



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Escuela Profesional de Ciencias Biológicas

Determinación de metabolitos secundarios en *Perezia pinnatifida* (Bonpl.) Wedd. y su caracterización morfohistológica

TESIS

Para optar el Título Profesional de Bióloga con mención en
Botánica

AUTOR

Joselyn Vanessa SEMINARIO PEÑA

ASESOR

Domingo IPARRAGUIRRE LEÓN

Lima, Perú

2017



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Seminario, J. (2017). *Determinación de metabolitos secundarios en Perezia pinnatifida (Bonpl.) Wedd. y su caracterización morfohistológica*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Ciencias Biológicas]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

1223



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS ✓

80

**ACTA DE SESIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGA CON MENCIÓN EN BOTÁNICA
(MODALIDAD: SUSTENTACIÓN DE TESIS)**

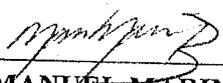
Siendo las 10:05 horas del 17 de octubre de 2017, en el Salón de Grados de la Facultad de Ciencias Biológicas y en presencia del jurado formado por los profesores que suscriben, se dio inicio a la sesión para optar al Título Profesional de Bióloga con mención en **Botánica** de **JOSELYN VANESSA SEMINARIO PEÑA**. ✓

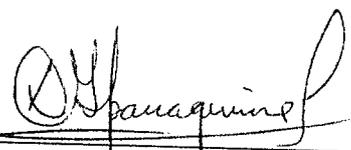
Luego de dar lectura y conformidad al expediente N° 041-EPCB-2017, la titulando expuso su tesis: **"DETERMINACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN *Perezia pinnatifida* (Bonpl.) Wedd. Y SU CARACTERIZACIÓN MORFOHISTOLÓGICA"** ✓ y el Jurado efectuó las preguntas del caso calificando la exposición con la nota 12, calificativo: Aprobado con mención honorosa

Finalmente, el expediente será enviado a la Escuela Profesional de Ciencias Biológicas y al Consejo de Facultad para que se apruebe otorgar el Título Profesional de Bióloga con mención en **Botánica** a **JOSELYN VANESSA SEMINARIO PEÑA** y se eleve lo actuado al Rectorado para conferir el respectivo título, conforme a ley.

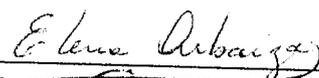
Siendo las 11:20 horas se levantó la sesión.

Ciudad Universitaria, 17 de octubre de 2017.


Dr. MANUEL MARIN BRAVO
(PRESIDENTE)


Mg. DOMINGO IPARRAGUIRRE LEON
(ASESOR)


Mg. ESTHER COX RAMOS
(MIEMBRO)


Blga. ELENA ARBAIZA PRADO
(MIEMBRO)

Para las razones de mi vida:

Dios, mi madre y mi familia.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor y profesor, el Mg. Domingo Iparraguirre León, quién me dio la oportunidad de desarrollarme como investigadora en el laboratorio de Anatomía y Farmacognosia Vegetal de la UNMSM desde el pre-grado, por las enseñanzas, la motivación y los innumerables consejos en el desarrollo de mi tesis y a través de todos estos años. Muchísimas gracias por su apoyo incondicional.

Al Mg. Rafael La Rosa Loli y a la Dra. Eleucy Pérez Tuesta, por sus valiosas sugerencias durante la realización de mi trabajo y estar siempre pendiente de mi avance.

A los encargados de la Reserva Paisajística de Nor-Yauyos Cochas por brindarme las facilidades para realizar la colectar dentro su área. Al Blgo. Fernando Quiroz y María Romero por la ayuda con los trámites en la RPNYC.

A las personas que me ayudaron en el trabajo de laboratorio y de campo: A Walter por su paciencia, valioso tiempo y gran ayuda en la parte experimental, a Kelly por las sugerencias y colaboración en la colecta de muestras.

A cada uno de los señores miembros de jurado por sus valiosas sugerencias, por su tiempo, paciencia y por el apoyo durante el proceso que implica la revisión de la tesis.

A mis amigos, quienes estuvieron pendientes de mi avance y con quienes compartí muchas experiencias desde antes, durante y en la culminación de la tesis: Cristina, Diego, Pilar, Nabil, Thonny, Malu, Paola, Adrián, Mahatma y Paul. A Josymar, que ha sido un impulso positivo para culminar esta etapa.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEORICO	4
2.1. Características generales, distribución y morfología	4
2.2. Histología	6
2.3. Identificación taxonómica	7
2.4. Importancia medicinal	8
2.5. Metabolitos secundarios	8
3. HIPOTESIS Y OBJETIVOS	12
4. MATERIAL Y MÉTODOS	13
4.1. Materiales	13
4.1.1. Material biológico	13
4.1.2. Material para conservación	14
4.1.3. Material para determinación de metabolitos secundarios	14
4.2. MÉTODOS	15
4.2.1. Determinación de flora	15
4.2.2. Preparación de Extracto Hidroalcohólico	16
4.2.3. Determinación de Metabolitos secundarios	16
Tamizaje fitoquímico de solución de los extractos	18

Cromatografía en capa fina (TLC)	21
4.2.4. Descripción Morfológica	24
4.2.5. Preparación de Láminas histológicas	24
4.2.5.1. Descripción del Índice Estomático	26
5. RESULTADOS	27
5.1. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO	27
5.2. SCREENING FITOQUÍMICO	28
5.3. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (TLC)	28
5.4. ESTUDIO MORFOLÓGICO E HISTOLÓGICO	31
RAÍZ	31
RIZOMA	32
HOJA	32
6. DISCUSIÓN	34
7. CONCLUSIONES	45
8. RECOMENDACIONES	47
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
10. ANEXOS	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resultados del Screening Fitoquímico del extracto hidroalcohólico de <i>Perezia pinnatifida</i> (Bonpl.) Wedd.	28
Tabla 2. Resultados del número de manchas de las cromatoplasmas de la cámara de yodo.	28
Tabla 3. Resultados del número de manchas de las cromatoplasmas para detección de alcaloides.	29
Tabla 4. Resultados del número de manchas de las cromatoplasmas para detección de compuestos fenólicos.	30
Tabla 5. Tablas de Resultado del Tamizaje Fitoquímico	74
Tabla 6. Tablas de Resultado de Cromatografía en Capa Fina	78

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1.1 Mapa del distrito de Miraflores.	13
Fig. 2.1 Colecta del material y anotaciones de los datos.	15
Fig. 2.2 Muestra depositada en el Herbario de San Marcos.	16
Fig. 2.3 Desarrollo del secado de Material	17
Fig. 2.4 Desarrollo del extracto hidroalcohólico.	17
Fig. 2.5 Desarrollo de Tamizaje Fitoquímico.	21
Fig. 2.6 Desarrollo cromatográfico.	22
Fig. 2.7 Identificación de componentes activos	23
Fig. 2.8 Desarrollo de la preparación y montaje de láminas histológicas.	25
Fig. 3.1 <i>Perezia pinnatifida</i> (Bonpl.) Wedd., en hábitat.	62
Fig. 3.2 Rizoma y raíces de <i>Perezia pinnatifida</i> .	63
Fig. 3.3 Corte transversal de raíz primaria de <i>Perezia pinnatifida</i> .	64
Fig. 3.4 La raíz secundaria y primaria de <i>Perezia pinnatifida</i> .	65
Fig. 3.5 Corte transversal de raíz secundaria de <i>Perezia pinnatifida</i> .	66
Fig. 3.6 Epidermis de raíz de <i>Perezia pinnatifida</i> .	67
Fig. 3.7 Corte transversal de raíz secundaria temprana de <i>Perezia pinnatifida</i> .	68
Fig. 3.8 Corte transversal de raíz secundaria de <i>Perezia pinnatifida</i> .	69
Fig. 3.9 Corte transversal de la nervadura de <i>Perezia pinnatifida</i> .	70

Fig. 3.10 Corte transversal de hoja de <i>Perezia pinnatifida</i> .	71
Fig. 3.11 Corte transversal de rizoma de <i>Perezia pinnatifida</i> .	72
Fig. 3.12 Corte transversal de rizoma de <i>Perezia pinnatifida</i> .	73

RESUMEN

En el Perú *Perezia pinnatifida*, es una planta medicinal altoandina conocida como “valeriana”, “valeriana fina” y “contrahierba”, la raíz y el rizoma de esta planta son utilizados como sedantes, antitusígena, contra dolores de cabeza, astenia y “susto”.

El objetivo del presente estudio fue la determinación cualitativa de los metabolitos secundarios del rizoma, raíz y hojas de *Perezia pinnatifida* y su caracterización morfohistológica. Se realizaron pruebas de tamizaje fitoquímico y cromatografía de capa fina, a fin de identificar los posibles grupos químicos presentes en la planta. Se detectaron carbohidratos, azúcares reductores de grupo cetónico, compuestos fenólicos, saponinas, flavonoides, alcaloides y glicósidos. Se concluye que los extractos de rizoma, raíz y hoja de *Perezia pinnatifida* presentan los mismos metabolitos secundarios.

En la morfología, *Perezia pinnatifida* es una hierba acaule, de porte bajo, presenta rizoma erecto con raíces fasciculadas, sus hojas son arrosetadas, láminas pinnatífidas, lanceolada-lirada, lóbulos con bordes redondos y ciliados. Referente a la histología, se encontró que la hoja presentó un tipo mesomórfico, con haces vasculares rodeados de vaina parenquimática, estomas anomocíticos, hoja anfiestomática, abundancia de tricomas glandulares pluricelulares, presenta un parénquima en empalizada de células alargadas y parénquima con células isodiamétricas siendo más pequeñas las cercanas a la epidermis y a los haces conductores, con presencia de espacios intercelulares. Las raíces más jóvenes presentan epidermis y un parénquima cortical con células isodiamétricas, mientras las maduras presentan una peridermis delgada, debajo un parénquima cortical con células isodiamétricas más pequeñas hacia la endodermis. Floema y xilema secundarios continuos.

Palabras clave: *Perezia*, valeriana, metabolitos secundarios, fitoquímica, morfología, histología.

ABSTRACT

In Peru *Perezia pinnatifida*, is a medicinal plant of the Andes known as "valeriana", "valeriana fina", and "contrahierba". The root and rhizome are use as sedatives, antitussive againt headaches, asthenia and "fright".

The aim of this research was the qualitative determination of secondary metabolites present in the rhizome, root and leaf of *Perezia pinnatifida* and its morpho-histological characterization. To determine the possible chemical groups present in the plant have been used phytochemical screening and Thin-layer chromatography (TLC). The results revealed the presence of carbohydrates, ketone-bearing reducing sugars, phenolic compounds, saponins, flavonoids, alkaloids and glycosides. Thus, is concluded that the extracts of rhizome, root and leaf present the same secondary metabolites.

In the morphology, *Perezia pinnatifida* is an acaulescent heb, small, present an erect rhizome with fasciculated roots, leaf rosette with lanceolate pinnatifid blades, lobes with round and ciliated borders. The histology of the plant presents mesomorphic leafs with vascular bundles surrounded by parenchymatous sheath, anomocytic stomata, amphistomatic leafs, plenty of glandular pluricellular trichomes, shows a palisade parenchyma with elongated cells and a parenchyma with isodiametric cells, these become smaller near to the epidermis and the vascular tissue, with presence of intercellular spaces. The younger roots show the epiderm and a cortical parenchyma with isodiametric cells, whereas the older ones have a thinner periderm, below, a cortical parenchyma with smaller isodiametric cells to the endoderm. Continuous secondary phloem and xylem.

Key words: *Perezia*, valeriana, secondary metabolites, phytochemistry, morphology, histology.

1. INTRODUCCIÓN

Las plantas han sido desde la antigüedad un recurso útil para el ser humano para la curación de sus enfermedades, debido a la presencia de metabolitos secundarios. Según Edwards (2004), citado por Canter *et al.*, (2005), aproximadamente las dos terceras partes de las 50 000 especies diferentes de plantas medicinales usadas, son silvestres y en Europa solo el 10% de las especies medicinales usadas comercialmente son cultivadas. En la actualidad, cientos de plantas son utilizadas en la medicina, pero la ciencia moderna, analizando y estudiando los efectos terapéuticos de las plantas, quiere precisar, comparar y clasificar las diversas propiedades, no con el fin de disminuir esta confianza en la naturaleza, sino para agrupar a las plantas de efectos similares, para conocer los principios activos responsables de aliviar o curar enfermedades, separarlos de las plantas que lo contienen, determinar sus estructuras químicas, procurar su síntesis, proponer modificaciones estructurales en busca de una mayor actividad (Lock, 1994) y comprobar su actividad farmacológica.

El Perú es conocido como el país biogeográficamente más diverso, así como uno de los que tiene mayor diversidad de flora porque alberga 18000 de las 400000 especies de plantas superiores; también es considerado como el Centro de Especiación en el Neotrópico y uno de los 12 mayores Centros de Origen de Plantas Cultivadas (Mostacero *et al.*, 1996). Las regiones fitogeográficas peruanas tienen características propias (vegetación, clima, etc.) que las hacen únicas dentro de nuestro país, entre estas se encuentra la región Altoandina, ubicada sobre los 3800 o 4000 m.s.n.m.; entre sus principales componentes se encuentran especies de los géneros *Azorella*, *Opuntia*, *Nototriche* y *Perezia* (Mostacero *et al.*, 1996; Pérez & Cano, 2002). La mayoría de las especies utilizadas crecen de forma espontánea y se extraen directamente por la comunidad de su hábitat natural. Existe una seria

amenaza para algunas especies que se recogen para ser vendidos en el mercado de Lima (De-la-Cruz *et. al.*, 2007).

Muchas plantas que son utilizadas por los pobladores para curar sus dolencias se encuentran de manera silvestre, además que son más baratas que las medicinas sintéticas y su tradición milenaria hace que esta gente utilice estos recursos, muchas de las veces sin importarles que la extracción desmesurada y descontrolada para el consumo y comercialización, está haciendo que se encuentren categorizadas en peligro crítico, en peligro, vulnerables y casi amenazadas, debido a que generalmente las plantas son extraídas en su totalidad, esto quiere decir raíz, rizoma si los tiene, hojas y tallos (Oliveira, 2011).

Las Asteráceas incluyen gran cantidad de especies medicinales, los metabolitos secundarios aislados de esta familia son muy variados (Del Vitto & Petenatti, 2009). Una de las especies altoandinas ampliamente extraídas es *Perezia pinnatifida*, conocida en la medicina altoandina como “valeriana”, “contrahierba” y “valeriana fina” (Mostacero *et al.*, 1996; Mantilla & Olazábal, 2008; De-la-Cruz *et. al.*, 2007; Katinas, 2012). Se emplea la raíz y el rizoma de *Perezia pinnatifida*, mediante vía oral, en forma de infusión o decocción como estimulante del sistema nervioso central, sedante, tónico y tranquilizante para el tratamiento de alteraciones cardíacas de origen nervioso, insomnio nervioso, dolor de cabeza, astenia, "susto" y parálisis de Bell; además se utiliza como antitusígena (De-la-Cruz *et. al.*, 2007; Katinas, 2012).

Debido al intensivo uso medicinal de las raíces y rizomas de *Perezia pinnatifida*, ha sido considerada como una especie vulnerable (VU) por el Decreto Supremo N° 043-2006-AG publicado en el Diario El Peruano (2006).

Hasta tiempos actuales los estudios de la morfología y anatomía de las comunidades vegetales altoandinas del Perú son escasos (Roca, 2012). El conocimiento generado

en este trabajo permitirá realizar estrategias para un mejor aprovechamiento, contribuyendo al desarrollo sostenible y a la conservación de esta especie vulnerable.

Al identificar los metabolitos secundarios de la hoja, rizoma, raíz y realizando la comparación respectiva, se determina que la parte aérea de la planta presenta los mismos metabolitos secundarios de *Perezia pinnatifida*, de esta manera se podría obtener de las hojas y no tener la necesidad de extraer la planta completa, evitando que sea más vulnerable a extinguirse esta especie. Además en este estudio se identifica las diferentes clases de tejidos, la variación en su disposición y los caracteres anatómicos de la raíz y hoja de *Perezia pinnatifida* (Bonpl.) Wedd.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Características generales, distribución y morfología de *Perezia pinnatifida* (Bonpl.) Wedd.

Las comunidades vegetales altoandinas se caracterizan por que la mayoría de sus componentes son plantas herbáceas y están adaptadas a las condiciones climáticas adversas (Cabrera, 1968; Smith, 1988). Entre las comunidades altoandinas se encuentran las comunidades de césped de puna, pajonales, turberas, rocas y pedregales, plantas ruderales y otras. Algunas especies que se encuentran en las comunidades de puna se caracterizan por ser angustifolias, otras poseen cubierta resinosa y otras desarrollan pilosidad de diversos tipos y tamaños; además estas plantas cubren el suelo y forman paquetes alfombrados, ocultando sus tallos bajo el suelo (Mostacero *et al.*, 1996).

Las Asteráceas forman parte de las comunidades de césped de puna, presentando distribución amplia y en su mayoría son plantas herbáceas con especialización ecológica en el ámbito ecológico y anatómico (Metcalfe y Chalk, 1950). Entre las plantas correspondientes a la familia de las Asteráceas que conforman las comunidades de césped de puna se encuentran aquellas que son utilizadas en medicina popular; entre ellas se encuentra *Perezia pinnatifida*.

El género *Perezia* Lag. (Compositae) se compone de 30 especies de hierbas perennes distribuidas principalmente en la región andino-patagónica, desde Colombia hasta el sur de Argentina y Chile, con algunas especies en el este de Brasil y de la Argentina, Paraguay, Uruguay y en la sierra de Perú (Katinas *et al.*, 2008; Franquemont *et al.*, 1990).

Perezia pinnatifida es una especie que se encuentra desde las altas montañas de los Andes y punas desde el Perú hasta el noroeste de la Argentina y norte de Chile, entre 3300 y 5000 msnm. Suele vegetar en vegas, pastizales andinos,

laderas rocosas altoandinas subnivales o al abrigo de las matas de gramíneas. (Katinas *et al.*, 2012; Tubée, 2012). En el Perú ha sido registrada en Ayacucho, Huancavelica, Junín, Moquegua, Lima, La Libertad, Ancash, Pasco, Puno, Arequipa, Apurímac (Cano *et al.*, 2011; Yarupaitán y Albán, 2003; Tubée 2012; De la Cruz Silva *et al.*, 2005; Villanueva, 2011; Brako y Zaruchi, 1993).

La familia Asteraceae se caracteriza por presentar las flores agrupadas en capítulos, inflorescencia que funcionalmente se comporta como una flor. Hojas sin estípulas, generalmente alternas, en ocasiones en roseta basal; pueden presentar espinas. La inflorescencia es un capítulo, que consiste en una estructura ensanchada (receptáculo) donde se sitúan desde una a cientos de flores, rodeadas por las brácteas del involucre. El receptáculo puede ser plano, cóncavo o convexo y tener escamas o pelos entre las flores. Flores hermafroditas, unisexuales o estériles. Sin cáliz o con este reemplazado por vilano de pelos o escamas; los pelos pueden ser lisos, escábridos o plumosos. Corola formada por 5 pétalos soldados; puede ser tubulosa, con forma de tubo (flósculos o flores flosculosas) o de lengüeta con 3 o 5 dientes (lígulas o flores liguladas) (León *et al.*, 2006). El nombre "Asteraceae" deriva del género tipo de la familia Aster, término que a su vez proviene del griego *ἀστήρ* que significa "estrella" y hace alusión a la forma de la inflorescencia. Por otro lado, el nombre "compuestas", más antiguo pero válido, hace referencia al tipo particular de inflorescencia compuesta que caracteriza a la familia y que solo se halla en muy pocas familias de Angiospermas (García, 2010).

