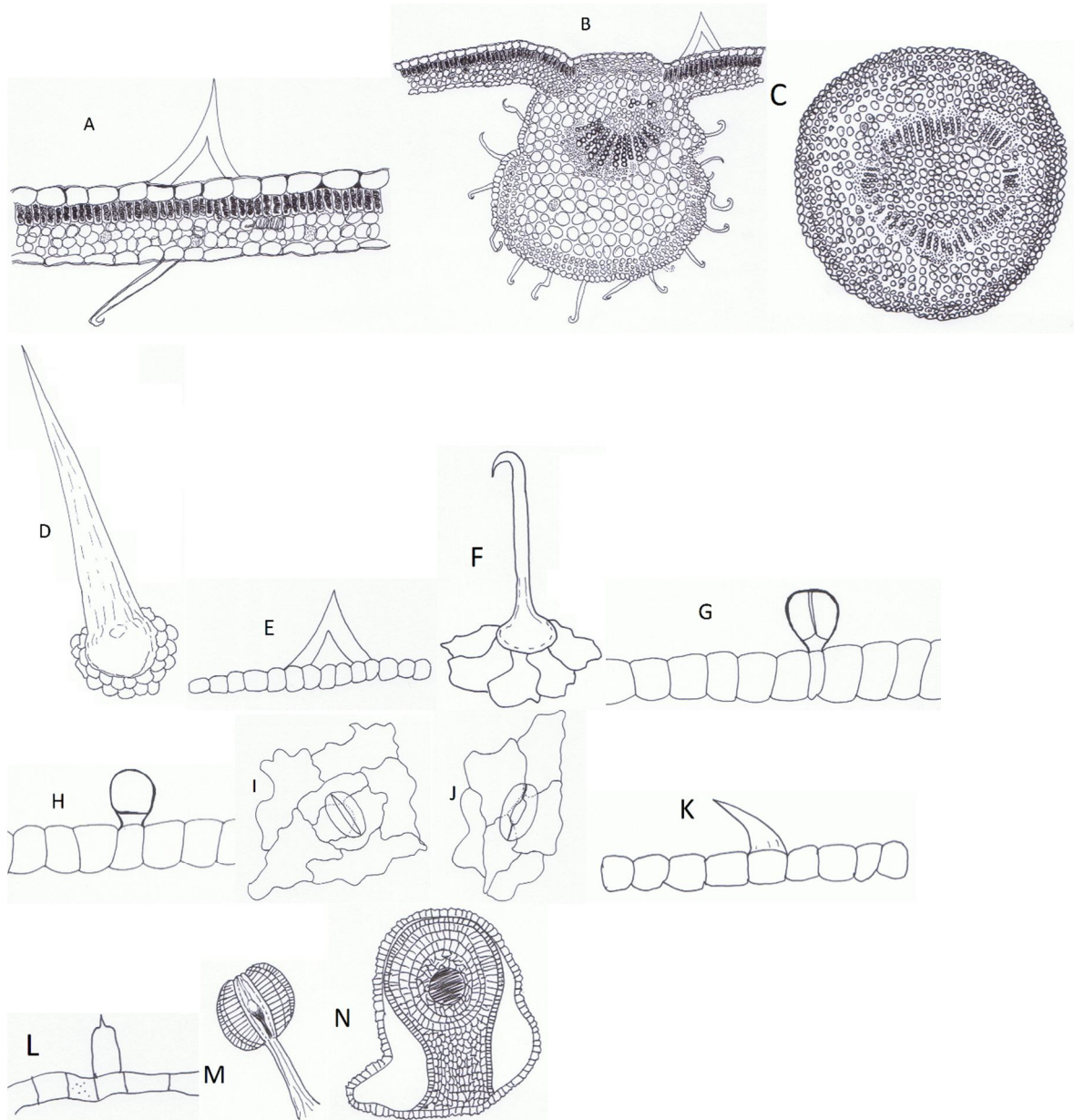
8.5. Cartilla micrográfica

8.5.1. Esquema a mano alzada de *D. contrajerva* L.



Esquema No. 1: (A) Lámina foliar con tricoma uncinado y tricomas hispidulos. (B) Nervadura central. (C) Corte trasversal de tallo y rizoma. (D) Tricoma hispidulo grande. (E) Tricoma hispidulo pequeño. (F) Tricoma uncinado. (G) Tricoma glandular cabeza 2-celular. (H) Tricoma glandular cabeza 1-celular. (I) Estoma anisocítico. (J) Estoma anomocítico. (K) Tricoma papilar borde de la hoja. (L) Tricoma papilar has del receptáculo. (M) Flor masculina. (N) Flor femenina.

8.5.2. Esquema a mano alzada de *D. contrajerva* var *tenuiloba*.



Esquema No. 2: (A) Lámina foliar con tricoma uncinado y tricomas hispidulos. (B) Nervadura central. (C) Corte transversal de tallo y rizoma. (D) Tricoma hispidulo grande. (E) Tricoma hispidulo pequeño. (F) Tricoma uncinado. (G) Tricoma glandular cabeza 2-celular. (H) Tricoma glandular cabeza 1-celular. (I) Estoma anisocítico. (J) Estoma anomocítico. (K) Tricoma papilar borde de la hoja. (L) Tricoma papilar has del receptáculo. (M) Flor masculina. (N) Flor femenina.

