



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Caracterización histológica e histoquímica  
de *Ligusticum porteri* Coulter & Rose  
(Apiaceae) para su inclusión en la  
Farmacopea herbolaria Mexicana**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**BIÓLOGA**

P R E S E N T A:

**GRISELDA SODELVA  
ZARATE CRUZ**



**DIRECTOR DE TESIS:**

**DR. GUILLERMO LAGUNA HERNANDEZ**

**MÉXICO D.F.**

**MAYO 2010**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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

FACULTAD DE CIENCIAS  
Secretaría General  
División de Estudios Profesionales

Votos Aprobatorios

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ  
Jefe de la División de Estudios Profesionales  
Facultad de Ciencias  
**Presente**

Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:

**“Caracterización histológica e histoquímica de Ligusticum porteri Coulter&Rose (Apiaceae) para su inclusión en la Farmacopea herbolaria Mexicana”**

realizado por **Zarate Cruz Griselda Sodelva** con número de cuenta **3-0026303-3** quien ha decidido titularse mediante la opción de **tesis** en la licenciatura en **Biología**. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario	Dra. Alicia Enriqueta Brechú Franco	
Propietario	Dr. Robert Arthur Bye	
Propietario Tutor	Dr. Guillermo Laguna Hernández	
Suplente	Q. A. Verónica Muñoz Ocotero	
Suplente	Biól. Lucia Yoscelina Centeno Betanzos	

Atentamente,

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Ciudad Universitaria, D. F., a 16 de abril de 2010

EL COORDINADOR DEL COMITÉ ACADÉMICO DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

DR. PEDRO GARCÍA BARRERA

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE ENSEÑANZA  
DE BIOLOGÍA

Señor sinodal: antes de firmar este documento, solicite al estudiante que le muestre la versión digital de su trabajo y verifique que la misma incluya todas las observaciones y correcciones que usted hizo sobre el mismo.

'nlm.

## Hoja de datos del jurado

### 1.- Datos de la alumna

Zarate  
Cruz  
Griselda Sodelva  
26 46 36 87  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
300263033

### 2.- Datos del tutor

Dr  
Laguna  
Hernández  
Guillermo

### 3.- Datos del sinodal 1

Dra  
Brechú  
Franco  
Alicia Enriqueta

### 4.- Datos del sinodal 2

Dr  
Bye  
Boettler  
Robert Arthur

### 5.- Datos del sinodal 3

Q en A  
Muñoz  
Ocotero  
Verónica

### 6.- Datos del sinodal 4

Biól  
Centeno  
Betanzos  
Lucia Yoscelina

### 7.- Datos del trabajo escrito

Caracterización histológica e histoquímica de *Ligusticum porteri* Coulter & Rose (Apiaceae) para su inclusión en la Farmacopea herbolaria Mexicana  
43 p  
2010

## ***AGRADECIMIENTOS***

Agradezco a CONACYT por el apoyo otorgado (#5600). Así como a los proyectos de CONACYT: Elaboración de monografías científicas de plantas selectas de amplio uso en la medicina tradicional mexicana con base en los criterios propuestos por la Organización Mundial de la Salud (FSISSS#8), responsable Dra. Rachel Mata; y Propagación y manejo de plantas medicinales en Norogachi, Chihuahua, estudio comparativo de cinco plantas medicinales de los bosques de pino-encino de Chihuahua: fase 1 biología reproductiva y radical (U47512-Z), responsable Dr. Robert Bye. Y al proyecto: Establecimiento en campo de plántulas de tres especies medicinales sobreexplotadas en la Sierra Tarahumara utilizando métodos de propagación convencional e *in vitro* apoyado por PAPIIT, DGAPA, UNAM (IN205907-3), responsables Dr. Robert Bye y Dr. Víctor Manuel Chávez.

Y de manera muy especial:

A la Universidad Nacional Autónoma de México, a la Facultad de Ciencias y al Laboratorio de Estructura y Fisiología de Plantas, por que en sus instalaciones aprendí Biología y me brindaron las herramientas para realizar este proyecto.

Al Dr. Guillermo Laguna Hernández por la dirección y asesoría en este trabajo; pero sobre todo por la confianza, paciencia, apoyo y enseñanzas.

Al jurado por el tiempo, apoyo y atención dedicada durante la realización y revisión de este proyecto:

Dra. Alicia Enriqueta Brechú Franco

Dr. Robert A. Bye

Q. en A. Verónica Muñoz Ocotero

Biól. Lucía Yoscelina Centeno Betanzos

A mis amigos: Sofía, Aliberth, Itzel, Ariadna, Gabriela, Minerva, Adriana, Israel, Sonia, Javier por su cariño, apoyo, compañía y enseñanzas, pero sobre todo por su gran amistad.

A mis compañeros de laboratorio: Dra. Reyna Osuna, Yoscelina, Viridiana, Carlos, Ximena, Edith, Nadia, Sol, Ana, Daniela. Por apoyo y consejos para terminar y mejorar este trabajo, compañía y por los buenos momentos en el laboratorio.

## ***DEDICATORIA***

*A mis padres, por su apoyo incondicional, amor, confianza, paciencia, esfuerzo y dedicación. De quien he aprendido que la vida se enfrenta con valor y fuerza, trabajo, dedicación y unión familiar.*

*A mi hermana por su amistad, confianza y apoyo.*

*A mi abuelo “Boño” quien siempre me dio su apoyo y amor, y de quien aun en su ausencia sigo aprendiendo.*

*A Noemí mi hermana por elección, por su amistad sincera, consejos y apoyo.*

*A Carlos mi amor, mi compañero, mi confidente, por su apoyo y amor.*

## TABLA DE CONTENIDOS

1. Resumen.....	3
2. Introducción.....	4
3. Antecedentes.....	7
3.1 Descripción de <i>Ligusticum porteri</i> .....	7
3.2 Distribución de <i>Ligusticum porteri</i> .....	9
3.3 Etnobotánica.....	10
3.4 Fitoquímica y Farmacología.....	11
3.5 Farmacopea Herbolaria Mexicana.....	12
4. Objetivo.....	13
5. Método.....	15
5.1 Método general.....	15
5.2 Búsqueda bibliográfica.....	16
5.3 Obtención de <i>Ligusticum porteri</i> .....	16
5.4 Procesamiento del material vegetal.....	16
5.4.1 Deshidratación.....	17
5.4.2 Inclusión.....	17
5.4.3 Obtención de cortes.....	17
5.4.4 Desparafinación.....	17
5.4.5 Rehidratación.....	17
5.5 Técnicas Histoquímicas.....	18



5.6 Descripción Histológica e Histoquímica.....	19
6. Resultados.....	20
6.1 Descripción Histológica.....	20
6.1.1 Rizoma seco-rehidratado-fijado.....	20
6.1.2 Raíz seca-rehidratada-fijada.....	22
6.1.3 Rizoma fijado en fresco.....	23
6.1.4 Raíz fijada en fresco.....	26
6.1.5 Hoja fijada en fresco.....	27
6.2 Descripción Histoquímica.....	29
6.2.1 Rizoma y raíz seco-rehidratado-fijado.....	29
6.2.2 Rizoma y raíz fijado en fresco.....	32
6.2.3 Hoja fijada en fresco.....	34
7. Discusión.....	36
7.1 Búsqueda bibliográfica.....	36
7.2 Descripción Histológica.....	36
7.3 Descripción Histoquímica.....	37
8. Conclusión.....	40
9. Bibliografía.....	41

## 1.- RESUMEN

Muchas especies de plantas usadas como medicinales no han sido sujetas a investigación clínica, farmacológica, química, toxicológica y demás, por lo que el gobierno mexicano ha reconocido la necesidad de generar una monografía oficial de acuerdo al criterio de Organización Mundial de la Salud (OMS), esto para promover la eficacia y extenso control de calidad de las plantas. *Ligusticum porteri* es una especie de gran importancia medicinal, su raíz es altamente apreciada en México por los Tarahumaras y en Estados Unidos de América por los Zunis, Mascaleros apaches y Pautites por su uso en tratamientos de dolores estomacales, cólicos, úlceras, tuberculosis, tos, resfriados y para dolores musculares. Este estudio caracteriza la histología e histoquímica del rizoma, raíz y hoja de *L. porteri*. El material se fijó en FAA durante una semana, se lavó, deshidrató e incluyó en Paraplast®. Los cortes se realizaron en microtomo de rotación American Optical entre 8-10  $\mu\text{m}$ , y se tiñeron con las técnicas Cuádruple de Johansen (CJ), Ácido Peryódico-Reactivo de Schiff (APS), Azul Negro de Naftol (ANN), Rojo "O" de aceite (RJO), Tinción doble Reactivo de Schiff-Azul Negro de Naftol (APS-ANN).

El estudio histológico del rizoma de *L. porteri* permitió corroborar que la estructura y organización de los tejidos del órgano corresponden a un rizoma y no a una raíz y brindó información específica de las estructuras y zonas donde se puede encontrar los metabolitos secundarios de interés farmacológico, en todas las partes vegetativas de la planta se encuentran cavidades secretoras, que pueden corresponder a los lugares de acumulación de los metabolitos secundarios. El estudio histológico e histoquímico complementa las investigaciones realizadas en *L. porteri*, brindando información que complete su inclusión en la Farmacopea Herbolaria Mexicana.

## 2.- INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional ha tomado una importancia global en la preservación de la salud y las estimaciones en países en vías de desarrollo indican que una proporción grande de la población confían fuertemente en médicos tradicionales y plantas medicinales para resolver sus necesidades primarias de salud. Aunque la medicina moderna pueda estar disponible en estos países, la medicina herbolaria ha mantenido a menudo el renombre por razones históricas y culturales. En México la herbolaria y la medicina tradicional poseen una amplia historia, con una lista muy diversa de plantas usadas para curar enfermedades, que forman parte importante de los recursos terapéuticos empleados por la medicina tradicional. La variedad florística de México ha permitido a la población a través del tiempo y largo aprendizaje, apropiarse de los recursos naturales para su beneficio y sistematizarlos atendiendo a la utilidad que le proporcionan (Aguilar, 1994).

Pocas especies de plantas medicinales se han evaluado química y clínicamente para su uso. En la mayoría de los países el mercado de las medicinas herbolarias está mal regulado y a menudo, los productos herbolarios no tienen el adecuado control de calidad. La seguridad de la calidad y de la eficacia de las plantas medicinales y de productos herbolarios, ahora se ha convertido en un aspecto clave en la industrialización de países en vías de desarrollo.

De acuerdo al reciente inventario realizado por el Instituto Nacional Indigenista (INI) hay más de 3015 especies de plantas medicinales comúnmente usadas para el tratamiento de enfermedades comunes en México. Muchas de estas especies no han sido sujetas a investigación clínica, farmacológica, química y/o toxicológica. Por lo que, el gobierno mexicano ha reconocido la necesidad de estudiar productos herbales en el orden de generar una monografía oficial de acuerdo a los requisitos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), estas monografías intentan proveer información científica para la seguridad, la eficacia y el control de calidad de las plantas medicinales

mexicanas usadas en fitoterapia (Déciga-Campos, 2007). El gran testimonio de esta iniciativa ha sido la publicación en México de la 1ª Farmacopea Herbal (FHEUM) por la Oficina General de Salud en 2001 ([www.salud.gob.mx](http://www.salud.gob.mx)).

Durante la cuarta Conferencia Internacional de las Autoridades Reguladoras de la Droga (CIARD) llevada a cabo en Tokio en 1986, la Organización Mundial de la Salud pidió compilar una lista de plantas medicinales y establecer las especificaciones internacionales de su uso en preparaciones simples. Posteriormente estas medidas fueron adoptadas en la sexta Conferencia Internacional de las Autoridades Reguladoras de la Droga en Ottawa, Canadá en 1991. Como resultado de las recomendaciones CIARD y en respuesta a los requerimientos de los estados miembros de la OMS, la OMS ahora está publicando monografías de las plantas medicinales seleccionadas (Guidelines for the assessment of herbal medicines, 1997).

Para la elaboración de los fitofármacos es necesario contar con un control de calidad de la materia prima estableciendo la identificación y pureza de la especie para poder realizar un medicamento herbolario seguro. Para lograr un mayor control de calidad de los fitofármacos se recurre a la farmacognosia, campo en el cual se investigan las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural; para la farmacognosia es necesario determinar el origen sistemático de la planta de la que procede la droga, establecer las características macroscópicas y microscópicas, así como organolépticas. También es necesario investigar los métodos óptimos de producción de las drogas, establecer su composición química, obtener extractos que contengan los principios activos, lograr el control de calidad de las drogas y establecer las propiedades farmacológicas e investigar nuevos principios activos que puedan constituir un punto de partida para el diseño de nuevos fármacos en el futuro (Kuklinski, 2000).

La identificación macroscópica es el medio más simple y rápido para establecer la identidad, pureza y posiblemente la calidad de los materiales. El análisis microscópico debe ser aplicado para evitar mezclas de materia prima

con especies botánicas parecidas, para detectar la presencia de contaminantes de otras especies indeseables o para la identificación de compuestos importantes a nivel celular; estos estudios permiten la caracterización de los tejidos para definir a la especie botánica en particular (Zarate, 2006).

