

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
PROGRAMA EXPERIENCIAS DOCENTES CON LA COMUNIDAD
SUBPROGRAMA EDC-BIOLOGÍA

INFORME FINAL INTEGRADO DE EDC
HERBARIO BIGU- JARDÍN BOTÁNICO
PERIODO DE REALIZACION
Enero 2013 – Enero 2014

Angela Begonia Barrios Palacios
PROFESOR SUPERVISOR DE EDC: Lic. Billy Alquijay

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
PROGRAMA EXPERIENCIAS DOCENTES CON LA COMUNIDAD
SUBPROGRAMA EDC-BIOLOGÍA

INFORME FINAL DE DOCENCIA Y SERVICIO

HERBARIO BIGU

PERIODO DE REALIZACION

Enero 2013 – Enero 2014

Angela Begonia Barrios Palacios
PROFESOR SUPERVISOR DE EDC: Lic. Billy Alquijay
ASESOR INSTITUCIONAL: Licda. Ana Rosalito Barrios

Vo. Bo. ASESOR INSTITUCIONAL

INDICE

Contenido	Página
1. INTRODUCCION	3
2. CUADRO DE RESUMEN DE ACTIVIDADES	4
3. ACTIVIDADES REALIZADAS DURANTE LA PRÁCTICA DE EDC	5
3.1. Servicio	5
3.1.1. Actividad No.1: Preparación de Cajas Entomológicas para uso de la Colección.	5
3.1.2. Actividad No.2 Elaboración de etiquetas de Identificación.	5
3.1.3. Actividad No.3 Etiquetado de especímenes.	5
3.1.4. Actividad No.4 Asignación de color de a especímenes correspondientes a un proyecto.....	6
3.1.5. Actividad No.5: Procesamiento especímenes vegetales.....	6
3.1.6. Actividad No.6: Intercalado de especímenes vegetales.	6
3.1.7. Actividad No.7: Colecta de muestras de polen de Anteras y en colchones de musgo.	6
3.1.8. Actividad No.8: Palinoteca de referencia.	7
3.1.9. Actividad No.9: Elaboración de Diagnostico, Plan de Trabajo e Informes.	7
3.2. Docencia	7
3.2.1. Actividad No.1: Capacitación en taxonomía de Apoidea.....	8
3.2.2. Actividad No.2: Metodología para Acetólisis	8
3.2.3. Actividad No.3: Diseño de Material didáctico de Promoción de la Eco-región Lachuá	9
3.2.4. Actividad No.4: Taller sobre palinología impartido en la Eco-región Lachuá.	9
3.3. ACTIVIDADES NO PLANIFICADAS	9
3.3.1. Actividad No.1 Conferencia: Paleoeología Milenaria de la Planicie de Purulhá del Preclasico a tiempos modernos.....	9
3.3.2. Actividad No.2 Conferencia: Bioética y Bioecología	10
3.3.3. Actividad No.3 Conferencias del Día del Biólogo.	10
3.3.4. Actividad No.4 Conferencias : Paleopalynology of Crawford Lake and Victor Mine. Geology and fores of northern Ontario during the Pliocene at Victor Mine.	10
3.3.5. Actividad No. 5. Exposición del Artículo "The Paleobotanical Record of Colombia: Implications For Biogeography and Biodiversity". 10	10
3.3.6. Actividad 6. Preparación de especímenes para Intercambio con otros Herbarios.	10
3.3.7. Actividad No.7: Conferencia "La ecología del Fuego en los Proces de Restauración en los ecosistemas de Pino-Encino". 11	11
3.3.8. Actividad No. 8. Participación en verificaciones de campo.	11
3.3.9. Actividad No.9. Participación en los proyectos del curso de Análisis de Sistemas Ecológicos.....	11
3.3.10. Actividad No.10. Conferencia" Los servicios ecosistémicos urbanos en las ciudades de Quetzaltenango y La Antigua Guatemala. 11	11
4. BIBLIOGRAFÍA.....	14
5. ANEXOS.....	13
Anexo No.1. Materiales para cajas entomológicas y Cajas Entomológicas armadas.	13
Anexo No.2. Etiquetas impresas y etiquetado de especímenes	13
Anexo No.3. Asignación de Color de Proyecto	13
Anexo No. 4. Intercalado de especímenes vegetales.	14
Anexo No. 7. Metodología para acetólisis.	15
Anexo No. 6. Diploma de Participación el Simposio "Investigación Multidisciplinaria del género Piper en Guatemala.....	15

1. INTRODUCCION

El periodo de EDC consta de tres fases que se ejecutan por el periodo de un año completo: Servicio, Docencia e Investigacion; teniendo estas un componente social que permite apoyar el servicio y la extensión de que la Universidad de San Carlos de Guatemala brinda a los guatemaltecos (Alquijay et al. 2013).

Previo al inicio de las fases de Docencia y Servicio en la Unidad de práctica seleccionada, se realiza un servicio Pre-establecido de con una duración de 80 horas, distribuido en Colecciones Zoológicas y Colecciones Botánicas. Al finalizar las fases de Docencia y Servicio se presenta un informe que permite evaluar los avances de los estudiantes en sus respectivas unidades de práctica de acuerdo a las actividades que fueron planteadas en el Plan de Trabajo. Para cada una de las actividades ejecutadas se indican los objetivos, descripción, resultados obtenidos y limitaciones.

El presente informe final de las fases de Docencia y Servicio es una recopilación de las actividades más importantes ejecutadas de Enero a Junio correspondientes al Servicio Pre-establecido en la Colección de Abejas de la Unidad de Biodiversidad y a las actividades de las fases antes mencionadas de acuerdo a la programación establecida previamente, ejecutadas en el Herbario BIGU. Dentro de esas actividades también se encuentran otras que no fueron planificadas pero de interés para la formación profesional del estudiante tales como la asistencia a conferencias y a simposios.

2. CUADRO DE RESUMEN DE ACTIVIDADES

A continuación se detallan las actividades a realizadas durante el periodo de Enero-Junio en el programa de EDC, clasificadas según las Fases de Docencia, Servicio e Investigación.

Programa	Nombre de la Actividad	Fecha de la Actividad	Horas Ejecutadas de EDC	Porcentaje Horas (%)
Servicio y Docencia	Elaboración de Diagnostico, Plan de Trabajo e Informes.	Enero-Mayo	80 hrs. (40S, 40D)	7.61%
A. Servicio				
	Servicio Preestablecido-Colección Entomológica CECON.	Enero	45 hrs.	4.28%
	Procesamiento especímenes vegetales.	Febrero-Mayo	70 hrs.	6.66%
	Intercalado de especímenes vegetales.	Febrero-Mayo	38 hrs.	3.61 %
	Palinoteca de referencia	Febrero-Junio	105 hrs	10%
	Colecta de muestras de polen de Anteras y en colchones de musgo.	Junio	102 hrs	9.71%
TOTAL SERVICIO			360 hrs.	34.25%
B. Docencia	Metodología para Acetólisis.	Febrero-Mayo	25 hrs.	2.38%
	Diseño de Material didáctico de la Eco-región Lachuá.	Marzo-Mayo	30 hrs	2.85%
	Taller sobre palinología impartido en la Eco-región Lachuá.	Mayo	30 hrs	2.85%
TOTAL DOCENCIA			85 hrs.	8.09%
C. Investigación	Realización de Cortes Histológicos.	Junio-Septiembre	175 hrs	16.67%
	Técnicas Histológicas	Julio-Septiembre	30 hrs	2.85%
	Pruebas Histoquímicas	Julio-Septiembre	15 hrs	1.43%
	Procesamiento de datos	Octubre	80 hrs	7.62%
	Analisis de datos		125 hrs	11.90%
	Elaboración de perfil, protocolo e informes.	Enero-Enero	100 hrs	9.52%
TOTAL INVESTIGACIÓN			525 hrs.	50%
TOTAL			1050 hrs.	100.96%

3. ACTIVIDADES REALIZADAS DURANTE LA PRÁCTICA DE EDC

3.1. Servicio

Es la actividad orientada a la aplicación del conocimiento científico, tecnológico y humanístico en la solución de los problemas y satisfacción de las necesidades de la sociedad guatemalteca. (Alquijay *et al.* 2013)

Servicio preestablecido: Colección entomológica, Unidad de Biodiversidad, CECON

3.1.1. Actividad No.1: Preparación de Cajas Entomológicas para uso de la Colección.

- A. Objetivo: Tener cajas entomológicas disponibles para colocar los especímenes.
- B. Procedimiento: Armar cajas entomológicas de cartón de 3 diferentes tamaños, pegar espuma del tamaño adecuado en el fondo de cada una y colocarlas dentro de las cajas de madera para que estén listas para colocar los especímenes.
- C. Resultados: Cajas entomológicas listas para el uso de la Colección de abejas.
- D. Limitaciones o dificultades: La espuma tarde en adherirse a las cajas de cartón. (Ver Anexo No.1)

3.1.2. Actividad No.2 Elaboración de etiquetas de Identificación.

- A. Objetivo: Elaborar etiquetas que permitan identificar a los especímenes para su ingreso a la colección.
- B. Procedimiento: Se elaboraron etiquetas digitalmente con el nombre científico del espécimen y posteriormente fueron impresas.
- C. Resultados: Suficientes etiquetas disponibles para etiquetar especímenes.
- D. Limitaciones o dificultades: Ninguna. (Ver Anexo No. 2)

3.1.3. Actividad No.3 Etiquetado de especímenes.

- A. Objetivo: Colocar la etiqueta correspondiente a los diferentes especímenes.
- B. Procedimiento: A las etiquetas impresas se les agregó fecha de determinación y el nombre del determinador. Con ayuda de una gradilla se introdujeron en el alfiler donde estaba montado el espécimen correspondiente.
- C. Resultados: Especímenes debidamente etiquetados
- D. Limitaciones o dificultades: Ninguna. (Ver Anexo No. 2)

3.1.4. Actividad No.4 Asignación de color de a especímenes correspondientes a un proyecto.

- A. Objetivo: Identificar los especímenes que pertenecen a un proyecto particular con un color distintivo.
- B. Procedimiento: Se escoge un color que represente al proyecto particular y con ayuda de un perforador se obtienen círculos de papel que se agregan con ayuda de la gradilla al alfiler del espécimen montado.
- C. Resultados: Mayoría de los especímenes del Proyecto identificados.
- D. Limitaciones o dificultades: Tiempo. (Ver Anexo No. 3)

3.1.5. Actividad No.5: Procesamiento especímenes vegetales.

- A. Objetivo: Realizar Procesamiento especímenes vegetales recibidos en intercambio y de interés palinológico como parte de su proceso para ingresar a una colección del Herbario BIGU.
- B. Procedimiento: Se acomodan los especímenes para ingresarlos a la secadora debiendo identificar sus prensas, posteriormente permanecen en la congeladora durante 72 horas después de serán identificadas por el curador del Herbario u otro experto, cuando los se encuentren secos, libres de plagas y etiquetados, procederán a su montaje sobre un formato de papel texcote C14 de 23.5 x 42.5 cm. (Herbario BIGU, 2010)
- C. Resultados: Los especímenes procesados pueden pasar al proceso de intercalado.
- D. Limitaciones o dificultades: Ninguno.