9. DISCUSIÓN RESULTADOS

Con el fin de establecer y describir caracteres morfoanatómicos e histoquímicas que describan a *D. contrajerva* L (*D.C.L*) y *D. contrajerva* var. *tenuiloba* (*D.C.T*), se realizaron estudios cualitativos y cuantitativos a partir de cortes trasversales, diafanizados y disociados de hoja, de tallo, rizoma e inflorescencia de ambas plantas y su tamizaje fitoquímico. Además se herborizaron e ingresaron como ejemplares al Herbario de Biología Guatemala (BIGU) en la Facultad de Ciencia Químicas y Farmacia.

Los resultados de porcentaje de humedad en promedio para *D. contrajerva* L. y *D. contrajerva* var. *tenuiloba* fueron de 10.40 y 10.51, respectivamente. No se encontró valores registrados para ambas plantas en la literatura revisada.

Se determinó el contenido de cenizas totales ya que estos datos brindan información importante sobre la ceniza fisiológica, que son los tejidos de las plantas y la no fisiológica, que es la materia adherida a la planta y cenizas ácidas que nos brindan información sobre la presencia de sílice principalmente como arena o suelo con sílice, pues esto permite la realización del control de calidad de la materia vegetal (WHO, 2007; The United States Pharmacopeial, 2007), no se encontró información referente a la planta en la literatura revisada.

En ambas especies, se observó la presencia de epidermis monoestratificada con cutícula, parénquima en empalizada 1-celular, parénquima esponjoso de 2-3 celular y nervio medio cóncavo hacia la epidermis adaxial y convexo hacia la epidermis abaxial, con haces colaterales abiertos, rodeados de parénquima y colénquima angular, estos hallazgos son característicos de la familia *Moraceae* y coinciden con lo descrito previamente por González De García, Brítez, González, & Degen De Arrúa (2011).

En ambas variedades de plantas se encuentran distintos tipos de tricomas: en el haz y en el envés se encontraron tricomas simples, largos y unicelulares en forma de aguja o hispidúlos y tricomas simples unicelulares cortos muy similares a los reportados en *Artocarpus communis* (*Moraceae*) por Morales Martínez (2008), como pelos unicelulares largos y pelos unicelulares cortos, ambos tipos de tricomas presentan una base con disposición celular en forma de roseta. Las plantas presentan en el envés tricomas simples bicelulares con base globosa y extremo alargado en forma de gancho o uncinado reportado por la misma autora. Además se encontraron tricomas glandulares capitados, formados por

una cabeza ovoide 2-celular y pie unicelular y tricomas glandulares con cabeza globosa unicelular y pie unicelular, tanto en el haz como en envés, se observaron tricomas papilares sobre el margen de la hoja encontrados por Jacomassi, Sebastião Moscheta, & Rodrigues Machado (2007) en *Brosimum gaudichaudii* (*Moraceae*). Los diferentes tipos de tricomas coinciden con lo citado en estudios previos para *Moraceae* por Morales Martínez & Saralegui Boza (2012).

Se observaron hojas hipostomáticas con estomas anomocíticos y anisocíticos como lo menciona Morales Martínez (2014), quien afirma que los estomas en *Moraceae* se hayan restringidos en la epidermis abaxial de las hojas y menciona que por lo general se encuentran a nivel de la epidermis. En este estudio se observaron estomas hundidos, lo cual coincide con lo planteado por Vásquez Ruiz, Saralegui Boza, & Morales Martínez, (2002), quienes reportaron que los estomas en *Moraceae* frecuentemente se encuentran hundidos. Además se encontró una venación tipo actinódroma que coincide con lo reportado para algunas especies del género *Dorstenia* por Dos Santos (2012).

El rizoma y el tallo mostraron una morfología circular irregular, epidermis monoestratificada, cutícula evidente, parénquima amilífero y tricomas simples no ramificados, lo cual ya había sido descrito para el género *Dorstenia* por Pilon, Tamaio, & Leo (2013). A diferencia del autor anterior que menciona haber encontrado colénquima laminar justo debajo de la epidermis, se encontró colénquima de tipo angular y no se encontraron laticíferos, que son frecuentes en diferentes géneros de *Moraceae*. Se encontraron en el rizoma y tallo de ambas plantas cristales poliédricos que ocupan gran parte del lumen celular al igual que Morales Martínez (2008) que menciona la existencia de estos cristales en *Brosimum alicastrum* (*Moraceae*). Se determinó que la única diferencia entre el tallo y el rizoma, fue que el tallo presentó parénquima clorofílico y el rizoma no.

Jacomassi, Sebastião Moscheta, & Rodrigues Machado (2007) mencionaron la importancia taxonómica en la disposición de los haces vasculares del rizoma, tallo y peciolo y describieron los haces de *Brosimum gaudichaudii* (*Moraceae*) como colaterales lo cual concuerda con los tejidos de conducción de *D. contrajerva* L., y *D. contrajerva* var. *tenuiloba* los cuales son colaterales abiertos en forma concéntrica dispuestos en una eustela lo cual también coincide con lo descrito para la familia *Moraceae* por Valla (2004).