En México, las especies de la familia Apiaceae son ecológica y económicamente importantes por su uso como alimentos, condimentos, saborizantes, como plantas medicinales, de ornato, de cultivo y algunas como veneno. Estas especies se caracterizan por ser aromáticas debido a los aceites esenciales presentes en ellas. En México hay 37 géneros de la familia Apiaceae, entre los que destacan las especies del género *Ligusticum* (Judd *et al.*, 2002; Lawrance, 1951).

*Ligusticum porteri* es una especie silvestre que se distribuye en el norte de México en la Sierra Madre Occidental y en el suroeste de los Estados Unidos de América en las Montañas Rocallosas. Es una planta silvestre que se aprovecha como medicinal, y cuya raíz es altamente apreciada por los Tarahumaras como talismán, para rituales religiosos y como remedio contra varios padecimientos (Linares y Bye, 1987). La raíz de *L. porteri* contiene la ftálda Z-ligustílida como componente mayoritario y a la que se le atribuye un amplio espectro de actividades biológicas como relajante muscular, neuroprotector, antioxidante, antiesclerótico, antihipertensivo, antiviral, antifúngico y antibacterial, por mencionar algunas y que, además, carece de especificidad, lo que lo hace útil y de interés para la medicina moderna (Beck y Stermitz, 1995).

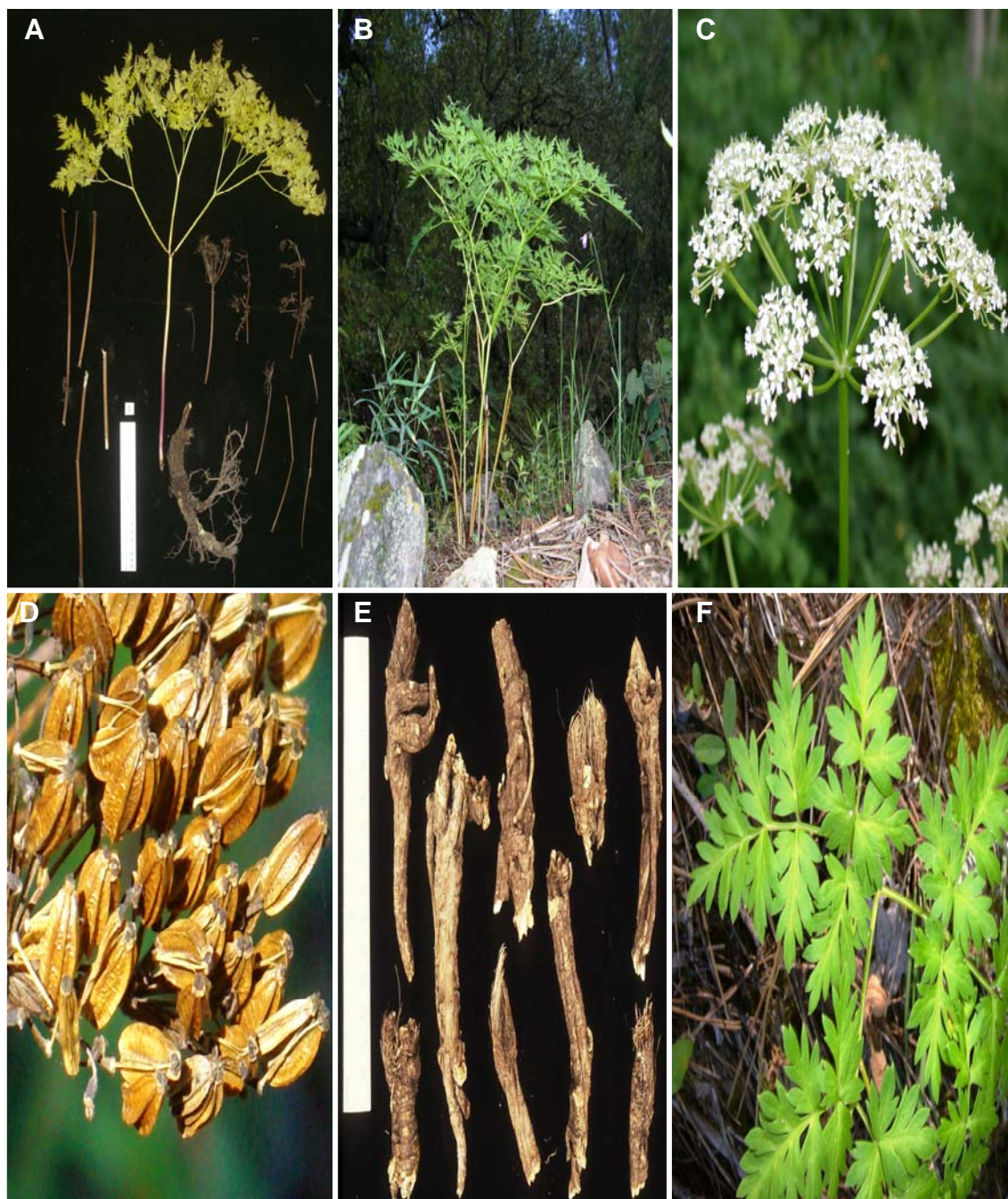
La relevancia medicinal de *L. porteri* y de sus compuestos, permitió considerar a la especie de gran importancia para formar parte de la lista de especies que están incluidas en las monografías oficiales para la Farmacopea herbolaria Mexicana.

### 3.- ANTECEDENTES

#### 3.1 Descripción botánica de la especie *Ligusticum porteri* J.M. Coulter & Rose (Goldhaber, 2008; *Observación personal*)

Es una hierba monoica, perenne. Tallo firme caulescente, ramificado libremente, de 0.5-1.0m de altura, glabro a través de la inflorescencia o puberulenta. Raíz axonomórfica, perenne, con pocas raíces adventicias desde la corona, fibrosas y coronadas sobre la raíz principal. Hojas ovadas en el contorno general, excluyendo los pecíolos 15-28cm de largo, 12-20cm de ancho, de 1-3 ternadas- pinnadas, foliolos ovados, mayormente distintos, sésiles a peciolados, 2.5-5 cm de largo, 1-3 cm de ancho, regularmente incididos, los lóbulos obtusos o agudos, completamente o dentados. Inflorescencia de umbelas compuestas generalmente de 10 o 13-25, 11-24 rayos, ascendentes, desiguales, 2.5-6 cm de largo pedicelos ascendentes separados preferentemente estrictos, 5-12mm de largo. Flores blancas, estambres 5, ovarios 2. Frutos esquizocárpicos oblongos de 5-8mm de largo, 2-2mm de ancho, teretes, las costillas estrechamente aladas; 4-6 tubos aceitosos en los intervalos, 8-10 en la comisura. Semillas aplanadas dorsalmente en la sección transversal, acanalada bajo los tubos, n=11.

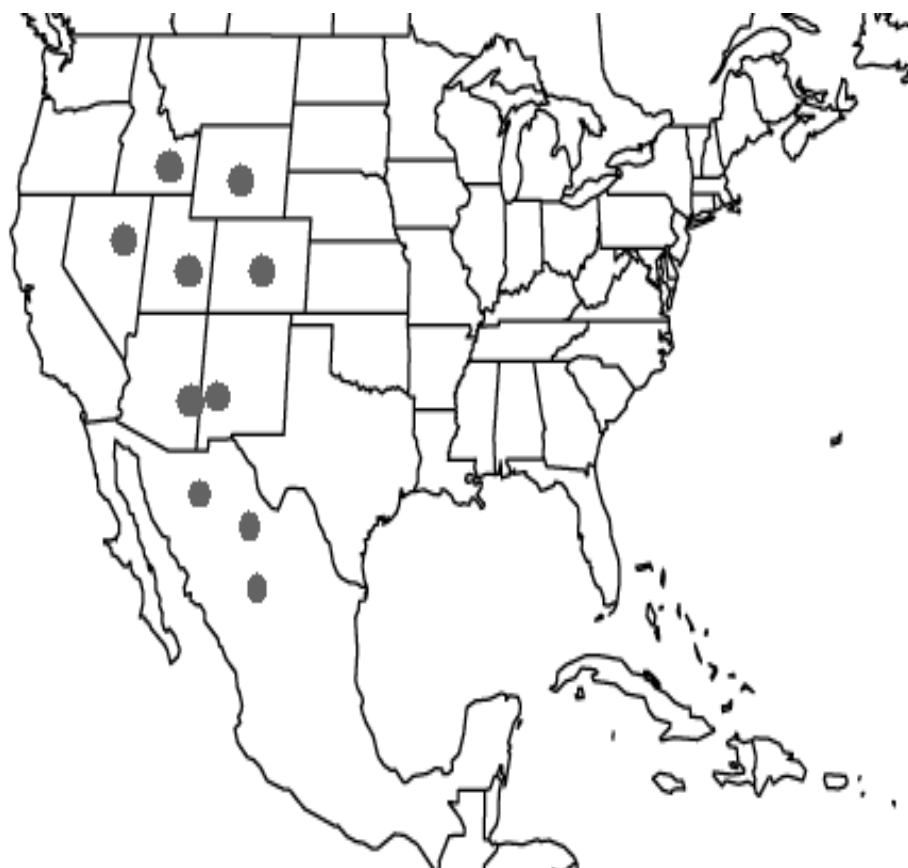




**Fig. 1. *Ligusticum porteri*. J.M. Coulter & Rose en Chihuahua, México (Octubre 2007). A-B. Planta completa (R. Bye) barra 20 cm, C. Inflorescencia (R. Bye), D. Frutos (R. Bye), E. Raíz (R. Bye) barra 20cm, F. Hojas (R. Bye).**

### 3.2 Distribución geográfica de *Ligusticum porteri*

La distribución geográfica de *L. porteri* se limita al sur de Norte América y Norte de México, es una especie holártica propia de climas templados con poblaciones en bosques de pino-encino en el Norte de la Sierra Madre Occidental en los estados de Chihuahua, Durango y Sonora y en el sur de la Montañas Rocallosas en Estados Unidos en los estados de Colorado, Wyoming, al sur de Idaho, sur de Utah, Nuevo México, al este de Nevada y sur de Arizona (Golhaber, 2008).



**Fig. 2. *Ligusticum porteri*. Mapa de distribución en México y Estados Unidos de América.**



### 3.3 Etnobotánica

*Ligusticum porteri* es conocida como “chuchupate”, “chuchupaste”, “chuchufaste”, “chuchupasto”, y “guarica” en Chihuahua y el Distrito Federal ; “ha-chi-de”, “ha-chi-di” por los Mascaleros Apaches en Nuevo México, “kwimi dechi” por los zunis en Nuevo México; “osha” en Colorado, Nuevo México; “pah-net-snap” por los Pauite en Utah: “raíz angélica” en Texas; “raíz de cochino” en Durango; “wadda-e-gopa” por los Puites en Nevada; “wasia” por los Tarahumaras en Chihuahua; “yerba del cochino” en Chihuahua y Durango (Linares y Bye, 1987); También se conoce como “apio de montes porter’s”, “apio de monte salvaje”, “raíz del amor”, “medicina de oso”, “raíz de oso”, “perejil indio”, “gingsen de montaña”, “nipo” ([www.drylandsinstitute.org](http://www.drylandsinstitute.org)).

En México es de gran importancia para los Tarahumaras y es de gran comercio en mercados de plantas (Bye, 1986); en infusión las raíces frescas o secas se usan para aliviar dolores de estomago, cólicos, úlceras y diarreas, también como analgésico y remedio para bronquitis, neumonía, tuberculosis, resfriado y tos. Se recomienda para tratamiento de diabetes, problemas de circulación y resacas, extractos alcohólicos se consumen para dolores de garganta, se aplica tópicamente para dolores del cuerpo y en baños para el tratamiento de fiebres, (Linares y Bye, 1987).

La raíz se aplica tópicamente sobre heridas y cortadas para prevenir infecciones, seca se mastica como aperitivo y para mantener la juventud del cuerpo, algunas personas sugieren que la raíz de *L. porteri* equivale al ginseng mexicano. Un cataplasma de la raíz se coloca sobre la picadura de un insecto o escorpión para sacar el veneno y cuando se juntan las raíces de *L. porteri*, *Pinus edulis* Engelm y hojas de *Nicotiana sp.* se aplican en zonas del cuerpo con dolor reumático, calambres y fracturas de huesos (Linares y Bye, 1987).

A *L. porteri* se le coloca en el complejo “chuchupate”, junto con *Myroxylon balsamum* (L.) Harm como remedio para el alivio de congestión asmática y dolores reumáticos, este complejo es ampliamente reconocido en mercados de México y E.U. Las hojas y raíces de “osha” son apreciadas como

condimentos. Las infusiones de *L. porteri* son empleadas en ceremonias por los indios Tarahumaras e indios Zuni, la raíz es utilizada como talismán contra brujas y serpientes venenosas, así como para atraer la buena suerte y para los indios Tava de Nuevo México la raíz de “osha” es de gran aprecio para el tratamiento de malestares como diarrea y dolores estomacales (Linares y Bye, 1987).

