

230



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

“CARACTERIZACION HISTOLOGICA DE LA FLOR DE MANTITA *Chiranthodendron pentadactylon* LARR (STERCULIACEAE) USADA EN MEDICINA TRADICIONAL”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

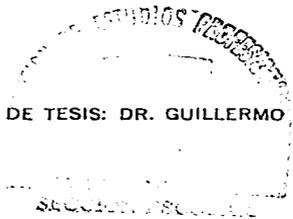
B I O L O G A

P R E S E N T A :

JUANA EDITH ZARATE RODRIGUEZ



DIRECTOR DE TESIS: DR. GUILLERMO LAGUNA HERNANDEZ



2002

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

DRA. MARÍA DE LOURDES ESTEVA PERALTA

**Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias**

Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito:

"Caracterización histológica de la flor de manita Chiranthodendron
pentadactylon Larr. (Sterculiaceae) usada en medicina tradicional"

realizado por Juana Edith Zárate Rodríguez

con número de cuenta 9210750-0, quien cubrió los créditos de la carrera de:
Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

A t e n t a m e n t e

Director de Tesis
Propietario

Dr. Guillermo Laguna Hernández.

Guillermo Laguna Hernández

Propietario

Dra. Alicia Enriqueta Brechú Franco.

Alicia Enriqueta Brechú Franco

Propietario

M. en C. Rosenda Margarita Ponce Salazar.

Rosenda Margarita Ponce Salazar

Suplente

Dra. María Cristina Pérez-Amador y Barrón.

María Cristina Pérez-Amador y Barrón

Suplente

M. en C. Armando Gómez Campos.

Armando Gómez Campos

FACULTAD DE CIENCIAS
U. N. A. M.

Consejo Departamental de Biología

Juan Manuel Rodríguez Chávez
M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez.



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

A mi abuelita,
quien me ha dedicado su amor, comprensión, paciencia y cuidados
y a quien debo mucho de lo que soy.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Guillermo Laguna Hernández por la dirección de la presente tesis y por su amistad. A mis sinodales Dra. Alicia Brechú Franco, a la M. en C. Margarita Ponce Salazar, a la Dra. Ma. Cristina Pérez-Amador y Barrón y al M. en C. Armando Gómez Campos por sus valiosas correcciones y aportaciones para mejorar el presente manuscrito.

Al Dr. Xavier Lozoya Legorreta, del Instituto Mexicano del Seguro Social, por el apoyo otorgado durante la realización de esta tesis.

A todos los miembros del laboratorio "Desarrollo en plantas", donde se realizó este trabajo, porque enriquecen y amenizan el trabajo en él. Particularmente a la Dra. Margarita Collazo Ortega por su cariño y buena disposición y ánimo para ayudar. Al M. en C. José Gonzalo Ricardo Wong por las observaciones que hizo en el contenido del trabajo.

A la Q. A. Verónica Muñoz Ocotero por su amistad y la asesoría en la parte fitoquímica del trabajo.

Al Biól. Alfredo Gamboa Romero por su paciencia e interés en la toma de las fotografías que ilustran este trabajo. A la M. en C. Silvia Espinosa Matías por las facilidades otorgadas en la toma de fotografías de MEB.

Al M. en C. Erick Estrada Lugo por ser un gran amigo, por encaminarme en el estudio de las plantas medicinales y por compartir conmigo su visión cosmogónica de la vida.

A mis compañeros de la generación y anexos, Claus, Joss, Carlitos, Normita, José, Angélica, Pancho, Claudia, Benis, Chucho y Lalo, por su apoyo y amistad.

A *la banda* por sus insistentes ánimos, especialmente a Llu y Uli por el cariño que se tienen y transmiten, a Kary por su amistad, a Go por su buen sentido del humor, a Ric por su bigotona presencia, a Flo y Bibi por su sudamericana forma de ser, y a Guille por su contagioso dinamismo.

A Alejandro Ramos porque siempre ha confiado en mí, a Xavier Valencia por ser el mejor "bichito" del planeta, a Rodolfo Zamudio por su cariño.

A mi mamá, mis tíos Lourdes, Lucio y Chóforo, porque siempre han estado conmigo. A mi hermana Martha y a mis sobrinos, por sus risas y alegría.

A ti...

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
ANTECEDENTES.....	7
◇ Taxonomía.....	7
◇ Descripción de la familia Sterculiaceae.....	7
◇ Características de <i>Chirantodendron pentadactylon</i> Larr.....	8
◇ Sépalos.....	13
◇ Néctar y nectarios.....	14
◇ Farmacognosia.....	16
OBJETIVOS.....	25
MÉTODO.....	27
RESULTADOS.....	33
◇ Caracterización histológica de los sépalos.....	33
Sépalos no herborizados.....	33
Sépalos herborizados.....	57
◇ Identificación de los sacáridos de las cavidades de los sépalos.....	67
DISCUSIÓN.....	71
CONCLUSIONES.....	81
LITERATURA CITADA.....	83

RESUMEN

La herbolaria es un recurso muy utilizado en los sistemas de salud que están creciendo rápidamente y de gran importancia económica.

La farmacognosia tiene como objetivo estudiar las sustancias medicamentosas de origen natural. Uno de los aspectos que contempla es el histológico vegetal, donde la importancia de realizar la caracterización del fitofármaco, es con la finalidad de regular la calidad de los medicamentos herbarios. La identificación de las drogas vegetales depende de la plena identificación de las plantas productoras, lo cual es posible gracias a que existen estructuras celulares que son características de una especie vegetal y que son reconocibles en cortes histológicos o en polvos de la droga.

Chiranthodendron pentadactylon es un árbol medicinal, cuyas flores son utilizadas por su efecto cardiotónico. Los estudios realizados en la especie no han abordado el aspecto anatómico vegetal, por lo que el presente estudio aporta características histológicas distintivas de la especie.

Los resultados obtenidos muestran que los sépalos están constituidos por una epidermis uniestratificada en ambas caras, pero la adaxial es más gruesa. La cara abaxial presenta abundantes tricomas estelados y la adaxial solo en los márgenes.

En el tejido nectarífero, se encontraron tricomas glandulares pluricelulares y bicelulares. Éstos últimos no habían sido descritos para la familia. En esta región, el parénquima secretor se caracterizó por los materiales que almacena y la distribución de los mismos.

El parénquima estructural contiene canales grandes y abundantes que muestran aspecto diferente en su interior por acción de las distintas técnicas de inclusión y de tinción utilizadas, y que además contienen azúcares y pectina. Por cromatografía bidimensional, se determinó que las cavidades almacenan una sustancia viscosa que contiene fructuosa y sacarosa en la base del sépalo y, en menor cantidad, glucosa en el resto del sépalo. No presenta azúcares característicos un mucilago. Por lo anterior, se sugiere que la sustancia viscosa podría estar relacionada con el néctar de la flor.

INTRODUCCIÓN

En México, existe una gran diversidad vegetal, determinada por su situación geográfica y por la heterogeneidad de condiciones fisiográficas, geológicas y climáticas que en sus múltiples combinaciones la originan. Además de estas características, en el país se distribuyen 56 grupos étnicos en todos los biomas y cada uno en su medio aprovecha los recursos naturales disponibles para satisfacer sus necesidades (Estrada, 1985). Tal es el caso de las plantas medicinales, utilizadas desde la aparición del hombre y cuyo conocimiento práctico de su uso ha sido transmitido de generación en generación por diversos medios.

La herbolaria, como se conoce a la práctica terapéutica que utiliza plantas medicinales, continúa vigente y tiene gran arraigo en nuestro país. Las plantas medicinales aún constituyen el recurso más conocido y accesible para grandes núcleos de la población mexicana. La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce el valor de esta práctica terapéutica y le otorga gran importancia en los esquemas o sistemas públicos para la salud en los países en desarrollo (OMS, 1996).

El número estimado de plantas medicinales en México, lo ubican en el quinto lugar a nivel mundial, con 3352 especies distribuidas en 1214 géneros y 166 familias de plantas vasculares (Bye, *et al.*, 1992), de las cuales no se ha estudiado ni siquiera el 10% desde el punto de vista químico, farmacológicamente son menos del 5% y agrónomicamente ni siquiera el 1% (Estrada, 1995).

El gran incremento en el uso de plantas con fines medicinales, ha provocado un renovado interés por el conocimiento de sus características y las drogas que de ellas se extraen. El desarrollo tecnológico ha dado paso a nuevas metodologías y procedimientos que han modificado sustancialmente el estudio de la herbolaria y la obtención de los nuevos medicamentos preparados a base de plantas, los fitofármacos, como una opción en la medicina del nuevo siglo. Estos productos recuerdan a los medicamentos galénicos, pues vuelven a presentarse en forma de extractos, pomadas, mezclas de plantas molidas y encapsuladas o tabletas que contienen múltiples compuestos naturales, pero se distinguen de ellos porque el conocimiento científico sobre la acción de sus componentes está mejor fundamentado (Lozoya, 1998).

El valor de las plantas medicinales está dado por sus constituyentes químicos, principalmente por los metabolitos secundarios que producen efectos fisiológicos. Los alcaloides, terpenoides, glucósidos y flavonoides son algunas de las mayores categorías de dichos compuestos con actividades farmacológicas ya conocidas. Estas sustancias constituyen la

razón por la que las plantas medicinales se han seleccionado y usado en la medicina tradicional, así como en la industria farmacéutica y son la base para su aprovechamiento a gran escala en las sociedades industriales (Balandarin, *et al.* 1985).

La farmacognosia es la aplicación simultánea de diversas disciplinas científicas con el objeto de estudiar las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural en todos sus aspectos posibles (Tyler, *et al.*, 1979; Kuklinski, 2000). Entre dichas disciplinas se encuentra la biología, que mediante la histología vegetal, establece una línea de investigación en la identificación de la droga vegetal que ayuda a la elaboración de los fitofármacos. La determinación morfológica macro y microscópica de la droga vegetal es requerida por el Sector Salud Institucional en los reglamentos para la evaluación de la calidad, la inocuidad y la eficacia de los medicamentos herbarios (WHO, 1992; NOM-Reglamento de insumos para la salud, 1998; OMS, 2000).

El análisis morfológico debe ser aplicado en este caso, para evitar adulteraciones de la materia prima con especies botánicas parecidas, para detectar la presencia de contaminantes de otras plantas indeseables o para la identificación de compuestos importantes a nivel celular. Estos estudios permiten la caracterización de los tejidos y, con ello, la elaboración de las pautas morfológicas que definen el género y la especie botánica en particular (Rivera, *et al.*, 2000).

La información farmacognósica se reúne en monografías para la publicación de las farmacopeas, que consignan los métodos generales de análisis y los requisitos sobre identidad, pureza y calidad de los fármacos, aditivos, medicamentos y productos biológicos (NOM-001-SSA-1993), sin embargo, aún faltan muchas especies medicinales por ser estudiadas.

Una de estas especies, poco estudiadas histológicamente, es *Chirantodendron pentadactylon* Larr., miembro de la familia Sterculiaceae (Cronquist, 1981). Es un árbol conocido comúnmente como "Flor de manita", "Palo de yaco" o "Macpalxóchitl" en náhuatl, que quiere decir "flor de palma de mano". Este nombre se debe a que los filamentos de los estambres semejan una mano, siendo el sexto dedo el estilo (Bye, 1987). Esta planta ha sido apreciada en México desde la época prehispánica, como lo demuestran las fuentes históricas por medio de sus dibujos y manuscritos, que suponen además una importancia ritual. Actualmente, las flores son utilizadas en infusión frecuentemente combinadas con otras plantas como remedio para enfermedades del corazón, presión alta y sedante para los nervios.

En los últimos años, el cambio de uso del suelo para la introducción de la ganadería y agricultura ha ocasionado la destrucción de los hábitats naturales de este árbol, bosque de pino-encino y bosque mesófilo de montaña, dando como resultado que las poblaciones de estos árboles

disminuyan al punto de tener catalogada a esta especie como amenazada (NOM-059-ECOL-2001).

A pesar de la importancia farmacológica, fitoquímica, económica y cultural de *Chiranthodendron pentadactylon*, las investigaciones realizadas no han abordado el aspecto histológico, por lo tanto, el presente estudio pretende obtener información detallada sobre la histología de la flor con la finalidad de proporcionar una referencia que apoye su correcta identificación como parte del control de calidad de los herborizados comerciales, así como para identificar y ubicar algunos metabolitos biológicamente activos en sus tejidos.

ANTECEDENTES

TAXONOMÍA

Cronquist (1981), agrupa a las familias Sterculiaceae, Elaeocarpaceae, Tiliaceae, Bombacaceae y Malvaceae en el orden Malvales. Sin embargo, autores como Alverson y colaboradores (1999) no aceptan este arreglo taxonómico, y proponen la formación del clado Malvatheca que incluye a toda la familia Malvaceae y la mayoría de los géneros de Bombacaceae, más los géneros *Fremonthodendron* y *Chiranthodendron*, los cuales eran tratados habitualmente como esterculiáceas, esto a partir de sus trabajos de secuenciación y comparación de bases en el gen *ndhF* de cloroplasto. Por su parte, Nyffeler (1999) apoya la idea de agrupar a las familias Sterculiaceae, Tiliaceae, Bombacaceae y Malvaceae en un solo orden monofilético (Malvales), dentro de todo un nuevo sistema de clasificación en donde se reconocen 40 órdenes basados en estudios de filogenia molecular, utilizando secuenciaciones del gen *rbcL*. Este último autor señala que su propuesta de clasificación puede cambiar en años venideros, especialmente a nivel de órdenes. Por lo anterior, para los fines de este trabajo, se recurre a la clasificación tradicional de Cronquist (op. cit.).

DESCRIPCIÓN DE LA FAMILIA STERCULIACEAE

Esta familia agrupa a árboles, arbustos o hierbas incluidos en 68 géneros y 700 especies que están caracterizados por la presencia de tricomas estelados o peltados. Comúnmente presentan células taniníferas, células mucilaginosas, cavidades o canales lisógenos o esquizógenos, que se encuentran de manera característica en el tejido parenquimatoso; grupos de cristales de oxalato de calcio o cristales solitarios; los elementos de vaso presentan placas perforadas simples; los elementos traqueales tienen punteaduras rebordeadas inconspicuas o punteaduras simples. Las hojas son alternadas, simples y frecuentemente palmatilobuladas, con venación que va de pinnada a palmaticompuesta; estípulas presentes pero éstas caen tempranamente; los estomas son en su mayoría anomocíticos; el sistema vascular es con frecuencia sifonostélico. Las flores se agrupan en varios tipos de inflorescencias y rara vez son solitarias, son actinomorfas o raramente zigomorfas, bisexuales pero comúnmente son funcionalmente unisexuales. El perianto es comúnmente uniseriado y está

constituido por tres a cinco pétalos valvados, los sépalos están basalmente connados pero usualmente está presente un número igual de pétalos; los nectarios están constituidos por cúmulos de tricomas glandulares que se encuentran en la base de los sépalos. El androceo frecuentemente consta de dos series de cinco estambres cada uno, estos están unidos por sus filamentos formando un tubo que rodea al ovario y que comúnmente se asienta sobre un androginóforo; las anteras son tetrasporangiadas y bitecadas; los sacos de polen son paralelos y adyacentes o algunas veces son divergentes y separados, abren por líneas de dehiscencia longitudinales y rara vez por poros apicales; los granos de polen son binucleados, se encuentran desde tricolporados lisos o reticulados hasta pentacolporados y espinulosos. Gineceo de uno a 60 carpelos, pero en la mayoría de las especies son cinco, estos generalmente están unidos para formar un ovario compuesto por tantos lóculos como carpelos y con los estilos connados formando un único pistilo, el ovario es súpero con uno, dos o varios óvulos por cada carpelo, estos óvulos muestran placentación axilar, marginal o parietal, pudiendo ser anátropos o hemianátropos. Las semillas son bitégmicas, crasinucelares, comúnmente con su micrópilo en zig-zag; el endospermo es abundante y de desarrollo nuclear, rico en aceite o almidón; el embrión es recto o curvado y con los cotiledones expandidos. El fruto es variable, va de carnoso a correoso e incluso llega a ser leñoso, son tanto dehiscentes como indehiscentes. En la mayoría de las especies el número cromosómico es de $X=20$. *Theobroma cacao*, *Cola nitida* y *C. acuminata* son especies de gran importancia económica. Las esterculáceas aparecen en el registro fósil a partir del Cretácico tardío y el polen característico de la familia aparece a partir del Paleoceno. (Cronquist, 1981).

CARACTERÍSTICAS DE *Chiranthodendron pentadactylon* Larr.

◆ DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

Son árboles de 10 y hasta 30 m de altura; su madera es frágil; las ramas, especialmente cerca de las hojas están revestidas de tomento compuesto de tricomas estrellados, que en conjunto presentan un color ferruginoso; la corteza del tronco es lisa y de color café.

Las hojas son anchas y ovadas, con tres a cinco lóbulos profundos o superficiales, palmatinervados, su base es notoriamente cordada, el ápice agudo o acuminado, son ligeramente crenadas, envés ferrugíneo y haz casi glabro; tienen pecíolos de 8 a 11 cm y están provistas de pequeñas estípulas foliáceas, caedizas o persistentes. Dichas hojas son verdes y están cubiertas especialmente las jóvenes, de tomento en ambas caras; las adultas lo llevan solamente en la cara inferior.

Las flores son hermafroditas y zigomórficas, solitarias, axilares; los pedúnculos son opuestos a las hojas, con tres bractéolas; cáliz campanulado, cinco lóbulos lanceolados de color rojo en el interior y tomentoso café rojizo en el exterior, imbricados, connados; apétalas; los estambres son exertos, se presentan en número de cinco, están unidos por la base formando un tubo cilíndrico que se ensancha hacia abajo por donde se une con el perianto; son de color rojo brillante y se extienden en la parte superior, arqueándose ligeramente hacia adentro, dando el aspecto de una mano; anteras largas, con dos tecas y dehiscencia longitudinal; el polen tiene forma triédrica y es de color amarillo; el ovario se encuentra escondido en la base del tubo estaminal, sincárpico, cinco carpelos con óvulos numerosos en cada lóculo; el estilo asciende en medio del mismo tubo y deja salir una pequeña punta amarillenta formada por cinco surcos que forman el estigma.