3.1.6. Actividad No.6: Intercalado de especímenes vegetales.

- A. Objetivo: Ingresar al inventario los especímenes previamente herborizados, montados y etiquetados, asignándoles un numero de inventario correspondiente, y posteriormente intercalarlo en el armario correspondiente según el orden filogenético.
- B. Procedimiento: Los espécimen previamente herborizados, etiquetado y montados pasarán a libro de inventario en donde tendrán un número de voucher, luego serán llevados a la base de datos en donde se les pondrá un sello Base HBG y finalmente serán intercalados en la colección en sus respectivas carpetas o folders asignarle el número de correlación e ingresarlo a libro de registros, incluyendo los datos de colecta. (Herbario BIGU, 2010)
- C. Resultados: Facilitar la consulta de los especímenes en los armarios, según su familia, género y especie.
- D. Limitaciones o dificultades: Ninguna (Ver Anexo No.4).

3.1.7. Actividad No.7: Colecta de muestras de polen de Anteras y en colchones de musgo.

- A. Objetivos: Obtener muestras de polen de anteras de flores y musgos de la Eco-región Lachuá.
- B. Procedimiento:
 - a) Para la colecta en Anteras: Del material vegetal de botones cerrados de flores se extraen 2 copias de anteras por planta depositando las anteras en viales con alcohol al 90%.

b) Para la colecta en colchones de musgo: Los muestreos consistirán en colchones de musgo, que se encuentren sobre el suelo o a una altura máxima de un metro sobre el suelo, esto con el fin de representar en la medida de lo posible la deposición más real de los granos de polen y así abarcar el mayor espacio terrestre operable. Las muestras se tomarán en las mismas parcelas donde se levantarán los colchones de musgo. Las muestras a manera de conservar la humedad de las mismas, se conservarán en una refrigeradora hasta el día de la aplicación del protocolo de Acetólisis (Domínguez-Vásquez, Islebe, & Villanueva-Gutiérrez, 2004).

C. Resultados: Muestras de polen de calidad que permita después su fijación y utilización en proyectos de Investigación.

D. Limitaciones o dificultades: Accesibilidad de los lugares.

3.1.8. Actividad No.8: Palinoteca de referencia.

A. Objetivos: Creación colección palinológica que permita su uso como fuente de consulta.

B. Procedimiento: Preparación de láminas fijas con muestras microscópicas del polen obtenido de colchones de musgo y anteras por medio del proceso de acetólisis, asignando a cada muestra un número correlativo que corresponde a la planta de la que fue colectado.

C. Resultado: Láminas de polen montadas, con fotografías y descripciones correspondientes.

D. Limitaciones o dificultades: No existe un armario para la colección (Ver Anexo No.5)

3.1.9. Actividad No.9: Elaboración de Diagnostico, Plan de Trabajo e Informes.

A. Objetivos: Recopilación gradual de información que permita la realización del Informe Final de Servicio y Docencia.

B. Procedimiento: Se elaboraran cada dos meses informes bimensuales que permiten la creación de un borrador del Informe Final de Servicio y Docencia y finalmente la elaboración del informe con correcciones. Dicho informe es una recopilación de las actividades más importantes ejecutadas durante la Fase de Docencia y Servicio en base al plan de trabajo al diagnóstico de la Unidad de Práctica.

C. Resultados: Informe Final de Docencia y Servicio.

D. Limitaciones o dificultades: Ninguna.

3.2. Docencia

Es toda actividad desarrollada en la Universidad de San Carlos de Guatemala, orientada hacia la búsqueda, comprensión, interpretación, aplicación y divulgación del conocimiento científico, tecnológico humanístico, a través de la planificación, organización, dirección, ejecución del proceso educativo (Alquijay *et al.* 2013).

3.2.1. Actividad No.1: Capacitación en taxonomía de Apoidea.

- A. Objetivos: Adquirir conocimiento que permita distinguir las diferentes Tribus y Familias de Apoidea.
- B. Procedimiento: Con ayuda de la Licenciada Mabel Soto y utilizando diferentes claves taxonómicas se identificaron diferentes especímenes de abejas a nivel de Tribu y familia.
- C. Resultados: Capacidad para distinguir las diferentes tribus y familias de Apoidea.
- D. Limitaciones o Dificultades: Ninguna. Vásquez, M. (2011) (Ver Anexo No. 6).

3.2.2. Actividad No.2: Metodología para Acetólisis

- A. Objetivo: Aprender la Metodología de la acetólisis para la preparación de muestras de polen procedentes de anteras y Colchones de musgos.
- B. Procedimiento: Se trabajaron dos metodologías distintas la primera para acetólisis normal y la segunda para acetólisis ligera.
 - a) Procedimiento para Acetólisis normal: el procesamiento de acetólisis sigue el protocolo establecido por Erdtman (1952). Luego de hacer lavados a los colchones de musgo, el líquido obtenido se somete al procedimiento de acetólisis. El procedimiento implica agregar KOH al 10% hasta cubrir la muestra y calentarla a 30-40°C en Baño de María. La muestra se filtra y se centrifuga a 5000 r.p.m. y se descarta el sobrenadante. Se le realizan lavados con agua destilada y se centrifuga, este procedimiento se repite por lo menos 5 veces. A la muestra se le agrega ácido acético glacial, se centrifuga y se descarta el sobrenadante. Luego se le agrega una mezcla de anhídrido acético y ácido sulfúrico (9:1), se lleva a una temperatura de 80°C durante 5-10 minutos en Baño de María. Al estar el tubo a temperatura ambiente se centrifuga de nuevo por 5 minutos. Se descarta el sobrenadante y se adiciona alcohol etílico y se centrifuga durante 5 minutos. Se repite el procedimiento y al descartar el sobrenadante se agrega glicerina al residuo. Los tubos se llevan al horno a una temperatura de 40°C durante 12 horas. Al transcurrir este tiempo se tapan los tubos, se rotulan y se guardan hasta su observación al microscopio. En el caso del polen obtenido las anteras se retiran de los viales de alcohol y siguen el mismo procedimiento que los colchones de musgo.
 - b) Procedimiento para Acetólisis Ligera: Para la separación del polen primero se lava la muestra, posteriormente se presiona por el mortero, se pasa por 3 filtros, y se calienta durante 5 minutos. En el proceso de decantación el polen es más liviano y que da en el sobrenadante la arena es más pesada y queda en el precipitado. Se realiza un movimiento circular y posteriormente se descarta el precipitado. Este procedimiento se repite de 20-30 veces hasta que se elimina la arena. Seguidamente utilizando un tamiz plástico de 150 micras se filtra 2 veces. El tercer filtrado realizarlo al vacío con un kitazato en un tamiz de 7 micras. Se centrifuga el filtrado durante 20 segundos y se descarta el exceso. El peso de los tubos de ensayo se iguala con H₂O y se centrifuga durante 20 segundos, se etiquetan y almacena el material. Para el procesamiento de acículas se hierven las muestras con hidróxido de Potasio (KOH), se centrifugan durante 20 segundos. Moler en un mortero las

acículas y centrifugar igualando pesos con destilada H₂O una o dos veces. Etiquetar y almacenar. (Turton, 2011).

- C. Resultados: Muestras de polen purificadas y listas para su montaje en láminas.
- D. Limitaciones o Dificultades: Ninguna. (Ver Anexo No. 7)

3.2.3. Actividad No.3: Diseño de Material didáctico de Promoción de la Eco-región Lachuá

- A. Objetivos: Promover la Eco-región Lachuá como un sitio con importancia arqueológica y ecológica.
- B. Procedimiento: Selección de fotografías de lugares que se desee promocionar de la Eco-región y del texto que debe acompañarlas para crear un borrador que posteriormente pasara a edición y finalmente será publicado.
- C. Resultados: Poster listo para impresión.
- D. Limitaciones o dificultades: Ninguna.

3.2.4. Actividad No.4: Taller sobre palinología impartido en la Eco-región Lachuá.

- A. Objetivo: Realizar una retroalimentación del proyecto de palinología ejecutado en la Eco-región Lachuá.
- B. Procedimiento: Se efectuará un taller para las comunidades de la Eco-región Lachuá, utilizando diversas dinámicas que favorezca la adecuada socialización de los avances en el proyecto de investigación.
- C. Resultados: Una adecuada socialización del tema que permita a las personas de la comunidad involucrarse en el proceso, y fortalecer las charlas que imparten los guardarecursos.
- D. Limitaciones o dificultades: Esta actividad no se llevó a cabo completamente por limitaciones de tiempo y porque existían otras prioridades en el momento relacionadas con actividades de colecta para el Proyecto de Esporo-Polen. Sin embargo, el material didáctico se preparó y se dejó en la estación y puede ser utilizado en otra ocasión.

3.3. ACTIVIDADES NO PLANIFICADAS

3.3.1. Actividad No.1 Conferencia: Paleoecología Milenaria de la Planicie de Purulhá del Preclásico a tiempos modernos.

- A. Objetivos: Conocer las aplicaciones prácticas de la palinología en paleoecología.
- B. Procedimiento: Se asistió a la conferencia impartida en el Museo Popol Vuh, de la Universidad Francisco Marroquín por el PhD. Carlos Avendaño.
- C. Resultados: Mejor comprensión de la utilidad de la palinología en la Reconstrucción de paisajes y habatos culturales.
- D. Limitaciones o dificultades: Distancia

3.3.2. Actividad No.2 Conferencia: Bioética y Bioecología

- A. Objetivos: Ampliar el conocimiento sobre bioética y Bioecología
- B. Procedimiento: Se asistió a la conferencia impartida en el laboratorio de Genética del Edificio t-10 por el Doctor Rafael Monroy curador del Herbario MORE.
- C. Resultados: Se adquirió mayor conocimiento sobre la bioética y se enriqueció el tema con experiencias propias del conferencista.
- D. Limitaciones o dificultades: Ninguna.

3.3.3. Actividad No.3 Conferencias del Día del Biólogo.

- A. Objetivos: Familiarizarse con trabajos del tema de interés y observar la metodología aplicada en otros países.
- B. Procedimiento: Se asistió a dos conferencias en el salón Multimedia del Edificio T-11:
 - a) Transmisión del conocimiento tradicional entomológico en Yucatán, México por Lic. Miguel Punkis.
 - b) Saberes locales y usos medicinales actuales del muclé en el Estado de Morelos, México.
- C. Resultados: Se adquirió mayor conocimiento de los temas impartidos y de los enfoques que se maneja en otros países.
- D. Limitaciones o dificultades: Ninguna.

3.3.4. Actividad No.4. Conferencias : Paleopalynology of Crawford Lake and Victor Mine. Geology and forest of northern Ontario during the Pliocene at Victor Mine.

- A. Objetivo: Conocer las técnicas y métodos aplicados en otros lugares para la extracción de polen y la interpretación de los resultados encontrados.
- B. Procedimiento: Se asistió a la conferencia impartida en el Salón Multimedia del T-11 por el Paleoecólogo Charles Turton de la Universidad de Toronto.
- C. Resultados: Mejor comprensión de los procesos palinológicos en la naturaleza
- D. Limitaciones o dificultades: Ninguna.

3.3.5. Actividad No. 5. Exposición del Artículo “The Paleobotanical Record of Colombia: Implications For Biogeography and Biodiversity”.

- A. Objetivo: Mejorar la habilidad para presentar y discutir artículos científicos relacionados con las ciencias de la Tierra.
- B. Procedimiento: Cada quince días se reúne un grupo de discusión y una persona presenta un artículo previamente seleccionado para su posterior discusión.
- C. Resultados: Mejor habilidad para presentar y discutir artículos.
- D. Limitaciones y Dificultades: Ninguna.

3.3.6. Actividad 6. Preparación de especímenes para Intercambio con otros Herbarios.

- A. Objetivo: Clasificar los especímenes para facilitar su envío a otros herbarios.

- B. Procedimiento: Se separan los especímenes en Tipos A, B, C y D según su calidad e integridad. Se colocan en paquetes de 50 especímenes con una identificación del tipo al que pertenecen.
- C. Resultados: Especímenes Listos para intercambio.
- D. Limitaciones y Dificultades: Ninguna.

3.3.7. Actividad No.7: Conferencia “La ecología del Fuego en los Procesos de Restauración en los ecosistemas de Pino-Encino”.

- A. Objetivos: Conocer la influencia de los ciclos del fuego en la ecología de los Bosques de Pino-Encino.
- B. Procedimiento: Se asistió a la conferencia impartida en el Edificio UVIGER FAUSAC por el Doctor Jarrod Thaxton de la Universidad de Puerto Rico, Recinto Mayagüez.
- C. Resultados: Se adquirió mayor conocimiento de la dinámica de los bosques de pino-encino y del impacto en la regeneración ocasionado por los fuegos de origen natural y los de origen antropogénico.
- D. Limitaciones o dificultades: Ninguna.

3.3.8. Actividad No. 8. Participación en verificaciones de campo.

- A. Objetivos: Verificar los usos de suelo en las parcelas seleccionadas en 2002 para corroborar si han existido variaciones en su extensión o en su uso.
- B. Procedimiento: Con la ayuda de un GPS se traza una ruta que permite calcular el tamaño y los límites de los parches de vegetación y se documentan los usos de tierra presentes en la parcela.
- C. Resultados: Actualización de los límites de las parcelas y los usos de suelo.
- D. Limitaciones o dificultades: Accesibilidad y Transporte.

3.3.9. Actividad No.9. Participación en los proyectos del curso de Análisis de Sistemas Ecológicos.

- A. Objetivos: Ayudar a los estudiantes en la ejecución de sus protocolos de clase.
- B. Procedimiento: En base a los protocolos diseñados por los estudiantes del curso de Análisis de Sistemas Ecológicos, se hicieron transectos y la toma de datos para dos investigaciones. La primera con *Myrica cerifera* (arrayán) que pretendía determinar si existía un patrón de cultivo de esta especie por efectos antropogénicos y la segunda sobre la existencia y dispersión de *Swietenia Macrophylla* King (caoba).
- C. Resultados: Colecta de datos para los proyectos del Curso.
- D. Limitaciones o dificultades: Ninguna.

3.3.10. Actividad No.10. Conferencia” Los servicios ecosistémicos urbanos en las ciudades de Quetzaltenango y La Antigua Guatemala.

- A. Objetivos: Conocer la importancia que las áreas verdes tienen para las ciudades.

- B. Procedimiento: Se asistió a la conferencia impartida en el Colegio Mayor Santo Tomas de Aquino por el Licenciado Fernando Castillo.
- C. Resultados: Mejor comprensión de los servicios que brindan de las áreas verdes a las ciudades.
- D. Limitaciones o dificultades: Ninguna.

3.3.11. Actividad No. 11. Participación en el Simposio “Investigación Multidisciplinaria del género *Piper* en Guatemala”

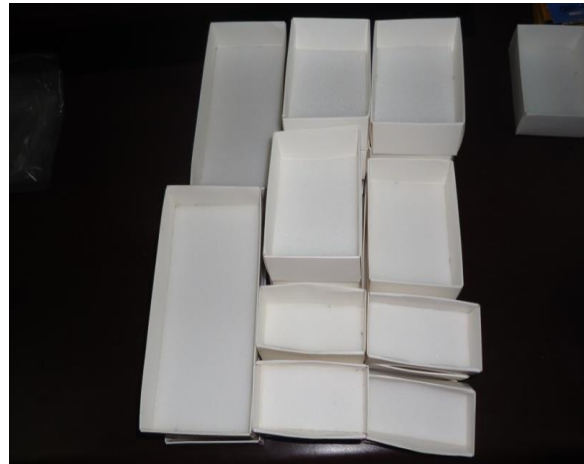
- A. Objetivos: Conocer la trascendencia del Género *Piper* en diferentes áreas científicas.
- B. Procedimiento: Se asistió al Simposio en el Edificio del UVIGER FAUSAC impartido por científicos de diferentes campos.
- C. Resultados: Visión Global de la importancia del Género *Piper* en el área de Ciencias Biológicas, Médicas y Ecológicas.
- D. Limitaciones o Dificultades: Ninguna.

4. BIBLIOGRAFÍA

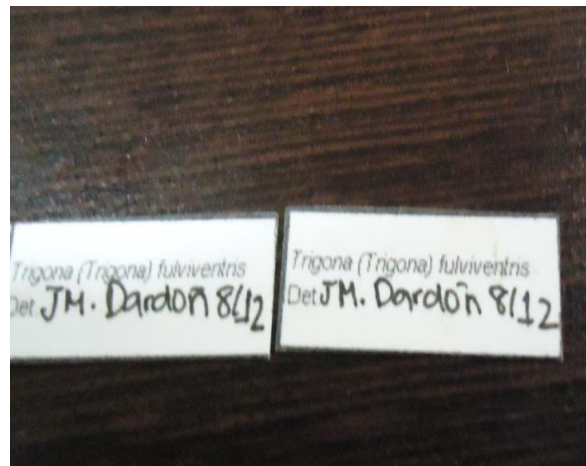
1. Alquijay, B., G. Armas & E. Enríquez. (2013). Programa analítico: Práctica Experiencias Docentes con la Comunidad -EDC- carrera de Biología. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
2. Erdtman, G. (1952). Pollen Morphology and Plant taxonomy. Estocolmo: Almqvist & Wiksell.
3. Domínguez-Vásquez, G., Islebe, G., & Villanueva-Gutiérrez, R. (2004). Modern pollen deposition in Lacandon forest, Chiapas, México. Review of Palaeobotany and Palynology 131 , 105-116.
4. Herbario BIGU. (2010). Normativo BIGU. Guatemala: Herbario BIGU.
5. Turton, C. (2011). Comunicación Personal. Actividades en Herbario BIGU: Universidad de Toronto, Canadá.
6. Vásquez, M. (2011). Comunicación Personal. Actividades en colección entomológica: Unidad de Biodiversidad CECON, Guatemala.

5. ANEXOS

Anexo No.1. Materiales para cajas entomológicas y Cajas Entomológicas armadas.



Anexo No.2. Etiquetas impresas y etiquetado de especímenes



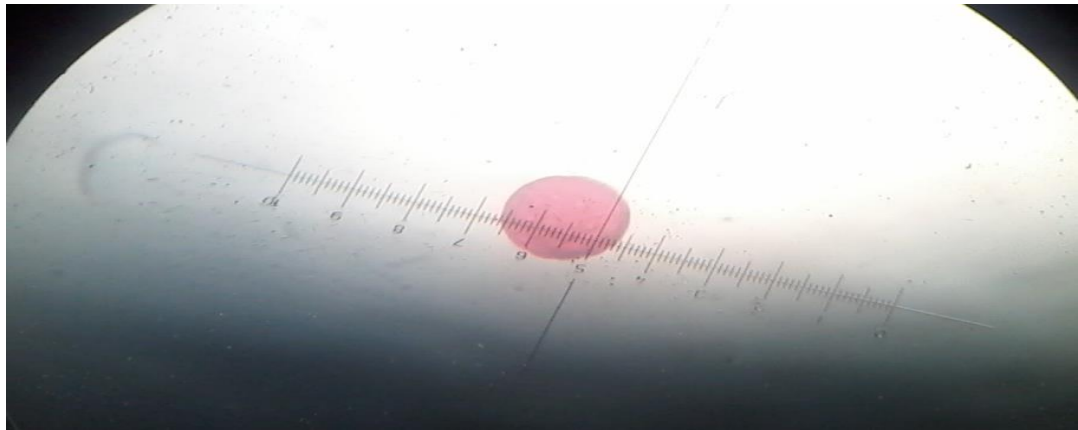
Anexo No.3. Asignación de Color de Proyecto .



Anexo No. 4. Intercalado de especímenes vegetales.



Anexo No.5. Medición de grano de polen de lámina fija.



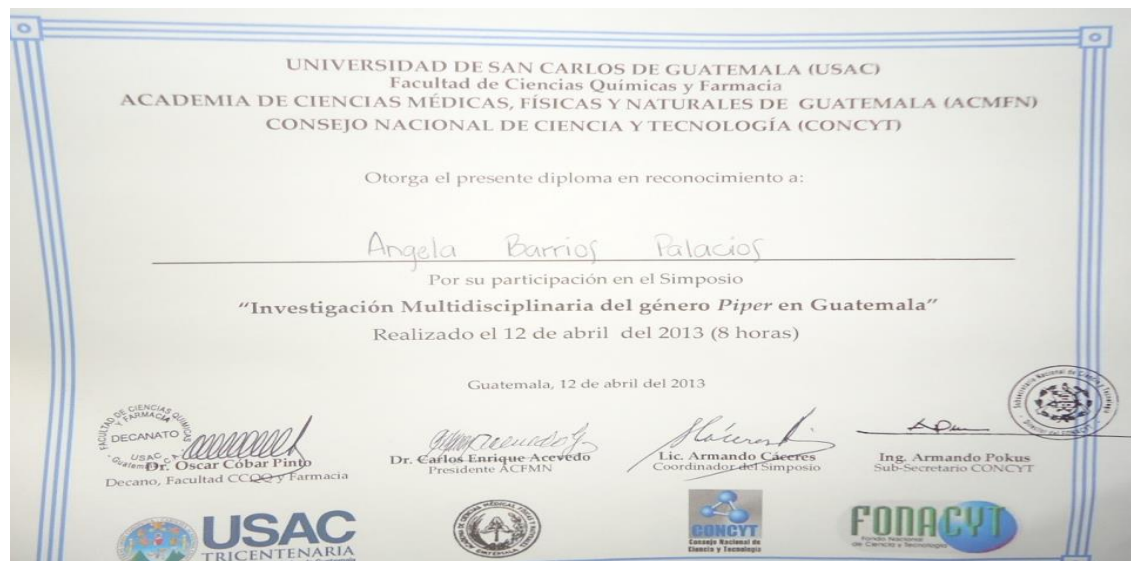
Anexo No.6. Capacitación en Taxonomía de Apoidea.



Anexo No. 7. Metodología para acetólisis.



Anexo No. 6. Diploma de Participación el Simposio "Investigación Multidisciplinaria del género Piper en Guatemala



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS DE FARMACIA
PROGRAMA EXPERIENCIAS DOCENTES CON LA COMUNIDAD
SUBPROGRAMA EDC-BIOLOGÍA

INFORME FINAL

Patrones de Identidad Farmacobotánica de *Piper retalhuleuense* Trel. & Standl.

JARDÍN BOTÁNICO

PERIODO DE REALIZACION

Enero 2013 – Enero 2014

Angela Begonia Barrios Palacios
PROFESOR SUPERVISOR DE EDC: Lic. Billy Alquijay
ASESOR DE INVESTIGACION: M. Sc. Carolina Rosales

Vo. Bo. ASESOR DE INVESTIGACIÓN

Índice

Contenido	Página
1. RESUMEN	18
2. INTRODUCCIÓN.....	19
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
4. JUSTIFICACIÓN	20
5. REFERENTE TEORICO	21
5.1. Estudios Anteriores	21
5.2. Generalidades de planta de estudio	22
5.2.1. Distribución:.....	22
5.2.2. Usos medicinales tradicionales.....	22
5.2.3. Usos fitoquímicos.	22
5.2.4. Elaboración de monografías herbolarias	22
6. OBJETIVOS	24
7. HIPÓTESIS	24
8. METODOLOGÍA.....	24
8.1. DISEÑO	24
8.2. TECNICAS A USAR EN EL PROCESO DE INVESTIGACIÓN	24
8.2.1. RECOLECCION DE DATOS.....	24
8.2.2. Análisis de Datos	25
8.2.3. Instrumentos utilizados para la obtención de datos	27
8.2.3.1. Equipo.....	27
8.2.3.2. Materiales.....	27
8.2.3.3. Cristalería	28
8.2.3.4. Reactivos.....	28
9. RESULTADOS	28
Tabla No.2 Características anatómicas de <i>Piper retalhuleuense</i>	31
Tabla No.1 Pruebas Histoquímicas para la detección de sustancias en <i>Piper retalhuleuense</i>	33
10. DISCUSIÓN.....	34
11. CONCLUSIONES	35
12. RECOMENDACIONES	36
13. REFERENCIAS.....	36
14. ANEXOS	39

1. RESUMEN

Debido a la escasa información y a la importancia *P. retalhuleuense* Trel. & Standl como planta potencialmente medicinal, endémica de Guatemala, se realizó la microscopía de los órganos vegetativos de esta especie y su descripción macroscópica, con el objetivo de identificar caracteres diagnósticos a nivel micro y macroscópico que puedan utilizarse para diseñar cartillas micrográficas que describan con claridad a la especie y que sirvan para diferenciarla de otras, debido a que existe una gran semejanza morfológica entre las especies del género *Piper* lo que puede ocasionar falsificación de la droga vegetal. En este estudio se detectaron tres caracteres diagnósticos: la presencia de colénquima lagunar en el peciolo, la ausencia de cristales con drusas o rafidios, y el tipo y la disposición de los tricomas. Así mismo la presencia de aceites esenciales y alcaloides que deben confirmarse con análisis fitoquímicos completos.

2. INTRODUCCIÓN

Los patrones de identidad Farmacobotánica permiten definir una serie de características que son únicas de cada especie y de esta forma se puede realizar una identificación a nivel macroscópico y microscópico mediante una serie de procesos estandarizados.

Esto es muy importante ya que en la actualidad ha tenido un mayor auge el uso de productos y plantas medicinales, pero para su segura incorporación en el campo de la farmacognosia es necesario recopilar información exhaustiva que permita su ingreso a una farmacopea ni los exigidos por laboratorios para considerar la materia seca como droga vegetal (Martínez, Cáceres & García, 2004, p.2).

En la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala tradicionalmente se le ha dado mayor importancia a la farmacología experimental, sin embargo la identidad botánica ha sido poco trabajada y se tienen muy poca información al respecto para la mayoría de las especies consideradas medicinales (Granados, 2007, p.11).

La planta seleccionada para esta investigación es *Piper retalhuleuense* Trel. & Standl, esta es una planta endémica de Guatemala, usualmente restringida a la costa sur del país, conocida comúnmente como corrimiento (Standley & Steyermark, 1952). Según estudios anteriores posee propiedades que son utilizados en la industria alimenticia y cosmética.

Con este estudio se pretende definir caracteres anatómicos macroscópicos y organolépticos pero especialmente microscópicos que permitan identificar la materia medicinal, para establecer controles de calidad, crear una cartilla micrográfica que permita identificar esos caracteres y metabolitos que son de fácil reconocimiento mediante pruebas sencillas.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A nivel mundial, el género Piper tiene un amplio interés en la industria farmacéutica, cosmética y culinaria, existiendo muchos estudios científicos que demuestran su potencial, además se puede mencionar que presentan actividad antimicrobiana y antioxidante (Álvarez, 2012).

Para toda planta que pasa con éxito los estudios de validación farmacológica y clínica, es necesario realizar una monografía que pueda

ser publicada en una farmacopea, por lo que se requiere que cumpla con ciertos parámetros. Uno de estos parámetros son las pruebas de identidad que según una evaluación realizada por la Red Iberoamericana de Productos Farmacéuticos (RIPROFITO) indica que existe amplia información sobre el control químico de las materias primas y sus productos derivados, pero existe un gran vacío respecto al material informativo sobre control de calidad micrográfico, dado que esta disciplina fue abandonada en la mayoría de las Facultades de Farmacia (Gattuso, & Gattuso, 2009, p.1).

4. JUSTIFICACIÓN

Guatemala es un país que cuenta con una gran diversidad y riqueza de especies de flora muchas de las cuales han sido usadas milenariamente para el tratamiento de diversas enfermedades. Sin embargo no se cuenta con controles de calidad que nos permitan asegurar que el material que se está trabajando es auténticamente el que se desea trabajar.

Esto constituye también una limitación en el proceso de comercialización ya que no se cumple con muchos de los requisitos establecidos para una materia médica de calidad y en ocasiones esos requisitos no están definidos.

La descripción de las características anatómicas diagnósticas del material vegetal de la especie permitirán definir los parámetros de identidad farmacognóstica de la misma, lo que facilitará la posterior elaboración de la monografía farmacopéica correspondiente y el desarrollo de los exámenes de control de calidad de su materia prima y de los productos fitofarmacéuticos que a futuro se comercialicen para la planta.

Piper retalhuleuense es una especie nativa que ha sido seleccionada como objeto de investigación debido a su potencial farmacobotánico, al poseer un componente de sus acetites esenciales, el nerolidol con un rendimiento del 28.2 % (Cruz, 2012, p. 41).

Esta sustancia posee aplicación en las áreas de cosmética y de artículos de cuidado personal. Es empleado para elaborar fragancias y detergentes. Su aroma es levemente dulce, floral, verde semejante a madera. Presenta excelentes efectos fijadores y estabilidad ante álcalis, lo cual es útil para elaboración de composiciones florales. Se usa un 1-10% en compuestos. A su vez es empleado en la industria saborizante, su aplicación especial es en composiciones de cítricos, complejos de frutas y bayas, en concentración de 1-10 ppm (BASF, 2013). Se ha determinado su potencial efecto tóxico en las mitocondrias y el metabolismo celular, con aplicación anticancerígena. También presenta actividad inhibiendo el crecimiento *Leishmania* (Ferreira, 2012, p. 189)

Otro factor a considerar en su selección es que se encuentra en el Índice 2 de la Lista Roja de Especies de Flora del Consejo Nacional de Áreas Protegidas, por lo que la demostración de su importancia favorece los esfuerzos para su conservación (CONAP) (Departamento de Vida Silvestre, 2001, p.2)

5. REFERENTE TEORICO

5.1. Estudios Anteriores

Para plantas del Género *Piper* el único estudio que se ha realizado con los Patrones de identidad Farmacobotánica ha sido el de siete especies denominado “Establecimiento De Los Patrones De Identidad Farmacobotánica De Siete Especies Del Género *Piper* (Piperaceae) Del Banco De Germoplasma De La Ecoparcela El Kakawatal, Samayac, Suchitepéquez” que no incluyen a *Piper retalhuleuense*. En el que se establecieron las características diagnósticas para estas especies tanto a nivel microscópico como macroscópico y se elaboró una cartilla micrográfica de las especies.

En el campo de la farmacología experimental se han realizado caracterizaciones de aceites esenciales en el marco del “Estudio Diversidad Química de Aceites Esenciales de 15 especies de *Piper* de Guatemala “por S.M. Cruz, A. Cáceres & L.E. Álvarez M.A. Apel & A.T. Henriques, el cual estableció los aceites esenciales mediante hidrodestilación, analizando su composición mediante cromatografía de gases.

Además se realizó un estudio en el cual se identificaron cinco especies del género *Piper* de las cuales cuatro son nativas y se distribuyen principalmente en Mesoamérica. En estas especies de *Piper* se identificaron monoterpenos como componentes mayoritarios y se observó que *P. auritum* y *P. hispidum* presentan mayor número de monoterpenos, seguido de *P. patulum*, *P. aeruginosibaccum* y *P. aduncum*. Mediante el tamizaje fitoquímico se identificaron flavonoides, saponinas, principios amargos, alcaloides y aceite esencial en todas las especies, cumarinas únicamente en *P. auritum*, y antraquinonas en muy poca cantidad en *P. auritum*, *P. asuncum*, *P. aeruginosibaccum* y *P. hispidum*. En esta investigación se evaluó la actividad biológica mediante el método de dilución y el método de difusión en disco, el cual resultó más efectivo en el caso de aceites esenciales. Se evaluó la actividad de los aceites esenciales contra bacterias y levaduras presentando actividad contra *Mycobacterium smegmatis* y *Bacillus subtilis* a una concentración menor de 0.1mg/ml, siendo *P. aeruginosibaccum* el que presenta mayor actividad. La evaluación contra *Candida albicans*, *Candida neoformans* y *Escherichia coli* no presentó crecimiento. En la actividad citotóxica se evaluaron los aceites esenciales a una concentración de 0.5mg/ml y se observó muerte total de

los nauplios de *Artemia salina* en cuatro de los aceites evaluados excepto en *P. auritum*. Los aceites esenciales de *Piper* también presentaron actividad contra *Anopheles albimanus* y *Aedes aegypti* a una concentración menor de 0.5mg/ml *Peperomia* (Rivera, 2008, p.5).

5.2. Generalidades de planta de estudio

Planta herbácea, principalmente, pero a menudo leñosa más o menos sobre la base, a veces suberecta y de 1,5 metros de altura o menos, de vez en cuando escandente, comúnmente procumbente y con enraizamiento en los nudos más bajos, las ramas de color verde pálido, más bien corpulentas, estriadas, glabras o puberulentas, muy oscuras, muy nudosas; pecíolos 1.5-2.5 cm. largo, corto hirsuto, vaginate sólo en la base, láminas foliares más bien delgada y flácidas, verde cuando se seca, cordadas-orbiculares u ovado-orbiculares, de 4-8 cm. de largo y 4-8.5 cm. de ancho, abruptamente agudo o acuminado corto-con una punta obtusa, profundamente y estrechamente cordadas en la base, hirsuto arriba a lo largo de los nervios, más pálido por debajo, hirsuto sobre los nervios y las venas, palmeado 7-nervada, minuciosamente pelúcida-punteada, minuciosamente negruzco puncticulado debajo; pedúnculos opuestos a las hojas, de 7-10 mm. De largo, corto o glabro (Standley & Steyermark, 1952, p.321).

5.2.1. **Distribución:** Se encuentran en bosquecillos húmedos o secos a 325 metros o elevaciones menores; endémica de Santa Rosa, Retalhuleu (tipo de la región de Las Delicias, sur de Retalhuleu, *Standley* 88047; en el Herbario del Museo Natural de Historia de Chicago)

5.2.2. **Usos medicinales tradicionales:** No se reporta

5.2.3. **Usos fitoquímicos:** Estudios recientes demuestran que posee concentraciones de diclorometano y también de nerolidol, un sesquiterpeno, aprobado por la US Food and Drug como saborizantes de alimentos (Cruz, 2012, p.41).

5.2.4. Elaboración de monografías herbolarias

Existen distintos tipos de monografías. En este caso se usará el modelo de la Farmacopea Europea. Los parámetros a incluir en estas monografías son los siguientes:

Droga cruda: se refiere a las drogas vegetales o animales que han recibido sólo el proceso de recolección y secado, para su posterior almacenamiento (Soler, 2005, p.6). La normalización de la droga cruda se refiere a elegirla por su interés comercial y terapéutico e incluye la definición de las características que han sido estandarizadas para la especie dentro de las que se incluyen morfológicas, anatómicas, químicas y biológicas, que aseguran la calidad de las mismas (Fernández, 2012).

Autenticación: Definición clara y científica. Las drogas vegetales son generalmente plantas enteras, fragmentadas o picadas, partes de plantas, algas, hongos, líquenes en un estado no procesado, generalmente en forma seca pero algunas veces fresca. De la planta debe establecerse la parte usada: tallo aéreo, rizoma, raíz, hoja, flor, parte de flores, inflorescencias, fruto, semilla, exudados. Las especificaciones se describen en el idioma nativo y en latín. Las especies vegetales utilizadas deben estar designadas por su nombre científico (en latín). La identificación se completa con el nombre de la familia botánica a la cual pertenece la planta. Además se debe indicar la cantidad estipulada de principio activo que la droga debe contener. Esto se hace con el objetivo de evitar falsificaciones (Sharapin, 2000, p. 21; Soler, 2005).

Identidad: Se refiere a la confirmación de la identidad del material vegetal. Puede hacerse por comparación del material con los especímenes de herbario de la empresa que manufactura el producto. En otros casos, la confirmación puede hacerse en la inspección visual o microscópica del material vegetal comparándolo con las monografías de la farmacopea o con literatura de estándares (Vasisht, 2005, p.3)

Características macro y microscópicas: El examen microscópico o análisis micrográfico a veces revela detalles significativos, no sólo para confirmar la identidad de la planta sino también para identificar la naturaleza de adulterantes mezclados, intencionalmente o no, en la droga. En muchas drogas, la descripción microscópica de la disposición característica de los diferentes tipos de tejidos, estomas, tricomas y/o fibras, brinda un medio valioso que asegura la calidad de la droga. En caso de drogas que contienen un número constante de algunos parámetros, por ejemplo granos de almidón, fibras o tricomas, la microscopía puede ser usada para propósitos cuantitativos. Las características macroscópicas comprenden la forma, el tamaño, el color, la textura, los aspectos de fractura y características de la superficie cortada. (Vasisht, 2005, p.3)

Características organolépticas: Se refiere a la evaluación de la droga por los sentidos del olor, sabor, tacto y a veces el sonido o chasquido que produce la fractura que pueden servir para las evaluaciones del

material vegetal. El color de la droga puede revelar información necesaria y valiosa sobre el manejo post cosecha. Las plantas secadas rápida y muy cuidadosamente retienen su color y frescura mientras que el follaje con sobresecado lo pone quebradizo. (Vasisht, 2005, p.4)

6. OBJETIVOS

GENERAL

- Determinar las características farmacobotánicas diagnósticas de la materia médica del *Piper retalhuleuense*.

ESPECÍFICOS

- Identificar los caracteres macroscópicos y microscópicos de la hoja y pecíolo de *Piper retalhuleuense*.
- Comparar y diferenciar las características diagnósticas anatómicas de *Piper retalhuleuense* con otras especies del género *Piper* nativas ya descritas.
- Identificar metabolitos secundarios en los tejidos vegetales de *Piper retalhuleuense*.
- Elaborar una cartilla micrográfica con los caracteres microscópicos y macroscópicos de *Piper retalhuleuense*.

7. HIPÓTESIS

Existen al menos dos diferencias diagnósticas que permiten identificar a nivel anatómico y morfológico a *Piper retalhuleuense* de las especies ya caracterizadas del mismo género.

8. METODOLOGÍA

8.1. DISEÑO

8.1.1. POBLACIÓN

Plantas de *Piper retalhuleuense* de la Ecoparcela El Kakawatal, Cantón Chiguaxté, Samayac, Suchitepéquez.

8.1.2. MUESTRA

5 hojas con pecíolo

8.2. TÉCNICAS A USAR EN EL PROCESO DE INVESTIGACIÓN

8.2.1. RECOLECCION DE DATOS

Colecta de Material Vegetal

Se colectó el material en la Ecoparcela El Kakawatal y se trasladó al invernadero del jardín botánico con el objeto de tener material fresco disponible para los cortes histológicos.

8.2.2. Análisis de Datos

Realización de Cortes histológicos

Para realizar los cortes histológicos de hoja y pecíolo se procedió de la siguiente manera:

- a) Cortes de hoja: se utilizaron trozos de duroport de aproximadamente 2x2 cm y se cortaron cuadrados de material vegetal en los que se incluye la vena central.
- b) Cortes de pecíolo: Se hicieron cortes en tres áreas: cerca de la unión con la lámina, en el medio y cerca de la base.

Después de esto, el material se colocó entre dos placas de duroport, se sostuvo fuertemente (ya acondicionado), y con la otra se deslizó de manera perpendicular una hoja de afeitar con el filo sin uso, mojando constantemente la superficie de corte con agua.

Con la ayuda de un pincel se colocaron los cortes obtenidos en una caja de petri que conteniente agua. Se seleccionaron los cortes más delgados y parejos, valiéndose de la ayuda de una lupa, se montaron con geletatina glicerina y se realizan mediciones. (Gattuso & Gattuso, 1999; Solís et al., 2004; Soler, 2005).

Técnicas Histológicas

Se aplicaron dos técnicas histológicas:

- a) Método de disociado débil: Se cortaron fragmentos muy finos de la hoja y se colocaron en un beaker con solución de hidróxido de sodio al 5%. Se hirvieron durante 5min. Se lavaron con agua destilada hasta que el líquido quedó limpio. El material se colocó con ayuda de una aguja sobre el portaobjetos y se disgregó con la ayuda de la aguja. Se tiñó con safranina al 1% y floroglucinol, se montaron con gelatina-glicerina, se cubre con un cubreobjetos, se observó al microscopio, se etiquetaron los portaobjetos y por último se tomaron fotos del disociado. (Gattuso & Gattuso, 1999; Solís et al., 2004; Soler, 2005).

b) Diafanizado: Se utilizó una mezcla entre el procedimiento de diafanizado y el de semidiafanizado. Seleccionando el material se colocó en un beaker de precipitado con una mezcla de alcohol al 96° e hidróxido de potasio al 5 % en partes iguales y se colocó en una estufa a 60° C durante media hora.

Se pasa con mucha precaución el material a una caja de petri que contenía hipoclorito de sodio al 50%, y se deja hasta que quedó blanco-transparente. Posteriormente se dejó en hidrato de cloral (5:2) hasta que el material se tornó transparente y al el material así obtenido se le realiza una coloración con Safranina al 1% en agua, se montaron con gelatina-glicerina, se etiquetaron las muestras, se observaron las características del material en un microscopio óptico y se tomaron fotos. (Gattuso & Gattuso, 1999)

Pruebas Histoquímicas.

Dependiendo de la sustancia que se deseaba identificar se realizó lo siguiente:

a) Alcaloides: Colocar los cortes sobre el portaobjetos, agregar una gota de Dragendorff y dejar actuar durante unos minutos. Ante la presencia de alcaloides aparecerá un precipitado rojo ladrillo.

b) Aleuronas: Colocar cortes muy delgados sobre el portaobjeto, agregar una gota de Naranja G. Los cristaloides de aleurona se tiñen de color rojo-anaranjado mientras el globoide va desapareciendo poco a poco.

c) Almidón: Colocar el corte en el portaobjetos, agregar una gota de Lugol. El almidón se colorea de azul o azul-violáceo.

d) Grasas y Aceites: Colocar cortes delgados en el portaobjeto, agregar una gota de Sudan III o Sudan IV y dejar actuar durante 10 minutos, lavar rápidamente con alcohol de 70°. Las grasas y los aceites se tiñen de color rojo así como también la cutina y la suberina.

e) Lignina: Colocar el material sobre el portaobjeto y agregar una gota de floroglucina, colocar el cubreobjeto y flamear suavemente. Retira de la llama y colocar por el borde del cubreobjetos una gota de ácido clorhídrico al 25%, al ponerse en contacto con las paredes con lignina, se colorean de rojo.

f) Mucilagos: Colocar los cortes en el portaobjetos, agregar una gota de Azul de Cresil al 1%. Los mucilagos dan una coloración Azul Francia.

g) Saponinas: Colocar los cortes sobre un portaobjeto, agregar una gota de Ácido sulfúrico concentrado. Los cortes toman, por la presencia de las saponinas, primero una coloración amarilla, a los 30 minutos rojo y finalmente violeta o azul-verdoso.

h) Taninos: Colocar los cortes sobre el portaobjetos, agregar una gota de sulfato férrico, dejar actuar de 2-3 minutos, lavar con agua destilada. Los taninos dieron una coloración azul verdosa. (Gattuso & Gattuso, 1999)

Descripción

Se describieron las principales características de las células y se realizaron mediciones para comparar tanto las características como las medidas con las de otras especies previamente descritas.

Medición

Para la medición de las estructuras vegetales se utilizó un ocular micrométrico y un micrómetro objetivo.

8.2.3. Instrumentos utilizados para la obtención de datos

8.2.3.1. Equipo

- GPS
- Hielera
- Secadora
- Estufa
- Estereoscopio
- Microscopio óptico
- Cámara digital

8.2.3.2. Materiales

- Bolsas Ziploc
- Tijeras de podar
- Libreta de campo
- Lápiz
- Prensa
- Cartones corrugados
- Papel periódico
- Marcador permanente
- Lupa de poco aumento
- Papel limpiantes
- Papel filtro

- Papel mayordomo
- Micrómetro ocular
- Micrómetro objetivo

8.2.3.3. Cristalería

- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Vidrios de reloj
- Varillas de vidrio
- Frascos goteros color ámbar
- Vasos de precipitado de 50 y 100 mL
- Frascos de vidrio
- Tubos de ensayo
- Hojas de afeitar
- Pincel
- Agujas de disección

8.2.3.4. Reactivos

- Alcohol al 70 y 95%
- NaOH y KOH al 5%
- KOH al 10%
- Agua destilada
- Hipoclorito de Sodio al 50%
- Safranina al 1% Gelatina-Glicerina
- Ácido crómico al 25%
- Lugol
- Dragendorff
- Sudan IV
- Sulfato Férrico
- Azul de Cresil
- Naranja G
- Ácido Sulfúrico
- Hidrato de Cloral
- Safranina 1%

9. RESULTADOS

Hojas de *Piper retalhuleuense*

Definición

Consiste en las hojas frescas o secas de *Piper retalhuleuense* Trel. & Standl (*Piperaceae*).

Sinónimos

Ninguno.

Nombres comunes selectos

Corrimiento.

Distribución geográfica

Matorrales húmedos o más secos o bosques de tierras bajas, 325 metros o menos; endémica de Santa Rosa, Retalhuleu. (Standley & Steyermark, 1952, p. 321)

Descripción

Es una planta principalmente herbácea, pero a menudo leñosa más o menos sobre la base, a veces subrecta y de 1,5 metros de altura o menos, de vez en cuando escandente, comúnmente procumbente y con enraizamiento en los nudos más bajos, las ramas de color verde pálido, más bien corpulentas, estriadas, glabras o puberulentas, muy oscuras y nudosas; con pecíolos de 1.5-2.5 cm de largo. Las láminas foliares son más bien delgadas y flácidas, verdes al secarse, cordadas-orbiculares u ovado-orbiculares, de 4-8 cm. de largo y 4-8.5 cm de ancho. El ápice es abruptamente agudo o acuminado corto con una punta obtusa, la base es profunda y estrechamente cordada. Las hojas son hirsutas en el haz a lo largo de los nervios, más pálidas en el envés, son palmeadas con 7 nervaduras, minuciosamente pelúcido-punteadas, minuciosamente negruzco punteadas en el envés; los pedúnculos son opuestos a las hojas, de 7-10 mm de largo, glabros. (Standley & Steyermark, 1952, p. 321).

Material vegetal de interés: Hojas frescas o secas.

Apariencia General

De acuerdo a la tabla de colores de Methuen presenta hojas verde amarillento 2F8 en el haz y 2F5 en el envés (Anexo No.2)(Kornerup & Wanchester, 1978, p. 190) , de 4-8 cm largo y 4-8.5 cm ancho, cordadas-orbiculares u ovado-orbiculares, ápice abruptamente agudo o acuminado corto con una punta obtusa, base es profunda y estrechamente cordada, 7 nervaduras, minuciosamente pelúcido-punteadas, minuciosamente negruzco punteadas en el envés; pecíolos de 1.5 - 2.5 cm. de longitud, corto, hirsuto, vaginado sólo en la base (Standley & Steyermark, 1952, p. 321).

Características organolépticas

Olor: Característico, ligeramente a aromático similar al de *Ocimum sanctum* L.; sabor: ligeramente astringente.

Características Microscópicas

Corte transversal por lámina foliar y peciolo

La epidermis adaxial, uniestratificada está formada por células cúbicas de márgenes rectilíneos, con una cutícula delgada y lisa. La epidermis abaxial uniestratificada está constituida por células cúbicas de márgenes rectilíneos y la cutícula posee un grosor similar al de la cara adaxial. Las células de ambas epidermis presentan diferentes tamaños a lo largo del limbo foliar. Se observa una capa subepidérmica uniestratificada formada por células cúbicas tanto en la región adaxial como en la abaxial a todo lo largo del limbo foliar, siendo más largas que anchas en la región abaxial. (Figura No.1, A). En la región cercana a la vena central, la epidermis consta de 2 estratos, y en la vena central adopta un aspecto conspicuamente ondulado y las células son más pequeñas que el resto de la lámina. (Figura No.1, B.)

El mesófilo dorsiventral y bifacial es delgado, donde se observa parénquima en empalizada uniestratificado, de células largas, delgadas y ligeramente curvadas. El parénquima esponjoso está formado por 2-3 capas de células isodiamétricas de disposición irregular con mucho espacio aéreo entre este tejido y la epidermis (Figura 1, A; Figura 3, D). La región de la vena central presenta colénquima angular de 3 capas de grosor en la región adaxial y 3 capas en la abaxial (Figura 1, B, Figura 3, F). El haz vascular es de tipo colateral rodeado por una vaina esclerenquémica discontinua. No presenta cristales con drusas o rafidios ni glándulas de aceite únicamente espacios esquizogénicos.

El pecíolo, cortado transversalmente en tres áreas diferentes muestra una forma circular. La epidermis uniestratificada, con un indumento abundante, está formada por células cúbicas que poseen una capa gruesa de cutícula. Se observan tricomas tectores pluricelulares largos, rectos, ápice agudo, de 6-11 (8.5) segmentos alrededor de todo el pecíolo. Debajo de la epidermis hay una capa subepidérmica, uniestratificada, muy delgada. Los haces colaterales están organizados de forma concéntrica rodeados por una vaina esclerenquimática discontinua con las mismas características observadas en la lámina. En el parénquima fundamental se observa una capa discontinua de colénquima lagunar de 4-5 estratos celulares. El pecíolo posee además, una capa de parénquima clorofiliano próximo a la epidermis (Figura No.1, C).

Vista en Superficie de la Lámina

Superficie foliar. En vista superficial las células de la epidermis abaxial son poligonales y de contorno rectilíneo. Próximo al nervio medio, las células son poligonales, alargadas y con márgenes pronunciadamente rectilíneos. La lámina foliar es hipoestomática, posee estomas tetracíticos (Figura 1, D; Figura 3, C). En la epidermis abaxial y adaxial se observan dos tipos de tricomas: a) tector pluricelular largo, el cual es recto, de ápice agudo, 5-12 (8) segmentos (Figura 3, A) y de 120-190 (143.57) y b) Tricoma glandular, unicelular, lageniforme.

Arquitectura foliar

Hojas de venación Broquidrodroma-Capdodroma, de las venas secundarias se irradian venas terciarias perpendiculares. Las venas terciarias se dividen en venas cuaternarias, que forman areolas con vénulas que se ramifican unas 1-2 veces (Figura 1, F; Figura 3, B).

Disociado de la hoja

En el disociado de la hoja se puede observar: los tricomas descritos en la sección anterior; restos de tejido epidérmico abaxial y adaxial y elementos de los vasos con engrosamiento helicoidal (Figura 1, H., Tabla No.2).

Tabla No.1 Características anatómicas de *Piper retalhuleuense*

Estructura	Hoja	Pecíolo
Epidermis (adaxial y abaxial)	Uniestratificadas	Uniestratificadas
Colénquima	Presente de tipo angular en la vena central: 2 estratos en la epidermis adaxial, 3 estratos en la epidermis abaxial.	Presente de tipo lagunar: 4 a 5 estratos
Clorénquima	Una capa de parénquima en empalizada, de 2-3 capas de parénquima esponjoso	Presente con un estrato de parénquima debajo de la hipodermis
Tricomas	Presentes de tipo pluricelular y glandulares unicelulares, lageniformes.	Presentes de tipo pluricelular , glandulares ausentes
Haces vasculares	Colaterales	Colaterales

Fuente: Datos Experimentales

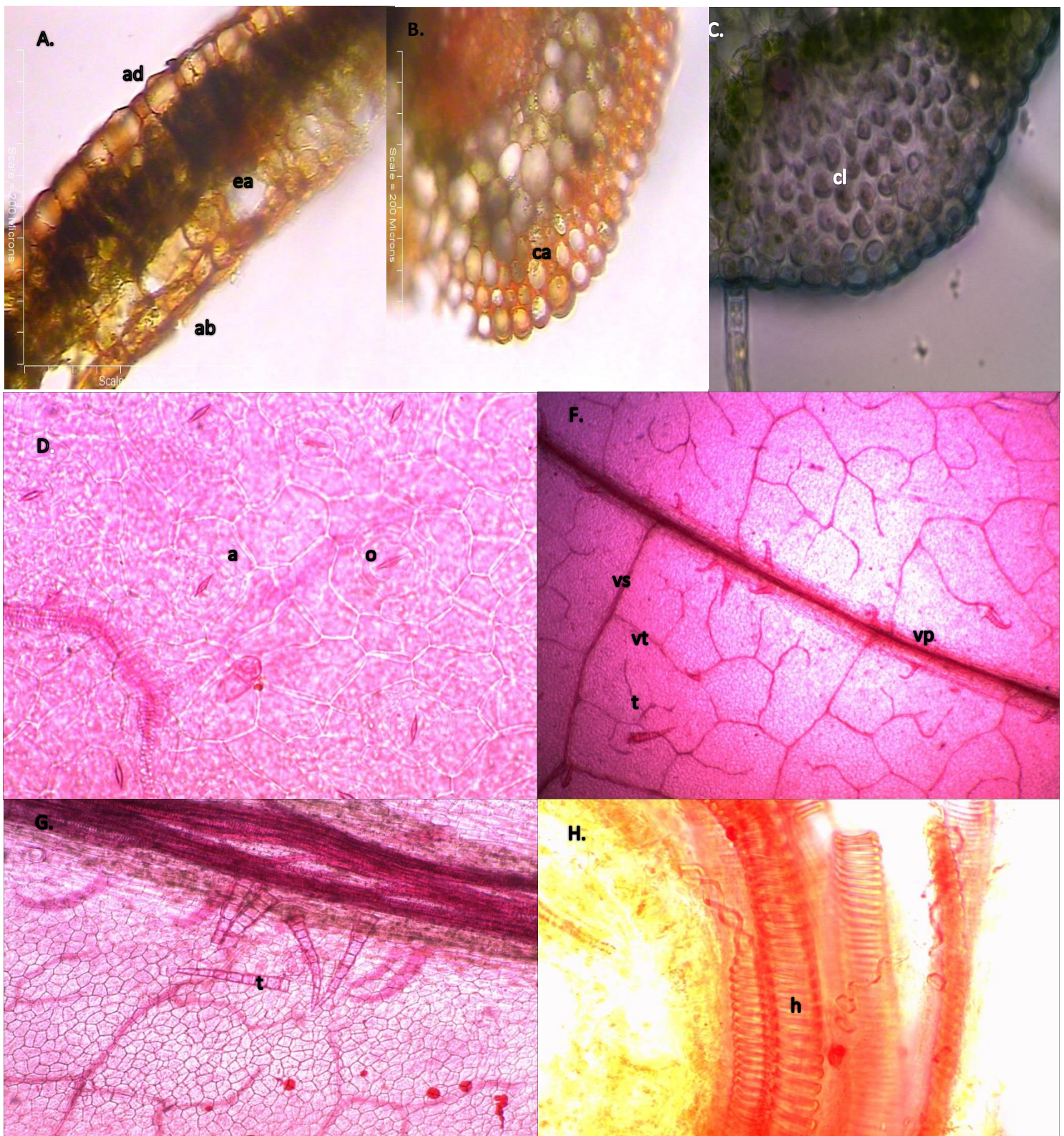


Figura 1. Micrografía de *P. retalhuleuense*. A. Corte transversal de Hoja en el que se observa la epidermis adaxial y abaxial (40x) B. Vena Central con estratos de colénquima angular (40x) C. Corte transversal del Pecíolo en el que se observa el colénquima lagunar (40x). D. Tricomas tetractínico (40x). E. Arquitectura foliar (10x). F. Tricomas multicelulares de tipo tector (10x). G. Elementos de los vasos con engrosamiento helicoidal y anular (40x). **Abreviaturas:** **a:** célula acompañante; **ab:** Epidermis abaxial; **ad:** epidermis, adaxial; **ca:** colénquima angular; **cl:** colénquima lagunar; **ea:** Espacio aéreo; **h:** Elemento de los vasos helicoidal, **o:** célula oclusiva; **t:** tricoma tector pluricelular; **vp:** Vena principal; **vt:** Vena terciaria. **Fuente:** Datos Experimentales.

Test General de Identidad

Se evaluaron a nivel microscópico las siguientes pruebas de identidad:

Tabla No.2 Pruebas Histoquímicas para la detección de sustancias en *Piper retalhuleuense*

Prueba	Hoja	Pecíolo
Alcaloides	+	+
Aleuronas	-	-
Almidón	-	+
Grasas y Aceites	+	+
Lignina	-	-
Mucilagos	-	-
Saponinas	-	-
Taninos	-	-
Taninos	-	-

Fuente: Datos Experimentales

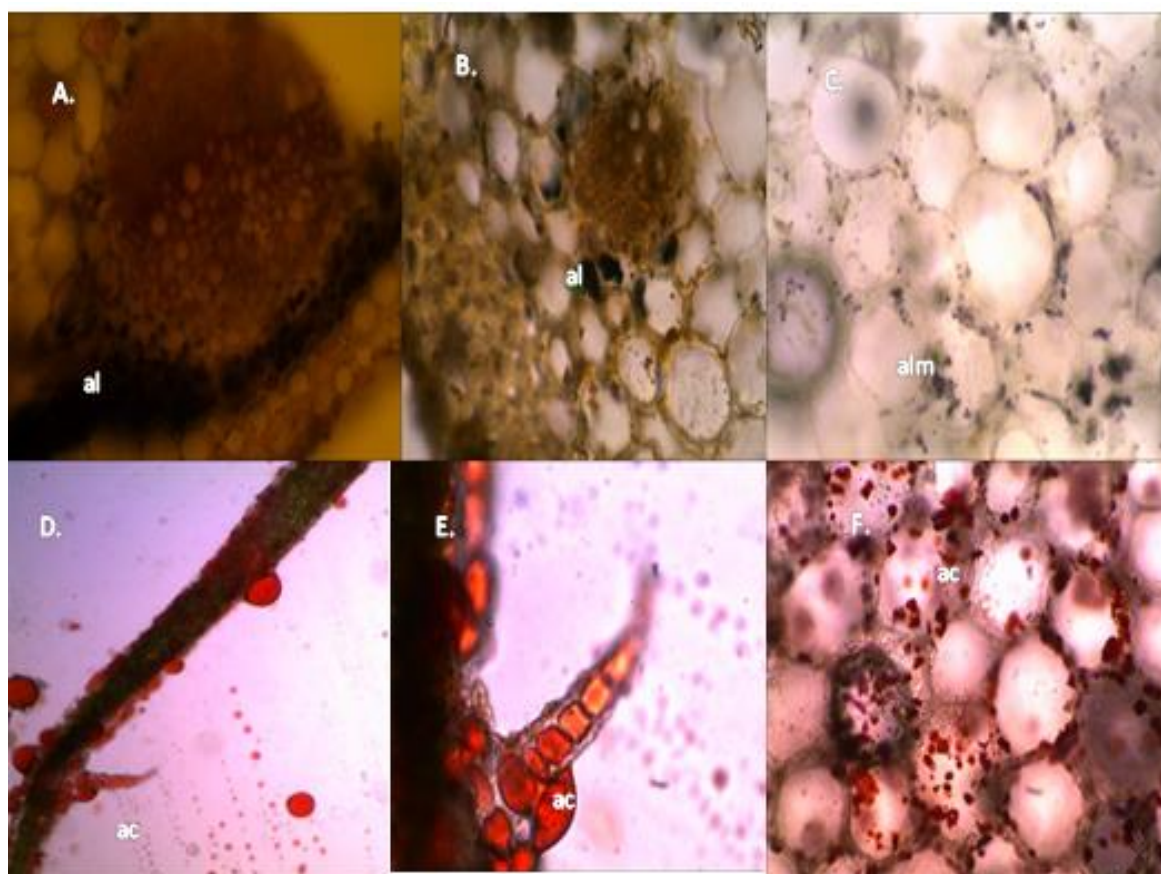


Figura 2. Resultados Positivos de Pruebas Histoquímicas de *P. retalhuleuense*. **A.** Corte transversal de Hoja mostrando positiva la prueba de alcaloides (40x). Tinción: Dragendorff. **B.** Corte transversal de Pecíolo mostrando positiva la prueba de alcaloides (40x). Tinción: Dragendorff. **C.** Corte transversal de Pecíolo de mostrando positiva la prueba de almidón (40x). Tinción: Lugol. **D.** Corte transversal de Hoja de mostrando positiva la prueba de grasas y aceites (10x). Tinción: Sudan III. **E.** Corte transversal de Hoja de mostrando positiva la prueba de grasas y aceites (40x). Tinción: Sudan III. **F.** Corte transversal de Pecíolo mostrando positiva la prueba de grasas y aceite (40x). Tinción Sudan III. **Abreviaturas:** ac: aceites, al: alcaloides, alm: almidón. **Fuente:** Datos Experimentales.

CARTILLA MICROGRÁFICA

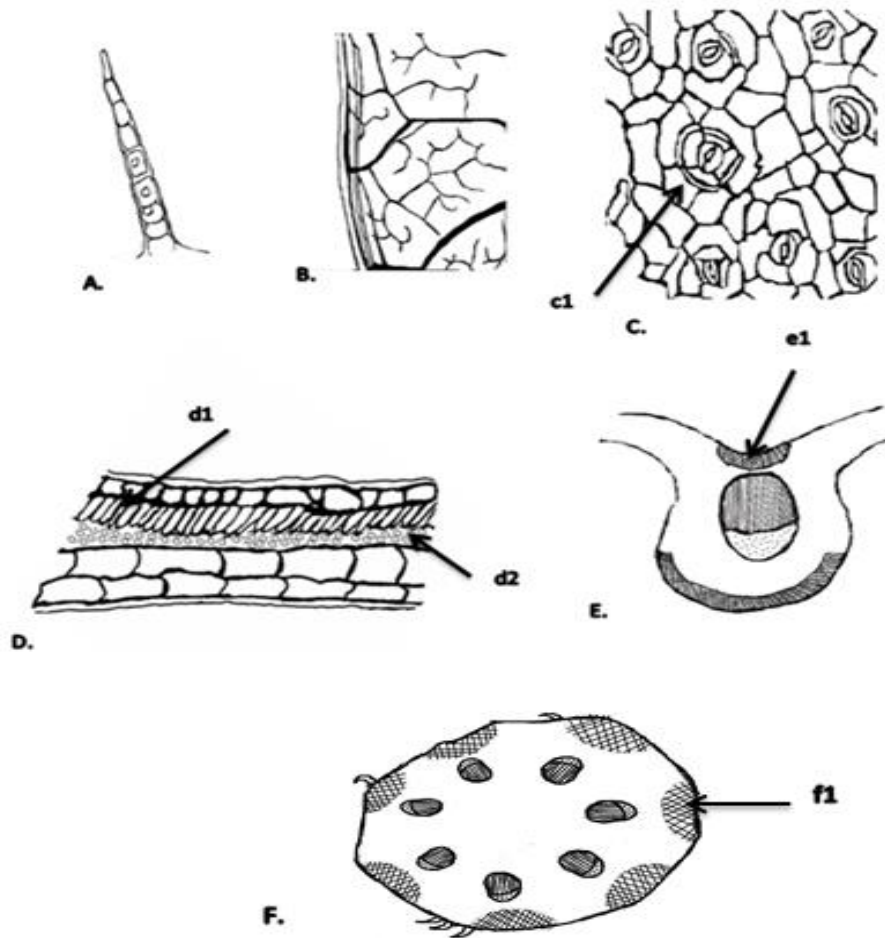


Figura 3. *Piper retalhulense* Trel. & Standl. (Piperaceae). A. Tricoma tector pluricelular; B. Arquitectura Foliar; C. Vista superficial abaxial (c1: estoma tetracítico); D. Corte transversal de la lámina (d1: parénquima en empalizada, d2: parénquima esponjoso); E. Corte transversal de la Vena Central (e1: Colénquima angular); F. Corte transversal de peciolo (Colénquima lagunar).

10. DISCUSIÓN

A nivel microscópico existen características que han sido reportadas como comunes para distintas especies del género *Piper*. La epidermis uniestratificada, el mesófilo dorsiventral, hipoestomático, estomas tetracíticos, colénquima angular, haz vascular de tipo colateral y estructuras secretoras son algunas de estas características (Albiero, et al., 2006, p. 382.; Metacalfe & Chalk, 1950, p.10; Solerender, 1908, p.689, 695). *P. retalhuleuense* concuerda con este perfil común en otras especies del mismo género. Una característica sobresaliente es la presencia de colénquima lagunar en el peciolo siendo habitual la presencia de colénquima angular.

Los tricomas más frecuentes encontrados en *Piper* son los tricomas tectores y los tricomas glandulares, de los cuales existen varios tipos (Nascimento y Vilhena-Potiguara, 1999, p. 1; Souza et al, 2004, p. 14; Albiero, et al.,2006 , p. 379).En el caso de *P. retalhuleuense* los tricomas son pluricelulares largos, rectos, ápice agudo y los tricomas glandulares son unicelulares y lageniformes. La presencia de los mismos varía mucho y si esta variable se combina con su distribución espacial en ambas caras del limbo foliar, se constituye como una característica de para distinguir especies entre género (Alvarez, 2012, p.29). Ambos tipos de tricomas están presentes en la cara adaxial y abaxial. Los tricomas pluricelulares se encuentran en mayor cantidad en los nervios que en el resto de la superficie foliar y son de menor tamaño en esta. Los tricomas unicelulares lageniformes están presentes en toda la superficie y ausente en los nervios.

P. retalhuleuense no presenta cristales, rafidios o células de mucilago lo que constituye una característica importante dado que al menos uno de estos están presentes en varias especies: *P. betle*, *P. diospyrifolium*, *P. adumcum*, *P. hispidinervium*, entre otras (Arambarri, et al., 2009, p. 22; Santiago et al., 2001, p. Seetha & Naidu, 2010, p. 130; Souza, 2004, p. 11).

A nivel histoquímica existen pocos estudios con los que se puede comparar, *P. retalhuleuense* dio resultados positivos para alcaloides y aceites en la hoja y para alcaloides, aceites y almidón en el peciolo (Ver tabla No.2, Resultados). *P. regnelli* es positivo para aceites en la hoja y para almidón y aceites en el peciolo (Pessini, et al., 2003, p.215)

A nivel macroscópico las características más importantes son la forma de las hojas acorazonada, aunque presentan cierta similitud con las de *P. betle* especie cultivada en la India (Seetha & Naidu, 2010, p.3). También se puede mencionar la coloración verde amarillento.

11. CONCLUSIONES

1. Las características diagnosticas de *P. retalhulense* a nivel microscópico fue la presencia de colénquima lagunar en el peciolo y la ausencia de cristales con drusas o rafidios.
2. Otro carácter distintivo es el tipo y disposición de los tricomas.
3. *Piper retalhuleuense* presenta las características microscópicas comunes del género *Piper*.

12. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios fitoquímicos para completar la información farmacognostica de la especie permitiendo un mejor control de calidad y su ingreso a una farmacopea.
2. Estudiar la ontogenia de los tejidos de la especie, particularmente en lo que se refiere a la epidermis para conocer su origen.

13. REFERENCIAS

1. Alvarez, L. (2012). Establecimiento de los patrones de identidad farmacobotánico de siete especies del género Piper (Piperaceae) del banco de germoplasma de la Ecoparcela el Kakawatal, Samayac, Suchitepéquez. (Tesis de Licenciatura, Biología). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia USAC. Guatemala. 131p.
2. Albiero, A., Paoli, A, Souza, L., & Mourão, K. (2006). "Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de Piper hispidum Sw. (Piperaceae)". Brazilian Journal of Pharmacognosy 16: 379-391.
3. Arambarri A, Freire, S. Bayón,N., Colares M. , Monti,C., Novoa, M. & Hernández, M. (2009). Micrografía foliar de arbustos y pequeños árboles medicinales de la Provincia Biogeográfica de las Yungas (Argentina). Kurtziana 35 (1): 15-45.
4. BASF. (2013). The Quemical Company. Germany. Consultado el 20/3/13. Disponible en: <http://www.basf.com/group/corporate/en/brand/NEROLIDOL>
5. Cruz, S. Cáceres, A., Álvarez, LE Apel, M y Henriques, A. (2012). Chemical Diversity of Essential Oils Of 15 Piper Species from Guatemala. Acta Hort. (ISHS) 964:39-46 , http://www.actahort.org/books/964/964_4.htm
6. Departamento de Vida Silvestre. (2001). Lista Roja de Especies de Flora. Guatemala: Consejo Nacional de Aéreas Protegidas. 4 p.
7. Fernández M. (s.a.). Introducción del programa a la asignatura de Farmacognosia. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Navarra, España. Disponible en: <http://www.unav.es/farmytec/farmacognosia/default.html>
8. Ferreira, F.M. (2012). Nerolidol effects on mitochondrial and cellular energetics. Toxicol In Vitro. 26(2): 189-96
9. Gattuso, A. & Gattuso, S. (1999). Manual de Procedimientos para el Análisis de Drogas en Polvo. Argentina: CYTED, UNR Editora. 12 p
10. Granados, N. (2007). Establecimiento de los patrones de identidad farmacognóstica de Neurolaena lobata (L.) R. Br. ex Cass a partir de las características anatómicas de seis poblaciones silvestres. Tesis para optar al título de Biologo. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

11. Kornerup, A. & Wanchester, J. (1978). Methuen Handobook of Colour. London: E. Methuen.
12. Martínez, J., Cáceres, A. & García, C (2004). Cosecha y postcosecha de plantas medicinales: Zarzaparilla (*Smilax domingensis*), Calahuala (*Phlebodium pseudoaureum* (Cav.) y Orégano (*Lippia graveolens* HBK). Facultad de Agronomía, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
13. Metcalfe, C. & Chalk, L. (1950). Anatomy of Dicotyledons. UK: Clarendon Press Oxford.
14. Nascimento, M. & Vilhena-Potiguara, R. (1999). "Aspectos anatômicos dos órgãos vegetativos de *Piper hispidinervium* C.DC. (Piperaceae) e suas estruturas secretoras". Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, série Botânica 15: 39-104.
15. Pessini, G., Albiero, A. & Mourão, K. (2003). Análise farmacognóstica de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallenscens* (C. DC.) Yunck.: Aspectos botânicos e enfoque físico-químico preliminar. Acta Farm. Bon., 22, p.209-216.
16. Rivera, D. (2008). Caracterización de aceites esenciales por cromatografía de gases de tres especies del género *Piper* y evaluación de la actividad citotóxica. Tesis para optar al título de Química Farmaceutica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
17. Seetha L. & Naidu, K (2010). Comparative Morphoanatomy of *Piper betle* L. Cultivars in India, Annals of Biological Research, 1(2), pp. 128-134.
18. K. Vasuki, R. Senthamarai, T. Shri Vijaya Kirubha, P. Balasubramanian and S. Selvadurai, "Pharmacognostical Studies on Leaf of *Piper betle*," Der Pharmacia Lettre, 3 (5), 2011, pp. 232-235.
19. Santiago, E., Pinto, J.; Castro, E., Lameira, O., Conceição, H. (2001). Aspectos da anatomia foliar da pimenta-longa (*Piper hispidinervum* C.DC.) sob diferentes condições de luminosidade. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, 25(5) , p. 1035-1042
20. Soler BA. Farmacognosia. (2005). Guatemala: USAC. Doc. Tec. MUPLAM: Curso de Farmacognosia y Control de Calidad 6p.
21. Solerender, H. (1908). A systematic Anatomy of Dicotyledons. UK: Clarendon Press Oxford
22. Solís, P.N., Guerrero, N., Gattuso, M., & Cáceres, A. (2004). Manual de caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos. (s.l.): Organización de los Estados Americanos.
23. Soler BA. Farmacognosia. (2005). Guatemala: USAC. Doc. Tec. MUPLAM: Curso de Farmacognosia y Control de Calidad 6p.
24. Souza, L., Moscheta, I. & Oliveira, J. (2004), Comparative morphology and anatomy of the leaf and stem of *Peperomia dahlstedtii* C.DC., Ottonia

- martiana Miq. and Piper diospyrifolium Kunth (Piperaceae). *Gayana Bot.*, 61, 6-17.
25. Sharapin, N. (2000). Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. 1era. Edición. Colombia. 179-189, 198-204, 247 P.
 26. Standley, P. & Steyermark, J. (1952). Flora of Guatemala. *Fieldiana: Botany* 24:275337.
 27. Vasisht, K. (2005). Standarization of Herbal Medicine. Guatemala: Doc. Tec. Production and Quality Evaluation of Medicinal and Aromatic Plants, 11p.

14. ANEXOS

Anexo No.1: Resumen de Investigación

Patrones de Identidad Farmacobotánica de *Piper retalhuleuense* Trel. & Standl

Barrios, Angela¹, Rosales, Carolina².

¹Programa de Experiencias Docentes con la Comunidad -EDC-, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC, ²Jardín Botánico del Centro de Estudios Conservacionistas, USAC (k_o35@hotmail.com)

Palabras Clave: *Piper retalhuleuense*, estomas, colénquima lagunar, aceites.

Resumen: Debido a la escasa información y a la importancia *P. retalhuleuense* Trel. & Standl como planta potencialmente medicinal endémica de Guatemala, se realizó la microscopía de los órganos vegetativos de esta especie y su descripción macroscópica, con el objetivo de identificar caracteres diagnósticos a nivel micro y macroscópico que puedan utilizarse para diseñar cartillas micrográficas que describan con claridad a la especie y que sirvan para diferenciarla de otras, debido a que existe una gran semejanza morfológica entre las especies del género *Piper*. En este estudio se detectaron tres caracteres diagnósticos: La ausencia de cristales con drusas o rafidios, la presencia de colénquima lagunar en el pecíolo y el tipo y la disposición de los tricomas. Así mismo la presencia de aceites esenciales y alcaloides que deben confirmarse con análisis fitoquímicos completos.

Anexo No.2. : Materia médica seca de *P. retalhuleuense*



Figura 1. Haz . Muestra color verde amarillento 2F8.



Figura 2. Envés. Muestra color verde amarillento 2F8.