Las especies de *Perezia* en su mayoría se diferencian entre sí por caracteres vegetativos como forma, margen y disposición de las hojas y de las filarias del involucre y el tipo de inflorescencia. Los caracteres reproductivos de corolas, estilos y anteras son muy homogéneos entre las especies y muestran poca variación. La morfología del receptáculo, del papus y de los aquenios exhibe a

veces leves diferencias interespecíficas que son inconsistentes para ser consideradas de valor diagnóstico. Sólo el grado de pubescencia de los aquenios demostró ser de utilidad en la separación de algunas especies (Katinas *et al.*, 2012). *Perezia pinnatifida* es una hierba acaule, comúnmente pigmea, perenne hasta 10cm de alto. Hojas basales arrosetadas, laminas pinnatífidas, obtusas o semi-agudas en el ápice, lobadas o liradas en el margen, ciliadas. Sésiles con corto peciolo envainador, glabras en ambas caras. Flores lilas, rojizas a veces amarillentas, rosadas o castañas. (Gentry, 1993; Katinas *et al.*, 2012; Tubée, 2012)

2.2 Histología

La familia de las Asteraceae se compone de aproximadamente 25.000 especies (Barroso, 1986) incluidos en más de 1100 géneros. Estas especies presentan con frecuencia hábitos herbáceos y arbóreos (Cronquist, 1981), debido a esta variedad de hábitos, la familia presenta diversas estructuras anatómicas (Metcalf y Chalk, 1950).

En Asteráceas es común la presencia de estructuras secretoras entre las que se destacan conductos, cavidades y tricomas de diferentes tipos. Sus secreciones pueden contener diferentes compuestos químicos, entre ellos terpenos, presentes en aceites esenciales y resinas, carbohidratos u otras sustancias, lo que les confiere un gran valor fitoquímico (Fahn 1979; Evert 2006) y son estructuras frecuentes en plantas que crecen en regiones con climas adversos, en particular donde el período seco coincide con el período de temperaturas más elevadas (Langenheim 1994). Castro *et al.* (1997) revisaron los tipos de estructuras secretoras en las hojas de setenta y dos representantes de la familia Asteraceae en la Reserva Biológica de Mogi Guaçu, Sao Paulo, Brasil. El análisis encontró ocho tipos de estructuras secretoras de hoja: conductos, cavidades, idioblastos, laticíferos, hidátodos, néctares extraflorales, tricomas glandulares y

apéndices. Según Metcalfe y Chalk (1950), la diversidad anatómica se observa comúnmente en la estructura de las hojas de las especies que pertenecen a la Asteraceae. Entre las características que varían son: (a) la distribución de estomas en superficies de las hojas; (B) el posicionamiento de células guarda en relación con las células epidérmicas ordinarias; (C) desarrollo de la hipodermis en el lado superior de la superficie de la hoja; (D) el mesófilo y la diferenciación del sistema fibrovascular; y (e) la secreción de la cera en la superficie de la hoja (Solereder, 1908).

Las características anatómicas que se pueden observar en Asteraceae son: (a) la presencia de varios tipos de tricomas glandulares o de cubierta; (B) papilas en la epidermis abaxial; (C) anomocíticos, anisocíticos y raramente estomas heliocíticos; (D) la presencia de hidátodos; (E) presencia de la hipodermis; (F) mesófilo homogéneo o heterogéneo; y (g) los haces vasculares con vaina parenquimática compuesta por células grandes (Metcalfe y Chalk, 1979).

2.3 Identificación Taxonómica

REINO: Plantae

DIVISIÓN: Magnoliophyta

CLASE: Equisetopsida

SUBCLASE: Magnoliidae

SUBORDEN: Asteranae

ORDEN: Asterales

FAMILIA: Asteraceae

GÉNERO: *Perezia*

ESPECIE: *Perezia*

pinnatifida (Bonpl.)

Wedd.

Fuente: Base de datos de Tropicos® (Tropicos.org)

Sistema de Clasificación clásica (Cronquist, 1981)

2.4 Importancia Medicinal

En el género *Perezia*, se reportan varias especies de uso medicinal (Katinas, 2012), entre las más utilizadas se reporta a *Perezia coerulescens*, *Perezia pinnatifida* y *Perezia multiflora* (De-la-Cruz *et. al.*, 2007).

Perezia pinnatifida es una planta medicinal altoandina conocida como “valeriana”, “sutuma”, “contrahierba” y “china valeriana” (Mostacero *et al.* 1996, Mantilla y Olazabal 2008). La raíz y el rizoma de *Perezia pinnatifida* es utilizada como sedante, diurético y diaforético, debe ser hervida de 20 a 30 g de raíces y rizomas para cada taza de agua y ser administrado vía oral antes de ir a dormir. (De-la-Cruz *et. al.*, 2007; Gibaja 1998). Katinas (2012) también menciona que la raíz seca en polvo se espolvorea en llagas y heridas como cicatrizante. En la medicina popular se utiliza toda la planta para aliviar una diversidad de dolencias tales como tos, heridas, post-parto, gripe, afecciones del riñón, mal viento, aerofagia; así mismo, se utiliza como febrífugo, sedante y sudorífico (Mantilla & Olazabal 2008, Gibaja 1998). Sin embargo, al ser una planta silvestre, su recolección y comercialización en las ferias populares es informal y es una actividad económica de los pobladores altoandinos. Por lo tanto, es necesario desarrollar metodologías para que su uso sea sostenible. En términos generales, se indica que el aprovechamiento de la biodiversidad mediante la biotecnología permite lograr valorizaciones sostenibles con potencial de aumentar la productividad agrícola e industrial, mejorar la salud y nutrición, restaurar y proteger el medio ambiente (Roca, 2004).

2.5 Metabolitos secundarios

La Organización Mundial de la Salud ha estimado que cerca de un 80% de personas utilizan plantas como medicina tradicional; estas plantas también son parte de la medicina moderna; así mismo se ha calculado que aproximadamente un cuarto de las drogas prescritas contienen extractos de plantas o principios

activos obtenidos de las plantas o sintetizados a partir del conocimiento de las mismas. Las plantas son la fuente tradicional de muchos productos químicos utilizados como productos farmacéuticos. Los fitoquímicos más valiosos son productos del metabolismo secundario de las plantas. (Tripathi & Tripathi, 2003) Numerosas especies vegetales contienen principios activos o metabolitos secundarios. Estas moléculas no están directamente involucradas en la supervivencia y reproducción de las plantas pero son las claves en sus interacciones con otras plantas y otros tipos de organismos como hongos o animales. Pueden ser sustancias repelentes, toxinas, compuestos psicoactivos o venenos. Son de composición extremadamente variada. Muchos metabolitos secundarios se utilizan como materia prima para generar productos útiles para el hombre, como los medicamentos o nocivos, como las drogas psicoactivas (Alonso, 2011).

El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o para degradar las complejas y obtener las simples. Las plantas, organismos autótrofos, además del metabolismo primario presente en todos los seres vivos, poseen un metabolismo secundario que les permite producir y acumular compuestos de naturaleza química diversa. Estos compuestos derivados del metabolismo secundario se denominan metabolitos secundarios, se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, muchos desempeñan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros. Reciben también la denominación de productos naturales (Ávalos y Pérez-Urria, 2011).

Se estima que las plantas producen más de 100 000 productos naturales de bajo peso molecular conocidos como metabolitos secundarios, esta diversidad tan rica resulta, en parte, de un proceso evolutivo conducido por la selección para

adquirir una defensa mejorada frente a los ataques de microorganismos, insectos u otros animales (Dixon, 2001).

Se han aislado aproximadamente 12 000 compuestos procedentes de organismos vegetales y se estima que constituyen tan solo el 10% de los metabolitos secundarios (Schultes, 1978).

La familia Asteraceae forma parte de este grupo de plantas con actividad biológica. Varios son los metabolitos secundarios encontrados en la familia Asteraceae, por ejemplo: terpenos, alcaloides, fenoles, esteroides, entre otros (Harborne, 1993).

Se han realizado estudios en el género *Perezia*, donde se ha registrado la presencia de metabolitos secundarios (esteroides, alcaloides, saponinas, taninos, aceites esenciales, flavonoides y compuestos fenólicos derivados del catecol) para *Perezia multiflora*, conocida como “escorzonera”, que la convierten en una planta útil para evitar faringitis y amigdalitis, puesto que los flavonoides (asparraguina) presentes permiten buena acción antiinflamatoria (Mostacero *et. al.*, 2002; Suttisri y Douglas, 1994; San Martín, 2015). Entre la composición química de *Perezia pinnatifida* se han detectado flavonoides, cumarinas, terpenos y sesquiterpenos (del tipo ácido valerénico), estos últimos no descritos para esta especie, lo que podría suponer el punto de partida para establecer la validación científica del uso tradicional de esta (Rehecho, 2012).

Se ha desarrollado una serie de métodos y técnicas para la detección preliminar de los diferentes constituyentes químicos en las plantas, basados en la extracción de éstos con solventes apropiados y en la aplicación de pruebas de coloración, precipitación y cromatografía (Lock, 1994). La extracción de principios activos presentes en las plantas se realiza con distintos solventes, método que se emplea con más frecuencia y se recupera un extracto y/o residuo sólido o semisólido que se emplea luego en las investigaciones farmacológicas.

(Boeris, 2007; Kuklinski, 2000) Normalmente se usa un solvente de naturaleza general, de alta polaridad como el alcohol etílico o el metanol (Sharapin, 2000).

Para llevar a cabo un “screening” fitoquímico eficaz de los extractos, se están empleando en la actualidad métodos que combinan ensayos biológicos con reactivos y análisis por cromatografía, que consiste en la separación de una mezcla de dos o más compuestos por distribución entre dos fases, siendo una estacionaria y la otra una fase móvil, cuyo objetivo es separar los distintos componentes de una mezcla, permitiendo identificar y determinar las cantidades de dichos componentes (Castillo *et al.*, 2013) con sistemas de detección como la luz UV a distintas longitudes. La utilización de estas técnicas de manera acoplada facilita la determinación estructural de los constituyentes de las plantas conocidas, con la ventaja adicional de que se requiere una mínima cantidad de muestra, reduce el tiempo necesario para el análisis (Osorio E., 2009) y es de bajo costo.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. Hipótesis

La presencia de metabolitos secundarios en las hojas es similar a los metabolitos secundarios de la raíz.

3.2. Objetivo general

Determinar los metabolitos secundarios presentes en raíz, rizoma y hoja de *Perezia pinnatifida* y describir su morfo-histología.

3.3. Objetivos específicos

1. Comparar cualitativamente los principales grupos de metabolitos secundarios en la raíz, rizoma y en hojas.
2. Describir la estructura interna de la raíz, rizoma y hoja.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. MATERIALES

4.1.1. Material Biológico

El material biológico, parte subterránea y aérea de *Perezia pinnatifida*, con el que se trabajó fue obtenido de los alrededores del distrito de Miraflores, de la Provincia de Yauyos en el Departamento de Lima, entre los S 12°14'52.2", W 75°51'38.7, desde los 4600 m. a 4724 m. de altitud, situados dentro de la R. P. de Nor-Yauyos Cochas. (Fig.1.1)

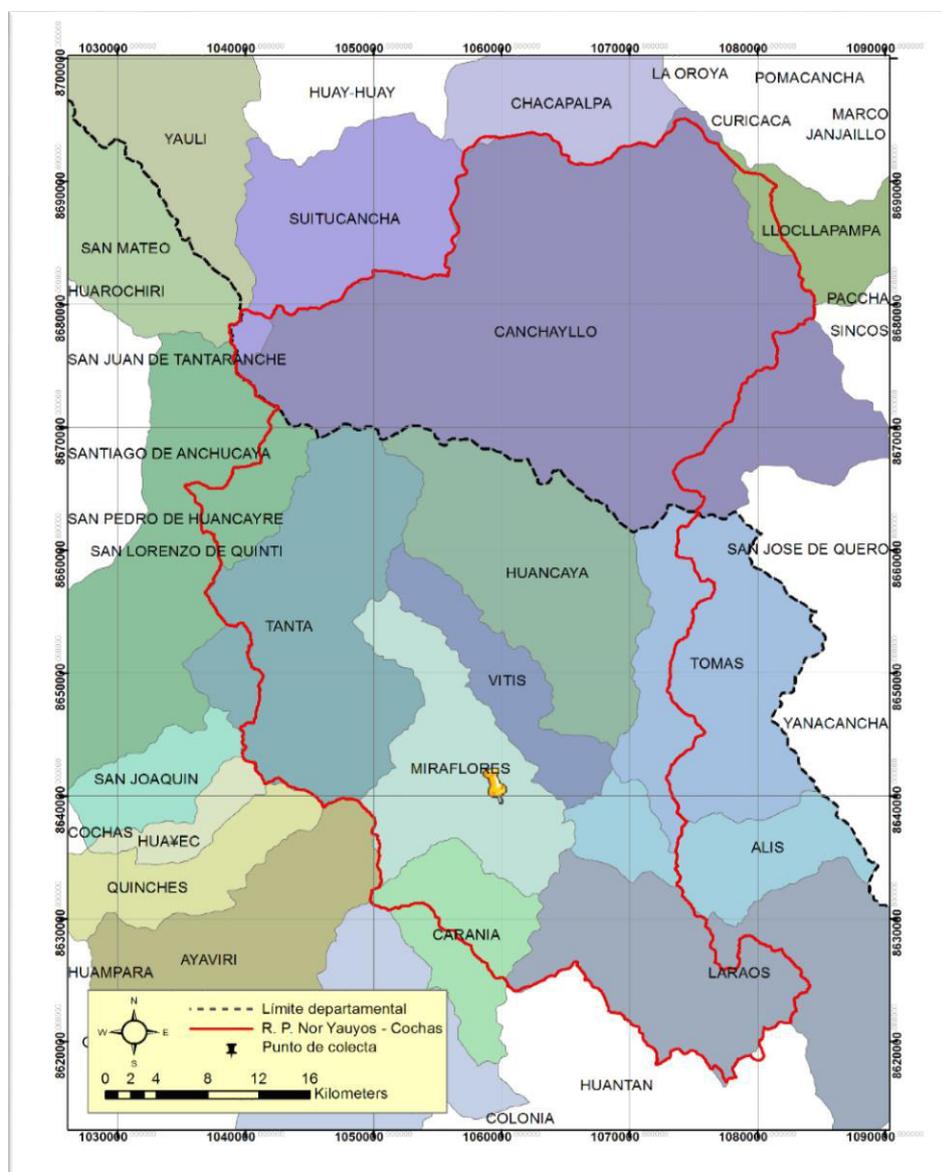


Fig. 1.1 Mapa del distrito de Miraflores. Los puntos amarillos muestran las zonas de colecta.

4.1.2. Material Para Conservación

Las muestras son preservadas en alcohol de 70°, todos los frascos se rotulan colocándose el número de colecta e iniciales del colector con plumón indeleble.

4.1.3. Material Para Determinación de Metabolitos secundarios e

Histología

1. Campo: Se utilizó una prensa, papel periódico, pabilos, bolsas zip-lop, lupas, GPS, espátula y alcohol.
2. Insumos y reactivos: Reactivo de Biuret, Reactivo de Millon, Ninhidrina, ácido nítrico, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, alfa naftol, tricloruro férrico, Magnesio metálico en tira, Reactivo de Benedict, Reactivo de Fehling A y B, Reactivo de Selliwanoff, Reactivo de Dragendorf, Reactivo de Mayer, Reactivo de Wagner, alcohol etílico, Sudan IV, Safranina, cristal violeta y cromatoplaaca de silicagel 60F254.
3. Material de vidrio: Pipetas, pipetas Pasteur, bomba para pipetas, placas petri, láminas porta y cubre objetos, beakers, fiola, bagueta, matraces, frascos medianos de vidrio color caramelo, frascos medianos de vidrio transparentes y capilares.
4. Equipos: Microscopio Leica (DM750), refrigeradora, cámara cromatográfica, cámara de yodo, lámpara UV (UVLS-28 EL) y estufa.

4.2. MÉTODOS

4.2.1. Colecta de espécimen

Se emplearon técnicas estándares para la colecta, herborización y manejo posterior de especímenes de plantas vasculares, como las recomendados por Cerrate (1969) (Fig. 2.1). La determinación taxonómica de la planta se realizó mediante claves y descripciones disponibles en la literatura botánica, teniendo como base las publicaciones de *Flora of Peru* (Macbride *et al.* 1936), Katinas (2012), Gentry (1993). Como parte del proceso de determinación, la muestra fue acreditada en el Herbario San Marcos (USM) del Museo de Historia Natural y finalmente se depositó en la colección del Herbario. (Fig. 2.2)



Fig. 2.1. Colecta del material y anotaciones de los datos.



Fig. 2.2 Muestra depositada en el Herbario de San Marcos.

4.2.2. Preparación de Extracto Hidroalcohólico

Preparación de extractos vegetales de cada especie según metodología CYTED (1995). Las plantas fueron trituradas (raíz, hoja y rizoma), cada triturado fue macerado entre 08-10 días en alcohol de 60°, en una proporción de 1/10, colocándose en botellas color ámbar con tapa a temperatura de ambiente. (Fig. 2.3) Cumplido el tiempo, cada solución se filtró usando papel filtro; el filtrado se colocó en una estufa (baño maría) a 40°C (Fig. 2.4), para eliminar el etanol por 4 a 5 días aproximadamente hasta obtener los extractos, los mismos que fueron depositados en frascos color ámbar con rótulo y guardados a temperatura de 5-10°C hasta el momento de su utilización. Se anotó el volumen y su concentración de cada extracto obtenido y posteriormente fueron divididos en fracciones para la realización de ensayos de tamizaje fitoquímico (Anexo 3: Tabla 5) y cromatografía en capa fina. (Tabla 3 & Tabla 4, Anexo 3: Tabla 6).



Fig. 2.3. Desarrollo del secado de Material A) Pesado de las hojas de *Perezia pinnatifida*. B) Macerados colocados en alcohol de 60° por 8 a 10 días. C) Filtración de raíz, rizoma y hoja de *Perezia pinnatifida*.

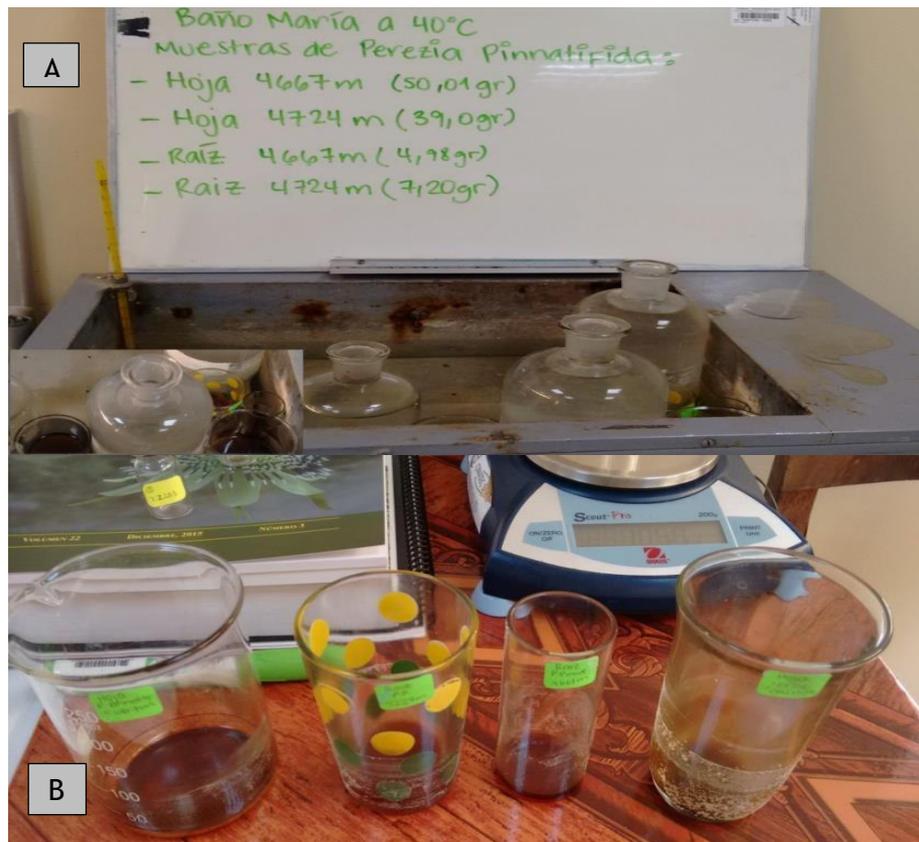


Fig. 2.4. Desarrollo del extracto hidroalcohólico. A) Filtrados de raíz, rizoma y hoja de *Perezia pinnatifida* colocados en Baño María a 40°C. B) Extractos hidroalcohólico de raíz, rizoma y hoja de *Perezia pinnatifida*.