El fruto es una cápsula leñosa pentavalvada, profundamente acanalado y mide unos 12 cm es dehiscente de la parte media hacia el extremo superior; las semillas son ovoides y de color negro, brillantes miden 5 mm de largo por 3 mm de ancho, con una carúncula granulosa de color amarillo a naranja, endospermo carnoso y cotiledón circular, plano (Azuara, 1990; Vázquez, 1998).

◆ DISTRIBUCIÓN

El género consta de una sola especie, la cual es de distribución restringida en México, localizándose principalmente en forma silvestre, en los estados de Guerrero, Oaxaca, Chiapas y hasta Guatemala, y en forma cultivada en el Estado de México y Distrito Federal. Habita en bosques de pino-encino y bosque mesófilo de montaña en altitudes de 2000 a 3000 msnm (Azuara, 1990; Bye, 1987).

◆ Usos

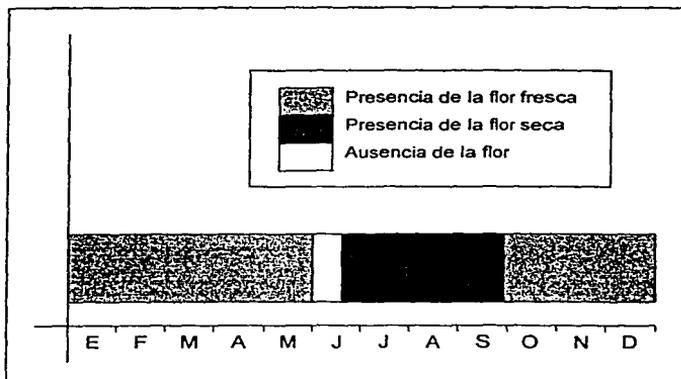
El atractivo principal de *Ch. pentadactylon* son sus flores, por lo que es muy codiciada como planta de ornato en Jardines Botánicos, en Estados Unidos y Europa (Vázquez, 1998).

Esta planta ha sido importante en México desde la época prehispánica, los nahuas usaban los cocimientos de las flores para las inflamaciones de los ojos y para aminorar los dolores de las hemorroides. Después de la conquista se le atribuyó acción cardiotónica y contra la epilepsia (Lara y Márquez, 1996). La corteza del árbol se ha utilizado para elaborar correas, las hojas flexibles se han usado para cubrir comida en los mercados de Oaxaca y como emolientes (Martínez, 1936).

Actualmente, en el mercado de Sonora se recomienda para los nervios y el

corazón, combinada con *yololxóchitl* (*Talauma mexicana*), magnolia (*Magnolia sp.*), los tres toronjiles, el blanco y el morado (*Agastache mexicana*) y el azul o chino (*Dracocephalum moldavica*), así como flores de azahar (*Citrus spp.*) todo esto tomado como té cuando sea necesario (Lináres *et al.* 1988).

En Carrizal de Bravo, Municipio de Leonardo Bravo, Gro., existe una gran actividad de recolección de flores secas durante el periodo de floración comprendido entre febrero y abril, que involucra principalmente a mujeres y niños, que aunque no conozcan el uso terapéutico que se le da a la flor, sí saben del valor comercial de la misma. Esto representa un ingreso económico muy importante, lo que permite la conservación del bosque de esa región en las zonas de crecimiento de los árboles de "flor de manita" (Osuna, *et al.*, 1998).



Gráfica 1. Presencia de la "flor de manita" en el mercado de Sonora a lo largo del año (Tomado de Lináres, *et al.*, 1988).

La comercialización de la "flor de manita", en un 90% se lleva a cabo en el mercado de Sonora, en la Ciudad de México (Gráfica 1). El principal abastecedor de la flor fresca es el municipio de Texcoco (especialmente San Miguel Tlaixpa), donde existen alrededor de 30 árboles que florecen de noviembre a abril. Otra manera de vender la flor es en forma seca, cuya procedencia es de los estados de Oaxaca y Guerrero, y su llegada a la Ciudad de México es después de que termina la temporada de flor fresca, entre los meses de julio a septiembre (Vázquez, 1998).

◆ INVESTIGACIONES REALIZADAS

Existen pocos trabajos farmacológicos y fitoquímicos realizados en esta especie. En 1948, Sodi y Martínez caracterizaron al pigmento de macpalxóchitl, como una aglicona más tres moléculas de glucosa y tres de ácido gálico (precursor de taninos), que llamaron Trigalogluxi-5,7,4'-cloro-1-Benzopiroxona.

Por su parte, Domínguez y colaboradores (1969), obtuvieron a partir de extractos con flores secas los compuestos octacoseno ($C_{28}H_{58}$), dacosanol β -1 ($C_{22}H_{46}O$), β -sitosterol ($C_{29}H_{50}O$) y un material rojo insoluble, glucosa y sacarosa.

Domínguez y Gutiérrez, en 1972, aislaron octacoseno, dacosanol β -1, acetato sitosterol y un flavonoide rojo muy insoluble del extracto, que dio reacción negativa a alcaloides y glucósidos cardiacos. En 1995, Perusquia y colaboradores comprobaron el efecto farmacológico del extracto acuoso de las flores que inhibió la contracción muscular en aorta de rata previamente estimulada con noradrenalina.

Más recientemente, Lara y Márquez (1996), hicieron una recopilación de los compuestos aislados de la flor de *Ch. pentadactylon* (Cuadro 1).

Cuadro 1. Compuestos encontrados en flores de *Ch. pentadactylon*
(Modificado de Lara y Márquez, 1996).

NOMBRE	TIPO DE COMPUESTO
Octacoseno	Alqueno
Éster alifático	Éster
Glucosa	Carbohidrato
Sacarosa	Carbohidrato
β -sitosterol	Esterol
	Flavonoide rojo
Dacosanol β -1	Alcohol
3-glucósido de cianidina	Glucósido de antocianina
Leucocianidina	Antocianina
7-glucósido de luteolina	Flavonoide
7-glucurónido de luteolina	Glucorónido flavonoide
3-glucósido de quercetina	Glucósido flavonoide
Gospipertina	Glucorónido
3-glucorónido de gopipetina	Glucorónido
ácido gálico	Ácido
Triglucósido de apigenina	Glucósido flavonoide

Katzung (1986) mencionó que los glucósidos cardiacos involucran a un grupo de compuestos esteroides que tienen efectos primarios complejos sobre las funciones mecánicas y eléctricas del corazón. También actúan sobre el músculo liso y sobre otros tejidos. Su principal efecto terapéutico

consiste en aumentar la contractilidad cardíaca en la insuficiencia cardíaca congestiva, es decir, cuando el gasto cardíaco es inadecuado para proporcionar el oxígeno necesario al organismo.

Los glucósidos cardíacos se dividen en dos grupos principales, los cardenólidos y los bufadienólidos. Los primeros son los más abundantes y ampliamente distribuidos en las plantas, mientras que los segundos sólo han sido aislados en algunos géneros de plantas (*Silla* y *Helleborus*). Los cardenólidos son bien conocidos por su uso medicinal como estimulantes cardíacos, pero también presentan una importancia ecológica, ya que pueden inducir el vómito y afectar el Sistema Nervioso Central de animales, desalentando así a los herbívoros potenciales. Además, diversos herbívoros, especialmente insectos son capaces de neutralizar y almacenar dichos cardenólidos y de esta forma pueden adquirir una efectiva defensa contra sus posibles depredadores.

Respecto a estudios fisiológicos y ecológicos, se encuentran los trabajos de Larreategui (1975) que investigó la reproducción sexual mediante la autopolinización y polinización cruzada. En el mismo año, describió la polinización de esta especie por aves de hábitos nectarívoros que requieren estar perchadas para obtener su alimento (Toledo, 1975). Algunas características morfológicas del fruto y semillas fueron estudiadas por Estrada (1987), asimismo, se analizaron los resultados obtenidos de pruebas con polinización manual.

García y Perales (1990), evaluaron la viabilidad de las semillas realizando pruebas de germinación bajo condiciones de almacenamiento y dan pautas a la propagación e introducción de la especie. Recientemente, Osuna y colaboradores (1997), realizaron pruebas de germinación en respuesta a la escarificación, temperatura y luz y observaron la presencia de una cubierta impermeable al agua en la exotesta y la endotesta de las semillas.

En cuanto a estudios etnobotánicos, Bye y Linares (1987), realizaron un estudio de siete plantas medicinales encontradas en los mercados mexicanos haciendo hincapié en sus usos actuales y en fuentes históricas (Código de la Cruz- Badiano, Código Florentino e Historia Natural de la Nueva España), y encontraron que la información antigua de *Ch. pentadactylon* fue censurada por atribuirle una importancia ritual (Fig. 1), y que a partir del siglo XX se emplea en infusión para enfermedades del corazón, los nervios, epilepsia y síntomas de convulsiones. Asimismo, añaden que la planta es cultivada y recolectada, la vía de administración es oral y local, además de las flores se ha ocupado las hojas y la corteza.

Por otro lado, Osuna y colaboradores (1998), presentaron una propuesta para la comercialización de las flores en el Municipio de Miahuatlán, Oax., a partir de la experiencia anterior en el municipio de Leonardo de Bravo, Gro., donde la planta es una importante fuente de ingresos durante su floración

para los pobladores recolectores, pese a que desconocen su uso medicinal.



Figura 1. Macpalóchitli. La manera de ilustrar las flores en forma de garra le atribuyen una importancia ritual (Tomado de Hernández, 1959).

SÉPALOS

Los sépalos son los componentes individuales del cáliz, es decir, el verticilo más externo de la flor. Por lo común son verdes, pero pueden ser petaloides o de colores (Jones, 1988). Su estructura histológica al ser semejante a las hojas se describe de igual forma. Constan de un parénquima fundamental, a menudo llamado mesófilo, un sistema vascular que atraviesa el parénquima fundamental, y capas epidérmicas sobre los lados adaxial y abaxial. En el tejido fundamental o en asociación con los elementos vasculares puede haber células con cristales como idioblastos y laticíferos.

El mesófilo está raramente diferenciado en parénquima empalizada y esponjoso, pero puede contener grandes cantidades de clorénquima.

Generalmente es de estructura simple y consta de células aproximadamente isodiamétricas flojamente dispuestas en un tejido lagunoso. La epidermis de los sépalos presenta una aposición de cutina y desarrollo de estomas y tricomas similares a los de las hojas. El sistema vascular recuerda el de las hojas, pero es menos complejo (Esau, 1985). Algunas estructuras secretoras como tricomas glandulares o cavidades, que son comunes en las hojas, también se presentan en los sépalos. En algunas especies los sépalos son de colores brillantes, parecidos a los pétalos, y pueden producir fragancias y néctar. En estas flores los sépalos cumplen una doble función, como protección de las partes más internas de la flor y como atrayente para los polinizadores (Maushet, 1988).

La anatomía de la flor ha sido estudiada principalmente para explicar alguno de los complejos detalles estructurales de las flores, para obtener datos adicionales de la clasificación de las angiospermas, embriología y mecanismos de polinización.

NÉCTAR Y NECTARIOS

Bahadur y colaboradores (1998) afirman que el néctar es el mayor atrayente y la mejor recompensa que dan las flores a sus polinizadores. Esta secreción resulta de diferentes y complejos procesos fisiológicos de glándulas especializadas llamadas nectarios. La secreción y concentración del néctar está relacionada con el estado fisiológico y nutricional de la planta y sus ritmos autónomos. El néctar puede estar constituido por azúcares, aminoácidos, lípidos, alcaloides, glucósidos, sustancias tóxicas, fenoles, proteínas, ácidos orgánicos, vitaminas, compuestos inorgánicos, resinas, ácido ascórbico, polisacáridos mucilaginosos, etc. De todos, los azúcares son los principales componentes (Bahadur, *et al.* 1998). El efecto de estos compuestos químicos para los visitantes de las flores es diverso. Los azúcares los proveen de energía de manera instantánea y los aminoácidos, lípidos y proteínas son valiosos en su nutrición. De igual forma, se ha propuesto que el néctar podría servir como señuelo para los depredadores, como en el caso de las hormigas (Rao y Ramayya, 1998).

Los estudios de la composición del néctar establecen que los azúcares comunes que se presentan en las flores son hexosas monosacáridas, glucosa y fructuosa y un disacárido, sacarosa. Estos tres azúcares se encuentran combinados o separados. Baker y Baker (1982) hicieron un resumen de la frecuencia de estos tres azúcares en 765 especies (Cuadro 2). Existen además, otros tipos de azúcares en los nectarios, sin embargo son menos frecuentes y se les encuentra en menor cantidad. Estos

azúcares son mono-, di-, tri-, y tetrasacáridos (Cuadro 3). Entre los monosacáridos es frecuente encontrar a la arabinosa y la galactosa y raramente la manosa. A los disacáridos se les encuentra ocasionalmente, mientras que a los trisacáridos es más frecuente encontrarlos (Baker y Baker, 1981).

Cuadro 2. Número de especies para cada combinación de azúcares en su néctar (Modificado de Baker y Baker, 1982).

<i>Azúcares componentes del néctar</i>	<i>No. de especies</i>	<i>Porcentaje de especies</i>
Sacarosa	7	0.91
Glucosa	2	0.26
Fructuosa	0	0.00
Sacarosa + glucosa	29	3.79
Sacarosa + fructuosa	0	0.00
Glucosa + fructuosa	78	10.20
Sacarosa + glucosa + fructuosa	649	84.84
Total	765	100.00

Cuadro 3. Azúcares menos frecuentes reportados en el néctar de más de 1000 especies distintas (Tomado de Baker y Baker, 1981).

Monosacáridos:
Arabinosa
Galactosa
Manosa
Disacáridos:
Gentobiosa
Lactosa
Maltosa
Melobiosa
Trehalosa
Trisacáridos:
Melecitosa
Rafinosa
Tetrasacáridos:
Estaquirosa

El término tejido nectarífero se refiere al tejido que forma el nectario, constituido por una epidermis con o sin tricomas y un parénquima especializado. El parénquima está compuesto por células relativamente pequeñas con citoplasma granular denso y un núcleo relativamente grande (Fahn, 1998).

El néctar que se secreta tiene origen en la savia del floema. El pre-néctar se mueve a lo largo de los elementos cribosos hacia las células del tejido nectarífero, donde utiliza la *vía* de los plasmodesmos. La composición del pre-néctar se modifica en el tejido nectarífero por actividad enzimática y por procesos de reabsorción. El néctar es exudado desde el nectario mediante: células epidérmicas, tricomas, células del parénquima nectarífero, estomas modificados o cavidades lisógenas (Fahn, 1998).

Entre las características morfológicas de las plantas, los nectarios no solo tienen importancia histológica, sino también filogenética. Rao y Ramayya (1998) realizaron un estudio que evalúa la importancia morfológica y filogenética de los nectarios florales para 32 géneros y 64 especies de las Malvales, de las cuales, 11 especies pertenecen a la familia Sterculiaceae. Ellos encontraron que dentro de la familia Sterculiaceae, donde el cáliz es usualmente gamosépalo, el nectario se encuentra en la base de éste, de modo que el néctar no gotea hacia afuera y así se halla disponible para los polinizadores. Los nectarios se forman como una capa interna continua de tricomas en forma de clava uniseriados, filiformes o piriformes. Asimismo, una sola especie presentó tricomas uniseriados piriformes en la base abaxial del sépalo. Además, indican la ausencia de nectarios extraflorales, excepto en algunos miembros de la familia Malvaceae, los cuales carecen de tricomas glandulares. Finalmente concluyeron que los nectarios extraflorales son un carácter más avanzado que los nectarios florales, dentro de la historia evolutiva de las Malvales.

FARMACOGNOSIA

La palabra farmacognosia proviene de los vocablos griegos *pharmacon* que significa venenos o medicamentos y *gnosis* que significa conocimiento, lo que se interpreta como *conocimiento de los venenos o medicamentos*. Sin embargo, la farmacognosia limita su campo de investigación a las drogas y sustancias medicamentosas exclusivamente de origen natural: vegetal, animal o microbiano (hongos, bacterias). Estudia tanto sustancias con propiedades terapéuticas como sustancias tóxicas, excipientes u otras sustancias de interés farmacéutico, aunque su uso sea básicamente tecnológico y no terapéutico. Se considera una rama de la farmacología, ciencia descriptiva que estudia la acción y el efecto de las sustancias químicas, de diversa naturaleza y origen, sobre la materia viva (Tyler, *et al.*, 1979; Bruneton, 1999; Kuklinski, 2000).

Para la farmacognosia, estudiar una planta es definir su identidad, esto es: establecer las características morfoanatómicas, tanto macroscópicas como microscópicas, y las organolépticas, que permitan la caracterización de la droga; investigar los métodos óptimos de producción; establecer

cuantitativa y cualitativamente sus principios activos; controlar la calidad de las drogas; establecer sus propiedades farmacológicas; e investigar nuevos principios activos que puedan constituir un punto de partida para el diseño de nuevos fármacos en el futuro (Trease y Evans, 1988; Bruneton, 1999; Kuklinski, 2000).

Para valorar una droga, es decir, para identificar la calidad y pureza de la misma, se realizan diversos ensayos que se pueden clasificar en: organolépticos, botánicos (macroscópico y microscópico), fisicoquímicos y farmacodinámicos y biológicos (Tyler, *et al.*, 1979; Kuklinski, 2000).