La raíz presentó una disposición de haces vasculares dependiente a la altura donde se realiza el corte, ya que a mayor cercanía al rizoma mayor cantidad de haces y a mayor distancia del rizoma menor cantidad de haces., lo cual fue descrito en otras especies de *Moraceae* por Molist, Pombal, & Megías (2011).

En los cortes transversales y en el disociado de inflorescencia se encontró una epidermis pilosa con tricomas tipo tectores unicelulares cotos y largos, tricomas glandulares capitados 1-celular y 2-celular y el haz del receptáculo cubierta de tricomas papilares unicelulares, mientras el envés se encontró cubierto de tricomas uncinados y tricomas simples no ramificados. Datwyer & Weiblen (2004) observaron tejido de clorénquima que rodea a las flores femeninas carpeladas y flores masculinas estaminadas en la parte externa, como lo encontrado en este trabajo. De Granville (1971) también describe la forma en que se encuentran las flores en le receptáculo la cual es igual a lo encontrado en los cortes trasversales.

De los diferentes tipos de estructuras encontrados según lo referido por Theobald et al. (1998) citado por Rendón Camora, Ishiki Ishihara, Terrazas, & Nieto Lopez, (2000), se considera de valor taxonómico el reconocimiento de los diferentes tipos de tricomas, más que su sola presencia o ausencia, ya que según Ramírez González & Poveda Álvarez (2003) los tricomas uncinados e hispidúlos se encuentran ampliamente distribuidos entre la familia *Moraceae* (Vignale & Gurni, 2005). Al igual a lo encontrado por Barth, (1985) Se pudo observar el polen formado por numerosas aberturas, con la superficie verrucosa y forma característica del genero *Dorstenia*, sin embargo se requieren estudios por microscopio electrónico para determinar si existe diferencia entre el número de poros entre ambas variedades de *D. contrajerva*.

Además de la determinación de las características microscópicas, se obtuvo un índice de estomas e índice de empalizada el cual no mostro una diferencia significativa entre ambas variedades de plantas.

El tamizaje fitoquímico demostró la presencia de gránulos de almidón, en los tejidos de la hoja, tallo, rizoma, inflorescencia y raíz. Se observó abundante cantidad de almidones en mesófilo de las hojas, esto concuerda por lo reportado por Chicas, Paredes, Paz, & Cáceres, (2013), para el estudio de *Litsea guatemalensis*, donde se ha encontrado almidones de asimilacion dentro de los cloroplastos de las hojas siempreverdes, ya que estos pueden

contribuir al proceso de fotosíntesis. Así también se encontraron almidones en el parénquima de tallo y rizoma, estos datos coinciden con lo reportado por Castejón (2004), donde describe “Hay un incremento de almidones tipo concéntrico”, refiriéndose al parénquima en el estudio de la corteza de cinco especies de Moraceae, además lo han reportado Jacomassi, y otros (2007) en *Brosimum gaudichaudii* (Moraceae). Se encontraron aceites en abundante cantidad en todos los órganos estudiados, observándose los compuestos lipídicos en las estructuras analizadas de forma de gotas, esto coincide con lo reportado para *Brosimum gaudichaudii* por Jacomassi, y otros (2007). Los mucilagos se observaron en moderada cantidad alrededor de los haces vasculares en los cortes transversales de nervio medio de hoja, de tallo-rizoma y raíz, en la inflorescencia se observó la presencia de mucilagos en la epidermis y en los granos de polen en las flores masculinas. La presencia de saponinas se observó en moderada cantidad en las partes de las plantas analizadas, observándose en abundante cantidad en la inflorescencia.

Se realizó la cromatografía en capa fina para determinar los metabolitos secundarios de interés, en este caso cumarinas, para lo cual se utilizó el estándar de cumarinas y por la relación de distancias constantes para cada compuesto, FR (relación de frente), el cual fue muy cercano al de la muestra se confirmó su presencia lo cual coincide al el estudio previo realizado en *D. contrajerva* por (Cáceres A. , y otros, 2001). Estos compuestos han sido reportados por (Terreaux, y otros, 1995) como furanocumarinas elucidadas por métodos de espectrometría de masas y confirmada por cristalografía de rayos X. Estudios realizados por Ankli, Sticher, & Heinrich (1999) mostraron que las furanocumarinas presentaron actividades larvicida frente *Aedes aegypti* y propiedades anti protozoarias; estas propiedades soportan el uso popular para tratar la diarrea y disentería. Las furanocumarinas también fueron reportadas por (Lans C. , 2007) como el principal agente analgésico, anti inflamatorio, antibacterial, antiviral, anticoagulante y fotosensibilizante. Además se les ha atribuido el uso para mordeduras de serpientes de cascabel como lo reporta Majinda, y otros (2001) y Tovar, Cortés, Santos, & Joseph (1998). Majinda, y otros (2001) reportaron la existencia de otros metabolitos secundarios como chalconas y flavonoides, algunas presentes solo en especies de *Dorstenia* africanas.

Según la Comisión Nacional de Áreas Protegidas de México (2013) D. contrajerva actualmente se encuentra amenazada, esto debido a que tiene un importante uso medicinal practicado por pobladores y la ausencia de cultivos controlados.

No se encontró alguna diferencia entre las dos variedades de plantas al estudiar los caracteres antes mencionados.