4.2.3. Determinación de Metabolitos secundarios

A) TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LA SOLUCIÓN DE LOS EXTRACTOS

De acuerdo a metodología estandarizada (CYTED, 1995). Se realizaron pruebas de colorimetría en tubos de ensayo (Fig. 2.5) y en placa o lámina para determinar cualitativamente la presencia de los principales grupos metabólicos mediante la formación de precipitados y coloraciones con distintos reactivos específicos:

- Biuret (Proteínas)

En un tubo de ensayo se colocó 2ml del extracto. Se adicionó ½ ml de CuSO_4 al 1% y 5 gotas de KOH al 40%, se considera positiva si la coloración cambia a lila o violáceo.

- Millón (Proteínas)

En un tubo de ensayo se colocó 1ml del extracto. Se adicionó 1 ml del reactivo de Millón y se coloca en baño maría. Se considera positivo si la prueba vira a color rosado.

- Tricloruro férrico (Compuestos fenólicos)

En un tubo de ensayo se colocó 1ml del extracto. Se adicionó 2 gotas de FeCl_3 . Se considera positiva si la coloración cambia a:

- Verde para taninos catéquicos.
- Azul para taninos gálicos.
- Rojo vino para compuestos fenólicos libres.

- Shinoda (Flavonoides)

En una luna de reloj se colocó 1ml del extracto. Se adicionó 1 gota de HCl concentrado y con la ayuda de una paleta se agregó limaduras de Magnesio. La reacción se considera positiva cuando presenta coloración amarilla, naranja, carmelita, rosado o rojo guinda.

- Dragendorff (Alcaloides)
En un tubo de ensayo se colocó 1ml del extracto. Se adicionó 1ml de HCl al 1%, luego se agregó a esta solución 2 a 3 gotas de reactivo Dragendorff y se reporta positivo si presenta un precipitado naranja: ausencia (-), muy leve (+/-), leve (+), moderado (++) , abundante (+++).
- Wagner (Alcaloides)
En un tubo de ensayo se colocó 1ml del extracto. Se adicionó 1ml de HCl al 1%, luego se agregó a esta solución de 2 a 3 gotas de reactivo Wagner y se reporta positivo si presenta un precipitado naranja: ausencia (-), muy leve (+/-), leve (+), moderado (++) , abundante (+++).
- Mayer (Alcaloides)
En un tubo de ensayo se colocó 1ml del extracto. Se adicionó 1ml de HCl al 1%, luego se agregó a esta solución de 2 a 3 gotas de reactivo Mayer y se reporta positivo si presenta: opalescencia (+), turbidez definida (++) y precipitado (+++).
- Molisch (Glúcidos)
En un tubo de ensayo se colocó 1ml del extracto. Se adicionó 0.2ml de α - naftol al 10% y se mezcla el contenido. Inclinar el tubo de ensayo y adicionar 1ml de H_2SO_4 concentrado lentamente por la pared del tubo de manera que se forme dos fases. La reacción es positiva si se forma un anillo rojo violáceo en la interfase.
- Fehling (Azúcares reductores)
En un tubo de ensayo se colocó 2ml del extracto. Se adicionó 1 ml del reactivo Fehling A + 1ml del reactivo Fehling B y se colocó

en un beacker con agua a temperatura de ebullición. Si la reacción es positiva vira a naranja ladrillo.

- Barfoed (Monosacáridos y Disacáridos)

En un tubo de ensayo se colocó 1ml del extracto. Se adicionó 1 ml del reactivo Barfoed y se colocó en un beacker con agua a temperatura de ebullición. Se considera positivo si presenta precipitado rojo.

- Monosacaridos: Si el precipitado rojo aparece dentro de los 6 primeros minutos.

- Disacaridos: Si el precipitado rojo aparece después de los 6 minutos.

- Selliwanoff (Cetosas)

En un tubo de ensayo se colocó 1ml del extracto. Se adicionó 2,5 ml del reactivo Selliwanoff y se colocó en un beacker con agua a temperatura de ebullición. Se considera positivo si la solución se colorea de rojo o guinda.

- Afrosimétrica (Saponinas)

Se colocó 1ml de extracto hidroalcohólico y se añadió 4ml de agua destilada, se agitó vigorosamente, observándose la aparición de espuma muy persistente; la persistencia en minutos de la espuma se califica con cruces: 5 – 20 min. (+), 20 – 25 min. (++) , 30 – Más (+++).

Se usaron compuestos como blanco y control para ayudar a la observación de los resultados. El “screening” fitoquímico fue realizado para los extractos de raíz, rizoma y hoja.

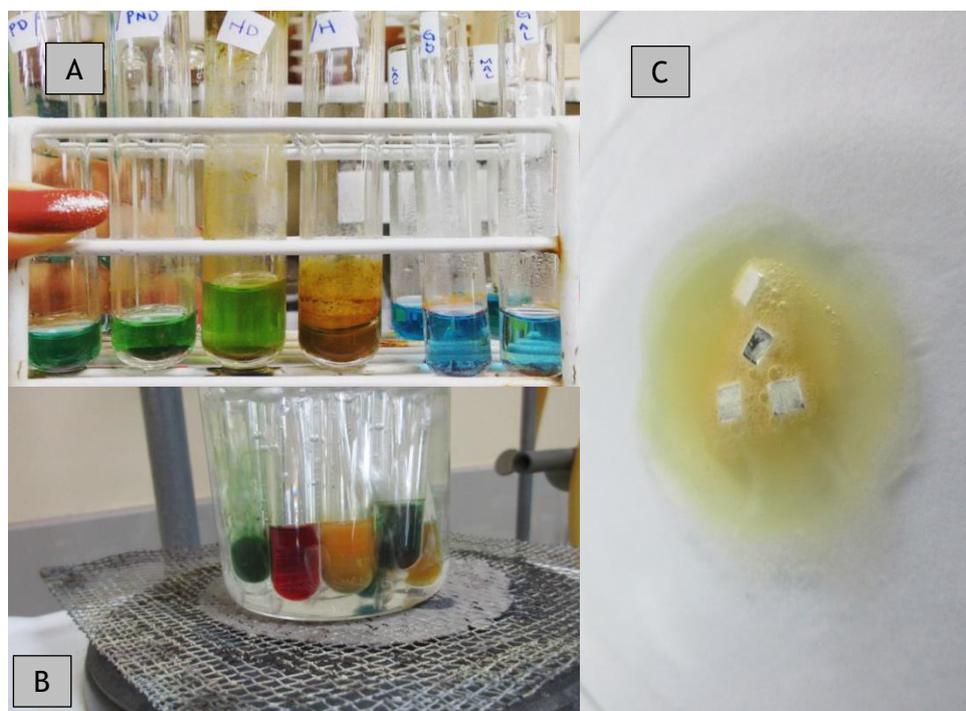


Fig. 2.5. Desarrollo de tamizaje fitoquímico. A) Tamizaje Fitoquímico de la Solución De Los Extractos raíz, rizoma y hoja de *Perezia pinnatifida* mediante pruebas de colorimetría. B) Pruebas de Fehling y Benedict para detectar Azúcares en raíz de *Perezia pinnatifida* C) Prueba de Shinoda para detectar flavonoides en hoja de *Perezia pinnatifida*.

B) CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA (TLC)

Para este estudio se utilizó la TLC por la amplia aplicación y capacidad de detectar sustancias biológicamente activas directamente en el sistema cromatográfico (Hoss, 1999), además permite desarrollar el fraccionamiento en un periodo de tiempo mucho menor que otros tipos de cromatografía, debido al tamaño tan fino de las partículas que constituyen los medios empleados por lo que se consiguen mejores resoluciones y manchas más compactas (Abbott, 1970).

Desarrollo cromatográfico:

1. Se hicieron 30 punturas del extracto hidroalcohólico de raíz, hoja y rizoma en las cromatoplasas.
2. Se utilizó como solvente acetato de etilo-metanol (5:1) en la cámara cromatográfica donde se colocaron las cromatoplasas y se procedió a su desarrollo (Fig. 2.6). Finalmente se extraen

las cromatoplasmas, se dejan secar y se obtienen los valores de Rf.

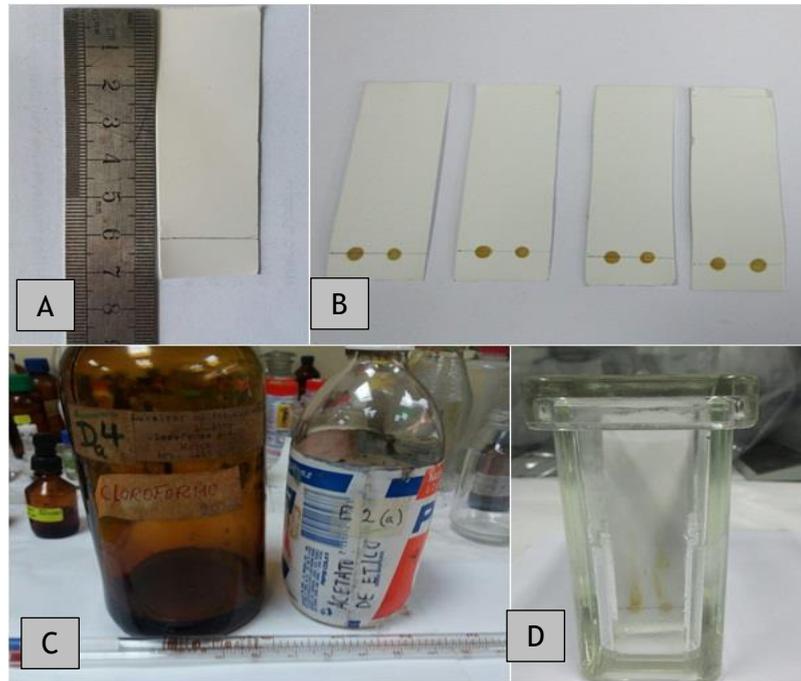


Fig. 2.6. Desarrollo cromatográfico. A) Se cortaron cromatoplasmas de 7x2.5cm B) Se hicieron 30 punturas del extracto Hidroalcohólico de raíz, rizoma y hoja de Perezia pinnatifida. C) Se utilizó como solvente de corrido acetato de etilo-metanol (5:1) D) Cromatoplasmas depositadas en la cámara cromatográfica por 15 a 20 minutos.

Identificación de los componentes activos:

Las cromatoplasmas se revelaron en cámara de yodo (vapores de yodo), que es un revelador general, lámpara UV a dos longitudes de onda (254nm y 365nm) y se usó dos reveladores específicos para detectar la presencia de alcaloides (Dragendorff) y compuestos fenólicos (Tricloruro férrico). (Fig. 2.7)



Fig. 2.7. *Identificación de componentes activos*. Las cromatoplasmas se revelaron en: A) Cámara de yodo, B) Reveladores específicos para detectar la presencia de alcaloides, C) Lámpara UV a dos longitudes de onda (254nm y 365nm).

4.2.4. Descripción morfológica

Para el estudio de la raíz se consideró: tipo, número total por planta y el diámetro. Para el rizoma: rizoma erecto u oblicuo con raíces fasciculadas. Para las hojas: número total de hojas, forma, tamaño, presencia de tricomas.

4.2.5. Preparación de láminas histológicas

Las muestras de raíces, rizoma y hojas de *Perezia pinnatifida*, fueron colocadas en frascos de plástico con tapas herméticas que contenían alcohol de 70° donde permaneció hasta su estudio.

Para analizar la histología de los órganos vegetativos (raíz, rizoma y hoja) se efectuaron cortes a mano alzada del material fresco y de muestras que fueron preservadas en alcohol de 70°, algunas de ellas fueron aclaradas con hipoclorito de sodio al 30% según la técnica de Dizeo de Strittmatter's, (1973). Para la obtención de epidermis y nervadura de la hoja se utilizó la técnica de D' Ambrogio de Argüeso (1986), la cual consiste en montar la muestra en el porta objeto previo al enjuague con agua destilada, se procedió a la coloración, aplicándose técnicas clásicas de simple y doble coloración (Johansen, 1940).

Para evidenciar paredes celulares y contenidos se efectuaron pruebas histoquímicas mediante la técnica de coloración directa y coloración combinada sucesiva doble de D' Ambrogio de Argüeso (1986), utilizándose safranina (cutícula, paredes lignificadas, núcleo, paredes celulares suberificadas), Sudán IV (aceites, grasas), ioduro de potasio (almidón), cristal violeta; finalmente se realizó el montaje de láminas en agua y glicerina acuosa al 50 %. Se rotuló cada una de las láminas montadas con códigos fácilmente reconocibles. (Fig. 2.8)

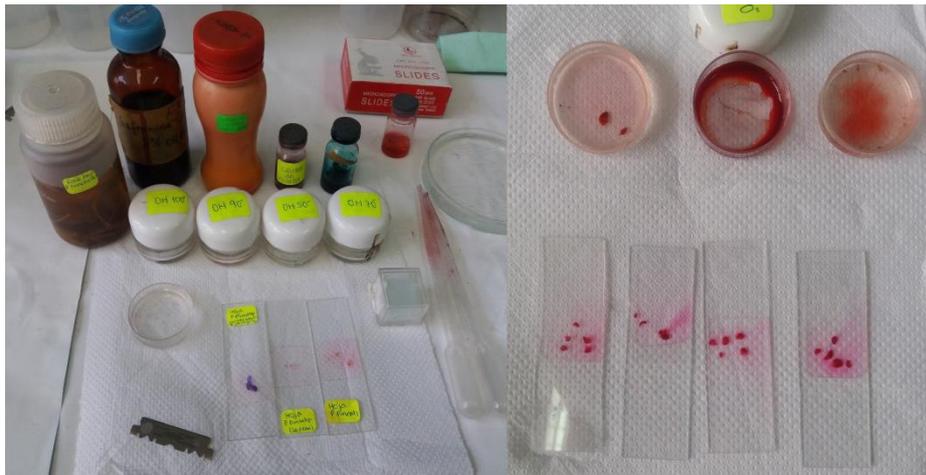


Fig. 2.8. Preparación de láminas histológicas a mano alzada y montaje en agua y glicerina acuosa al 50 %.

Las observaciones y descripciones se llevaron de acabo en un mínimo de 5 láminas por órgano con cortes seleccionados aleatoriamente, utilizando un microscopio compuesto con oculares de 10X y objetivos de 4X, 10X y 40X. Se realizaron fotomicrografías panorámicas de los tejidos más representativos para completar la descripción. Las fotografías se obtuvieron con cámara integrada (Leica DM750) del microscopio Leica ICC50 HD. Se procedió a hallar el índice estomático, por aclarado según la técnica de D'Ambrosio de Argüeso (1986), se contó el número de estomas y células epidérmicas incluyendo tricomas con la ayuda de un microscopio óptico a 100x de aumento, los valores obtenidos permitieron la obtención de índice de estomas de acuerdo a la fórmula de Wilkinson (1979):

$$IE = \frac{NE}{CE + NE} \times 100$$

Donde,

IE = Índice estomático.

CE = Número de células epidérmicas en el campo de observación.

NE = Número de estomas por campo de observación.

4.2.5.1. Descripción del Índice Estomático

Para la descripción del índice estomático. Se aplicaron las técnicas de:

1. Peeling: Se procedió a tomar la porción media de la lámina foliar de la especie en estudio, se introdujo la punta de la aguja hipodérmica por debajo de la epidermis, levantó un trozo pequeño, se tomó con la pinza de puntas finas y se retiró hasta desprenderlo, un mínimo de 4 muestras del haz y envés por lámina foliar, según D'Ambrosio de Argüeso (1986).
2. Aclarado: Las muestras se sumergieron en solución de hipoclorito de sodio al 50% por 5 a 10 minutos. Posteriormente se enjuagó con abundante agua destilada hasta eliminar todo el hipoclorito D'Ambrosio de Argüeso (1986).

5. RESULTADOS

5.1. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE (*Perezia pinnatifida* (Bonpl.) Wedd.)

Los órganos de la planta fueron sometidas al proceso de extracción indicado previamente en el método. El extracto hidroalcohólico total tuvo un rendimiento en peso de 9.4562g, el extracto de rizoma tuvo un rendimiento en peso de 1.0698g, el de raíz tuvo un rendimiento en peso de 4.1068g y el de hoja tuvo un rendimiento en peso de 4.2796g.

5.2. SCREENING FITOQUIMICO

Tabla 1. Resultados del Screening Fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Perezia pinnatifida* (Bonpl.) Wedd.

Prueba	Metabolitos		Extracto de raíz		Extracto de rizoma		Extracto de hoja	
			N° Ensayos		N° Ensayos		N° Ensayos	
			R1	R2	R1	R2	R1	R2
Fehling A+B	Azúcares	Azúcares reductores	+++	+++	+++	+++	++	++
Seliwanoff		Cetosas	+++	+++	+++	+++	++	++
Barfoed		Monosocaridos	+++	+++	+++	+++		
		Disacaridos			++	++	++	++
Millón		Proteínas	-	-	-	-	-	-
Biuret		Proteínas	-	-	-	-	-	-
Tricloruro Férrico		Compuestos Fenólicos	++	++	+	+	+++	+++
Mayer		Alcaloides	+/-	+/-	-	-	+	+
Wagner		Alcaloides	+/-	+/-	+	+	+	+
Dragendorff		Alcaloides	+/-	+/-	+	+	+	+
Shinoda		Flavonoides	+/-	+/-	-	-	++	++
Molish		Glúcidos	+++	+++	+++	+++	++	++
Saponinas		Afrosimétrica	+	+	+++	+++	++	++

Leyenda: negativo (-), muy leve (+/-), leve (+), moderado (++), abundante (+++) R1 (Repetición 1), R2 (Repetición 2).

5.3. CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA (TLC)

Tabla 2. Resultados de los N° de manchas de las cromatoplasmas de la cámara de yodo.

Órgano de la planta	Pruebas	Revelador General	# de Manchas
Raíz	Prueba 1	Cámara de yodo	1
	Prueba 2		1
Rizoma	Prueba 1		2
	Prueba 2		2
Hoja	Prueba 1		3
	Prueba 2		4

Tabla 3. Resultados de los números de manchas de las cromatoplasmas para detección de alcaloides.

Metabolitos Secundarios	Órgano de la planta	Detección	Referencia		Color experimental	Valor de Rf 1	Valor de Rf 2
			Según Autor	Color de Patrón			
Alcaloides	Raíz	Pulverizado con reactivo Dragendorff	Lock de Ugaz (pág. 264 -265) Ríos M., 2013	Naranja	Naranja marrón	No se presenció corrida	No se presenció corrida
		Luz Uv- 254nm	H. Wagner (pág. 6)	Fluorescencia azul, verdeazulado , violeta y fluorescencia amarilla.	Sin cambios respecto a la placa sin pulverizar	-	-
		Luz Uv- 365nm					
	Rizoma	Pulverizado con reactivo Dragendorff	Lock de Ugaz (pág. 264 -265) Ríos M., 2013	Naranja	Naranja claro	0.96	0.96
		Luz Uv- 254nm	H. Wagner (pág. 6)	Fluorescencia azul, verdeazulado , violeta y fluorescencia amarilla.	Sin cambios respecto a la placa sin pulverizar	-	-
		Luz Uv- 365nm					
	Hoja	Pulverizado con reactivo Dragendorff	Lock de Ugaz (pág. 264 -265) Ríos M., 2013	Naranja	Naranja marron	0.95	0.97
		Luz Uv- 254nm	Lock de Ugaz (pág. 264 -265) Ríos M., 2013	Fluorescencia azul, verdeazulado , violeta y fluorescencia amarilla.	Sin cambios respecto a la placa sin pulverizar	-	-
		Luz Uv- 365nm					

Tabla 4. Resultados de los números de manchas de las cromatoplasmas para detección de compuestos fenólicos.