Los ensayos botánicos que se practican para la valoración microscópica de la droga vegetal, están dirigidos para controlar características histológicas y/o histoquímicas específicas, debido a que las drogas se pueden emplear no pulverizadas, es decir, enteras o fragmentadas, y pulverizadas. De entre las diversas clasificaciones que existen para el estudio de éstas características, para el presente estudio se considera la adoptada por Trease y Evans (1988) y Kuklinski (2000), en la que sugieren dividir en dos grupos: drogas organizadas o estructuras celulares cuando se realizan observaciones en el tejido conservado, y no organizadas o contenidos celulares cuando el tejido está disociado y se realizan interpretaciones a partir de los contenidos celulares ergásticos (Cuadro 4).

Para identificar y determinar la calidad y pureza de un fitofármaco que solicita la aprobación del Sector Salud Institucional, se debe comparar la muestra desconocida con muestras de drogas auténticas o con la descripción que se hace de ellas en las farmacopeas y otras publicaciones autorizadas, cuya caracterización se debe de realizar a partir de ejemplares enteros, y que idóneamente cuenten con las normas de calidad y sanidad en cuanto a cultivo, recolección, etc. (Tyler, *et al.*, 1979).

La identificación de las drogas vegetales es posible gracias a que existen algunos elementos celulares o del tejido que son propios o característicos de cada droga que se determinan al estudiarla al microscopio, pulverizada o micronizada (Cuadro 4). La identificación se puede producir tanto por la presencia como por la ausencia de dichos elementos, lo que también permite la detección de adulteraciones (Kuklinski, 2000).

La determinación de la calidad de la droga está dada, principalmente, por la cantidad de principios activos que contiene, aunque también suelen incluirse otros compuestos como: carbohidratos, glucósidos, esteroides, alcaloides, vitaminas o algunas proteínas. En cambio, el grado de pureza se determina por la presencia de materia extraña, es decir, otras partes de la planta que no constituyen la droga vegetal u otras especies que no son las declaradas y que se les ha añadido de forma voluntaria o involuntaria. De igual forma se puede determinar si el estado de conservación es deficiente, debido a la presencia de hongos o bacterias. En el primer caso,

a las drogas se les denomina drogas falsificadas y en el segundo drogas alteradas (Tyler, *et al.*, 1979; Kuklinski, 2000).

Cuadro 4. Principales elementos celulares que deben ser estudiados para la caracterización histológica de las drogas vegetales (Trease y Evans, 1988; Kuklinski, 2000).

DROGAS ORGANIZADAS O ESTRUCTURAS CELULARES	DROGAS NO ORGANIZADAS O CONTENIDOS CELULARES
<ul style="list-style-type: none"> ▫ Elementos largos <ul style="list-style-type: none"> Fibras Traqueidas Vasos leñosos Radios Tubos cribosos Conductos o cavidades secretoras Tubos laticíferos ▫ Elementos cortos <ul style="list-style-type: none"> Células del parénquima Células de súber Células pétreas o esclereidas Células epidérmicas Recubrimiento de cutícula Estomas Pelos o tricomas Glándulas de secreción 	<ul style="list-style-type: none"> ▫ Almidón ▫ Aceites y grasas ▫ Inulina ▫ Granos de aleurona ▫ Inclusiones salinas <ul style="list-style-type: none"> Carbonato cálcico (CaCO_3) Oxalato cálcico (CaC_2O_4) Silice (SiO_2) ▫ Taninos ▫ Gomas y mucilago ▫ Látex

◆ **DROGAS ORGANIZADAS O ESTRUCTURAS CELULARES**

Las brácteas, cáliz y en menor proporción, la corola, poseen estructura de hoja y dan lugar a elementos de epidermis con estomas, pelos glandulares o tectores, células del mesófilo, glándulas de esencia y cristales. La forma, tamaño y estructura de las células epidérmicas; forma, distribución y relación de los estomas respecto a las células epidérmicas; forma, distribución y abundancia de los pelos epidérmicos, son de importancia diagnóstica (Trease y Evans, 1988).

◆ **DROGAS NO ORGANIZADAS O CONTENIDOS CELULARES**

En las drogas pulverizadas debido a que las células se encuentran rotas, los contenidos celulares ergásticos son muy importantes para la

identificación. Los más importantes en farmacognosia son aquellos que pueden ser identificados en drogas vegetales mediante el examen microscópico o por pruebas físicas o químicas. Estos contenidos celulares son tanto productos de reserva como productos del metabolismo secundario y comprenden carbohidratos, proteínas, aceites fijos y grasas, alcaloides y purinas, glucósidos, aceites esenciales, gomas y mucílagos, resinas, taninos, oxalato cálcico, carbonato cálcico y sílice. En la droga pulverizada pueden distinguirse con frecuencia fragmentos delicadamente coloreados de la corola (Trease y Evans, 1988).

▪ *Taninos*

Los taninos en el más amplio sentido de la palabra, son un grupo heterogéneo, derivados del fenol comúnmente relacionados con los glucósidos. Son sustancias amorfas, amarillas, rojas o pardas que se conservan muy claramente en las preparaciones. Se presentan como masas granulares más o menos finas, o como corpúsculos de diversos tamaños (Esau, 1985).

Los taninos están ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Son comunes en gimnospermas y angiospermas, entre las angiospermas son más frecuentes en las dicotiledóneas que en las monocotiledóneas. En la planta se localizan en la corteza, madera, hojas, frutos y raíz (López, 1989; Scalbert, 1991). Pueden hallarse en las vacuolas de células aisladas o bien en formaciones especiales denominadas sacos taníferos, en el protoplasto y también puede hallarse impregnando las paredes celulares secundarias, como sucede en el tejido suberoso. Dentro del protoplasto los taninos aparecen frecuentemente en las vacuolas, o también en el citoplasma en forma de pequeñas gotitas que eventualmente pueden fusionarse (Esau, 1985). Si se desea estudiar la distribución de los taninos en la planta, los cortes histológicos deben realizarse en seco, pues los taninos son solubles en agua y en alcohol (Trease y Evans, 1988).

En cuanto a sus características químicas, los taninos se disuelven en agua formando disoluciones coloidales, pero su solubilidad varía según el grado de polimerización (disminuye conforme ésta aumenta). Son solubles en alcoholes y en acetona. Las disoluciones acuosas poseen una estabilidad variable según su estructura, generalmente moderada. Así, durante la decocción, un tanino como la geraniina se descompone en 30 minutos en ácido gálico, ácido elágico y corilagina. Como todos los fenoles, los taninos reaccionan con cloruro férrico. Sus disoluciones acuosas precipitan con sales de metales pesados y con gelatinas (Bruneton, 1999).

En los vegetales superiores se distinguen, generalmente, dos grupos diferentes de taninos, tanto por su estructura como por su origen biogenético: taninos hidrolizables y taninos condensados (Bruneton, 1999).

La clasificación de los taninos, sus características y los métodos de identificación se muestran en el cuadro 5.

Cuadro 5. Clasificación, características y métodos de identificación para los taninos (Tyler, 1979; Bruneton, 1999).

	CARACTERÍSTICAS	MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN
TANINOS HIDROLIZABLES	Son oligo- o poliésteres de un azúcar (o de un poliol relacionado) y de un número variable de moléculas de ácido fenol. El azúcar generalmente es la β -D-glucosa. El ácido fenol es o bien ácido gálico en el caso de los <i>taninos gálicos</i> , o el ácido hexahidroxidifénico y sus derivados de oxidación, en el caso de los taninos clásicamente (aunque de manera impropia), denominados <i>taninos elágicos</i> .	Los taninos gálicos y elágicos con sales férricas dan coloraciones azul-negro, producidas por el ión férrico. Los taninos gálicos dan coloración rosa con yoduro potásico (el ácido gálico libre se colorea de naranja con este reactivo). Los taninos elágicos se colorean con ácido nítrico en medio acético (primero rosa, después vira a púrpura y a azul). Azul de Prusia con cloruro férrico y ferrocianuro de potasio da color azul.
TANINOS CONDENSADOS	Los taninos condensados o proantocianidoles son polímeros flavánicos. Están constituidos por unidades de flavan-3-oles ligadas entre sí por enlaces carbono-carbono generalmente 4→8 ó 4→6, resultante de un acoplamiento entre el C-4 electrofílico de un flavanilo que proviene de un flavan-4-ol o de un flavan-3,4-diol y una posición nucleófila de otra unidad.	Con sales férricas, el ión férrico produce un color verde marrón verdoso. Los taninos condensados se colorean específicamente en rojo con vainillina clorhídrica.

Respecto a su función biológica, los taninos se consideran como sustancias que protegen al protoplasto contra la desecación, putrefacción y destrucción por animales; como sustancias de reserva relacionadas de manera no determinada con el almidón; como sustancias asociadas a la formación y transporte de azúcares; como antioxidantes; y como protector de la homogeneidad del citoplasma (Esau, 1985).

Históricamente, la importancia de las drogas con taninos está ligada a sus propiedades curtientes, ya que tienen la capacidad de formar enlaces cruzados muy estables con macromoléculas como la celulosa, pectinas y proteínas ya que pueden precipitarlas. Cuando los taninos precipitan a las

proteínas en solución y se combinan con ellas, haciéndolas resistentes a las enzimas proteolíticas, se establece una acción conocida como astringente y constituye la base para la acción terapéutica de los mismos. Muchas de las drogas vegetales que contienen taninos, se emplean en medicina como astringentes del tracto gastrointestinal y de las excoiaciones de la piel. En el tratamiento de las quemaduras, las proteínas de los tejidos expuestos precipitan y forman una capa protectora antiséptica bajo la cual tiene lugar la regeneración de los tejidos (Tyler, 1979; López, 1989; Bruneton, 1999).

• **Mucílago**

Las gomas, las pectinas y los mucílagos son macromoléculas osídicas que al contacto con el agua forman disoluciones coloidales o geles. La tendencia actual es abandonar estos términos y utilizar el de hidrocoloides vegetales que es más general o incluso, más globalmente el que refiere a polisacáridos vegetales. Aunque el término polisacárido parece falto de especificidad, la dificultad que a veces existe para delimitar histológica y químicamente las nociones de gomas y mucílagos e incluso de pectinas obliga a dar preferencia, siempre que sea posible, a un criterio químicomolecular para clasificar estos polímeros (Bruneton, 1999). La clasificación se basa principalmente sobre aquellas secuencias de residuos de azúcar en los polisacáridos que forman las cadenas interiores y una variedad de residuos de iguales o distintos azúcares puede estar unida formando cadenas laterales (Aspinall, 1970).

Se han establecido una serie de criterios para diferenciar gomas y mucílagos. Las gomas son moléculas complejas, siempre heterogéneas y ramificadas, que contienen ácidos urónicos. Fluyen al exterior del vegetal y en general se considera que resultan de un traumatismo. Solidifican por desecación, son insolubles en disolventes orgánicos, lo que las diferencia de las resinas (Bruneton, 1999).

En cuanto a los mucílagos se considera que son constituyentes celulares normales, preexisten en formaciones histológicas especializadas (células o canales) frecuentes en el endospermo de las semillas. Son polímeros heterogéneos con carácter neutro o ácido, lo que permite su clasificación. Están ampliamente distribuidos siendo comunes en las Malváceas (mucílagos ácidos) y en Fabales (mucílagos neutros del endospermo). Son agentes de retención hídrica, que poseen un papel activo en la germinación (Bruneton, 1999; Kuklinski, 2000).

Siguiendo la clasificación de Bruneton (1999), los mucílagos neutros están compuestos principalmente por una cadena lineal de D-manosa unidas en β -(1 \rightarrow 4), son estrictamente insolubles en agua. Los polisacáridos más

frecuentes que contienen manosa son:

- Glucomananos. En estos polímeros del 20 al 50% de las unidades de D-manosa de la cadena se encuentran reemplazadas por D-glucosas. Las uniones interosídicas siguen siendo β -(1→4); pueden tener varias manosas contiguas pero las glucosas permanecen aisladas. Son más abundantes en las Gimnospermas que en las Angiospermas, frecuentes en los órganos subterráneos de diversas monocotiledóneas.
- Galactomananos. En estas moléculas se sustituye el grupo hidroximetílico en C-5 de determinados residuos de D-manosa de una cadena polimanosídica por un resto D-galactosílico unido en α . El porcentaje de sustituciones varía del 30 a cerca del 100%, según la especie vegetal. Se encuentra en diversas semillas (Annonaceae, Convolvulaceae, Palmae), constituyen un depósito extracelular en el endospermo de las semillas de las Fabales en los que se pueden representar hasta un 40% de la masa.
- Galactoglucomananos. La cadena central es del tipo de los glucomananos y un número variable de unidades de manosa de estas moléculas se sustituyen en C-6 por un resto de α -D-galactosílico unido en α . Son componentes frecuentes de las hemicelulosas, se acumulan a veces en las semillas.

Aspinall (1970) considera un subgrupo más para los mucílagos neutros:

- Arabinoxilanos. Son solubles en agua y comunes en el endospermo de las leguminosas. Están constituidos por cadenas lineales de D-glucanos unidas en β (1→3) y β (1→4) y altamente ramificado por L-arabino-D-xilanos. Algunas veces se presentan residuos de α -L-arabinofuranos unidas en (1→4) a las cadenas de β -D-xilanos. Esta forma de mucílago es común en plantas superiores.

Teniendo en cuenta las dificultades encontradas para clasificar químicamente la estructura de los mucílagos ácidos, y basándose en el origen botánico y analogías estructurales, Bruneton (1999) incluye dentro de los mucílagos ácidos a las drogas que concuerdan en clasificar así la mayoría de los autores. En cambio, Aspinall (1970) incluye a los polisacáridos compuestos por cadenas de ácido-D-galacturónico y residuos de L-ramnosa. Por su parte Kuklinski (2000) únicamente determina que se encuentran principalmente en tres familias de vegetales: Plantagináceas. Lináceas y Malváceas, aunque no son exclusivos de ellas y que los diferentes tipos de mucílagos ácidos presentan numerosas propiedades que determinan su uso terapéutico:

- Emolientes y antiinflamatorios.
- Antitusígenos.
- Protectores de la mucosa del tracto digestivo.
- Mucílagos con propiedades hipoglucemiante e inmunoestimulantes

de tipo inespecífico.

Existen distintos mucílagos ácidos representativos de la familia Sterculiaceae, de los cuales la goma karaya o goma esterculia es el más importante. Es el exudado viscoso natural del árbol *Sterculia urens* Roxb., que se cultiva principalmente en la India, y que se obtiene mediante incisiones o quemadura de la madera. Se trata de un heteropolisacárido ramificado acetilado que tiene un alto componente de residuos de L-ramnosa, D-galactosa, ácido D-galacturónico y ácido D-glucorónico. La goma de buena calidad es incolora y translúcida, pero puede contener algunas impurezas pigmentadas. Es una de las gomas vegetales menos solubles que al contacto con el agua se hincha formando una suspensión de elevada viscosidad (Kirk-Othmer, 1980; Trease y Evans, 1988; Bruneton, 1999).

Se usa como laxante mecánico. La goma pulverizada es un agente para formar emulsiones, suspensiones, pastillas, pastas y polvos para fijación de dentaduras. En soluciones para fijar el cabello y en lociones para la piel (Tyler *et al.*, 1979; Trease y Evans, 1988; Bruneton, 1999).

Diversas reacciones pueden asegurar su identidad (Trease y Evans, 1988; Bruneton, 1999):

- Por técnicas fitoquímicas se permite su caracterización, por cromatografía en capa fina, de galactosa y de ramnosa en un hidrolizado sulfúrico de la goma.
- Histoquímicamente, se tiñe de rojo con la solución de rojo de rutenio.

Otras especies de la familia Sterculiaceae productoras de goma son *S. tomentosa* Guill. & Perr. y *S. tragacantha*, las cuales producen una goma denominada "goma M'Bep" o "goma de tragacanto" (Bruneton, 1999).

OBJETIVOS

GENERAL:

- Caracterizar histológicamente los sépalos de *Chirantodendron pentadactylon*.

ESPECÍFICOS:

- Describir y comparar la estructura histológica de sépalos herborizados y no herborizados de la flor de *Ch. pentadactylon*.
- Analizar las reacciones histoquímicas de los sépalos herborizados y no herborizados.
- Determinar los azúcares presentes en las cavidades de los sépalos herborizados y no herborizados.

MÉTODO

SITIO DE ESTUDIO

Las recolectas se efectuaron en Carrizal de Bravo, Municipio de Leonardo Bravo que se localiza al oeste de Chilpancingo, formando parte de la región centro del estado de Guerrero. Carrizal de Bravo está ubicado en los paralelos 17°33'17" de latitud norte y 99°50'17" de longitud oeste y su altitud es de 2400 msnm. La región presenta un clima templado subhúmedo (C(w)) con temperatura media anual de 15°C y una precipitación pluvial de 1 253 mm. La época de lluvias se presenta de junio a septiembre, siendo agosto el mes más lluvioso (INEGI, 1988).

Carrizal de Bravo se encuentra en medio de un bosque mesófilo de montaña, que se caracteriza por presentar tanto árboles perennifolios como caducifolios, siendo un bosque denso con una altura hasta de 35 m. Incluye además, varios estratos arbóreos, el arbustivo y el herbáceo, pudiéndose encontrar trepadoras leñosas. Entre los géneros más frecuentes se mencionan a: *Archibacharis*, *Celastrus*, *Smilax*, *Vitis*, etc, las epífitas están bien representadas como líquenes, musgos y pteridofitas, se han registrado helechos arborecentes, así como géneros de árboles como *Magnolia*, *Saurauia*, *Synardisia*, *Weinmannia*, etc. (Rzedowski, 1978).

◆ COLECTA

Se recolectaron flores en antesis, en el mes de marzo del 2001 para obtener ejemplares frescos (no herborizados). Las flores herborizadas (ya disponibles en el laboratorio) se colectaron en el mes de abril de 1999.

TECNICAS HISTOLÓGICAS

◆ FIJACIÓN Y DESHIDRATACIÓN

Se obtuvieron pequeños fragmentos de las flores herborizadas y no herborizadas a estudiar: parte media y basal de los sépalos (Fig. 2), después de lo cual se fijaron en FAA (Formaldehído-Ácido acético-Alcohol etílico al 96% y agua, 1:0.5:5:3.5).