10. CONCLUSIONES

1. *D. contrajerva* L. y *D. contrajerva* var *tenuiloba* presentan características macroscópicas útiles para su identificación y diferenciación en el campo, tales como: son pequeñas hierbas de aproximadamente 25 cm de altura, con hojas con lóbulos pinnados y profundos, con ápice agudo a acuminados, estrecho o ancho en *D. contrajerva* L. y de forma profundamente lobuladas en *D. contrajerva* var *tenuiloba*, presentan un receptáculo cuadrangular irregular con margen violáceo.
2. Los metabolitos secundarios identificados están relacionados con las propiedades atribuidas.
3. Se identificaron diferentes tipos de tricomas los cuales tienen un valor diagnóstico taxonómico alto para determinar la identidad de la especie.
4. Se determinaron parámetros de humedad y de cenizas totales y ácidas, para *D. contrajerva* L., y *D. contrajerva* var *tenuiloba*, datos de identidad y pureza que pueden servir para el control de calidad.
5. A través del establecimiento de características macromorfológicas, se evidenció que las plantas del estudio son diferentes en la forma de sus hojas.
6. Se identificaron estomas de tipo anomocíticos y anisocíticos, con los cuales se determinó el índice de estomas para cada planta en estudio, no encontrándose diferencia en estas.
7. Se determinó sus caracteres microscópicos útiles para su diferenciación tanto en fresco como cuando está seca y fragmentada.

11. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar cultivos controlados de las especies de *Dorstenia*, debido a lo reducido de sus poblaciones silvestres y a los reportes de otros países que las consideran en peligro extinción (Comisión Nacional de Áreas Protegidas de México; 2013).
2. Investigar si la etapa fenológica afecta los caracteres histoquímicos y morfoanatómicos de las especies en estudio.
3. Realizar estudios moleculares y genéticos de ambas variedades para establecer similitudes o variaciones.
4. Realizar bioensayos para determinar si las diferentes especies y variedades de *Dorstenia* presentan la misma actividad medicinal.
5. Complementar los análisis de polen de ambas variedades por MET para evaluar características tales como número de hendiduras y tamaño.
6. Realizar pruebas para determinar la presencia de chalconas, flavonoides y el tipo, para evaluar similitudes fitoquímicas con especies de *Dorstenias* de otros países y ecosistemas.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- America, M. o. (2011). *Integrated Taxonomic Information System*. Recuperado el 1 de Enero de 2014, de http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=19115
- Ankli, A., Sticher, O., & Heinrich, M. (1999). Medical Ethnobotany of The Yucatec Maya: Healers' Consensus as a Quantitative Criterion. *Economic Botany*, 144-160.
- Barth, O. M. (1985). Pollen Grain Morphology of some Brazilian Species of *Dorstenia* L. (Moraceae). *Paleobot. e Palinol. na América do sul*, 121-129.
- Benítez de Rojas, C., & Rodríguez, P. (2013). Variación morfológica de tricomas foliares en 17 especies de *Solanum* L. Sudamericanas. *Pittieria*, 29-39.
- Bokesch, H., Charan, R., Meragelman, K., Beutler, J., Gardella, R., O'keefe, B., . . . Mchon, J. (2004). Isolation and characterization of anti-HIV peptides from *Dorstenia contrajerva* and *Trecuila obvoidea*. *Federation of European Biochemical Societies*(567), 287-290.
- Bruneton, J. (2001). *Farmacognosia*. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A.
- Cáceres, A., & Samayoa, B. (1989). *Tamizaje de la actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de afecciones gastrointestinales*. Guatemala: Universidad de San Carlos De Guatemala, Dirección General de Investigación, cuadernos de investigación.
- Cáceres, A., Rastrelli, L., De Simone, F., De Martino, G., Saturnino, C., Saturnino, P., & Aquino, R. (2001). Furanocoumarins from the aerial parts of *Dorstenia contrajerva*. *Fitoterapia*, 72, 376-381.
- Campbell, N., & Reece, J. (2007). *Biología*. Madrid: Editorial Medica Panamericana.
- Cañigual, S. (2002). La fitoterapia ¿Una terapéutica para el tercer milenio? *Revista de Fitoterapia*, 101-120.
- Cañigual, S., Dellacassa, E., & Bandoni, A. (2003). Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo? *Latin American Journal of Pharmacy*, 22(3), 265-278.
- Carvajal, S. (2007). Moraceae. *Flora del Bajío*, 147, 1-59.
- Castillo, C., Osorio, A., Margarita, A., & Cáceres, A. (2005). Actividad moduladora del sistema del complemento de diez plantas medicinales nativas de Guatemala. (O. M. Cobar Pinto, & A. L. Madariaga Monroy, Edits.) *Revista Científica*, 3(1), 30-34.