Compuestos fenólicos	Órgano de la planta	Detección	Referencia		Color experimental	Valor de Rf 1	Valor de Rf 2	Metabolitos Secundarios
			Según Autor	Color de Patrón				
Compuestos fenólicos	Raíz	Luz Uv-365nm	Lock de Ugaz (pág. 123-124)	Verde, Fluorescencia amarilla, naranja, celeste, purpura.	Sin cambios respecto a la placa	-	-	-
		Luz Uv-254nm				-	-	-
		Pulverizado con Tricloruro Férrico	Lock de Ugaz (pág. 262)	Manchas azules, verdes o rojas.	Manchas verdes	No se desplazó	No se desplazó	Taninos catequicos
	Rizoma	Luz Uv-365nm	Lock de Ugaz (pág. 123-124)	Verde, Fluorescencia amarilla, naranja, celeste, purpura.	Sin cambios respecto a la placa	-	-	-
		Luz Uv-254nm				-	-	-
		Pulverizado con Tricloruro Férrico	Lock de Ugaz (pág. 262)	Manchas azules, verdes o rojas.	Manchas verdes	0.96	0.96	Taninos catequicos
	Hoja	Luz Uv-365nm	Lock de Ugaz (pág. 123-124)	Verde, Fluorescencia amarilla, naranja, celeste, purpura.	Fluorescencia celeste	0.95	0.86	Flavonoide
		Luz Uv-254nm				0.95	0.86	Flavonoide
		Pulverizado con Tricloruro Férrico	Lock de Ugaz (pág. 262)	Manchas azules, verdes o rojas.	Manchas verdes	0.96	0.95	Taninos catequicos

5.4. ESTUDIO MORFOLÓGICO E HISTOLÓGICO

5.4.1 *Perezia pinnatifida* (Bonpl.) Wedd.

Nombre común: “valeriana fina”, “contrahierba”, “china valeriana”, “marancel blanco”, “purum rosa”, “sacha margarita”, “sotuma”, “sutuma”, “valeriana”, “hechenk’e”

Perezia pinnatifida, morfológicamente, es una hierba perenne hasta 10 cm de alto, que habita en bofedales y roquedales húmedos. Presenta hojas arrosetadas, láminas pinnatífidas, lanceoladas-liradas hasta 6 a 7cm de largo, lóbulos de bordes redondeados y ciliados. Flores hermafroditas lilas, amarillas, rojizas con capítulos sésiles en escapos de hasta 1,5 cm y filarias externas obtusas. (Anexo 2: Fig. 3.1)

M.E.: Miraflores, de la Provincia de Yauyos, Lima, entre los 4600 m y 4724 m de altitud.

A) RAÍZ

Morfología. Las raíces son fasciculadas de consistencia herbácea y carnosa, algunas forman matas por la división de rizomas. El número promedio de las raíces por plantas es de 15, con 6 a 25cm de longitud, con un diámetro de 18mm. (Anexo 2: Fig. 3.2)

Histología. La raíz primaria es hexarca (seis polos xilemáticos) con pelos absorbentes (Anexo 2: Fig. 3.3, Fig. 3.4), del tipo cónico simple unicelular, presenta epidermis delgada con la pared externa lignificada, seguido de la exodermis. El parénquima cortical está conformado por células isodiamétricas, con cavidades secretoras, seguido de la endodermis. Se observa también la presencia de un periciclo de una única fila de células. A continuación se ubica el xilema y floema primarios alternados y el parénquima medular con células isodiamétricas.

La raíz secundaria presenta epidermis delgada (Anexo 2: Fig. 3.6). El Parénquima cortical presenta células isodiamétricas, más pequeñas hacia la endodermis. Floema y xilema secundarios continuos, del tipo sinofostela ectofloica y el parénquima medular con células isodiamétricas más pequeñas hacia el xilema (Anexo 2: Fig. 3.5, Fig. 3.6). La raíz secundaria temprana también presenta el xilema y el floema continuos, del tipo protoestela, sin presencia de parénquima medular. (Anexo 2: Fig. 3.7)

B) RIZOMA

Morfología. Rizoma grueso erecto u oblicuo con raíces fasciculadas. (Anexo 2: Fig. 3.2).

Histología. El rizoma presenta peridermis gruesa; el parénquima cortical con células isodiamétricas, seguido de la endodermis, posee canales secretores y fibras extrafloemáticas que se ubican sobre los haces conductores (Anexo 2: Fig. 3.12). El cilindro vascular tiene haces conductores discontinuos seguido del parénquima medular que está compuesto por células isodiamétricas más pequeñas hacia los haces conductores. (Anexo 2: Fig. 3.11)

C) HOJA

Morfología. Las hojas son arrosetadas y numerosas, láminas pinnatífidas, oblanceoladas o lanceoladas y liradas, lóbulos de borde redondeados y ciliados en el margen, obtusas o semiagudas en el ápice, hojas hasta 7cm de largo, atenuadas en la parte inferior, sésiles, glabras en el envés y glanduloso-pubescentes. El número de hojas por planta, durante la floración, es en promedio ocho.

Histología.

La hoja presentó un tipo mesomórfico, el mesófilo dorsiventral con parénquima en empalizada hacia la cara adaxial y parénquima lagunar hacia la cara abaxial de la hoja (Anexo 2: Fig. 3.10), haces vasculares rodeados de vaina parenquimática, estomas anomocíticos en la epidermis adaxial y abaxial, los estomas rodeados de 4 a 5 células anexas (Anexo 2: Fig. 3.8), el haz con un índice estomático de 16% y el envés con un índice estomático de 14%, ambas caras con presencia de tricomas glandulares pluricelulares con paredes delgadas, citoplasma claro y cutícula estriada, además también con una cabeza unicelular secretora. (Anexo 2: Fig. 3.9 B). La nervadura presenta epidermis monoestratificada, un parénquima cortical con células isodiamétricas haces conductores con presencia de espacios intercelulares. (Anexo 2: Fig. 3.9 A).

6. DISCUSIÓN

Para determinar los principales metabolitos secundarios presentes en cada órgano (raíz, rizoma y hoja) de *P. pinnatifida* se utilizó la cromatografía en capa fina (TLC) y como sistema Metanol/Acetato de Etilo (5:1) como solvente, similares a los utilizados por Castillo *et al.* (2013) y Erazo (2013), con el cual se obtuvo los mejores resultados para el desplazamiento de los compuestos en la TLC.

Las plantas son una fuente de innumerables recursos útiles para el desarrollo de la ciencia, entre los más importantes están los conocidos principios activos o metabolitos secundarios (Albornoz, 1980). Los compuestos fenólicos son un grupo muy común de metabolitos secundarios presentes en las plantas, estos incluyen a los fenoles simples, polifenoles, flavonoides, taninos, entre otros (Palencia, 1999).

Con el fin de ahondar en el conocimiento de la flora peruana, particularmente en aquellas especies categorizadas como vulnerables, se eligió la especie *Perezia pinnatifida* para profundizar en su composición química.

Perezia pinnatifida. (N.V.: "valeriana", "valeriana fina" y "contrahierba"), planta originaria de Sudamérica ha tenido diferentes usos benéficos (Katinas, 2012). La etnomedicina recomienda la toma por vía oral en infusión o decocción como estimulante del sistema nervioso central, sedante, tónico y tranquilizante para tratar trastornos cardíacos, insomnio nervioso, dolor de cabeza, agotamiento, "pánico" y parálisis de Bell; también se utiliza como antitusivo (De-La-Cruz *et al.*, 2007).

A pesar de las bondades y beneficios no se reportan estudios en cuanto a su composición química para esta especie, sin embargo, existen investigaciones de algunas especies del género *Perezia* que indican que las partes utilizadas son las raíces (Joseph-Nathan *et al.*, 1982; Guerreiro & Joseph-Nathan, 1987; García *et al.*, 1988; Mendoza & García, 1993; Arellano *et al.*, 1996; Giri & Lakshmi, 2000). Así mismo, Gibaja (1998) reporta que *P. coerulescens*, *P. multiflora*, *P. pinnatifida* y *P. virens* tienen efectos sedantes como punto común y que la parte utilizada es la raíz.

Fitoquímicamente, se ha identificado sesquiterpenos en *P. turbinata* (Mendoza & García, 1993) y en *P. longifolia* (García *et al.*, 1988), cumarinas en *P. carthamoides* (Guerreiro & Joseph-Nathans, 1987), e isoparvifolinona, 8-hidroxipereflorina, diperezona, sesquiterpenos, ciperano y parvofolina en *P. alamani var. oolepis* (Joseph-Nathan *et al.*, 1982), sesquiterpenos, quinona y perezona en raíces de *Perezia cuernavaca* (Arellano *et al.*, 1996). Para *P. multiflora* taninos, flavonoides, azúcares reductores y alcaloides (Felix *et al.*, 2000; Alvarado, 2007 & Portalino *et al.*, 2013). En *P. coerulescens*, Angeles *et al.*, (1984) reportan que su raíz contiene los triterpenos acetato de β -amirina y ψ -taraxasterilo acetato y cumarinas; así mismo, contiene perezona que es una quinona de la serie sesquiterpénica, que también es reportada para las raíces de *P. adnata*, *P. alamani*, *P. cuernavaca*, *P. hebeclada*, *P. multiflora* y *P. runcinata* (Gibaja, 1998). Este último compuesto es usado como pigmento y posee muchas propiedades farmacológicas (Arellano *et al.*, 1996); entre éstas se ha demostrado el efecto relajante sobre músculo intestinal de ratas (García *et al.*, 1995), efecto sobre arritmias en un modelo in vivo en corazón de rata (Tellez *et al.*, 1999). Se ha encontrado, también, que la perezona y la hidroxiperezona tienen efectos laxantes (Enriquez *et al.*, 1980).

En cuanto, a *Perezia pinnatifida* se sabe de la presencia de polifenoles totales (Rehecho & Calvo, 2009), la composición química detallada de los polifenoles es desconocida hasta el momento aunque cabe esperar que contengan compuestos similares hallados en especies del mismo género.

Para determinar la presencia de metabolitos secundarios en *P. pinnatifida*, se realizó un análisis fitoquímico de tres de sus órganos – raíz, rizoma y hojas– los cuales ofrecen propiedades medicinales según la literatura citada, los principales grupos de metabolitos secundarios asociados con la actividad biológica, a saber son: alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, carbohidratos, azúcares y proteínas.

Los resultados en el tamizaje fitoquímico y cromatografía de capa fina (TLC) muestran la presencia de compuestos fenólicos del tipo: taninos catéquicos en los tres órganos, pero en gran concentración en la hoja, se sabe que existe un interés creciente en los compuestos fenólicos debido a su efecto contra algunas enfermedades como ciertos cánceres y desordenes cardíacos derivados de su poderosa actividad antioxidante (Gracia, 2000) teniendo relación con las propiedades que se le otorgan a *P. pinnatifida* como tranquilizante en el tratamiento de alteraciones cardíacas de origen nervioso (De-la-Cruz *et. al.*, 2007; Katinas, 2012). La prueba de Shinoda y los resultados en TLC, fueron positivos para la presencia de flavonoides en hoja, en tanto que para rizoma fueron negativas ambas pruebas y en raíz la prueba de Shinoda fue positiva. Según Lock (1994), para esta especie los valores de absorción para los diferentes tipos de flavonoides y la relación entre el color de la mancha a la luz UV a 365nm y a 254nm, celeste fluorescente, indicarían la presencia de flavonas y flavanonas. Middleton *et al.* (2000) hizo una amplia revisión de las propiedades farmacológicas de los flavonoides hallando que la actividad antiinflamatoria y la actividad antioxidante están relacionadas, siendo las flavonas y flavanonas, las que tienen la mayor actividad. En general, los flavonoides tienen propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, antitrombóticas, antialérgicas, antitumorales, anticancerígenas y antioxidantes, esta última tiene acción principalmente, de protección en enfermedades neurodegenerativas, asimismo, los flavonoides son utilizados para el tratamiento de la fragilidad capilar, en diabetes, en afecciones cardíacas, por lo que merecen ser incorporados al grupo de los nutrientes esenciales (Venegas, 2012).

Respecto a las reacciones generales de alcaloides, el resultado fue positivo para raíz, rizoma y hoja. Estos compuestos son muy usados en medicina para tratar problemas mentales y calmar el dolor (Dewick, 2009), ya que son los mejores candidatos de ser los responsables de la actividad anestésica, debido a que en sus estructuras aparecen grupos amino al igual que los anestésicos locales (Pelletier,

1983). Las reacciones generales para alcaloides suelen ser consideradas inespecíficas (Domínguez, 1973) y, aunque las Asteraceae pueden presentar estos compuestos entre sus componentes (Aniszewski, 2007), en general no es considerada como una familia productora de alcaloides de importancia terapéutica como es el caso de otras tales como: Loganiaceae, Rubiaceae, Papaveraceae, Apocynaceae, Solanaceae. (Colares, 2010). Chuqui (2013) identifica la presencia de alcaloides para la especie *P. multiflora* en raíz, tallo y hoja. Así mismo, existen reportes que atribuyen a este género la acción sedante y tranquilizante (De-la-Cruz *et. al.*, 2007; Katinas, 2012) y que podría estar relacionada a la presencia de estos compuestos. Se identificaron alcaloides aunque no en gran concentración mediante la prueba de tamizaje fitoquímico y cromatografía en capa fina en hoja y rizoma. Y trazas de alcaloides en raíz, esto se debe a la cantidad de muestra utilizada, ya que es una planta categorizada como “Vulnerable” (VU) se trabajó con poca muestra. Dentro de los metabolitos secundarios de las plantas, se encuentran las saponinas, estos son glicósidos con elevado potencial farmacológico en la terapia del cáncer (Man *et al.*, 2010; Alhosin *et al.*, 2011), a nivel pulmonar, producen un aumento en las secreciones y, por consiguiente, tienen un efecto expectorante y antitusivo; aumentan la circulación sanguínea a nivel renal, aumentando frecuentemente la filtración glomerular y surtiendo efecto diurético (Kuklinski, 2000), estas propiedades medicinales están en relación con este género (De-la-Cruz *et. al.*, 2007). Nuestros resultados muestran la presencia de saponinas en los órganos de estudio, pero en mayor concentración en el rizoma. Además, las propiedades deterativas de las saponinas favorecen el uso popular de las especies que las contienen (Glauert, 1962) y respalda lo mencionado por Katinas (2012), indicando que la raíz seca en polvo se espolvorea en llagas y heridas como cicatrizante pero también les confieren una actividad biológica muy peculiar asociada a su toxicidad (Glauert, 1962), denominada actividad hemolítica.

Los carbohidratos son componentes universales de los organismos vivos; se forman como resultado de la fotosíntesis, constituyen el punto de partida para todo estudio que se realice en las drogas vegetales, pues a partir de ellos y por reacciones orgánicas subsiguientes, las plantas sintetizan una gran diversidad de metabolitos. (Yaque *et al.*, 2017; Keunen, 2013). Siendo positiva la presencia de carbohidratos, por ende, encontramos la presencia de azúcares reductores de grupo cétonico en gran cantidad para el rizoma y la raíz, ya que ambos son órganos de reserva de la planta. La presencia de azúcares reductores ha sido reportada para el género por Chuqui (2013).

Existen escasos estudios para el género *Perezia* como los de Olivera *et al.* (2008) Katinas (2012) y Apodaca *et al.* (2015). En cuanto a morfo-histología de *Perezia pinnatifida* no se tiene ningún registro, por lo que los resultados de este estudio será una contribución importante para un mejor entendimiento de esta especie altoandina del Perú y que se encuentra vulnerable.

Si bien el énfasis de este estudio ha sido la determinación de metabolitos secundarios, también se realiza aportes importantes en lo referente a la morfología. El ambiente actúa como una fuerza que modela la morfología de las especies dentro de su historia natural. Es posible por tanto correlacionar la anatomía con la forma de vida, ecología y los factores que esta implica. (Martel, 2012). Muchas Asteráceas tienen adaptaciones particulares a estos distintos ambientes. En la Puna las Asteráceas poseen adaptaciones al déficit de agua, baja humedad atmosférica, gran radiación solar y temperaturas nocturnas inferiores a cero durante todo el año, entre otros factores (Katinas *et. al* 2007).

Katinas (2012), indica para *Perezia pinnatifida*, una breve descripción mencionando caracteres los cuales podemos corroborar como: hojas arrosetadas, láminas pinnatífidas, lanceoladas y liradas, lóbulos de bordes redondeados y ciliados, presencia de raíces fasciculadas de consistencia herbácea y carnosa que salen del rizoma erecto u oblicuo. En cuanto, al rizoma, la literatura la describe como un

órgano de resistencia y almacenamiento de nutrientes, además de ser el medio principal por el cual una sola planta puede cubrir áreas amplias y continuar extendiéndose indefinidamente debido a su crecimiento continuo (Holtum, 1955). Font Quer (1979) define el rizoma como un tallo subterráneo con catáfilos capaces de producir raíces. También según este autor, en climas templados o regiones con una estación seca marcada, el rizoma protege la planta de factores ambientales desfavorables. En flores se encontró una variedad de tonalidades: lilas, amarillas y rojizas, las cuales también son mencionadas por Katinas (2012).

Según Molina (2007) las plantas modifican su morfología a lo largo de las gradientes altitudinales como estrategia para mitigar las condiciones climáticas limitantes. En este estudio se aporta más información sobre caracteres morfológicos tales como el número promedio de raíz y hojas por planta, de 15 y 8 respectivamente.

Pavlish y Tovar (1977) indican que los climas altoandinos influyen en las modificaciones estructurales de las plantas, que las variaciones de condiciones climáticas de las zonas altoandinas, con grandes fluctuaciones térmicas y precipitaciones, permiten a las plantas orientar sus adaptaciones en sentido de protección del frío y evitar la excesiva transpiración y *Perezia pinnatifida* es una planta que habita en suelos crioturbados, que son aquellos sometidos a una secuencia de hielo y deshielo; fenómeno que ocurre diariamente en la parte alta de los Andes tropicales provocando el desplazamiento de partículas, modificando su distribución en las capas del suelo; esta condición, sumada a las bajas temperaturas, la intensa radiación solar y otros factores edáficos y climáticos, hacen que la vegetación que colonizan estos suelos sea diferente a la encontrada en hábitats circundantes, principalmente respecto a estructura (Cano *et.al*, 2010) y de acuerdo, con los caracteres morfológicos que presenta *Perezia pinnatifida* como hojas sésiles, arrosetadas, angostas, con raíces profundas, según Roca (2012) son características propias de ecosistemas altoandinos que permiten hacer frente a las condiciones

climáticas adversas, tales como condiciones extremas de temperatura entre día y noche, heladas frecuentes, intensa radiación solar, sequía y suelos fríos.

En este trabajo se presenta por primera vez la descripción histológica de la raíz, hoja y rizoma de *Perezia pinnatifida*, de igual manera que las magnitudes proporcionales (índice estomático).

Los tricomas es una característica de importancia en el diagnóstico de las drogas (De Oliveira *et al.*, 1993). Según Montenegro (1981) estos podrían contener metabolitos secundarios capaces de reprimir el ataque de ciertos herbívoros. La presencia de tricomas ayudaría a disminuir la temperatura de las hojas y en consecuencia la pérdida de agua por transpiración (Fahn & Cutler, 1992; Vilela *et al.*, 2011; Delbón *et al.*, 2012). En este trabajo se han encontrado tricomas glandulares simples y pluricelulares en la raíz y hoja. Los tricomas glandulares simples y pluricelulares hallados se corresponden con tricomas semejantes descritos para varios géneros de Asteraceae como de tipo cónico simple unicelular (Gil *et al.* 2011), en tanto Budel *et al.* (2006) describe para *Calea uniflora* tricomas uniseriados pluricelulares. Con respecto a los tricomas glandulares, en este trabajo se han encontrado de un tipo: pluricelulares con cabeza unicelular secretora, como los hallados en *Mikania cordifolia* por Colares (2010), *M. lanuginosa* por Amorin *et al.* (2014) y *Senecio jacalensis* por Rojas-Leal *et al.* (2017).