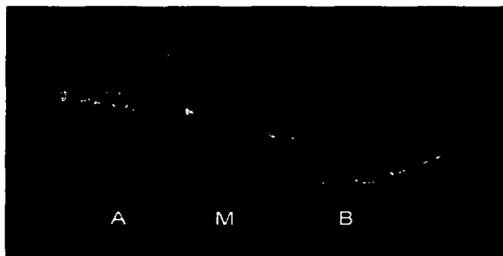


Fig. 2. Secciones en las que se dividió los sépalos (A=apical, M=media y B=basal).

Algunas de las flores fueron conservadas en fresco, mediante refrigeración, para la aplicación de técnicas histoquímicas.

Las flores herborizadas antes de la fijación, se rehidataron hirviéndolas en agua por un lapso de una hora, dejando enfriar por 24 horas y repitiendo la operación nuevamente (Diego, com. pers.).

Después de 24 horas, el material fijado (flores herborizadas y no herborizadas) se lavó en agua corriente por 2 horas para luego deshidratarlo en una serie gradual de alcohol etílico (30%, 50%, 70%, 85%, 96% , 100% y 100%) permaneciendo 24 horas en cada solución.

◆ INCLUSIÓN Y CORTES

Para la inclusión en parafina (paraplast), después del alcohol absoluto se cambió a xilol puro durante 10 minutos y luego a xilol:paraplast (1:1) por 24 horas y por último en paraplast puro durante 2-3 semanas a 56°C. Dicha inclusión se realizó en moldes de papel, para la obtención de cortes mediante el uso de un micrótomo de rotación (American Optical) calibrado a 6-8 μm . Los cortes se realizaron utilizando navajas desechables de acero.

También se efectuó la inclusión en LR-White, seguido del último cambio de alcohol, se pasó a otra serie graduada de LR-White y alcohol absoluto (1:3, 1:1 y 3:1) por 24 horas en cada uno a 4°C. Ulteriormente, se efectuaron dos cambios de LR-White puro de 24 horas cada uno. La polimerización de la resina se llevó a cabo a 55°C en ausencia de O_2 , dentro de cápsulas de gelatina. Los cortes se obtuvieron en un ultramicrotomo (MT2-B) con cuchillas de vidrio y calibrado a un grosor de 1 μm .

◆ TINCIÓN

Los cortes se desparafinaron en la estufa a 56°C por 1 hora, después se pasaron por tres cambios de xilol; uno de alcohol al 100% y otro al 96% por tres minutos cada uno. Los cortes se tiñeron con una tinción doble de safranina—verde rápido en metilcelosolve (López, *et al.*, 1998) y con la tinción cuádruple de Johansen (Johansen, 1940).

Los cortes en resina se tiñeron con azul de toluidina (López, *et al.* 1998).

◆ HISTOQUÍMICA

Para el análisis histoquímico se aplicaron las siguientes pruebas en cortes desparafinados:

- Ácido Peryódico—Reactivo de Shift (APS): Tiñe polisacáridos insolubles en magenta (Johansen, 1940).
- APS / Azul negro de naftol: Tinción doble para evidenciar polisacáridos insolubles en magenta y proteínas en azul (Engleman, com. pers.).
- Azul negro de naftol: Tiñe las proteínas en azul (López *et al.*, 1998)
- Cloruro férrico: Se tiñen los taninos hidrolizables en color azul-verdoso (Johansen, 1940).
- Floroglucina—ácido clorhídrico: Tiñe la lignina de color rojo violáceo (Curtis, 1986).
- Lugol: Tiñe las reservas de almidón de azul intenso a morado (López, *et al.*, 1998).
- Rojo de rutenio: Tiñe pectinas en tonalidad de rosa a rojo (O'Brien y Mc Cully, 1981). Tiñe mucílago en rojo (Trease y Evans, 1988; Bruneton, 1999).
- Rojo "O" de aceite: Tiñe la cutícula y reservas lipídicas de rojo (López, *et al.*, 1998).
- Vainillina—ácido clorhídrico: Tiñe taninos condensados de color rosa a rojo (Johansen, 1940).

Para los sépalos no herborizados las técnicas histoquímicas de APS, rojo "O" de aceite, floroglucina y cloruro férrico, se realizaron en corte de material en fresco, obtenidos manualmente con navaja de rasurar. En el caso de los sépalos herborizados no se realizó la prueba de APS.

◆ MORFOMETRÍA

Se efectuaron medidas de la longitud y número de células de los tricomas y del grosor de la epidermis adaxial y abaxial de los sépalos, para esto se

dividió en distintas zonas la parte media del sépalo (Fig. 3).

Las mediciones fueron realizadas en tres cortes distintos de sépalos de tres flores diferentes. El número de mediciones fue de: 360 para el grosor de la epidermis; 173 para la longitud de los tricomas; y 61 para el número de células.

Las mediciones se realizaron utilizando el programa Image Zeiss y fueron analizadas mediante análisis de varianza de una vía (Tukey) en el programa STATISTICS 98 para encontrar si había diferencias significativas.

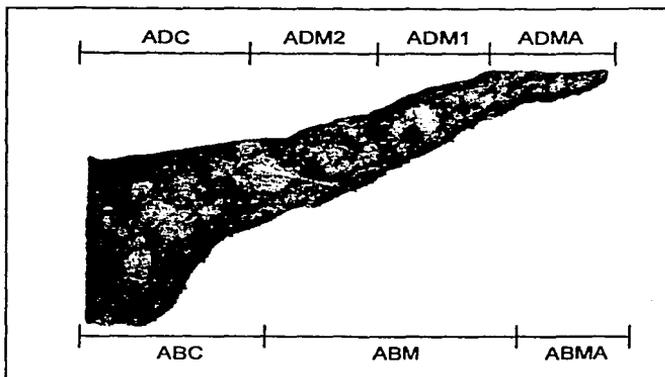


Fig. 3. Zonas en las que se dividió la parte media del sépalo en cortes transversales. Para la cara abaxial: abaxial centro (ABC), abaxial media (ABM) y abaxial margen (ABMA). Para la cara adaxial: adaxial centro (ADC), adaxial media dos (ADM2), adaxial media uno (ADM1) y adaxial media margen (ADMA).

◆ MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)

Se tomaron pequeños fragmentos de los sépalos de la flor no herborizada, tanto de la parte basal como de la parte media, que se encontraban fijados. Posteriormente se deshidrataron en etanoles graduales (30%, 50%, 70%, 85%, 96% , 100% y 100%), durante dos horas en cada uno. Las muestras se procesaron en una desecadora de punto crítico con CO₂ marca Bal-Tec, y se colocaron en porta muestras metálicos para ser cubiertas con una fina capa de oro con una ionizadora CPD 030. Las observaciones se realizaron en el microscopio electrónico de barrido JEOL 5310 LV, donde se tomaron placas fotográficas del material y se capturaron fotomicrografías.

DETERMINACIÓN DE LOS AZÚCARES CONTENIDOS EN LAS CAVIDADES DE LOS SÉPALOS

◆ DETERMINACIÓN DE LOS SACÁRIDOS EN FLORES FRESCAS

Se efectuó una cromatografía bidimensional del contenido de las cavidades de las flores en fresco, tanto para la parte basal como para la parte media. Con una navaja de rasurar se realizó un corte transversal en la base de los sépalos, y con ayuda de un tubo capilar se obtuvo una muestra de la sustancia viscosa que se aplicó directamente en la placa cromatográfica de gel de sílice (60 F₂₅₄, Merck), que se corrió con una mezcla de Propanol: Etanol: Agua (7:1:1). Posteriormente, se aplicaron soluciones en agua destilada (12mg/ml) de los nueve azúcares estándares (Merck) : D(+)manosa, D(-)arabinosa, ribosa, D(+)glucosa, sacarosa, D(-) fructosa, D(+)galactosa, xilosa y ramnosa, y se corrió en una mezcla de Acetonitrilo: Propanol: Acetato de etilo: Agua (85:20:20:15).

◆ AISLAMIENTO Y DETERMINACIÓN DE LOS SACÁRIDOS DE LA SUSTANCIA VISCOSA DE LAS FLORES HERBORIZADAS

▪ Extracción de la sustancia viscosa

Se molieron 84.65g de flores secas de *Ch. pentadactylon* en molino mecánico hasta obtener un triturado muy fino para su posterior extracción selectiva por la técnica de Soxhlet: se produce un goteo que moja completamente el cartucho que contiene la harina de la flor, efectuándose entonces la extracción de la sustancia afín con el disolvente empleado; los solutos disueltos se van concentrando en el matraz de fondo redondo que contiene el disolvente, el cual se recicla a través del sistema.

Se efectuó una primera extracción con hexano (500ml/3 veces/8h), para eliminar las grasas y compuestos polares, y una segunda extracción con etanol (500ml/4 veces/8h), con el objeto de separar otras substancias de mayor polaridad.

Se dejó secar el material molido luego de ser sometido a las extracciones anteriores, registrando un peso de 72.8 g. Se colocó en un cristizador y se le agregó ácido acético en agua al 1% en cantidad suficiente para que el material se suspendiera y se agitó durante 5h con un agitador mecánico. A continuación la mezcla se vació en embudos con papel filtro plegado, el filtrado se colectó en matraces Erlenmeyer de 500 ml, y permaneció así hasta que el escurrimiento de la sustancia mucilaginoso fuera completo.

Inmediatamente se le agregó etanol para provocar la precipitación del compuesto, el cual se filtró, se lavó con etanol y se colocó en un desecador

al vacío para que se secura totalmente. La cantidad final del extracto fue de 167 mg.

▪ **Hidrólisis**

Al precipitado seco se le añadió H_2SO_4 2N para su ulterior ebullición durante 18h. El jarabe que se obtuvo de la hidrólisis se neutralizó a pH 6 con $BaCO_3$, luego se filtró y se concentró al vacío mediante rotaevaporización. Posteriormente se congeló en nitrógeno líquido y se liofilizó.

▪ **Identificación de los azúcares**

Con el producto de la hidrólisis previamente disuelto en agua se realizó una cromatografía bidimensional en placa fina con gel de sílice (60 F₂₅₄, Merck). En la primera dimensión se corrió el producto, siendo el eluyente empleado Propanol: Etanol: Agua (7:1:1). La segunda dimensión se corrió con Acetonitrilo: Propanol: Acetato de etilo: Agua (85:20:20:15), con soluciones acuosas de azúcares estándares (Merck) disueltos en agua destilada (12mg/ml) como referencia. Los azúcares empleados fueron: D(+)-manosa, D(-) arabinosa, ribosa, D(+)-glucosa, sacarosa, D(-)-fructuosa, D(+)-galactosa, xilosa y ramnosa.

RESULTADOS

CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA DE LOS SÉPALOS

SÉPALOS NO HERBORIZADOS

MORFOLOGÍA EXTERNA

La flor de *Ch. pentadactylon* es gamosépala y sus cinco sépalos son carnosos. Su cara externa está revestida por abundantes tricomas, que a simple vista, dan el aspecto de una fina capa de polvo café-rojizo. En esta cara, la base de cada sépalo es convexa, y se aprecia una continuidad de una protuberancia en forma de costilla que llega hasta el ápice (Fig. 4). La parte libre del sépalo en el centro de su cara adaxial presenta una zona lisa, brillante y roja, sin embargo, hacia los márgenes del mismo se torna opaca. Asimismo, en la base se forma una concavidad de color verde que corresponde a una región secretora, que forma el nectario (Fig. 5). Al momento de efectuar la disección del sépalo, se observa que el tejido presenta oquedades de las que emerge una sustancia incolora, transparente y de consistencia viscosa (Fig. 6).

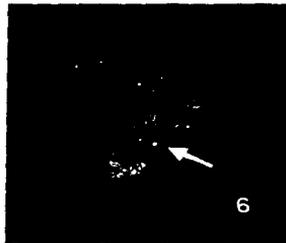
Al microscopio electrónico de barrido (MEB), se confirmó que la cara abaxial de los sépalos está cubierta en su totalidad por abundantes tricomas estelados, por lo que no se puede ver la epidermis (Fig. 7). Por otro lado, en la cara adaxial de la base del sépalo que corresponde al tejido secretor, muestra numerosos tricomas glandulares pluricelulares y tricomas bicelulares de gran tamaño, por lo que no es posible observar la epidermis. Al recorrer este tejido hacia el ápice, poco antes de que el nectario termine, se nota la ausencia de los tricomas bicelulares, después, la superficie cambia por una epidermis lisa, sin tricomas y sin estomas (Fig. 8a y 8b).



Flor de manita fresca. Protuberancia (flecha).

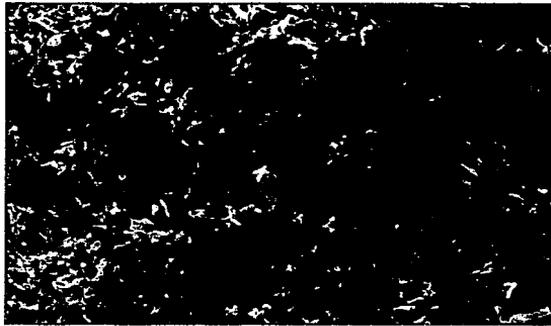


Cara adaxial del sépalo. Nectario (N).

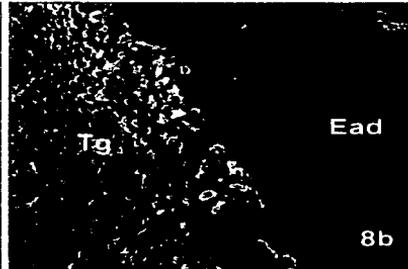


Sección de nectario. Sustancia mucilaginosa (flecha).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Tricomas estelados en la cara abaxial. MEB X200.



Secciones del nectario. La ausencia de tricomas indica el término del tejido secretor. *Izquierda*: Zona basal del nectario. Tricomas pluricelulares glandulares (Tg) y tricomas bicelulares (flecha). *Derecha*: Zona apical del nectario. Tricomas pluricelulares glandulares (Tg). Epidermis adaxial sin tricomas (Ead). MEB X150.

MORFOLOGÍA INTERNA

◆ PARTE APICAL Y MEDIA DE LOS SÉPALOS

Debido a que no se encontraron diferencias histológicas e histoquímicas en estas dos secciones de los sépalos, en lo siguiente se considera a toda la parte libre de los sépalos como una sola: parte media.

En corte transversal, de manera general, se observó una epidermis abaxial con abundantes tricomas estelados, un parénquima estructural que contiene numerosas cavidades y una epidermis adaxial más gruesa que la abaxial y sin tricomas (Fig. 9).

La epidermis abaxial es uniestratificada, cuyo grosor es muy homogéneo (Tabla 1). Las células que la forman son de cúbicas a irregulares y, comúnmente, presentan una base más delgada (cara interna) que el ápice (cara externa), lo que produce que la epidermis presente ondulaciones a todo lo largo de la misma (Fig. 10). Con la tinción de safranina-verde rápido, se observa que el citoplasma de dichas células es hialino y un núcleo teñido en rosa intenso (Fig. 10 y 12).

Los tricomas estelados están formados por grupos de células alargadas no unidas en la base, que se encuentran distribuidos en la epidermis (Fig. 11). En dichas células es frecuente observar los núcleos, y en el citoplasma se aprecian grandes vacuolas que se tiñen rosa intenso con safranina-verde rápido. Hacia los márgenes del sépalo, es común encontrar, algunos tricomas sobre elevaciones de la epidermis debidas a grupos de 3 a 5 células del parénquima (Fig. 12).

En el margen de los sépalos, los tricomas estelados están formados por células de menor tamaño y menor número de ellas (Fig. 13) (Tabla 2 y 3). En esta zona, las células epidérmicas son en su mayoría irregulares y la epidermis no está muy bien definida (Fig. 13).

El parénquima está formado por células esféricas e irregulares en su mayoría, cuyas paredes celulares van de rectas a sinuosas (Fig. 14). El tamaño de las mismas aumenta al alejarse de la epidermis, pero vuelve a disminuir alrededor de los haces vasculares y de las cavidades, donde generalmente son alargadas. Con la tinción de safranina-verde rápido se observa que la pared de las células parenquimatosas se tiñe verde al igual que su citoplasma hialino (Fig. 15), mientras que en los márgenes en algunas células, su contenido se tiñe de rosa (Fig. 16).

En el interior de las células parenquimatosas, principalmente en las que se encuentran en el estrato subsiguiente de la epidermis, y así como las que rodean a los haces vasculares, es frecuente encontrar drusas solitarias de diversos tamaños, pero tan grandes en algunas ocasiones que ocupan casi todo el citoplasma de las células (Fig. 17). Con luz polarizada se aprecia la

considerable cantidad de ellas (Fig. 18). En los cortes transversales de sépalos, se observan elementos traqueales helicoidales (Fig. 19).

Los haces vasculares están rodeados de células parenquimatosas esféricas y pequeñas, algunas de las cuales contienen un material que se tinte de rojo brillante con safranina—verde rápido. Por la distribución del floema con respecto al xilema, son de tipo colateral, y se encuentran en grupos formando un semicírculo, con la parte abierta dispuesta hacia la cara adaxial (Fig. 20). La posición de la vena media corresponde al centro de la costilla del sépalo, y un poco más hacia los extremos se observan dos venas de tamaño mediano, siguiendo la misma dirección y hasta llegar a los márgenes de los sépalos, se pueden contar hasta seis venas medianas y en ocasiones, otras tantas muy pequeñas, formadas por un solo par de haces vasculares, sin embargo, la disposición del floema y el xilema se mantienen.