### 3.4 Fitoquímica y Farmacología

Se han realizado amplias investigaciones en la raíz de *L. porteri* en las cuales se han identificado diversas ftálicas como: E-ligustílida, (Z)-3-butilideneftálica, Z-ligustílida y diversos terpenos como:  $\alpha$ -Pineno,  $\alpha$ -Felandreno, Limoneno,  $\beta$ -Felandreno,  $\alpha$ -Terpineno,  $p$ -Cimeno,  $\alpha$ -Tujeno, Sabineno, Myrceno,  $\alpha$ -Felandreno,  $\gamma$ -Terpineno, *cis*-Tujeno, 1,3,8-Mentatrieno,  $\alpha$ -Felandreno,-1,2-epoxide, Sabinol, Pentilbenceno, Terpineno-4-ol,  $\alpha$ -Terpineol, Timil metileter, Carvacril metileter, Isotujil acetato, *trans*-Pinocarveil acetato, Bornil acetato, Sabinil acetato, 4-Vinilguaiacol, 4-Terpinil acetato,  $\alpha$ -Terpinil acetato, *o*-Metileugenol, 2,5-Dimetoxi-*p*-cimeno,  $\alpha$ -Barabateno,  $\beta$ -Funebreno, Widreno,  $\beta$ -Barabateno, Miristicina, (-)-Kessano, Liguloxide,  $\alpha$ -Chamigreno, Elemicin,  $\alpha$ -Eudesmol (Delgado *et.al.*, 1992; Cégiéla-Carlioiz *et.al.*, 2005).

Las pruebas de actividad biológica de *L. porteri*, muestran una ligera actividad antiviral y antimicrobial con organismos gram (+) y gram (-) y hongos ascomicetos (Beck and Stermitz, 1995). Amplias investigaciones han demostrado su actividad antiinflamatoria, mostrando efecto similar al fármaco Dipirone en ensayos con ácido acético (0.6%) por vía intraperitoneal en ratones. En ensayos de toxicidad con *Artemia salina* y prueba mutagénica de Ames, presenta una leve acción (Déciga-Campos, 2005; Déciga-Campos, 2007). Los aceites esenciales de *L. porteri* presentan actividad de modulación Resistencia Multi-Drogas (MDR por sus siglas en ingles) en *Staphylococcus aureus* (Cégiéla-Carlioiz *et.al.*, 2005). Otras pruebas de actividad biológica

realizadas con líneas celulares de cáncer mamario y de colon en humano, mostraron una ligera citotoxicidad (Slambrouck *et.al.*, 2007; Daniels *et. al.*, 2006). Estudios de toxicidad recientes (Jiménez, 2010) muestran que *L. porteri* presenta una LD<sub>50</sub> en infusión y decocción al 5% m/v empleando la prueba SMART en *Drosophila melanogaster*.

### 3.5 Farmacopea Herbolaria Mexicana

La Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos es el documento legal instituido por la Ley General de Salud donde se establecen los métodos generales de análisis y los requisitos sobre: la identidad, pureza y calidad que garantice que los fármacos o principios activos, aditivos, medicamentos y productos biológicos como vacunas y hemoderivados, sean eficaces y seguros, de acuerdo a las características propias del país. Que es expedida y reconocida por la autoridad sanitaria competente. La finalidad de la Farmacopea es buscar la excelencia terapéutica mediante sus criterios de inclusión y exclusión, y de sus especificaciones de calidad ([www.salud.gob.mx](http://www.salud.gob.mx)). En ésta se incluirá 14 especies entre las cuales se incluye a *L. porteri*.

Las monografías tratan de determinar y salvar diferentes patrones de selección de plantas medicinales mexicanas, la selección de las especies se realiza en base a su uso medicinal frecuente e importancia comercial. La gran cantidad de compuestos con actividad biológica hacen a *L. porteri* candidata para formar parte de la monografía oficial de la Farmacopea Herbolaria Mexicana donde se reconoce su uso en prescripciones médicas y el uso potencial de algunos componentes en la medicina actual (Déciga-Campos, 2007).

Los criterios internacionales para la validación y estandarización de un producto vegetal como fitomedicamento involucra, entre otros, la integración de características microscópicas e histoquímicas del material vegetal para

garantizar su autenticidad (Sandoval, 2005). La anatomía e histoquímica de las especies medicinales permite su caracterización y brindan información farmacognósica.

Se ha demostrado que la caracterización anatómica es un gran apoyo para la identificación botánica mas precisa y puede también servir para la detección de adulteraciones, fraudes o sustitución de material de partes vegetativas similares a las auténticas.

En el caso de *L. porteri*, no se cuenta con la información histológica e histoquímica de las partes vegetativas, lo cual es parte importante para su identificación y autenticidad. Es por eso que se realizó este estudio, para complementar la información de la especie, la cual servirá para la publicación de su monografía en la Farmacopea herbolaria Mexicana. En la presente tesis se podrá caracterizar de manera precisa a *L. porteri*, abordando los aspectos de reconocimiento estructural de la hoja (como nuevo aporte) y de la raíz para corroborar si las descripciones realizadas en la literatura, en las cuales la mencionan como una raíz corresponden, o corresponde a un rizoma. Así como la descripción histoquímica para observar las zonas de almacenamiento de los compuestos activos presentes en las partes vegetativas.

#### 4. - OBJETIVOS

##### General:

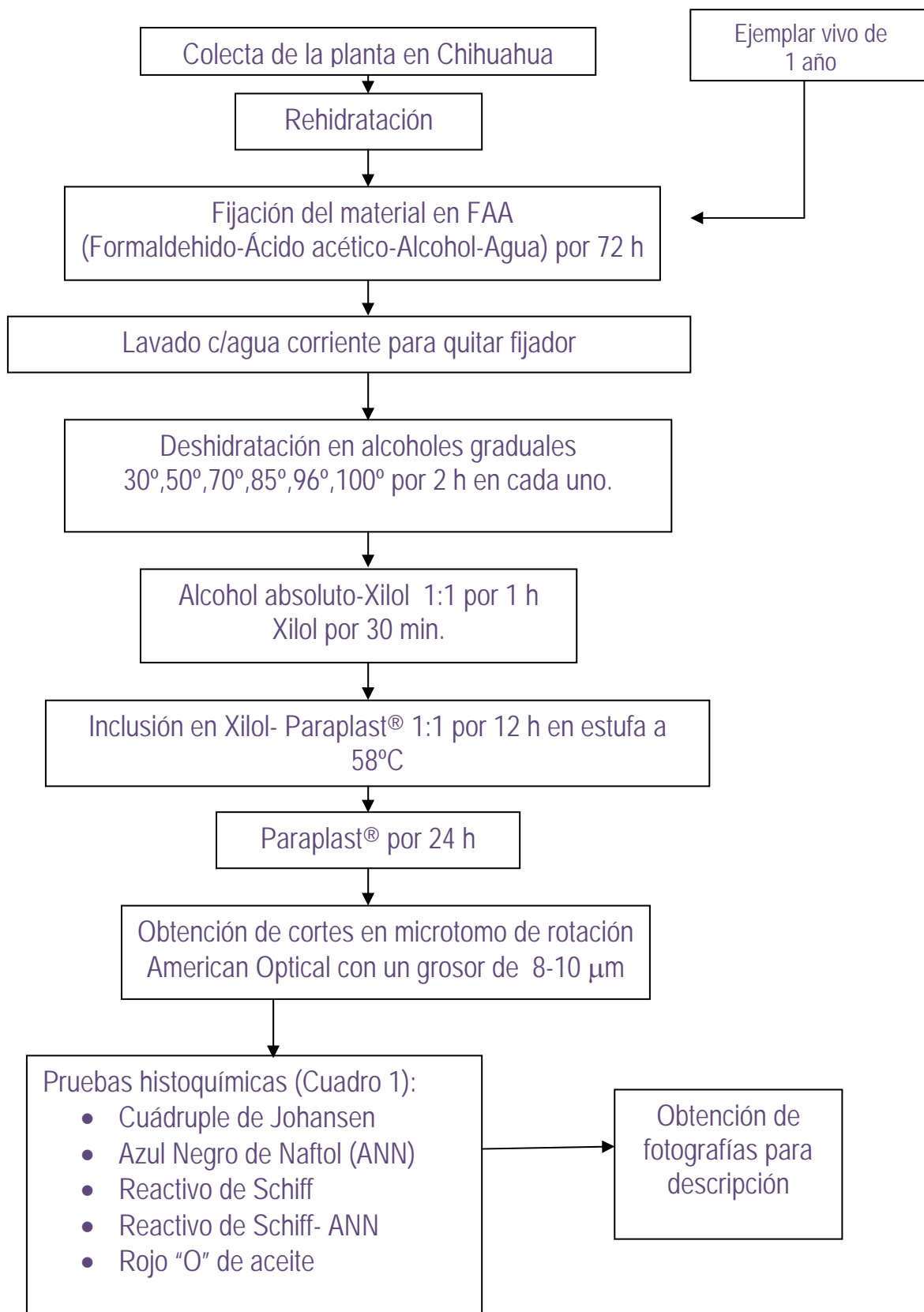
- Caracterizar histológica e histoquímicamente de raíz y hoja de *Ligusticum porteri* J.M. Coulter & Rose

**Particulares:**

- Describir la histología de la raíz y de la hoja de *L. porteri*.
- Determinar por medio de histoquímica la presencia de sustancias que pudieran corresponder a principios activos en las partes vegetativas de *L. porteri*.

## 5.- MÉTODO

### 5.1.- MÉTODO GENERAL



## 5.2.- Búsqueda de Información documental:

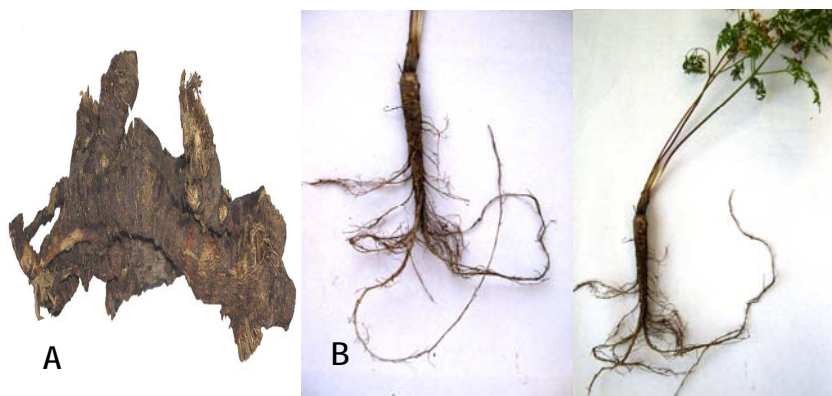
La información de *L. porteri* se obtuvo en diversas fuentes: libros, tesis y revistas, en la red por medio de buscadores, bases de datos (Google, NCBI, Elsevier, Science Direct, InterScience) y comentarios personales.

## 5.3.- Obtención de *Ligusticum porteri*:

*L. porteri* se obtuvo de una colecta realizada por el Dr. Robert Bye en el estado de Chihuahua, Municipio Bocoyna, entre Choquita y Guirigomuchi, lado norte del cerro en bosque pino-encino, 27.8° N, 107.6° W, 2333 msnm, el día 9 de Octubre del 2007. Otro ejemplar vivo se obtuvo por la donación del Jardín Botánico del Instituto de Biología de la UNAM, con una edad aproximada de 1 año y proveniente de semillas de la misma región.

## 5.4.- Procesamiento de material:

El ejemplar colectado en Chihuahua estaba seco, por lo que se rehidrató en agua corriente por 2 días y se fijó en FAA por 72 h. La segunda muestra se tomó en fresco, de aproximadamente 1 año de edad y se fijó en FAA por un período de 72 h.



**Fig.3. *Ligusticum porteri* J.M. Coulter & Rose (Apiaceae), A. Raíz seca colectada en Chihuahua (R. Bye) B. Planta fresca obtenida de semilla de colecta en Chihuahua.**

#### **5.4.1.- Deshidratación:**

Después de lavar por dos horas con agua corriente, ambos ejemplares se sometieron a deshidratación en una serie de alcoholes graduales de 30°, 50°, 70°, 85°, 96° y 100° por un periodo de 2 h en cada uno. Posteriormente las muestras se pasaron a una mezcla de Alcohol absoluto-Xilol 1:1 por 1 h. Y después a Xilol por 30 min.

#### **5.4.2.- Inclusión:**

El material previamente deshidratado se pasó a una mezcla de Xilol-Paraplast® 1:1 durante 12 h dentro de una estufa a 58°C. Después de este periodo las muestras se pasaron a Paraplast® por un período de 24 h a 58°C y se incluyeron en cubos de metal con Paraplast®.

#### **5.4.3.- Obtención de cortes:**

El material incluido se fijó sobre cubos de madera y se cortó en un microtomo de rotación American Optical a 8-10 µm de grosor.

#### **5.4.4.- Desparafinación:**

Una vez obtenidos los cortes se introdujeron a la estufa por un periodo de 40 a 60 min a una temperatura aproximada de 58°C y posteriormente se pasaron a Xilol con 3 cambios de 3 min. cada uno.

#### **5.4.5.- Rehidratación:**

Libres de Paraplast® las muestras se rehidrataron en una serie de alcoholes graduales y agua (100°, 96°, 85°, 70°, 50°, 30°, Agua) hasta igualar a la solución en la cual está preparada la técnica de tinción correspondiente (Cuadro.1).