Se encontró un mesófilo dorsiventral, según Metcalfe & Chalk (1950) es característico de las Compositae (Asteraceae), Arambarri *et al.* (2011) menciona que algunas especies que crecen en ambiente húmedo presentan un mesófilo dorsiventral pero con parénquima esponjoso denso, además, *P. pinnatifida* presenta una combinación de caracteres xeromórficos (e.g. hojas anfiestomáticas) y mesomórficos (e.g. hoja bifacial) (Arambarri *et al.*, 2011), haciendo que tenga que adaptarse al déficit de agua, es por ello que posee una capa de parénquima en empalizada de células largas y delgadas. De Olivera *et al.* (2008) identifica también

para *Perezia coerulescens* un tipo de mesófilo bifacial. Podría suponerse que para este género la presencia constante de un mesófilo dorsiventral respondería más a un control genético que a condiciones ambientales (Metcalf & Chalk, 1979). Presenta haces vasculares rodeados de vaina parenquimática, hojas anfistómicas que es característico de algunas Asteráceas y para *Alternanthera dentata* (Pereira et. al 2008) y *Pluchea sagittalis* (Cambi et. Al 2006) generalmente estomas anomocíticos en la epidermis adaxial y abaxial como los hallados para otros géneros de Asteraceae por Budel *et al.*, 2006 y Metcalfe & Chalk (1950), el haz con un índice estomático de 16%, el envés con un índice estomático de 14% y abundancia de tricomas glandulares pluricelulares.

La nervadura central tiene epidermis monoestratificada, un parénquima cortical con células isodiamétricas siendo más pequeñas las cercanas a la epidermis y a los haces conductores con presencia de espacios intercelulares, característico de algunos géneros de Asteráceas como *Pluchea sagittalis* (Cambi et. Al 2006).

Metcalf & Chalk (1950) describen a las raíces de Asteráceas por lo general desde triarcas a pentarcas pero Arias Luque (2004) menciona la presencia de raíces poliarcas (con más de 5 arcos xilemáticos) para algunas especies del género *Coespeletia* (*C. lutescens* y *C. timotensis*) y Machado *et. al* (2004) también describe otra especie de la familia Asteraceae, *Smallanthus sonchifolius*, como raíz poliarca. Este carácter es variable de especie a especie, pudiendo no ser considerado como carácter diagnóstico, en este estudio se describe a la raíz primaria como hexarca (seis polos xilemáticos), en la corteza de la raíz primaria estudiada se observa la presencia de espacios secretores, lo que confirma los conocimientos de la medicina popular, que indican la utilización de la raíz en las preparaciones medicinales (Aguilera *et. al*, 2004). La presencia de cavidades secretoras, parece ser una característica común a las raíces de representantes de la familia Asteraceae y su presencia ha sido reportada por Tetley (1925), Williams (1954), Metcalfe y Chalk

(1950), Lersten y Curtis (1987). Se identificó la presencia de paredes lignificadas, presencia de lignina en la endodermis y en las fibras solitarias. La lignina, generalmente se encuentra ampliamente distribuida dentro de las angiospermas (Martel, 2012), formando la pared celular e impermeabilizando las células (Salisbury y Ross, 1994). *Perezia pinnatifida* presenta epidermis delgada como los hallados en algunas especies del género *Coespeletia* (Luque, 2004) con pelos absorbentes, del tipo cónico simple unicelular, presentes también para otra especie de Asteráceae, *Solidago chilensis* (Gil *et. al* 2011).

En la corteza se observa bien diferenciados la exodermis, el parénquima cortical (corteza parenquimática) está conformado por células isodiamétricas, seguido de la endodermis. Entre las funciones que cumple la endodermis se destaca el papel en el metabolismo de las sustancias grasas, el comportamiento de óxido reducción de fenoles parece ser una de las principales funciones de la endodermis y podría determinar el metabolismo de sustancias grasas en este tejido (Van Fleet 1961). En cuanto a la exodermis, está formada por una capa de células de paredes gruesas que puede sustituir a la epidermis como tejido de protección, ya que proporcionarían rigidez a la lámina frente a los fuertes vientos, evitando también el quiebre de la misma por marchitamiento durante la estación seca (Ragonese 1990; Montenegro *et al.* 1981, Luque, 2004). Con respecto, al cilindro central, en las especies estudiadas se observa la presencia de un periciclo de una hilera de células y la estela con un número variable de arcos de xilema primario. El periciclo formado por células importantes ya que da origen a las raíces laterales, se compone de dos tipos de células, las que están enfrente de las células del floema que son células diferenciadas y las células enfrente del xilema que son células meristemáticas (Garay-Arroyo *et. al*, 2014).

Los sistemas radicales están determinados principalmente por un componente genético según Kutschera *et al.* (1992), sin embargo las condiciones ambientales

también influyen en su desarrollo (Schubert 1991). La estructura radical secundaria de *Perezia pinnatifida*, en corte transversal, muestra diferentes grados de desarrollo. Mercado *et. al* (2016) indica que lo más frecuente es observar una estructura secundaria temprana donde aún persiste la epidermis, el parénquima cortical y la endodermis (remanentes de la estructura primaria) adheridos a la peridermis en formación. En este caso, la raíz secundaria presenta epidermis delgada con gotas de aceites cerca de la endodermis, que son comunes en algunos géneros de Asteráceas (Díaz-Cedillo *et. al*, 2013; Lizárraga *et. al*, 2017; Morales *et. al*, 2009). El Parénquima cortical presenta células isodiamétricas, más pequeñas hacia la endodermis. Floema y xilema secundarios continuos, del tipo sinofostela ectofloica, semejantes a los descritos por Olivera *et al.* (2008) para *Perezia coerulescens*, en el cual también menciona un parénquima medular con células isodiamétricas más pequeñas hacia el xilema. En cuanto a la raíz secundaria temprana se diferencia de esta última por la ausencia del parénquima medular, también presenta el xilema y el floema, del tipo protoestela.

Con respecto al rizoma, presenta peridermis gruesa, seguidas del parénquima cortical, además posee canales secretores que limita con la endodermis, semejantes a los descritos por Hernandez *et al.* (2013), para *Solidago chilensis var. chilensis* (Asteraceae). La endodermis, es una característica frecuente de las Asteraceae (Ariza Espinar 1969), la cual tiene función de proteger los tejidos vasculares y prevenir la desecación (Fahn & Cutler, 1992) y delimita internamente con el cilindro vascular de la corteza. En cuanto a los canales secretores, según Hernandez *et al.* (2013), no existe un acuerdo sobre la nomenclatura de las estructuras secretoras, cavidades, canales, conductos, espacios internos secretores, cavidades tubulares y reservorios. Para *Perezia Pinnatifida* se adoptó el término de "canales secretores" usados por Olivera *et al.* (2008). Estos canales secretores están presentes en algunos géneros de Asteraceae (Hernandez *et al.*, 2013; Mercado *et al.*, 2009). Olivera *et al.* (2008) determina para *Perezia coerulescens* la presencia de fibras

extrafloemáticas que se ubican sobre los haces conductores, encontrados también en el rizoma de *Perezia pinnatifida*. El cilindro vascular tiene haces conductores discontinuos, en forma de estela ectofloica, semejantes a algunas Asteráceas entre ellas a *Smallanthus siegesbeckius* (Mercado *et al.*, 2009) y *Megalodonta beckii* (Metcalfe y Chalk, 1950). Olivera *et al.* (2008) identifica para la especie *Perezia coerulescens*, la presencia de parénquima medular que está compuesto por células isodiamétricas más pequeñas hacia los haces conductores semejantes a los descritos para *Perezia pinnatifida*.

7. CONCLUSIONES

- El análisis fitoquímico efectuado en la muestra de hojas y raíz de *P. pinnatifida* evidencian la presencia de alcaloides, taninos catéquicos, flavonoides, saponinas, carbohidratos y azúcares reductores de grupo cetónico. No se detectó la presencia de proteínas.
- En el rizoma, los principales metabolitos secundarios encontrados fueron: alcaloides, taninos catéquicos, saponinas, carbohidratos y azúcares reductores de grupo cetónico. No se detectó la presencia de flavonoides, ni proteínas.
- Los flavonoides hallados en *P. pinnatifida*, según los valores de absorción y la relación entre el color de la mancha a la luz UV a 365nm y a 254nm, indicarían la presencia de flavonas y flavanonas.
- Se encontraron los mismos metabolitos secundarios en hoja y raíz, pero en cuanto a la intensidad de color en el tamizaje fitoquímico y en la TLC, se evidenció que la hoja presentó la mayor concentración de compuestos fenólicos, flavonoides y saponinas, compuestos que están relacionados íntimamente con las propiedades medicinales que se le atribuye a *P. pinnatifida*.
- Los caracteres morfológicos hallados en *Perezia pinnatifida* como: hojas basales, arrosadas, láminas pinnatífidas, márgenes lobados, ciliadas y de porte acaules son de utilidad para la identificación de la planta. El número promedio de raíz y hojas por planta, de 15 y 8 respectivamente.
- El cilindro vascular de la raíz con estructura primaria presenta una estructura hexarca, con seis polos xilemáticos. La lignina fue detectada en las paredes de las células de la raíz, en la endodermis y principalmente en el cilindro vascular. La zona medular de la raíz puede presentar un parénquima incoloro en el centro, la posición y forma de las células, fibras y los haces conductores son caracteres diferenciales complementarios para otras especies del género.

- La hoja es anfiestomática, con características mesomórficas, con un mesófilo dorsiventral, que tiene parénquima empalizada y estructuras secretoras. Los estomas son de tipo anomocíticos. El haz de la hoja presenta un índice estomático de 16% y el envés, un índice estomático de 14%.
- La variabilidad de los tricomas encontrados en los distintos órganos de la planta, puede ser considerada como un carácter diagnóstico.

8. RECOMENDACIONES

- Realizar cromatografía de capa fina con otros tipos de solventes para poder comparar la nitidez de los metabolitos secundarios en la cromatoplaça.
- La información obtenida de este estudio servirá para contribuir a la conservación de esta especie categorizada como "Vulnerable" y se priorice hacer una aplicación de los métodos descritos para la determinación de metabolitos secundarios en otras plantas silvestres categorizadas.
- Realizar pruebas espectrofotométricas para la cuantificación de compuestos fenólicos y flavonoides totales.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ABBOTT, David Andrews, et al. *Introducción a la cromatografía*. Alhambra, 1973.
2. AGUILERA, D. B.; MEIRA, R. M. S. A.; FERREIRA, F. A. Anatomia e histoquímica dos órgãos vegetativos de *Siegesbeckia orientalis* (Asteraceae). *Planta Daninha*, 2004, vol. 22, no 4, p. 483-489.
3. ALBORNOZ, A. *Productos Naturales: Sustancias y drogas extraídas de plantas*. Ediciones de la Universidad Central de Venezuela, Caracas, 1980
4. ALHOSIN, Mahmoud, et al. Down-regulation of UHRF1, associated with re-expression of tumor suppressor genes, is a common feature of natural compounds exhibiting anti-cancer properties. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2011, vol. 30, no 1, p. 41.
5. ALONSO, José Ramón; PEÑA, José R. Alonso. *Manual de histología vegetal*. 2011.
6. ALVARADO, B. (2007). Plantas medicinales de la Cordillera Negra. *Revista Académica Perú Salud*, 14(2), 53-63.
7. AMORIN, Mariana, et al. Pharmacobotanical study of the leaf and stem of *Mikania lanuginosa* for its quality control. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2014, vol. 24, no 5, p. 531-537.
8. ANGELES, L. R., SALKELD, I. C., & JOSEPH-NATHAN, P. A coumarin from *Perezia coerulescens*. *Phytochemistry*, 1984, vol. 23, no 9, p. 2094-2095.
9. ANISZEWSKI, T. Definition, typology and occurrence of alkaloids. *Alkaloids—Secrets of Life*, 2007, p. 1-316.
10. APODACA, María José; CRISCI, Jorge Víctor; KATINAS, Liliana. *Andean origin and diversification of the genus Perezia, an ancient lineage of Asteraceae*. Smithsonian Institution Scholarly Press, 2015.
11. ARAMBARRI, Ana, et al. Ecoanatomía foliar de arbustos y árboles del Distrito Chaqueño Oriental de la Argentina. *Bonplandia*, 2017, vol. 21, no 1, p. 5-26.

12. Arambarri, A. M., Novoa, M. C., Bayon, N. D., Hernández, M. P., Colares, M. N., & Monti, C. (2011). Ecoanatomía foliar de árboles y arbustos de los distritos chaqueños occidental y serrano (Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 46(3-4), 251-270.
13. ARELLANO, Jesús, et al. Establishment of transformed root cultures of *Perezia cuernavacana* producing the sesquiterpene quinone perezone. *Plant cell reports*, 1996, vol. 15, no 7, p. 455-458
14. ARIAS, Rebeca Luque. Estructura primaria del sistema radical de *Coespeletia Cuatrec*. *Interciencia*, 2004, vol. 29, no 1, p. 13-20.
15. ARIZA ESPINAR, Luis; ESPINAR, Luis Ariza. Las especies de *Baccharis* (Compositae) de Argentina central. 1974.
16. BARROSO, G.M. Sistemática de angiospermas do Brasil. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, v. 3, 1986.
17. BOERIS, M. A. Purificación del Extracto Hidroalcohólico de *Salpichroa organifolia*. *Ciencia Veterinaria*, 2007, Vol. 9, no 1
18. BRAKO, L.; ZARUCCHI, James Lee. Catalogue of the flowering plants and Gymnosperms of Peru. Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden.*, 1993, vol. 45, p. 1-1286.
19. BUDEL, Jane M., et al. Caracteres anatómicos de folha e caule de *Calea uniflora* Less., Asteraceae. *Rev Bras Farmacogn*, 2006, vol. 16, p. 53-60.
20. CABRERA, A. Ecología vegetal de la puna. Colloquium Geographicum Band. 9: 91-116. En *Proceedings of the UNESCO Mexico Symposium*. 1966.
21. CAMBI, Viviana, et al. Morfoanatomía de *Pluchea sagittalis* (Asteraceae), especie nativa de interés medicinal. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 2006, vol. 25, no 1, p. 43.

22. CANO, Asunción, et al. Flora y vegetación de suelos crioturbados y hábitats asociados en los alrededores del abra Apacheta, Ayacucho-Huancavelica (Perú). *Revista peruana de biología*, 2011, vol. 18, no 2, p. 169-178.
23. CANO, Asunción, et al. Flora y vegetación de suelos crioturbados y hábitats asociados en la Cordillera Blanca, Ancash, Perú. *Revista peruana de biología*, 2010, vol. 17, no 1, p. 95-104.
24. CANTER, Peter H.; THOMAS, Howard; ERNST, Edzard. Bringing medicinal plants into cultivation: opportunities and challenges for biotechnology. *TRENDS in Biotechnology*, 2005, vol. 23, no 4, p. 180-185.
25. CASTILLO OSORIO, Christian Anthony; MEDINA GAMBOA, Cindy Susan. Identificación de metabolitos secundarios presentes en la planta nativa cucharilla (*Oreocallis grandiflora*). 2013.
26. CASTRO, Marília de Moraes; LEITÃO-FILHO, Hermógenes de Freitas; MONTEIRO, Walkyria Rossi. Utilização de estruturas secretoras na identificação dos gêneros de Asteraceae de uma vegetação de cerrado. *Brazilian Journal of Botany*, 1997, vol. 20, no 2, p. 163-174.
27. CERRATE, E. (1969). Manera de preparar plantas para un herbario. *Museo de Historia Natural, Serie de Divulgación*, (1), 10.
28. CHUQUI REMACHE, María Del Rocío. *Evaluación de la Actividad Antiinflamatoria de la Escorzonera (Perezia multiflora) en Ratas (Ratus norvegicus)*. 2013. Tesis de Licenciatura.
29. COLARES, Marta N. *Mikania cordifolia y Mikania micrantha (Asteraceae): especies medicinales nativas de las reservas naturales de Punta Lara e Isla Martín García, Buenos Aires, Argentina*. 2010. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas.
30. CRONQUIST, Arthur. *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia University Press, 1981.

31. CYTED, Programa Iberoamericano de Ciencia; PARA EL DESARROLLO, Tecnología. Manual de Técnicas de Investigación. *Editado por CYTED*, 1995.
32. D'AMBROGIO DE ARGÜESO, Ana. Manual de técnicas en histología vegetal, Ana D'Ambrogio de Argüeso. 1986.
33. DE LA CRUZ SILVA, Horacio; ZEVALLOS POLLITO, Percy A.; VILCAPOMA SEGOVIA, Graciela. Status" de conservación de las especies vegetales silvestres de uso tradicional en la provincia de Canta, Lima-Perú. *Ecología Aplicada*, 2005, vol. 4, no 1-2, p. 9-16.
34. DE OLIVEIRA, Andréia B.; DE MENDONÇA, Maria S.; MEIRA, Renata MSA. Anatomy of vegetative organs of *Scutellaria agrestis*, a medicinal plant cultivated by riverine populations of the Brazilian Amazon. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2013, vol. 23, no 3, p. 386-397.
35. DE-LA-CRUZ, Horacio; VILCAPOMA, Graciela; ZEVALLOS, Percy A. Ethnobotanical study of medicinal plants used by the Andean people of Canta, Lima, Peru. *Journal of Ethnopharmacology*, 2007, vol. 111, no 2, p. 284-294.
36. DEL VITTO, L. A., & PETENATTI, E. M. (2009). Asteráceas de importancia económica y ambiental: Primera parte. Sinopsis morfológica y taxonómica, importancia ecológica y plantas de interés industrial. *Multequina*, 18(2), 87-115.
37. DELBÓN, Natalia; COSA, María Teresa; BERNARDELLO, Gabriel. Exomorfología y anatomía de órganos vegetativos aéreos en especies de *Flourensia* DC. (Asteraceae) con importancia fitoquímica. *Acta Bot. Brasil*, 2012, vol. 26, p. 2-10.
38. DEWICK, Paul M. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. John Wiley & Sons, 2002.
39. DÍAZ-CEDILLO, F., SERRATO-CRUZ, M. A., DE LA CRUZ-MARCIAL, J., SÁNCHEZ-ALONSO, M. G., & LÓPEZ-MORALES, V., Compuestos mayoritarios del aceite esencial en órganos de una población de *Tagetes coronopifolia* Willd. *Revista fitotecnia mexicana*, 2013, vol. 36, no 4, p. 405-411.

40. DIXON, Richard A. Natural products and plant disease resistance. *Nature*, 2001, vol. 411, no 6839, p. 843.
41. DIZEO DE STRITTMATTER, C. G. Nueva técnica de diafanización. *Bol. Soc. Argent. Bot*, 1973, vol. 15, p. 126-9.
42. DOMÍNGUEZ, Xorge A. *Métodos de investigación fitoquímica*. 1973.
43. ENRIQUEZ, R.; ORTEGA, J.; LOZOYA, X. Active components in *Perezia* roots. *Journal of ethnopharmacology*, 1980, vol. 2, no 4, p. 389-393.
44. EVERT, Ray F. *Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development*. John Wiley & Sons, 2006.
45. ERAZO PROAÑO, E. L. (2013). *Separación y caracterización de los metabolitos secundarios de la hiedra (Hedera helix) del Ecuador con fines de aporte a una técnica de identificación* (Bachelor's thesis).
46. FAHN, A., CUTLER, D. F. *Xerophytes*. Gebrüder Borntraeger, 1992.
47. FAHN, Abraham, et al. *Secretory tissues in plants*. Academic Press., 1979.
48. FELIX, L., BONILLA, P., CASTRO, A., CHOQUESILLO, F., & MILLA, H. (2000). Estudio fitoquímico y determinación de las flavanonas y alcaloides de naturaleza indólica en hojas de *Perezia multiflora* (H. et B.) Less" escorsonera". *Ciencia e Investigación*, 3(2), 79-87
49. FONT QUER, Pío. Diccionario de botánica. *Barcelona: Labor*, 1979.
50. GARAY-ARROYO, Adriana, et al. La Homeostasis de las Auxinas y su Importancia en el Desarrollo de *Arabidopsis Thaliana*. *REB. Revista de educación bioquímica*, 2014, vol. 33, no 1, p. 13-22.
51. GARCIA G, E.; MENDOZA, V.; GUZMÁN B, J. A. Sesquiterpenes from *Perezia longifolia*. *Journal of Natural Products*, 1988, vol. 51, no 1, p. 150-151.
52. GARCÍA, Adolfo Ávalos; CARRIL, Elena Pérez-Urria. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (biología)*, 2011, vol. 2, no 3.

53. GARCIA, Jorge. Asteraceae. Universidad de Salamanca, 2010. Available from: <http://diarium.usal.es/jorgegd56/2010/10/30/asteraceae/>
54. GARCÍA, M. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. *Universidad Autónoma de Querétaro*. [Citado 05 Mayo 2013] Disponible en: http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56_1UAQGarciaNava.pdf, 2007.
55. GARCIA, X., ALCANTARA-SARABIA, G., CARTAS-HEREDIA, L., & GIJON, E. Actions of perezone on rat smooth muscle. *General Pharmacology: The Vascular System*, 1995, vol. 26, no 8, p. 1741-1745.
56. GENTRY, Alwyn H. A field guide to the families and genera of woody plants of Northwest South America. *Conservation International, Washington, DC*, 1993, p. 445-452.
57. GIBAJA, Segundo. *Pigmentos naturales*. UNMSM, 1998.
58. GIL, S. P., et al. Epidermis foliar de tres especies de asteráceas nativas de Argentina con potencial ornamental. *Phyton (Buenos Aires)*, 2012, vol. 81, no 2, p. 205-210.
59. GIRI, Archana; NARASU, M. Lakshmi. Transgenic hairy roots: recent trends and applications. *Biotechnology Advances*, 2000, vol. 18, no 1, p. 1-22.
60. GLAUERT, Audrey M.; DINGLE, J. T.; LUCY, J. A. Action of saponin on biological cell membranes. *Nature*, 1962, vol. 196, no 4858, p. 953-955
61. GUERREIRO, Eduardo; JOSEPH-NATHAN, Pedro. Coumarins from *Perezia carthamoides*. *Journal of Natural Products*, 1987, vol. 50, no 2, p. 334-334.
62. HARBORNE, Jeffrey B. Recent advances in chemical ecology. *Natural product reports*, 1989, vol. 6, no 1, p. 85-109.
63. HERNANDEZ, M. P., ALONSO, S. M., MORANDI, L. A., & ARAMBARRI, A. M. Anatomical and chemical analysis in *Solidago chilensis var. chilensis* (Asteraceae). *Lat. Am. J. Pharm*, 2013, vol. 32, p. 1236-1240.

64. HOLTUM, Richard E. Growth-habits of monocotyledons-variations on a theme. *Phytomorph*, 1955, vol. 5, p. 399-413.
65. HOSS, R. *Recursos botánicos con potencial biocida: conceptos básicos y métodos de análisis*. Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos (RAAA), 1999.
66. JOHANSEN, Donald Alexander. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Company, Inc: London; 530p, 1940.
67. JOSEPH-NATHAN, P., HERNANDEZ, J. D., ROMAN, L. U., GARCIA, G. E., & MENDOZA, V. Sesquiterpenes from *Perezia carpholepis*. *Phytochemistry*, 1982, vol. 21, no 3, p. 669-672.
68. KATINAS, L., PRUSKI, J., SANCHO, G., & TELLERÍA, M. C. The subfamily Mutisioideae (Asteraceae). *The Botanical Review*, 2008, vol. 74, no 4, p. 469.
69. KATINAS, Liliana, et al. Panorama de la familia Asteraceae (= Compositae) en la República Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 2007, vol. 42, no 1-2, p. 113-129.
70. KATINAS, Liliana. Revisión del género *Perezia* (Compositae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 2012, vol. 47, no 1-2, p. 159-261.
71. KEUNEN, E. L. S., PESHEV, D., VANGRONSVELD, J., VAN DEN ENDE, W. I. M., & CUYPERS, A. N. N. Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept. *Plant, Cell & Environment*, 2013, vol. 36, no 7, p. 1242-1255.
72. KUKLINSKI C., *Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Omega, 2000.
73. KUTSCHERA, L., HUEBL, E., LICHTENEGGER, E., PERSSON, H., & SOBOTNIK, M., *Root Ecology and its Practical Application*. Verein für Wurzelforschung, Klagenfurt, 1992.
74. LEÓN, Blanca; PITMAN, Nigel; ROQUE, José. Introducción a las plantas endémicas del Perú. *Revista peruana de biología*, 2006, vol. 13, no 2, p. 9-22.

75. LERSTEN, Nels R.; CURTIS, John D. Foliar oil reservoir anatomy and distribution in *Solidago canadensis* (Asteraceae, tribe Astereae). *Nordic Journal of Botany*, 1989, vol. 9, no 3, p. 281-287.
76. LIZARRAGA, E., MERCADO, M. I., GALVEZ, C., RUIZ, A. I., PONESSA, G. I., & CATALAN, C. A Morpho anatomical characterization and essential oils of *Tagetes terniflora* and *Tagetes minuta* (Asteraceae) growing in Tucumán (Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 2017, vol. 52, no 1, p. 55-68.
77. LOCK, Olga. *Investigacion Fitoquimica, Métodos en el estudio de productos naturales. Segunda Edicion*. Univ Catolica Peru, 1994.
78. MACBRIDE, J. Francis; DAHLGREN, B. E. Flora Of Peru (Part-VI), Vol. 13 Vol-13. 1936.
79. MACHADO, Silvia R., et al. Morfoanatomia do sistema subterrâneo de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson (Asteraceae). *Brazilian Journal of Botany*, 2004, p. 115-123.
80. MAN, Shuli, et al. Chemical study and medical application of saponins as anti-cancer agents. *Fitoterapia*, 2010, vol. 81, no 7, p. 703-714.
81. MANTILLA, Justo; OLAZABAL, Oscar. "Pachamama hampi qhoranchiskuna: las plantas medicinales de nuestra tierra". Instituto de Ecología y Plantas Medicinales, Cusco. 2008
82. MARTEL, Carlos G., Anatomía de la raíz de especies peruanas de *astrocaryum* g. Mey.(ARECACEAE) icipal de Crédito Popular de Lima en el periodo del 2007 al 2010. 2012.
83. MENDOZA G, V.; GARCÍA G, E. Identification of sesquiterpenes from *Perezia turbinata*. *Journal of natural products*, 1993, vol. 56, no 12, p. 2073-2076.
84. MERCADO M., RUIZ A., GUANTAY M., ALBORNOZ P., PONESSA G., Morfología y anatomía de los órganos vegetativos de *Zinnia peruviana* (Asteraceae). *Lilloa*, 2016, vol. 53, no 2, p. 244–257

85. METCALFE, Charles Russell, et al. Anatomy of the dicotyledons, Vols. 1 & 2. *Anatomy of the dicotyledons, Vols. 1 & 2*, 1950.
86. METCALFE, Charles Russell; CHALK, Laurence. Anatomy of the dicotyledons. v. 1: Systematic anatomy of leaf and stem; with a brief history of the subject. v. 2: Wood structure and conclusion of the general introduction. 1979.
87. MIDDLETON, Elliott; KANDASWAMI, Chithan; THEOHARIDES, Theoharis C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, 2000, vol. 52, no 4, p. 673-751.
88. MOLARES, S., GONZÁLEZ, S., LADIO, A., & CASTRO, M. A. (2009). Etnobotánica, anatomía y caracterización físico-química del aceite esencial de *Baccharis obovata* Hook. et Arn.(Asteraceae: Astereae). *Acta Bot Bras*, 23(2), 578-589.
89. MOLINA M., M. A. (2007). Variación de la pubescencia foliar en plantas y sus implicaciones funcionales a lo largo de gradientes altitudinales. *Revista Ecosistemas*, 17(1).
90. MONTENEGRO, G., et al. Xeromorfismo en especies arbustivas del matorral chileno. *Anal. Mus. Hist. Nat. Valparaíso*, 1981, vol. 14, p. 71-83.
91. MOSTACERO, Jose León; MEJIA, Freddy Coico; CHARCAPE, Manuel Ravelo. *Fitogeografía del norte del Peru*. Universidad de Texas, 1996.
92. MOSTACERO, José; MEJÍA, Fredy. Taxonomía de fanerógamas peruanas. *Trujillo-Perú*, 1993.
93. OLIVERA GONZALES, P.; ANGELES, C. TAMARIZ; WONG, M. CHOY. Morfo-anatomía de *Perezia coerulescens* Wedd.(Asteraceae). 2008.
94. OLIVERA GONZÁLES, Percy Eduardo. Validación de una metodología específica para la propagación in vitro de *Perezia coerulescens*, especie medicinal altoandina, Huaraz, Perú. 2011.

95. OSORIO, EDISON. Aspectos básicos de farmacognosia. *Facultad de Química Farmacéutica de la Universidad de Antioquia*, 2009.
96. PALENCIA, M. Y. Sustancias Bioactivas en Alimentos [en línea], Universidad de Zaragoza, España. *Consultado el*, 1999, vol. 9.
97. PAVLICH, M.; TOVAR, O. Ecomorfología de algunas plantas de la puna del Perú central. *Archivos de Biología Andina*, 1977, vol. 7, no 1, p. 27-53.
98. PELLETIER, S. William. The nature and definition of an alkaloid. *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*, John Wiley & Sons, New York, USA, 1983.
99. PEREIRA, Danielle F., et al. Morfo-anatomía das Folhas de *Alternanthera brasiliana* e *Alternanthera dentata* (Amaranthaceae). *Latin American Journal of Pharmacy*, 2008, vol. 27, no 2, p. 178.
100. PÉREZ, Salvador; DE MARÍA, Flor; CANO ECHEVARRÍA, Asunción. Lagunas y oconales: los humedales del trópico andino. *Cuadernos de biodiversidad*, nº 11 (oct. 2002); pp. 4-9, 2002.
101. PORTALATINO, V., & JORGE, E. (2013). "Concentración Mínima Inhibitoria del extracto hidroalcohólico de tallos y hojas de *Baccharis genistelloides*, *Perezia multiflora*, *Senecio sublutescens* y *Jungia paniculata* del Parque Nacional Huascarán frente a cepas bacterianas de interés clínico".
102. RAMOS, B. Descripción morfohistológica de tres especies de plantas altoandinas de Chacas Asunción, Ancash-Perú. 2012.
103. REHECHO, S. & CALVO, M. I. Estudio comparativo in vitro de dos "valerianas" etnofarmacológicamente similares: *Perezia pinnatifida* H et B Weed and *Valeriana officinalis* L. *Revista de Fitoterapia* 2009; 9 (S1), P 72.
104. REHECHO, S. en REVISTA PROFESIONAL DEL COLEGIO DE FARMACÉUTICOS DE NAVARRA II ETAPA / 4 °TRIMESTRE, 2012, Albarelo No 36.

105. ROCA, W. Tendencias en el desarrollo de capacidades biotecnológicas e institucionales para el aprovechamiento de la biodiversidad en los países de la Comunidad Andina. *Informe preparado para la Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL) y la Corporación Andina de Fomento (CAF)*, 2004, p. 270.
106. ROJAS-LEAL, A., VILLASEÑOR, J. L., & TERRAZAS, T. (2017). Tricomas foliares en *Senecio* sección *Mulgediifolii* (Senecioneae, Asteraceae). *Acta Botánica Mexicana*, (119), 69-78.
107. SALISBURY, Frank B. Ross, et al. *Fisiología vegetal*. Grupo Editorial Iberoamérica, 1994.
108. SAN MARTIN, Ángela J. Estudio fitoquímico y espectroscópico preliminar de cinco plantas medicinales de Carmen Pampa (Coroico) Bolivia. *Revista Boliviana de Química*, 2015, vol. 29, no 2.
109. SCHUBERT, R. Root research in natural ecosystems. *Developments in agricultural and managed-forest ecology*, 1991, vol. 24, p. 344-349.
110. SCHULTES, R. E. The kingdom of plants. *Medicines from the Earth*. McGraw-Hill Book Co., New York, NY, 1978, vol. 208.
111. SHARAPIN, Nikolai. *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. Convenio Andrés Bello, 2000.
112. SMITH, David Nelson. Flora and vegetation of the Huascarán National Park, Ancash, Peru: with preliminary taxonomic studies for a manual of the flora. 1988.
113. SOLEREDER, Hans; SCOTT, Dukinfield Henry. *Systematic anatomy of the dicotyledons: a handbook for laboratories of pure and applied botany*. Clarendon Press, 1908.
114. SUTTISRI, Rutt, et al. Neo-clerodane diterpenoids and other constituents from *Baccharis genistelloides*. *Phytochemistry*, 1994, vol. 35, no 2, p. 443-446.

115. TÉLLEZ, J., CARVAJAL, K., CRUZ, D., CÁRABEZ, A., & CHÁVEZ, Effect of perezona on arrhythmias and markers of cell injury during reperfusion in the anesthetized rat. *Life sciences*, 1999, vol. 65, no 16, p. 1615-1623.
116. TETLEY, Ursula. The secretory system of the roots of the Compositae. *New Phytologist*, 1925, vol. 24, no 3, p. 138-162.
117. TRIPATHI, Leena; TRIPATHI, Jaindra Nath. Role of biotechnology in medicinal plants. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2003, vol. 2, no 2, p. 243-253.
118. TUBÉE, Montesinos; DANIEL, B. Lista anotados de nuevas adiciones para la flora andina de Moquegua, Perú. *Revista peruana de biología*, 2012, vol. 19, no 3, p. 307-316.
119. VAN FLEET, Dick Scott. Histochemistry and function of the endodermis. *The Botanical Review*, 1961, vol. 27, no 2, p. 165-220.
120. VENEGAS CASANOVA, Edmundo Arturo. Cuantificación de flavonoides totales y taninos presentes en el extracto acuoso de hojas de *Thea sinensis* L. y su capacidad antioxidante. 2012.
121. VILELA, Alejandra E.; GONZÁLEZ-PALEO, Luciana; RAVETTA, Damián A. Metabolismo secundario de plantas leñosas de zonas áridas: mecanismos de producción, funciones y posibilidades de aprovechamiento. *Ecología austral*, 2011, vol. 21, no 3, p. 317-327.
122. VILLANUEVA, R. Características de la cuenca del Río Santa. *Revista del Instituto de Montaña.[revista en línea]*, 2011, p. 20-21.
123. WILKINSON, HAZEL P. The plant surface (mainly leaf). *Anatomy of the dicotyledons. I.(Metcalfe, CR & Chalk, L.) Clarendon Press: Oxford*, 1980, p. 97-165.
124. YAQUE, J. G., MAX, M., CUÉLLAR, A., DE ARMAS, T., GÓMEZ, E., & DOPICO, E. Pharmacognostic and Phytochemical Studies of *Smilax*

domingensis Willd. in Cuba. *American Journal of Plant Sciences*, 2017, vol. 8, no 06, p. 1462.

125. YARUPAITÁN, Genaro; ALBÁN, Joaquina. Flora silvestre de los Andes centrales del Perú: un estudio en la zona de Quilcas, Junín. *Revista Peruana de Biología*, 2003, vol. 10, no 2, p. 155-162.

10. ANEXOS

ANEXO 1. Permiso de colecta en la RPNYC



**RESOLUCIÓN JEFATURAL DE LA RESERVA PAISAJÍSTICA NOR YAUYOS
COCHAS
N° 002-2016-SERNANP-JEF**

Huancayo, 26 de enero de 2016

VISTO:

Mediante formato de solicitud S/N de fecha de recepción 31 de Diciembre del 2015 la Srta Joselyn Vanesa Seminario Peña identificada con DNI 47668753 Egresada de la Universidad nacional Mayor de San Marcos – UNMSM – Lima, solicita a la jefatura de la RPNYC autorización para realizar investigación científica dentro del ANP por el periodo de un mes y con trámite gratuito.



CONSIDERANDO:

Que, a través del numeral 2 de la Segunda Disposición Complementaria Final del Decreto Legislativo N° 1013, Ley de Creación, Organización y Funciones del Ministerio del Ambiente, se crea el Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado – SERNANP como organismo técnico especializado del Ministerio del Ambiente, constituyéndose en el ente rector del Sistema Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado – SINANPE, y en su autoridad técnica normativa;

Que, el Decreto Supremo N° 002-2012-MNAM aprueba el Texto Único de Procedimientos Administrativos-TUPA del Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas-SERNANP, cuyo Procedimiento Administrativo N° 04, regula la autorización para realizar investigación científica en un Área Natural Protegida del SINANPE por el periodo de hasta un (1) año;

Que, de conformidad con el artículo 29° de la Ley N° 26834, Ley de Áreas Naturales Protegidas, el estado reconoce la importancia de las Áreas Naturales Protegidas para el desarrollo de la investigación científica básica y aplicada, la misma que sólo será autorizada si su desarrollo no afecta los objetivos primarios de conservación del Área Natural Protegida en el cual esta se lleve a cabo, y se respete la zonificación y condiciones establecidas en el Plan Maestro de esta última;

ANEXO 2. Imágenes de resultados.



Fig. 3.1. *Perezia pinnatifida* (Bonpl.) Wedd., en hábitat. Con hojas sésiles, arrosetadas y numerosas, láminas pinnatífidas, lanceoladas y liradas, hojas hasta 7cm de largo. Flores lilas-azuladas, rojizas y amarillas.



Fig. 3.2. Rizoma grueso erecto con raíces fasciculadas de *Perezia pinnatifida* (Bonpl.) Wedd., con un número promedio de 15 raíces por planta, con 6 a 25cm de longitud, con un diámetro de 18mm.

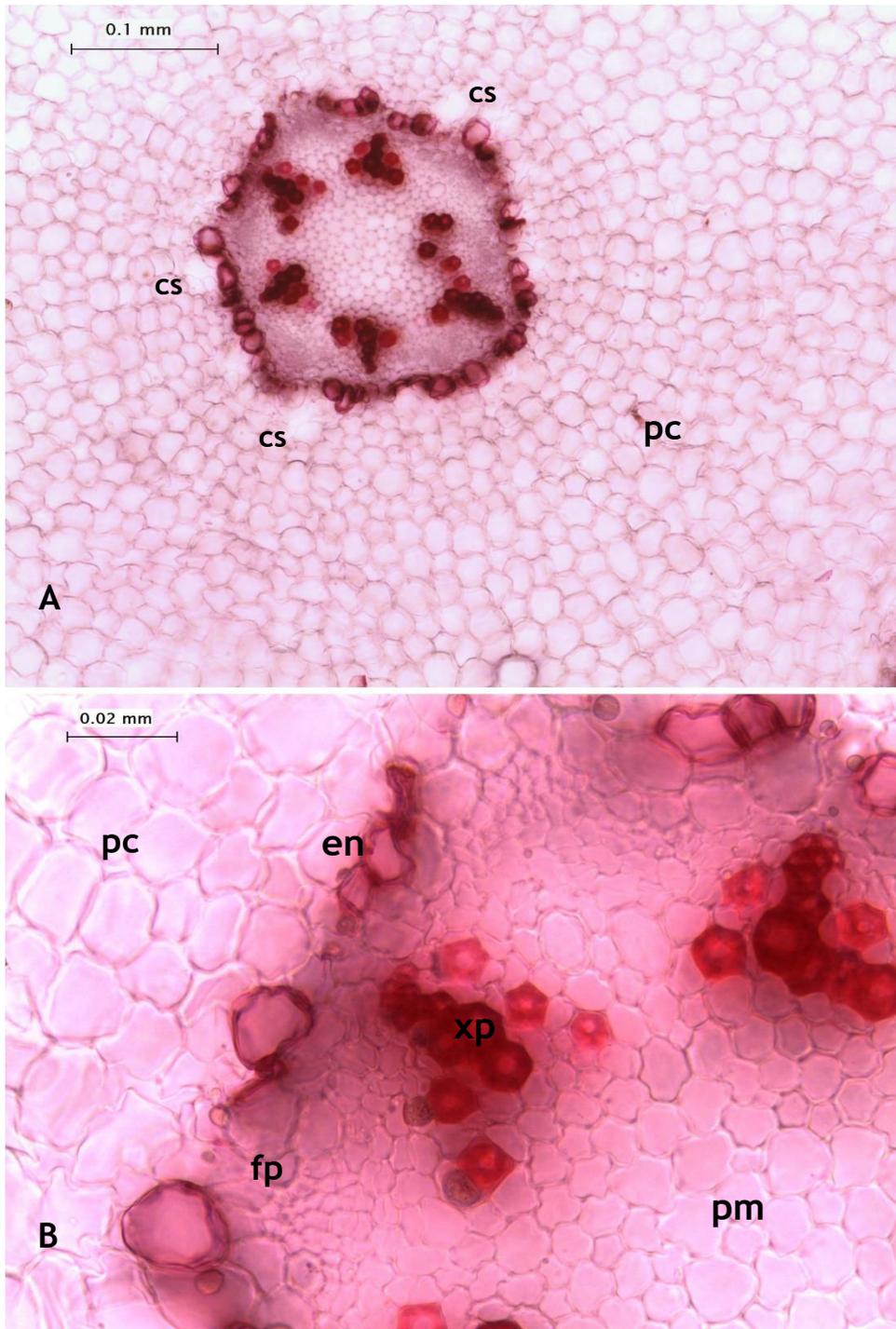


Fig. 3.3 A: Corte transversal de raíz primaria. Vista del cilindro vascular limitado por la endodermis con 6 polos xilemáticos y con cavidades secretoras (cs) en el parénquima cortical B: Detalle de los polos xilemáticos (xp: xilema primario, fp: floema primario, en: endodermis, pc: parénquima cortical, pm: parénquima medular)