Se observó que las cavidades que se encuentran en el parénquima son, en general, grandes y numerosas. Las cavidades son lisógenas ya que están delimitadas únicamente por la pared de las células parenquimatosas inmediatas que las rodean. En ocasiones se encuentran varias cavidades juntas, tan solo separadas por una pared celulósica (Fig. 21). En cortes observados en MB se determinó que las cavidades forman canales, que en corte transversal se observan de forma circular u ovalada y la profundidad (Fig. 22a), mientras que el tamaño y la trayectoria de los mismos se aprecia mejor en corte longitudinal (Fig. 22b). El aspecto del contenido de las cavidades se observa de manera distinta dependiendo de la técnica que se emplea para su inclusión, así como la técnica de tinción. En cortes en paraplast, el contenido de las cavidades tiene un aspecto reticular y que se aprecia muy poco en tono verde con la tinción de safranina—verde rápido (Fig. 21) y que evidencia mejor de púrpura con la tinción cuádruple de Jonhansen (Fig. 23a), en tanto que en cortes del material incluido en LR-White el contenido se encuentra formando estratos, los cuales pueden ser concéntricos o en filas (Fig. 23b).

En la cara adaxial de los sépalos, la epidermis es uniestratificada y ligeramente ondulada. En corte transversal de sépalo se observa que la forma de las células epidérmicas y el grosor de las mismas cambia a lo largo de la cara adaxial, y disminuyendo de manera gradual del centro de los sépalos hacia el margen. Además su grosor es mayor que el de la cara abaxial (Tabla 1) (Fig. 24a y 24b). En el centro de los sépalos, la epidermis está formada por células rectangulares con su eje mayor en sentido antinicial, y algunas otras son esféricas o irregulares (Fig. 24a) en cambio la forma rectangular periclinal es más frecuente en los márgenes (Fig. 24b). En cortes más finos se puede observar las células irregulares de la epidermis (Fig. 25).

De la zona ADM1 hacia el margen, la epidermis comienza a presentar tricomas estelados, pero son escasos, de menor tamaño y de menor número de células que los localizados en la cara abaxial (Tabla 2 y 3)(Fig. 26a y 26b).

◆ PARTE BASAL DE LOS SÉPALOS

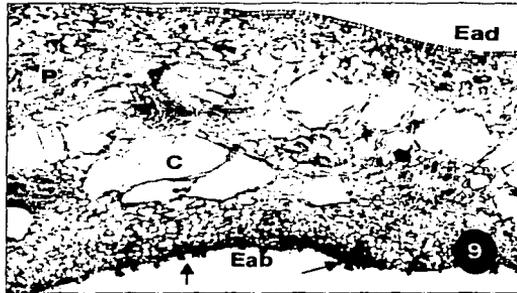
La cara abaxial mantiene las mismas características de la parte media de los sépalos, estando compuesta por una epidermis uniestratificada que sostiene abundantes tricomas estelados (Fig. 27a y 27b).

En la base adaxial de los sépalos se encuentra el tejido secretor. En cortes longitudinales se observa el inicio, del ápice hacia la base del sépalo, ya que la epidermis, que al principio carecía de tricomas, muestra una depresión acompañada por la presencia de tricomas glandulares (Fig. 27a), y más hacia la base del sépalo, se observan también, numerosos tricomas bicelulares y de gran tamaño, por lo que solo pueden ser observados completos en MEB (Fig. 27b y 28).

Los tricomas glandulares están unidos a la epidermis por un pie constituido por una o dos células y un cuerpo pluricelular (Fig. 29). El promedio del largo de los tricomas es de $86.618 \pm 7.047 \mu\text{m}$. Con la tinción de safranina-verde rápido, se tiñen de rosa intenso las células basales de los tricomas glandulares y los núcleos de las células que forman el cuerpo de los tricomas, que contrastan con el citoplasma verde (Fig. 30). Es frecuente encontrar que las células más exteriores que forman el cuerpo del tricoma, se desprenden o se colapsan (Fig. 30 y 31).

La epidermis continúa siendo uniestratificada con células de tamaño y forma similares a la de la parte media (Fig. 30), sin embargo, el parénquima que se encuentra debajo de ella es característico al de un tejido nectarífero, el cual está compuesto por células mucho más pequeñas, de formas poliédricas, esféricas e irregulares. Los primeros dos o tres estratos de las células parenquimatosas están bien delimitados de manera paralela a la epidermis, sin embargo, los estratos siguientes no cumplen con esta continuidad y se desarreglan. En sentido perpendicular a la epidermis se pueden contar, aproximadamente, doce estratos de células, antes de encontrar las cavidades (Fig. 32). Con la tinción cuádruple de Jonhansen se puede observar un cordón de células que se tiñen de rojo intenso, las cuales probablemente sean canales laticíferos (Fig. 32).

En el interior de las células del parénquima es frecuente observar grandes núcleos (Fig. 30) y un citoplasma granular, el cual es más denso y constante en las células que se encuentran hacia la base de los sépalos (Fig. 33a y 33b).



Corte transversal de sépalo. Epidermis abaxial (Eab) con tricomas (flechas). Parénquima estructural (P) con cavidades (C). Epidermis adaxial sin tricomas. X10.



Epidermis abaxial uniestratificada y sinuosa. Presenta abundantes tricomas estelados. X40.



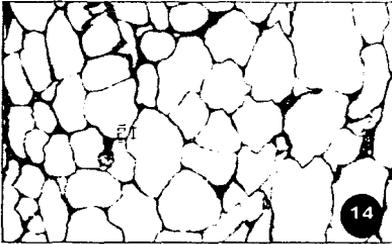
Las células que conforman al tricoma no están unidas en la base. MEB X750.



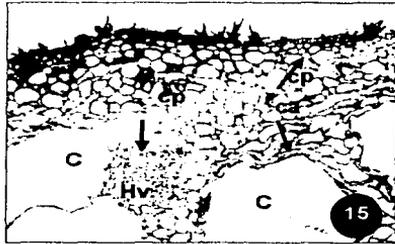
Tricoma estelado sobre elevación de la epidermis abaxial. Vacuola (V). Núcleo (N) X100.



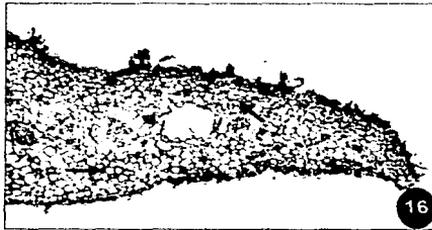
Tricomas estelados en el margen del sépalo. La epidermis no está bien definida. X40.



Las células parenquimatosas son irregulares y algunas esféricas. Las paredes van de rectas a sinuosas. X100.



Células del parénquima. Pequeñas (cp) bajo la epidermis y rodeando a los haces vasculares (Hv). Alargadas (ca) rodeando las cavidades (C). El citoplasma es hialino. X20.



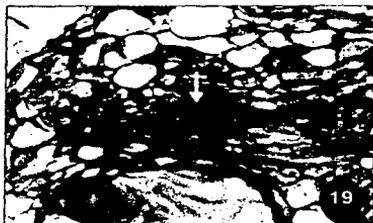
Corte transversal del margen de sépalo. Las células parenquimatosas almacenan un contenido que se tiñe de rojo (flechas). X10.



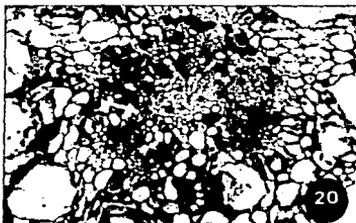
Drusas cercanas a la epidermis abaxial (flecha).
Azul negro de naftol. X40.



Distribución de las drusas en el sépalo (flechas).
Luz polarizada X10.

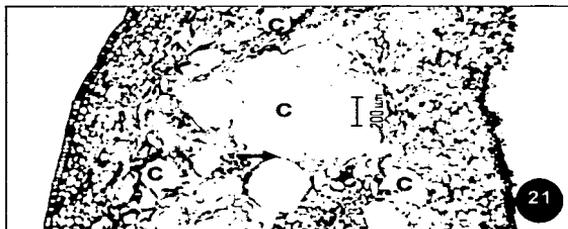


Elemento traqueal helicoidal (flecha) . X40.



Haz vascular central. Algunas células que rodean a los haces almacenan un contenido que se tinte en rojo (flecha). X50.

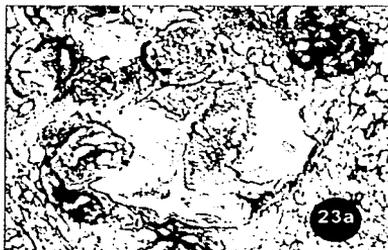
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



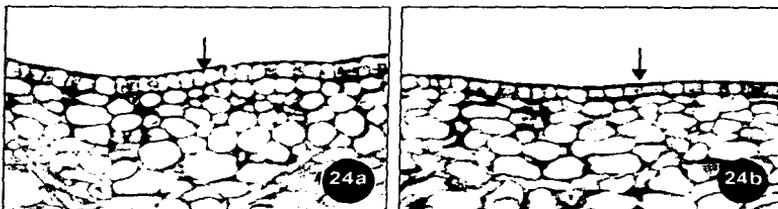
Corte transversal de sépalo. Las cavidades lisógenas (C) son grandes y numerosas. En ocasiones solo las separa una pared celulósica (flecha). X10.



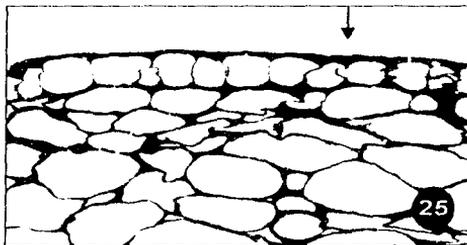
Las cavidades forman canales. *Izquierda*: Corte transversal que muestra la profundidad de las cavidades. MEB X350. *Derecha*: Corte longitudinal en la que se observa el tamaño y la trayectoria de los canales. MEB X50.



Aspecto del contenido de las cavidades. *Izquierda*: Reticular en color púrpura con la tinción cuádruple de Jonhansen X40. *Derecha*: Estratos en filas (ef) o concéntricos (ec). Azul de toluidina. X100.



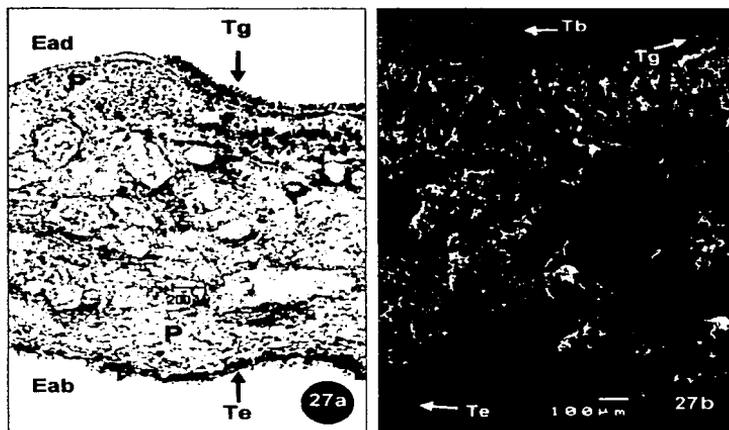
El grosor de la epidermis adaxial disminuye del centro del sépalo hacia los márgenes. *Izquierda*: Sección central del sépalo. Las células son rectangulares anticlinales (flecha) o esféricas. X40. *Derecha*: Sección marginal del sépalo. Las células son rectangulares periclinales (flecha) o esféricas. X40.



Células irregulares en la epidermis adaxial (flecha). X60.



Tricomas estelados en la epidermis adaxial del margen de los sépalos. *Derecha*: Los tricomas son escasos que dejan ver la epidermis adaxial (Ead). MEB X500. *Izquierda*: Las células que conforman a los tricomas son pocas y en cortes transversales aparecen solitarias (flecha). X100.



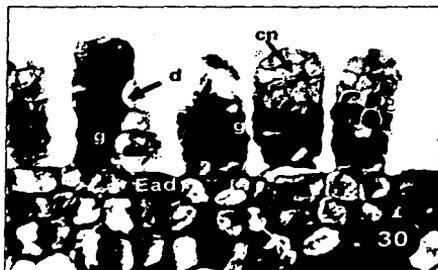
Cortes longitudinales de la base del sépalo. La epidermis abaxial (Eab) sigue presentando los tricomas estelados (Te). *Izquierda*: La epidermis adaxial sin tricomas, posterior a una elevación, presenta tricomas glandulares pluricelulares (Tg). El parénquima estructural (P) cambia por un parénquima de secreción (Ps) formado por células que almacenan gránulos que se tiñen de rojo (g) con la técnica cuádruple de Jonhansen. X10. *Derecha*: En una región más basal y por MEB se puede observar a los tricomas glandulares (Tg) acompañados de tricomas bicelulares (Tb). X75.



Tricomas glandulares y bicelulares. Los tricomas bicelulares son grandes y numerosos. MEB X200.



Tricomas glandulares. La base (B) está formada por dos células y el cuerpo (Cu) es pluricelular. La flecha negra señala un resto de tricoma bicelular. X80.5.



Epidermis adaxial (Ead) uniestratificada. Los tricomas gránulos que se tiñen de rojo brillante (g). Los tricomas en el ápice presentan células nucleadas con citoplasma hialino (cn). Las células externas del cuerpo del tricoma se desprenden o se crenan (d). Núcleos de células parenquimatosas (N). Safranina—verde rápido. X100.



Tricomas glandulares y bicelulares. Las células externas del cuerpo del tricoma se desprenden o se crenan (flecha). MEB. X500.



Parénquima del nectario. Presenta células pequeñas y que contienen gránulos (flecha) afines a la safranina. Los dos primeros estratos del parénquima son paralelos a la epidermis (ep), los demás se desarreglan. Cavidad (C). Cordón de células (cc). Cuádruple de Jonhansen. X40.



Cortes longitudinales de nectario. *Izquierda*: Al inicio del nectario (zona apical), el parénquima secretor (Ps) presenta pocas células que contienen gránulos rojos (g). Cuádruple de Jonhansen. X20. *Derecha*: Zona basal del nectario. El contenido granular es más denso y frecuente (g). Las células parenquimatosas tienen núcleos prominentes (N). Fragmentos de tricomas bicelulares (f). Safranina—verde rápido. X25.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

◆ PRUEBAS HISTOQUÍMICAS

APS

La tinción con APS para polisacáridos insolubles, tiñe las paredes y el contenido de los tricomas estelados en color magenta, además de las paredes de las células parenquimatosas (Fig. 34). El contenido de las cavidades se tiñe de magenta intenso (Fig. 35). Asimismo, en cortes de sépalos frescos se observa que en las cavidades de los sépalos hay gran cantidad de azúcares reductores, los cuales forman estratos concéntricos en el interior de ellas (Fig. 36).

APS / Azul negro de naftol

Se tiñen las paredes de las células parenquimatosas de magenta con tonalidades moradas y las cavidades contrastan en el tejido ya que se tiñen de magenta, lo que indica que el material que contienen es un tipo de azúcar (Fig. 37a y 37b). En el tejido secretor, las cavidades más cercanas a los tricomas glandulares, se tiñen de magenta muy intenso (Fig. 37b). En un acercamiento se observa que los tricomas bicelulares se tiñen de magenta, mientras que el citoplasma de algunas células del parénquima se tiñen de púrpura (Fig. 38).

Azul negro de naftol

En el tejido nectarífero hay reacción positiva para proteínas en el ápice de los tricomas, así como de manera particular, se tiñe el segundo estrato celular subsiguiente a la epidermis, resaltando también los núcleos celulares (Fig. 39). Del mismo modo, se evidencian las paredes de las células que componen al xilema de los haces vasculares (Fig. 40).

Cloruro férrico

La tinción para detectar taninos hidrolizables fue negativa.

Floroglucina—ácido clorhídrico

En la parte media de los sépalos con esta prueba se tiñó la cara exterior de la epidermis adaxial (Fig. 41a), indicando la presencia de compuestos lignificados. Además se obtuvo una reacción positiva en los elementos traqueales helicoidales (Fig. 41b).

Lugol

La tinción para detectar almidón fue negativa.

Rojo de rutenio

La tinción presentó reacción positiva en el contenido de las cavidades, dando un aspecto reticular o concéntrico (Fig. 42). En el tejido secretor el citoplasma de las células del parénquima y de los tricomas también

presentaron una reacción positiva al colorante en distintas tonalidades de rosa a rojo, que demuestra la presencia de pectinas o compuestos mucilaginosos (Fig. 43).

Rojo "O" de aceite

Ambas epidermis de los sépalos están recubiertas por una cutícula que se tiñó de rojo con esta prueba, siendo ligeramente mayor la reacción en la cara abaxial, pero sin recubrir a los tricomas (Fig. 44a y 44b). Sin embargo, la cutícula de la cara adaxial se engruesa en el nectario y cubre también a los tricomas glandulares, aunque ésta es delgada (Fig. 45a y 45b). No se observaron rupturas en la cutícula.

Vainillina—ácido clorhídrico

En el nectario se observa, en color rojo, los taninos condensados de algunas células del tejido nectarífero (Fig. 46a). La base de los tricomas glandulares dan reacción positiva a esta técnica. (Fig. 46b). Asimismo, los tricomas estelados contienen taninos condensados en su interior.



Las paredes (pa) de las células del parénquima y las vacuolas (V) de los tricomas estelados se tiñen con APS. X80.



Parte media del sépalo. El contenido de las cavidades (C) se tiñe de magenta intenso y tiene aspecto reticular. APS X10.



Corte en fresco. El contenido de las cavidades forma círculos concéntricos (flecha). APS. X100.



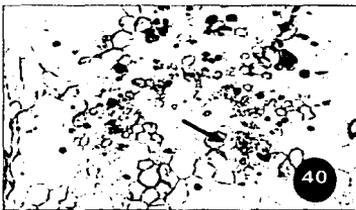
Cortes transversales de sépalo. APS—azul negro de naftol. Las paredes de las células del parénquima (P) se tiñen en morado. El contenido de las cavidades (C) se tiñe de magenta. *Izquierda*: Parte media. X10. *Derecha*: Parte basal. Las cavidades orientadas hacia la luz del nectario se tiñen de magenta intenso (flechas). X10.