## 5.5.- Técnicas Histoquímicas:

**Cuadro 1.** Técnicas histoquímicas aplicadas a los cortes histológicos de *L. porteri*.

TÉCNICA	ÚLTIMO MEDIO DE REHIDRATACIÓN	RESULTADO
Cuádruple de Johansen (CJ)	Alcohol etílico a 96°	Tiñe de rojo brillante las paredes celulares lignificadas, de verde naranja las paredes de celulosa, de rojo púrpura las células cutinizadas, de rojo la pared suberizada, de morado los contenidos citoplásmicos, de púrpura con halos verdes o naranja los gránulos de almidón (Johansen, 1940).
Ácido Peryódico-Reactivo de Schiff (APS)	Agua	Tiñe los polisacáridos insolubles de la pared celular y el almidón de púrpura o rosa (Johansen, 1940).
Azul Negro de Naftol (ANN)	Alcohol etílico a 96°	Tiñe proteínas de color azul (López <i>et al.</i> , 2005).
Rojo "O" de aceite (RJO)	Agua	La cutina, suberina y reservas lipídicas insolubles se tiñen de naranja rojizo (López <i>et al.</i> , 2005). Tiñe de color naranja o rojo la cutícula, lípidos y cutina (Jensen, 1962).
Tinción doble Reactivo de Schiff-Azul Negro de Naftol (APS-ANN)	Agua	Se tiñen los polisacáridos insolubles en púrpura y las proteínas en azul (López <i>et al.</i> , 2005).

## 5.6.- Descripción histológica e histoquímica:

Los estándares, la terminología y los aspectos de la organización celular usados para la descripción histológica de *L. porteri* se basaron en diversas fuentes Bold (1980), Dickison (200), Esau (1982), Fahn (1990). Las descripciones histoquímicas se basaron en Jensen (1962), Johansen (1940) López *et. al.* (2005). Las imágenes se capturaron a través de un microscopio óptico Carl Zeiss, con cámara fotográfica Canon power shot A640 y con el Sistema AxioVision 4.7.

## 6. RESULTADOS

La descripción del rizoma, raíz y hoja de *Ligusticum porteri* incluye los tejidos dérmico, fundamental y vascular, estas características contribuyen a la identificación de plantas medicinales basadas en sus estructuras internas.

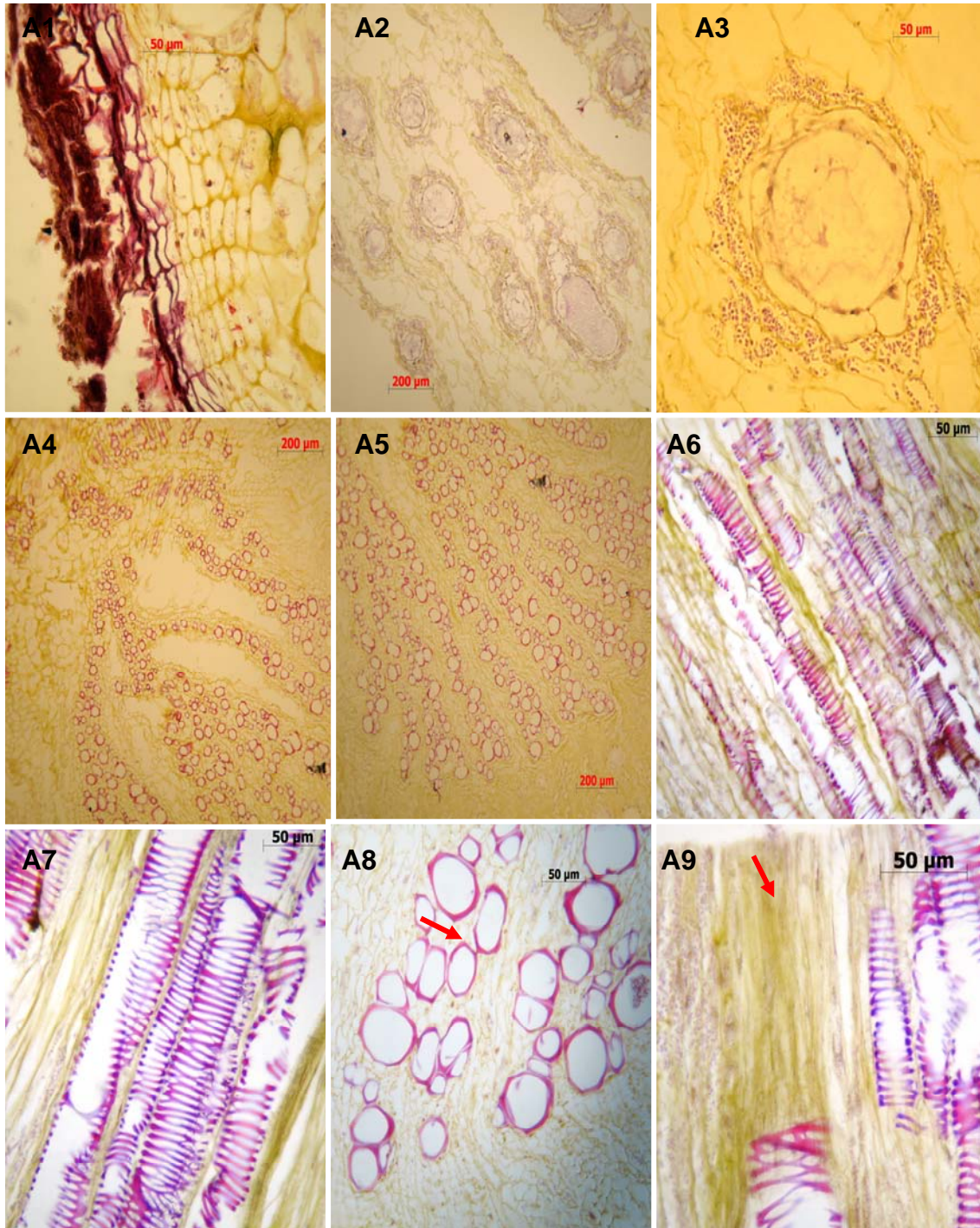
### 6.1. DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA:

#### 6.1.1. RIZOMA SECO-REHIDRATADO-FIJADO

El rizoma de edad madura colectado en el estado de Chihuahua seco no presenta exudados, seco-rehidratado-fijado presenta 12mm de diámetro, el rizoma es de color café, con una estructura leñosa y textura fibrosa, muy aromática similar al anís, no amarga.

#### CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS

El cuerpo principal presenta un crecimiento secundario, en el cual el sistema dérmico está constituido por un felema de múltiples capas celulares, organizadas en banda, con paredes gruesas y suberizadas; la felodermis es pluriestratificada de 4 a 8 capas celulares. El felógeno no se observa (Fig. 4, A1). El sistema fundamental del córtex presenta tejido parenquimático de almacén, con material ergástico de tipo amiloideo el cual predomina ante el xilema y el floema; entre las células de córtex se encuentra gran cantidad de cavidades secretoras de diversos tamaños entre 60 a 141 $\mu$ m de diámetro, las cavidades presentan de 6 a 8 células epiteliales por cavidad (Fig. 4, A2, A3). En el centro del rizoma se presenta tejido parenquimático que se extiende desde el córtex hacia la médula en hileras, formando radios desde el centro hacia el córtex del rizoma (Fig. 4, A4, A5). El sistema vascular presenta xilema secundario donde se observan elementos de vaso de diversos diámetros de 18 a 54 $\mu$ m, de paredes secundarias. Los elementos del protoxilema presentan ornamentación anular y helicoidal, los elementos del metaxilema son helicoidales (Fig. 4, A6, A7). El escaso tejido floemático se encuentra en forma casi imperceptiblemente con el parénquima y el xilema (Fig. 4, A8, A9).



**Fig.4. A.** Rizoma seco-rehidratado-fijado. Cortes en plano transversal (CT) y longitudinal (LG). **A1** (CT) Peridermis multiestratificada, felema suberizado; **A2** (LG) Cavidades secretoras entre células del córtex; **A3** (CT) Cavidad secretoras, alrededor amiloplastos en células de parenquima; **A4** (CT) Proyecciones de haces vasculares hacia el córtex; **A5** Tejido parenquimático entre xilema **A6**; Elementos de vaso del protoxilema presentan ornamentación anular **A7**; Los elementos del metaxilema presentan ornamentación helicoidal; **A8** El escaso tejido floemático se encuentra en forma casi imperceptiblemente entre el parénquima y el xilema **A9**. Células de floema entre células de córtex y xilema.

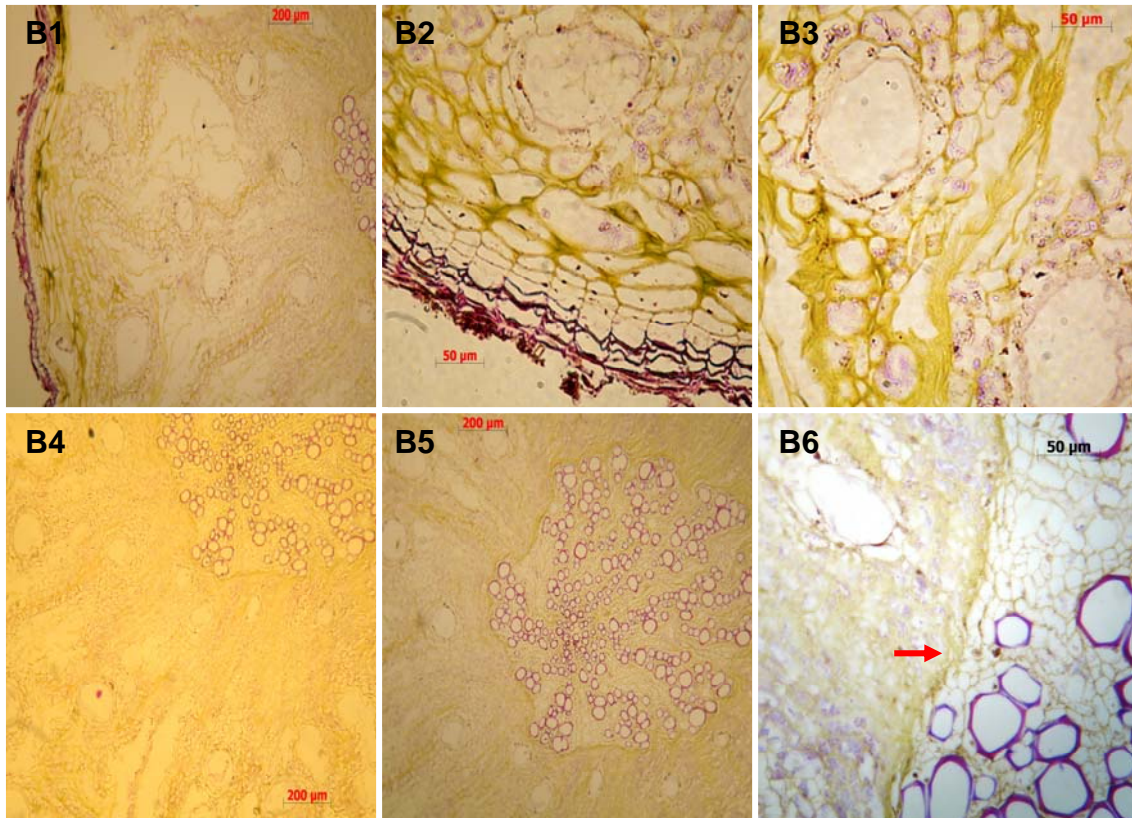
## 6.1.2 RAÍZ SECA-REHIDRATADA-FIJADA

### CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS

La raíz mide 6mm de diámetro, presenta una rizodermis pluriestratificada de células rectangulares. El felema está constituido por células suberizadas organizadas en 4 a 6 capas; la felodermis presenta 3 capas de células con paredes primarias (Fig. 5, B1, B2). El córtex presenta células parenquimáticas, dentro de las cuales se presenta almacenada gran cantidad de amiloplastos. Entre las células de córtex se encuentran gran cantidad de cavidades secretoras de entre 53 a 115 $\mu$ m de diámetro (Fig. 5, B3, B4).

El xilema se encuentra organizado como un cuerpo central, constituido por protoxilema y metaxilema los cuales presentan elementos de vaso con ornamentación helicoidal. Presenta una ligera endodermis no lignificada (Fig. 5, B5, B6).





**Fig. 5. B** Raíz seca-rehidratada-fijada; Cortes en plano transversal (CT). **B1, B2** Rizodermis pluriestratificada, Córte-  
x con gran cantidad de cavidades; **B3** Córte-  
x con células de almacén; **B4** Gran cantidad de cavidades secretoras en  
todo el córtex; **B5** Haz vascular central; **B6** Endodermis no lignificada.

### 6.1.3. RIZOMA FIJADO EN FRESCO

#### CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

El rizoma midió 7mm de diámetro, es de color café-cremoso, presenta una textura carnosa, es muy aromático, no amarga, sin exudados.