- Castillo, M., & Pérez, M. (2011). *Descripción de caracteres farmacobotánicos de Ocimum micrathum (albahaca)*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de CCQQ y Farmacia.
- Chicas, M. E., Paredes, M. E., Paz, M., & Cáceres, A. (2013). Características de identidad y pureza de las hojas de *Litsea guatemalensis* Mez. (Lauraceae. *Dominguezia*, 29(2), 7-14.
- Datwyer, S. L., & Weiblen, G. D. (2004). On the origin of the fig: phylogenetic relationships of Moraceae from NHF sequenses. *American Journal of Botany*, 767-777.
- De Granville, J. J. (1971). Notes sur la biologie florale de quelques espèces du genre *Dorstenia* (Moracées). *Orstom*, 61-97.
- Dos Santos, A. (2012). *Moraceae da serra da Mantiqueira*. São Paulo: Instituto de Botânica da secretaria de Estado de Meio Ambiente.
- Evert, R. (2006). *Esau Anatomía vegetal: meristemas, células y tejidos de las plantas -Su estructura, función y desarrollo*. (M. J. Fortes, Trad.) Nueva Jersey, Estados Unidos de America: Ediciones Omega.
- Fedec, P., & Kolodziejczyk, P. P. (2000). Quality Assurance and Control for the Herbal and Tea industry. En G. Mazza, & B. Oomah, *Herbs, Botanicals & Teas* (pág. 399). USA: Technomic.
- Flores, E. (1999). *La Planta: estructura y función*. Cartago, Costa Rica: Editorial Tecnológica de Costa Rica.
- Gattuso, M., & Gattuso, S. (1999). *Manual de procedimientos para el analisis de drogas en polvo*. Rosario: Editorial de la Universidad Nacional de Rosario.
- Girón, L., & Cáceres, A. (1994). *Técnicas básicas para el cultivo y procesamiento de plantas medicinales* (Primera ed.). Guatemala: Centro Mesoamericano de Estudios sobre Tecnología Apropriada (CEMAT).
- Gola, G., Negri, G., & Cappelletti, C. (1965). *Tratado de Botánica*. Barcelona, España: Talleres Gráficos Ibero-Americanos.
- González De García, M., Brítez, L., González, Y., & Degen De Arrúa, R. (2011). Morfoanatomía comparativa de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) y *Sorocea bonplandii* (Bail) W.C. Burger, Lanj. & Wess. Boer (Moraceae) comercializadas en el mercado de San Lorenzo. *Rojasiana*, 10(1), 93-101. Recuperado el Julio de 2015
- Gupta, M. (2008). *Plantas Medicinales iberoamericanas*. Bogotá, Colombia: Centro de Investigaciones Farmacogósticas de la Flora Panameña, Facultad de Farmacia, Universidad de Panamá.

- ISO. (2005). *Norma internacional ISO 9000, sistemas de calidad-fundamentos y vocabulario*. Ginebra. Recuperado el 2 de Febrero de 2014, de ISO org: http://www.iso.org/iso/search.htm?qt=iso+9000%3A+2005&sort=rel&type=simple&published=on&active_tab=standards
- Jacomassi, E., Sebastião Moscheta, I., & Rodrigues Machado, S. (2007). Morfoanatomía e histoquímica de *Brosimum gaudichaudii* Trécul. *Acta bot. bras*, 21(3), 575-597.
- Lans, C. (2007). Comparación de plantas usadas para problemas de la piel y el estómago en Trinidad y Tobago con la medicina etnobotánica asiática. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 3(3), 1-12.
- Liscovsky, I. J., & Cosa, M. T. (2005). Anatomía Comparativa de Hoja y Tallo en Representantes de *Cestreae* G. Don (Solanaceae) de Argentina. *Gayana Bot*, 33-43.
- López, M. (Mayo de 2012). *Fundación religiosa para la salud: Manual de plantas medicinales para Guinea Ecuatorial*. (F. d. (FRS), Ed.) Recuperado el 06 de Febrero de 2014, de http://www.fundacionfrs.es/archivos/manual_plantas_medicinales_v2.pdf
- Majinda, R., Abegaz, B., Bezabih, M., Ngardjui, B., Wanjala, C., Mdee, L., . . . Yeboah, S. (2001). Recent results from natural product research at the University of Botswana. *Pure Appl. Chem.*, 73(7), 1197-1208.
- Manual de operaciones LIPRONAT*. (2013). Guatemala: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacias, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Martín, G. (2002). Los efectos adversos acaban con el mito de que "lo natural es nocivo". *Revista española de la economía de la salud*, 20-22.
- Mendez, M. (2012). *Flora Medicinal de los Mayas Peninsulares*. (J. A. Arenas, Ed.) Merida, Yucatan, México: CICY.
- Molist, P., Pombal, M. A., & Megías, M. (2011). *Atlas de Histología Vegetal y Animal: Organos Vegetales 1. Raíz*. Vigo: Universidad de Vigo.
- Morales Martínez, A. (2008). Aportes a la anatomía foliar *Artocarpus communis*, *A. heterophyllus* *Brosimum alicastrum* (Moraceae). *Revista del Jardín Botánico Nacional*, 28, 201-203.
- Morales Martínez, A. (2014). Estomas paracíticos, un nuevo registro para Moraceae. *Revista del jardín botánico nacional*, 95-96.
- Morales Martínez, A., & Saralegui Boza, H. (2012). Morfología de los pecíolos de especies cubanas leñosas de Moraceae. *Revista del Jardín Botánico Nacional*, 32-52.
- Nabors, M. (2006). *Introducción a la botánica*. Madrid: PEARSON EDUCACIÓN, S.A.
- Pahlow, M. (1985). *El gran libro de las plantas medicinales, la salud mediante las fuerzas curativas de la naturaleza* (Quinta ed.). Coruña: EVEREST.

- Paniagua, R. (2002). *Citología e histología vegetal y animal*. Madrid: McGraw-Hill - Interamericana.
- Paredes, M. (2005). *Determinación de algunos estándares de identidad y pureza de cuatro plantas medicinales comercializadas en Guatemala. Maestría multidisciplinaria en producción y uso de plantas medicinales-MUPLAM*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Pilon, Y., Tamaio, N., & Leo, R. R. (2013). *Anatomía do rizoma de Dorstenia sp (Moraceae)*. Belo Horizonte: 64° Congreso Nacional de Botânica.
- Prabhakar, M. (2004). Structure, delimitation, Nomenclature and classification of stomata. *Acta botanica sinica*, 242-252.
- Protegidas, C. N. (2013). *Área de Protección de flora y fauna Oloch Ma'ax Yetel Kooh*. Mexico D.F.
- Quiñonez, S., Samayoa, M., García, V., Cáceres, A., & Matta, V. (2008). Actividad micobactericida de 14 extractos de plantas mesoamericanas utilizadas popularmente en infecciones pulmonares. (O. Cobar Pinto, & A. L. Madariaga Monroy, Edits.) *revista científica*, 4(1), 9-15.
- Ramírez González, J., & Poveda Álvarez, L. (2003). *Ficus Lasiosyce (Moraceae)*, una nueva especie del subgénero *Urotigma* en el Neotrópico. *Lankesteriana*, 13-15.
- Rendón Camora, N., Ishiki Ishihara, M., Terrazas, T., & Nieto Lopez, M. G. (2000). Indumento y tricomas en la caracterización de un grupo de nueve especies del género *Mortonioidendron* (Tiliaceae). *Mexicana de Biodiversidad*, 169-176.
- Rosales, C., Paniagua, H., Vargas, J., Granados, N., Morales, A., López, P., & Del Cid, C. (2010). *Manual de Laboratorio Farmacobotánica I*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Escuela de Biología Departamento de Botánica, Recursos Naturales Renovables y conservación.
- Sepúlveda, G., Porta, H., & Rocha, M. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de fitopatología*, 355-363.
- Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. Bogotá: Ciencia y Tecnología para el Desarrollo.
- Simmons, C. S., Tarano, J., & Pinto, J. H. (1976). *Clasificación de reconocimiento de los suelos de la República de Guatemala*. Guatemala: Editorial del Ministerio de Educación Pública "José de Pineda Ibarra".
- Soc, M. (2002). *Informe de servicios realizados durante la ejecución del Ejercicio Profesional Supervisado (EPS) en la ecoparcela "El Kakawatal", cantón chiguaxté*. Guatemala: Facultad de Agronomía USAC.


- Solís, P., Guerrero, N., Gattuso, S., & Cáceres, A. (2003). *Manual de caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos*. Guatemala: Proyecto desarrollo de tecnología de cultivo de plantas medicinales y producción de fitoterápicos, (OEA/AICD/AE-089/03).
- Standley, P., & Steyermark, J. (1946). *Flora of Guatemala*. Chicago: Fieldiana: Botany.
- Tamayo, C. (2006). Fitoterapia basada en la evidencia. *Revista de Fitoterapia*, 54-60.
- Terreaux, C., Millard, M., Stoeckli-Evans, H., Gupta, M., Downum, K., Quirke, J., & Hostettmann, K. (1995). Structure Revision of Furanocoumarin From *Dorstenia contrajerva*. *Phytochemistry*, 39(3), 645-645.
- The United States Pharmacopeial, U. S. (2007). *The United States Pharmacopeial Convention* (NF-25. 30 ed ed.). Rockville: Mack Printing.
- Tovar, R., Cortés, R., Santos, N., & Joseph, P. (1998). Isolation, Total Synthesis, and Relative Stereochemistry of a dihydrofurocoumarin from *Dorstenia contrajerva*. *Journal of Natural Products*, 61(10), 1216-1220.
- Upton, R., Graff, A., Jolliffe, G., Länger, R., & Williamson, E. (2011). *American Herbal Pharmacopoeia : botanical pharmacognosy--microscopic characterization of botanical medicines*. Boca Raton: CRC Press.
- Valla, J. (2004). *Botánica. Morfología de las plantas superiores*. Buenos Aires: Hemisferio Sur.
- Vanaclocha, B., & Cañigual, S. (2003). *Fitoterapia, vademecum de prescripción*. Barcelona: MASSON, S.A.
- Vásquez Ruiz, A., Saralegui Boza, H., & Morales Martinez, A. (2002). La epidermis foliar en especies cubanas del género *Ficus* L. (Moraceae). *Revista del Jardín Botánico Nacional*, 23(2), 311-313.
- Vignale, N. D., & Gurni, A. Á. (2005). Identificación Micrográfica de las Hojas de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson (Asteraceae). *Acta Farm. Bonaerense*, 2004.
- WHO. (1998). *Quality control methods for medical plant materials*. Geneva: World Health Organization.
- WHO. (2002). *Good Manufacturing Practices: Draft supplementary guidelines for the manufacture of herbal medicinal products*. Geneva: World Health Organization.
- WHO. (2007). *WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues*. Geneva: World Health Organization.

13. ANEXOS

Anexo 1. Carta de herborización de ejemplares de *D. contrajerva* L., y *D. contrajerva* var *tenuiloba* en el Herbario BIGU de la escuela de Biología.

Anexo

2.



HERBARIO BIGU
Escuela de Biología
Facultad de C.C.Q.Q. y Farmacia

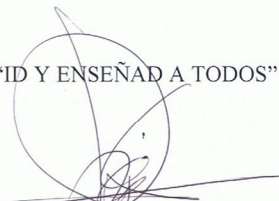

Guatemala, 05 de Marzo de 2014

A QUIEN CORRESPONDA:

Por este medio se hace constar que los estudiantes Carlos Rodolfo Díaz Martínez con carné 200710745 y Kristian Josué Flores Guzmán con carné 200817021 de la carrera de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacias, ingresaron al herbario BIGU el espécimen de la especie *Dorstenia contajerva* L., perteneciente a la familia **MORACEAE** la cual fue ingresada al libro de inventario y se le adjudico el número de Boucher 67412 y *Dorstenia contrajerva* var. *tenuiloba* (Blake) Standl. & Steyerm. Perteneciente a la familia **MORACEAE** la cual fue ingresada al libro de inventario y se le adjudico el número de Boucher 67413; por lo que a solicitud de los interesados (as), se les extiende la presente en el mismo lugar y fecha arriba indicados.

Atentamente

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

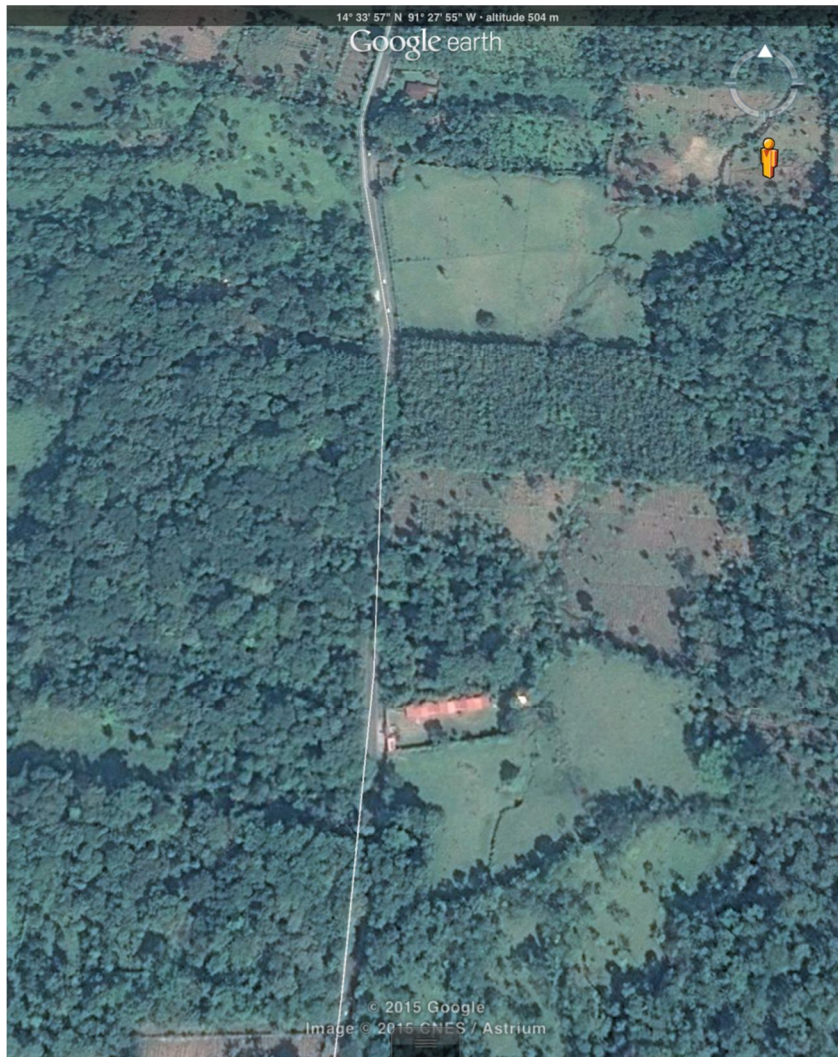
Ing. Agr. Mario Esteban Véliz Pérez
Coordinador – Curador
Herbario BIGU, Escuela de Biología

USAC, ZONA 12 • Guatemala, C.A. • Telefáx: (502) 2476-9856 • 5994-7987 E-mail: marioveliz@yahoo.com

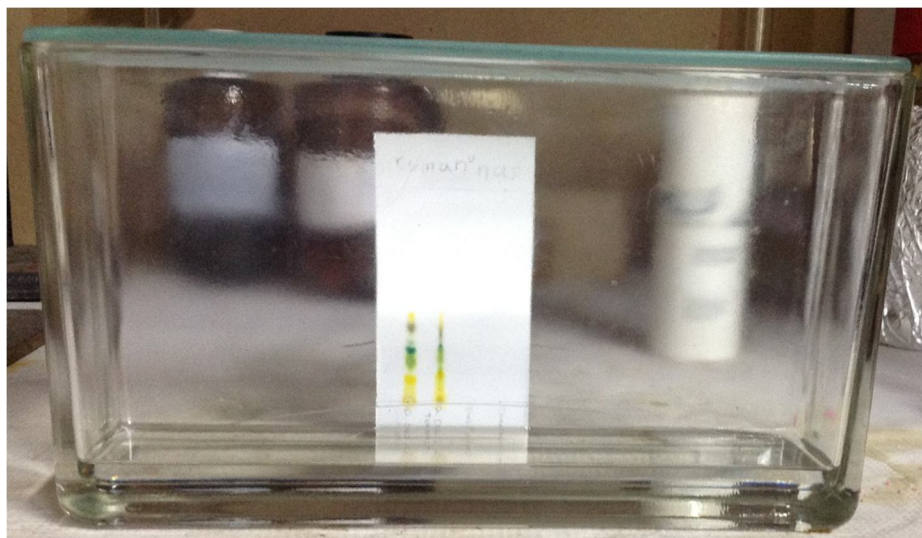
Datos de colecta en la Ecoparcela El Kakawatal en el cantón Chiguaxté, municipio de Samayac, departamento de Suchitepéquez.

Fecha de Colecta	Junio de 2013
Coordenadas de lugar de colecta	14°33'56.66"N, 91°27'53.19"O
Altitud	539 msnm
Hábitat de la planta	Hierba de sito sombreado, en bosque siempre verde, subtropical. La planta se encuentra regularmente en forma aislada.
Características de la planta	-Hierba sin tallo -hojas juntas en la base del ápice del rizoma -inflorescencia solitaria -receptáculo rectangular y áspero con los bordes irregulares
Descripción del área de colecta	A este lugar se llega por el desvío, que lleva a Samayac, en el kilómetro 154.9 de la carretera CA-2 que de la capital de Guatemala conduce hacia Mazatenango. La entrada de la ecoparcela está a 1.5 Km desde la entrada del desvío (Soc, 2002). “El Kakawatal” está comprendida dentro de la zona de vida bosque muy húmedo subtropical cálido (bmh-S(c)). Se caracteriza por tener una precipitación media anual de 3,284 mm, con una temperatura media de 30° C (Soc, 2002). El suelo superficial es de color café oscuro, con textura y consistencia franco limosa friable, con espesor aproximado de 20.3 cm (Simmons, Tarano, & Pinto, 1976)

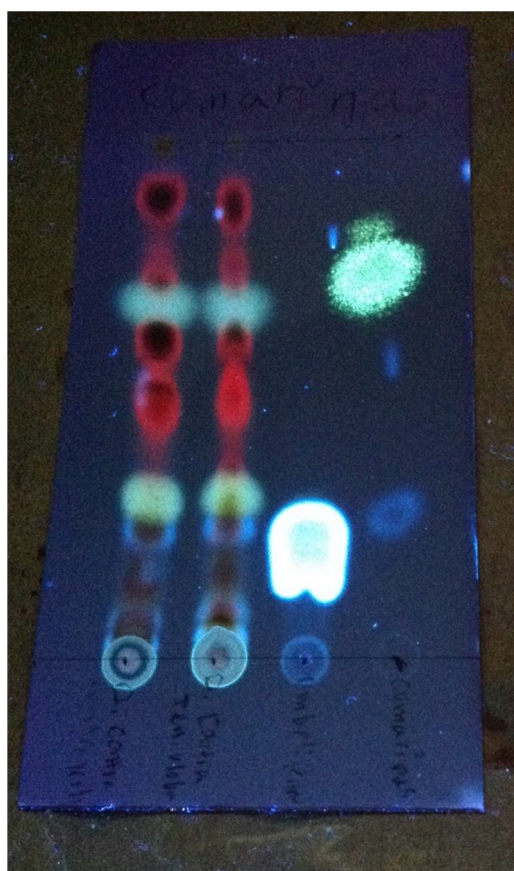
Mapa satelital del área de colecta



Anexo 3. Fotografías de cromatografía en capa fina para cumarinas.



Fuente: datos experimental



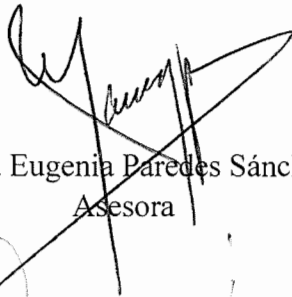
Fuente: datos experimental



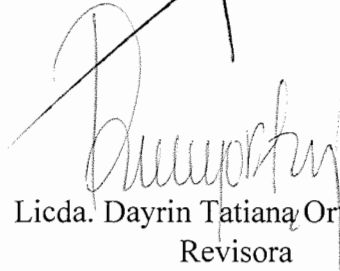
Br. Carlos Rodolfo Díaz Martínez
Autor




Br. Kristian Josué Flores Guzmán
Autor



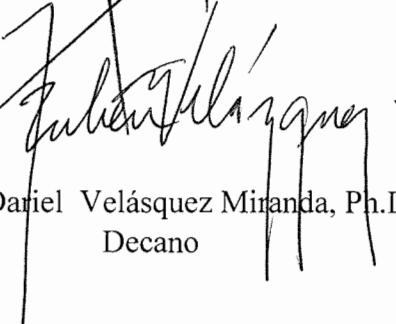
Licda. María Eugenia Paredes Sánchez, M.A.
Asesora



Licda. Dayrin Tatiana Ortiz López
Revisora



Licda. María Eugenia Paredes Sánchez, M.A.
Directora



Rubén Daríel Velásquez Miranda, Ph.D.
Decano