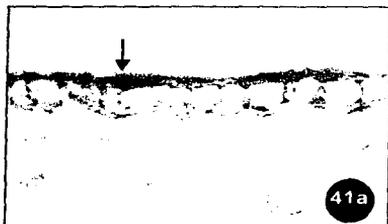
Nectario. Los tricomas bicelulares se tiñen de rosa y el citoplasma de células parenquimatosas de púrpura (flecha) con APS—azul negro de naftol. X40.



Nectario. El citoplasma de las células del ápice de los tricomas glandulares (Tg) y del estrato subepidérmico se tiñen de azul (Sep), así como los núcleos (N). Azul negro de naftol. X100.



Las paredes del xilema (flecha) dan reacción positiva al azul negro de naftol. X50.



Cortes en fresco de sépalo. Floroglucina—ácido clorhídrico. *Izquierda*: La cara exterior de la epidermis adaxial presentó reacción positiva (flecha). X100. *Derecha*: Elementos traqueales helicoidales. X40.



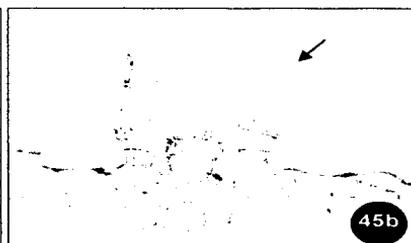
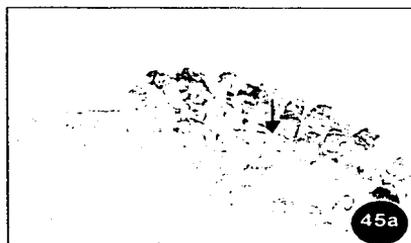
El contenido de las cavidades se arregla en estratos concéntricos (ec) y de manera reticular (r). Rojo de rutenio. X60.



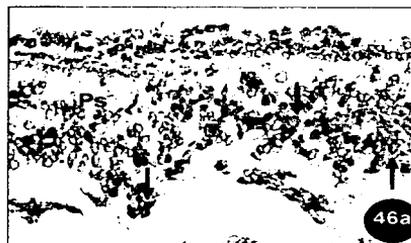
Nectario. El citoplasma (flechas) de las células del parénquima y de los tricomas glandulares se tiñen con rojo de rutenio. X60.



Cutícula (flechas) en cortes en fresco. Rojo "O" de aceite. *Izquierda*: La epidermis abaxial presenta una cutícula que no recubre a los tricomas. X100. *Derecha*: Cutícula en la epidermis adaxial. X100.



Cutícula en el nectario. Rojo "O" de aceite. *Izquierda*: La cutícula se engruesa en el nectario (flecha). X65. *Derecha*: La cutícula que envuelve a los tricomas glandulares es delgada (flecha). X100.



Cortes transversales de nectario. Vainillina—ácido clorhídrico. *Izquierda*: Se evidenciaron taninos condensados (flechas) en el citoplasma del parénquima (Ps). X20. *Derecha*: Taninos en la base de los tricomas glandulares (flecha). X80.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

◆ MORFOMETRÍA

▪ *Grosor de la epidermis*

Se encontraron diferencias significativas ($F_{(6,353)} = 188.1111$; $p < 0.001$) respecto al grosor de la epidermis, mediante análisis de varianza de una vía, en las siete zonas que se midieron (ABC, ABM, ABMA, ADMA, ADM1, ADM2 y ADC). Se encontró que el grosor de la epidermis para la cara abaxial es homogéneo para las tres zonas en que se dividió (ABC, ABM, ABMA) y el promedio del mismo es de $16.691 \pm 2.926 \mu\text{m}$. Por otro lado, para la cara adaxial sólo es uniforme para las zonas ADC y ADM2, cuyo promedio es de $32.252 \pm 3.408 \mu\text{m}$, y luego disminuye en la zona ADM1 a $27.67 \pm 4.677 \mu\text{m}$ y en la zona ADMA es de $21.923 \pm 3.67 \mu\text{m}$ (Tabla 1).

Tabla 1. Prueba de Tukey para el grosor de la epidermis. $\alpha = 0.05$.

ZONA	N	PROMEDIO (μm)	Desviación estándar (μm)	SIMILITUD			
ABMA	75	15.39	2.4	X			
ABC	26	16.38	3.0	X			
ABM	53	17.50	2.9	X			
ADMA	75	21.92	3.7		X		
ADM1	67	27.67	4.7			X	
ADM2	53	31.81	2.2				X
ADC	59	32.64	4.2				X
Total	360	24.67	7.3				

▪ *Longitud y número de células de los tricomas*

De la misma forma, se establecieron diferencias significativas en la longitud de las células que forman a los tricomas estelados ($F_{(4,168)} = 5.7482$; $p = 0.000232$). La longitud de los tricomas en la cara abaxial aumenta de la zona ABC a la ABM, para volver a disminuir en la ABMA. En la cara adaxial, el tamaño de los tricomas es homogéneo. La longitud en el margen de los sépalos (zonas ADMA y ABMA) es similar en ambas caras. (Tabla 2). En el sépalo los tricomas más largos están en la parte media de la cara abaxial (zona ABM).

Tabla 2. Prueba de Tukey para la longitud de los tricomas estelados. $\alpha=0.05$.

ZONA	N	PROMEDIO (μm)	Desviación estándar(μm)	SIMILITUD	
ADMA	18	55.14	16.1	X	
ABMA	29	57.42	13.0	X	
ABC	58	65.64	16.1	X	X
ADM1	22	68.16	23.6	X	X
ABM	46	74.99	22.8		X
Total	173	65.98	19.7		

Con respecto al número de células en los tricomas estelados ($F_{(4,56)}=23.0675$; $p<0.0000001$), se determinó que es similar para la cara adaxial (zonas ADM1 y ADMA), mientras que en la cara abaxial, el número de células aumenta del centro hacia la parte media de los sépalos, para volver a disminuir en el margen (Tabla 3).

Tabla 3. Prueba de Tukey para el número de células que componen a los tricomas estelados. $\alpha=0.05$.

ZONA	N	PROMEDIO (μm)	Desviación estándar (μm)	SIMILITUD			
ADMA	11	1.63	1.2	X			
ADM1	10	2.50	0.9	X	X		
ABMA	10	4.60	0.9		X	X	
ABC	18	6.22	2.4			X	X
ABM	12	7.83	2.2				X
Total	61	4.83	2.8				

SÉPALOS HERBORIZADOS

MORFOLOGÍA EXTERNA

La morfología externa de la flor cambia notablemente con respecto a los sépalos no herborizados. El tamaño de los sépalos se reduce y cambian de carnosos a coriáceos y la superficie es rugosa debida a la pérdida de agua. El conjunto de tricomas estelados le dan a la cara exterior un color ferruginoso y en la cara interior se observa que carece de brillo (Fig. 48). Durante la disección no se observó la presencia de una sustancia de aspecto viscoso.

MORFOLOGÍA INTERNA

◆ PARTE MEDIA DE LOS SÉPALOS

En general, los tejidos se encuentran modificados y destruidos, especialmente hacia los márgenes de los sépalos. Sin embargo, las cavidades se ven conservadas (Fig. 49). Por lo anterior, muchas de las estructuras celulares no pueden observarse, por ejemplo, núcleos, vacuolas, forma de las paredes, etc.

No es posible obtener características detalladas de la epidermis abaxial, ya que las células de la misma están comprimidas y desarregladas. En observaciones generales, los tricomas estelados conservan el tamaño de células que los forman pero están frecuentemente rotos (Fig. 50a). Debido a que la superficie del tejido se contrae por la desecación, la epidermis da el aspecto de contener mayor cantidad de tricomas. Las elevaciones de la epidermis son más pronunciadas (foto 50b).

El parénquima estructural se encuentra muy reducido. Las células del parénquima se ven muy irregulares, desarregladas y comprimidas. En los puntos que rodean a las cavidades se observa solo la pared de las células parenquimatosas y no así su citoplasma (Fig. 51).

Las cavidades mantienen su forma, es decir, no se observan comprimidas y ocupan una gran parte del parénquima (Fig. 51). Con la tinción cuádruple de Jonhansen se observa que el aspecto interno de las cavidades en forma de red se mantiene (Fig. 52).

El tejido localizado entre los haces vasculares se compacta y se observan las bandas de xilema unidas (Fig. 53). Los elementos traqueales helicoidales se mantienen sin cambios (Fig. 54).

La epidermis abaxial constantemente se fragmenta, por lo que no es posible observar la continuidad de la misma. La forma de las células se mantiene constante y con la tinción de safranina-verde rápido se tifican ambos lados de la epidermis en color rojo (Fig. 54).

◆ PARTE BASAL DE LOS SÉPALOS

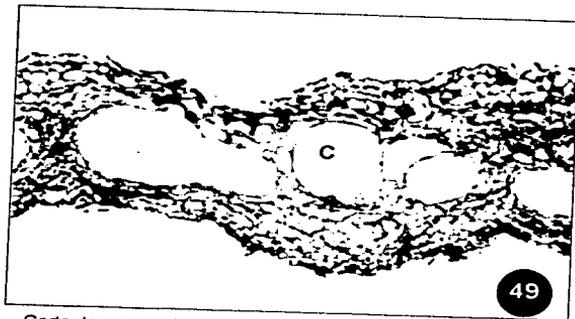
El tejido nectarífero presenta diferencias con respecto al nectario no herborizado. El parénquima que se encuentra bajo los tricomas glandulares no tienen un citoplasma granular (Fig. 55 y 56). En cortes longitudinales se observa que el contenido de los canales es más denso que en la parte media del sépalo (Fig. 55).

La epidermis adaxial presenta tricomas glandulares pluricelulares que se observan desarreglados. El citoplasma de las células que componen a los tricomas glandulares se tifican de rojo brillante con la tinción de safranina-verde rápido (Fig. 56).

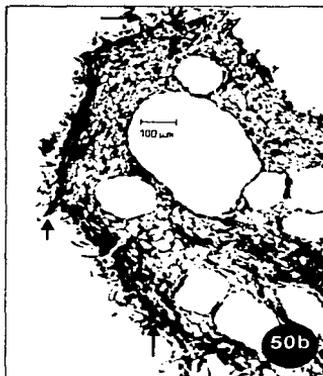
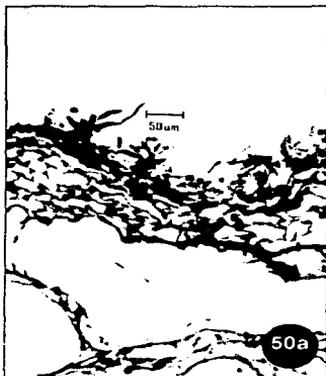
En esta sección del sépalo, en la cara abaxial, se observa que el tejido parenquimatoso, almacena un contenido que se evidencia de rojo brillante con la tinción de safranina-verde rápido (Fig. 57).



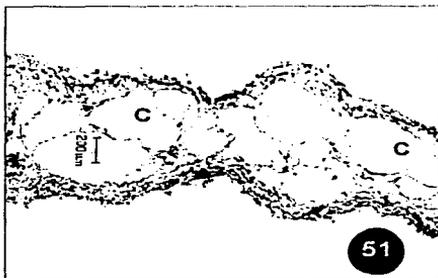
Flor herborizada. La cara interna de los sépalos carece de brillo.



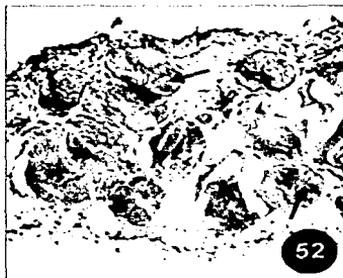
Corte transversal del margen del sépalo herborizado. Los tejidos están muy dañados. Las estructuras mejor conservadas son las cavidades (C).X10.



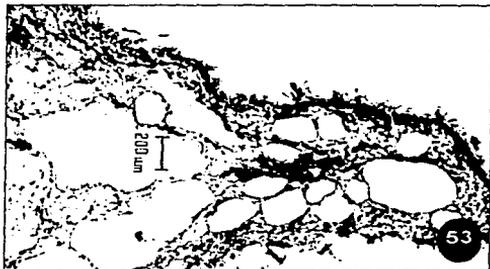
Tricomas estelados en la epidermis abaxial. *Izquierda*: Los tricomas mantienen su tamaño. X40. *Derecha*: La epidermis está reducida, lo que da el aspecto de sostener más tricomas. Las elevaciones de la epidermis son frecuentes (flechas). X30.



Corte transversal del sépalo herborizado. El parénquima estructural (P) está muy reducido. Las estructuras mejor conservadas son las cavidades (C). X10.



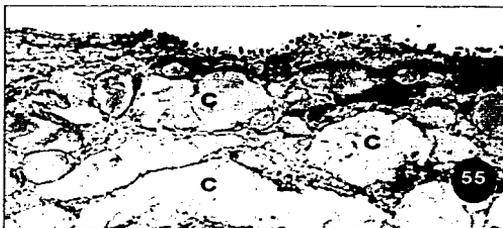
El aspecto reticular (flechas) del interior de las cavidades se mantiene. Cuádruple de Jonhansen. X20.



Haz vascular central. Las bandas de xilema se encuentran unidas (flecha). X15.



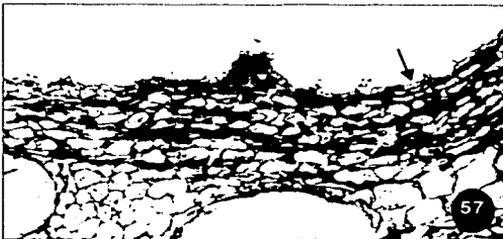
Epidermis adaxial. Ambas caras de la epidermis se tiñen en rojo (flechas), al igual que los elementos traqueales (Et). X40.



Corte longitudinal de nectario. El parénquima (Ps) del tejido nectarífero no muestra contenido granular. El contenido de las cavidades se ve más intenso. X25.



La epidermis adaxial está desarreglada (Ead). Los tricomas glandulares almacenan una sustancia que los tiñe completamente de rojo (Tg). Parénquima secretor (P). Cavidades (C). X40.



Parte basal del sépalo. La epidermis abaxial está desarreglada (flecha negra). El parénquima presenta células que almacenan una sustancia que se tiñe de rojo (flechas azules). X40.

◆ PRUEBAS HISTOQUÍMICAS

Las pruebas histoquímicas de APS, APS—Azul negro de naftol y azul negro de naftol presentaron la misma reacción positiva que para los sépalos no herborizados. De igual forma, las técnicas de cloruro férrico y lugol fueron negativas.

Por lo anterior solo se muestran los resultados donde se encontraron diferencias de tinción.

Floroglucina—ácido clorhídrico

En la parte media de los sépalos con esta prueba se indica la presencia de compuestos lignificados al teñirse en rojo principalmente en las paredes periclinales de las células de la epidermis adaxial (Fig. 58).

Rojo de rutenio

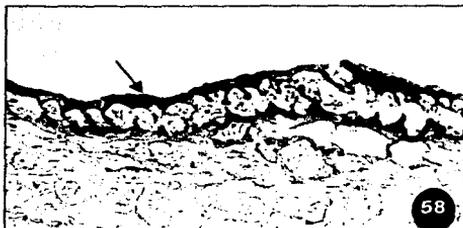
El contenido de las cavidades presenta reacción positiva con esta tinción. El aspecto interno es de red. No se observaron depósitos en círculos concéntricos (Fig. 59).

Rojo "O" de aceite

Ambas epidermis están totalmente cubiertas por una cutícula, que se evidenció de rojo al aplicar esta prueba, sobre todo la zona del nectario. Las reacciones fueron más marcadas que para los sépalos frescos (Fig. 60).

Vainillina—ácido clorhídrico

En el nectario se observa, en color rojo, que el ápice de los tricomas glandulares contienen taninos condensados (Fig. 61a). En la cara abaxial del nectario, se evidencia que el contenido de las células parénquimatosas también se tiñen de rojo (Fig. 62b).



Las células epidérmicas presentan paredes muy lignificadas (flecha), sobre todo en la cara interna y externa. Floroglucina—ácido clorhídrico. X100.



El contenido de las cavidades forma redes (flecha). Rojo de rutenio. X40.



La cutícula (flecha) es muy gruesa en el nectario. Rojo "O" de aceite. X40.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Cortes transversales de nectario. Vainillina—ácido clorhídrico. *Izquierda*: Los tricomas contienen taninos condensados (flecha). No hay reacción positiva en el parénquima. X100. *Derecha*: Cara abaxial del nectario. El parénquima contiene taninos condensados (flecha). X40.

IDENTIFICACIÓN DE LOS SACÁRIDOS DE LAS CAVIDADES DE LOS SÉPALOS

FLOR FRESCA

PARTE MEDIA DE LOS SÉPALOS

La cromatografía bidimensional muestra una mancha que corresponde con la fructosa, y otra muy tenue que se corresponde con la glucosa (Fig. 62).

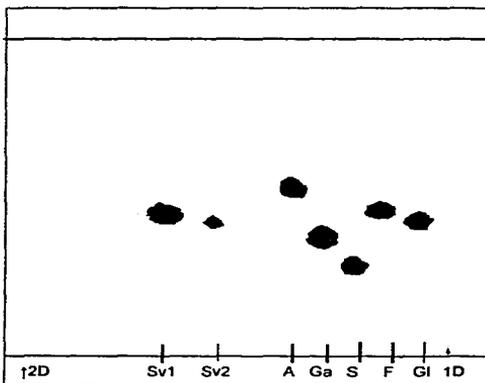


Fig. 62. Cromatografía bidimensional de la sustancia viscosa de la parte media de los sépalos. Las manchas encontradas corresponden a la fructosa (Sv1) y a la glucosa (Sv2). A= arabinosa, F= fructosa, Ga= galactosa, Gl= glucosa, S= sacarosa.