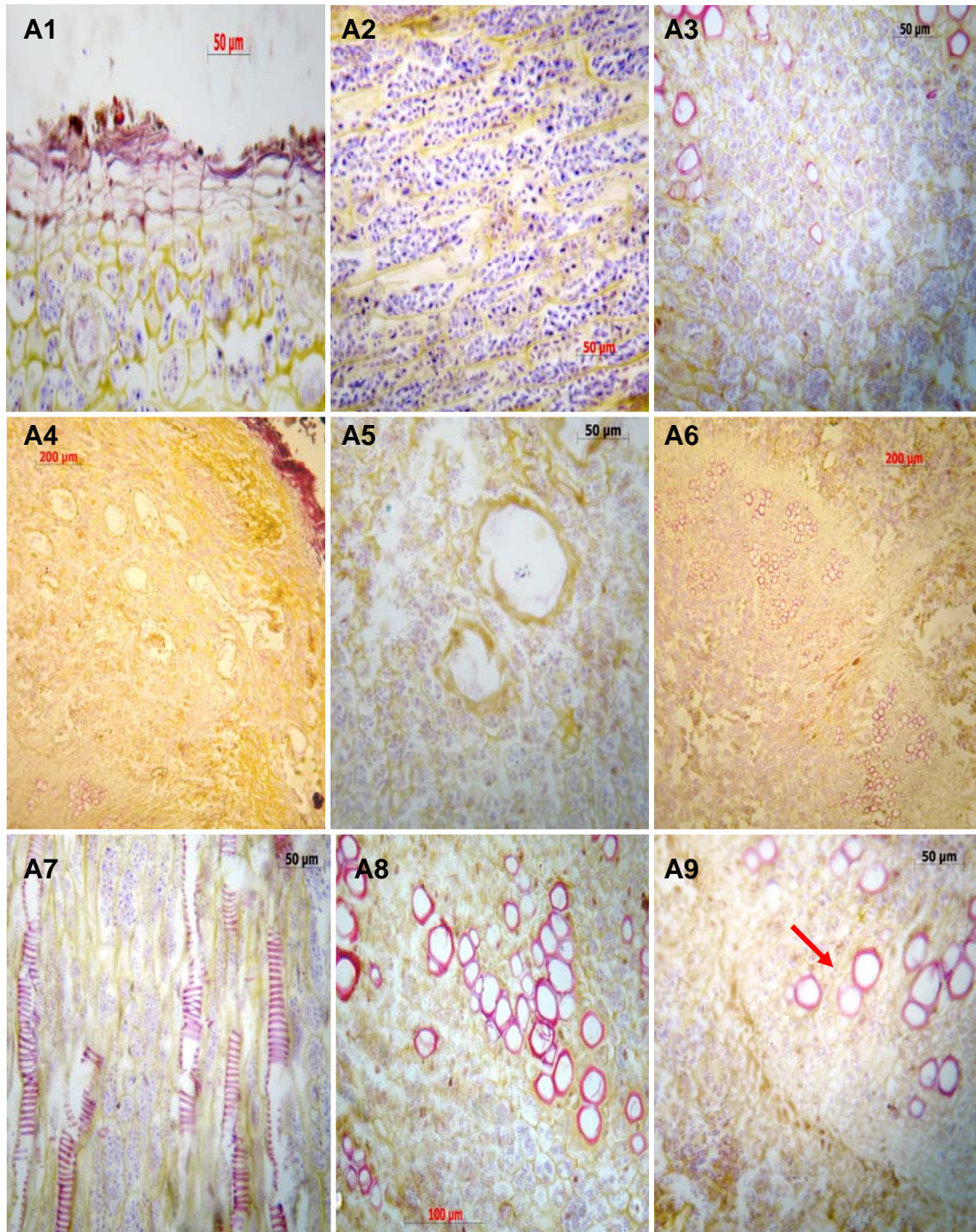
#### CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS

El rizoma de un año de edad fijado en fresco, presentó un felema conformado por 3 a 4 capas de células rectangulares, con paredes suberizadas y una felodermis de 4 capas celulares de paredes primarias, el felógeno no se distingue (Fig. 6, A1). La médula presenta tejido parenquimático con material ergástico de tipo amiloideo (Fig. 6, A2, A3). El córtex al igual que la médula

presenta tejido parenquimático de almacén; entre las células del córtex se localizan cavidades secretoras que presentan de 4 a 6 células epiteliales, las cavidades son de múltiples diámetros de entre 52 a 117 $\mu$ m (Fig. 6 A4, A5).

El xilema se presenta en etapa secundaria, los elementos de vaso tienen un diámetro de entre 9 a 32 $\mu$ m, con ornamentación helicoidal (Fig. 6, A6, A7, A8). Entre el xilema y células parenquimáticas se presenta el escaso floema, organizado de manera compacta (Fig. 6, A9).





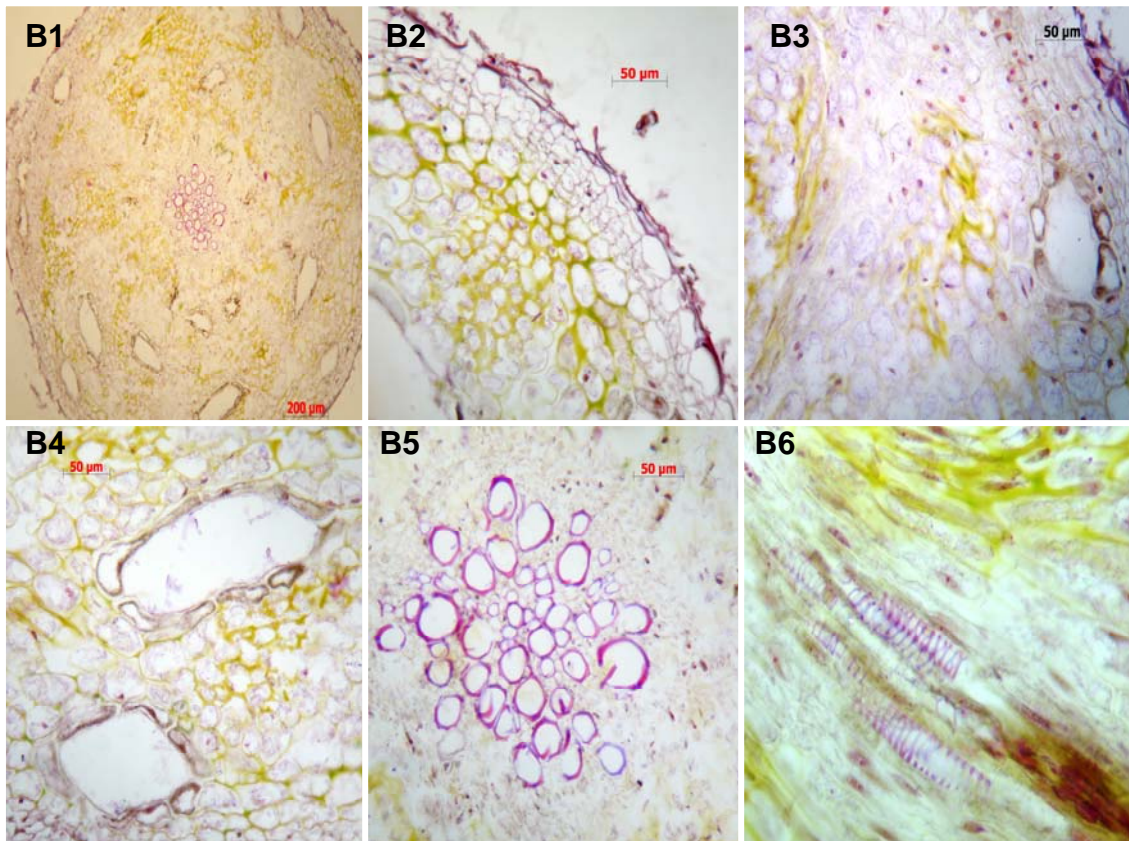
**Fig. 6.** Rizoma fijado fresco. Cortes en plano transversal (CT) y longitudinal (LG). **A1** (CT) Peridermis multiestratificada con células suberizadas; **A2** (LG) Células del córtex con material ergástico amiloideo; **A3** (CT) Limite entre haz vascular y medula, células parenquimáticas; **A4** (CT) Córtex, cavidades secretoras entre células de parénquima; **A5** (CT) Cavidades secretoras; **A6** (CT) Haz vascular; **A7** (LG) Elementos de vaso con ornamentación helicoidal entre células de parénquima; **A8** (CT) Elementos de metaxilema; **A9** (CT) Tejido floemático entre xilema y parénquima .



## 6.1.4 RAÍZ FIJADA EN FRESCO

### CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS

La raíz es joven, sin pelos radicales evidentes, de cutícula gruesa, con un felema constituido por 2 a 3 capas de células suberizadas, el felógeno no se distinguió. La felodermis está constituida por 5 a 6 capas celulares de paredes primarias (Fig. 7, B1, B2). El córtex está compuesto por células parenquimáticas de almacén, las cuales presentan material ergástico de tipo amiloideo. Entre las células del córtex se encuentran gran cantidad de cavidades secretoras de diversos tamaños de entre 47 a 158 $\mu$ m (Fig. 7, B3, B4). El xilema se encuentra organizado en un cuerpo central sólido con proyecciones radiales extendiéndose hacia el córtex, el floema se encuentran organizado entre células del parénquima y xilema (Fig. 7, B5, B6).



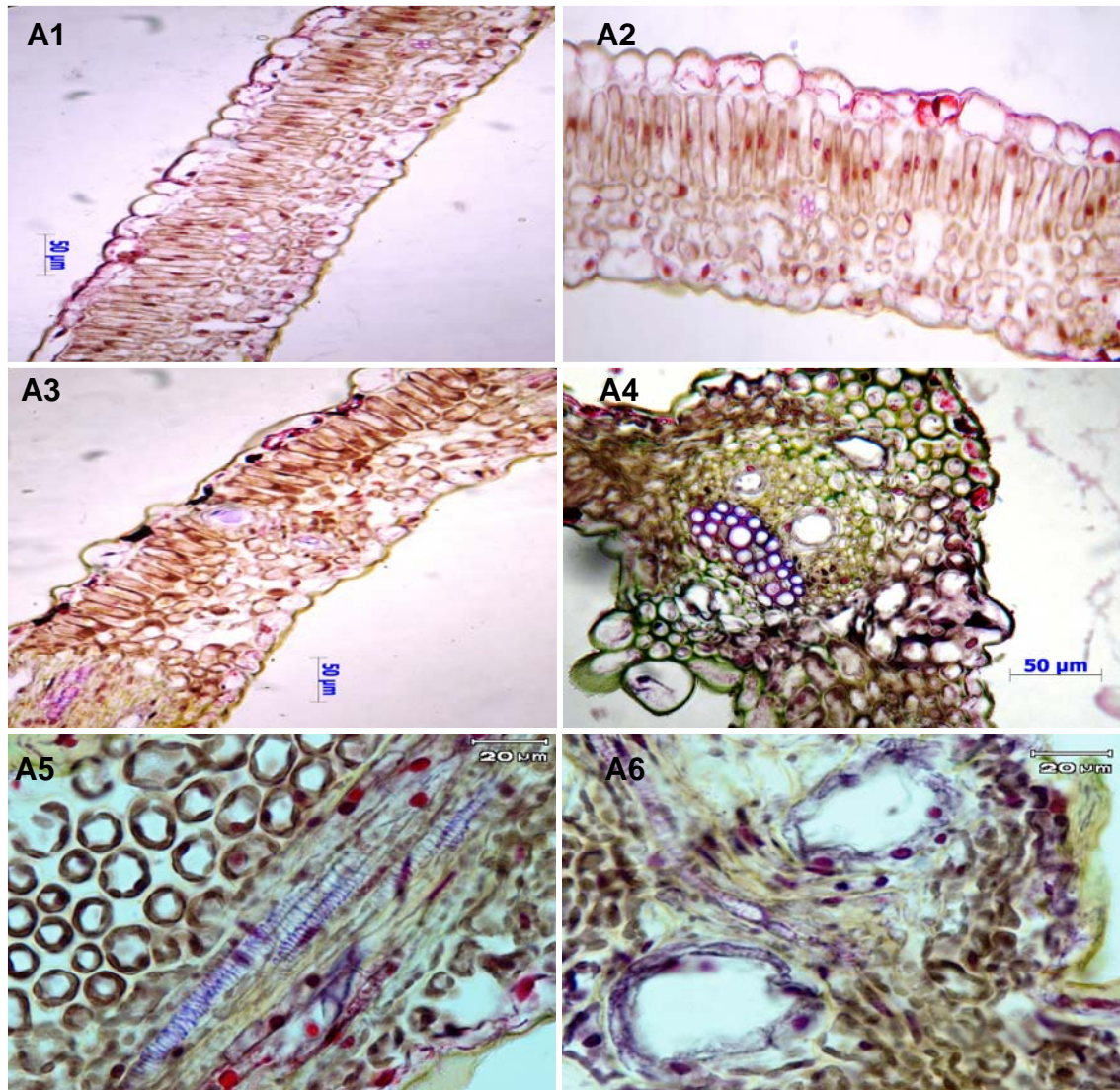
**Fig.7.** Raíz fijada en fresco. Cortes en plano transversal (CT) y longitudinal (LG). **B1** Crecimiento primario; **B2** Córtex material ergástico en parénquima, células de Rizodermis suberizadas; **B3** Cavidades secretoras. **B4** Proyección del haz vascular; **B5** Haz vascular concéntrico; **B6** (LG) Ornamentación helicoidal de elementos de vaso.

## 6.1.5 HOJA FIJADA EN FRESCO

### CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS

La hoja es bifacial de organización dorsiventral, hipostomática, presenta estomas anomocíticos (Fig.8. A1). La epidermis se presenta organizada en una capa de células de paredes primarias, las células epidérmicas del haz son de mayor tamaño 40 $\mu$ m en promedio, las células del envés 25 $\mu$ m en promedio; la pared exterior de las células de la epidermis presentan una cutícula muy gruesa (Fig.8.A2).

El mesófilo está constituido por parénquima en empalizada y parénquima esponjoso. El parénquima en empalizada presenta una organización uniestratificada, las células son alargadas perpendiculares a la superficie adaxial de la lámina, con núcleos y cloroplastos prominentes (Fig.8 A2, A3). El parénquima esponjoso está constituido por células de diversas formas irregulares, con espacios intercelulares abundantes. En la vena media se presentan cavidades secretoras de entre 17 a 29 $\mu$ m de diámetro distribuidas en el haz vascular, con una distribución especial, una cavidad hacia la cara abaxial y tres cavidades secretoras hacia la cara abaxial de la hoja (Fig. 8. A4). En un plano transversal se observa que los haces vasculares son colaterales, el xilema presenta elementos de vaso con ornamentación helicoidal (Fig. 8. A5). En las venas secundarias la organización de las cavidades secretoras es alrededor del haz vascular, una cavidad secretora hacia la cara abaxial y otra hacia la cara adaxial (Fig. 8. A6).



**Fig.8.** Hoja fijada en fresco. Cortes transversales. **A1** Organización dorsiventral, parénquima en empalizada y epidermis uniestratificada; **A2** Células del haz de mayor tamaño que las del envés, cutícula gruesa; **A3** Estomas anomocíticos solo en la cara abaxial; **A4** Vena media, mayor número de cavidades secretoras, haz vascular colateral; **A5** Corte tangencial, Elementos de vaso con ornamentación helicoidal; **A6** Cavidades secretoras a los extremos del haz vascular.



## 6.2 DESCRIPCIÓN HISTOQUÍMICA

### 6.2.1 RIZOMA Y RAÍZ SECO- REHIDRATADO- FIJADO

ROJO "O": Se presentó reacción positiva intensa en las paredes suberizadas de la peridermis, no hay reacción positiva en otras células. (Fig. 9. A1, A2, A3).

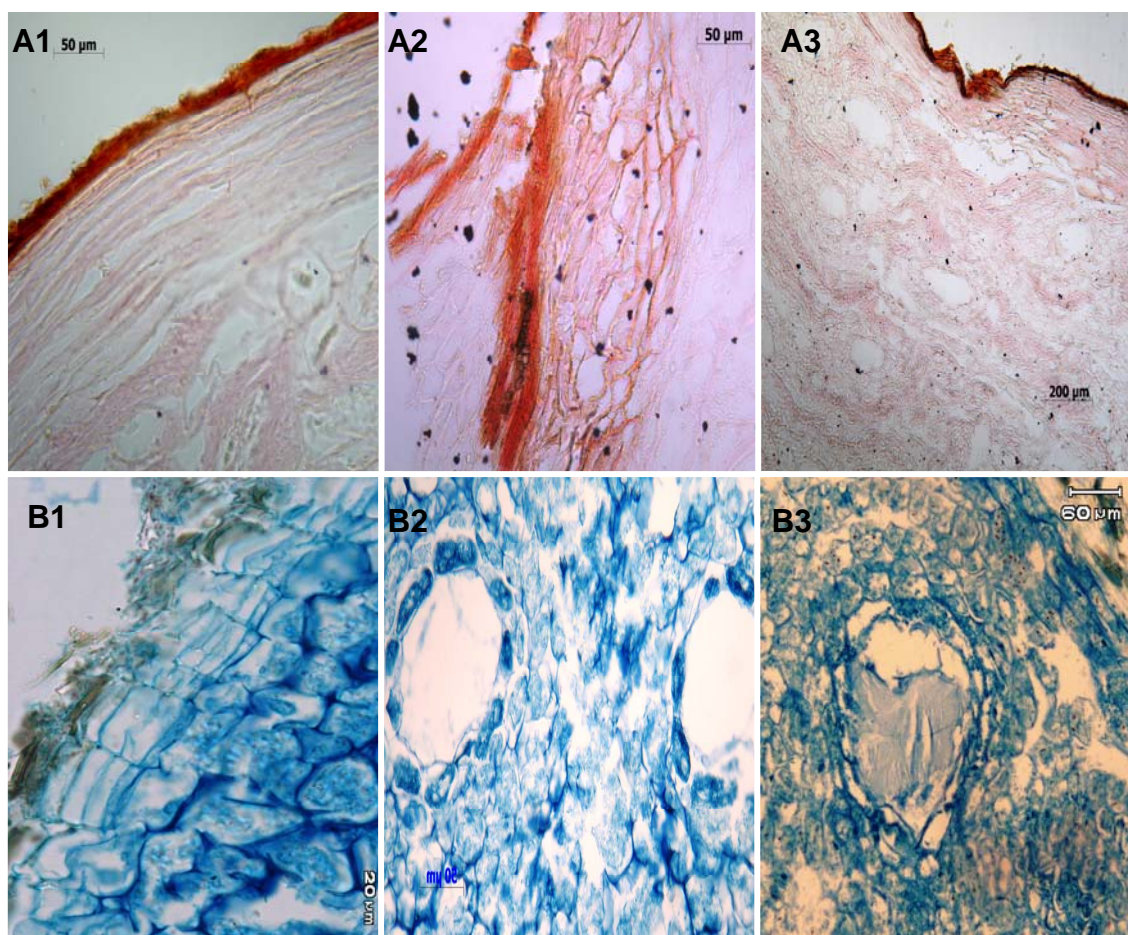
AZUL NEGRO DE NAFTOL: Se observó mayor reacción en el citoplasma del parénquima y ligeramente en las paredes de la peridermis (Fig.9. B1). Fuerte reacción en las células epiteliales de las cavidades secretoras, así como del contenido de las cavidades (Fig.9. B2, B3).

SCHIFF: El tejido presenta una tinción generalizada en las paredes celulares, pero el material amiloideo de las células parenquimáticas y el contenido de las cavidades secretoras presentaron mayor reacción con esta técnica (Fig. 10. C 1, C2, C3).

SCHIFF- AZUL NEGRO DE NAFTOL: En las células del parénquima predominó la reacción de Schiff, al igual que en el contenido de las cavidades secretoras (Fig.10. D1, D2). Se observó ligera reacción del citoplasma del parénquima con Azul Negro de Naftol (Fig.10. D3).

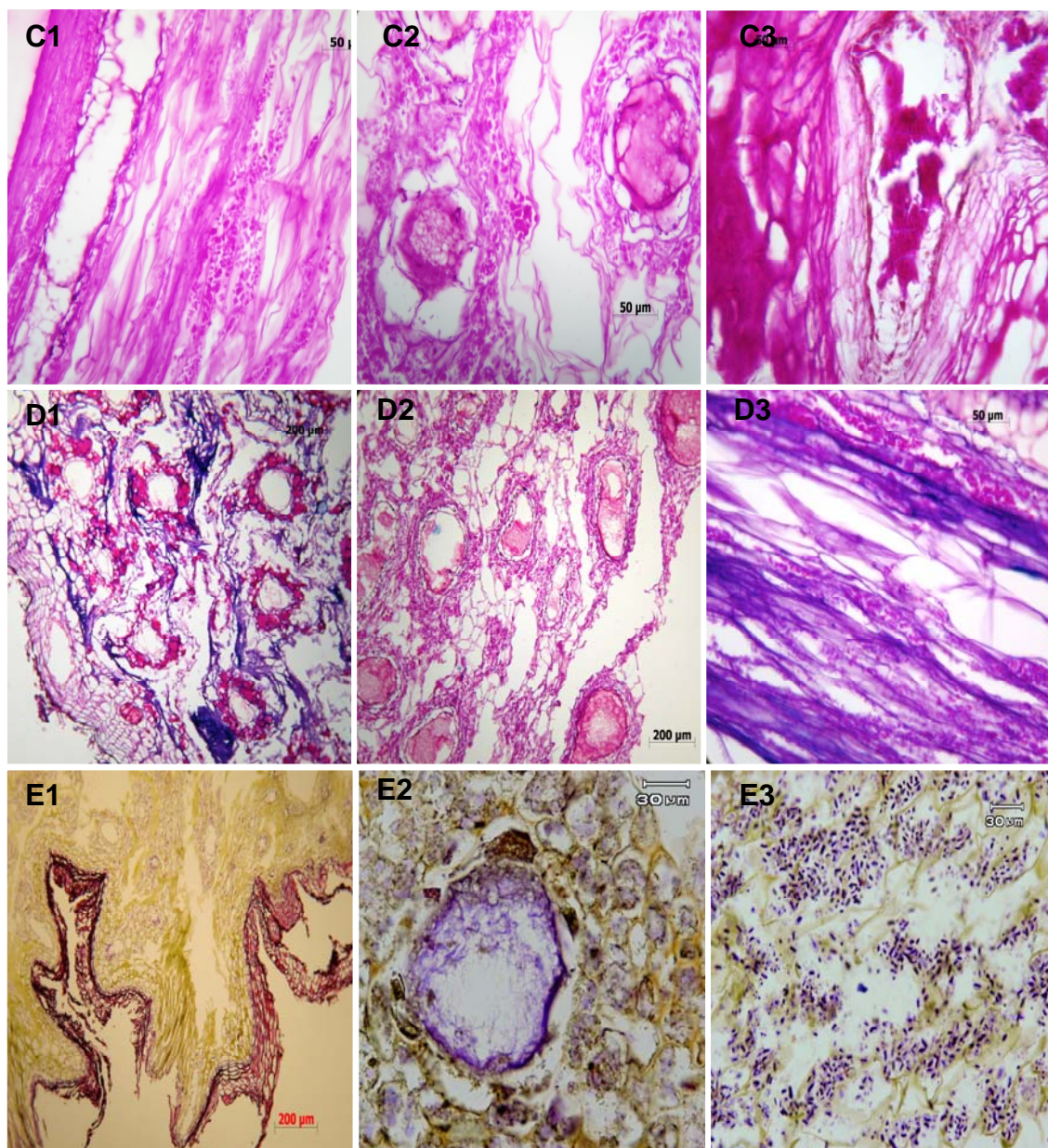
CUÁDRUPLE DE JOHANSEN: La peridermis se tiñó de rojo por su composición de suberina, las paredes de los elementos de vaso también se tiñen de rojo por la presencia de lignina, lo que contrastó con el color verde de las paredes celulares del parénquima y de las células epiteliales de las cavidades secretoras (Fig. 10. E1, E2). El contenido de las cavidades presentó una tinción púrpura, similar a la de los amiloplastos del parénquima. Se observó de color café el contenido denso del citoplasma de las células epiteliales (Fig. 10. E3).

El rizoma y la raíz de *L. porteri* presentan reacciones similares en las pruebas histoquímicas, los tejidos, cavidades y material ergástico presentan la misma reacción.



**Fig.9.** Rizoma y raíz seca-rehidratada-fijada. Cortes en plano transversal. **A** Tinción con rojo"O" de aceite; **A1, A2** Peridermis con reacción positiva; **A3** Células de córtex y cavidades secretoras sin reacción. **B** Tinción Azul Negro de Naftol; **B1, B2, B3** Reacción positiva en células epiteliales de cavidades secretoras y contenido.





**Fig.10.** Rizoma y raíz seca-rehidratada-fijada. Cortes en plano transversal (CT) y longitudinal (LG). **C** (LG) Tinción Reactivo de Schiff; **C1** Fuerte reacción de contenido amiloideo; **C2, C3** Reacción positiva de contenido de las cavidades secretoras. **D** Tinción doble Schiff-ANN, **D1** Fuerte reacción de Schiff-ANN en citoplasma y paredes de células epiteliales y parénchima, reacción a Schiff sólo en paredes de felodermis y material amiloideo; **D2** Dominio de Schiff en el interior de las cavidades secretoras y del material ergástico; **D3** (LG) Reacción de Schiff en amiloplastos y de ANN en paredes de parénchima y contenido de células epiteliales de cavidad secretora. **E** Tinción Cuádruple de Johansen; **E1** (LG) Peridermis con reacción positiva a safranina; **E2, E3** Contenido de cavidades secretoras y material ergástico con fuerte reacción a violeta.

## 6.2.2 RIZOMA Y RAÍZ FRESCOS FIJADOS

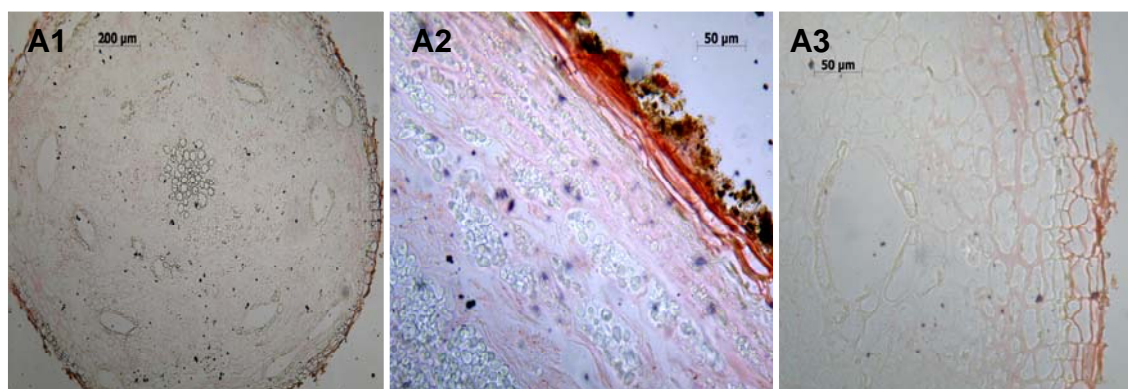
ROJO "O": Se observó reacción positiva de las paredes suberizadas de la peridermis y rizodermis (Fig. 11. A2, A3). Los elementos celulares del sistema fundamental y vascular no presentaron reacción positiva (Fig. 11. A1).

AZUL NEGRO DE NAFTOL: Ligera reacción en el citoplasma del parénquima. Fuerte reacción en células epiteliales y el contenido de cavidades secretoras (Fig.11. B1, B2, B3).

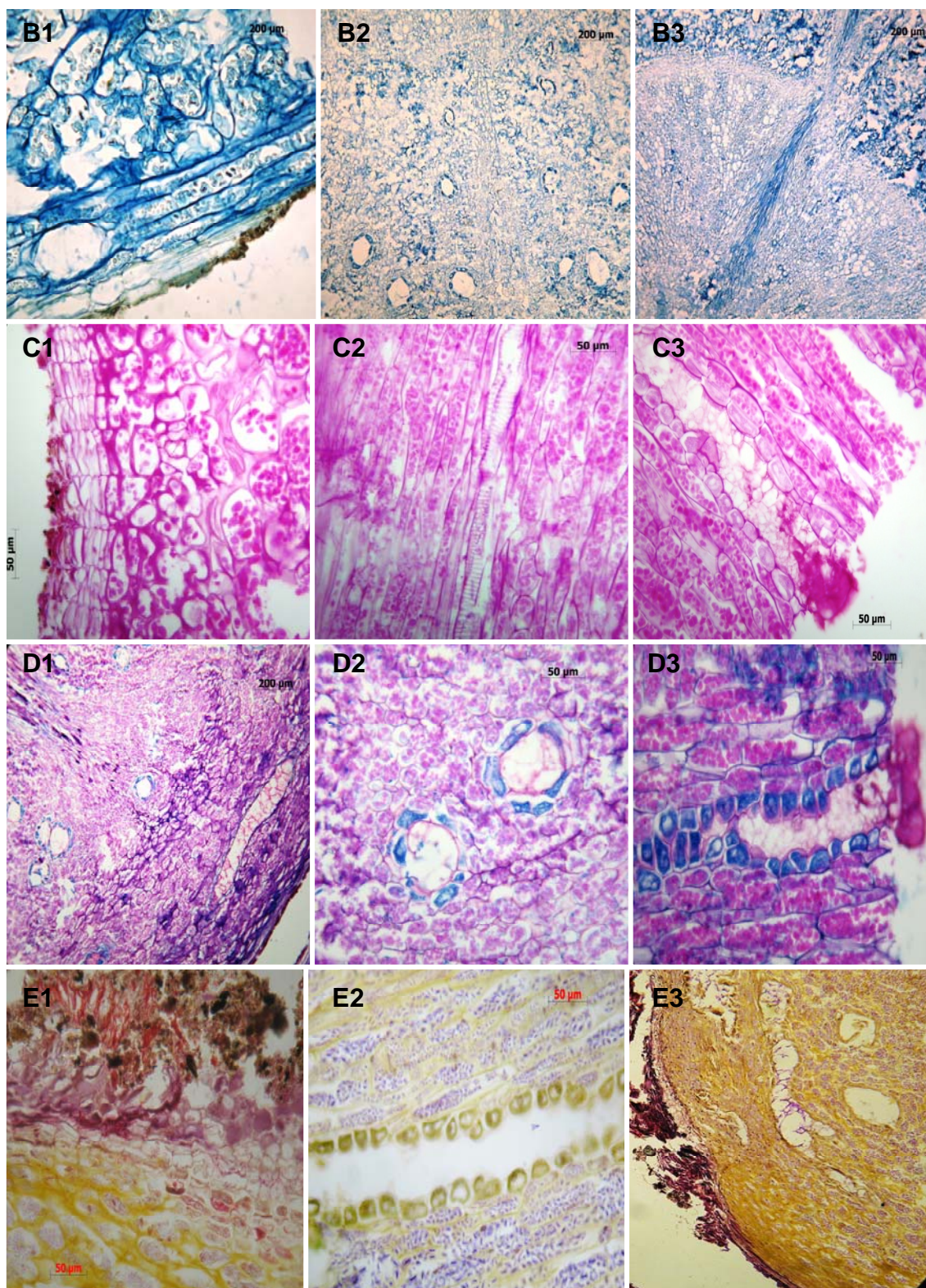
SCHIFF: El tejido presenta una tinción generalizada en las paredes celulares y más intensa en la peridermis y rizodermis (Fig. 11. C1). Fuerte reacción en el material ergástico del parénquima y del contenido de las cavidades secretoras (Fig. 11. C2, C3).

SCHIFF-AZUL NEGRO DE NAFTOL: En las células epiteliales de las cavidades secretoras hubo fuerte reacción con Azul Negro de Naftol (Fig.11. D1). El contenido de las cavidades y el material ergástico del parénquima reaccionaron más con Schiff (Fig.11. D2, D3).

CUÁDRUPLE DE JOHANSEN: La peridermis presentó una coloración roja (Fig. 11. E1). Las paredes del parénquima y de las células epiteliales de las cavidades secretoras se observaron con reacción verde, el contenido de las cavidades presentó una tinción púrpura, similar a la de los amiloplastos del parénquima (Fig. 11. E2, E3).







**Fig.11.** Rizoma y raíz fijados en fresco. Cortes en plano transversal (CT) y longitudinal (LG). **A** Tinción con rojo"O" de aceite; **A2** Reacción positiva de la peridermis; **A2, A3** Córtex y cavidades secretoras sin reacción. **B** Tinción Azul Negro de Naftol, **B1, B2, B3** Reacción positiva de células epiteliales de cavidades secretoras y citoplasma de parénquima. **C** Tinción Reactivo de Schiff, **C1, C2** (LG)Fuerte reacción de contenido amiloideo y paredes; **C3** Reacción positiva de contenido de las cavidades secretoras y contenido. **D** Tinción doble Schiff-ANN, **D1, D2, D3** (LG) Fuerte reacción de contenido de cavidades secretoras y material ergástico de parénquima y córtex. Células epiteliales de



cavidad secretora reaccionan con ANN. E Tinción Cuádruple de Johansen, E1, E3 (CT), E2 (LG), Peridermis suberizada reacciona con safranina, material ergástico y cavidades secretoras reaccionan fuertemente con violeta.

### 6.2.3 HOJA FIJADA EN FRESCO

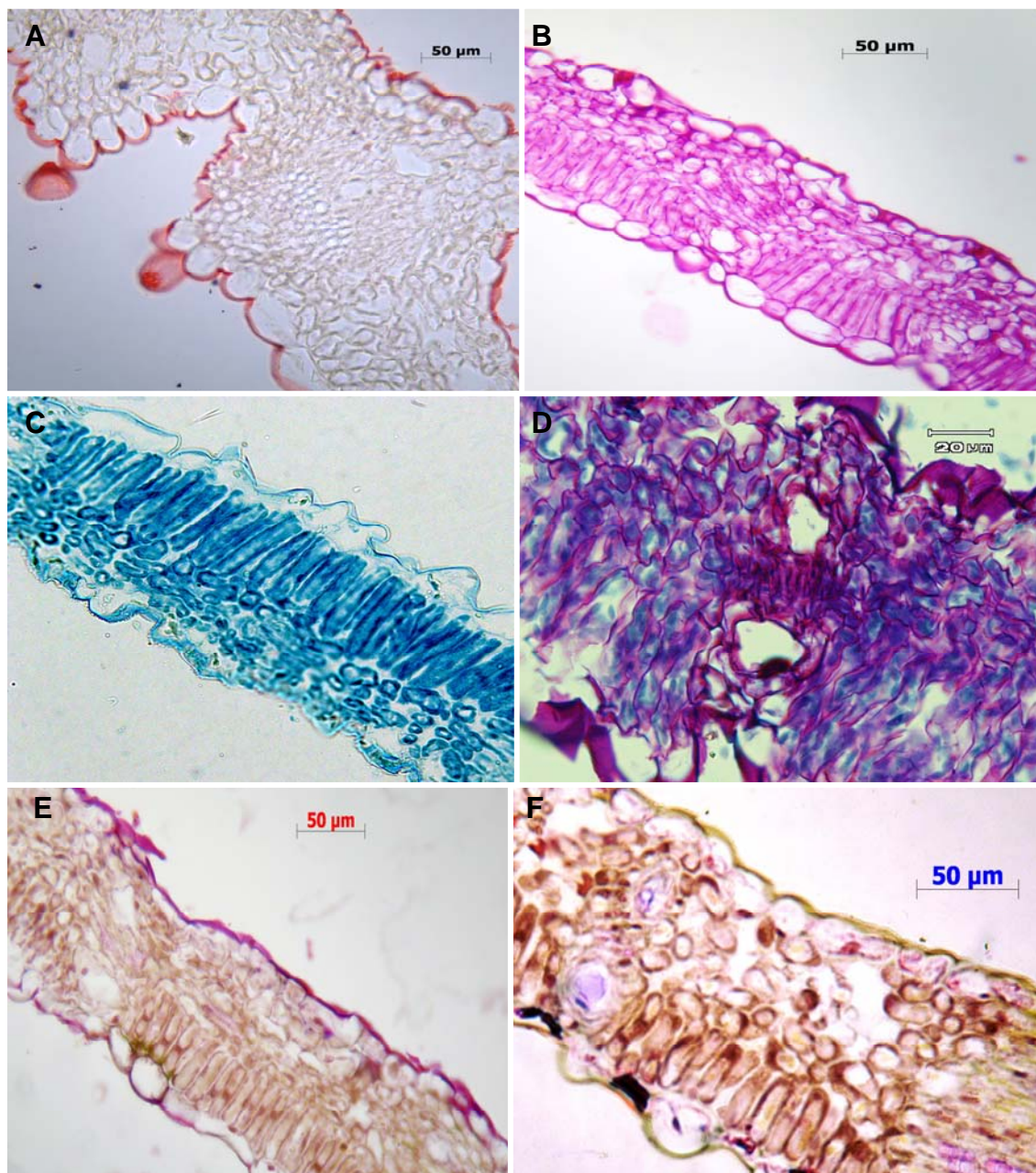
ROJO "O": Las paredes celulares externas de la epidermis de ambas caras de la hoja presentaron reacción positiva (Fig.12. A).

AZUL NEGRO DE NAFTOL: Se observó una reacción en las paredes celulares de la epidermis y en el citoplasma de las células del mesófilo, principalmente en los cloroplastos (Fig. 12. C).

SCHIFF: Reacción en las paredes de todas las células y más evidente en las células epidérmicas y el contenido de las cavidades secretoras (Fig. 12.B).

SCHIFF- AZUL NEGRO DE NAFTOL: Las paredes celulares reaccionan fuertemente al reactivo de Schiff y el contenido del mesófilo presentó fuerte reacción con Azul negro de Naftol. (Fig.12. D).

CUÁDRUPLE DE JOHANSEN: Las paredes de la epidermis reaccionaron fuertemente con safranina, el contenido de las cavidades secretoras reaccionó con violeta, igual que los cloroplastos (Fig.12. E, F).



**Fig.12.** Hoja fijada en fresco. Cortes transversales. **A** Tinción con rojo "O" de aceite; Reacción positiva de cutícula. **B** Tinción Reactivo de Schiff, reacción de células epidérmicas y de mésofilo. **C** Tinción ANN, Reacción positiva de células de mésofilo. **D** Tinción doble Schiff-ANN, reacción de células epidérmicas a Schiff y contenido de mésofilo a ANN. **E, F** Tinción Cuádruple de Johansen la cutícula reacciona fuertemente con safranina, con esta técnica las cavidades secretoras presentan gran reacción con violeta.

## 7. DISCUSIÓN

### 7.1 Información obtenida de *Ligusticum porteri*

*L. porteri* es una especie de una distribución limitada al Norte de la República Mexicana y sur de los Estados Unidos de América, de gran importancia ritual. Su importancia en la medicinal tradicional la coloca en la lista de especies que serán incluidas en la Farmacopea herbolaria Mexicana. Se han realizado amplios estudios sobre su composición química y de los componentes más importantes se encuentra Z-ligustilide, la cual presenta gran actividad antiviral, antibacterial antiinflamatoria y citotóxica en pruebas con líneas celulares de cáncer mamario y de colon humano. A pesar de su distribución limitada, es ampliamente comercializada. Cuando se inició este estudio existía un reporte de la anatomía o estructura de la raíz de la planta (Applequist, 2005) y comparando con los resultados obtenidos difieren en algunos aspectos que se detallan adelante.

### 7.2 Descripción histológica

De acuerdo a los antecedentes de la especie, para este estudio se consideró como rizoma lo que en otros estudios (Applequist, 2005) consideran como raíz axonomórfica o rootstock. Los resultados de la anatomía del rizoma en ambos casos: fijado en fresco y seco-rehidratado-fijado, aportaron características similares en la organización de los tejidos. Se pudo observar que desde la etapa más joven, el rizoma presentó un crecimiento secundario con aumento de tejido parenquimático en el córtex, así como de la cantidad de cavidades secretoras y de xilema secundario, lo que resultó en una organización axial de cinco sectores. La presencia de una médula y de crecimiento secundario, así como la clara diferencia en el córtex y la peridermis, corrobora que la estructura vegetal de *L. porteri* estudiada en este trabajo corresponde a un rizoma.

La raíz en ambos casos: fijado en fresco y seco-rehidratado-fijado, presentó un cuerpo sólido central con el haz vascular característico de la organización de una raíz.

La anatomía de las hojas mostró la presencia de células epidérmicas grandes en la cara adaxial y las paredes exteriores engrosadas en ambas caras, así como la presencia de estomas anomocíticos solamente en la cara abaxial, características que corresponden a plantas de hábitats de climas extremos como el de los lugares en los cuales crece *L. porteri*. La presencia de cavidades secretoras en la hoja, al igual que en el rizoma y en la raíz, las relaciona como el posible sitio de localización de los compuestos aromáticos que la planta contiene.

### **7.3 Descripción Histoquímica**

Mediante la histoquímica se observó por diferentes pruebas el contenido de las estructuras celulares, brindando un mayor contraste en las mismas, así como la determinación de la naturaleza química de las sustancias acumuladas.

La reacción de las células epiteliales y del contenido de las cavidades secretoras con Azul Negro de Naftol y Reactivo de Schiff, permiten considerar que se trata de un contenido de naturaleza glucoproteica, así también por la tinción café del citoplasma de las células epiteliales y del color violeta del contenido de las cavidades secretoras con la técnica Cuádruple de Johansen.

En ambos casos, el rizoma seco-rehidratado-fijado y el rizoma fijado fresco presentaron reacciones similares en los tejidos y contenidos celulares con las técnicas histoquímicas aplicadas. Sin embargo, se presentó mayor reacción en el rizoma seco-rehidratado-fijado, lo cual se puede deber al proceso de secado al cual fue sometido el rizoma colectado en Chihuahua, que llevó a una concentración de los productos de secreción en las cavidades secretoras, en las que se pueden encontrar los metabolitos secundarios.

La aplicación de la técnica Cuádruple de Johansen para la descripción anatómica e histoquímica, es de gran utilidad por el gran contraste que produce entre las estructuras celulares y por su reacción con metabolitos secundarios

acumulados. Esta técnica permite distinguir entre paredes celulares con mayor contenido de celulosa, lignificadas o suberizadas, que comparadas con las otras técnicas histoquímicas, nos permiten concluir sobre la naturaleza química de las mismas. La reacción con Rojo "O", con el Reactivo de Schiff y con la Safranina de la técnica Cuádruple de Johansen de las paredes celulares epidérmicas, nos indica que se trata de engrosamientos a base de compuestos lipídicos como la suberina.

Otra gran diferencia observada entre las estructuras celulares de las dos muestras fue el tamaño de los amiloplastos, ya que se presentan circulares en una etapa mas temprana y posteriormente toman una forma cilíndrica cuando son de mayor tamaño.

Las cavidades secretoras se localizaron en los tres órganos estudiados, abundantes en el rizoma y la raíz y organizadas de manera particular en las hojas, asociadas a los haces vasculares. Por la presencia en ellas de un contenido de naturaleza glucoproteica, determinada por las reacciones a Azul Negro de Naftol, Reactivo de Schiff y el Cristal violeta de la técnica Cuádruple de Johansen, se propone que sea el sitio de la secreción y almacenamiento de los metabolitos secundarios, que se han reportado para la especie y que en su mayoría corresponden a terpenos (Delgado, 1992).

La aplicación de las pruebas histoquímicas en *L. porteri* fue de gran utilidad para la detección, con más precisión de las moléculas acumuladas o almacenadas en las células, como fue el caso de las células epiteliales de las cavidades secretoras y de las paredes celulares en general. El estudio comparativo del material fijado en fresco y el rehidratado permitió observar que el secado de las estructuras vegetales, no afectó el mantenimiento de las estructuras celulares y sus contenidos, sino al contrario, mostró mayor cantidad de sustancias acumuladas en las cavidades secretoras del rizoma.

Estudios anatómicos e histoquímicos permiten caracterizar las partes vegetales de las plantas utilizadas como medicinales, que pueden servir para apoyar su determinación taxonómica cuando corresponda o para validar o certificar la autenticidad de las partes vegetales que se venden en los

mercados o expendios comerciales y en su caso detectar sustituciones en el uso de las especies como lo señala Centeno (2007) para *Guaiacum coulteri*. También pueden servir para establecer en su caso un conjunto de especies como complejo medicinal, como es el caso de “el complejo matarique” (Zarate, 2006).

Es así como, los estudios estructurales en conjunto y la aplicación de las técnicas histoquímicas aportan elementos valiosos en la caracterización de las partes vegetales utilizadas en la medicina tradicional y que se muestran en la farmacognosia de los fármacos, o en las descripciones de las plantas en las monografías con calidad de la OMS para su inclusión en las farmacopeas oficiales.

El uso medicinal de *L. porteri* justifica el trabajo realizado en esta tesis ya que con la descripción anatómica de la especie, se logró obtener información completa de las estructuras celulares del rizoma, de la raíz y de la hoja. Con las pruebas de histoquímica se logró identificar las estructuras de secreción y de acumulación de material orgánico, su naturaleza y su posible relación con los metabolitos secundarios correspondientes, responsables de la actividad medicinal de la planta.



## 8. CONCLUSIONES

- El estudio histológico del rizoma de *Ligusticum porteri* permitió corroborar que la estructura y organización de los tejidos del órgano corresponden a un rizoma y no a una raíz.
- El estudio histológico de la raíz de *L. porteri* planteó la posibilidad de que se trate de una raíz adventicia.
- En todas las partes vegetativas de la planta se localizaron cavidades secretoras.
- El estudio histoquímico de las partes vegetativas de la planta mostró la naturaleza glucoproteica de la secreción de las cavidades secretoras y su posible asociación con los metabolitos secundarios, responsables de la propiedad medicinal de la planta.
- La histología de *Ligusticum porteri* contribuirá a la caracterización taxonómica de la especie, y permitirá la validación en su caso de materiales fragmentados que se vendan en los mercados como “chuchupate” y “Osha”.
- Las estructuras reveladas constituyen la base para un mayor control de calidad en la elaboración de fitofármacos de *Ligusticum porteri*.
- El estudio histológico e histoquímico complementa las investigaciones realizadas en *Ligusticum porteri*, brindando información para la elaboración de la monografía oficial que será incluida en la Farmacopea herbolaria Mexicana.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, A., Camacho, J.R., Chino, S., Jácquez P., López, M.E., 1994. Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. Información Etnobotánica. 1ª edición. México, D. F., 3-5.
- Applequist, W.L., 2005. Root Anatomy of *Ligusticum* species (Apiaceae) sold as Osha Compared to that of potencial contaminants. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants 11(3): 1-11.
- Beck, J.J. and Stermitz, F.R., 1995. Addition of Methyl thioglycolate and benzylamine to (Z)-ligustilide, a bioactive unsaturated lactone constituent of several herbal medicine. An improved synthesis of (Z)-ligustilide. Journal of Natural Products 58(7), 1047-1055.
- Bold, M.C., 1980. Morphology of plants and fungi. 2ª ed., Harper & row publishers, New York, 819.
- Bye, R. A., 1986. Medicinal plants of the Sierra Madre: Comparative study of Tarahumara and Mexican market plants. Economic Botany 40,103-124.
- Cégiéla-Carlioz, P., Bessiére, J-M., David, B., Mariotte, A.-M., Gibbons, S., and Dijoux Franca, M.-G., 2005. Modulation of multi-drug Resistance (MDR) in *Staphylococcus aureus* by Osha (*Ligusticum porteri* L.,

Apiaceae) essential oil compounds. Flavor and Fragrance Journal 20:671-675.

- Centeno, B. L. Y., 2007. Comparación anatómica e histoquímica de corteza y madera del guayacán de mercado de uso medicinal con *Guaiacum coulteri* (Zigophyllaceae) de la xiloteca Mexu<sub>w</sub>. Tesis. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F.
- Daniels, A.L., Slambrouck, S.V., Lee, R.K., Arguello, T.S., Browning, J., Pullin, M.J., Kornienko, A., and Steelant, W.F.A., 2006. Effects of extracts from to native american plants an proliferation of human breast and colon cancer cells lines *in vitro*. Oncology Reports 15:1327-1331.
- Déciga-Campos, M., González-Trujano, E.,Navarrete, A. and Mata, R., 2005. Antinociceptive effects of selected mexican traditional medicinal species. Proc. West. Pharmacology Society.48:70-75.
- Déciga-Campos, M., Rivero-Cruz, I., Arriaga-Alba, M.,Castañeda-Corral, G., Angeles-López, G.E., Navarrete, A., Mata, R.,2007. Acute toxicity and mutagenic activity of mexican plants used in traditional medicine. Journal of Ethopharmacology 110, 334-342.
- Delgado, G., Reza-Garduño, R. G., Rios, M.Y., and del Río, F., 1992. Phtalides and monoterpens of the hexane extracto of the roots of *Ligusticum porteri*. Planta Medica 58:570-571.

- Dickison, W.C., 2000. Integrative plant anatomy. Academic press, USA. 533.
- Fahn, A., 1990. Plant anatomy. 4ª ed., Pergamon press. London. 588.
- Golhaber, P.G.D., 2008. Inducción de cultivos *in vitro* de *Ligusticum porteri* Coulter & Rose (Apiaceae) para la obtención de Z-lígustilida. Tesis. Instituto de Biología, UNAM, México, D.F.
- Guidelines for the assessment of herbal medicines. In: *Quality assurance of pharmaceuticals: a compendium of guidelines and related materials. Volume 1*. Geneva, World Health Organization, 1997:31–37.
- Jensen, W., 1962. Botanical histochemistry: principles and practice. W. H. Freeman y Co., San Francisco, E.U.
- Jimenez, V. R. J., 2010. Evaluación de la genotoxicidad de de *Ligusticum porteri* en células somáticas de *Drosophila melanogaster*. Tesis. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F.
- Johansen, D., 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill. New york.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.F., Donoghce, M.J., 2002. Plant sistematics a phylogenetic approach. 2ª ed. Sinauer associates. Massachusetts, USA. 576.

- Kaplan, D.R., 2001. The science of the plant morphology: Definition, History and role in modern Biology. American Journal of Botany 88(10):1711-1741.
- Kuklinski, C., 2000. Farmacognosia: Estudio de la drogas y sustancias medicamentosas de origen vegetal. Omega. España. 515.
- Lager, E., Sundin, A., Toscano, R. A., Delgado, G., Sterner, O., 2007. Diels-Alders adducts derived from the natural phtalide Z-ligustilide. Thetrahedron Letters 48, 4215-4218.
- Lawrence, G.H.M., 1951. Taxonomy of vascular plants, 1<sup>a</sup> ed., Oxford & IBH publishing, USA. 823.
- Linares, E., Bye, R., 1987. A study of the four Medicinal Plant complexes of México and adjacent United States. Journal of Ethopharmacology 19, 153-183.
- López, M., Márquez, J., Murguía, G., 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. 2<sup>a</sup> edición. Las prensas de ciencias. Facultad de ciencias, UNAM. México. 178.
- Newton, P., 1992. Can animals teach us medicine?. British Medical Journal. 305:1517-1518.

- Sandoval, E., Bye, R.A., Rios, G. and Aguilar, M.I., 2005. Microscopic Analysis and histochemical observation of the Medicinal Roots of *Iostephane heterophyllia* (Cav.) Benth. Ex. Hemsl. (Asteraceae). Boletín de la Sociedad Botánica Mexicana. 77:65-73.
- Slambrouck, S.V., Daniel, A.L., Hooten, C.J., Brock, S.L., Jerkins, A.R., Osagawora, M.A., Baker, J.M., Adkins, G., Elias, E.M., Agustin, V.J., Constantine, S.R., Pullin, M.J., Shors, S.T., Kornienko, A. and Steelant, W.F.A., 2007. Effects of crude aqueous medicinal plants extracts on growth and invasion of breast cancer cells. Oncology Reports 17:1487-1492.
- Zarate, R.J.E., 2006. Estudio etnobotánico, Histológico y Químico en el control de calidad del complejo medicinal “matarique” (*Psacalium* spp., Asteraceae). Tesis. Instituto de biología. UNAM. México, D.F.

#### Referencias electrónicas:

- <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/a260684.html>
- <http://www.drylandsinstitute.org>
- <http://www.pollinator.org/Resources/Osha%20-%20Ligusticum.draft.pdf>

#### Buscadores:

- <http://www.google.com>
- <http://www.NCBI.com>
- <http://www.Elsevier.com>



- <http://www.Sciencedirect.com>
- <http://www.InterScience.wiley.com>