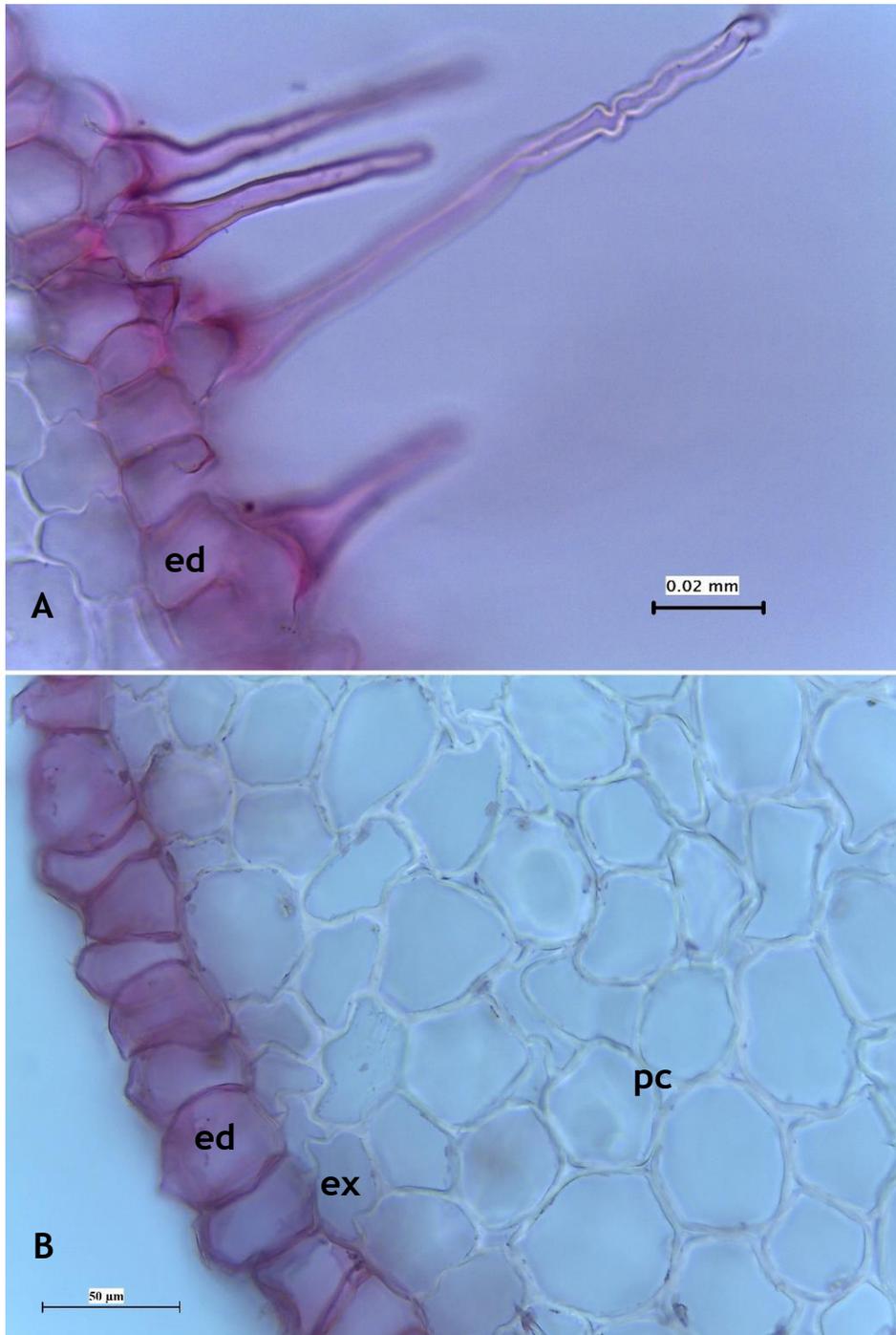


Fig. 3.4 A: La raíz primaria con epidermis (ed) delgada y pelos absorbentes, del tipo cónico simple unicelular. B: Epidermis (ed) delgada de la raíz primaria, seguido de la exodermis (ex) y el parénquima cortical (pc)

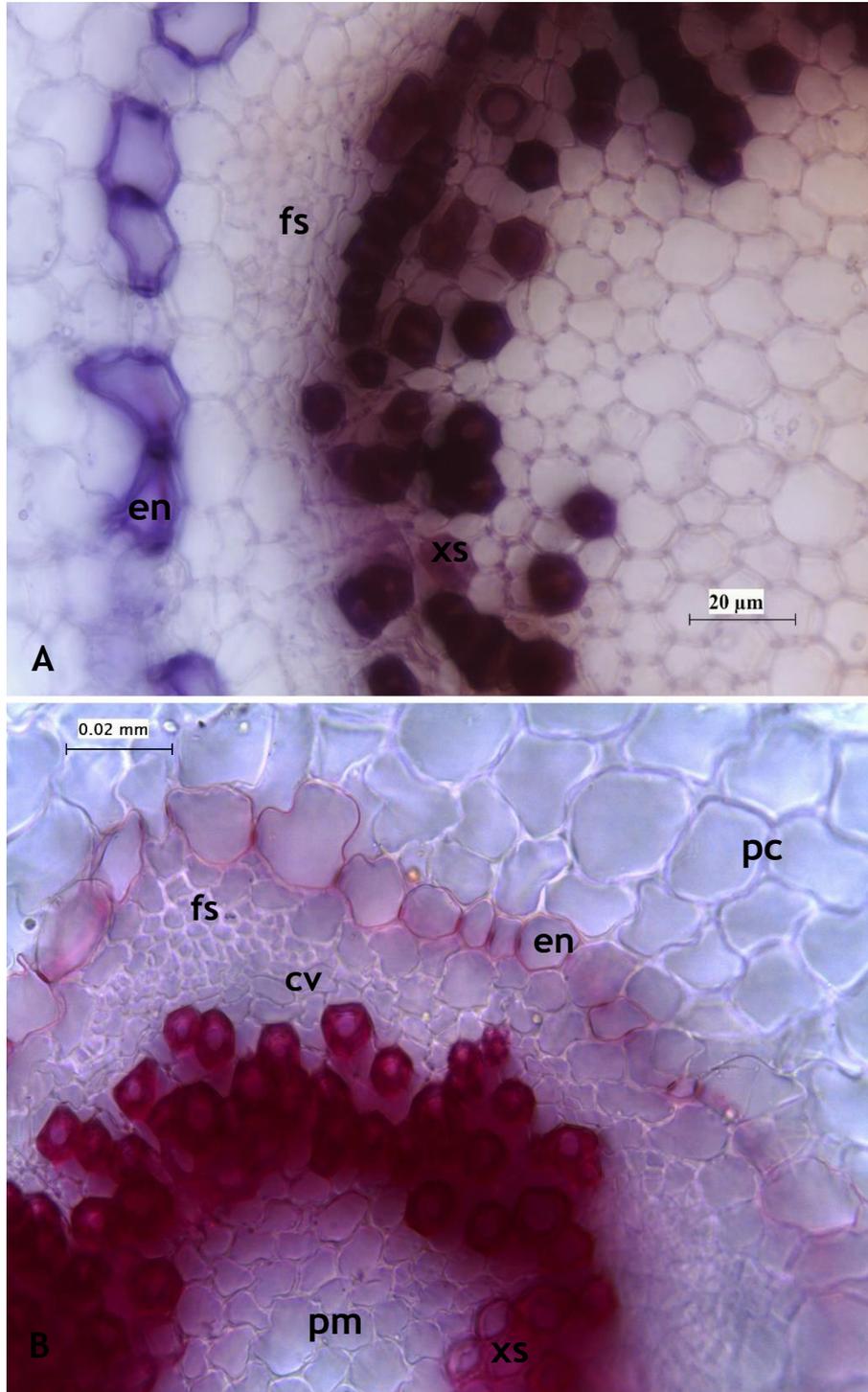


Fig. 3.5 A. Corte transversal de raíz secundaria de *Perezia pinnatifida* (Bonpl.) Wedd, endodermis teñida con cristal violeta. Floema secundario (fs) y xilema secundarios (xs) continuos, del tipo sinofostela ectofloica. B: Presencia de gotas de aceite cerca de la endodermis, cambium vascular (cv) entre el floema y xilema secundario. Parénquima cortical (pc), Parénquima medular (pm), endodermis (en).

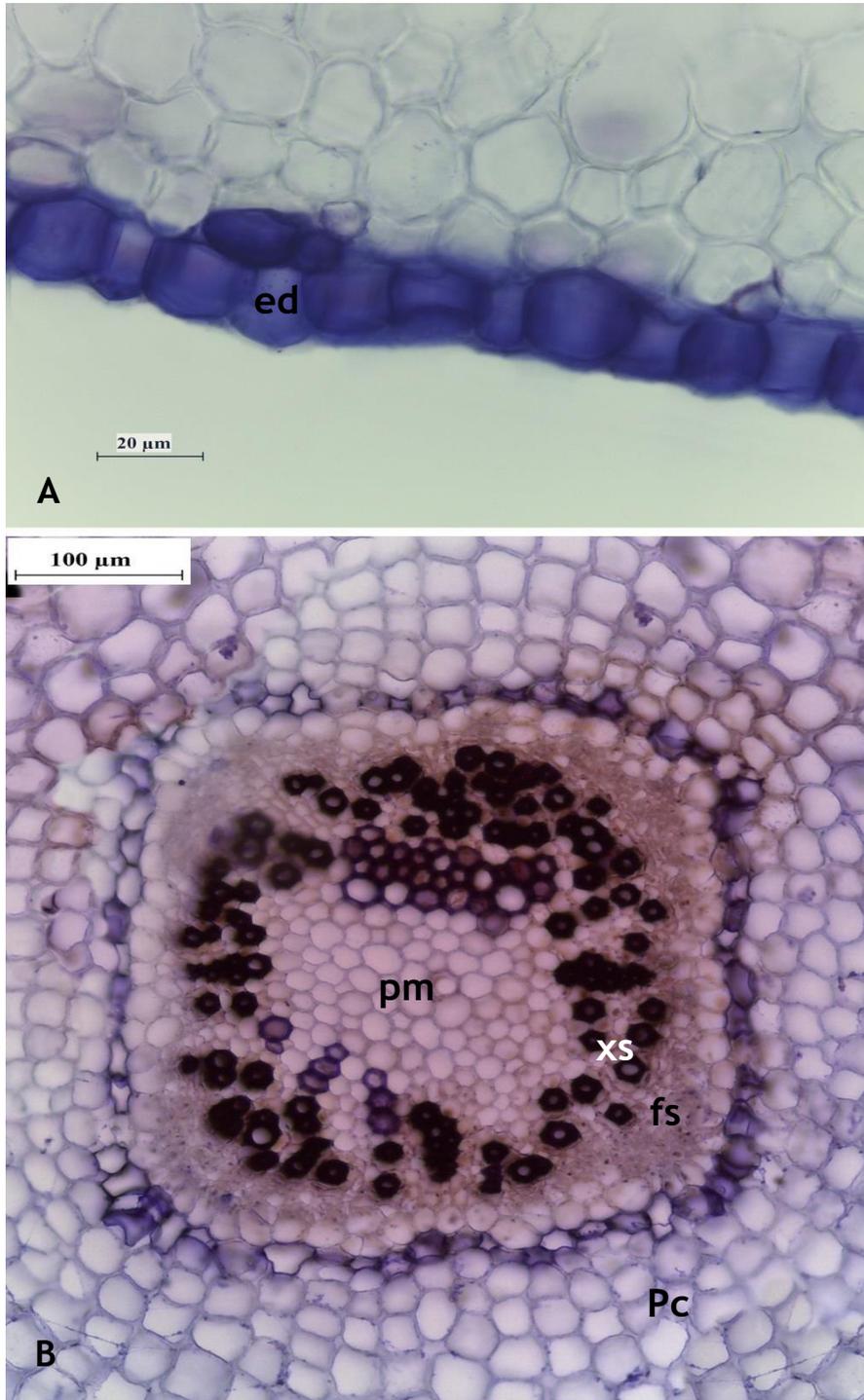


Fig. 3.6 A. Epidermis (ed) de raíz secundaria teñida con cristal violeta. B: Corte transversal de raíz secundaria de *Perezia pinnatifida* (Bonpl.) Wedd. Parénquima cortical (pc), Parénquima medular (pm), endodermis (en), floema secundario (fs) y xilema secundario (xs).

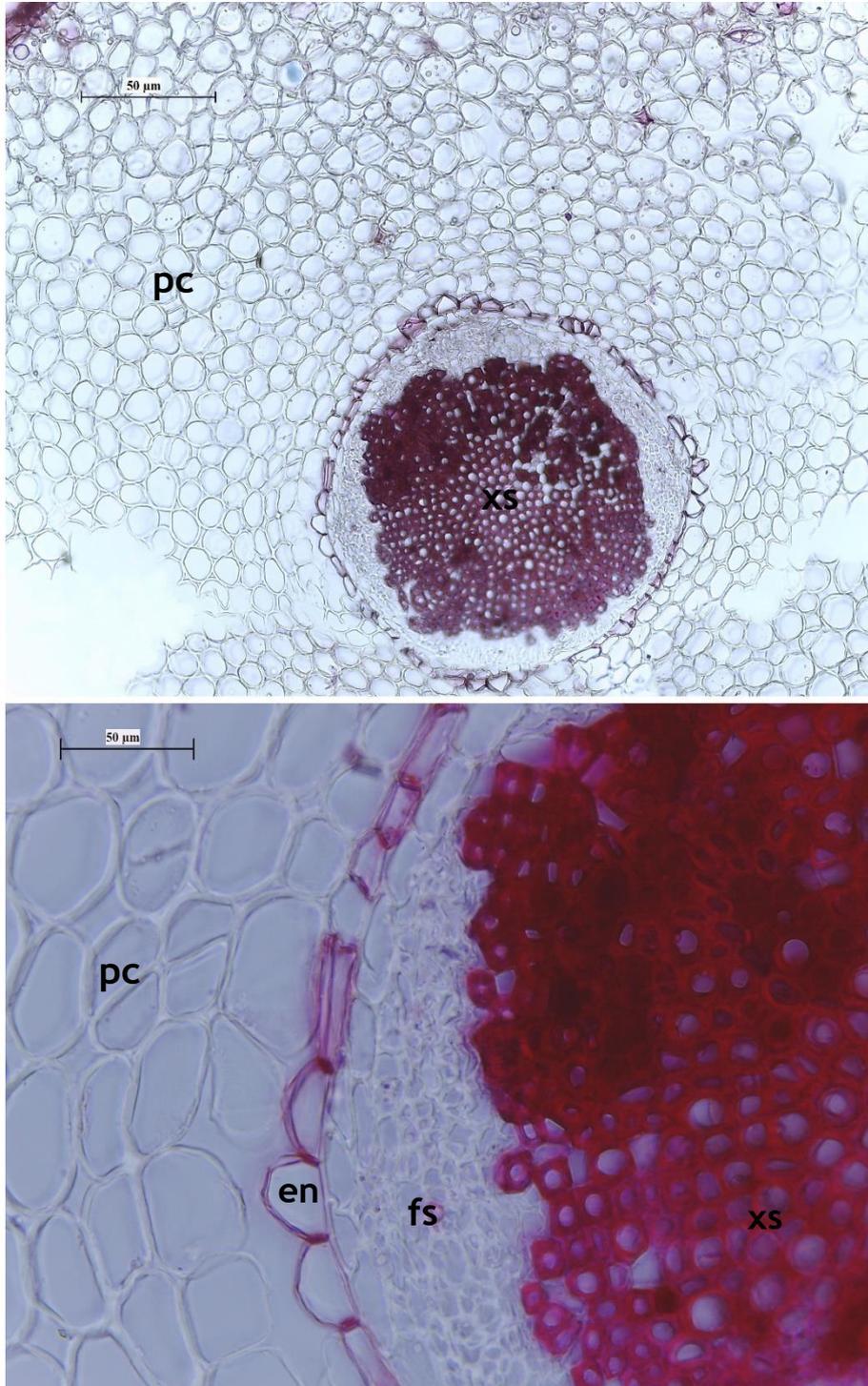


Fig. 3.7 Raíz secundaria temprana sin presencia de parénquima medular, también presenta el xilema secundario (xs) y el floema secundario (fs), del tipo protoestela. (Parénquima cortical: pc, endormis: en)

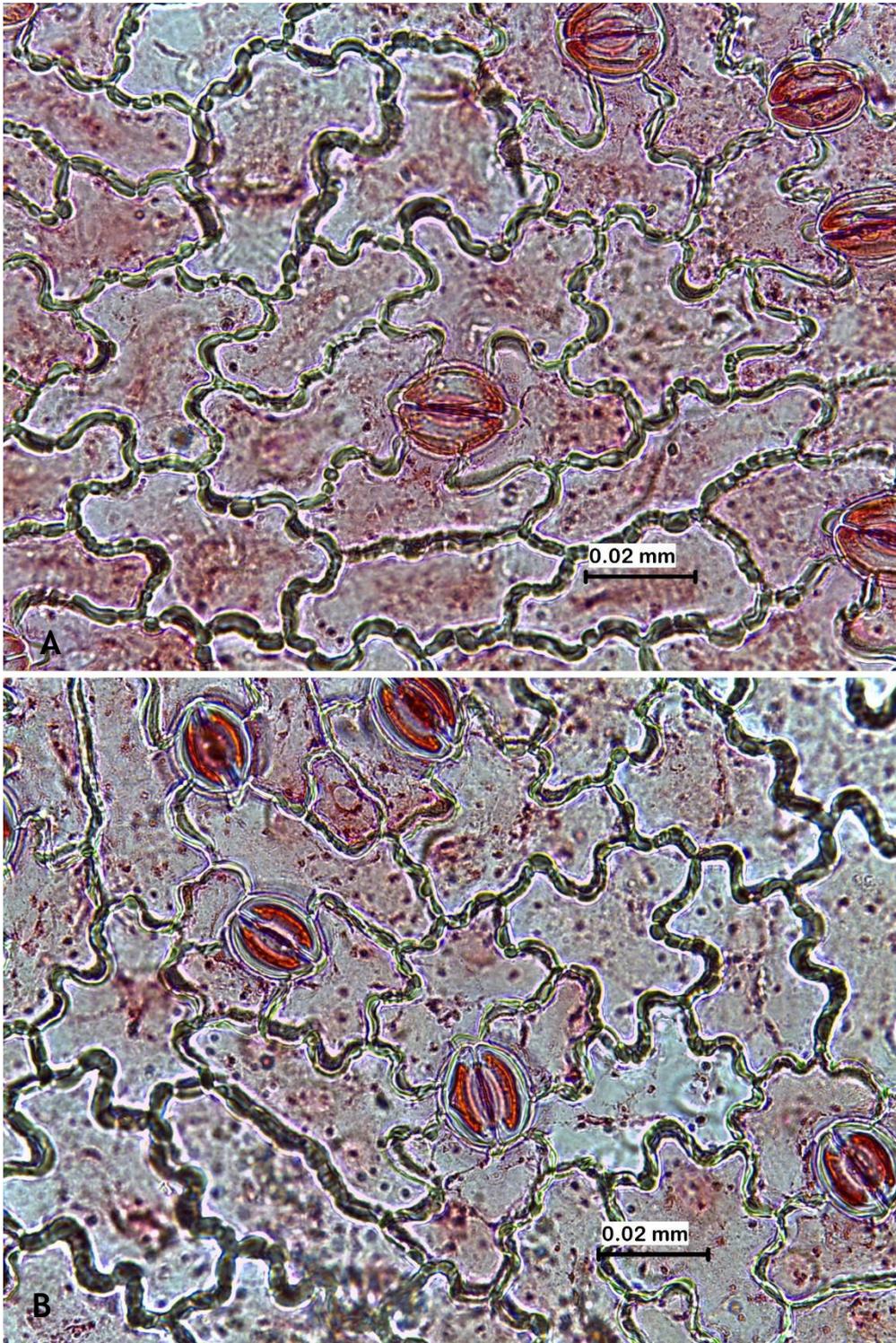


Fig. 3.8 Estomas rodeados de 4 a 5 células anexas, generalmente estomas anomocíticos en la epidermis adaxial (A) y abaxial (B)

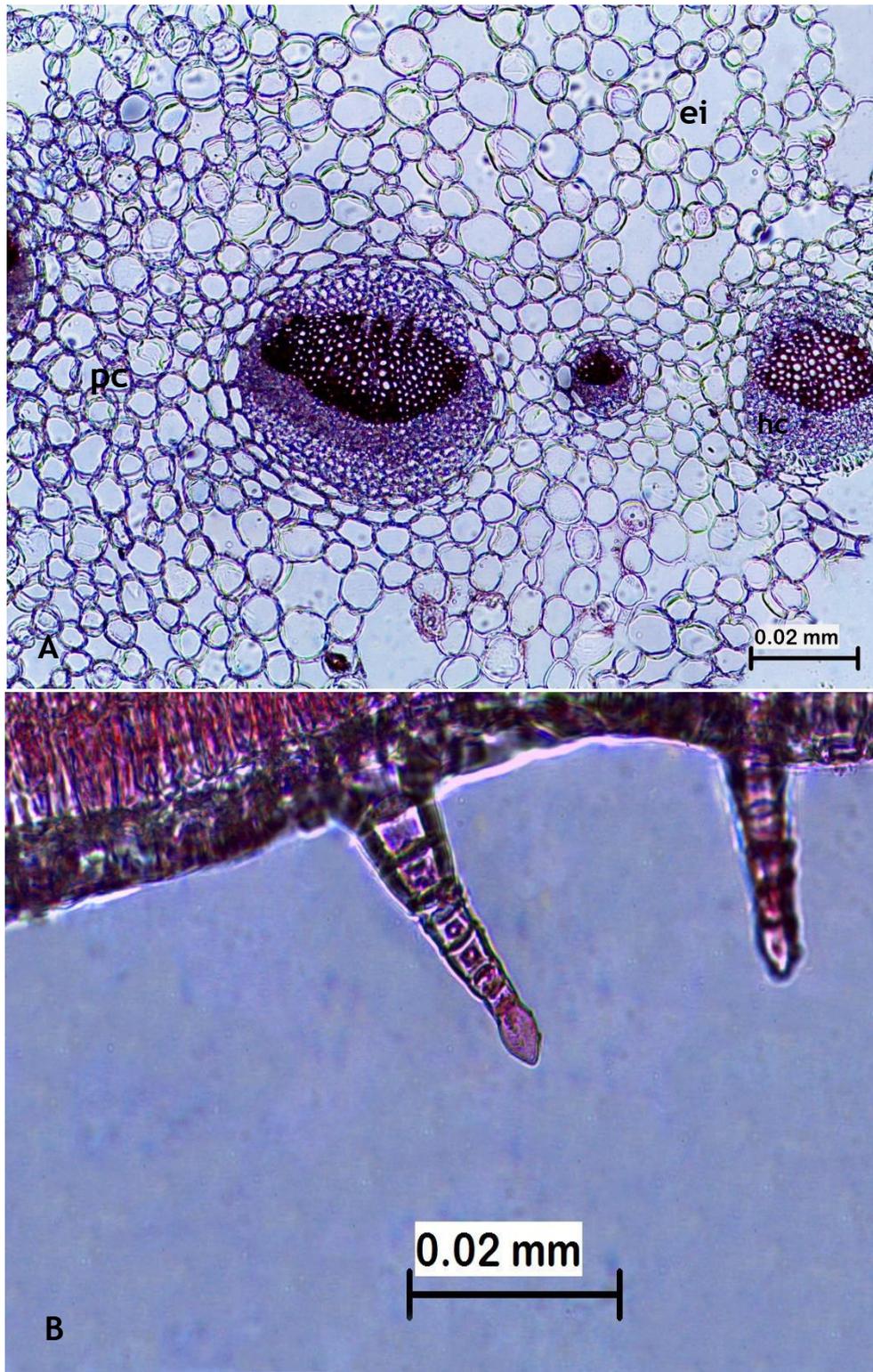


Fig. 3.9 A) Corte transversal de la hoja a nivel de la nervadura con epidermis monoestratificada, un parénquima cortical (pc) con células isodiamétricas haces conductores (hc) con presencia de espacios intercelulares (ei). B) Corte transversal de hoja con presencia de tricomas glandulares pluricelulares.

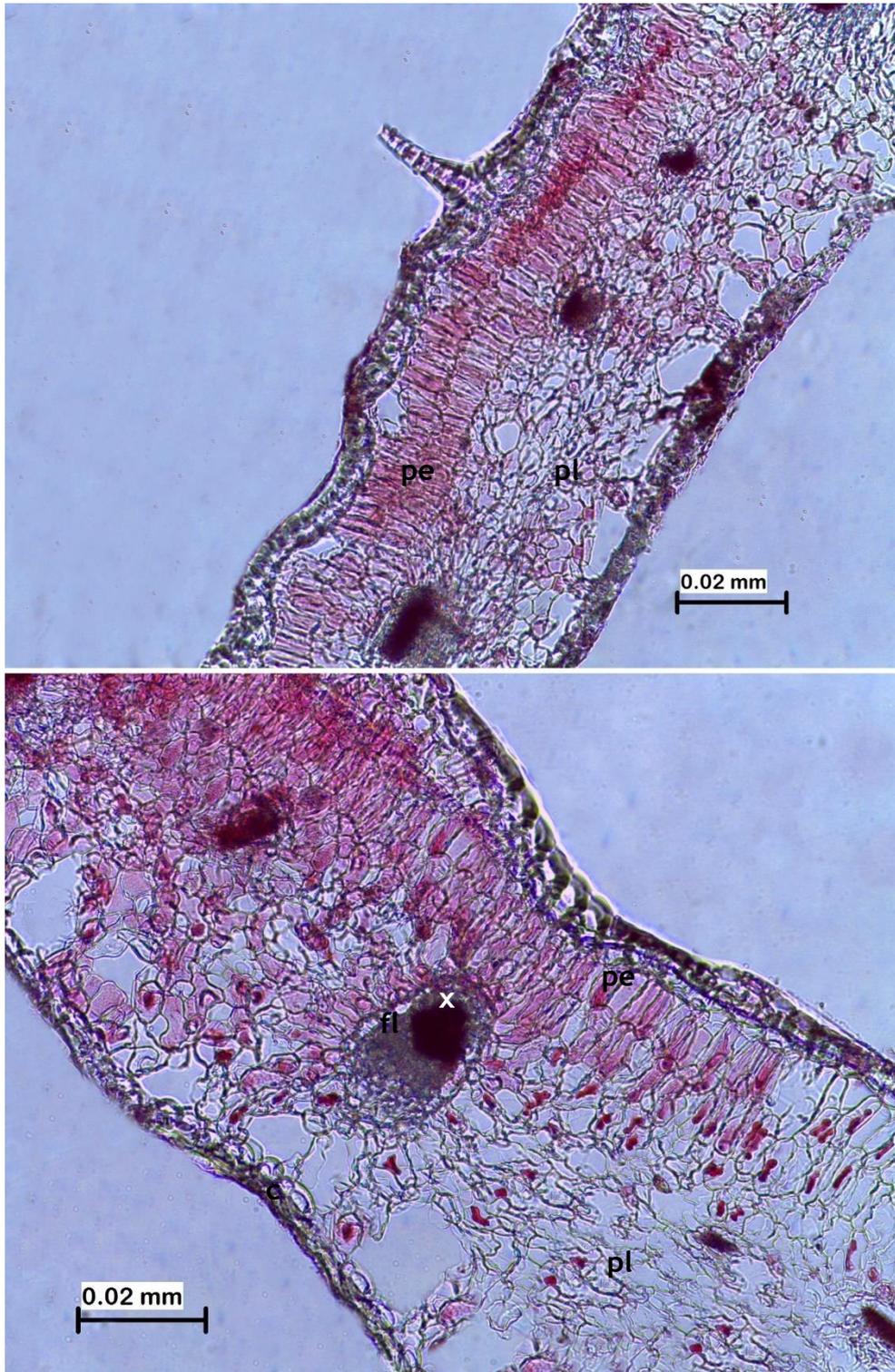


Fig. 3.10 Corte transversal de hoja con mesófilo dorsiventral, con parénquima empalizada (pe) hacia la cara adaxial y parénquima lagunar (pl) hacia la cara abaxial, con una vaina fascicular que rodea al xilema (x) y floema (f), se observa la cutícula (c).

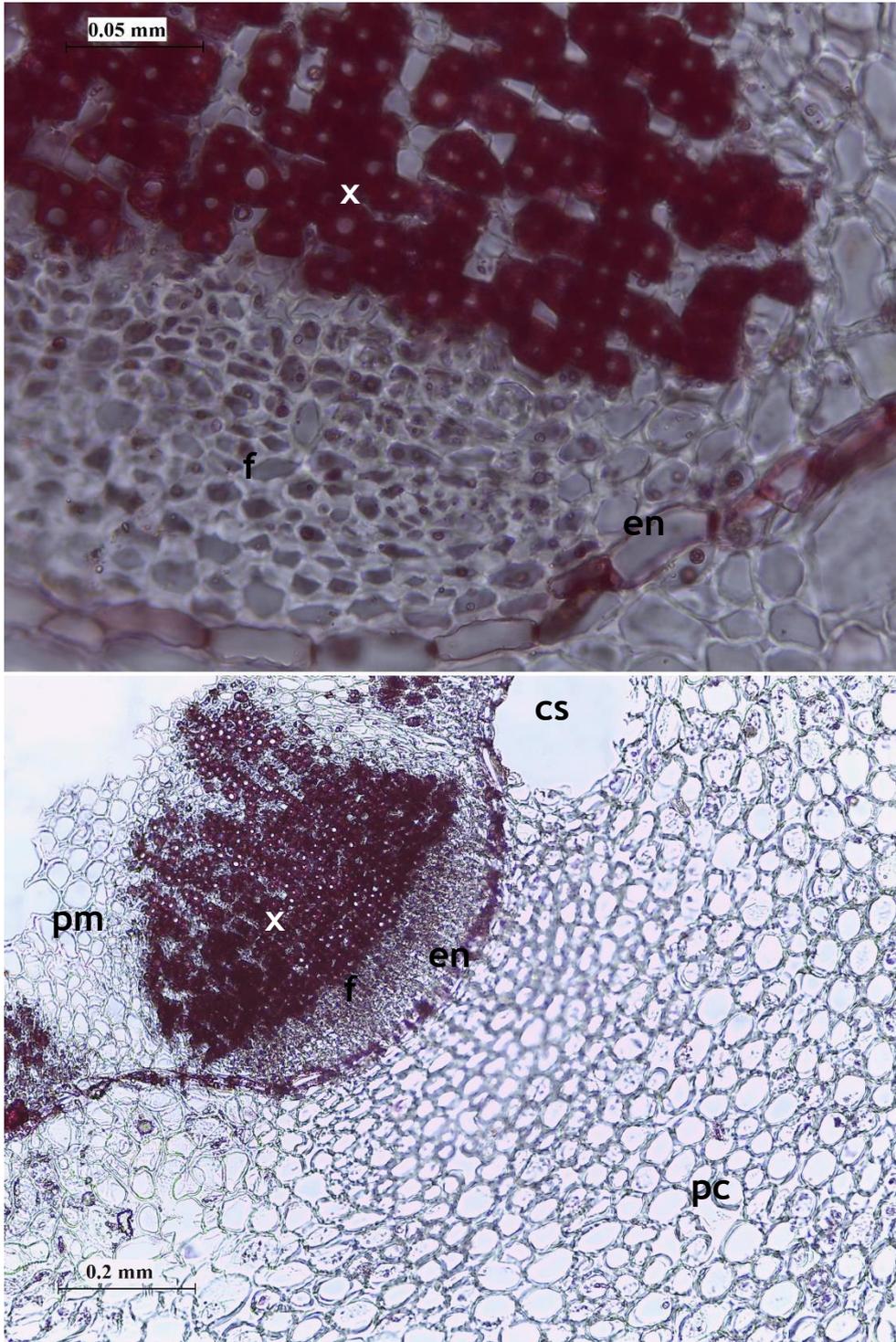


Fig. 3.11 Corte transversal de rizoma, f: floema, x: xilema, cs: canal secretor, pm: parénquima medular, pc: parénquima cortical, en: endodermis.

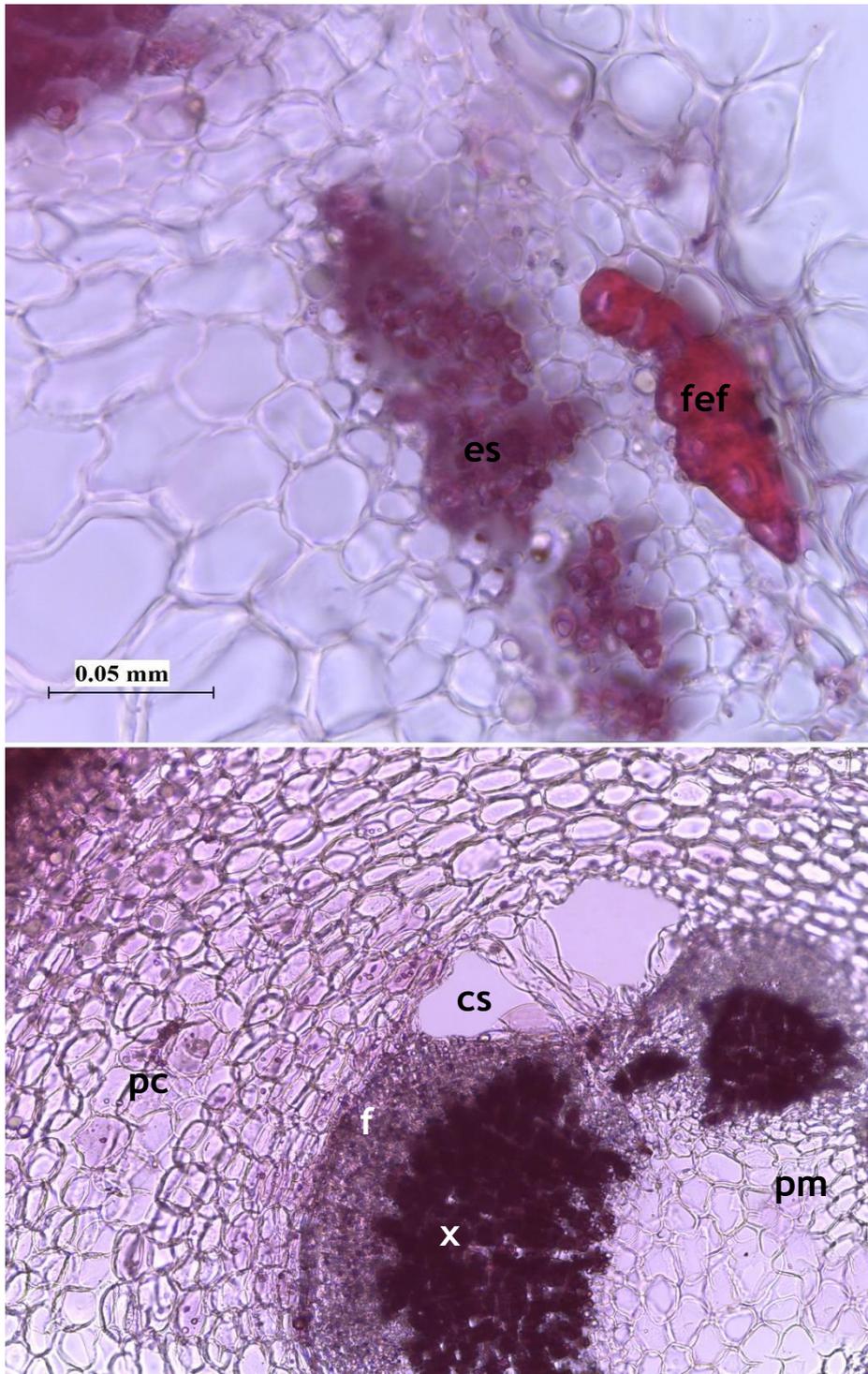
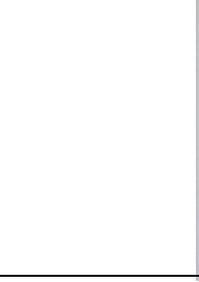


Fig. 3.12 Corte transversal de rizoma, fef: fibras extrafloemáticas, floema: f, xilema: x, cs: canal secretor, es: esclerénquima, pm: parénquima medular, pc; parénquima cortical

ANEXO 3. Tablas de Resultados.

Tabla 5. Tablas de Resultado del Tamizaje Fitoquímico:

Prueba	Metabolitos		Extracto de raíz	Extracto de rizoma	Extracto de hoja
					
Fehling A+B	Azúcares	Azúcares reductores			
Seliwanoff		Cetosas			
Barfoed		Monosacáridos			
		Disacáridos			

		Extracto de raíz	Extracto de rizoma	Extracto de hoja
Prueba	Metabolitos			
Millón	Proteínas			
Biuret	Proteínas			
Tricloruro Férrico	Compuestos Fenólicos			

		Extracto de raíz	Extracto de rizoma	Extracto de hoja
Prueba	Metabolitos			
Mayer	Alcaloides			
Wagner	Alcaloides			
Dragendorff	Alcaloides			

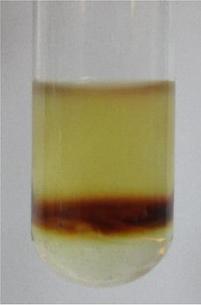
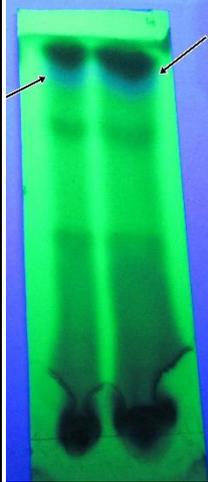
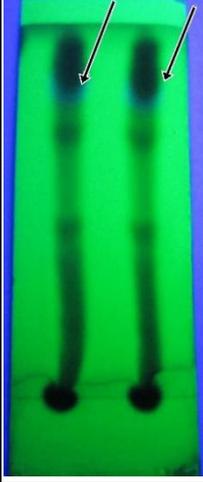
		Extracto de raíz	Extracto de rizoma	Extracto de hoja
Prueba	Metabolitos			
Shinoda	Flavonoides			
Saponinas	Afrosimétrica			
Molish	Glúcidos			

Tabla 6. Tablas de Resultado de Cromatografía en Capa Fina:

	Órgano de la planta	Detección	Color experimental	Valor de Rf 1	Valor de Rf 2
Metabolitos Secundarios	Rizoma	Pulverizado con reactivo Dragendorff	Naranja claro	0.96	0.96
					
	Hoja	Pulverizado con reactivo Dragendorff	Naranja marrón	0.95	0.97
					

Compuestos fenólicos	Órgano de la planta	Detección	Color experimental	Valor de Rf 1	Valor de Rf 1	Valor de Rf 2	Metabolitos Secundarios	Metabolitos Secundarios
	Hoja		Luz Uv-365nm	Fluorescencia celeste	0.95		0.86	
		Luz Uv-254nm	Fluorescencia celeste	0.95		0.86		Flavonoide
		Pulverizado con Tricloruro Férrico	Manchas verdes	0.96		0.95		Taninos catequicos

Compuestos fenólicos	Órgano de la planta	Detección	Color experimental	Valor de Rf 1	Valor de Rf 1	Valor de Rf 2	Valor de Rf 2	Metabolitos Secundarios
	Raíz	Pulverizado con Tricloruro Férrico	Manchas verdes	No se desplazó		No se desplazó		Taninos catequicos
	Rizoma	Pulverizado con Tricloruro Férrico	Manchas verdes	0.96		0.96		Taninos catequicos