PARTE BASAL DE LOS SÉPALOS

Después de un perfil cromatográfico preliminar para descartar algunos azúcares estándares (ribosa y D(+))manosa), se realizó una placa cromatográfica bidimensional empleando únicamente los azúcares estándares más parecidos a la sustancia viscosa de los sépalos: D(-) arabinosa, D(+))glucosa, D(-)fructuosa, sacarosa y D(+))galactosa. En la cromatografía bidimensional la sustancia viscosa presentó dos manchas, que se encuentran rango de los sacáridos. Dichas manchas revelan, que la sustancia viscosa está compuesta de un monosacárido, la fructuosa y de un disacárido, la sacarosa (Fig 63).

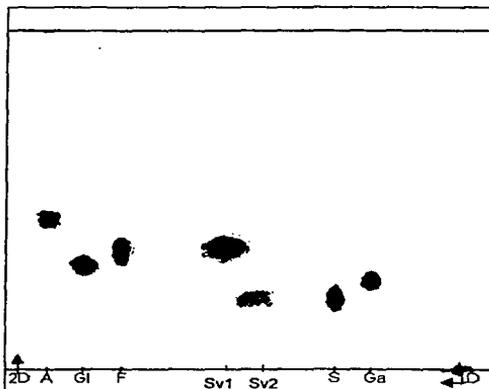


Fig. 63. Cromatografía bidimensional de la sustancia viscosa de la parte basal de los sépalos. La mancha menos polar (Sv1), corresponde a la fructosa (F) y la más polar (Sv2), a la sacarosa (S). A= arabinosa, Ga= galactosa, Gl= glucosa.

FLOR SECA

En la extracción de las flores secas, no se observó la presencia de un precipitado abundante de consistencia viscosa (167mg, 0.23%). En el perfil cromatográfico del hidrolizado se presentan dos manchas, que se corresponden con los monómeros de fructuosa y glucosa.

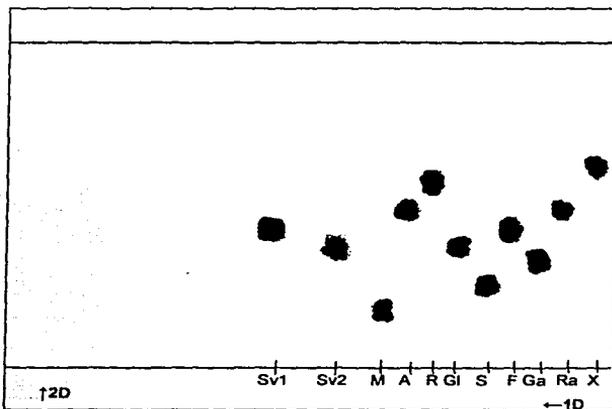


Fig. 64. Cromatografía bidimensional del hidrolizado obtenido de las flores secas. Sv1 corresponde a la fructosa (F) y Sv2 a la glucosa (Gl). A= arabinosa, Ga= galactosa, M= manosa, Ra= ramnosa, R= ribosa, S= sacarosa, X= xilosa

DISCUSIÓN

HISTOLOGÍA DE LOS SÉPALOS

SÉPALOS

De las características anatómicas distintivas para la familia Sterculiaceae (Cronquist, 1982), en *Ch. pentadactylon* se observaron las células taniníferas, los tricomas estelados, los canales lisógenos, los cristales solitarios de oxalato de calcio y los tricomas glandulares en los nectarios, todas ellas de valor farmacognóstico.

La descripción de los tricomas es de importancia taxonómica para la familia (Hussin y Sani, 1998). De los tricomas descritos como característicos en las esterculiáceas, en los sépalos de la "flor de manita" se observaron los estelados y los glandulares pluricelulares, en cambio, los tricomas peltados no se observaron. Además, se encontraron tricomas bicelulares que no habían sido reportados en la familia.

◆ EPIDERMIS

Los sépalos de esta especie están delimitados por una epidermis uniestratificada y cubiertos por una cutícula. En los márgenes de los sépalos la epidermis está desarreglada. En los sépalos no herborizados, la epidermis adaxial es más gruesa que la abaxial y únicamente en los márgenes contiene tricomas estelados. Sin embargo, dichos tricomas son más grandes, numerosos y están formados por más células que los de la cara adaxial.

En cortes de sépalos herborizados la longitud de los tricomas estelados, en las células que se mantienen completas, no presenta diferencias notables bajo el microscopio de luz. Sin embargo, el número de células que los forman no pueden ser medidos por lo desarreglado del tejido. Por otro lado, las paredes de las células de la epidermis adaxial están muy lignificadas.

De las pruebas histoquímicas que se aplicaron, para los sépalos herborizados y no herborizados, solo la tinción sencilla y la doble con APS reaccionaron de manera positiva en el interior de los tricomas estelados, demostrando que la vacuola contiene polisacáridos insolubles y taninos.

La morfometría de los tricomas estelados indica que en el centro de los sépalos las células son de mayor longitud y más numerosas, y disminuyen

en tamaño y número de células de manera gradual hacia los márgenes. Los tricomas en la cara adaxial están formados por número y longitud de células homogéneo. Sin embargo, el número de células que forman los tricomas estelados no es el real, ya que en MEB se puede notar que el número de estas células es mayor al que se puede contar en cortes en paraplast, debido a que el corte rompe a los tricomas, lo que provoca pérdidas en el número de células que componen a cada uno de ellos. No obstante, es un buen indicativo de las características de los tricomas estelados.

Los estudios que se han realizado para describir a los tricomas en la familia han sido, principalmente, en hojas y raíces y para fines taxonómicos. En un estudio realizado por Hussin y Sani (1998), en donde comparan la estructura anatómica de las hojas de doce especies distintas de la familia, pero todos pertenecientes al género *Sterculia*, ninguno de los tricomas estelados tenía las características de los encontrados en *Ch. pentadactylon*.

◆ PARÉNQUIMA

La forma y el tamaño de las células del parénquima estructural observados en los sépalos de *Ch. pentadactylon* no herborizados, no presenta características distintivas que permitan su identificación, aún con la aplicación de las técnicas histoquímicas no se revela un contenido específico para este tejido.

En los sépalos herborizados el parénquima está muy reducido y sólo se encontraron cambios en el parénquima cercano a la epidermis abaxial en la parte basal de los sépalos, donde las células parenquimatosas contienen taninos condensados evidenciados con la prueba de vainillina—ácido clorhídrico.

Algunas células parenquimatosas contienen drusas solitarias, y no en grupos, que pueden observarse en detalle con luz polarizada que permite resaltar los cristales. Estos cristales son de oxalato cálcico. No se encontró otro tipo de inclusión salina.

En observaciones realizadas con luz polarizada se pudo notar que la distribución de las drusas en el tejido es amplia, siendo mayor en las cercanías de ambas epidermis y entre los haces vasculares.

En un estudio histológico realizado en raíces de *Sterculia bidwilli*, se reporta que los cristales de oxalato cálcico son tan abundantes en el interior de los tejidos parenquimatosos que obligan a una selección rigurosa de las muestras para que pueda ser cortado el material (Bouchet y Deysson, 1974).

Debido a que la cantidad de los cristales de oxalato de calcio es similar en

los sépalos herborizados y no herborizados, la iluminación con luz polarizada resulta útil para la caracterización e identificación de este tejido, por la presencia de dichos cristales.

Las cavidades mucilaginosas (estructuras isodiamétricas) y los canales mucilaginosos (estructuras alargadas) son comunes en miembros de la familia Malvaceae, Tiliaceae y Sterculiaceae (Metcalfe, 1950). Por otra parte, Van Tieghem (1885a) afirma que los canales mucilaginosos son distintivos de las esterculiáceas, ya que la mayoría de los miembros de esta familia presentan canales de mucilago, a diferencia de otras malvales, en donde son más frecuentes las cavidades y células mucilaginosas.

En cortes transversales se observó que la "flor de manita" presenta grandes y numerosas cavidades en el parénquima, y por cortes longitudinales se determinó que forman largos canales de trayectoria sinuosa. Histológicamente, estos canales son muy importantes, debido a que ocupan un volumen significativo en los sépalos y porque son las estructuras mejor conservadas después de la desecación de la flor, ya que la forma y el volumen se ven poco afectados.

Algunos autores refieren a los canales que presentan otras especies de la familia Sterculiaceae como canales mucilaginosos o canales de goma (Van Tieghem, 1885a; Van Tieghem, 1885b; Bouchet y Deysson, 1974; Shah y Setia, 1976; Fahn 1979). Sin embargo, en este estudio, no se les llama así por considerar que la goma es una sustancia que se produce únicamente en condiciones traumáticas o de infección de la planta, y porque no se encontraron azúcares componentes de un mucilago típico en la hidrólisis realizada al líquido viscoso de esta especie.

Antiguamente se pensaba que las cavidades o canales de las esterculiáceas eran todos ezquisógenos (Van Tieghem, 1885b), pero Cronquist (1981) señala que las cavidades o canales en la familia pueden ser ezquisógenos o lisógenos.

Los canales en *Ch. pentadactylon*, tienen un lumen delimitado por restos de células y por paredes de células parenquimatosas pequeñas y aplanadas, por lo que los canales son lisógenos. Sin embargo, un estudio sobre el desarrollo de los canales sería más determinante.

Los canales lisógenos han sido descritos para otras especies de la familia Sterculiaceae, sin embargo, los estudios realizados han sido principalmente en órganos como raíz y tallo, y algunos en hoja y peciolo, y escasos en flor. En los tallos, hojas y raíz de *S. urens*, por técnicas histoquímicas se determinó que los canales lisógenos contienen una sustancia gomosa, granos de almidón y pequeños cuerpos lipídicos, mientras que la forma de los canales es recta (Shah y Setia, 1976). En un estudio en tallo de *S.*

bidwilli, se detalla la formación de los canales lisógenos a partir de células del parénquima y además se reporta la presencia de almidón en ellos (Bouchet y Deysson, 1974).

Las pruebas histoquímicas hechas en los sépalos de *Ch. pentadactylon*, revelan que el único componente de la sustancia viscosa son azúcares. El aspecto del contenido de los canales se ve de manera distinta según la técnica de inclusión y tinción empleadas. Debido a que esta información está relacionada con la naturaleza química de la sustancia viscosa, se discute más adelante.

NECTARIO

El tejido nectarífero es muy evidente por sus diferencias histológicas con respecto al resto del sépalo (Fahn, 1998). En *Ch. pentadactylon*, la presencia de los tricomas glandulares pluricelulares y bicelulares, y las características morfológicas del parénquima secretor, distinguen al tejido nectarífero en la cara adaxial, desde la parte basal del sépalo y hasta la mitad del mesófilo.

Los tricomas bicelulares, por su gran tamaño, sólo pueden ser vistos completos por MEB, ya que en cortes histológicos solo aparecen fragmentos de ellos. Las pruebas histoquímicas evidencian que la naturaleza química de los tricomas bicelulares es similar a la de los tricomas estelados, es decir, presenta una vacuola prominente con la tinción de APS, APS—azul negro de naftol y vainillina—ácido clorhídrico, y resulta negativa para las demás.

La presencia de los tricomas simples en el nectario está relacionada funcionalmente como defensa contra los herbívoros, como gula para el camino de los polinizadores o para evitar la pérdida de agua (Rudramuniyappa y Manure, 1998).

En cuanto a los tricomas glandulares pluricelulares en esta especie, el tamaño de ellos es de importancia farmacognósica, por lo que se reporta el promedio del largo de los mismos. En tanto que las pruebas histoquímicas realizadas indican que el contenido en las células de la base de los tricomas glandulares son taninos y mientras que en el ápice las células almacenan proteínas. Además, tanto la epidermis que sostiene a los tricomas, como los mismos tricomas glandulares, están cubiertos por una cutícula que es más gruesa en esta región de la epidermis adaxial.

En *Kigelia pinnata*, miembro de la familia Bignoniaceae, se ha observado que los tricomas glandulares pluricelulares almacenan en el ápice

polisacáridos insolubles, evidenciados con APS, además la reacción para lípidos es moderada en la epidermis que sostiene a los tricomas glandulares y mayor en la que envuelve a estos últimos (Rudramuniyappa y Manure, 1998).

La forma de las células que componen al tejido secretor no presentan características distintivas que permitan su diferenciación con otras especies. Pero debido a que la composición química del tejido nectarífero varía en algunos casos, con la edad de la flor, sexo, estación y localización, y mayormente entre las especies distintas (Baker y Baker, 1979; Rudramuniyappa y Manure, 1998), se analizan únicamente las reacciones histoquímicas que resultaron positivas en el tejido.

En el parénquima secretor de *Ch. pentadactylon*, sus células almacenan únicamente proteínas en el segundo estrato paralelo a la epidermis, mientras que el resto alternan entre proteínas, taninos y sustancia viscosa, como lo demuestran las tinciones con azul negro de naftol, vainillina—ácido clorhídrico y rojo de rutenio, respectivamente. La prueba de rojo "O" de aceite sólo evidenció la presencia de una cutícula recubriendo a los tricomas y epidermis del nectario, sin embargo, no reveló la presencia de cuerpos oleosos. La concentración de la sustancia viscosa es mayor en las cavidades del tejido nectarífero, como lo manifiesta la tinción doble de APS-Azul negro de naftol.

En contraste con el tejido de los sépalos herborizados, las proteínas y los taninos son prácticamente nulos en el parénquima secretor, y solo se encuentra la sustancia viscosa. Además, la cutícula esta notablemente engrosada.

Las técnicas histoquímicas para taninos hidrolizables, lignina y almidón, resultaron negativas. La ausencia de lignina en las paredes del nectario coincide con lo reportado en la literatura para los nectarios (Fahn, 1979).

Es común encontrar proteínas en el néctar (Fahn, 1979), que en su mayoría son enzimáticas en su función (Baker y Baker, 1982). Las proteínas comunes son invertasa, transglusidasa, fosfatasa, oxidasa, tirosinasa, etc. Se ha reportado la presencia de esterasa y maltasa—deshidrogenasa en el néctar de *Fremontia* sp., perteneciente a la familia Sterculiaceae (Bahadur, *et al.*, 1998).

Respecto a su función dentro de la planta, los taninos se consideran como sustancias asociadas a la formación y transporte de azúcares; como antioxidantes; y como protector de la homogeneidad del citoplasma (Esau, 1985). Además se les ha asignado una función contra la deshidratación ya que las uniones con proteínas forman una capa muy estable (López, 1989). Por lo anterior, en el tejido nectarífero, podrían estar involucradas en el proceso de secreción del néctar, asociadas a proteínas y protegiendo contra la deshidratación.

Los lípidos y ácidos grasos tienen ventajas sobre el néctar azucarado, ya que contienen más energía por unidad que el azúcar (aceites 9cal/g; azúcar 4cal/g). Estos compuestos son nutricionalmente más sustanciales para los polinizadores (Bahadur, *et al.*, 1998) como los colibríes. Lo anterior concuerda con la ausencia de compuestos lipídicos en el interior del tejido secretor, ya que *Ch. pentadactylon* es polinizada por aves paseriformes (Toledo, 1975).

La presencia y posible función de los azúcares en las cavidades en discutida en el siguiente apartado.

El estudio del tejido nectarífero, en general y particular, revela que los nectarios son un sistema complejo y dinámico. Su localización parece ser importante para la polinización (Yung *et al.*, 1984). La producción del néctar está controlada por factores externos e internos de la planta. Los cambios en la composición del néctar, pueden tener importancia sobre los polinizadores, porque las flores son explotadas normalmente tan pronto como el néctar esté disponible (Baker y Baker, 1982; Yung *et al.*, 1984; Bahadur, *et al.*, 1998). La localización de los nectarios, la calidad del néctar, la importancia ecológica de los nectarios podría ser discutida en posteriores estudios.

SUSTANCIA VISCOSA

El aspecto de la sustancia viscosa depositada en los canales de *Ch. pentadactylon*, se ve de manera distinta según la técnica de inclusión y tinción empleadas. Así, en cortes en fresco teñidos con APS y en cortes en LR—White teñidos con azul de toluidina, se observa un depósito en círculos concéntricos y también formando estratos en filas con ésta última técnica. En tanto que en cortes con paraplast, teñidos con rojo de rutenio, además del depósito en círculos concéntricos, se observa también que la sustancia viscosa forma una trama reticular. Asimismo, en cortes con paraplast teñidos con la técnica cuádruple de Jonhansen y con las técnicas de APS y la doble de APS—azul negro de naftol, se observa la forma reticular.

Bouchet y Deysson (1971), describieron por medio de cortes semifinos, incluidos en resina (Epon), que la forma del depósito del mucílago en las células mucilaginosas de meristemos radiculares de *Althea rosea* (Malvaceae), es en forma de estratos concéntricos, a partir de las paredes pecto-celulósicas de las mismas. Los mismos autores, posteriormente, realizaron un estudio ultraestructural de la formación de los canales lisógenos en el tallo de *Sterculia bidwilli*, donde además detallan la síntesis de la sustancia mucilaginosas que forma una trama, a partir de la paredes pecto-celulósicas que se localizaban en el lumen del canal previo a su formación, y no por las células circundantes al canal lisógeno (Bouchet y Deysson, 1974).

El aspecto del depósito de la sustancia viscosa en los canales de *Ch. pentadactylon* es similar al establecido para *A. rosea*, por lo que se sugiere que al momento de la formación de los canales, las células antes de lisarse, pudieran dejar su secreción en forma de estratos concéntricos, los cuales son visibles en cortes en fresco teñidos con APS, o ser un efecto de las técnicas utilizadas. Sin embargo, al momento de procesar el material para su inclusión, éste se modifica, especialmente por el método de inclusión en paraplast, lo que explicaría que aún se pudiera ver esta formación del depósito en el material incluido en LR—White y además, quizás, porque los cortes son más delgados. Por otro lado, solo la prueba de rojo de rutenio alcanza a distinguir un poco los estratos concéntricos, posiblemente porque tiñe pectinas, y estaría marcando entonces, las distintas fases del depósito de la sustancia viscosa, o quizá está evidenciando los restos de las láminas medias de la lisis de las células.

La tinción cuádruple de Jonhansen indica que el compuesto tiene azúcares reductores. Sin embargo, la prueba de lugol resultó negativa, por lo que se descarta la presencia de almidón en los canales. Las pruebas

histoquímicas empleadas que resultaron positivas, APS en sus dos modalidades y rojo de rutenio, son más específicas para azúcares reductores y para pectinas y mucílago, respectivamente (Jonhansen, 1940; O'Brien y Mc Cully, 1981; Trease y Evans, 1988; Bruneton, 1999). De éstas, ambas resultaron positivas y coinciden en que son azúcares los que forman a la sustancia viscosa. No obstante, no pueden determinar si el compuesto es químicamente un mucílago, ya que la prueba de rojo de rutenio no es concluyente (Trease y Evans, 1988). Las técnicas histoquímicas restantes, azul negro de naftol, cloruro férrico, floroglucina—ácido clorhídrico, rojo "O" de aceite y vainillina—ácido clorhídrico, resultaron negativas para estas estructuras.

El análisis del perfil cromatográfico bidimensional en las flores frescas de *Ch. pentadactylon*, deja ver que los azúcares que se encuentran en los sépalos son la fructosa, en la parte media, y la sacarosa y fructuosa, en la parte basal. En tanto que la cromatografía del hidrolizado revela la presencia de glucosa y fructuosa, componentes de la sacarosa, en las flores herborizadas. Sin embargo, estas pruebas indican que los azúcares no son los únicos componentes de la sustancia viscosa, ya que en todas las cromatografías se manifestó también la presencia de, por lo menos, una sustancia muy poco polar y que se encuentra en mayor concentración, cuya naturaleza es desconocida.

El aspecto de la sustancia viscosa coincide con las características reportadas por Martínez (1936) para el néctar que secreta la "flor de manita", quien lo describe como un líquido ligeramente viscoso y transparente destilado por las fosetas nectaríferas. Por lo anterior, y debido a que la cromatografía bidimensional para la parte basal, donde se encuentra el nectario, muestra la presencia de sacarosa y fructuosa, que son dos de los tres azúcares reportados como constituyentes principales del néctar, aunque no en esa combinación (Baker y Baker, 1982), se propone que la sustancia viscosa que se encuentra en los canales, esté relacionada con la producción, almacenaje y/o secreción del néctar.

Bahadur *et al.*, (1986) reportan en el néctar de *Tecomaria capensis*, la presencia únicamente de éstos dos azúcares.

Además, en la cromatografía bidimensional de la parte media de los sépalos, se revela la presencia de glucosa, aunque en muy poca cantidad, que también podría estar relacionada con el néctar, ya que es el tercer azúcar más común en el néctar.

La proporción de los azúcares anteriores es diferente para cada especie, y está muy relacionada con su polinizador (Baker y Baker, 1982; Yung *et al.*, 1984; Bahadur, *et al.*, 1998).

Ch. pentadactylon, es una flor polinizada por aves percheras (Toledo,

1975). Además, en el perfil cromatográfico de la sustancia viscosa, en la parte basal de los sépalos, se observa que la mancha de sacarosa está en menor concentración que la de fructuosa. Lo anterior coincide con lo descrito en la literatura, donde se registra que la concentración baja de sacarosa es característica de plantas polinizadas por aves paseriformes (Yung *et al.*, 1984; Rudramuniyappa y Manure, 1998).

Asimismo, los cortes histológicos transversales del nectario de *Ch. pentadactylon*, teñidos con la tinción doble de APS—azul negro de naftol, revelan una mayor concentración de azúcares reductores en las cavidades orientadas hacia la foseta nectarífera, lo que reafirma la anterior propuesta, ya que esto indica una relación entre el contenido de las cavidades y su posición al interior de los sépalos. Sin embargo, la comprobación de esta sugerencia puede ser parte de otro estudio en la especie.

La cromatografía bidimensional del producto de la hidrólisis del extracto de las flores secas, no revelan la presencia de azúcares que sean componentes característicos, de un mucílago, por lo que se descarta la presencia de mucílago en *Ch. pentadactylon*, y se sugiere que la consistencia viscosa de la sustancia que se estudió, se debe únicamente a la concentración de azúcares y de las sustancias pecticas que se evidenciaron con la prueba histoquímica de APS, en sus dos modalidades y la de rojo de rutenio, respectivamente.

CONCLUSIONES

- ◆ La caracterización histológica de *Ch. pentadactylon* está dada por el conjunto de estructuras celulares que permiten la distinción farmacognósica de la especie.
- ◆ Las estructuras de mayor valor farmacognósico para los sépalos son:
 - A. Los diferentes tipos de tricomas que se encontraron en ambas caras de los sépalos.
 - Los tricomas estelados se pueden identificar, en flores no herborizadas, por el número de células que los forman y el largo de las mismas. En sépalos herborizados solo debe considerarse el largo de las células.
 - Se observaron tricomas bicelulares en el tejido nectarífero que no habían sido descritos para la familia Sterculiaceae.
 - El largo de los tricomas glandulares y bicelulares son importantes en la identificación.
 - B. Los canales, que son las estructuras mejor conservadas después de la desecación.
 - Para el reconocimiento de los canales se debe considerar la forma y trayectoria de los mismos, así como el aspecto de la sustancia viscosa que contienen, a través de las distintas técnicas de inclusión y de tinción.
 - C. La composición química de la sustancia viscosa, ya que al ser un material ergástico es útil en la identificación de drogas pulverizadas.
 - La presencia y concentración de los azúcares, fructosa, sacarosa y glucosa, son determinantes en cuanto a la identificación de la sustancia viscosa en los sépalos frescos.
- ◆ Las pruebas histoquímicas aplicadas en este estudio, revelan la distribución y el tipo de componentes celulares que se almacenan en los tejidos, lo que ayuda a la caracterización, principalmente, del tejido nectarífero.
- ◆ La sustancia viscosa puede estar relacionada con la producción o almacenaje del néctar.
- ◆ La sustancia viscosa extraída de las flores herborizadas no es un mucílago.

LITERATURA CITADA

- Alverson, W. S.; B. A. Whitlock; R. Nyffeler; C. Bayer y D. A. Baum. 1999. Phylogeny of the core Malvales: evidence from *ndhF* sequence data. **Amer. J. Bot.**, **86** (10): 1474- 1486.
- Aspinall, G. O. 1970. Pectins, Plant gums, and other plant polysaccharides. *En*: Pigman W. and D. Horton (eds.). **The Carbohydrates**. Academic Press. USA. 515-535.
- Azuara, G. B. 1990. **Contribución al estudio genérico de la Fam. Sterculiaceae en el Estado de Guerrero**. Tesis de Licenciatura. Biología. Facultad de Ciencias. UNAM. 40 pp.
- Bahadur, B.; C. Subba R.; J. S. Aluri R.; H. K. Jain y N. Rama S. 1998. Nectar Chemistry. *En*: B. Bahadur (ed.). **Nectary biology: structure, function and utilization**. Dattsons. India. 21-39.
- Balandarin, M. F.; J. A. Klocke; E. S. Wurtele y W. H. Bollinger. 1985. Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal herbs. **Science**, **228**: 1154-1160.
- Baker H. G. y I. Baker. 1979. Chemical constituents of the nectars of two *Erythrina* species and their hybrid. **Ann. Missouri Bot. Gard.**, **66**: 446-450.
- Baker H. G. y I. Baker. 1981. Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type. *En*: C. E. Jones and R. J. Little. Van Nostrand Reinhold (eds.). **Hanbook of experimental pollination biology**. USA. 117-141.
- Baker H. G. y I. Baker. 1982. Chemical constituents of nectar in relation to pollination mechanisms and phylogeny. *En*: Nitecki, M. H. (ed.). **Biochemical aspects of Evolutionary Biology**. The University of Chicago Press. USA. 131-171.
- Bernardillo, G.; L. Galetto y G. J. Anderson. 2000. Floral nectary structure and nectar chemical composition of some species from Robinson Crusoe Island (Chile). **Can. J. Bot.** **78**: 862-872.
- Bouchet, P. y Deysson, G. 1971. Aspects ultrastructuraux de la différenciation des cellules à mucilage de la rosa trémière, *Althea rosea* Cav. C. R. **Acad. Sci. Paris.** **272** (D) : 819-822.

- Bouchet, P. y Deysson, G. 1974. Les canaux à mucilage des Angiospermes. Étude morphologique et ultrastructurale des cellules constituant les canaux à mucilage du *Sterculia bidwilli* Hook. **Revue Gén. Bot.** **81** : 369-402.
- Bruneton, J. 1999. **Pharmacognosy: Phytochemistry Medicinal Plants**. Lavoisier Publishing. USA. 1119 pp.
- Bye R. y E. Linares. 1987. Usos pasados y presentes de algunas plantas medicinales encontradas en los mercados mexicanos. **América indígena.** **47**(2).
- Bye R.; E. Estrada y E. Linares. 1992. Recursos genéticos en plantas medicinales de México. *En*: Estrada-Lugo E. (ed.). **Plantas Medicinales de México: introducción a su estudio**. UACH. México. 361-372.
- Cronquist, A. 1981. **An Integrated System of classification of flowering plants**. Columbia University Press, USA.
- Curtis P. J. 1986. **Microtecnia vegetal**. Trillas. México. 106 pp.
- Domínguez, X. A.; J. Quevedo y A. Gutiérrez. 1969. Estudio químico de la flor de manita (*Macpalxóchitl*) *Chiranthodendron pentadactylon*. **Ciencia**, **27**(2-3): 87-89.
- Domínguez, X. A. y A. Gutiérrez. 1972. Extractives from the flowers of *Chiranthodendron pentadactylon*. **Phytochemistry**, **11**(9): 2895.
- Estrada L., E. 1985. **Jardín botánico de plantas medicinales "Maximino Martínez"**. Universidad Autónoma Chapingo. México.
- Estrada L., E. 1987. El fruto de Macpalxochicuahuil (*Chiranthodendron pentadactylon* Larr.): tamaño, semillas, plagas y polinización manual. **Memorias X Congreso Mexicano de Botánica**, Jalisco. México. 132 pp.
- Estrada L., E. 1995. Cultivo de plantas medicinales, una urgencia en Latinoamérica. *En*: Estrada-Lugo E. (ed.). **Plantas Medicinales de México: introducción a su estudio**. UACH. México. 437-439.
- Esau, K. 1985. **Anatomía vegetal**. Omega. España. 779 pp.
- Fahn, A. 1979. **Secretory tissues in plants**. Academic Press. USA. 302

pp.

- Fahn, A. 1998. Nectaries structure and nectar secretion. *In*: B. Bahadur (ed.) **Nectary biology: Structure, function and utilization**. Dattsons. India. 1-20.
- García J. y Perales R. 1990. Nota sobre la propagación y pérdida de viabilidad de las semillas de *Chiranthodendron pentadactylon* Larr. (Sterculiaceae). **Bol. Soc. Bot. Méx.** 50: 157-159.
- Hernández, F. 1959. **Historia Natural de la Nueva España**. Tomo III, Vol. II. UNAM. México. p. 42 .
- Hussin, K. H. y Z. M. Sani. 1998. Comparative leaf anatomical studies of some *Sterculia* L. species (Sterculiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**. 127: 159-174.
- INEGI. 1988. **Los municipios de Guerrero**. Secretaría de Gobernación del Estado de Guerrero. México. 400 pp.
- Johansen, D. A. 1940. **Plant Microtechnique**. McGraw-Hill. New York, USA. 491 pp.
- Jones, S. B. 1988. **Sistemática Vegetal**. McGraw-Hill de México. México. 536 pp.
- Katzung, B. 1986. **Farmacología básica**. Manual Moderno. México. pp. 148-150.
- Kirk-Othmer (ed.) 1980. **Enciclopedia of chemical technology**. Borrad. USA. 45-65.
- Kuklinski, C. 2000. **Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural**. Omega. España. 515 pp.
- Lara O., F. y C. Márquez. 1996. **Plantas medicinales de México, composición, usos y actividad biológica**. UNAM. 137 pp.
- Larreategui, J. D. 1975. **Descripción de plantas**. México. 48p.
- Linares E.; B. Flores P. y R. Bye. 1988. **Selección de Plantas Medicinales de México**. Noriega Editores. México. 44-45.
- López, C. M.; J. Márquez-Guzmán y G. M. Sánchez. 1998. **Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas**. Facultad de Ciencias,

UNAM. México. 116 pp.

- López R., G. F. 1989. **Fitoquímica**. Universidad Autónoma Chapingo. México. 48 pp.
- Lozoya, X., 1998. **La herbolaria en México**. Tercer Milenio. CONACULTA. México. 63 pp.
- Martínez, M. 1936. **Plantas útiles de México**. Botas. México. 400 pp.
- Mauseth, J. D. 1988. **Plant Anatomy**. Benjamin/Cummings. USA. 560 pp.
- Metcalfe, C. R. y L. Chalk. 1950. **Anatomy of the Dicotyledons**. Clarendon Press. USA.
- Norma Oficial Mexicana (NOM-001-SSA-1993), que instituye el procedimiento por el cual se revisará, actualizará y editará la farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Diario Oficial de la Federación. 17 junio 1994.
- Norma Oficial Mexicana. Reglamento de insumos para la salud. Diario Oficial de la Federación. 4 de febrero de 1998.
- Norma Oficial Mexicana (NOM-059-ECOL-2001), Protección ambiental– Especies nativas de México de flora y fauna silvestres– Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambios– Lista de cambios de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación. 6 de marzo de 2002.
- Nyffeler R. 1999. A new ordinal classification of the flowering plants. **Trends in Ecology and Evolution**. **14** (5): 168-170.
- O'Brien, T.P. and M. E. Mc Cully. 1981. **The study of plant structure: principles and selected methods**. Ternarcarphi Pty. Australia.
- Organización Mundial de la Salud. 1996. Promoción y desarrollo de la Medicina Tradicional. En: E. Estrada (ed.). **Plantas Medicinales de México: introducción a su estudio**. Universidad Autónoma Chapingo, México. pp. 43-47.
- Organización Mundial de la Salud. 2000. **Situación Reglamentaria de los Medicamentos: una Reseña Mundial**. OMS. Génova. 60 pp.

- Osuna F., H. R.; A. Brechú y G. Laguna. 1998. Propuesta para la comercialización de la "Flor de manita" en el Municipio de Miahuatlán, Oaxaca, a partir de la experiencia en el Municipio de Leonardo de Bravo, Gro. **Resúmenes III Congreso Mexicano de Etnobiología**. México. 119 p.
- Osuna F., H. R.; G. Laguna H.; A. Brechú F. y A. Orozco S. 1997. Germinación de *Chiranthodendron pentadactylon* P. Larr. (Sterculiaceae) en respuesta a la escarificación, temperatura y luz. **Bol. Soc. Bot. Méx.** 60: 5-14.
- Perusquia M.; S. Mendoza; R. Bye; E. Linares y R. Mata. 1995. Vasoactive effects of aqueous extracts from five Mexican medicinal plants on isolated rat aorta. **Journal of Ethnopharmacology**. 46: 63-69.
- Rao, S. y N. Ramayya, 1998. Structure, Distribution and Phylogenetic Significance of Nectaries in Malvales. *En*: B. Bahadur (ed.). **Nectary biology: structure, function and utilization**. Dattsons. India. 40-54.
- Rudramuniyappa C. K and A. R. Manure. 1998. Ontogeny, structure and histochemistry of floral nectaries in *Kigelia pinnata* Dc. (Bignoniaceae). *En*: B. Bahadur (ed.). **Nectary biology: structure, function and utilization**. Dattsons. India. 77-105.
- Rivera A., E.; A. Sosa M. y X. Lozoya. 2000. El papel de la anatomía vegetal en la investigación de los fitofármacos. *En*: X. Lozoya y E. Gómez (eds.). **Simposio 4. IMSS-Farmasa Schwabe. El manejo de los fitofármacos en el nuevo milenio**. México, 968-824.
- Rzedowski, J. 1978. **Vegetación de México**. Limusa. México.
- Scalbert, A. 1991. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, 30: 3875-3883.
- Shah, J.J. y Setia; R. C. 1976. Histological and histochemical changes during the development of gum canals in *Sterculia urens*. **Phytomorphology**, 6: 151-158.
- Sodi P., E. y H. Martínez. 1948. Structure of the pigment of Macpalxóchitl. **Archv. Biochem.** 21: 377-382.

- Toledo, V. M. 1975 *Chriranthodendron pentadactylon* Larreategui (Sterculiaceae): una especie polinizada por aves percheras. **Ból. Soc. Bot. Méx.** 35: 59-67.
- Trease G. E. y W. C. Evans. 1988. **Tratado de Farmacognosia**. Interamericana. México. 846p.
- Tyler, V. E., L. Brady y J. Robbers. 1979. **Farmacognosia**. El Ateneo, Argentina. 459 p.
- Van Tieghem, P. 1885a. Deuxième mémoire sur les canaux sécréteurs. **Annls. Sci. Nat. Botanique**, 1: 1-96.
- Van Tieghem, P. 1885b. Sur les canaux à gomme des Sterculiacées. **Bul. Soc. Bot. Fr.**, 32: 11-15.
- Vázquez, G., L. M. 1998. **El árbol de las manitas**. Universidad Autónoma del Estado de México. México. 72 pp.
- Young, A. M.; M. Schaller y M. Strand. 1984. Floral nectarines and trichomes in relation to pollination in some species of *Theobroma* and *Herrania* (Sterculiaceae). **Amer. J. Bot.**, 71 (4): 466-480.
- World Health Organization. 1993. **Good Manufacturing Practices for Pharmaceutical Products**. WHO. Geneva.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN