

Dominguezia

Museo de Farmacobotánica
"Juan A. Domínguez"

Facultad de Farmacia y Bioquímica
Universidad de Buenos Aires



Moringa oleifera Lam. (Moringaceae)

Dominguezia

Vol. 34(1) - 2018

Director Responsable:

Dr. Marcelo Luis Wagner

Comisión Redactora:

Dr. Arnaldo L. Bandoni
Dr. Alberto A. Gurni
Dr. Marcelo L. Wagner

Comisión Científica Asesora:

Dr. Pastor Arenas (Instituto de Botánica Darwinion, Argentina)
Dr. Néstor Caffini (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)
Dra. María T. Camargo (Universidad de San Pablo, Brasil)
Dr. Rodolfo Campos (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. Salvador Cañigüeral Folcará (Universidad de Barcelona, España)
Dr. Eduardo Dellacassa Beltrame (Universidad de la República, Uruguay)
Dra. Martha Gattuso (Universidad Nacional de Rosario, Argentina)
Dr. Héctor Alejandro Keller (Universidad Nacional del Nordeste, Argentina)
Dr. José Luis López (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. José María Prieto-García (University of London, Gran Bretaña)
Dr. Lionel G. Robineau (Universidad de las Antillas y de la Guyana)
Dr. Carlos Taira (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. E. C. Villaamil (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Comisión Científica Honoraria:

Dr. Ramón A. de Torres (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. Marta Nájera (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)
Dr. Otmaro Rosés (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. María L. Tomaro (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. Etilé Spegazzini (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)

Editores Científicos:

Dr. José María Prieto-García
Dra. Catalina M. van Baren
Dr. Rafael A. Ricco
Dra. Graciela B. Bassols
Dra. Cecilia Dobrecky

Secretaría, Edición electrónica y Webmaster:

Fernando Gabriel Ranea

Edición financiada por la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires

Dominguezia se distribuye por canje con otras publicaciones dedicadas a temas afines.

This publication is sent to individuals or institutions by exchange with similar ones,
devoted to Pharmacobotany or related subjects.

Lámina de Tapa:
***Moringa oleífera* Lam. (Moringaceae)**

Lámina realizada por Pierre Jean-Francois Turpin
para la *Flore Medicale*, primera edición por Francois Pierre Chaumeton
(1814-1820)

Incluida en el Directorio de LATINDEX
por el Centro Argentino de Información Científica y Tecnológica (CAICYT - CONICET)
con el número de Folio 2787 Dominguezia,
y en CABI, LIS; UBL, Electronic Sites of Leading Botany, Plant Biology and Science Journals.
Providing links to the world's electronic journals.

Registro de la Propiedad Intelectual N.º 5353064.

Se terminó de editar en junio de 2018.

Índice de contenido

Un estudio transversal de <i>Moringa oleifera</i> Lam. (Moringaceae) - Revisión	5
Francisco José González Minero	
Análisis comparativo de las estructuras endomorfológicas de hojas verdes sin procesar y zapecadas de <i>Ilex paraguariensis</i> A. St. Hil. (Aquifoliaceae). Modificaciones cito-histológicas	27
Carlos G. Altamirano, Marta E. Yajía	
Caracterización química y cuantificación de fenoles totales en aceite de semillas de <i>Cucurbita</i> spp.	33
Gabriela M. Valenzuela, María Cecilia Giménez, Ariadna S. Soro	
Composición fitoquímica y nutricional de <i>Momordica charantia</i> y actividad antioxidante	39
Lorena V. Semeniuk, Alberto J. Bela, Carlos A. Vonka, Mara C. Romero, María B. Nuñez	
Efecto diurético de <i>Cuphea glutinosa</i> Cham. et Schldl (Lythraceae), en ratas Wistar	45
Romina B. Balmaceda, Francisco J. Cardinali, Mario A. Thevenon, María Elena Di Santo	
Análisis de polifenoles e iniciación de cultivos <i>in vitro</i> de <i>Ligaria cuneifolia</i> (R. et P.) Tiegh (Loranthaceae) de ejemplares provenientes de la localidad La Población, provincia de Córdoba, Argentina	53
María V. Ricco, Martín L. Bari, Rafael A. Ricco, Marcelo L. Wagner, María A. Álvarez	

Index

- A Transversal Study of *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) - Review** 5
Francisco José González Minero
- Comparative Analysis of Endomorphological Structures on Greens Leaves without Process and “Zapecadas” of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (Aquifoliaceae). Cito-histological Modifications** 27
Carlos G. Altamirano, Marta E. Yajía
- Chemical Characterization and Quantification of Total Phenols in *Cucurbita* spp. Seed Oil** 33
Gabriela M. Valenzuela, María Cecilia Giménez, Ariadna S. Soro
- Phytochemical and Nutritional Composition of *Momordica charantia* and Antioxidant Activity** .. 39
Lorena V. Semeniuk, Alberto J. Bela, Carlos A. Vonka, Mara C. Romero, María B. Nuñez
- Diuretic Effect of *Cuphea glutinosa* Cham. et Schldl (Lythraceae) in Wistar Rats** 45
Romina B. Balmaceda, Francisco J. Cardinali, Mario A. Thevenon, María Elena Di Santo
- Analysis of Polyphenols and Initiation of *in vitro* Cultures of *Ligaria cuneifolia* (Loranthaceae) from La Población, Córdoba, Argentina** 53
María V. Ricco, Martín L. Bari, Rafael A. Ricco, Marcelo L. Wagner, María A. Álvarez

Un estudio transversal de *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) Revisión

Francisco José González Minero

Departamento de Biología Vegetal y Ecología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/ S. Fernando, 4, C.P. 41004 - Sevilla, España.

Correspondencia: minero@us.es.

Resumen

La hoja de moringa era ya empleada en la medicina ayurvédica hace cientos de años y conocida por egipcios y romanos por su uso cosmético. *Moringa oleifera* es una de las 13 especies de único género que compone la familia Moringáceas. Originaria del norte de la India, Nepal y NO de Pakistán, actualmente está extendida por la franja intertropical de todo el mundo. Son árboles de hasta 12 m de altura, hojas varias veces pinnadas, flores en panículas, zigomorfas, pentámeras, bisexuales, fruto tipo cápsula y semillas oleaginosas con tres alas. Se cultiva para obtener forraje para el ganado y usos alimenticios (hojas, pericarpio del fruto y aceite de semillas). Los requerimientos del cultivo son poco exigentes en cuanto a suelos y cantidad de agua, siendo la temperatura el principal factor limitante. Sus hojas son muy ricas en proteínas, aminoácidos azufrados (metionina y cisteína) y lisina. Son también ricas en calcio y hierro. En las hojas aparecen una extensa variedad de antioxidantes (polifenoles, flavonoides, ácidos fenólicos) y glucosinolatos. El aceite de semilla contiene un alto contenido en ácido oleico (70 %), menos del 1 % de poliinsaturados y 6,7 % de ácido behénico. Estas propiedades hacen que diferentes partes de la planta se usen o potencialmente puedan usarse en: cosmética, industria farmacéutica, descontaminación de agua, producción de biodiesel, lucha biológica contra hongos y plagas agrícolas, alimentación animal y usos medicinales. En alimentación humana se emplea como suplemento alimentario para obtener proteínas de alto valor biológico o paliar déficits de calcio en poblaciones sometidas a infraalimentación. Sus usos medicinales son bien conocidos en sistemas médicos tradicionales, si bien no están avalados por ensayos de laboratorios y ensayos clínicos. En la actualidad se llevan a cabo cuantiosos experimentos científicos para evaluar la eficacia terapéutica de la planta y su posible toxicidad. Se demostró el poder hipoglucemiante e hipolipemiante. Además, en ensayos *in vitro* e *in vivo* se está poniendo de manifiesto su posible valor antitumoral. Se sugiere seguir ahondando en el estudio de todas sus posibilidades.

A Transversal Study of *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) Review

Abstract

The moringa leaf was already used hundreds of years ago in the Ayurveda medicine and it was known by Egyptian and Romans for its cosmetic use. *Moringa oleifera* is one of the 13 species of a unique genus composed by the Moringaceae family. Originated in the north of India, Nepal and Northwest of Pakistan, it is

Palabras clave: *Moringa oleifera* - etnobotánica - recursos naturales - suplemento alimenticio - medicina.

Key words: *Moringa oleifera* - ethnobotany - natural resources - nutritional supplement - medicine.

currently extended through the inter-tropical region around the globe. These trees may grow up to 12 meters high with pinnate leaves, paniced flowers, zygomorphic, pentamerous, bisexual, capsuled shaped fruit and three-winged oleaginous seeds. *Moringa oleifera* is cultivated in order to obtain cattle feed and foodstuff use (leaves, fruit's pericarp and oil from the seeds). The cultivation requirements are somehow demanding in terms of soil and water amounts, being temperature the main limiting factor. Its leaves are high in protein, Sulphur amino acids (Met + Cys) and Lysine. *Moringa oleifera* leaves are also very rich in calcium and iron. On its leaves there is an extended antioxidant variety (polyphenols, flavonoids, phenolic acids) and glucosinolates. Its seed's oil contains a high amount of oleic acid (70 %), less than 1 % of polyunsaturated and 6.7 % of behenic acid. These properties make the plant being used or potentially used as: cosmetics, in the pharmaceutical industry, water depollution, biodiesel production, biological component against fungi and agricultural plagues, animal feed, and medicinal use. For human feed it is used as an alimentary supplement in order to obtain complete proteins or to palliate calcium deficit in underfeeding populations. Its medical use is well-known on traditional medical systems, although these uses are not certificated by any laboratory or clinical research. Nowadays, many scientific experiments are taking place in order to quantify the therapeutic efficiency of this plant and its possible toxicity. The *Moringa* plant possesses a contrasted hypoglycemic and lipid lowering powers. *In vitro* and *In vivo* the plant is reflecting possible antitumor properties. It is suggested further research in order to discover all of its possibilities.

Introducción

“Die schwerste sache zu sehen ist, was du vor deiner augen hest” (“Lo más difícil de ver es aquello que tenemos delante de nuestros ojos”). Esta frase atribuida al escritor alemán Goethe no sólo es el principio del trabajo, sino que podría ser perfectamente su final. La génesis de este trabajo comienza cuando se solicitó a este laboratorio asesoramiento desde el ámbito farmacéutico sobre las propiedades y usos de *Moringa oleifera*, cuyo cultivo se estaba iniciando de manera piloto en el sur de España. Entendemos por moringa a *Moringa oleifera* Lam. (Morinagaceae).

Moringa oleifera es muy conocida en su área de distribución y ha sido objeto de numerosos estudios. Seguidamente se realizaron consultas en manuales de botánica (Heywood, 1985; Takhtajan, 2009) y bases de datos. Esta búsqueda resultó en una gran sorpresa, no tanto por la abundante bibliografía que aparecía, sino por las numerosas propiedades de la planta. Por ejemplo: se ha estudiado el mejoramiento de las hamburguesas de ternera con el añadido del extracto de *M. oleifera* (Al-Juhaimi y col., 2016). Otra de sus últimas y más llamativas propiedades es la protección contra la infertilidad en ratones sometidos a las ondas electromagnéticas de los teléfonos móviles (BinMeferij y ElKott, 2015).

Desde hace pocas décadas se establece cada vez más la integración interdisciplinaria de la física, química y biología, por lo que es posible estudiar con más profundidad (y en algunos casos redescubrir) las propiedades de las plantas (Rai y col., 2013). La relación de propiedades nutraceuticas, farmacéuticas e industriales de *M. oleifera* no deja de aumentar (Leone y col., 2015). Esto es consecuencia del uso del microscopio electrónico (Ndong y cols, 2007), de la aplicación de técnicas como la cromatografía y espectrometría (HPLC, CG-MS, FTIR, LIBS) (Shanker y col., 2007; Colombini y col., 2009; Sánchez-Machado y col., 2010; Rai y col., 2013) y el empleo de extractos de la planta en ensayos *in vitro* y animales (Mishra y col., 2011) y en pacientes (Agrawal y Mehta, 2008; Kasolo y col., 2010).

Los antecedentes de este tema son cuantiosos. Botánicos (Olson y Fahey, 2011), etnobotánicos (Pandey y col., 2011; Sarkhel, 2014), aplicados en agricultura (García Torres y col., 2009; Martín y col., 2013), nutrición (Makkar y Becker, 1996), farmacia (Hussain y col., 2014; Razis y col., 2014), industria (Kleiman y col., 2008) y medio ambiente (Choy y col., 2014). También comienzan a aparecer revisiones (Hussain y col., 2014; Nouman y col., 2014; Giacoppo y col., 2015; Leone y col., 2015).

Los trabajos escritos en español provienen de diversos países de América: México (Martín y col., 2013; Melo y col., 2013), Costa Rica (Folkard y Sutherland, 1996), Guatemala (Alfaro Martínez 2008), Cuba (Pérez y col., 2010; Bonald Ruiz y col., 2012), Colombia (Castro Márquez y Ruíz Suárez, 2014; Villareal Gómez y Ortega Angulo, 2014), Venezuela (Mendoza y col., 2000) y Argentina (Falasca y Bernabé, 2008). Estos últimos inciden sobre todo en los usos de la planta como forraje, suplemento nutricional, fuentes de biodiésel o purificador de aguas. Recientemente se han realizado estudios sobre la posibilidad de cultivar *M. oleifera* en España (Arias Sabin, 2014).

Todo parece indicar que estamos ante una revaloración de *M. oleifera*. Los concedores y consumidores de *M. oleifera* la denominan de muchas formas, todas ellas afectuosas: árbol de la vida, árbol multiusos, planta milagro, entre otros. Estos hechos comienzan a ser tenidos en cuenta en países occidentales. Sin embargo, inevitablemente surge el escepticismo como con todas las plantas panacea.

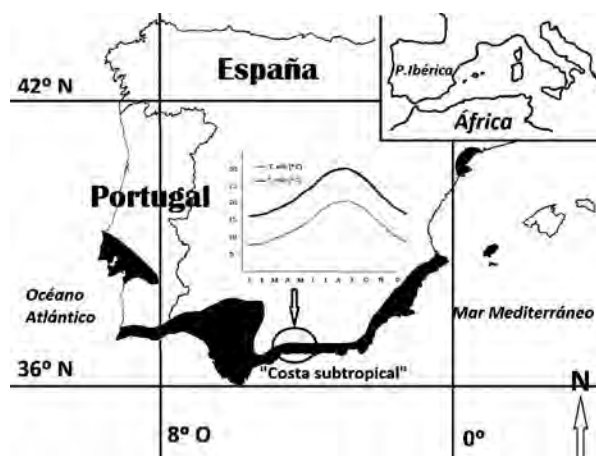
Por todo lo anterior, se presenta este estudio de recopilación de diversos aspectos de *M. oleifera* que parte y se fundamenta en el campo científico de la botánica, pero por tratarse de un equipo de farmacéuticos, nos permite abordar aspectos de otras áreas como la química de productos naturales, nutrición, propiedades medicinales, agricultura y medio ambiente.

Los objetivos son múltiples: elaborar una revisión botánica extensa de *Moringa oleifera*. Conocer las principales pautas de cultivo y explotación. Recoger algunos aspectos de su fitoquímica. Establecer una relación genérica de sus propiedades como, por ejemplo, industriales, ecológicas, nutricionales y medicinales. Todo ello, con la finalidad de poder potenciar más, si cabe aún, el carácter de actualidad y repercusión de esta materia.

Material y métodos

Por una parte se han visitado las parcelas de cultivo de *Moringa oleifera* en Cártama (Málaga) 36°.7339 N, 4°.6679 O y recopilado información y material *in situ*. La localidad se encuentra en la llamada costa subtropical, en donde por sus condiciones microclimáticas se cultivan desde hace años mango, aguacate (*Persea americana*) y chirimoyo (Olalla Mercadé, 2012). (Figura 1).

Figura 1.- Cultivo potencial en la península Ibérica de *Moringa oleifera*



Localización geográfica de cultivos (círculo) y temperaturas máximas y mínimas de la zona. Elaboración propia a partir de datos de Godino y col. (2013) y <http://es.climate-data.org/location/56983/> (en línea).

Por otro lado se realizó una búsqueda bibliográfica con el consiguiente análisis y filtrado de la información acerca de las características de *M. oleifera*: Para ello se han utilizado bases de datos científicos: Scopus-ScientDirect, WOS y Google Scholar. Se han introducido las palabras clave moringa y *M. oleifera* limitando el periodo de búsqueda a (2011-2015). Aparecieron 1843 artículos relacionados. Por ello se acotó el muestreo con la palabra *review*, apareciendo 92 artículos. Además de estas referencias también se contó con trabajos de años anteriores que fueron considerados, sobre todo referencias botánicas clásicas más antiguas.

Resultados y discusión

Revisión botánica

Ubicación taxonómica de *Moringa oleifera*

Moringa oleifera pertenece a la familia Moringaceae. Clado de las Málvidas. Cronquist (1988) sitúa a esta familia en el orden Caparales (junto Capparaceae, Cruciferae y Resedaceae). Takhtajan (2009) la incluye como única familia en el orden Moringales

(relacionado con Caricales y Caparales). Según el criterio de Bremer y col. (2009) -APGIII- Moringaceae pasa al orden Brassicales (mucho más extenso que lo anteriores, que quedan suprimidos, y en el que están todas las familias citadas).

Familia Moringaceae

Árboles, arbustos y hierbas. Tallos caducifolios, robustos y altos, tuberosos cuando jóvenes y frecuentemente también en edad adulta. Corteza y médula con canales gumíferos. Hojas alternas, 1 - 3 (4) veces imparipinnadas, glabras o puberulentas; foliolos opuestos caedizos. Sin estípulas, con glándulas rodeando la base del peciolo y foliolos. Flores dispuestas en panículas axilares, actinomorfas o zigomorfas, con o sin hipanto, bisexuales, blancas, amarillas o rojas, Cinco sépalos, a menudo reflexos en anthesis. Cinco pétalos iguales o distintos, a menudo reflexos. Cinco estambres y cinco estaminodios. Gineceo: ovario súpero uniloculado, primordios seminales numerosos; 1 estilo; estigma diminuto. Fruto en cápsula, con 3 - 12 costillas, a veces con un pico alargado; 3 valvas, dehiscente. Numerosas semillas con 3 alas o sin ellas, sin endospermo. Nativa del noroeste de la India, Pakistán, Cuerno de África, Madagascar.

Fuentes bibliográficas: (Heywood, 1985; Lu y Olson, 2001; Takhtajan, 2009; Olson, 2002).

Un único género, *Moringa*, con 13 especies que pueden agrupar en cuatro secciones (Olson, 2002). Los grupos establecidos por este autor se basan por un lado en el análisis de similitudes de fragmentos de DNA y por otro en caracteres morfológicos asociados a la forma de vida y área de distribución.

Árboles botella: con troncos gruesos con forma similar al baobab y flores con simetría radial. SO África, Madagascar. *M. ovalifolia*, *M. drouhardii*, *M. stenopetala* y *M. hiidebrandtii*.

Árboles rectos: donde predominan las fibras en el xilema, haciendo que sean las más resistentes del género. India, Pakistán, Arabia. Flores con simetría bilateral. *M. oleifera*, *M. cocanensis* y *M. peregrina*.

Árboles con copa en forma de raíz: Muy resistentes a la sequía. NE África. *M. arborea* y *M. ruspoliana*.

Arbustos tuberosos. Cuerno de África. *M. borziana*, *M. longituba*, *M. pygmaea* y *M. rivaie*.

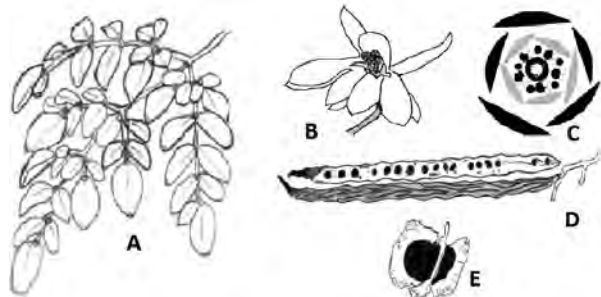
Moringa oleifera Lam.

Sinónimos: *Guilandina moringa* L., *Hyperanthera moringa* (L.) Vahl., *Moringa zeylanica* Burmann. No legítimo *Moringa pterygosperma* Gaertn. (dado que el nombre de Lamarck es más antiguo que el de Gaertner de 1791).

Árboles de hasta 12 m de altura. Perennifolios-caducifolios en zonas áridas. Entomófilos. Raíces gruesas y profundas, axonomórficas. Cambium suberógeno secretor de gomas, blanco, con células mirosínicas, glicosinatos e isotiocianatos. Tallos poco ramificados, corteza, lisa o rugosa; xilema con tráqueas cúbicas o romboidales, con perforaciones lenticuliformes, a veces diminutas; fibras del xilema cilíndricas o fusiformes, generalmente asimétricas; floema con plastos tipo S. Hojas de 25 - 60 cm, compuestas tripinnadas, pecioladas, alternas, con 4 - 6 pares de foliolos opuestos (Figura 2), con pelos glandulares en la base del peciolo; foliolos 1 - 2 cm, débilmente peciolados, enteros, ovados, elípticos u oblongos, 1 - 2 x 0,5 - 2 cm, puberulentos cuando jóvenes, de adultos glabros. Inflorescencias de 10 - 30 cm en panícula axilar. Flores zigomorfas, hermafroditas, pentámeras, heteroclamídeas, pecioladas, bracteadas, blancas o color crema. Cáliz gamosépalo, con 5 sépalos insertos en un hipanto, imbricados, desiguales, erectos los dos superiores, reflexos el resto; sépalos 0,7 - 1,4 mm, lanceolados, puberulentos. Corola dialipétala, con 5 pétalos desiguales, el superior de mayor tamaño, recto y el resto reflexos; pétalos 1 - 2 cm (Figura 2), espatulados, glabros, puberulentos. Androceo diplostémono, inserto en los bordes del hipanto. Con 5 estaminodios externos alternipétalos y 5 estambre internos opositipétalos; filamentos libres, pilosos en la base; anteras monotecas y bisporangiadas, libres, dorsifijas y con dehiscencia longitudinal. Polen de formación simultánea, P/E: 101, tricolpado, oblato-esferoidal, subsilado, con colpos agudos en los extremos y sexina más delgada que la nexina. Gineceo con 3 carpelos, paracárpico, piloso, ovario súpero, unilocular inserto sobre un pequeño ginóforo, placentación parietal; rudimentos seminales anatropos, numerosos; gametofito femenino tipo *Polygonum*; endospermo con desarrollo nuclear; estilo simple, estigma truncado y perforado en el centro. Fruto de 20 - 50 x 1 - 3 cm alargado, cápsula dehiscente por tres valvas, toruloso. Semillas generalmente numerosas de 8 - 15 mm de diámetro, subglobosas,

de sección triangular (Figura 2), con alas; embrión recto con 2 (3) cotiledones. $2n = 28$. Fl: I - XII. Fr: VI - XII (en condiciones óptimas).

Figura 2.- *Moringa oleifera*



A: hoja. B: Flor. C: Diagrama floral. D: Fruto. E: Semilla. Dibujos de elaboración propia. Excepto diagrama floral (con permiso de Ronse Decraene y col., 1998).

Origen: nativa de norte de la India, Nepal y NO de Pakistán. Introducida: franja Pantropical de todo el mundo. Nombres comunes: español (ben, árbol del bien, morango, moringa); francés (bèn alié, benzo-live, moringa); inglés (drumstick, horse radish tree, mother's best friend, West Indian ben) (*Treesforlife* y *The Plant List*, en línea).

Fuentes bibliográficas: Puri (1934); Ronse Decraene y col. (1998); Olson y Carlquist (2001); Lu Olson (2001); Perveen y Qaiser (2009); Panchal y col. (2011); Pandey y col. (2011); Silva y col. (2011); Muhl y col. (2013).

Antecedentes históricos de la planta

Para interpretar mejor la historia de *Moringa oleifera* se recurrió a escritos históricos, datos arqueológicos y métodos analíticos de diagnóstico. Como se ha reseñado, *M. oleifera* procede de la franja norte de la India (Figura 3), y es materia prima de prácticas médicas milenarias como Ayurveda, Sidha, Unani y también en homeopatía (Panchal y col., 2011). En el sánscrito antiguo (siglo I a. C.) ya recibe el nombre de "sajna" (Morton, 1991; Panchal y col., 2011). Según los marcadores moleculares AFLP y RADP, el cultivo de *M. oleifera* dio un salto desde el sur del continente indio hacia Madagascar y el cuerno de África (Muluvi y col., 1999) (Figura 3).

Actualmente se constató que el aceite de *M. oleifera* es un componente principal del *unguetarium* importado por los griegos y romanos desde la actual Somalia y Eritrea, para cosmética y otros usos (según hallazgo arqueológico reciente). Colombini y col. (2009) demostraron a través de análisis de espectroscopía IR-FT que el componente principal del aceite de este *unguetarium* es aceite de *M. oleifera*.

Antes, en el Antiguo Egipto (Ramsés IX, h. 1100 a. C.), *M. oleifera* se consideró como un producto exótico, de lujo que se regalaba a los reyes para incluirlo en sus tesoros que debían llevar en las vasijas de las tumbas funerarias para la otra vida. Abundando en este punto, Manniche (2009) recoge la composición de un aceite corporal de la época egipcia (usado también en la momificación) a base de *Sesamum*

Figura 3.- Mapa ilustrativo sobre la historia de *Moringa oleifera*



indicum L. (Pedaliaceae), *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae), *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile (Zygophyllaceae), *Moringa oleifera* y *Olea europea* L. (Oleaceae).

No es hasta finales de siglo XVIII cuando se vuelve a tener noticias fehacientes sobre *M. oleifera*. Pacheco (2006) relata los envíos por parte del botánico real Juan de Cuéllar, de cajones con *M. oleifera* desde Manila (Filipinas) a Méjico a través de la Nao de Acapulco. Según Gondino y col. (2013), *M. oleifera* llegó a la península ibérica y fue nombrada en un fragmento anónimo del Jardín Botánico de Madrid en 1746 (si bien no se han podido encontrar las fuentes originales). En el siglo XIX se acelera su introducción en África y el Caribe por mediación de ingleses y franceses, señalándose su cultivo en Jamaica en 1784 (Morton, 1991).

Durante gran parte del siglo XX *M. oleifera* ha sido conocida en Europa y Norte América por la buena calidad de su aceite como lubricante industrial, ignorándose sus propiedades alimenticias y curativas (Ramachandran y col., 1980). En 1921 aparece una descripción breve que realizó el botánico británico R. S. Troup sobre Moringáceas en la India (Troup, 1921), años más tarde se publica el análisis sobre la composición en ácidos grasos de las semillas (Jamiesson, 1939). En 1946 apareció en *Nature* el hallazgo y aislamiento de las raíces de una molécula de carácter antimicrobiano, la pterygospermina, que se disociaba en otras dos de isotiocianato bencílico (Raghunandana y col., 1946).

Finalmente, resulta importante resaltar las directrices de la FAO (en línea) y de diversas organizaciones y asociaciones mundiales dedicadas a la lucha contra el hambre. ONGs como *Treesforlife* (Kansas) (en línea) o la española *Cultivant vida* (en línea) recomiendan el uso de *Moringa oleifera* como suplemento alimenticio y producción de alimentos nutricionalmente mejorados en aquellas zonas del mundo acuciadas por la pobreza y la infraalimentación (Alfaro y Martínez, 2008; Martín y col., 2013).

Algunas consideraciones agronómicas

Moringa oleifera se ha extendido desde su zona natural (donde se puede encontrar en estado silvestre) como planta cultivada a lo largo de la franja tropical de 0-25° de todo el mundo (en ambos hemisferios),

tanto hacia el Pacífico como hacia África y América. A esta latitud podemos encontrar climas tropicales lluviosos, tropicales de sabana y tropicales áridos. Si bien *M. oleifera* es un árbol de alta plasticidad biológica, por lo tanto, el área de cultivo puede extenderse fuera de sus límites naturales y adaptarse a situaciones climatográficas diferentes como, por ejemplo, ecuatorial o tropical húmedo (Af), tropical seco o sabana (Aw), tropical monzónico (Am) (Strahler y Strahler, 1989). En el climatograma de Lahore (Pakistán), en la región de origen de la planta, se observa un periodo de lluvias abundantes de julio a septiembre, siendo el resto del año un periodo seco. Temperatura media anual de 24 °C y 488 mm de lluvias totales anuales (Rivas Martínez, 2009).

Como se señaló en el punto anterior, recientemente se han realizado estudios genéticos de poblaciones cultivadas de *Moringa oleifera* con marcadores moleculares de ADN (AFLP, RAPD) que intentan conocer el origen de los cultivos, catalogar y mejorar su diversidad genética y aumentar la producción (Muluvi y col., 1999; Yadav y Srivastava, 2014; Leone y col., 2015). *M. oleifera* presenta variaciones fenotípicas considerables, en la India se pueden encontrar las siguientes: Jaffna, Chavaskacheri murunga, Chemmurunga, Palmurungai, Punamurungai y Kodikalmurungai (Parrotta, 1993). El cultivo de *M. oleifera* en la India se produce básicamente en el sur del país, en concreto en los estados de Tamil Nadu, Karnataka, Kerala y Andhra Pradesh, donde se cultivan variedades más resistentes a la sequía como Periyakulam 1 (PKM-1) y Periyakulam 2 (PKM-2) (Arias Sabin, 2014). El genotipo asociado con el lugar de procedencia de las plantas van a condicionar el futuro desarrollo más o menos vigoroso del cultivo en lo que a cantidad de biomasa se refiere (altura y anchura de los tallos), incluso el nivel de resistencia a fitoparásitos (Patricio y col., 2013).

En la figura 1 se muestran las zonas de la península ibérica en las que *Moringa oleifera* puede ser potencialmente cultivada. La temperatura es el factor limitante para el cultivo. Las características edafológicas son indiferentes y puede regarse en periodos secos (Godino y col., 2013).

Suelo: tolerante a casi todo tipo de suelos. pH entre 4,5 y 8,0. Puede plantarse en zonas marginales, puede crecer en suelos ligeramente salinos. Suelos sueltos, limosos, arenosos, junto a cauces de agua. No resiste el encharcamiento ni suelos arcillosos (Nouman y col., 2014).

Temperatura: amplio margen. Adaptada al calor del trópico, húmedo y seco. Su óptimo de temperatura es de 25 – 35 °C, no resiste temperaturas por debajo de 8 °C varios días consecutivos. Rango de temperatura de (-1) 6 °C a 38 °C (48) (Pérez y col., 2010; Godino y col., 2013).

Precipitaciones: variables desde 250 mm hasta 2000 mm anuales. Necesita riegos espaciados en épocas de sequía (Parrotta, 1993). En Cártama (España), el cultivo está sometido a riego por goteo para paliar la sequía estival.

Altitud: desde 0 msnm hasta 1400 m (1800) según la zona geográfica. A mayor altitud disminuye la productividad. El crecimiento es más lento (Foidl y col., 2003).

Siembra: semillas (viables menos de un año, carecen de dormancia, 80 % germinación con escarificación acuosa); directamente sobre el campo, o germinadas en bolsas. Esquejes (ramas secundarias a partir de 1,5 m de altura del árbol original), de esta forma la calidad de las semillas es

mayor (Alfaro y Martínez, 2008). Las plantaciones a base de semillas desarrollan una raíz pivotante profunda, más resistente a la sequía que las de esquejes (Parrotta, 1993).

Espaciado de siembra: planta con un alto nivel de fototropismo. Para forrajeras desde 95.000 hasta 1000.000 plantas/ha con un espaciado de 0,2 a 0,5 m (cosecha a los 40 - 60 días); para árboles, 5 m espaciados en línea (cosecha: 2 primeros años). Puede plantarse en callejones (Foidl y col., 2003; Leone y col., 2015).

Crecimiento: rápido, de hasta 3,5 m de altura anual. Ideal con riego y abono (estiércol) según exigencias. Podas necesarias para aumentar el número de ramas y hojas. Fructifica dos veces al año en condiciones óptimas. Longevidad breve, hasta 20 años. Reposición cada 5 años (Bonald-Ruiz y col., 2012)

Recolección: depende del órgano y lugar geográfico. En Cártama (España) pierde la hoja entre diciembre y febrero. Florece de agosto a octubre.

Tabla 1.- Composición nutricional de las partes comestibles de *Moringa oleifera*

Componente c/100 g peso seco	Hojas	Fruto inmaduro Pericarpio	Semillas
Macronutrientes			
Proteínas (%)	19,0 - 27,1	17,2 - 19,3	32,9 - 38,3
Lípidos (%)	4,7 - 5,0	0,4 - 1,3	30,8 - 44,8
Carbohidratos (%)	27,0 - 51,7	21,0 - 51,0	14,4 - 16,0
Minerales			
Calcio (mg)	1875 - 2079	12,5 - 29,0	76,9
Hierro (mg)	27,8 - 38,0	2,3 - 5,3	13,7
Aminoácidos			
Met + Cys (mg)	140 - 835	90 - 140	-
Lisina (mg)	1406 - 1530	150 - 250	-
Ácidos grasos % respecto total AG			
Ácido oleico %	6,27	18,0	67,9 - 78,0
Otros			
Ácido ascórbico (mg)	18,7 - 140,0	871,0	84,5
Clorofila (mg)	126,8	-	-
Energía (Kcal)	205,0 - 295,6	178,2	564,5
Cenizas (%)	13,2 - 14,6	7,6 - 13,3	4,4 - 5,6
Fibra (%)	7,9 - 19,2	22,6 - 46,8	4,9 - 15,9

Elaborada a partir de: Leone y col. (2015), Nouman y col. (2014), Borges Teixeira y col. (2013), El Massry y col. (2013), Taireja (2011), Melo y col. (2013), Amaglo y col. (2010), Da Silva y col. (2010), Sánchez Machado y col. (2010) y Ferreira y col. (2009).

Tabla 2.- Composición nutricional de la hoja de *Moringa oleifera*

Minerales (mg)	AA esenciales (mg)	Ácidos grasos (%)	Moléculas bioactivas (mg)
Ca 2000	His 700 - 1357	C16:0 23,3	Vit A 11300 - 23000 UI
P 112,1	Thr 790 - 2197	C16:1 0,4	β -Caroteno 6,6 - 17,6
Mg 10,6	Tyr 480 - 1880	C18:0 4,1	Vit C 18,7 - 140
Na 224,1	Val 1130 - 2758	C18:1 6,27	α -Tocoferol 74,5 - 122,1
K 2071,9	Met + Cys 140 - 835	C18:2 6,11	Tiamina 2,85
Fe 380	Ile 890 - 2253	C18:3 56,9	Riboflavina 22,6
Mn 8,37	Leu 1750 - 4289	C20:0 0,21	Niacina 8,86
Zn 2,2	Phe 890 - 2714	C22:0 0,70	Polifenoles totales 2,10 - 12,20 mg GAE/g
Cu 0,95	Lys 1325 - 1530		Flavonoides totales 5,1- 12,2 mg/g
S 137			Miricetina 5,8 mg/g
Cr < 0,5			Quercetina 0,21 - 7,6 mg/g
Mb 0,75			Kaempferol nd - 4,6 mg/g
Ni < 0,5			Ác. Gálico 1,03 - 1,34 mg/g
Se 2,71			Ác. Cafeico nd - 0,41 mg/g
			Ác. Clorogénico 1,80 - 6,97 mg/g
			Glucosinolatos 21,84 - 59,40 mg/g
			Taninos totales 132 - 1200
			Saponinas totales 500 - 810
			Oxalatos 430 - 1600
			Fitatos 250 - 2100

Datos referidos a 100g de hoja seca. Elaborada a partir de: Leone y col. (2015), Nouman y col. (2014), Teixeira y col. (2013), El Massry y col. (2013), Melo y col. (2013), Posmontier (2011), Amaglo y col. (2010), Sánchez Machado y col. (2010), Ferreira y col. (2009) y Makkar y Becker (1996).

Composición química y fitoquímica

Moringa oleifera es una planta rica en minerales, aminoácidos y biomoléculas. En la raíz se han identificado 102 compuestos por GC-MS (Faizi y col., 2014). En las flores 74 compuestos del aceite esencial (Pino, 2013). Todos los órganos de la planta son susceptibles de aprovechamiento. En la tabla 1 se muestra la composición general de nutrientes encontrados en las tres partes consumidas como alimento: hojas, pericarpio inmaduro y semillas.

Los datos se ofrecen en forma de intervalo (entre los niveles más bajos y más altos encontrados en la bibliografía). Es normal que existan estas variaciones y por ello la composición es orientativa (aunque no exenta de representatividad), dado que depende de la variedad y genética de la planta, del régimen de cultivo (intensivo, seco o riego), del estado de maduración del órgano y zona geográfica de reco-

lección. En la tabla 2 se muestra una composición más específica de la hoja dado que este órgano es el más consumido y el más estudiado (Leone y col., 2015). La semilla es oleaginosa y constituye una fuente de aleurona (Ramachandran y col., 1980) con una fracción de lectinas (Santos y col., 2009). Presenta un aceite que hay que refinar para hacerlo comestible, que sólo se parece al aceite de oliva (procedente de la pulpa de una drupa) en su composición similar en ácido oleico (Tsaknis y col., 1999; Lalas y Taskins, 2002). La composición de la semilla (y de su aceite) varía según el lugar geográfico (Tabla 3). Los fitosteroles más abundantes son β -sitosterol, estigmasterol y campesterol (Tsaknis y col., 1999). En este sentido Anwar y col. (2006) muestran la distinta composición del aceite según se trate de zona de seco o regadío en Pakistán, siendo de mayor

Tabla 3.- Composición del aceite de *Moringa oleifera*

	Jamiesson (1939) USA	Tsaknis y col. (1999) Kenia	Asharf y Gilani (2007) Pakistán	Da Silva y col. (2010) Brasil	Ayerza (2011) Argentina
C16:0 Palmítico	3,60	6,04	12,51	7	5,88
C16:1 (Palmitoleico)	-	1,46	2,70	2	1,40
C18:0 Esteárico	10,80	4,14	2,09	4	5,63
C18:1 Oléico	68,05	73,60	74,99	78	73,00
C18:2 Linoléico	3,77	0,41	1,27	1	0,60
C18:3 Linolénico		0,08	1,76	-	0,18
C20:0 (Araquidónico)		0,55	1,83	4	3,68
C22:0 Behénico	6,29	6,73	-	4	5,88

Porcentajes respecto total de ácidos grasos.

calidad aquel extraído de zonas secas. Ayerza (2012) establece diferencias estadísticamente significativas en la producción de kilos semilla/ha entre diferentes ecosistemas de Bolivia. El mismo autor muestra la desigual composición del aceite entre varias zonas de Argentina (Ayerza, 2011).

Usos de *Moringa oleifera* en la industria y medio ambiente

La composición del aceite de *M. oleifera*, por su contenido de ácido behénico (6,7 %), ácido oleico y bajo nivel de poliinsaturados (< 1%), hace que posea un alto índice de estabilidad oxidativa, lo que lo convierte en una base para cosméticos (Kleiman y col., 2008) y jabones. El aceite de “moringa” tiene la capacidad de fijar esencias florales y absorber malos olores (Asraf y Giliani, 2007), de hecho, se propone junto al aceite de “marula” (*Sclerocarya birrea* (A.Rich.) Hochst. -Anacardiaceae-), como uno de los aceites ideales en la elaboración de cosméticos (Kleiman y col., 2008).

En la industria farmacéutica, las gomas de la “moringa” se están estudiando como aglutinantes en la formulación de comprimidos de liberación retardada (Panda y col., 2008) y otras formas farmacéuticas (Jarald y col., 2012). Es una fuente para la biosíntesis de saponinas a partir de cultivos *in vitro* (Mathur y col., 2014). Sivahanjani y Philominathan

(2016) señalan el mejor efecto cicatrizante de las nanopartículas de TiO₂ (utilizadas como excipiente) cuando se añade extracto de hojas de *M. oleifera* como agente antimicrobiano. En la industria química se destaca el estudio realizado en la Universidad de Edimburgo en el que se puede obtener un carbón activo de bajo coste y de buena calidad a partir del polvo de semillas (Warhurst y col., 1997).

El agua limpia no sólo es imprescindible para la vida sino que evita la transmisión de enfermedades. Tradicionalmente el polvo de semillas de *M. oleifera* se ha utilizado para purificar agua (Navarro Garrido, 2010). El primer tratamiento a gran escala se realizó en Malawi con un cierto éxito (Folkard y col., 1995). El tratamiento de aguas contaminadas es un proceso prolongado que consta de varias etapas. Existen amplios estudios sobre el poder floculante de extractos de polvo de semillas de “moringa” en el proceso fisicoquímico de coagulación-floculación (Folkard y Sutherland, 1996; Warhurst y col., 1997; Coelho y col., 2009; Mendoza y col., 2000; Rodríguez Muñoz y col., 2005; Ramalho de Oliveira y col., 2011; Poopola y Obembe, 2013), si bien la mayoría son experiencias piloto realizadas en el laboratorio (Yin, 2010). Los trabajos anteriores equiparan el poder floculante del polvo de semillas de *M. oleifera* con el de la alumina. En países en vías de desarrollo se da la circunstancia de que el uso de alúmina es costoso y sólo se lleva a cabo en grandes canalizaciones de ciudades importantes, dejándose zonas periurbanas

y rurales sin tratamiento de aguas (Rodríguez-Muñoz y col., 2005). Según Martín y col. (2013), 100 mg/l de polvo de semillas reduce hasta un 50 % la demanda química de oxígeno (DQO). *M. oleifera* se suma a otros agentes descontaminadores como *Carica papaya* L. (Caricaceae), *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (Rutaceae), *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae), *Tamarindus indica* L. (Leguminosae) (Choy y col., 2014), *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (Pontederiaceae), *Opuntia ficus-indica* L. (Mill.) (Cactaceae), microalgas y bacterias, entre otras. (Nharingo y Moyo, 2016). *Moringa oleifera* también se usa en casos de biorremediación dada su capacidad de absorber los metales pesados como Pb, Cd y Ni (Gonçalves y col., 2013); Cu, Zr y Ni (Beltrán y Suárez, 2009).

Los extractos de semillas se han mostrado eficaces en la eliminación de cianobacterias en potabilización de aguas eutrofizadas (Lüiring y Beekman, 2010).

Los extractos de *M. oleifera* pueden utilizarse a fin de producir zeatina (un fitorregulador de la familia de las citoquininas). Este compuesto junto con fertilizantes y buenas prácticas agronómicas permite obtener aumentos en el rendimiento de cultivos, entre un 25 - 30 %, de: cebolla, pimiento verde, soja, maíz, sorgo, café, té y melón (Agrodesierto, 2006). Estudios similares se han realizado en trigo, arroz y maíz (Ashfaq y col., 2012).

Adandonon y col. (2006) observaron el aumento de la eficacia fungicida del hongo *Trichoderma* sobre el hongo parásito de cultivos *Sclerotium*, cuando el suelo y el cultivo se rocían con extractos acuosos de hojas de “moringa”. Los extractos de hojas de *M. oleifera* también pueden usarse como biopesticidas, contra larvas y ejemplares adultos de *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae), un escarabajo invasor que devora las semillas (Ashfaq y col., 2012). En este sentido los extractos de “moringa” también reducen el ataque de *Meloidogyne javanica* Chitwood (Tylenchida: Heteroderidae), un nematodo parásito interno de las raíces de muchas plantas (Murslain y col., 2014).

También se ha determinado el efecto larvicida de extractos de semilla de *M. oleifera* sobre el mosquito *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae), portador del virus del dengue (Coelho y col., 2009; Ferreira y col., 2009), de ahí que se puedan tratar aguas con polvos de semilla para retardar el ciclo biológico del vector. Esta acción larvicida se debe

al efecto de las lectinas de las semillas (cMOL) (Ramalho de Oliveira y col., 2011).

Las semillas de *M. oleifera* contienen un 30 - 45 % de aceite, por lo que son susceptibles de emplearse en la fabricación de biodiesel y cumplen los estándares requeridos para esta finalidad (Oliveira y col., 2012). Según un experimento realizado en Australia, para producir 1.000 litros de biodiesel se necesitan aproximadamente 3 toneladas de aceite, que se pueden obtener de una hectárea de cultivo de secano o de media hectárea en régimen de riego (Biswas, 2008).

Singh y Singh (2010), en su revisión sobre la obtención de estos combustibles a partir de aceites vegetales, señalan a la soja, girasol, palma o microalgas como fuentes de materia prima con mayor rendimiento, clasificando al aceite de “moringa” como de menor calidad. Por ello Da Silva y col. (2010) sugieren la necesidad de mezclar diésel de “moringa” con petrodiesel. Pero no conviene olvidar que árboles como *M. oleifera* presentan algunas ventajas: a) posibilidad de recuperar suelos salinos o poco productivos y crear paisaje; b) la producción de biodiesel a partir del aceite de semillas de árboles, reduce la presión sobre plantas que poseen granos oleaginosos con demandas alimenticias elevadas, como el girasol o la soja. En este contexto *M. oleifera* se ha convertido en la segunda fuente potencial para biodiesel de zonas áridas de África por encima de *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) y sólo superada por *Croton megalocarpus* Hutch. (Euphorbiaceae) (Kibazohi y Sangwan, 2011).

Usos alimenticios

Moringa oleifera se destina como planta forrajera de excelente calidad para el ganado ovino, bovino, aves y peces (Richtler y col., 2002; Pérez y col., 2010; Bonald Ruiz y col., 2012; Paguia y col., 2014).

Las hojas frescas de “moringa” tienen buenas cualidades nutritivas: más vitamina A que las zanahorias, más vitamina C que las naranjas, más calcio que la leche, más potasio que el plátano, más hierro que la espinaca y más proteína que ningún otro vegetal (Agrodesierto, 2006; Thurber y Fahey, 2009; Saha y col., 2012; Villareal Gómez y Ortega Angulo, 2014). Son una fuente excelente de calcio (aunque el 59 % se presenta bajo la forma de oxalato), hierro y aminoácidos esenciales, especialmente los azufrados (Met + Cys) y lisina en cantidades comparables a

Tabla 4.- Usos medicinales tradicionales *Moringa oleifera*

Órgano empleado	Uso medicinal	Referencias
Raíces	Abortivo, aerofagia, analgésico, antiinflamatorio, antituberculosa, asma, fertilidad, laxante, lumbalgias, otalgia, odontalgias, picadura de serpiente, rubefaciente, tónico cardiocirculatorio, vesicante.	Anwar y col. (2007) Posmontier (2011) Sharkhel (2014)
Peridermis tallo	Antipirético, abortivo, antihelmíntico, antifúngico, antipalúdico, antituberculoso, antitumoral, antiulceroso, confusión mental, emenagogo, enfermedades oculares, esplenomegalia, hepatitis, rubefaciente y vesicante,	Anwar y col. (2007) Adebayo y Krettli (2011) Pashal y col. (2012) Chinsebu y y Hedimbi (2016)
Gomas	Abortivo, antipirético, asma, astringente, caries, cefaleas, disentería, gastroenteritis, reumatismo y rubefaciente.	Anwar y col. (2007)
Hojas	Anticatarral, antidiabético, antiescorbuto, antihipertensivo, antipalúdico, antipirético, ansiolítico, bronquitis, cataratas, conjuntivitis, disfunción sexual, diurético, faringitis, hemorroides, hinchazones glandulares, otitis, úlcera de Buruli, vermífugo, VIH y vulnerario.	Fahey (2005) Anwar y col. (2007) Chinsebu y Hedimbi (2010) Kasolo y col. (2010) Posmontier (2011) Mishra y col. (2011) Tsouh y col. (2015) Valere y col. (2015)
Flores	Abortivo, afrodisíaco, antiinflamatorio, antipsicótico, antitumoral, colagogo, esplenomegalia, mialgias, revulsivo.	Morton (1991) Anwar y col. (2007) Mishra y col. (2014)

las necesidades diarias recomendadas por la OMS/FAO/WHO (Makkar y Becker, 1996; Nouman y col., 2014). En este punto se realiza la advertencia sobre la publicidad de *Moringa oleifera* en internet que puede exagerar estas propiedades. Las hojas y vainas se consumen verdes o cocinadas en sopas y potajes, si bien su apetencia depende de la tradición cultural. Hojas y cortezas frescas se exportan envasadas y refrigeradas a comunidades indias y pakistaníes de todo el mundo, pero en Madagascar los niños las rechazan por su fuerte olor y poca saciabilidad (Rakotosamimanana y col., 2015).

En alimentación humana se está convirtiendo en un recurso prometedor y económicamente rentable para paliar la desnutrición y los estados carenciales que ésta acarrea como la hipovitaminosis, sobre todo en madres en estado de lactancia y en etapas

de crecimiento infantil (Alfaro y Martínez, 2008; Taireja, 2011; Razis y col., 2014). La *International Eye Foundation*, con base en Estados Unidos, está usando *Moringa oleifera* en Malawi por su alto contenido de Vitamina A, debido a que en este país la deficiencia en su consumo es la causa de la ceguera infantil en el 70 % de los casos (Berger y col., 1995).

Las hojas secas se conservan bien, por lo que resultan interesantes para preparar alimentos nutricionalmente mejorados, mezclándose con legumbres y cereales para tratar de conseguir una proteína completa. Esto cobra especial relevancia en comunidades rurales y sometidas al hambre y a la desnutrición, en especial en mujeres embarazadas o madres lactantes y niños (Alfaro y Martínez, 2008; Bonald Ruiz y col., 2012).

Factores antinutricionales (FAN): son compuestos que se absorben mal o no se absorben por el aparato digestivo de los no rumiantes, secuestran minerales y nutrientes, inhiben la acción de las proteasas del estómago, o como las lectinas, son hemolíticas (Araújo, 2013). Los FAN más comunes son taninos, saponinas, oxalatos y fitatos, si bien estos factores se destruyen con el proceso de cocinado. Las hojas frescas de *Moringa oleifera* contienen una cantidad no despreciable de oxalatos y fitatos (Leone y col., 2015), similares al amaranto (*Amaranthus viridis* L. -Amaranthaceae-), aunque en valores menores que la espinaca y cebolla (Nouman y col., 2014).

Usos medicinales

En la Ayurvedic Pharmacopoeia of India (Part I- Vol-IV) (en línea) aparecen formulaciones con semillas y peridermis de raíz y tallo de SIGRU (*Moringa oleifera*). De 5 a 10 gramos de polvo de semillas, tienen, entre otras, las siguientes acciones terapéuticas: contra el dolor de cabeza, inflamación, cicatrizante, tumores abdominales, antiparasitario, hipotiroidismo y antiobesidad.

Este puede ser un buen ejemplo para demostrar la contraposición entre esta medicina milenaria y tradicional y la medicina moderna convencional. La primera basada en la experiencia y quizás con atributos mítico-religiosos, y la segunda (en las antípodas) con su procedimiento exhaustivo de búsqueda y estandarización de medicamentos clínicamente eficaces. Sin embargo, no debemos olvidar que millones de personas en el mundo no tienen acceso a la medicina moderna, por lo que se tienen que conformar con los remedios de las medicinas tradicionales. Sobre la base de esta idea vamos a presentar dos tablas: una sobre el uso medicinal tradicional basado en la experiencia (Tabla 4) y otra sobre las propiedades medicinales de la planta basadas en estudios de laboratorio y en humanos (Tabla 5).

Conclusiones

1. Aunque el conocimiento de los beneficios de *Moringa oleifera* se pierden en el tiempo, no es hasta finales del siglo pasado cuando la comunidad científica se vuelca a estudiar experimentalmente

esta planta, y así comprender los mecanismos de acción por los que se rigen estas propiedades.

2. Desde el punto de vista de la botánica linneana, se conoce bien la taxonomía, el fenotipo, partes microscópicas, cultivo, variedades. Los estudios actuales se basan en marcadores moleculares para determinar el parentesco con otras plantas y el parentesco entre sí, con el fin de mejorar el rendimiento de los cultivos.

3. *Moringa oleifera* es la llamada planta milagro. Efectivamente así lo es para millones de personas malnutridas, sin acceso al agua potable, sin corriente eléctrica y sin una medicación adecuada. Desde el punto de vista occidental, el atributo de “milagro” puede tener una connotación negativa, dado que muchos de los beneficios que se pueden obtener de la planta ya están resueltos.

4. *Moringa oleifera* posee un elevado poder nutricional con un alto contenido energético y es un reservorio biológico de minerales, vitaminas, polifenoles, flavonoides y ácidos fenólicos los cuales suponen una fuente de antioxidantes naturales que reparan el ADN en el proceso de envejecimiento. Otros constituyentes como alcaloides, glucosinolatos e isotiocianatos le aportan un prometedor uso terapéutico.

5. Ante los retos evidentes que tiene la humanidad, una especie como *Moringa oleifera* no puede ser ignorada. Por ello sigue siendo necesario la investigación de sus propiedades, esto puede suponer el encuentro de soluciones parciales para problemas globales como el hambre, la falta de energía e higiene y las enfermedades.

Referencias

- Abdulkarim, A.; Azlan, A. (2012). “Fruit pod extracts as a source of nutraceuticals and pharmaceuticals”. *Molecules* 17: 11931-11946.
- Abdulkarim, M.S.; Long, K., Lai, O. M.; Muhammad Ghazali, H. (2005). “Some physico-chemical properties of *Moringa oleifera* seed oil extracted using solvent and aqueous enzymatic methods”. *Food Chemistry* (93): 253-263.
- Adandonon, A.; Aveling, T.; Labuschagne, N.; Tamo, M. (2006). “Biocontrol agents in combination with *Moringa oleifera* extract for integrated control of *Sclerotium*-caused cowpea damping-off and stem rot”. *European Journal of Plant Pathology* 11: 40-418.

Tabla 5.- Propiedades medicinales de *Moringa oleifera* basadas en estudios experimentales

Efecto terapéutico	Órgano	Comentario
Sistema nervioso central		
Bakre y col. (2013)	Fl	Anticonvulsionante en ratones.
Nelson y col. (2014) Giacoppo y col. (2015)		Glucosinolatos previenen enfermedades neurodegenerativas.
Sistema respiratorio		
Agrawal y Metha (2008)	S	Mejora cuadros asmáticos. Humanos.
Nkya y col. (2014) Chinsebu y col. (2016)	H, S	Citotóxico <i>Mycobacterium</i> spp. Antituberculoso.
Hipoglucemiante		
Mbikay (2012)	H	Revisión. Comprobado en grupos humanos reducidos.
Jaiswal y col. (2013)	H	Antioxidantes. Regula estrés oxidativo. Reduce nivel glucosa.
Hipolipemiante		
Mbikay (2012)	H	Revisión. Comprobado en grupos humanos reducidos.
Stohs y Hartman (2015)	H	Revisión. Baja colesterol 6,3 %. Sube HDL Humanos.
Antiespasmódico		
	R	
Cáceres y col. (1992)		Reduce inflamación intestinal inducida en ratas albinas.
Antiulceroso		
Akhtar Ahmad (1994)	Fl	Mejora úlceras gástricas inducidas en ratas.
Hepatoprotector		
Ndong y col. (2007)	Var	Mejora los hepatocitos de ratas Wistar Fe-deficientes.
Rose y col. (2013)	H, Fr	Mejora hígado enfermo ratas albinas inducido CCl ₄ . Flavonoides.
Génito-urinario		
Maurya y Singh (2014)	CT	Reduce infecciones urinarias. Humanos.
Oculares		
Sunkireddy y col. (2013)	H	Antioxidantes. Prevención de aparición cataratas.
Antimicrobiano, antifúngico y antiparásito		
Fahey (2005)	H,R	Glucosinolatos contra <i>Helicobacter pylori</i> .
Bahatnagar y col. (2013)	Gom	Inhibe crecimiento cultivo <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> .
Eliert y col. (1981)	S	Isotiocianatos. Antifúngico y antibacteriano amplio espectro.
Chuang y col. (2007)	Fl	Antifúngico <i>Trichophyton</i> , <i>Epidermophyton</i> y <i>Microsporum</i> .
Kaur y col. (2014)	R	Niazinizina. Leishmaniasis.
Rocha Filho y col. (2015)	Fl	Saponinas, taninos. Inhibe desarrollo <i>Schistosoma mansoni</i> .
Anticáncer		
Guevara y col. (1999)	S	Inhibe promotores de tumores. <i>In vitro</i> . Niazimicina, niazirina, β-sitosterol-3-O-β-D-glucopiranosido.
Brunelli y col. (2010)		Inhibe NF-kB y reduce mielomas en ratones mutados.
Sreelatha y col. (2011)	H	Flavonoides. Inducción apoptosis.
Jung (2014)	H	Potencial actividad anticancerígena <i>in vitro</i> .
Al-Asmari y col. (2015)	H,S,CT	Agente potencial contra cáncer de pecho y colon. Isotiocianatos.
Antienvjecimiento		
Singh y col. (2009), Santos y col. (2012), Satitsh y col. (2014).	H	Reparan el ADN. Antioxidantes.
Biodisponibilidad		
Abdul Karim y Azlan (2012) Ajazuddin y col. (2014)	Fr	Niaziridina + absorción y actividad rifampicina, tetraciclina y ampicilina.
Toxicidad		
Asiedu Gyeke y Col. (2014) Stohs y Hartman (2015)	H	50 g unidosis, 8g día (40 días) en humanos es seguro.

CT: corteza del tallo; FI: flor; Fr: fruto; G: gomas; H: hojas; S: semilla; R: raíz; Var: toda la planta.

- Adebayo, O.; Krettli, A.U. (2011). "Potential antimalarials from Nigerian plants: A review". *Journal of Ethnopharmacology* 133: 289-302.
- Agrawal, B.; Mehta, A. (2008). "Anitasthmatic activity of *Moringa oleifera* Lam: A clinical study". *Ind Journal of Pharmacology* 40(1): 28-31.
- Agrodesierto. (2006) [en línea]. "Moringa (*Moringa oleifera*)". <<http://www.agrodesierto.com/moringa.html>>. [Consulta: octubre de 2016].
- Ajazuddin, A.; Amit, A.; Azra, Q.; Leena, K.; Pramudita, V.; Mukesh, S.; Swarnlata, S.; Shailendra, S. (2014). "Role for herbal bioactives as a potential bioavailability enhancer for Active Pharmaceutical Ingredients". *Fitoterapia* 97: 1-14.
- Al-Asmari, A.K.; Albalawi, S.M.; Athar, M.T.; Khan, A.Q.; Al-Shahrani, H.; Islam, M. (2015). "Moringa oleifera as an anti-cancer agent against breast and colorectal cancer cell lines". *Plos one* 10(8): 1-4.
- Alfaro, N.C.; Martínez, W. (2008) [en línea]. "Uso potencial de la Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) para la producción de alimentos nutricionalmente mejorados". Incap.Guatemala. <<http://tagaragunche.com/ficheros/129.pdf>>. [Consulta: octubre de 2016].
- Al-Juhaimi, F.; Ghafoor, K.; Hawashin, M.D.; Al-sawmahi, O.N.; Babiker, E.E. (2016). "Effects of different levels of *Moringa olifera* seed flour on quality attributes of beef burgers." *Journal Food* 14 (1): 1-9.
- Amalga, K.N.; Bennet, N.R.; Lo Curto, B.R.; Rosa, S.E.; Lo Turco, V.; Giuffrida, A.; Lo Curto, A.; Crea, F.; Timpo, M.G. (2010). "Profiling selected phytochemicals and nutrients in different tissues of the multipurpose tree *Moringa oleifera* L., grown in Ghana". *Food Chemistry* 122: 1047-1054.
- Anwar, F.; Latif, S.; Ashraf, M.; Gilani, H. (2007). "Moringa oleifera: A food plant with multiple medicinal uses. Review Article". *Phytotherapy Res* 21: 17-25.
- Anwar, F.; Zafar, N.S.; Rashid, U. (2006). "Characterization of *Moringa oleifera* seed oil from drought and irrigated regions of Punjab, Pakistan". *Grasas y Aceites* 57(2):160-168.
- Araújo, L.C.C. (2013) [en línea]. "Avaliação da citotoxicidade e atividade anti-inflamatória de extratos e lectinas isoladas de sementes de *Moringa oleifera*" <<http://www.repositorio.ufpe.br/bitstream/handle/123456789/13314/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20Larissa%20Ara%C3%BAjo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. [Consulta: octubre de 2016].
- Arias Sabín, C. (2014). *Estudio de las posibles zonas de introducción de la Moringa oleifera Lam en la península Ibérica, islas Baleares e islas Canarias*. Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Forestal. Madrid.
- Ashfaq, M.; Basra, S.M.; Ashfaq, U. (2012). "Moringa: A miracle plant for agro-forestry" *Journal of Agriculture and Social Sciences* 8:115-122.
- Ashraf, F.; Gilani, R. (2007). "Fatty acids in *Moringa oleifera* oil". *Journal of the Chemical Society of Pakistan* 29(4): 343-345.
- Asideu Gyekye, I.J.; Frimpong Manso, S.; Awortwe, C.; Antwi, D. A.; Nyarko, A. K. (2014) [en línea]. "Micro- and macroelemental composition and safety evaluation of the nutraceutical *Moringa oleifera* leaves". *Journal of Toxicology* <<https://www.hindawi.com/journals/jt/2014/786979/>>. [consulta: 6 de octubre de 2014].
- Awodele, O.; Adekunle, O.I.; Odoma, S.; Teixeira Da Silva, J.; Oluseye, O.V. (2012). "Toxicological evaluation of the aqueous leaf extract of *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae)" *Journal of Ethnopharmacology* 139: 330-336.
- Ayerza, R. (2012). "Seed and oil yields of *Moringa oleifera* variety Periyakalum-1 introduced for oil production in four ecosystems of South America". *Industrial Crops and Products* 36: 70-73.
- Ayerza, R. (2011). "Seed yield components, oil content, and fatty acid composition of two cultivars of moringa (*Moringa olifera* Lam.) growing in the arid Chaco of Argentina" *Industrial Crops and Products* 33: 389-394.
- Ayurvedic Pharmacopoeia of India (Part I- Vol-IV) [en línea]. <<http://www.ayurveda.hu/api/API-Vol-4.pdf>>. [Consulta: octubre de 2016].
- Bakre, A.G.; Aderibigbe, A.O.; Ademowo, O.G. (2013). "Studies on neuropharmacological profile of ethanol extract of *Moringa oleifera* leaves in mice" *Journal of Ethnopharmacology* 149(3): 783-789.
- Beltran, H.J.; Martín, S.J. (2009). "Heavy metal removal from surface water with *Moringa oleifera*

- seed extract as flocculant agent". *Fresenius Environmental Bulletin* 17(12b).
- Berger, R.A.; Courtright, P.; Barrows, J. (1995). "Vitamin A capsule supplementation in Malawi villages: missed opportunities and possible interventions". *American Journal of Public Health* 85(5):718-719.
- Bhatnagar, M.; Parwani, L.; Sharma, V., Ganguli, J.; Bhatnagar, A. (2013). "Hemostatic, antibacterial biopolymers from *Acacia arabica* (Lam) Willd. and *Moringa oleifera* (Lam.) as potential wound dressing materials". *Indian Journal of Experimental Biology* 51: 804-810.
- Bin-Meferij, M.; El-Kott, A. (2015). "The radio-protective effects of *Moringa oleifera* against mobile phone electromagnetic radiation-induced infertility in rats". *International Journal of Clinical and Experimental Medicine* 8(8): 12487-12497.
- Biswas, W. K. (2008). *Life Cycle Assessment of Biodiesel Production of Moringa oleifera Oilseeds*. Department of Agriculture and Food, Center of Excellence in Cleaner Production, Curtin University of Technology, United States.
- Bonald Ruiz, R.; Riveradio, R.M.; Bolívar Carrión, M.E. (2012). "*Moringa oleifera*: una opción saludable para el bienestar". *Medisan* 16(10): 1596-1599.
- Borges Teixeira, E.; Barbieri, C.M.; Neves, A.V.; Apareci, S.M.; Arantes, P.L. (2013). "Chemical characteristics and fractionation of proteins from *Moringa oleifera* Lam. leaves". *Food Chemistry* 147: 51-54.
- Bremer, B.; Bremer, K.; Chase, M.W.; Stevens, P.F.; Andenberg, A.; Blackund, A. (2009). "An update of the Angiosperm Phylogeny Group. Classification for the orders and families of flowering plants: APG III". *Botanical Journal of Linnean Society* 161: 105-121.
- Brunelli, D.; Tavecchio, M.; Falcioni, C.; Frapollini, R.; Erba, E.; Iori, R.; Rollin, P.; Barillari, J.; Manzotti, C.; Morazzoni, P.; D'Incalci, M. (2010). "The isothiocyanate produced from glucomoringin inhibits NF- κ B and reduces myeloma growth in nude mice *in vivo*". *Biochemical Pharmacology* 79(8): 141-148.
- Cáceres, A.; Saravia, A.; Rizzo, S.; Zabala, L.; De Leon, E.; Nave, F. (1992). "Pharmacologic properties of *Moringa oleifera*. 2: Screening for antispasmodic, antiinflammatory and diuretic activity". *Journal of Ethnopharmacology* 1992; 36: 233-237.
- Castro Márquez, A.M.; Ruíz Suárez, E.J. (2014) [en línea]. "El árbol moringa (*Moringa oleifera* Lam.): Una alternativa renovable para el desarrollo de los sectores económicos y ambientales de Colombia". <<http://www.bdigital.unal.edu.co/view/types/thesis.html>>. [Consulta: octubre de 2016].
- Chinsembu, K.C. (2016). "Tuberculosis and nature's pharmacy of putative anti-tuberculosis agents". *Acta Tropica* 153: 46-56.
- Chinsembu, K.C.; Hedimbi, M. (2010) [en línea]. "An ethnobotanical survey of plants used to manage HIV/AIDS opportunistic infections in Katima Mulilo, Caprivi regio, Namibia". *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* <<https://ethnobiomed.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-4269-6-25>>. [Consulta: octubre de 2016].
- Choy, S.Y.; Nagendra Prasad, K.M.; Yeong Wu, T.; Raghunandan, M.E.; Ramanan, R.M. (2014). "Utilization of plant-based natural coagulants as future alternatives towards sustainable water clarification". *Journal of Environmental Sciences* 26: 2718-2189.
- Chuang, P.H.; Lee, C.W.; Chou, J.Y.; Murugan, M.; Shieh, B.J.; Chen, H.M. (2007). "Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam." *Bioresource Technology* 98:232-236.
- Coelho, S.J.; Santos, L.D.; Napoleão, H.T.; Gomes, S.F.; Ferreira, S.R.; Zingali, B.R.; Coelho, B.L.; Leite, P.S.; Navarro, F.D.; Paiva, G.M. (2009). "Effect of *Moringa oleifera* lectin on development and mortality of *Aedes aegypti* larvae". *Chemosphere* 77: 934-938.
- Colombini, M.P.; Giachi, G.; Iozzo, M.; Ribichini, E. (2009). "An Etruscan ointment from Chiusi (Tuscany, Italy): its chemical characterization". *Journal of Archeological Science* 36: 1488-1495.
- Cultivantvida [en línea] Cultivant Vida, ONG, Lérica (España), Creación 2010. <<https://www.facebook.com/Cultivantvida/posts/800162546706091>>. [consulta: octubre de 2016].
- Cronquist, A. (1988). *The evolution and classification of flowering plants*. The New York Botanical Garden. Allen & Lawrence: Kansas.
- Da Silva, J.; Serra, M.T.; Gossmann, M.; Wolf, R.C.; Meneghetti, R.M.; Meneghetti, P.S. (2010).

- “*Moringa oleifera* oil: studies of characterization and biodiesel production”. *Biomass and Bioenergy* 34: 1527-1530.
- Dalia, I.; Sánchez, M.J.; Núñez, G.C.; Reyes, M.B.; Ramírez, W.J.; López, C.J. (2010). “Nutritional quality of edible parts of *Moringa oleifera*”. *Food Analytical Methods* 3: 175-180.
- Eliert, U.; Wolters, B.; Nahrstedt, A. (1981). “The antibiotic principle of seeds of *Moringa oleifera* and *Moringa stenopetala*”. *Journal of Medicinal Plant Research* 42: 55-61.
- El-Massry, F.H.M.; Mossa, M.E.M.; Youssef, S. M. (2013). “*Moringa oleifera* plant “value and utilization in food processing”. *Egyptian Journal of Agricultural Research* 91(4): 1957-1609.
- Es.climate-data. [en línea]. Datos climáticos mundiales. <<http://es.climate-data.org/location/56983/>>. [consulta: octubre de 2016].
- Fahey, W.J. (2005) [en línea]. “*Moringa oleifera*: A Review of the Medical Evidence for Its Nutritional, therapeutic, and Prophylactic Properties”. <http://www.tfljournal.org/images/articles/20051201124931586_3.pdf>. [Consulta: octubre de 2016].
- Faizi, S.; Sumbul, S.; Ali, V.M.; Saleem, R.; Sana, A.; Siddiqui, H. (2014). “GC/GCMS analysis of the petroleum ether and dichloromethane extracts of *Moringa oleifera* roots”. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* (8): 650-654.
- Falasca, S.L.; Bernabé, M.A. (2008). “Potenciales usos y delimitación del área de cultivo de *Moringa oleifera* en Argentina”. *Revista virtual. REDESMA* 3:1-16.
- FAO. (2016) [en línea]. “Informe anual sobre el hambre en el mundo 2015”. <<http://www.fao.org/3/a-i4646s.pdf>>. [Consulta: octubre de 2016].
- Ferreira, P.M.P.; Carvalho, A. U. F.; Farias, D. F.; Cariolano, N.G.; Melo, V. M. M.; Queiroz, M. G. R.; Martins, A. M. C.; Machado-Neto, J. G. M. (2009). “Larvicidal activity of the water extract of *Moringa oleifera* sedes against *Aedes aegypti* and its toxicity upon laboratory animals”. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 81(2): 207-216.
- Foidl, N.; Mayorga, L.; Vásquez, W. (2003) [en línea]. “Utilización del marango (*Moringa oleifera*) como forraje fresco para ganado”. Conferencia electrónica de la FAO sobre “Agroforestería para la producción animal en Latinoamérica”. <<http://www.fao.org/livestock/agap/frg/agrofor1/foidl16.htm>>. [Consulta: octubre de 2016].
- Folkard, G.; Sutherland, J.; Al-Khalili, R. (1995). “Natural coagulants a sustainable approach Proceedings of the 21st WEDC Conference, Kampala, Uganda. En: Folkard, G. and Sutherland, J. (eds.). *Development of a naturally derived coagulant for water and wastewater treatment*. pp. 263-265.
- Folkard, G.; Sutherland, J. (1996). “*Moringa oleifera*, un árbol con enormes potencialidades”. *Agroforestería en las Américas* 8(3): 5-8.
- García, T.D.; Medina, M.; Moratinos, P.; Cova, L.; Torres, A.; Santos, O.; Perdomo, D. (2009). “Caracterización químico-nutricional de forrajes leguminosos y de otras familias botánicas empleando análisis descriptivo y multivariado”. *Avances en Investigación Agropecuaria* 13(2): 25-39.
- Giacoppo, S.; Galuppo, M.; Montaut, S.; Iori, R.; Rollin, P.; Bramanti, P.; Mazzon, E. (2015). “An overview on neuroprotective effects of isothiocyanates for the treatment of neurodegenerative diseases”. *Fitoterapia* 106: 12-21.
- Godino, M.; Vázquez, T.; Izquierdo, M.I.; Pérez, C. (2013) [en línea]. “Interés forestal de la *Moringa oleifera* y posibles zonas de implantación en España”. Sociedad española de ciencias forestales. <http://www.congresoforestal.es/actas/doc/Mesas_Tematicas_Programa_6CFE.pdf>. [Consulta: octubre de 2016]
- Gonçalves, J.A.; Meneghel, P.A.; Rubio, F.; Strey, L.; Dragunski, C.D.; Coelho, F.G. (2013). “Applicability of *Moringa oleifera* Lam. as an adsorbent for removal of heavy metals from waters”. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 17(1): 94-99.
- Guevara, A.P.; Vargas, C.; Sakurai, H.; Hashimoto, K.; Maoka, T.; Kozuka, M.; Ito, Y.; Tokuda, H.; Nishino, H. (1999). “An antitumor promoter from *Moringa oleifera* Lam.” *Mutation Research* 440(2): 181-188.
- Heywood, V.H. (1985). *Las plantas con flores*. Reverté. Barcelona.
- Hussain, S.; Malik, F.; Mahmood, S. (2014). “Review: An exposition of medicinal preponderance of *Moringa oleifera*”. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Science* 27(2): 397-403.
- Jaiswal, D.; Rai, K.P.; Mehta, S.; Chatterji, S.; Shukla, S.; Kumar, R.D.; Sharma, G.; Sharma,

- B.; Khair, S.; Watal, G. (2013). "Role of *Moringa oleifera* in regulation of diabetes-induced oxidative stress". *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 426-432.
- Jamiesson, G.S. (1939). "Ben (moringa) seed oil". *Oil & Soap* 16: 173-174.
- Jarald, E.E.; Sumati, S.; Edwin, S.; Ahmad, S.; Patni, S.; Daud, A. (2012). "Characterization of *Moringa oleifera* Lam. Gum to establish it as a pharmaceutical excipient". *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research* 3: 211-216.
- Jung, I.L. (2014). "Soluble extract from *Moringa oleifera* leaves with a new anticancer activity". *Plos one* 9(4): 1-11.
- Kasolo, N.J.; Bimenya, S.G.; Ojok, L.; Ochieng, J.; Ogwal Okeng, J. (2010). "Phytochemicals and uses of *Moringa oleifera* leaves in Ugandan rural communities". *Journal of Medicinal Plants Research* 4(9): 753-757.
- Kaur, A.; Kaur, P.K.; Singh, S.; Singh, I.P. (2014). "Antileishmanial compounds from *Moringa oleifera* Lam." *Journal of Bioscience* 69: 110-116.
- Kibazohi, O.; Sangwan, S.R. (2011). "Vegetable oil production potential from *Jatropha curcas*, *Croton megalocarpus*, *Aleurites moluccana*, *Moringa oleifera* and *Pachira glabra*: Assessment of renewable energy resources for bio-energy production in Africa". *Biomass and Bioenergy* 35(3): 1352-1356.
- Kleiman, R.; Ashley, A.D.; Brown, H.J. (2008). "Comparison of two seed oils used in cosmetics, moringa and marula". *Industrial Crops and Products* 28: 361-364.
- Lakshmi, S.; Kiran, T.; Rani, S. (2012). "A review on medicinal plants for nephroprotective activity" *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 5(4): 8-14.
- Lalas, S.; Tsaknis, J. (2002). "Characterization of *Moringa oleifera* seed oil variety 'Periyakulam 1'". *Journal of Food Composition and Analysis* 15: 65-77.
- Leone, A.; Spada, A.; Battezzati, A.; Schiraldi, A.; Aristil, J.; Bertoli, S. (2015). "Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* leaves: An overview". *International Journal of Molecular Science* 16: 12791-12835.
- Lincoln, C.M. (2011) [en línea]. "New gums from ancient lands". *Pharm Form and Qual* <http://www.nxtbook.com/nxtbooks/wiley/pfq_20110809/index.php?startid=6>. [Consulta: octubre de 2016].
- Lu, L.; Olson, M. (2001) [en línea]. "*Moringa oleifera*". <http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=200009759> [Consulta: octubre de 2016].
- Lüring, M.; Beekman, W. (2010). "Anti-cyanobacterial activity of *Moringa oleifera* seeds". *Journal of Applied Phycology* 22(4): 503-510.
- Makkar, H.P.S.; Becker, K. (1996). "Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves". *Animal feed science technology*. 63: 211-228.
- Manniche, L. (2009). *Perfume*. UCLA: Los Angeles.
- Martín, C.; Martín, G.; García, A.; Fernández, T.; Hernández, E.; Puls, J. (2013). "Potenciales aplicaciones de *Moringa oleifera*". Una revisión crítica. *Pastos y Forrajes* 36(2): 137-149.
- Mathur, M.; Yadav, S.; Katariya, K.P.; Kamal, R. (2014). "In vitro propagation and biosynthesis of steroidal saponins from various morphogenetic stages of *Moringa oleifera* Lam., and their antioxidant potential". *Acta Physiologiae Plantarum* 36: 1749-1762.
- Maurya, K.S.; Singh, K.A. (2014) [en línea]. "Clinical Efficacy of *Moringa oleifera* Lam. stems bark in urinary tract infections". *International Scholarly Research Notices*. <<https://www.hindawi.com/journals/isrn/2014/906843/>>. [Consulta: octubre de 2016].
- Mbikay, M. (2012). "Therapeutic potential of *Moringa oleifera* leaves in chronic hyperglycemia and dyslipidemia: a review". *Frontiers in Pharmacology* 3(24): 1-12.
- Melo, V.; Vargas, N.; Quirino, T.; Calvo, C.M. (2013). "*Moringa oleifera* L. An undeutilized tree with macronutrients for human health". *Emirates Journal of Food and Agriculture* 25(10): 785-789.
- Mendoza, I.; Fernández, N.; Ettiene, G.; Díaz, A. (2000). "Uso de la *Moringa oleifera* como coagulante en la potabilización de las aguas". *Ciencia* 8(2): 235-242.
- Mishra, G.; Singh, P.; Verma, R.; Sunil, K.; Srivastav, S. (2011). "Traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties of *Moringa oleifera* plant: An overview". *Der Pharmacia Lettre* 3(2): 141-164.

- Morton, J.F. (1991). "The horseradish tree, *Moringa pteridosperma* (Moringaceae) A boon to arid lands". *Economic Botany* 43 (5): 318-333.
- Muhl, Q.E.; Toit, E.S.; Steyn, M.J.; Apostolides, Z. (2013). "Bud development, flowering and fruit set of *Moringa oleifera* Lam. (Horseradish Tree) as affected by various irrigation levels". *Journal of Agriculture and Rural Development in the Tropics and Subtropics* 114(2): 79-87.
- Muluvi, M.G.; Sprent, I.J.; Soranzo, N.; Provan, J.; Odee, D.; Folkard, G.; McNicol, W.J.; Powell, W. (1999). "Amplified fragment Length polymorphism (AFLP) analysis of genetic variation in *Moringa oleifera* Lam." *Molecular Ecology* 8: 463-470.
- Murslain, M.; Javed, N.; Khan, S.A.; Khan, H.U.; Abbas, H.; Kamran, M. (2014). "Combined efficacy of *Moringa oleifera* leaves and a fungus, *Trichoderma harzianum* against *Meloidogyne javanica* on eggplant". *Pakistan Journal of Zoology* 46(3): 827-832.
- Navarro Garrido, P. (2010) [en línea]. "Moringa oleifera, un aliado en la lucha contra la desnutrición". Niger. ACF INTERNATIONAL. <<https://www.accioncontraelhambre.org/sites/default/files/documents/moringa-final-pag-simples.pdf>>. [Consulta: octubre de 2016].
- Ndong, M.; Uehara, M.; Katsumata, S.; Sato, S.; Suzuki, K. (2007). "Preventive effects of *Moringa oleifera* Lam. on hiperlipidemia and hepatocyte ultrastructural changes in iron deficient rats". *Bioscience Biotechnol Biochem* 71(8): 1826-1833.
- Nelson, L.; Gard, P.; Tabet, N. (2014). "Hypertension and inflammation in Alzheimer's disease: close partners in disease development and progression". *Journal of Alzheimer's Disease* 41:331-343
- Nharingo, T.; Moyo, M. (2016). "Application of *Opuntia ficus-indica* in bioremediation of wastewaters. A critical review". *Journal of Environmental Management* 166: 55-72.
- Nkya, W.; Erasto, P.; Chacha, M. (2014) [en línea]. "Antimycobacterial and cytotoxicity activities of *Moringa oleifera* Lam. extracts". *American Journal of Research Communication* 2(9): 108-120 <<https://ethnobiomed.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-4269-6-25>>. [Consulta: 6 de octubre de 2016].
- Nouman, W.; Basra, M.A.; Siddiqui, M.T.; Yasmenn, A.; Gull, T.; Cervantes Alcayde, M.A. (2014). "Potential of *Moringa oleifera* Lam. as livestock fodder crop". *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 38: 1-14.
- Oliveira, S.D.; Fonseca, S.D.; Farias, N.P.; Bezerra, S.V.; Pinto, H.C.; Souza, D.L.; Santos, D.G.; Matias, O.G. (2012). "Obtenção do biodiesel através da transesterificação do óleo de *Moringa oleifera* Lam." *Holos* 28(1): 49-61.
- Olson, M.E.; Carlquist, S. (2001). "Stem and root anatomical correlations with diversity, ecology, and systematics in *Moringa* (Moringaceae)". *Botanical Journal of the Linnean Society* 135: 315-348.
- Olson, M.E.; Fahey, J. (2011). "*Moringa oleifera*: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas". *Revista Mexicana de Biodiversidad* 82: 1071-1082.
- Olson, M.E. (2002). "*Moringa* Phylogeny". *Systematic Botany* 27: 55-73.
- Pacheco, R.M. (2006). "Análisis del intercambio de plantas entre Méjico y Asia de los siglos XVI al XIX." Tesis doctoral, Méjico.
- Paguia, M.H.; Paguia, Q.R.; Balba, C.; Flores, C.R. (2014). "Utilization of *Moringa oleifera* L. As Poultry feeds". *APCBEE Procedia* 8: 343-347.
- Panchal, M.; Murti, K.; Shah, K. (2011). "Preliminary phytochemical and pharmacognostical studies of *Moringa oleifera* roots". *Romanian Journal of Biology* 56(1): 57-64.
- Panda, D.S.; Choudhury, N.S.; Yedukondalu, M.; Si, S.; Gupta, R. (2008). "Evaluation of gum of *Moringa oleifera* as a binder and release retardant in tablet formulation". *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 70(5): 614-618.
- Pandey, A.; Pradheep, K.; Gupta, R., Nayar, R.E.; Bhandari, C.D. (2011). "Drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.): a multipurpose potential species in India". *Genetic Resources and Crop Evolution* 58: 453-460
- Parrotta, J.A. (1993) [en línea]. "*Moringa oleifera* Lam." <http://www.fs.fed.us/research/publications/misc/63355_2005_%20Parrotta%20Moringa%20oleifera.pdf>. [Consulta: octubre de 2016].
- Patricio, H.G.; Palada, M.C.; Ebert, A.W. (2013). "Adaptability and horticultural characterization of moringa accesions under central Philippines conditions. High value vegetables in southeast Asia". *SEAVEG2012* (61-70).

- Pérez, A.; Sánchez, T.; Armengol, N.; Reyes, F. (2010). "Características y potencialidades de *Moringa oleifera*, una alternativa para la alimentación animal". *Pastos y Forrajes* 33(4): 1-10.
- Perveen, A.; Qaiser, M. (2009). "Pollen flora of Pakistan". *Pakistan Journal of Botany* 41(3): 987-989.
- Pino, J.A. (2013). "Floral scent composition of *Moringa oleifera* Lam." *Journal of Essential Oil-Bearing Plants* 16(3): 315-317.
- Popoola, J.O.; Obembe, O.O. (2013). "Local knowledge, use pattern and geographical distribution of *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae) in Nigeria" *Journal of Ethnopharmacology* 150:682-691.
- Postmontier, B. (2011). "The medicinal qualities of *Moringa oleifera*". *Holistic Nursing Practice* 25(2): 80-87.
- Puri, V. (1934) [en línea]. "A note on the embryo sac and embryo of *Moringa oleifera* Lam." Department of botany, *Agra College*. <https://archive.org/stream/embryogenesisinp00ward/embryogenesisinp00ward_djvu.txt>. [Consulta: octubre de 2016].
- Raghunandana, R.R.; George, M., Palandi, K.M. (1946). "Pterygospermin: the antibacterial principle of *Moringa pterygosperma*, Gaertn". *Nature* 58: 745-746.
- Rai, P.; Srivastava, A.; Sharma, B.; Dhar, P.; Mishra, A.; Watal, G. (2013) [en línea]. "Use of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy for the detection of glycemic elements in Indian medicinal plants". *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24228060>>. [Consulta: octubre de 2016].
- Rakotosamimanana, R.V.; Arvisenet, G.; Valentin, D. (2015). "Role of languages in consumers food description: Malagasy and French descriptors of *Moringa olifera* leaf powder". *Journal of Sensory Studies* 30: 181-194.
- Ramachandran, C.; Peter, V.K.; Gopalakrishnan, K.P. (1980). "Drumstick (*Moringa oleifera*): A multipurpose Indian vegetable". *Economic Botany* 34(3): 276-283.
- Ramalho De Oliveira, F.; Luz, A.; Paiva, G.P.; Breienbach, B.L.; Marangoni, S.; Rodrigues, M.M. (2011). "Evaluation of seed coagulant *Moringa oleifera* lectin (cMOL) as a bioinsecticidal tool with potential for the control of insects". *Process Biochemistry* 46: 498-504.
- Razis, A.; Faizal, A.; Din, M.I.; Brindha S. (2014). "Health benefits of *Moringa oleifera*". *Asian Pacific Journal of cancer prevention* 15(20): 8571-8576.
- Richter, N.; Siddhuraju, P.; Becker K. (2003). "Evaluation of nutritional quality of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves as an alternative protein source for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.)". *Aquaculture* 217: 599-611.
- Rivas Martínez, S. (2009) [en línea]. "Diagrama ombrotérmico" <http://www.educaplus.org/climatic/07_cmg_asia.html> [Consulta: octubre de 2016].
- Rocha Filho, A.C.; Albuquerque, P.L.; Silva, S.L.; Silva, B.P.; Coelho, B.L.; Navarro, F.D.; Albuquerque, A.M.; Melo, M.A.; Napoleão, H.T.; Pontual, V.E.; Paiva, G.P. (2015). "Assessment of toxicity of *Moringa oleifera* flower extract to *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* and *Artemia salinak*". *Chemosphere* 132: 188-192.
- Rodríguez Muñoz, S.; Muñoz Martínez, R.; García Roque, O.; Fernández Santana, E. (2005) [en línea]. "Empleo de un producto coagulante natural para clarificar agua". *CENIC* 36. <<http://www.redalyc.org/html/1816/181620511037/>>. [Consulta: octubre de 2016].
- Ronse Decraene, L.P.; Laet, J.; Smets, E.F. (1998). "Floral development and anatomy of *Moringa oleifera* (Moringaceae): What is the evidence for a Capparalean or Aapindalean affinity?" *Annals of Botany* 82:273-284.
- Rose, H.R.; Sudha, P.N.; Vinayagam, A.; Sudhakar, K. (2013). "A review on hepatoprotective activity of commonly consumed vegetables". *Der Pharmacia Lettre* 5(5): 290-304.
- Saha, P.; Jena, R.C.; Sahoo, B.; Sahoo, K.; Lenka, A. (2012). "Sufficing nutraceutical rich multipurpose leafy vegetable on earth: moringa". *Odisha review* 3(2):57-60.
- Sánchez Machado, D.; Núñez, G.J.; Reyes, M.C.; Ramírez, W.B.; López, C.J. (2010). "Nutritional quality of edible parts of *Moringa oleifera*". *Food Analytical Methods* 3: 175-180.
- Santos, S.A.; Argolo, C.A.; Paiva, G.P.; Coelho, B.C. (2012). "Antioxidant activity of *Moringa oleifera* tissue extracts". *Phytotherapy Research* 26: 1366-1370.
- Santos, S.A.; Luz, A.; Argolo, C.A.; Teixeira, A.J.; Paiva, H.P.; Coelho, B.L. (2009). "Isolation of a

- seed coagulant *Moringa oleifera* Lectin". *Process Biochemistry* 44: 504-508.
- Sarkhel, S. (2014). "Ethnobotanical survey of folklore plants used in treatment of snakebite in paschim medinipur district, West Bengal". *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 4(5): 416-420.
- Satish, A.; Reddy, P.V.; Sairam, S.; Ahmed, F.; Urooj, A. (2014). "Antioxidative effect and DNA protecting property of *Moringa oleifera* root extracts". *J Herbs Spec Med Plants* 20(3) 209-220.
- Shanker, K.; Gupta, M.M.; Srivastava, S.K.; Bawankule, D.U.; Pla, A.; Khanuja, S.P.S. (2007). "Determination of bioactive nitrile glycoside(s) in drumstick (*Moringa oleifera*) by reverse phase HPLC". *Food Chemistry* 105: 376-382.
- Silva, N.; Mendes, B.A.; Sales, J.C.; Pagliarini, M. (2011). "Meiotic behavior and pollen viability in *Moringa oleifera* (moringaceae) cultivated in southern Brazil". *Genetics and Molecular Research* 10(3): 1728-1732.
- Singh, N.B.; Singh, R.B.; Singh, R.L.; Prakash, D.; Dhakarey, R.; Upadhyay, G.; Singh, B.H. (2009). "Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and ant quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*" *Food and Chemical Toxicology* 47: 1109-1116.
- Singh, P.S.; Sing, D. (2010). "Biodiesel production through the use of different sources and characterization of oils and their esters as the substitute of diesel: A review". *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14: 200-216.
- Sivaranjani, V.; Philominathan, P. (2016). "Synthesize of titanium dioxide nanoparticles using *Moringa oleifera* leaves and evaluation of wound healing activity". *Wound Medicine* 12: 1-5.
- Sreelatha, S.; Jeyachitra, A.; Padma, R.P. (2011). "Antiproliferation and induction of apoptosis by *Moringa oleifera* leaf extract on human cancer cells". *Food and Chemical Toxicology* 49: 1270-1275.
- Strahler, A.N.; Strahler A.H. (1989). *Geografía Física* (3ª ed). Omega, Barcelona.
- Stohs, S.J.; Hartman M.M. (2015). "Review of the safety and efficacy of *Moringa oleifera*". *Phytotherapy Research* 29: 796-804.
- Sunkireddy, P.; Nath Jha, S.; Kanwar, J.R.; Yadav, S.C. (2013). "Natural antioxidant biomolecules promises future nanomedicine based therapy for cataract. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces". *Molecular and Medicine Research* 112: 554-562.
- Taireja; T. (2011). Biochemical estimation of three primary metabolites from medicinally important plant *Moringa oleifera*". *International Journal of Pharmaceutical Science Review and Research* 7(2): 186-188.
- Takhtajan, A. (2009). "*Flowering plants*". Springer Science. New York.
- The Plant List. Versión 1.1 [en línea]. Royal Botanic Gardens, Kew and Missouri Botanical Gardens. <www.theplantlist.org> [Consulta: octubre de 2016].
- Thurber, M.D.; Fahey, J.W. (2009). "Adoption of *Moringa oleifera* to Combat Under-Nutrition Viewed through the lens of the Diffusion of Innovations". *Ecology of Food and Nutrition* 48: 212-225.
- Treesforlife [en línea]. ONG Trees for Life, Wichita, Kansas (E.E.U.U.), actualización: 2011. <<http://www.treesforlife.org/our-work/our-initiatives/moringa>>. [consulta: octubre de 2016].
- Troup, R.S. (1921). "*The Silviculture of Indian Trees*". Clarendon Press, Oxford.
- Tsaknis, J.; Lalas, S.; Gergis, V.; Dourtoglou, V.; Spiliotis, V. (1999). "Characterization of *Moringa oleifera* variety Mbololo seed oil of Kenya". *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 4495-4499.
- Tsouh, F.P.; Kwadwo, N.A.; Appiah Opong, R.; Tchokouaha, Y.L.; Addo, P.; Asante, K.I.; Boyom, F.F. (2015). "Ethnopharmacological reports on anti-buruli ulcer medicine plants in three West African Countries". *Journal of Ethnopharmacology* 172: 297-311.
- Valere, P.; Fokou, T.; Kwadwo, A.; Appia Opong, R.; Lauve, R.; Yamthe, T.; Addo, P.; Asante, I.K.; Boyom, F. (2015). "Ethnopharmacological reports on anti-Buruli ulcer medicinal plants in three West African countries". *Journal of Ethnopharmacology* 172: 297-311.
- Villarreal Gómez, A.; Ortega Angulo, K.J. (2014). "Revisión de las características y usos de la planta *Moringa oleifera*". *Investigación & Desarrollo* 22(2): 309-330.
- Warhurst, M.A.; McConnachie, L.G.; Pollard, T.S. (1997). "Characterization and Applications of activated carbon produced from *Moringa oleifera* seed husks by single-step steam pyrolysis". *Water Research* 31(4): 759-766.

Yadav, S.; Srivastava, J. (2014). "Research article genetic diversity analysis on *Moringa oleifera* by using different molecular markers: A review". *International Journal of Recent Scientific Research* 5(12): 2277-2282.

Yin, C.Y. (2010)." Emerging usage of plant-based coagulants for water and wastewater treatment". *Process Biochemistry* 45: 1437-1444.

Análisis comparativo de las estructuras endomorfológicas de hojas verdes sin procesar y zapecadas de *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (Aquifoliaceae). Modificaciones cito-histológicas

Carlos G. Altamirano, Marta E. Yajía*

Laboratorio de Farmacobotánica Dr. Aníbal Gumercindo Amat. Departamento de Farmacia. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Félix de Azara 1552. 5° piso. Posadas. Misiones. Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: marta@fceqyn.unam.edu.ar

Resumen

En los pasos previos a la elaboración del producto comercial denominado “yerba mate”, se procede al “zapecado” de las hojas de *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (Aquifoliaceae). El proceso consiste en un secado rápido con exposición del material fresco directamente a las llamas. En el presente trabajo se estudiaron mediante técnicas de micrografía de rutina, hojas verdes y hojas zapecadas de *I. paraguariensis*, con la finalidad de analizar si el proceso de “zapecado” producía cambios evidenciados en la anatomía foliar. Como resultado se concluyó que la anatomía foliar mantiene su estructura aun después de pasar por el proceso de “zapecado”.

Comparative Analysis of Endomorphological Structures on Greens Leaves without Process and “Zapecadas” of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (Aquifoliaceae). Cito - histological Modifications

Abstract

In the steps leading to the production of the commercial product called “yerba mate”, the “zapecado” of the leaves of *Ilex paraguariensis* A. St. Hill. (Aquifoliaceae) is carried out. The process consists of a rapid drying with the exposure of the fresh material directly to the flames. In the present work green leaves of *I. paraguariensis* with and without “zapecado”, were studied by means of routine micrography techniques, in order to analyze if the zapecado process produced evident changes in the foliar anatomy. As a result, it has been concluded that the foliar anatomy maintains its structure even though it has undergone the “zapecado” process.

Introducción

En la elaboración de la “yerba mate” el paso posterior a la cosecha es el “zapecado” (Michalus, 1996). El proceso se define como el tratamiento térmico

inicial en el proceso de secanza de la yerba mate, que consiste en la exposición de las hojas y ramas a la acción directa del fuego, con el objeto de detener los

Palabras clave: *Ilex paraguariensis* - yerba zapecada - micrografía.

Key words: *Ilex paraguariensis* - yerba zapecada - micrography.

procesos biológicos, acompañado de la formación de ampollas bajo la epidermis de las hojas con un ligero y típico crepitar (BPM, 2006).

Las hojas verdes recién cortadas son sometidas por espacio de 20 a 30 segundos a la acción directa de una llamarada que genera una brusca elevación de la temperatura en el material vegetal. Este tratamiento térmico muy violento, provoca entre otras cosas, la inactivación enzimática, deteniendo los procesos biológicos de degradación. El procedimiento da como resultado una importante disminución del contenido de humedad en la hoja. Durante esta operación, la yerba se introduce en un tambor rotatorio de 3 metros de diámetro y 9 metros de longitud denominado “tambor de zapecado”, el material avanza en el sentido del aire caliente proveniente de una hoguera, impulsado por aspas dispuestas en forma de hélice dentro del tambor mencionado (De Bernardi, 2016).

Su correcta realización implica una importante reducción o eliminación de residuos de plaguicidas debido al tratamiento térmico, cuyos gases de combustión en contacto con las ramas de yerba mate alcanzan temperaturas de 400 - 550 °C, por un tiempo corto, evitará la generación de compuestos característicos del pardeamiento, asegurará la destrucción de gran parte de los microorganismos presentes susceptibles de generar enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) y evitará problemas en la etapa siguiente de secado por un elevado contenido de humedad (Prat Kricun y col., 2006).

Como objetivos del presente trabajo se plantea, comprobar si el proceso de zapecado produce la rup-

tura de la epidermis de las hojas, realizar un análisis comparativo de las estructuras endomorfológicas de hojas verdes sin procesar y zapecadas y contribuir al conocimiento de la morfo-anatomía de las hojas de *Ilex paraguariensis* en el proceso de elaboración de la yerba mate comercial (CAA, 2007).

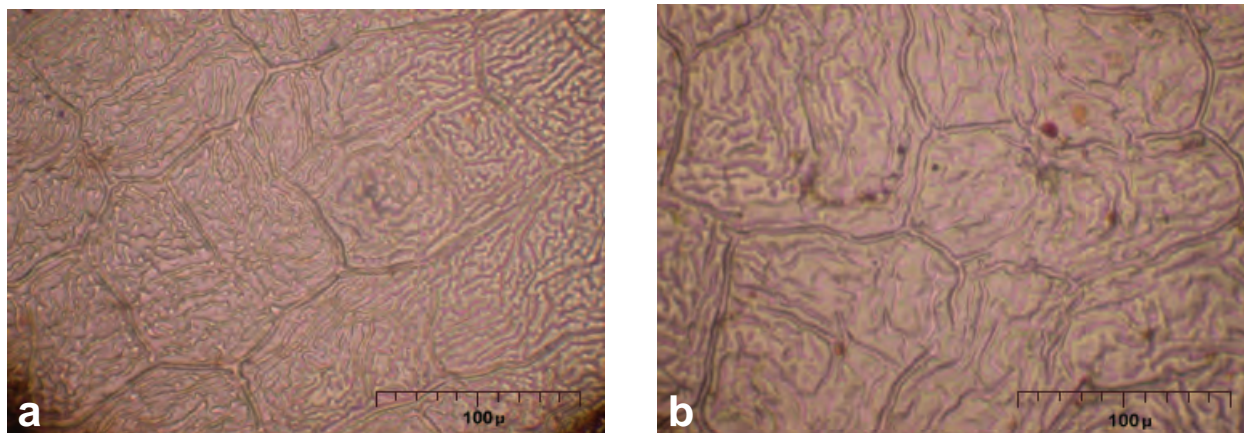
Materiales y Métodos

Se analizaron 30 hojas verdes y 30 hojas zapecadas provenientes de Santo Pipó, Provincia de Misiones, mediante cortes transversales y obtención de epidermis por medio de moldes, utilizando resina acrílica, se coloreó con safranina. Se documentó fotográficamente mediante la utilización de un microscopio Nikon Labophot-2, empleando cámara digital. El material relevado entero fue documentado para su preservación y resguardo en la cátedra de Farmacobotánica y de Biología Vegetal de la Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales (Gattuso y Gattuso, 1999; Zarlavsky, 2014).

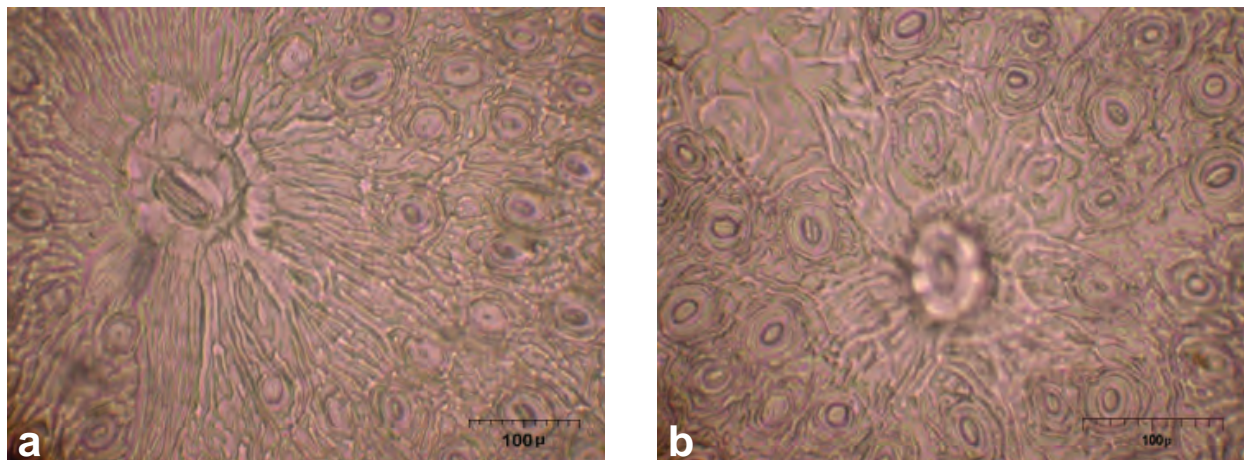
Resultados

En las hojas verdes (Figuras 1a y 2a) y zapecadas (Figuras 1b y 2b) en vista superficial de la cara adaxial se observan células epidérmicas que exhiben un contorno poligonal con ángulos redondeados y con abundantes estrías cuticulares, dos tipos de estomas ciclocíticos en la cara abaxial (hipoestomática), pequeños y abundantes; los otros menos abundantes,

Figura 1.- Epidermis adaxial de la hoja de *Ilex paraguariensis*



a: Hoja verde; **b:** hoja zapecada.

Figura 2.- Epidermis abaxial de la hoja de *Ilex paraguariensis***a:** Hoja verde; **b:** hoja zapecada

pero de mayor tamaño (hidátodos) cuyas células estomáticas se sobreelevan entre las células epidérmicas propiamente dichas (Amat, 1991).

En cortes transversales (Figuras 3 y 4) se observa un mesófilo de estructura dorsiventral con 2 o más estratos de parénquima en empalizada y abaxialmente 1-2 estratos de clorénquima esponjoso formado por células con abundantes meatos. En ambos parénquimas se observan numerosos cristales

de oxalato de calcio en forma de drusas (Spegazzini y col., 2000).

La nervadura central formada por un haz vascular rodeado por un anillo esclerenquimático, fuera del mismo con numerosas drusas. En las figuras 1b y 2b se observa la epidermis de las hojas zapecadas, con las células epidérmicas propiamente dichas y los estomas más contraídos al igual que la ornamentación cuticular más acentuada por la pérdida de agua.

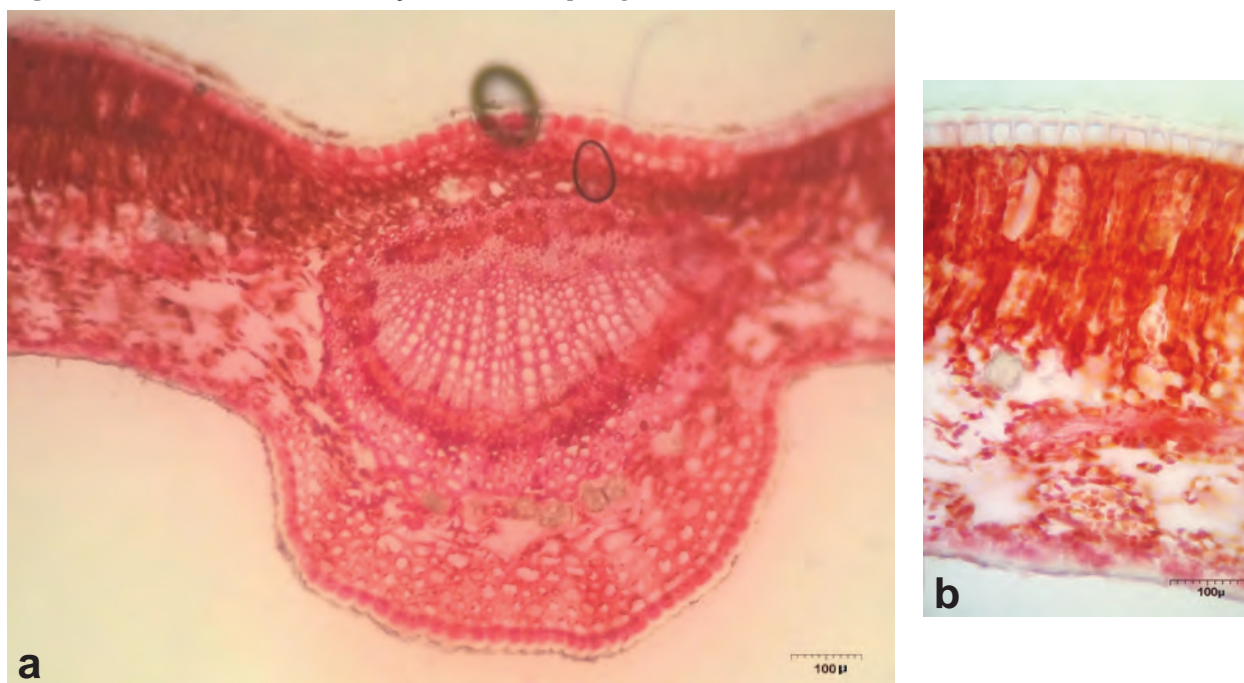
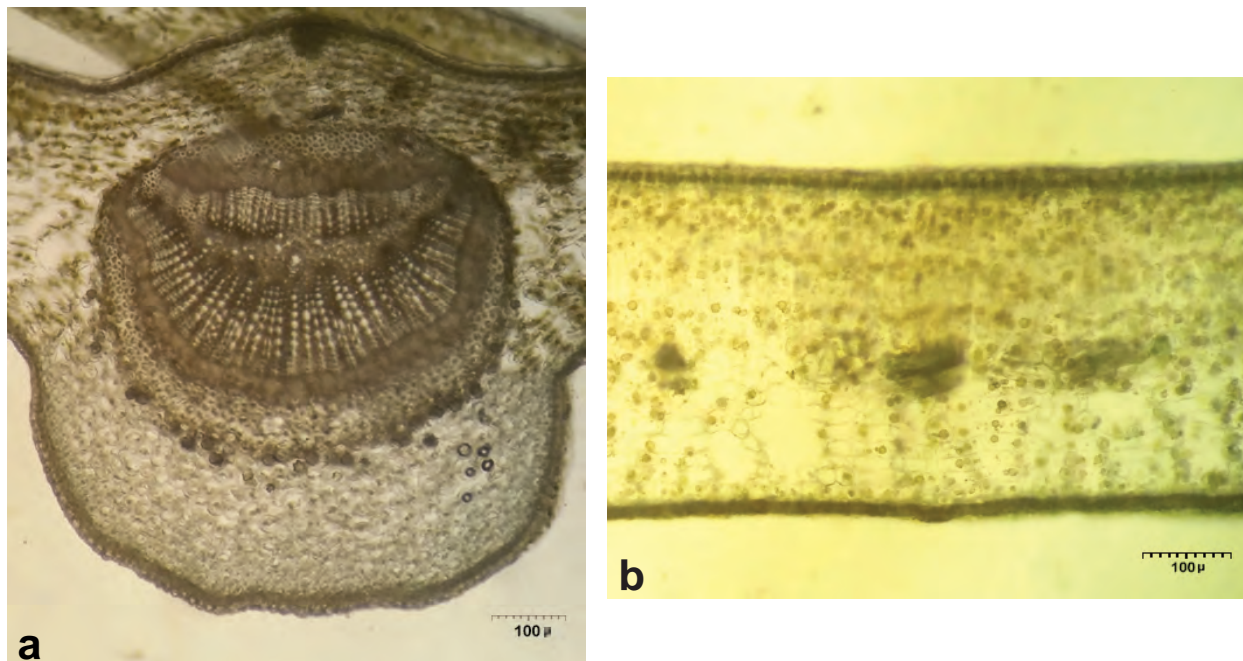
Figura 3.- Corte transversal de la hoja verde de *Ilex paraguariensis***a:** Corte transversal de la nervadura media; **b:** corte transversal de la lámina

Figura 4.- Corte transversal de la hoja zapecada de *Ilex paraguariensis***a:** Corte transversal de la nervadura media; **b:** corte transversal de la lámina

En la lámina foliar de las hojas zapecadas se observan las estructuras histológicas conservadas (Figura 4).

El análisis realizado permitió comprobar que las estructuras morfo-anatómicas de hojas de *Ilex paraguariensis* conservan sus estructuras cito-histológicas tanto de la epidermis como del mesófilo, aún en aquellas sometidas al proceso de zapecado.

Discusión y conclusiones

En todas las muestras de hojas de *I. paraguariensis*, la anatomía de las células epidérmicas propiamente dichas y sus modificaciones, y el mesófilo mantienen su estructura (Farmacopea Argentina, VII Ed.2004). No se encontraron diferencias anatómicas relevantes.

Se infiere que la fuerte ornamentación cuticular estriada presentes en las epidermis de hojas de *Ilex paraguariensis*, actúa como barrera estructural y de protección de todos los tejidos que conforman la lámina foliar.

La utilización de las técnicas analíticas tradicionales de micrografía (Gattuso y Gattuso, 1999;

Zarlavsky, 2014) reafirman las innegables ventajas en las actividades vinculadas tanto en la caracterización como en el control de calidad de las drogas de origen vegetal.

Referencias bibliográficas

- Amat, A. G. (1991). "Caracteres histofoliare diferenciales de *Ilex paraguariensis* St. Hill. ("yerba mate") y su adulterante *Mangifera indica* L. ("mango")". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 10 (1): 9-13.
- De Bernardi, L. A. (2016). *Análisis Tecnológicos y prospectivos sectoriales. Complejo agroindustrial de yerba mate y té*. Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva: 1-12.
- Farmacopea Nacional Argentina (2004). VII edición, volumen III. Apartado de Fitoterápicos: 514-517.
- Gattuso S. y Gattuso M. (1999). *Manual de Procedimientos para el análisis de drogas en polvo*. Editora Universidad Nacional de Rosario. Rosario, Argentina: 6-10.

- Prat Kricun, S. D; De Bernardi L. A. y Parra, P. (2006). *Guía para la Aplicación de Buenas prácticas de Manufactura en Yerba Mate*. Secretaria de Agricultura, Ganadería y Pesca. Dirección Nacional de Alimentos. Cap. 3: 40.
- Código Alimentario Argentino*. Capítulo XV. Productos estimulantes o frutivos. Artículo 1198. Ediciones. La Rocca. Buenos Aires, Argentina: 636-639. Actualizado junio 2007.
- Michalus, J. C. (1996). “Análisis de diagrama de proceso aplicado a la secansa de la yerba mate”. *Imagen*. Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Misiones, Oberá, Prov. de Misiones. Última revisión 19 de marzo de 2018.
- Spegazzini E. D.; Castro, M. T.; Carpano, S. M. y Nájera, T. M. (2000). “Control de calidad por análisis micrográficos cuali-cuantitativos de *Ilex paraguariensis* St. Hill. Var. *paraguariensis*, Aquifoliaceae, “yerba mate” y sus adulterantes cogenéricos argentinos”. *Rojasiana* 5 (2): 101 - 124.
- Zarlavsky, Gabriela E. (2014). *Histología Vegetal. Técnicas simples y complejas*. Sociedad Argentina de Botánica: 13-18.

Caracterización química y cuantificación de fenoles totales en aceite de semillas de *Cucurbita* spp.

Gabriela M. Valenzuela*, María Cecilia Giménez, Ariadna S. Soro

Departamento Química Analítica Universidad Nacional del Chaco Austral. Comandante Fernández 755, Presidente Roque Sáenz Peña, Chaco, Argentina CP 3700.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: gabriela@uncaus.edu.ar.

Resumen

Los aceites vegetales son compuestos orgánicos que se obtienen a partir de semillas u otras partes de las plantas en cuyos tejidos se acumulan como fuente de energía. Este trabajo tiene como objetivos realizar una caracterización físico-química y la cuantificación de los fenoles totales en el aceite vegetal obtenido a partir de las semillas de tres variedades de cucurbita: *Cucurbita argyrosperma* C. Huber (sin. *Cucurbita mixta* Pangalo), *Cucurbita moschata* Duchesne y *Cucurbita maxima* Duchesne. El extracto lipofílico se obtuvo por extracción realizada en Soxhlet con hexano; los parámetros físico-químicos se midieron según técnicas de la Farmacopea Argentina VII Ed. La cuantificación de los ácidos grasos se realizó en un cromatógrafo gaseoso con detector FID y los fenoles totales se cuantificaron por el método de Folin-Ciocalteu. El aceite obtenido presentó óptimas propiedades organolépticas, con índices de refracción entre $1,46 \pm 0,01$ a $1,47 \pm 0,02$, densidad de $0,92 \pm 0,01$ a $0,96 \pm 0,01$ g/ml y viscosidad de $72 \pm 0,58$ a $76 \pm 0,47$ cP. El índice de acidez medido ($1,68 \pm 0,06$ a $2,49 \pm 1,55$ mg KOH/g) indica la presencia de ácidos grasos libres; la saponificación ($201,53 \pm 0,74$ a $212,52 \pm 3,33$ mg KOH/g) denota un bajo contenido de ácidos grasos saturados; el índice de yodo ($53,29 \pm 3,58$ a $26,64 \pm 1,79$ cg I/g) revela la presencia de ácidos grasos insaturados, mientras que el índice de peróxidos ($7,31 \pm 0,62$ a $7,44 \pm 0,52$ meq O₂/Kg) nos confirma un bajo grado de rancidez. La composición de los ácidos grasos saturados e insaturados presentes muestran que dentro de estos últimos el predominante fue el ácido linoleico, variando entre 37,84 a 52,59 %. El ácido palmítico, el ácido esteárico y el ácido n9- oleico variaron entre 13,04 a 15,30 %, 6,49 a 9,81 % y 27,16 a 38,30 % respectivamente. El ácido araquídico fue significativamente inferior al 1% en todas las variedades analizadas (0,53 a 0,78 %). Los valores de fenoles totales van desde $158,83 \pm 0,50$ a $209,80 \pm 0,59$ mol AG/g de muestra. Sobre la base de sus características el aceite de las semillas de *Cucurbita* spp. puede ser considerado como una valiosa fuente de nuevos productos de usos múltiples para la industria farmacéutica y/o cosmética.

Chemical Characterization and Quantification of Total Phenols in *Cucurbita* spp. Seed Oil

Abstract

Vegetable oils are organic compounds that are obtained from seeds or other parts of plants in whose tissues accumulate as a source of energy. This work aims to perform a physical-chemical characterization and

Palabras clave: polifenoles - aceite vegetal - *Cucurbita* spp.

Key words: polyphenols - vegetable oil - *Cucurbita* spp.

quantification of total phenols in vegetable oil obtained from seeds of three varieties of *Cucurbita argyrosperma* C. Huber (syn. *Cucurbita mixta* Pangalo), *Cucurbita moschata* Duchesne and *Cucurbita maxima* Duchesne. The lipophilic extract was obtained by extraction in Soxhlet with hexane; the physico-chemical parameters were measured according to the techniques of the Argentinean Pharmacopoeia VII Ed. The quantification of fatty acids was carried out in a gas chromatograph with FID detector and total phenols quantified by the method of Folin-Ciocalteu. The oil obtained presented optimal organoleptic properties, with refractive indexes between 1.46 ± 0.01 to 1.47 ± 0.02 , density of 0.92 ± 0.01 to 0.96 ± 0.01 g/ml and viscosity of 72.00 ± 0.58 to 76.00 ± 0.47 cP. The measured acid number (1.68 ± 0.06 to 2.49 ± 1.55 mg KOH / g) indicates the presence of free fatty acids, saponification (201.53 ± 0.74 to 212.52 ± 3.33 mg KOH/g) denotes a low content of saturated fatty acids; the iodine index (53.29 ± 3.58 to 26.64 ± 1.79 cg I/g) reveals the presence of unsaturated fatty acids, while that peroxides index (7.31 ± 0.62 to 7.44 ± 0.52 meq O₂/kg) confirms the degree of rancidity. The compositions of saturated and unsaturated fatty acids present show that within the latter the predominant was linoleic acid varying between 37.84 to 52.59 %. Palmitic, stearic and n9-oleic acids ranged between 13.04 to 15.30 %, 6.49 to 9.81 % and 27.16 to 38.30 % respectively. Arachidic acid was significantly lower than 1% in all the varieties analyzed (0.53 to 0.78 %). The total phenolic values range from 158.83 ± 0.50 to 209.80 ± 0.59 mol AG / g of sample. On the basis of its characteristics, the oil of *Cucurbita spp.* seeds can be considered as a valuable source of new multipurpose products for the pharmaceutical and / or cosmetic industry.

Introducción

Los aceites vegetales son compuestos orgánicos que se obtienen a partir de semillas u otras partes de las plantas en cuyos tejidos se acumula como fuente de energía. Están formados básicamente por triglicéridos, diglicéridos, ácidos grasos libres y otros constituyentes minoritarios como tocoferoles y esteroides (Kiritsakis, 1998).

Entre los constituyentes de los aceites vegetales se encuentran los ácidos grasos, compuestos que también se pueden encontrar formando parte de los fosfolípidos y de las lipoproteínas de la membrana celular. Cuando hay insuficiencia de ácidos grasos esenciales se observan síntomas de dermatitis, como escamas y deshidratación de la piel mientras que el suplemento de ácidos grasos a la piel puede curar esos síntomas (Draeos, 2006). Por esta razón, en cosmética y dermofarmacia, son ampliamente utilizados ácidos grasos como el ácido esteárico, linoleico, oleico y linoléico como compuestos emolientes que hidratan, suavizan y mejoran la flexibilidad de la piel y que además reparan la epidermis (Jurado y Muñoz, 2009).

La calabaza pertenece a la familia Cucurbitaceae, familia que comprende unas 850 especies de plantas casi siempre herbáceas, trepadoras o rastreras, que producen frutos generalmente grandes y protegidos

por una corteza firme, con semillas elípticas, achatadas, blancas grisáceas, amarillentas o negruzcas, con un núcleo blanco, con sabor amigdalino en su extracto basal (Nee, 1990).

Se reporta que a nivel mundial el ingrediente con mayor demanda corresponde a los aceites vegetales, con el 88 % de la participación del volumen total de importaciones mundiales, seguido de los extractos con un 6 %, las plantas medicinales con un 3,5 %, los aceites esenciales con un 1,5 % y los colorantes con una participación del 0,5 %. Por tal motivo, la producción de aceites vegetales de semillas de frutas presenta potencialidad de mercado para la industria cosmética mundial, industria que se fortalece cada día más gracias a una percepción, por parte del consumidor, de que el negocio de los ingredientes naturales y todo lo que se deriva de él aportan al sector cosmético calidad, diferenciación y productividad (Proexport-Colombia, 2010).

Este trabajo tiene como objetivos realizar una caracterización físico-química y la cuantificación de fenoles totales en el aceite vegetal obtenido a partir de las semillas de tres variedades de cucurbita: *Cucurbita argyrosperma* C. Huber (sin. *Cucurbita mixta* Pangalo), *Cucurbita moschata* Duchesne y *Cucurbita maxima* Duchesne.

Materiales y Métodos

Material vegetal analizado

Las especies vegetales *Cucurbita argyrosperma* C.Huber (sin. *Cucurbita mixta* Pangalo), *Cucurbita moschata* Duchesne y *Cucurbita maxima* Duchesne (familia Cucurbitaceae), se recolectaron los meses de abril y mayo del 2016 dentro de la ciudad de Quitilipi, provincia del Chaco. La localización por coordenadas para las especies de *Cucurbita* spp. estudiadas fueron (s) 26°52'19,2" (w) 60°13'16,2".

Se compararon las semillas de las tres especies, tres lotes de cada una, colectados de productores de la zona: *Cucurbita argyrosperma* C.Huber (sin. *C. mixta* Pangalo) (CMi) "calabaza rayada", *C. moschata* Duchesne "coreanito" (CMo) y *C. maxima* Duchesne "calabaza plomo" (CMA).

Métodos

Extracción del aceite: 10 g de semillas se extrajeron con 100 ml con n-hexano en un extractor Soxhlet a 90 °C durante 6 h, (AOAC, 1995). El solvente se eliminó mediante el empleo de un evaporador rotatorio y el aceite se secó a 105 °C, hasta peso constante, bajo nitrógeno en un horno de secado.

Análisis fisicoquímicos

- Índice de peróxido: se realizó por titulación yodométrica, según Anwar y col. (2007).
- Índice de yodo: se basó en la adición de halógenos a los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados (AOAC, 2002).
- Índice de saponificación: se hizo reaccionar una cierta cantidad de muestra de aceite con un exceso de solución de KOH 0,5 N y se determinó por diferencia los mg de KOH que reaccionan con la muestra, titulando con HCl 0,5 N (AOAC, 2002).
- Índice de refracción: se determinó con un refractómetro Abbe 2WAJ
- Viscosidad: se determinó con un viscosímetro de Ostwald.
- Densidad del aceite: por picnometría, método 962.37 AOAC (1995).
- Índice de acidez: se analizó de acuerdo con la norma UNE - 55011.

Cuantificación de ácidos grasos

La cuantificación se realizó en un cromatógrafo gaseoso con detector FID, Agilent 6890 equipado con una columna capilar (Supelco 2340) y metilésteres de ácidos grasos 99 % de pureza (FAME-MIX Sigma-Aldrich) como estándares externos y C19 como estándar interno

Extracción de compuestos fenólicos

Según Taga y col. (1984) con modificaciones menores, usando extracción líquido - líquido. Veinte gramos de aceite se disolvieron en 50 ml de hexano y se extrajo tres veces con 30 ml de metanol/agua (80:20, v/v).

Determinación de fenoles totales

Según Singleton y Rossi, 1965 se fundamenta en que los compuestos fenólicos reducen el reactivo de Folin-Ciocalteu para formar un complejo azulado que absorbe a 765 nm. Se midió en un espectrofotómetro UV-Visible Perkin Elmer Lambda 25. Los resultados se expresan en mg de ácido gálico por g de extracto (mg AG/g extracto).

Los reactivos usados fueron calidad analítica, siendo el reactivo Folin-Ciocalteu (Fluka).

Resultados

Los aceites extraídos son de color verde y el contenido de lípidos varió entre $30,4 \pm 0,8$ a $40,8 \pm 2,5$ % en m.s. El análisis de varianza muestra una diferencia significativa en el contenido de lípidos en estas semillas ($p < 0,05$). Estos valores son inferiores a los obtenidos por Murkovic y col. (1996) con contenido de aceite de 41,8 a 54,9 % y a los determinados por Idouraine y col. (1996) de 34,5-43,6 % ambos en *C. pepo* y también son inferiores a los de girasol 45,6 % y maní 47,5 % (FAO, 1982), pero superiores a los de soja 19,1 % (Oyenuga, 1968).

Estas semillas en general tienen altos niveles de aceites, los que presentaron óptimas propiedades organolépticas de aceite comestible, físicamente estable y no mostraron signos de rancidez, con índices de refracción entre $1,46 \pm 0,01$ a $1,47 \pm 0,02$, densidad de $0,92 \pm 0,01$ a $0,96 \pm 0,01$ g/ml y viscosidad de $72,00 \pm 0,58$ a $76,00 \pm 0,47$ centipois (Tabla 1).

El índice de acidez medido ($1,68 \pm 0,06$ a $2,49 \pm 1,55$ mg KOH/g) indica la presencia de ácidos grasos libres, la saponificación ($201,53 \pm 0,74$ a $212,52 \pm 3,33$ mg KOH/g) denota un bajo contenido de ácidos grasos saturados, y el de yodo ($53,29 \pm 3,58$ a $26,64 \pm 1,79$ cg I/g) revela la presencia de ácidos grasos insaturados, que pueden clasificarse como semiseca-

do, mientras que el de peróxidos ($7,31 \pm 0,62$ a $7,44 \pm 0,52$ meq O₂/Kg) nos confirma que estos aceites tienen bajo grado de rancidez (Tabla 2).

La composición de los ácidos grasos saturados e insaturados (Tabla 3) presentes en las semillas ensayadas muestran que dentro de estos últimos el predominante fue el ácido linoleico, variando entre

Tabla 1.- Propiedades físicas del aceite de semillas de *Cucurbita* spp.

	Índice de refracción 20 °C	Densidad mg/ml	Viscosidad centipoise
Calabaza rayada	$1,46 \pm 0,02$	$0,92 \pm 0,01$	$74,12 \pm 0,51$
Coreanito	$1,47 \pm 0,02$	$0,92 \pm 0,01$	$72,36 \pm 0,57$
Calabaza plomo	$1,46 \pm 0,01$	$0,95 \pm 0,01$	$76,11 \pm 0,47$

Tabla 2.- Propiedades fisicoquímicas del aceite de semillas de *Cucurbita* spp.

	Acidez (mg KOH/g)	Saponificación (mg KOH/g)	Iodo (cg I/g)	Peróxido (meq O ₂ /Kg)	Esterificación
Calabaza rayada	$2,49 \pm 1,55$	$212,52 \pm 3,33$	$26,64 \pm 1,79$	$7,44 \pm 0,52$	$210,01 \pm 3,69$
Coreanito	$1,96 \pm 0,12$	$208,24 \pm 1,41$	$53,96 \pm 3,68$	$7,71 \pm 0,95$	$206,03 \pm 1,53$
Calabaza plomo	$1,68 \pm 0,06$	$201,53 \pm 0,74$	$53,29 \pm 3,58$	$7,31 \pm 0,62$	$200,16 \pm 0,26$

Tabla 3.- Composición de ácidos grasos de semillas de *Cucurbita* spp.

% Ácidos Grasos	Calabaza rayada	Coreanito	Calabaza plomo
Palmítico (16:0)	13,04	15,30	13,23
Palmitoleico (16:1)	-	-	-
Heptadecanoico (17:0)	-	-	-
Heptadecenoico (17:1) c	-	-	-
Stearico (18:0)	6,49	8,11	6,98
Elaidico (18:1) n9 t	-	-	-
Oleico (18:1) n9 c	27,17	38,30	30,07
Linoelaídico (18:2) t	-	-	-
Linoleico (18:2) n-6	52,60	37,48	49,26
Araquidico (20:0)	0,38	0,49	0,44

37,84 a 52,59 %, que por su naturaleza de polinsaturado (dos dobles enlaces) y de pertenecer al grupo omega-6, le confiere al aceite sus características de líquido. El ácido palmítico, el ácido esteárico y el ácido n9-oleico variaron entre 13,04 a 15,30 %, 6,49 a 9,81 % y 27,16 a 38,30 % respectivamente. El ácido araquídico fue significativamente inferior al 1 % en todas las variedades analizadas (0,53 a 0,78 %), este bajo nivel de aceites saturado le otorga mejor calidad de aceite vegetal comestible, resultados que concuerdan con los reportados por Ortiz Grisales y col. (2009).

Los valores de fenoles totales van desde $0,159 \pm 0,001$ a $0,210 \pm 0,001$ mg EAG/g extracto, los cuales son superiores a los encontrados por otros investigadores que han analizado los aceites de semillas de *Cucurbita pepo* (Andjelkovic y col., 2010). Parry y col. (2008) analizaron el contenido de compuestos fenólicos totales en el aceite extraído de semillas de calabaza tostadas (*C. pepo* L.), utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu y verificaron la presencia de 1,58 mg EAG/g extracto. Además Veronezi y Jorge (2012) hallaron valores superiores a todos los mencionados anteriormente al analizar las semillas de las variedades de calabaza (*Cucurbita* spp.) Nova Caravela, Mini Paulista, Menina Brasileira y Moranga de Mesa.

Conclusión

Sobre la base de sus características el aceite de semilla de *Cucurbita* spp. puede ser considerado como una valiosa fuente de nuevos productos de usos múltiples para la industria farmacéutica y/o cosmética.

Referencias bibliográficas

- Andjelkovic, M.; Van Camp, J.; Trawka, A.; Verhé, R. (2010). "Phenolic compounds and some quality parameters of pumpkin seed oil". *European journal of lipid science and technology* 112(2): 208-217.
- Anwar, F.; Shahzad, A.; Shahid, C., Abdullah, I.; Hussain, H. (2007). "Evaluación de la degradación oxidativa del aceite de soja almacenado a temperatura ambiente y a la luz solar". *Grasas y Aceites* 58: 3989.
- AOAC (1995) *Official methods of analysis*. Washington. D.C. (USA): Editorial Ass. Off. Agric. Chem, 16th.
- AOAC (2002) *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society*. Champaign, Illinois: American Oil Chemists Society ed. Firestone.
- Draeos, Z. (2006). *Serie dermatología estética. Cosmeceuticos*. Elsevier España: 23.
- FAO (1982) Food Composition Table For the Near East. Nuts and Seeds. FAO Food and Nutrition Paper 26: 85.
- Farmacopea Argentina Septima Ed. Página web en línea http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/pfds/Libro_Primer.pdf [Consulta: 15 de noviembre de 2014].
- Jurado, J.; Muños, V. (2009). *Caracterización del aceite de las semillas de Solanum quitoense L. variedad la selva y evaluación de su actividad antioxidante*. Pereira. Tesis de grado. Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología. Escuela de Química.
- Idouraine, A.; Kohlhepp, E.A.; Weber, C.W. (1996). "Nutrient constituents from eight lines of naked seed squash (*Cucurbita pepo* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 721-724.
- Kiritsakis, A.K (1998). *Composition of olive oil: Olive oil from the tree to the table*. 2th Ed. Food & Nutrition Press Inc USA.
- Murkovic, M.; Hillebrand, A.; Winkler, J.; Pfannhauser, W. (1996). "Variability of vitamin E content in pumpkin seeds (*Cucurbita pepo* L.)". *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 202(4): 275-278.
- Nee, M. (1990) "The domestication of *Cucurbita*". *Economic Botany* 44: 56.
- Ortiz Grisales, S.; Pasos López, S.C.; Rivas Abadía, X.C.; Valdés Restrepo, M.P.; Cabrera, V. (2009). "Squash seed oil extraction and characterization". *Acta Agronómica*, 58(3): 145-151.
- Oyenuga, V.A. (1968). *Nigeria's foods and food-stuffs*. Ibadan, University Press.
- Parry, J.W.; Cheng, Z.; Moore, J.; Yu, L. (2008). "Fatty acid composition, antioxidant properties, and antiproliferative capacity of selected cold-pressed seed flours". *Journal of the American Oil Chemists Society* 85: 457-464.
- Proexport Colombia (2010). *Perfil sectorial. Sector Cosmético*. Fiducoldex-Fideicomiso Proexport Colombia, 1 (2), Bogotá.

Singleton, V.; Rossi, J. (1965). "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents". *American Journal Enology Viticulture* 16: 144-58.

Taga M.S; Miller E.E; Pratt D.E. (1984). "Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants".

Journal of the American Oil Chemists Society 61: 928-993.

Veronezi, C.M.; Jorge, N. (2012). "Bioactive compounds in lipid fractions of pumpkin (*Cucurbita* sp) seeds for use in food". *Journal of Food Science* 77(6): 653-657.

Composición fitoquímica y nutricional de *Momordica charantia* y actividad antioxidante

Lorena V. Semeniuk*, Alberto J. Bela, Carlos A. Vonka, Mara C. Romero, María B. Nuñez

Departamento de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional del Chaco Austral (UCAUS). Comandante Fernández 755, Roque Sáenz Peña, (3700) Chaco, República Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: lorenasemeniuk@uncaus.edu.ar

Resumen

Momordica charantia L. (Cucurbitaceae) es una enredadera anual, herbácea, de flores solitarias y amarillas unisexuadas, fruto oblongo, tuberculado, anaranjado-amarillento, y semillas color rojo intenso. Los principales usos empíricos reportados son como anticolesterolémico, hipoglucemiante y antianémico, así como alimenticio. Sus hojas y frutos fueron evaluados en otras regiones en su aporte nutricional y varias actividades biológicas. Los objetivos de este trabajo fueron determinar la composición fitoquímica y nutricional de la especie y evaluar su actividad antioxidante. La planta se recolectó en zonas periurbanas de la ciudad de Sáenz Peña (Chaco). Las partes usadas fueron semillas, frutos y hojas de la planta; que se lavaron y secaron a temperatura ambiente y se pulverizaron a polvo grueso. El tamizaje fitoquímico se realizó mediante reacciones coloridas y de precipitación. La determinación de humedad, proteínas, lípidos y cenizas se realizaron según las técnicas AOAC (1998). El contenido de hidratos de carbono se determinó por el método de antrona y el valor energético se calculó según el Reglamento Técnico de Mercosur. El contenido de fenoles totales se determinó con el reactivo Folin-Ciocalteu, el contenido de flavonoides por la reacción con cloruro de aluminio y la actividad antioxidante con el reactivo DPPH. En la evaluación preliminar se determinó la presencia de taninos, fenoles, flavonoides, lípidos, hidratos de carbono, antraquinonas, saponinas y proteínas. Las semillas presentaron el mayor contenido de grasas y proteínas, aportando el mayor valor energético. Las hojas presentaron el mayor contenido de cenizas totales y el mayor contenido de fenoles totales. Los frutos mostraron los valores más altos de contenido en humedad y de carbohidratos y mayor capacidad atrapadora de radicales libre. La especie *M. charantia* puede considerarse un recurso de interés por su aporte nutricional y con potencial actividad antioxidante para formulaciones farmacéuticas.

Phytochemical and Nutritional Composition of *Momordica charantia* and Antioxidant Activity

Abstract

Momordica charantia L. (Cucurbitaceae) is an annual, herbaceous creeper of solitary flowers, unisexual and yellow, oblong, tuberculate, orange-yellow fruit, and intense red seeds. The main empirical uses reported are anticholesterolemic, hypoglycaemic and antianemic, as well as nutritional uses. Its leaves and fruits

Palabras clave: metabolitos - polifenoles - capacidad antirradicalaria - nutrientes.

Key words: metabolites - polyphenols - antiradical capacity - nutrients.

were evaluated in other regions of the world in their nutritional contribution and several biological activities. The aims of this work was to determine the nutritional and phytochemical composition of the species and to evaluate its antioxidant activity. The plant was collected in periurban areas of the city of Sáenz Peña (Chaco). The parts used were seeds, fruits and leaves of the plant; which were washed and dried at room temperature and pulverized to thick powder. Phytochemical screening was carried out by means of colorful and precipitation reactions. The determination of humidity, proteins, fats and ashes was performed according to the AOAC techniques. The content of carbohydrates was determined by the anthrone method and the energy values were calculated according to the Mercosur Technical Regulations. The content of total phenols was made with the Folin-Ciocalteu reagent, the flavonoid content by the reaction with aluminum chloride and the antioxidant activity with the DPPH reagent. In the preliminary evaluation, the metabolites tannins, phenols, flavonoids, lipids, carbohydrates, anthraquinones, saponins and proteins were found. The seeds presented the highest content of fats and proteins, providing the highest energy value. The leaves presented the highest content of total ash and the highest content of total phenols. The fruits showed the highest values of moisture and carbohydrate content and higher free radical scavenging capacity. The species *M. charantia* can be considered a resource of interest for its nutritional contribution and with potential antioxidant activity for pharmaceutical formulations.

Introducción

Momordica charantia L. (Cucurbitaceae) se conoce popularmente como “melón amargo”, “cundeamor chino” o “tomaco”. Es una especie tropical o subtropical, crece en las sabanas y matorrales del África tropical y Asia, fue introducida y aclimatada en América y Europa. Se cultiva principalmente en el sur y sudeste de Asia, en China, África y las Antillas. En la Argentina se la encuentra en la región mesopotámica y litoral.

Esta planta es una enredadera anual, herbácea, con zarcillos, de flores solitarias y amarillas unisexuadas, fruto oblongo, tuberculado, anaranjado-amarillento, y semillas de color rojo intenso (Fon-negra y Jimenez, 1990; Gupta y col., 2011; Hanan Alipi y col., 2009)

Entre los principales usos empíricos puede citarse el uso hipoglucemiante, anticolesterolémico y antianémico, purgante, antiherpético, antirreumático, cicatrizante, estomáquico, antihemorroidal, entre otros (Grover y Yadav, 2004).

El efecto antihelmíntico fue estudiado por Das y col. (2006) y por Avello Oliver y col. (2006). Bourinbaiar y Lee-Huang (1996) encontraron que las proteínas MAP30 y GAP31 aisladas de *M. charantia* pueden tratar las infecciones de *Herpes virus*. Otros estudios indican que *M. charantia* tiene principios activos con propiedades antiinflamatoria y anticancerosa (Quilez y col., 2006). La actividad antimicrobiana fue estudiada por Jagessar y Moha-

meda (2008) en extractos de hojas de esta especie y la actividad dependió del solvente utilizado para la extracción.

En estudios previos se encontró que tiene uso popular alimenticio y sus hojas y frutos fueron evaluados en su aporte nutricional (Alonso, 2004; Bakare y col., 2010; Ullah y col., 2011).

Los objetivos de este trabajo fueron determinar la composición fitoquímica y nutricional de la especie que crece en la provincia del Chaco (República Argentina) y evaluar su actividad antioxidante.

Materiales y Métodos

Material vegetal

Los ejemplares de *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae) se recolectaron en zonas periurbanas de la ciudad de Sáenz Peña (Chaco), en espacios baldíos y su localización según coordenadas fue longitud: 60° 26' 46" O, latitud: 26° 46' 15" S. El material se identificó en el Laboratorio de Farmacobotánica de la Universidad Nacional del Chaco Austral, asignando el registro como Semeniuk, L.V. n° I-7 y un ejemplar se depositó en el Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE) con el código CTES0060493. El material vegetal destinado al estudio fueron las semillas, los frutos y las hojas de la planta.

Reactivos químicos

Los reactivos usados fueron calidad analítica, siendo el reactivo Folin-Ciocalteu (Fluka), el radical DPPH (Aldrich) y el radical catión ABTS (Sigma).

Métodos

El material vegetal fue lavado con agua potable, secado al natural y pulverizado con molino de cuchillas (TecnoDalvo®) hasta polvo grueso.

El tamizaje fitoquímico se realizó siguiendo una marcha sistemática para la separación de la fracción etanólica, la clorofórmica y la acuosa. Las fracciones se usaron para desarrollar reacciones coloridas y de precipitación destinadas al reconocimiento de los principales metabolitos secundarios (Dominguez, 1989; Rondina y Coussio, 1969).

Las determinaciones de humedad, proteínas, grasas y cenizas totales se realizaron sobre el material en polvo siguiendo las técnicas de AOAC (1998) 950.46; 960.52; 991.36 y 920.153, respectivamente. El análisis de hidratos de carbono se hizo de acuerdo con el método de antrona de Clegg (1956) con un espectrofotómetro UV-Visible Beckman® DU 640B. El valor energético se calculó según el Reglamento Técnico Mercosur/GMC/Res. N° 46/03.

El contenido de fenoles totales se realizó sobre los extractos etanólicos de hojas, frutos y semillas obtenidos por maceración en frío y siguiendo el método de Singleton y col. (1999) con el reactivo Folin-Ciocalteu. El contenido de flavonoides totales se determinó en los extractos antes mencionados siguiendo el método de Popova y col. (2005) por complejación con cloruro de aluminio. La actividad antioxidante se determinó sobre los extractos citados con el método de Re y col. (1999), usando el reactivo DPPH. Estas determinaciones analíticas fueron por espectrofotometría UV-visible (UV-1800, Shimadzu®).

Resultados y Discusión

En la evaluación preliminar del estudio fitoquímico se determinaron cinco metabolitos secundarios y se reveló la presencia de los metabolitos primarios con valor nutricional, según se muestra en la tabla 1.

Los metabolitos detectados coinciden con otros estudios (saponinas, aceites fijos, triterpenos/esteroides

Tabla 1.- Tamizaje fitoquímico de hojas, semillas y frutos de *Moringa oleifera*

Metabolitos	Hojas	Semillas	Frutos
Flavonoides	++	++	+
Taninos/Fenoles	++	+	+
Lípidos	+	++	+
Hidratos de Carbono	+	+	+
Esteroides/Triterpenos	+	+	++
Antraquinonas	-	+	++
Saponinas	++	-	+
Proteínas	+	++	+

Referencias: (++) : reacción visible intensa; (+) : reacción visible; (-) : reacción no observada.

y proteínas) aunque no se reconoció la presencia de glicósidos y alcaloides en las partes estudiadas de esta especie, a diferencia de otros reportes (Raman y Lau, 1996; Daniel y col., 2014; Kumari y col., 2017).

En el material en polvo de las partes aéreas (hojas, frutos y semillas) de *M. charantia* se determinó el contenido de humedad residual y de cenizas totales, y se cuantificaron los principales componentes nutricionales. Los valores de esos ensayos se presentan en la tabla 2.

Los frutos presentaron el mayor contenido de humedad y de carbohidratos y las hojas tuvieron el mayor contenido de cenizas totales. Las semillas presentaron el mayor contenido de lípidos y de proteínas, así como el mayor valor energético. Los frutos presentaron valores similares en cuanto a lípidos y proteínas comparado con Yuwai y col. (1991) y mayor contenido de carbohidratos y aporte energético que en Bakare y col. (2010) y Nagarani y col. (2014). De igual modo, las hojas presentaron menor contenido de lípidos y proteínas que los determinados por Bakare y col. (2010) y las semillas mostraron mayor contenido de lípidos y proteínas que el estudio antes citado. Las hojas y semillas de este estudio mostraron mayor contenido de carbohidratos y de aporte de energía que los informados por Bakare y col. (2010).

Tabla 2.- Análisis fisicoquímico y nutricional de hojas, semillas y frutos de *Moringa oleifera*

Determinación	Hojas	Semillas	Frutos
Humedad (%)	15,25 ± 0,11	12,62 ± 0,38	16,99 ± 0,02
Cenizas (%)	18,41 ± 0,04	3,29 ± 0,06	4,31 ± 0,66
Lípidos (%)	0,86 ± 0,02	26,52 ± 0,53	1,84 ± 0,01
Proteínas (%)	15,07 ± 0,28	22,00 ± 0,07	15,15 ± 0,27
Carbohidratos (%)	40,18 ± 0,13	34,63 ± 0,72	48,14 ± 0,94
Valor energético (kcal/100g)	228,75	465,24	272,34

La composición de polifenoles se evaluó en relación a contenido de fenoles totales y de flavonoides totales y los valores se presentan en la tabla 3. La actividad antioxidante de esta especie se expresó como la capacidad de los extractos para producir una inhibición del 50 % (IC50) de la actividad del radical libre DPPH y los valores se presentan en la tabla 3.

El mayor contenido de fenoles totales se observó en el extracto de hojas y la mayor actividad antioxidante la presentó el extracto de los frutos.

El contenido de fenoles totales en el extracto de semillas es mayor a los resultados obtenidos para los extractos de semillas de otras Cucurbitaceae (Valenzuela y col., 2014), y fue menor su contenido de flavonoides; lo cual puede deberse a la diferencia en la técnica de extracción usada en ambos estudios. Estos resultados concordaron con los antecedentes

de que los extractos alcohólicos de frutos presentaron mayor capacidad atrapadora de radicales libres que los extractos de frutos con otros solventes de extracción (Kubola y Siriamornpun, 2008; Rezaeizadeh y col., 2011).

Conclusiones

La especie *M. charantia* presentó mayor aporte nutricional en sus semillas y frutos y mayor contenido de polifenoles en sus hojas, aun así los frutos mostraron mayor capacidad atrapadora de radicales libres.

Por lo expuesto, esta especie puede considerarse un recurso de interés que podría utilizarse en formulaciones nutraceuticas o en suplementos nutricionales.

Tabla 3.- Contenido de polifenoles y capacidad atrapadora de radical DPPH de hojas, semillas y frutos de *Momordica charantia*

Muestras	Contenido Fenoles (mg EAG/g ext. seco)	Contenido Flavonoides (mg EQ/g ext. seco)	Actividad antioxidante IC50 (µg fenoles/ml)
Hojas	247,43 ± 23,09	0,711 ± 0,048	6,275 ± 0,044
Semillas	147,72 ± 30,37	0,051 ± 0,0054	3,679 ± 0,516
Frutos	33,23 ± 2,79	0,016 ± 0,0004	0,731 ± 0,117

Referencias bibliográficas

- Alonso, J. (2004). *Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos*, 1ª Edición. Editorial Corpus; Rosario, Argentina: 779-784.
- AOAC. (1998). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Association of Official Analysis Chemists International (17th ed.). Washington DC.
- Avello Oliver, W.E.; Silveira Prado, E.A; Peña Rodríguez, F.I.; Camacho Escandón, M.C.; Arce González, M.A. (2006). “Actividad anti-helmíntica in vitro de extractos de *Azadirachta indica* A Juss, *Momordica charantia* L. y *Chenopodium* (Teloxys) *ambrosioides* L”. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, VII (11): 1-10.
- Bakare, R.I.; Magbagbeola, O.A.; Akinwande, A.I.; Okunowo, O.W. (2010). “Nutritional and chemical evaluation of *Momordica charantia*”. *Journal of Medicinal Plants Research* 4(21): 2189-2193.
- Bourinbaiar, A.S.; Lee-Huang, S. (1996). “The Activity of Plant-Derived Antiretroviral Proteins MAP30 and GAP31 against Herpes Simplex Virus Infection in Vitro”. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 219 (3): 923-929.
- Clegg, K.M. (1956). “The application of the anthrone reagent to the estimation of starch in cereals”. *Journal of Science Food Agriculture* 7(1): 40-44.
- Daniel, P.; Supe, U.; Roymon, M.G. (2014). “A review on Phytochemical analysis of *Momordica charantia*”. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry (IJAPBC)* - Vol. 3(1): 214-220.
- Das, P.; Sinhababu, S.P.; Dam, T. (2006). “Screening of Antihelmintic Effects of Indian Plant Extracts”. *Journal of Alternative and Complementary Medicine* 12 (3): 299-301.
- Dominguez, X. (1989). *Métodos de Investigación Fitoquímica*. México D. F.: Limusa.
- Fonnegra, G., R.; Jimenez R, S.L. (1990). *Plantas medicinales aprobadas en Colombia*. Universidad de Antioquía. Colombia.
- Grover, J.K.; Yadav, S.P. (2004). “Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review”. *Journal of Ethnopharmacology* 93: 123-132.
- Gupta, M.; Sharma, S.; Gautam, A.K.; Bhadauria, R. (2011). “*Momordica charantia* Linn. (Karela): Nature’s silent healer”. *International Journal of Pharmaceutical Sciences* 1(1): 32-37. URL: <http://globalresearchonline.net/journalcontents/volume1issue1/Article-007.pdf>
- Hanan Alipi, A.M.; Mondragón Pichardo, J. (2009). *Malezas de México, Heike Vibrans* (ed.). Ficha: Cucurbitaceae, *Momordica charantia* L., melón amargo, (20/08/17). URL: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/cucurbitaceae/momordica-charantia/fichas/ficha.htm>
- Jagesar, R.C.; Mohameda, G.G. (2008). “An evaluation of the antibacterial and antifungal activity of leaf extracts of *Momordica charantia* against *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*”. *Structure* 6(1): 1-14.
- Kubola, J.; Siriamornpun, S. (2008). “Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro”. *Food Chemistry*, 110(4): 881-890.
- Kumari, P.; Kumari, C.; Singh, P.S. (2017). “Phytochemical Screening of Selected Medicinal Plants for Secondary Metabolites”. *International Journal of Life Science Scientific Research* 3(4): 1151-1157.
- Mercosur/GMC/Res. N° 46/03, *Reglamento Técnico Mercosur sobre el Rotulado Nutricional de Alimentos Envasados*. Montevideo. Acceso en: 03/07/2013. Disponible en: http://www.puntofocal.gov.ar/doc/r_gmc_46-03.pdf
- Nagarani, G.; Abirami, A.; Siddhuraju, P. (2014). “Food prospects and nutraceutical attributes of *Momordica* species: A potential tropical biore-sources – A review”. *Food Science and Human Wellness* 3: 117-126
- Popova, M.; Silici, S.; Kaftanoglu, O.; Bankova, V. (2005). “Antibacterial activity of Turkish própolis and its qualitative and quantitative chemical composition”. *Phytomedicine* 12: 221-228.
- Quilez, A.; García, M.; Sáenz, M. (2006). “Plantas utilizadas en procesos inflamatorios y cancerosos en el área del Caribe”. *Revista de Fitoterapia* 6 (1): 59-63.
- Raman, A.; Lau, C. (1996). “Anti-diabetic properties and phytochemistry of *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae)”. *Phytomedicine* 2(4):349-362.

- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. (1999) *Free Radical Biology & Medicine* (9-10): 1231-7. En: Kusko-ski, E.M.; Asuero, A.G.; García-Parilla, M.C.; Troncoso, A.M.; Fett, R. (2004). *Food Science and Technology (Campinas)* 24(4): 691-693.
- Rezaeizadeh, A.; Zuki, A.B.Z.; Abdollahi, M.; Goh, Y.M.; Noordin, M.M.; Hamid, M.; Azmi, T.I.(2011). "Determination of antioxidant activity in methanolic and chloroformic extracts of *Momordica charantia*". *African Journal of Biotechnology*, 10(24): 4932-4940.
- Rondina, R.V.D.; Coussio, J.D. (1969). "Estudio fitoquímico de plantas medicinales argentinas". *Revista de Investigación Agropecuaria Serie 2. Biología y Producción Vegetal*.
- Singleton, V.L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventos, R.M. (1999). "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent". *Methods in Enzymology* 299: 152-178.
- Ullah, M.; Chy, F.K.; Sarkar, S.K.; Islam, M.K.; Absar, N. (2011). "Nutrient and phytochemical analysis of four varieties of Bitter Gourd (*Momordica Charantia*) grown in Chittagong Hill Tracks, Bangladesh". *Asian Journal of Agricultural Research* 5(3): 186-193.
- Valenzuela, G.M.; Cravzov, A.L.; Soro, A.S.; Tauguin, A.L.; Giménez, M.C.; Gruszycki, M.R. (2014). "Relación entre actividad antioxidante y contenido de fenoles y flavonoides totales en semillas de *Cucurbita* spp". *Dominguezia* 30(1): 19-24.
- Yuwai, K.E.; Rao, K.S.; Kaluwin, J.C.; Jones, G.P.; Rivetts D.E. (1991). "Chemical composition of *Momordica charantia* L. fruits". *Journal of Agricultural Food Chemistry* 39: 1762-1763.

Efecto diurético de *Cuphea glutinosa* Cham. et Schldl (Lythraceae) en ratas Wistar

Romina B. Balmaceda^{1*}, Francisco J. Cardinali^{1,2}, Mario A. Thevenon¹, María Elena Di Santo¹

¹ Laboratorio de Botánica, Departamento de Biología, Facultad de Cs. Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMDP). (7600) Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

² Facultad de Cs. Agrarias, INTA, Balcarce, Buenos Aires. Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: rominabalmaceda7@gmail.com.

Resumen

Cuphea glutinosa (Lythraceae), popularmente conocida como “siete sangrías” o “sanguinaria”, ha sido utilizada en las prácticas de medicina popular, especialmente como diurética e hipotensora. Actualmente, es comercializada en herboristerías de la República Argentina y consumida en forma de infusión en concentraciones no específicas. En este estudio se evaluó la diuresis producida en ratas Wistar, a partir de la administración de infusiones de diferentes concentraciones de planta entera de *C. glutinosa*. Se utilizaron tres concentraciones al 2,5 %; 5,0 % y 10,0 %, Furosemida (10 mg/kg peso vivo) como control positivo y solución salina (blanco) (NaCl 0,9 %) como control negativo, que fueron administradas oralmente. Se midieron los niveles de excreción urinaria de las ratas, mantenidas en jaulas metabólicas, en intervalos de 2 horas, durante 8 horas, y una última recolección a las 24 horas. La administración oral de infusión al 5 % incrementó significativamente la excreción urinaria a las 8 horas, comparada con el control positivo. Además se observó una tendencia a la diuresis con la administración de infusiones al 5 % y 10 % a las 4 horas. Durante la aplicación de los tratamientos no se observaron cambios en las condiciones físicas de los animales. Se requieren nuevos estudios para la determinación de la ruta farmacológica y la toxicidad de esta especie.

Diuretic Effect of *Cuphea glutinosa* Cham. et Schldl (Lythraceae) in Wistar Rats

Abstract

Cuphea glutinosa (Lythraceae), popularly known as “siete sangrias” or “sanguinaria”, has been used in folk medicine, especially as a diuretic and hypotensive. Currently, it is marketed in health food shops of Argentina and it is consumed in the form of infusion in non-specific concentrations. This study evaluated the diuresis in Wistar rats, starting from the administration of infusions of whole plant of *C. glutinosa*, in different concentrations. There were used three concentrations of *C. glutinosa*: 2.5 %; 5.0 % and 10.0 %, furosemide (10 mg/kg live weight) as a positive control, and saline solution - (blank) (0.9 % NaCl) as negative control. All the drugs were orally administered. The rats were maintained in metabolic cages, the levels of urinary excretion were measured in intervals of 2 hours, during a period of 8 hours, with a last harvest at 24 hours. Oral administration of infusion 5 % significantly increased urinary excretion 8 hours after the administration of the infusion, compared with positive control. In addition, there was a trend to diuresis in

Palabras clave: *Cuphea glutinosa* - infusiones - *in vivo* - diuresis.

Key words: *Cuphea glutinosa* – infusions - *in vivo* - diuresis.

the case of the administration of infusions 5 % and 10 %, after 4 hours of administration. No changes in the physical conditions of animals were observed during application of treatments. New studies are required for determination of the drug route and the toxicity of this species.

Introducción

Las enfermedades cardiovasculares tienen una importante incidencia en la vida cotidiana. Una de las principales causas de muerte en el mundo está constituida por los infartos de miocardio y los accidentes cerebrovasculares, pudiendo ser evitables. Los diuréticos figuran entre los medicamentos utilizados para el tratamiento de este tipo de enfermedades (Morton y col., 2001).

El riñón de los mamíferos es el órgano osmorregulador que lleva a cabo las complejas funciones en la regulación de la composición química de los fluidos corporales (Hardman y col., 2001), ya que es necesario mantener el volumen de agua dentro de cierto rango, compatible con las necesidades de las células (Nedi y col., 2004). Los diuréticos permiten aumentar la excreción urinaria de sodio y el volumen de orina excretado, lo que ayuda a disminuir el volumen de sangre que circula a través del sistema cardiovascular (Gasparotto y col., 2009).

Cuphea glutinosa Cham. et Schltld (Lythraceae) es originaria de regiones templado-cálidas de América. En Argentina, se encuentra en la estepa pampeana y altiplanicies de las sierras pampeanas y subandinas de Córdoba, Catamarca, San Luis, Tucumán, Jujuy y Salta, (Cabrera y Zardini, 1978; Randall y col., 1997). Vulgarmente conocida como “siete sangrías” o “sanguinaria” es reconocida en la medicina tradicional, por sus propiedades diurética, laxante (Marzocca, 1997), hipotensora (Ratera y Ratera, 1980), y antimalarial (Barboza y col., 2001). Ha sido utilizada como medicinal en comunidades tobas (Marzocca, 1997).

Esta especie vegetal ha sido caracterizada anatómicamente (Barboza y col., 2001; Cardinali y col. 2007) y morfológicamente (Yagueddú y col., 2006; Cardinali y col. 2007). Sin embargo, no existen evidencias científicas, que avalen la mencionada acción medicinal, por ello aún no ha sido registrada en la Farmacopea Argentina (Yagueddú y col., 2006).

El objetivo de este trabajo es comprobar los efectos

diuréticos de *C. glutinosa*, a partir de infusiones de distinta concentración de la planta entera, administradas a ratas Wistar.

Materiales y métodos

Se recolectaron 4 kg de plantas enteras, a partir de un cultivo nativo de *C. glutinosa*, en Sierra de los Padres (37° 56' 45" O, 57° 46' 45" S), Sistema de Tandilia, Buenos Aires, República Argentina, durante los meses de marzo y abril. Los ejemplares, fueron determinadas mediante claves dicotómicas, según la descripción de Cabrera y Zardini (1978) y se utilizaron como material de trabajo. Uno de los ejemplares se conservó herborizado en el Laboratorio de Botánica de la Universidad Nacional de Mar del Plata.

Las plantas fueron secadas en estufa a 40 °C y procesadas mediante un molinillo de café. A partir del pulverizado se prepararon tres extractos acuosos (infusiones) con concentraciones de 2,5 %, 5,0 % y 10,0 % P/V. Las infusiones se obtuvieron colocando 2,5; 5,0 y 10,0 g del material en 100 ml de agua destilada a 100 °C, y se dejaron en reposo a temperatura ambiente durante 15 min (Martín-Herrera y col., 2008; Gasparotto y col., 2009). Luego se filtraron con papel de filtro tipo Whatman de filtrado medio.

Se utilizaron 8 ratas Wistar (4 machos y 4 hembras) de 180 - 250 g por tratamiento, con tres repeticiones. Los animales se obtuvieron del bioterio de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Buenos Aires. Los animales recién destetados fueron mantenidos según las normas bioéticas vigentes para el tratamiento de animales en laboratorio (Jennings y col. 1998). El bioterio contó con jaulas de mantenimiento en condiciones controladas de temperatura, humedad y fotoperíodo (25 ± 2 °C; 63 ± 5 %; 12 horas-ciclo día/noche).

Previamente al estudio, los animales fueron aclimatados en jaulas metabólicas durante un período de quince días, con libre acceso al agua y alimento comercial (Jennings y col., 1998). Además, se tuvo en cuenta que no sufrieran ningún tipo de estrés, para lo cual se consideraron las dimensiones de las jaulas (de mantenimiento y metabólica), las condiciones ambientales, el comportamiento social de las ratas (Jennings y col. 1998) y los factores de bienestar, tanto como la necesidad de conseguir los objetivos científicos.

Se determinó la actividad diurética mediante el método de Kau, y col. (1984) adaptado por Benjumea y col. (2005) y Abdala y col. (2008). Previo a la administración de las infusiones, los animales tuvieron una deprivación de alimento durante 8 horas siguiendo la metodología de Vermeulen y col. (1997) con libre acceso al agua.

Se aplicaron cinco tratamientos consistentes en administraciones orales que correspondieron a 5 ml/kg de peso vivo de las tres concentraciones de *C. glutinosa* (2,5; 5,0 y 10,0 % P/V), 0,5 ml/kg de peso corporal de solución salina de NaCl al 0,9 % (Benjumea y col., 2005) como control negativo o blanco y furosemida como diurético de referencia y control positivo a razón de 10 mg/kg de peso vivo, dada la alta efectividad a corto plazo (Martínez Martín y col., 2004).

Luego de la administración, los animales fueron transferidos a jaulas metabólicas con libre acceso al agua. La orina fue colectada en un vaso de precipitado y con una jeringa graduada se determinó su volumen a intervalos de 2 horas, durante 8 horas, y una última recolección a las 24 horas. Se determinó el volumen total de orina excretada (VOE) durante cada ensayo (Arafat y col., 2008) y los resultados fueron expresados en ml /100g de peso corporal (Martín-Herrera y col., 2007; Gasparotto y col., 2009). También se calculó el índice diurético (ID) de cada recolección (Martín-Herrera y col., 2008).

$$ID = \frac{\text{Volumen de orina de grupo problema}}{\text{Volumen de orina de grupo control}}$$

En las muestras de orina de cada tratamiento correspondientes a las 24 horas se realizó la determinación de urobilinógeno, glucosa, cetonas, bilirrubina, proteínas, nitritos, pH, sangre, densidad y leucocitos, utilizando tiras reactivas Siemens para

urianálisis (Siemens Healthcare Diagnostics). Este análisis permite realizar medidas cualitativas, ya que determina si la muestra es positiva o negativa y semicuantitativas, dado que las reacciones de color son estimativas. Cada uno de éstos parámetros se utilizan como indicadores de la presencia de diferentes afecciones como proteinuria, glucosuria, formación desmedida de cuerpos cetónicos, hematuria, hemoglobinuria como producto de la hemólisis intravascular y bacteriuria asintomática, entre otras (Mundt y Graff, 2011).

El análisis estadístico se realizó mediante el software estadístico Graph Pad Prism 5, con 16 muestras por tratamiento. Se aplicó en el caso de datos normales, ANOVA y Test de Student y en los datos no normales, el Test de Kruskal- Wallis. También se aplicó el Test de comparación múltiple de Dunn. La diferencia fue considerada significativa cuando $p \leq 0,05$.

Resultados

Los parámetros analizados, ID y VOE, para cada uno de los tratamientos aplicados se presentan en la tabla 1 y en la figura 1.

Los resultados obtenidos evidenciaron un aumento en el ID a las 4 horas con el tratamiento furosemida y con las concentraciones 5 % y 10 % de *C. glutinosa*. El mayor aumento del ID se obtuvo con el tratamiento de 5 % a las 8 horas, valores que duplicaron los obtenidos para furosemida al mismo tiempo (Figura 1).

Los parámetros considerados en el urianálisis, no registraron cambios en los diferentes tratamientos (Tabla 2).

A las 2 horas de aplicados los tratamientos, no se detectaron cambios estadísticamente significativos en el volumen de orina excretada (VOE), aun así, se registró un mayor volumen para las concentraciones 2,5 % y 5 %, aunque no significativo respecto al grupo control o blanco. A las 4 horas se determinó un incremento en el VOE con la administración de furosemida, aunque no significativo respecto al blanco. A las 6 horas no se observaron cambios significativos entre tratamientos mientras que el VOE a las 8 horas de la administración, sufrió un incremento significativamente superior al resto de los tratamientos con la administración de la infusión 5 % de *C. glutinosa* (Figura 1).

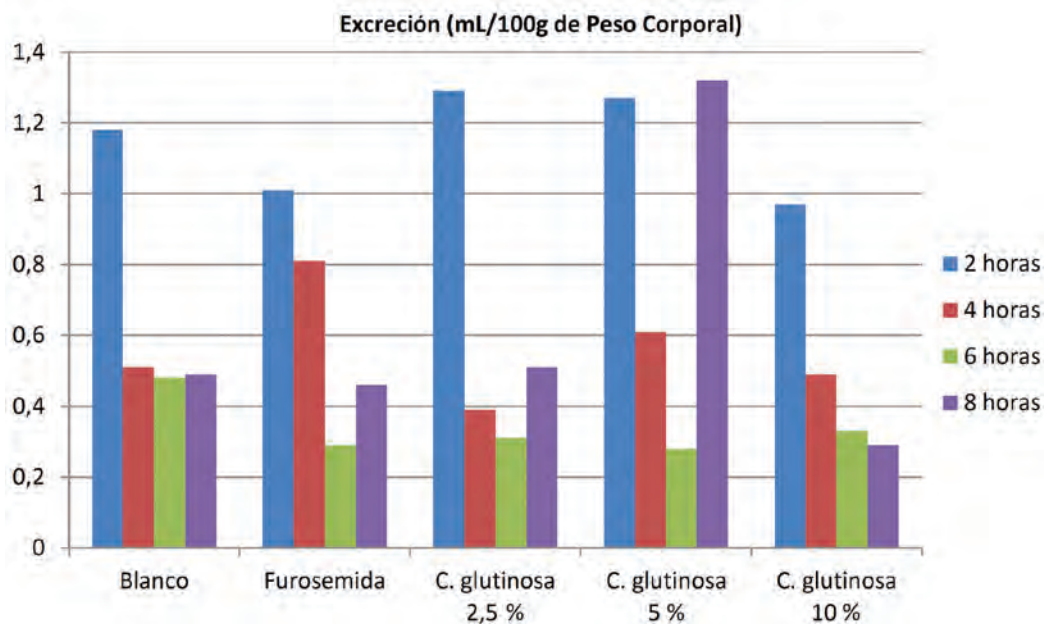
Tabla 1.- Evolución del Índice Diurético hasta las 24 h de tratamiento en ratas con distintas concentraciones de *Cuphea glutinosa* y furosemida

Tratamientos	n	Índice Diurético*					Vol. Total
		2 h	4 h	6 h	8 h	24 h	
Control	16	-	-	-	-	-	-
Furosemida	16	1,37	3,76	1,33	2,16	0,76	0,63
<i>C. glutinosa</i> (2,5 %)	16	1,58	1,92	1,78	1,77	1,00	0,86
<i>C. glutinosa</i> (5 %)	16	1,63	3,31	0,54	4,07 ^a	0,95	0,96
<i>C. glutinosa</i> (10 %)	16	1,12	3,62	0,65	1,65	1,02	0,88

n: número de ratas utilizadas en cada grupo.

*: Índice Diurético: Volumen de orina del grupo problema / volumen de orina del grupo Control o Blanco.

a: $p < 0,05$. Comparado con el resto de los tratamientos (test de Kruskal- Wallis)

Figura 1.- Volumen de orina excretado a distintos tiempos, a partir de la administración de los diferentes tratamientos**Tabla 2.-** Efecto de la administración oral de infusiones de *Cuphea. glutinosa*, furosemida y solución salina, sobre los parámetros del urianálisis

Tratamiento	N	U	pH	Densidad	Proteínas	Nitrito	S-L-G-C-B
Control	10	0,1	7,30 ± 0,19	1,009	-	+	-
Furosemida	10	0,1	7,54 ± 0,21	1,009	15 ± 0,15	+	-
<i>C. glutinosa</i> (2,5 %)	10	0,1	7,69 ± 0,21	1,008	-	+	-
<i>C. glutinosa</i> (5 %)	10	0,1	7,54 ± 0,23	1,009	15 ± 0,15	+	-
<i>C. glutinosa</i> (10 %)	10	0,1	7,29 ± 0,25	1,011	15 ± 0,15	+	-

Referencias: U: Urobilinógeno; S: Sangre; L: Leucocitos; G: Glucosa; C: Cetona; B: Bilirrubina.

Los animales no presentaron cambios en su apariencia física durante el ensayo ni en los 15 días posteriores a la finalización del mismo.

Discusión

El aumento en el ID a las 4 horas (Tabla 1), con el tratamiento de Furosemida, se correspondería con la actuación de diuréticos de alta eficacia que pueden aumentar la excreción de orina en poco tiempo (Guyton y Hall, 2002). La variación del ID a las 8 horas con el tratamiento de 5 % fue significativamente diferente al resto de los tratamientos, aun mayor al valor de ID alcanzado por la furosemida ocurrido a las 4 horas. Esto demostraría las propiedades diuréticas de *C. glutinosa* aunque con un efecto retardado respecto a la furosemida. Sin embargo, el ID en la recolección a las 24 horas fue bajo en todos los tratamientos, lo que podría deberse a la activación de otros mecanismos de compensación de tipo fisiológicos, como por ejemplo la activación de la hormona antidiurética, entre otros, que se inician por la disminución del volumen del líquido extracelular (Guyton y Hall, 2008).

El efecto retardado en la diuresis, permitiría deducir que *C. glutinosa* tiene una acción diferente a los diuréticos de alta eficacia como Furosemida. Esto podría relacionarse a factores farmacocinéticos o farmacodinámicos de los principios activos de la planta (Randall y col., 1997), como se ha observado en los estudios realizados con otras especies vegetales como por ejemplo con extractos de macerados de raíz de *Carissa edulis* (Nedi y col., 2004) y *Tropaeolum majus* (Gasparotto y col., 2009).

En cuanto a los parámetros estudiados en el urianálisis, la administración de infusiones de *C. glutinosa* no alteró el valor normal de los mismos respecto al grupo control como lo muestran la ausencia de glucosa, cetonas, bilirrubina, sangre, leucocitos y los valores normales de densidad, pH y proteína en orina (Tabla 2).

El urobilinógeno que se forma por la conversión de la bilirrubina en los intestinos, mediada por las enzimas bacterianas, es excretado con las heces, mientras una pequeña parte también se excreta en la orina. El valor obtenido indicaría la metabolización normal del mismo en los animales (Tabla 2).

La presencia de nitritos en orina (Tabla 2) permitiría suponer una bacteriuria asintomática, por la cual, los

organismos que producen infección urinaria generan enzimas que reducen el nitrato urinario a nitrito. Sin embargo, la ausencia de leucocitos y sangre en orina permiten desechar la existencia de infección urinaria. De manera que los nitritos detectados en todos tratamientos podrían provenir de la presencia de nitratos en el alimento. La mayor parte de los nitratos ingeridos son absorbidos en la parte superior del intestino delgado y una porción pueden ser reciclados hacia las glándulas salivales. Las bacterias presentes en la saliva bucal reducen parte de ese nitrato a nitrito, posteriormente excretado por orina (García Roché y col., 1994).

Conclusiones

Los resultados obtenidos en el presente trabajo han permitido demostrar el efecto diurético de *C. glutinosa* en infusión al 5 % a las 8 horas, así como una tendencia a la diuresis con la administración de las infusiones 2,5 % y 5,0 % a las 2 horas. Se determinó también que el efecto de *C. glutinosa* hasta las 24 horas, no produce variaciones en los niveles de urobilinógeno, pH, densidad, glucosa, cetonas, bilirrubina, proteínas, nitritos, presencia de sangre en orina y leucocitos, respecto al grupo control, demostrando el buen estado sanitario de los animales a lo largo de todo el experimento.

Se requiere continuar con estudios que permitan determinar los principios activos, la ruta farmacológica y la posible toxicidad de *C. glutinosa*.

Agradecimientos

Este trabajo está enmarcado en el proyecto: “Estudio integral de especies medicinales autóctonas: *C. glutinosa* Cham. et Schldtl. nativa de las sierras bonaerenses” EXA-UNMdP N° 563/112 y 655/14, subsidiado por la UNMdP, que se desarrolló en el Laboratorio de Botánica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la misma Universidad.

Bibliografía

Abdala, S.; Martín-Herrera, D.; Benjumea, D.; Pérez-Paz, P. (2008). “Diuretic activity of *Smilax canariensis*, an endemic Canary Island species”. *Journal of Ethnopharmacology* 119 (1): 12-16.

- Arafat, M.O.; Tham, S.Y.; Sadikum, A.; Zhari, I.; Haughton, P.J.; Asmawi, M. Z. (2008). "Studies on diuretic and hypouricemic effects of *Orthosiphon stamineus* methanol extracts in rats". *Journal of Ethnopharmacology* 118 (1): 354-360.
- Barboza, G.E.; Bonzani, N.; Filippa E.M.; Luján M.C.; Moreno R.; Bugatti M.; Decolatti, N.; Ariza Espinar, L. (2001). *Atlas Histomorfológico de Plantas de Interés Medicinal de Uso Corriente en Argentina*. Pcia. de Córdoba (Argentina). Museo Botánico de Córdoba, Ed. Graphyon, Córdoba: 212 pp.
- Benjumea, D.; Abdala, S.; Hernandez-Luis, F.; Pérez-Paz, P.; Martín-Herrera, D. (2005). "Diuretic activity of *Artemisia thuscula*, an endemic Canary species". *Journal of Ethnopharmacology* 100 (1-2): 205-209.
- Cabrera, A.L.; Zardini, E.M. (1978). *Manual de la Flora de los alrededores de Buenos Aires*. Acme, Buenos Aires: 715 pp.
- Cardinali, F.J.; Thevenon, M.A.; Martinez Tosto, A.C. (2007). "Morphoanatomical characterization of *Cuphea glutinosa* (Lythraceae) seedlings primary root structure". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 42 (3-4): 237-243.
- García Roché, M.O.; García Melian, M.; Cañas Perez, R. (1994). *Nitratos, nitritos y compuestos de N-Nitroso*. Serie Vigilancia 13. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Meterec Edo de México, México.
- Gasparotto Junior, A.; Boffo, M.A.; Lourenço, E.L.; Stefanello, M.E.; Kassuya, C.A.; Marques, M.C. (2009). "Natriuretic and diuretic effects of *Tropaeolum majus* (Tropaeolaceae) in rats". *Journal of Ethnopharmacology* 122 (3): 517-522.
- Guyton, A.C.; Hall J.E. (2002). *Manual de Fisiología Médica*. Décima Edición. McGraw- Hill, Interamericana. México: 720 pp.
- Hardman, J.G.; Limbird, E.; Goodman, A. (2001). *Las bases farmacológicas de la Terapéutica*. Vol I. Décima Edición. McGraw- Hill. Interamericana. México: 797 pp.
- Jennings, M.; Batchelor, G.R.; Brain, P.F.; Dick, A.; Elliot, H.; Francis, R.J.; Hubrecht, R.C.; Hurt, J.L.; Morton, D.B.; Peters, A.G.; Raymond, R.; Sales, G.D.; Sherwin, C.M.; West, C. (1998). "Refining rodent husbandry: the mouse. Report of the Rodent Refinement Working Party". *Laboratory Animals* 32 (1): 233-259.
- Kau, S.T.; Keddie, J.R.; Andrews, D. (1984). "A method for screening diuretic agents in the rat". *Journal of Pharmacological Methods* 11 (1): 67-75.
- Martínez Martín, S.M.; Paz Naranjo, J.; Corral Salvado, A.; Martínez Ruiz, C. (2004). Actividad diurética y antipirética de un extracto fluido de *Rosmarium officinalis* L. en ratas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962004000100007&lng=es&nrm=iso&tlng=es> [Consulta: 16 de mayo de 2017].
- Martín-Herrera, D., Abdala, S.; Benjumea, D.; Gutiérrez-Luis, J. (2008). "Diuretic activity of some *Wisthania aristata* Ait. Fractions". *Journal of Ethnopharmacology* 117 (3): 496-499.
- Martín-Herrera, D.; Abdala, S.; Benjumea D.; Pérez-Paz, P. (2007). "Diuretic activity of *Wisthania aristata*: An endemic Canary Island species". *Journal of Ethnopharmacology* 113 (3): 487-491.
- Marzocca, A. (1997). *Vademécum de malezas medicinales de la Argentina indígenas y exóticas*. Orientación Gráfica Editora, Buenos Aires: 363 pp.
- Morton, D.B.; Jennings, M.; Buckwell, A.; Ewbank, R.; Godfrey, C.; Holgate, B.; Inglis, I.; James, R.; Page, C.; Sharman, I.; Verschoyle, R.; Westall, L.; Wilson, A.B. (2001). "Refining procedures for the administration of substances". *Laboratory Animals* 35 (1): 1-41.
- Mundt, L.A.; Graff, K.S. (2011). *Análisis de orina y de los líquidos corporales*. 2º Edición. Ed. Panamericana. Buenos Aires: 348 pp.
- Nedi, T.; Mekonnen N.; Urga K. (2004). "Diuretic effect of the crude extracts of *Carissa edulis* in rats". *Journal of Ethnopharmacology* 95 (1): 57-61.
- Randall, D.; Burggren, W.; French, K. (1997). *Eckert Fisiología Animal. Mecanismos y adaptaciones*. Ed McGraw Hill. Interamericana. Madrid: 928 pp.
- Ratera, E.L.; Ratera, M.O. (1980). *Plantas de la flora argentina empleadas en medicina popular*. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 189 pp.
- Vermeulen, J.K.; De Vries, A.; Schlingmann, F.; Remie, R. (1997). "Food deprivation: common

- sense or nonsense?" *Animal Technology* 48 (2): 45-54.
- Yagueddú, C.; Comparatore, V.M.; Cardinali, F.J.; Martínez Tosto, A.C.; Bevacqua, S.V. (2006). "Cuphea glutinosa (Lythraceae) en sierras del Sistema de Tandilia: morfología y ambiente". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 41 (3-4): 285.

Análisis de polifenoles e iniciación de cultivos *in vitro* de *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh (Loranthaceae) de ejemplares provenientes de la localidad La Población, provincia de Córdoba, Argentina

María V. Ricco^{1,2}, Martín L. Bari^{2,3}, Rafael A. Ricco⁴, Marcelo L. Wagner⁴, María A. Álvarez^{1,2*}

¹ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas.

² CEBBAD-Cátedra de Farmacobotánica y Farmacognosia, Carreras de Farmacia y Bioquímica, Universidad Maimónides, laboratorio 603, Hidalgo 775, Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

³ Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica.

⁴ Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Farmacobotánica y Museo de Farmacobotánica "Juan Aníbal Domínguez", Junín 956, 4° piso, Ciudad Autónoma de Buenos Aires. República Argentina

* Autor a quien dirigir la correspondencia: alvarez.mariaalejandra@maimonides.edu

Resumen

Ligaria cuneifolia (R. et P.) Tiegh (Loranthaceae) es una hemiparásita sudamericana que produce polifenoles con actividad hipolipemiante, citostática, inmunomoduladora, antioxidante y antimicrobiana. Nuestro objetivo fue determinar el perfil de polifenoles de ejemplares silvestres en distintos órganos y extractos, así como las condiciones más adecuadas para iniciar sus cultivos *in vitro*. Para el estudio fitoquímico se realizaron cromatografías en capa delgada de tipo monodimensional observándose la presencia de flavonoides, derivados hidroxicinámicos y proantocianidinas en los extractos de hojas, tallos primarios, tallos secundarios y flores. En cuanto al análisis cuantitativo se observaron altos valores de flavonoides en hojas (2,14 mg eq. de rutina por gramo de material seco) y de proantocianidinas en flores (7,52 mg eq. de catequina por gramo de material seco), compuestos responsables de las actividades biológicas mencionadas. Para la iniciación de cultivos *in vitro* se estudiaron diferentes aspectos: protocolo de desinfección, explanto de iniciación (hojas, pedicelos, frutos, tallos, meristemas y haustorios) y medios de cultivo base (reguladores de crecimiento y agentes antioxidantes). Los tratamientos más efectivos fueron HgCl₂ 0,05 - 0,2 % en una proporción de 25 explantos cada 100 ml de solución desinfectante y ácido cítrico 2,6 mM o L-cisteína 100 µM como antioxidantes. Solamente fue posible iniciar callos a partir de haustorios cultivados en medio Gamborg B₅ con el agregado de ácido 2,4-dicloro-fenoxiacético 2,25 µM como regulador de crecimiento.

Analysis of Polyphenols and Initiation of *in vitro* Cultures of *Ligaria cuneifolia* (Loranthaceae) from La Población, Córdoba, Argentina

Abstract

Ligaria cuneifolia (R. et P.) Tiegh (Loranthaceae) is a hemiparasitic plant from South America that produces polyphenolic compounds with hipolipemic, cytostatic, immunomodulator, antioxidant and antimicrobial activities. Our goal was to establish the polyphenolic profile from organs and extracts of wild plants and the

Palabras clave: muérdago - cultivo *in vitro* - polifenoles - *Ligaria cuneifolia* - plantas medicinales.

Key words: mistletoe - *in vitro* culture - polyphenols - *Ligaria cuneifolia* - medicinal plants.

culture conditions to initiate *in vitro* cultures. The phytochemical analysis was performed by monodimensional thin layer chromatography revealing the presence of flavonoids, hydroxycinnamic acids and proanthocyanidins in leaves, primary stems, secondary stems and flower extracts. The quantitative analysis established that the highest values of flavonoids were found in leaves (2.4 mg rutin eq. / gram of dried extract) and the highest amount of proanthocyanidins was found in flowers (7.2 mg catechin eq. / gram of dried extract). The biological activities of *L. cuneifolia* were attributed to those compounds. To initiate *in vitro* cultures different aspects were analyzed: disinfection protocol, type of explant (leaves, pedicels, fruits, stems, meristems, haustorium) and basal culture medium composition (plant growth regulators and antioxidant agents). The most effective treatments were HgCl₂ 0.05 - 0.2 % to a proportion of 25 explants per 100 ml of disinfectant solution, and citric acid 2.6 mM or L-cystein 100 μM as antioxidants. *In vitro* cultures were successfully initiated from haustorium cultured in Gamborg B₅ medium added by 2,4-dicloro-phenoxyacetic acid 2.25 μM as plant growth regulator.

Introducción

Ligaria cuneifolia (R. et P.) Tiegh (Loranthaceae) es una especie vegetal hemiparásita semileñosa con una amplia distribución en Sudamérica (Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Perú y Uruguay). En la República Argentina se puede encontrar en un área comprendida al Norte por la región de la puna en Salta y Jujuy, al Sur por La Pampa, al Noreste por Entre Ríos y el noroeste de Buenos Aires y al Oeste por la precordillera andina. Se la denomina vulgarmente “liga”, “liguilla” o “muérdago criollo” (Varela y col., 2000) refiriéndose su uso en medicina tradicional como hipotensor (Domínguez y col., 1928; Izquierdo y col., 1955; Taira y col., 1994). Diversos estudios farmacológicos informaron actividad antimicrobiana (Soberón y col., 2014), hipolipemiente (Ferrero y col., 2006; Dominighini y col., 2015), antioxidante (Dobrecky y col., 2014.), citostática e inmunomoduladora (Fernández y col., 1998 y 2003; Cerdá Zolezzi y col., 2005). Al igual que otras especies de la familia Loranthaceae, *L. cuneifolia* se caracteriza por la producción de altos niveles de polifenoles, especialmente flavonoides del grupo de los flavonoles, quienes podrían ser responsables de sus actividades farmacológicas (Dobrecky y col. 2017).

La producción de metabolitos vegetales en cultivos *in vitro* presenta algunas ventajas, como por ejemplo el desarrollo del cultivo en condiciones definidas, controladas y óptimas que permiten independizarse del cultivo en campo (pestes, condiciones climáticas) y la producción sistemática y regulada de biomoléculas con calidad estandarizada (metabolitos primarios y secundarios). Asimismo,

una vez establecidos dichos cultivos es posible realizar estudios acerca de los factores que afectan el crecimiento y los perfiles de producción de metabolitos, como es el caso de los reguladores de crecimiento, la fuentes de carbono y nitrógeno, la influencia de la luz y la temperatura, entre otras variables, y así optimizar el proceso productivo (Álvarez y col., 2009). Puede ocurrir que un proceso productivo desarrollado en cultivos vegetales *in vitro* requiera de una estrategia de desarrollo en dos etapas: la primera, de establecimiento y mantenimiento, se desarrolla en las condiciones óptimas para la inducción y el crecimiento de callos; y la segunda, de aumento de rendimiento y escalado, se lleva a cabo en condiciones que inducen la producción de la biomolécula de interés en altas concentraciones. Los cultivos, en este caso se desarrollan en medio líquido y es usual que se realice el escalado del proceso a biorreactores (Álvarez y col., 2009).

Por su condición de hemiparásita, el cultivo agronómico de *L. cuneifolia* presenta grandes dificultades. Por otra parte, la utilización de ejemplares silvestres para la producción de extractos activos acarrearía su rápida extinción. Por este motivo encaramos la iniciación de cultivos *in vitro* de *L. cuneifolia* para ser utilizados como plataforma productora de compuestos polifenólicos con actividad farmacológica. Además, los cultivos *in vitro* pueden aprovecharse para la micropropagación de la especie debido a que los programas genéticos de rediferenciación pueden ser inducidos con un balance hormonal adecuado.

Esto permitiría conservar el recurso biológico y a la vez disponer de una fuente renovable de material biológico para el proceso productivo sin amenazar el recurso natural.

El objetivo general de este trabajo fue determinar cualitativa y cuantitativamente el perfil de polifenoles (ácidos hidroxicinámicos, proantocianidinas y flavonoides), en distintos órganos (tallos primario y secundario, hoja y flor) y extractos de ejemplares silvestres de *L. cuneifolia* provenientes de Córdoba, así como establecer las condiciones más adecuadas para iniciar y mantener cultivos *in vitro* (explantos de partida, protocolo de desinfección, medio de cultivo, reguladores de crecimiento y agentes antioxidantes) de *L. cuneifolia*.

Materiales y métodos

Recolección y acondicionamiento del material vegetal

En la localidad de La Población, Provincia de Córdoba, Argentina (32,059551 S; 65,010162 O) se recolectaron ramas de ejemplares de *Acacia caven* (Mol.) Mol. (Fabaceae) conteniendo como huésped *L. cuneifolia* cuyos tallos, hojas, frutos y flores se separaron para los ensayos posteriores. Para el análisis de polifenoles parte del material se secó a temperatura ambiente y en oscuridad, mientras que para la iniciación de cultivos *in vitro* el restante material se mantuvo a 4 °C dentro de bolsas de plástico herméticas hasta su utilización.

Se realizó la identificación taxonómica del material vegetal mediante claves y se compararon con material de herbario. Un ejemplar fue depositado en el Museo de Farmacobotánica Juan Aníbal Domínguez (BAF 9018).

Obtención de extractos

El material vegetal seco se redujo a polvo (molinillo IKA® A11 Basic Analytical Mill) procesándose por separado las hojas, tallos (primario y secundario) y flores. El extracto acuoso (5 % p/v) se obtuvo por el método de infusión (Farmacopea Argentina Ed. VI), forma empleada frecuentemente en la medicina tradicional. Por otra parte, los extractos etanólico (80 % v/v) y metanólico (100 %) se realizaron al 5 % p/v en baño de ultrasonido durante 30 minutos

a temperatura ambiente. Luego cada extracto se filtró y almacenó a 4 °C (metanólico y etanólico) y a -20 °C (acuoso) para los estudios fitoquímicos posteriores. Los diferentes métodos de extracción se corresponden con los mayormente empleados en los análisis de polifenoles (Waterman y Mole, 1994). La realización de un extracto empleando metanol 100 % responde a la necesidad de contar con un extracto libre de agua, necesario para la cuantificación de las proantocianidinas (Price y col., 1978).

Análisis cualitativo de polifenoles

Se desarrollaron los perfiles cromatográficos sembrando 10 µl de cada extracto utilizando como fase estacionaria cromatofolios de Sílica Gel 60 (Merck) y como fase móvil acetato de etilo: ác. fórmico: ác. acético: agua (100:11:11:23). Se utilizaron los reveladores de productos naturales (NP: 2-Aminoethyl diphenyl borate, solución metanólica al 1 %) para polifenoles y el reactivo de vainillina / ácido clorhídrico para proantocianidinas (solución etanólica al 5 % de vainillina en ácido clorhídrico concentrado, 4:1).

Análisis cuantitativo de polifenoles

La cuantificación de fenoles totales se realizó por el método de Folin Ciocalteu (Makkar y col., 1993), la de taninos condensados por el método de la vainillina (Price y col., 1978), la de ácidos hidroxicinámicos mediante una modificación del método de Dao y Friedman (Ricco y col., 2015) y la de flavonoides según el método de Woisky y Salatino (1998) y Chang y col. (Chang y col., 2002). Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. Se empleó un espectrofotómetro UV-visible con arreglo de diodos (HP 8452 A).

Iniciación de cultivos *in vitro*

Ensayo de desinfección

En una primera etapa se ensayaron tres protocolos de desinfección utilizando explantos de hoja y distintos agentes desinfectantes: HgCl₂ (0,1 %), 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona + 2-metil-4-isotiazolin-3-ona (Delcide CG, 0,1 %) y NaClO (4 % Cl₂ activo). Una vez establecido el agente más efectivo se procedió a optimizar el tiempo de desinfección, la concentración y relación entre agente desinfectante/cantidad de material vegetal según se indica en la Tabla 1.

Tabla 1.- Tratamientos para ensayo de desinfección con HgCl₂. Modificado de Majid y col., 2014

Nº de tratamiento	Nº explantos de hoja/100 ml	Tiempo en EtOH 70 % (s)	HgCl ₂ (% p/v)
1	25	30	0,05
2	25	30	0,1
3	25	30	0,2
4	25	60	0,05
5	25	60	0,1
6	25	60	0,2
7	50	30	0,05
8	50	30	0,1
9	50	30	0,2
10	50	60	0,05
11	50	60	0,1
12	50	60	0,2
13	75	30	0,05
14	75	30	0,1
15	75	30	0,2
16	75	60	0,05
17	75	60	0,1
18	75	60	0,2
19	25	-	-
20	50	-	-
21	75	-	-

Brevemente, el material se lavó con una solución acuosa de Tween 20 por 5 minutos, se sumergió en etanol 70 % durante 30 - 60 segundos y se trató con bicloruro de mercurio al 0,05 %, 0,1 %, o 0,2 % por 5 minutos utilizando 25, 50 y 75 explantos de hoja cada 100 ml de las soluciones mencionadas (Majid y col., 2014).

Ensayo de inhibición del “browning”

Para inhibir los efectos perjudiciales sobre los cultivos de los exudados oscuros liberados al medio (Mustafa y col., 2013; Ndakidemi y col., 2014), se realizaron lavados previos con uno de los siguientes agentes antioxidantes: ácido cítrico (1,04; 1,56 y 2,60 mM), ácido ascórbico (1,70 y 2,80 mM), ácido cítrico: ácido ascórbico (2,6: 2,8 mM), L-cisteína (50 y 100 µM), nitrato de plata (10 y 50 µM); L-cisteína: nitrato de plata (100: 50 µM) y ácido cítrico: ácido ascórbico: L-cisteína: nitrato de plata (2,6 mM: 2,8 mM: 100 µM: 50 µM), durante distintos tiempos (5, 15, 30 y 120 min). Los explantos así tratados se sembraron en WM conteniendo el mismo trata-

miento antioxidante con el que se realizó el lavado y se mantuvieron en cámara acondicionada a 24 ± 2 °C. La mitad del material se cultivó en oscuridad y la otra mitad bajo un fotoperiodo de 16 h dado por lámparas de luz blanca (1,8 $\text{wm}^{-2} \text{seg}^{-1}$ de irradiancia: 150 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$).

Ensayo de inducción de callos

Se partió de distintos órganos (hojas, pedicelos, meristemas apicales, nudos y frutos) los cuales fueron desinfectados previamente con el protocolo que resultó más efectivo en el “ensayo de desinfección”. Sin embargo, en el caso de los frutos se realizó una desinfección previa con una solución de HgCl₂ más concentrada (0,5 %), con el fin de disminuir la carga microbiana inicial previa a la desinfección de la semilla con el protocolo antes mencionado. En todos los casos se realizaron cuatro enjuagues finales con agua destilada estéril y se transfirieron los respectivos explantos a tubos de vidrio conteniendo 10 ml de uno de los siguientes medios de cultivo: White modificado con hidrolizado de caseína 500 mg/l y extracto de levadura 100 mg/l (WM), Gamborg (B5), Murashige and Skoog con vitaminas RT (MS-RT), MS-RT/2 y MS con agua de coco (Khan-na y Staba, 1968; Murashige y Skoog, 1962) con uno de los siguientes reguladores de crecimiento o combinaciones de los mismos: ácido 2,4-diclorofenoxiacético [2,4-D] (2,25 µM; 4,5 µM y 10 µM); 2,4-D + kinetina [KIN] (2,25: 2,30 µM; 4,5: 2,3 µM; 10,0: 2,3 µM; 2,25: 2,30 µM; 4,50: 4,65 µM; 10,00: 4,65 µM); ácido indolacético [AIA] (2,25; 4,50 y 10,00 µM); ácido naftalenacético [ANA] + KIN (2,25: 2,30 µM; 4,5: 2,3 µM; 10,0: 2,3 µM) y bencilaminopurina [BAP] (0,2; 0,3 y 0,4 µM). En el caso de los frutos, se les extrajo el epicarpio y se sembró la semilla en medio de cultivo sin hormonas durante aproximadamente 15 días. Una vez transcurrido ese tiempo se cortaron explantos de haustorio los cuales fueron cultivados con los tratamientos hormonales indicados anteriormente.

Resultados y Discusión

Análisis cualitativo de polifenoles

En el análisis cualitativo por cromatografía en capa fina de los polifenoles se observaron compuestos amarillo-anaranjados correspondientes al grupo de

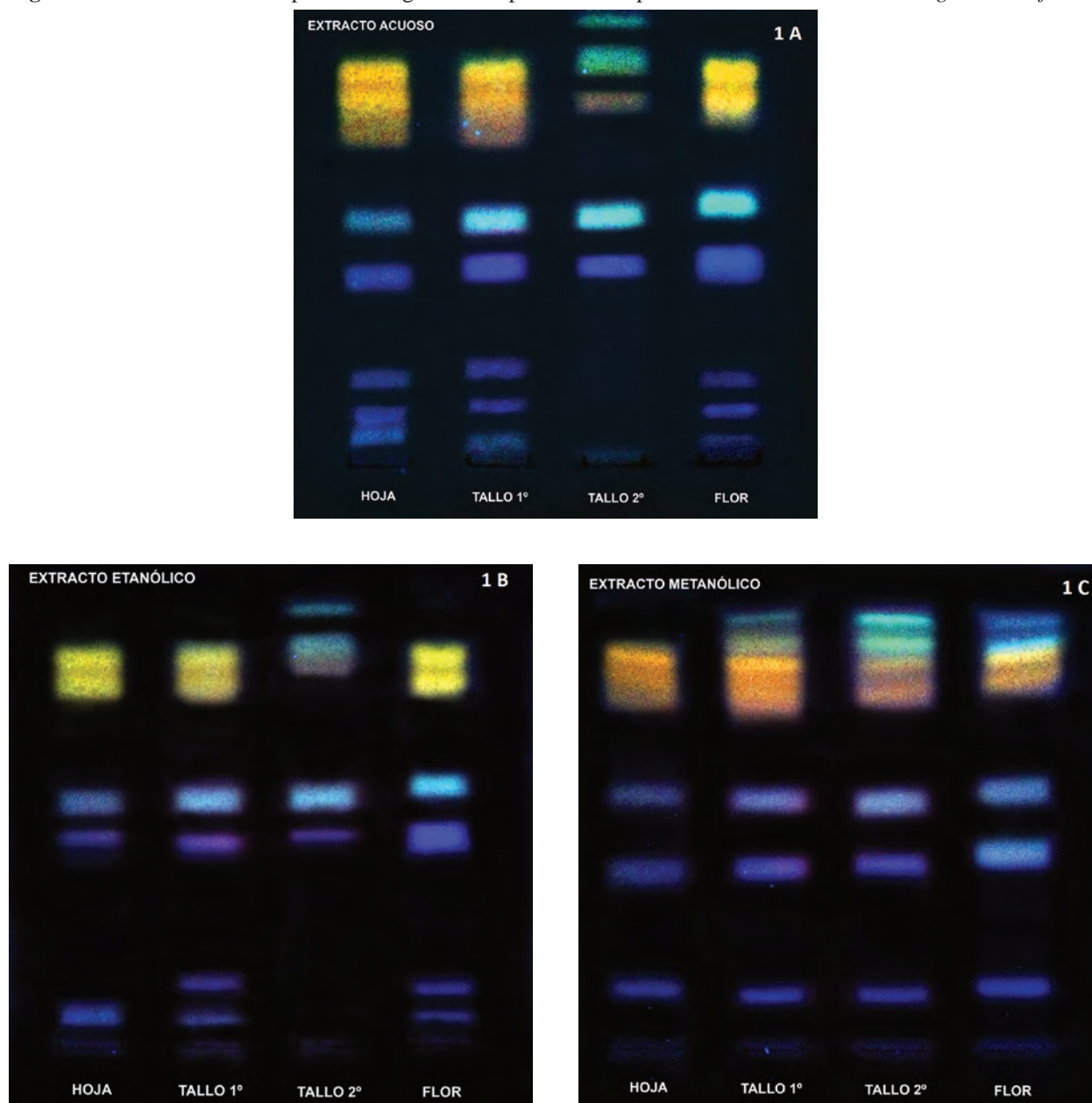
los flavonoides, así como bandas azul-verdosas las cuales indican la presencia de derivados de ácidos hidroxicinámicos, para todos los extractos y órganos analizados (Figura 1A, 1B, 1C).

Los cromatogramas muestran distintos perfiles, observándose la mayor diferencia respecto del proveniente del extracto metanólico, donde puede observarse un perfil de compuestos para el tallo secundario similar al determinado para los otros órganos. Este comportamiento no se ha observado para los extractos

acuoso y etanólico, donde los provenientes de tallo secundario presentan un perfil característico.

En lo que respecta a un análisis que abarque los resultados cuali-cuantitativos, en líneas generales y en las condiciones del ensayo aquí empleadas, los extractos acuosos presentaron una mayor cantidad de bandas, que se correlaciona con la determinación de los valores más altos de polifenoles para la mayoría de los órganos analizados si se compara con los demás extractos analizados.

Figura 1.- Análisis cualitativo por cromatografía en capa fina de los polifenoles de los extractos de *Ligaria cuneifolia*



1A: Extracto acuoso; **1B:** extracto etanólico; **1C:** extracto metanólico-

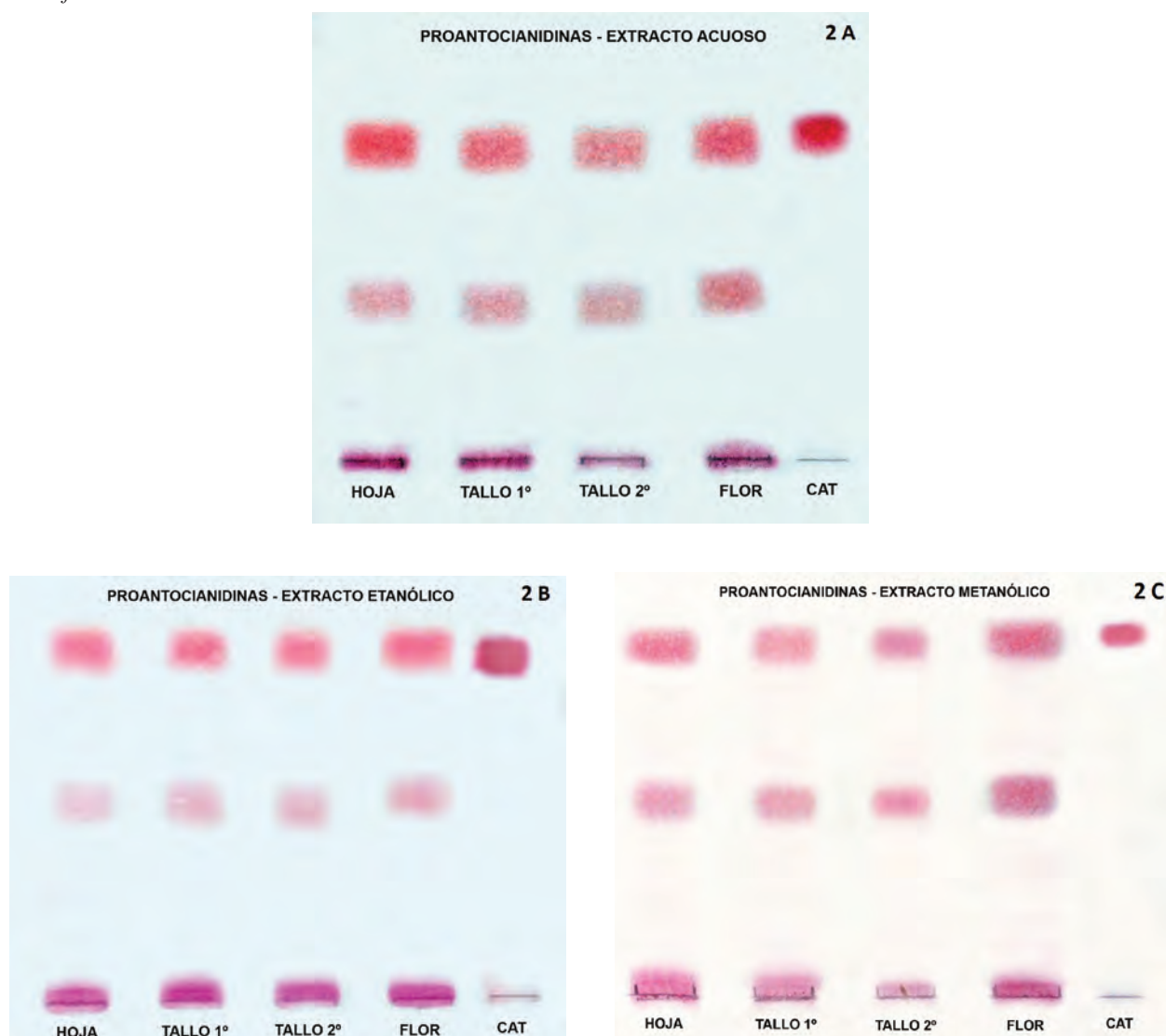
En el caso de la cromatografía realizada para la detección de proantocianidinas se observan bandas de una coloración rosada, correspondientes a compuestos de distinto peso molecular. Concretamente se detectó la presencia de (+) catequina en todos los órganos y extractos (Figura 2A, 2B, 2C).

Como se mencionara anteriormente, los resultados obtenidos en el análisis cualitativo de flavonoides muestran la presencia de compuestos dihidroxilados en el anillo B flavonoídico (probablemente derivados de quercetina), evidenciado por la reacción con el reactivo NP, obteniéndose una

coloración anaranjada. Estos resultados concuerdan con los presentados por Dobrecky y col. (2017) en los cuales detecta la presencia de distintos flavonoides (derivados de quercetina) para las poblaciones de Catamarca, San Juan, así como para una muestra comercial.

En cuanto al análisis de los taninos condensados, Dobrecky y col. (2017) detectan la presencia de catequina en las distintas muestras, resultado que coincide con la observación de las bandas de catequina obtenidas en los cromatogramas de los extractos provenientes de los ejemplares de Córdoba.

Figura 2.- Análisis cualitativo por cromatografía en capa fina de proantocianidinas de los extractos de *Ligaria cuneifolia*



2A: extracto acuoso; 2B: extracto etanólico; 2C: extracto metanólico.

Análisis cuantitativo de polifenoles

El órgano que presenta los mayores valores de fenoles totales es el tallo primario, seguido de la flor, luego de la hoja y por último es el tallo secundario el que menos fenoles contiene para todos los extractos ensayados (Tabla 2). En cuanto al análisis de flavonoides es la hoja la que presenta un mayor contenido en todos los extractos, mientras que el tallo secundario es el órgano que presenta menores valores de flavonoides en todos los casos (Tabla 2). Los niveles de ácidos hidroxicinámicos resultaron 50 % menores para el caso del tallo secundario en los extractos acuoso y metanólico en comparación con el resto de órganos (Tabla 2). El órgano que presenta mayor contenido de proantocianidinas es la flor, seguida de la hoja, el tallo secundario y, por último, del tallo primario (Tabla 2). La hoja y la flor no presentan diferencias significativas entre sí conteniendo un 50 % más de proantocianidinas que los tallos (que también presentan valores similares entre sí).

En el trabajo de Dobrecky y col. (2014) también se realiza un análisis cuantitativo de polifenoles de una población de *L. cuneifolia* de San Juan. Sin embargo, resulta difícil poder realizar un análisis comparativo de los resultados obtenidos en ambos estudios ya que existen variaciones en cuanto a los

métodos de obtención de los extractos (extracciones sucesivas con metanol 100, 80 y 50 % y particiones con acetato de etilo y butanol en su caso, y extractos metanólico 100 %, etanólico 80 % e infusión 5 % (p/v) en nuestro caso) y cuantificación de polifenoles, así como en la forma de expresar los resultados entre un trabajo y otro (en nuestro caso nos referimos a gramos de material vegetal seco y Dobrecky y col. (2014) a gramos de fracción).

Si bien los mayores valores de fenoles totales para todos los extractos analizados corresponden al tallo primario, resultan de gran interés los resultados de contenido de flavonoides y proantocianidinas en hojas y flores por las propiedades biológicas y farmacológicas atribuidas a estos compuestos.

Iniciación de cultivos in vitro

Ensayo de desinfección

En la primera etapa las tasas de contaminación más bajas se obtuvieron utilizando HgCl_2 (0,1 %). En la segunda etapa se observaron los porcentajes de contaminación descritos en la tabla 3.

Ensayo de inhibición del “browning”

No se observaron diferencias significativas entre aquellos tratamientos mantenidos en luz y en oscuridad. En el caso del ácido cítrico, cualquiera de las

Tabla 2.- Análisis cuantitativo de polifenoles en los extractos de *Ligaria cuneifolia*

Extracto	Órgano	Fenoles totales (mg eq. de ác. gálico/g mat. seco)	Flavonoides (mg eq. de rutina/g mat. seco)	Proantocianidinas (mg eq. de catequina/g mat. seco)	Ác. Hidroxicinámicos (mg eq. de ác. clorogénico/g mat. seco)
Acuoso	Hoja	59,61 ± 1,00	2,14 ± 0,13		2,86 ± 0,07
	Tallo 1°	80,22 ± 2,32	1,33 ± 0,06		2,86 ± 0,15
	Tallo 2°	50,16 ± 5,39	0,37 ± 0,02		1,47 ± 0,03
	Flor	73,73 ± 2,65	1,56 ± 0,04		2,9 ± 0,01
Etanol 80%	Hoja	56,35 ± 4,76	1,95 ± 0,02		3,34 ± 0,04
	Tallo 1°	75,69 ± 2,20	1,87 ± 0,03		3,84 ± 0,25
	Tallo 2°	67,75 ± 2,44	0,87 ± 0,05		3,07 ± 0,34
Metanol 100%	Flor	66,68 ± 2,18	1,21 ± 0,06		3,67 ± 0,04
	Hoja	47,71 ± 2,16	1,77 ± 0,08	6,5 ± 0,52	2,72 ± 0,10
	Tallo 1°	56,52 ± 2,79	1,55 ± 0,03	3,75 ± 0,58	2,79 ± 0,14
	Tallo 2°	48,11 ± 2,60	0,7 ± 0,01	4,68 ± 0,81	1,79 ± 0,04
	Flor	56,12 ± 5,54	0,96 ± 0,09	7,52 ± 0,66	2,76 ± 0,11

Cada resultado se expresa como la media ± desviación estándar.

Tabla 3.- Resultados de optimización del protocolo de desinfección con HgCl₂ expresados en % de explantos contaminados

Nº Trat.	Nº explantos hoja/100 ml sol.	Tiempo en EtOH 70% (s)	HgCl ₂ (% p/v)	% explantos contaminados
1	25	30	0,05	40
2	25	30	0,1	20
3	25	30	0,2	20
4	25	60	0,05	30
5	25	60	0,1	70
6	25	60	0,2	30
7	50	30	0,05	30
8	50	30	0,1	90
9	50	30	0,2	90
10	50	60	0,05	40
11	50	60	0,1	70
12	50	60	0,2	40
13	75	30	0,05	80
14	75	30	0,1	40
15	75	30	0,2	70
16	75	60	0,05	80
17	75	60	0,1	40
18	75	60	0,2	30
19	25	-	-	100
20	50	-	-	100
21	75	-	-	100

tres concentraciones probadas podría ser utilizada como tratamiento preventivo para la liberación de exudados siendo suficiente un lavado durante 5 min (Tabla 4). El ácido ascórbico y la L-cisteína fueron más efectivos a las concentraciones de 2,8 μ M y 100 μ M respectivamente y el nitrato de plata a la menor concentración (50 μ M). Los tratamientos en los que se combinaron dos agentes antioxidantes - ácido cítrico: ácido ascórbico (2,6 mM: 2,8 mM) y L-cisteína: nitrato de plata (100 μ M: 50 μ M)- fueron efectivos a todos los tiempos probados, mientras que el tratamiento que contenía todos los compuestos en la máxima concentración no fue capaz de inhibir en su totalidad la liberación de dichos exudados (Tabla 4). El control del *browning* es importante pues como ya fue demostrado cuando los tejidos de

la planta se exponen a situaciones de estrés, como daños mecánicos (por ejemplo al separar el explanto de la planta madre), se estimula el metabolismo de los compuestos fenólicos desencadenándose una reacción de hipersensibilidad que origina una serie de procesos como por ejemplo, la liberación del contenido de las células rotas, reacciones particulares de las células vecinas sin mostrar signos de daño y/o muerte prematura de células que se encuentran alrededor de la herida. Los compuestos fenólicos son particularmente lábiles y por lo tanto fácilmente oxidados pudiendo resultar fitotóxicos o incluso conducir a un incremento de los procesos de oxidación por resultar ellos mismos, una vez oxidados, oxidantes muy fuertes (Debergh y Zimmerman, 1991).

Tabla 4.- Resultados obtenidos en el ensayo de tratamientos con antioxidantes

N°	TRATAMIENTO	TIEMPO DE LAVADO (luz) (min)			TIEMPO DE LAVADO (osc) (min)		
		5	15	30	5	15	30
1	ácido cítrico 1,04 mM	-	-	-	-	-	-
2	ácido cítrico 1,56 mM	-	-	-	-	-	-
3	ácido cítrico 2,6 mM	-	-	-	-	-	-
4	ácido ascórbico 1,70 mM	+	+	+	+	+	+
5	ácido ascórbico 2,8 mM	+	-	-	-	-	-
6	ác.cít: ác.asc (2,6 mM:2,8 mM)	-	-	-	-	-	-
7	L-cys 50 µM	+	+	+	+	+	+
8	L-cys 100 µM	-	-	-	-	-	-
9	NO3Ag 10 µM	-	-	-	-	-	-
10	NO3Ag 50 µM	+	+	+	+	+	+
11	L-cys: NO3Ag (100 µM:50 µM)	-	-	-	-	-	-
12	todos (conc. máx.)	+	+	+	+	+	+

El signo “+” corresponde a la liberación de exudados al medio, mientras que el signo “-” indica la ausencia de exudado.

Ensayo de inducción de callos

Solamente fue posible obtener callos cuando se utilizaron haustorios como explanto de iniciación (Figura 3). En el caso de las hojas, pedicelos y entrenudos los explantos murieron al poco tiempo, mientras que en los meristemas hubo aparición de zonas hiperhídricas que no prosperaron más allá de un mes en cultivo observándose una rápida oxidación y muerte. Los haustorios son estructuras que algunas especies (parásitas y hemiparásitas) utilizan para atravesar las

barreras que presenta el hospedante con el objetivo de alcanzar sus vasos conductores (en el caso de *L. cuneifolia*, xilema) y aprovechar así sus nutrientes. En este trabajo se utilizaron como explantos haustorios separados de los ejemplares recolectados y también haustorios que se desarrollaron al colocar las semillas en cultivo *in vitro* por lo que se trabajó con material joven con alta capacidad de dediferenciación y que no mostró, al ser colocado en cultivo,

Figura 3.- Inducción de callos a partir de haustorios como explanto**3A:** desarrollo del haustorio; **2B:** callo.

liberación de exudado al medio como lo hicieron los restantes explantos. Esto resultó ventajoso pues no presentaron las características de comportarse como recalcitrantes al cultivo *in vitro* o de producir exudados tóxicos en las condiciones ensayadas.

En cuanto al efecto de los reguladores de crecimiento solamente fue posible observar la aparición de tejidos hiperhidróticos en las zonas de las heridas, desdiferenciación celular y formación de callo cuando se utilizó el 2,4-D como regulador de crecimiento a una concentración de 2,25 μM y B5 como medio base (Tabla 5). El 2,4-D es el prototipo de la auxina sintética ampliamente utilizada en cultivos *in vitro* de vegetales. En futuros ensayos se procederá a analizar la influencia de otros reguladores de crecimiento y otras condiciones de cultivo (fuente de carbono, de nitrógeno) con el fin de optimizar el rendimiento de biomasa y analizar el rendimiento de compuestos polifenólicos en los cultivos *in vitro*.

Conclusiones

En base a los resultados obtenidos, las hojas y las flores de *L. cuneifolia* serían los órganos a considerar en la elaboración de especialidades medicinales para su futuro empleo farmacológico debido a su contenido en polifenoles.

Respecto al cultivo *in vitro*, este trabajo es el primero en informar el establecimiento exitoso del mismo en esta especie o especies relacionadas. Se optimizó el protocolo de desinfección, se determinaron los agentes antioxidantes de elección para inhibir la liberación de exudados fenólicos tóxicos al medio de cultivo y se logró iniciar cultivos indiferenciados a partir de haustorios en medio B5 con 2,4-D como regulador de crecimiento a una concentración de 2,25 μM . En futuros ensayos se optimizarán las condiciones para obtener alto rendimiento de biomasa productiva de los compuestos polifenólicos de interés.

Tabla 5.- Resultados obtenidos en el ensayo de inducción de callos

Reguladores de crecimiento	Explantos				
	Hojas	Nudos	Meristemas	Pedicelos	Haustorios
2,4-D (2,25 μM)	-	-	-		+
2,4-D (4,5 μM)	-	-	-		
2,4-D (10 μM)	-	-	-		
2,4-D+KIN (2,25 μM +2,3 μM)	-		-	-	
2,4-D+KIN (4,5 μM +2,3 μM)	-		-	-	
2,4-D+KIN (10 μM +2,3 μM)	-		-	-	
2,4-D+KIN (2,25+4,65 μM)	-		-	-	
2,4-D+KIN (4,5 μM +4,65 μM)	-		-	-	
2,4-D+KIN (10 μM +4,65 μM)	-		-	-	
AIA (2,25 μM)	-		-	-	
AIA (4,5 μM)	-		-	-	
AIA (10 μM)	-		-	-	
ANA+KIN (2,25 μM +2,3 μM)	-		-		
ANA+KIN (4,5 μM +2,3 μM)	-		-		
ANA+KIN (10 μM +2,3 μM)	-		-		
BAP (0,2 μM)	-		-		
BAP (0,3 μM)	-		-		
BAP (0,4 μM)	-		-		

(-): tratamientos en los que no se observó formación de tejido calloso; (+): tratamientos en los que hubo formación de callos. Los tratamientos en los que no hay símbolos no fueron ensayados.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por ANPCyT (PICT 2015-2024), CONICET, Universidad de Buenos Aires (Proyecto 20020130100641BA) y CEBBAD (Universidad Maimónides).

Además queremos agradecer al Dr. Javier Calcano por la recolección de las muestras.

Referencias bibliográficas

- Ahmad, I.; Hussain, T.; Ashraf, I.; Nafees, M.; Maryam, R.M.; Iqbal, M. (2013). "Lethal effects of secondary metabolites on plant tissue culture". *American Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences* 13: 539-547.
- Álvarez, M.A.; Fernández Eraso, N.; Pitta-Alvarez, S.; Marconi, P.L. (2009). "Two-stage culture for producing berberine by cell suspension and shoot cultures of *Berberis buxifolia* Lam.". *Biotechnology Letters* 31: 457-463.
- Cerdá Zolezzi, P.; Fernández, T.; Aulicino, P.; Cavaliere, V.; Greczanik, S.; Caldas Lopes, E.; Wagner, M.; Ricco, R.; Gurni, A.; Hajos, S.; Álvarez, E. (2005). "*Ligaria cuneifolia* flavonoid fractions modulate cell growth of normal lymphocytes and tumor cells as well as multi-drug resistant cells". *Immunobiology* 209: 737-749.
- Chang, C.C.; Yang, M.H.; Wen, H.M.; Chern, J.C. (2002). "Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods". *Journal of Food and Drug Analysis* 10: 178-182.
- Debergh, P.; Zimmerman, R.H (eds.). (1991). *Micropropagation Technology and Application*. Springer. Netherland:1-469.
- Dobrecky, C.B.; Moreno, E.; Garcés, M.; Lucangioli, S.; Ricco, R.A.; Evelson, P.; Wagner, M.L. (2014). "Contenido de polifenoles en *Ligaria cuneifolia* y su relación con la capacidad antioxidante". *Dominguezia* 30 (2): 35-39.
- Dobrecky, C. B., Flor, S. A., López, P. G., Wagner, M. L., & Lucangioli, S. E. (2017). "Development of a novel dual CD-MEKC system for the systematic flavonoid fingerprinting of *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh.-Loranthaceae-extracts". *Electrophoresis* 38(9-10): 1292-1300.
- Domínguez, J.A. (1928). *Contribuciones a la Materia Médica Argentina*. Peuser. Buenos Aires: 84, 140-141.
- Dominighini, A.; Ferrero, M.; Crosetti, D.; Álvarez, M.L.; Ronco, M.T.; González, J.; Wagner, M.; Gurni, A.; Carnovale, C.; Luquita, A. (2015). "Effects of proanthocyanidin enriched extract from *Ligaria cuneifolia* on plasma cholesterol and hemorheological parameters. In vivo and In vitro studies." *Clinical Hemorheology and Microcirculation* 44 (3): 217-225.
- FNA. Farmacopea Nacional Argentina. (1978). *Codex medicamentarius Argentino*. Sexta edición. Buenos Aires, Argentina: Codex S.A.
- Fernández, T; Wagner, M.L.; Varela, B.G.; Ricco, R.A.; Hajos, S.E.; Gurni, A.A.; Álvarez, E. (1998). "Study of an Argentine mistletoe, the hemiparasite *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh (Loranthaceae)". *Journal of Ethnopharmacology* 62: 25-34.
- Fernández, T.; Cerda Zolezzi, P.; Aulicino, P.; Caldas Lopes, E.; Wagner, M.; Ricco, R.; Hajos, S.E.; Gurni, A.; Alvarez, E. (2003). "Immunobiological features of the galactoside lectin L-Lc isolated from the Argentine mistletoe *Ligaria cuneifolia*". *Journal of Ethnopharmacology* 85: 81-92.
- Ferrero, M.; Crosetti, D.; Dominighini, A.; Álvarez, M.L.; Ronco, M.T; Wagner, M.L.; Gurni, A.; Carnovale, C.; Luquita, A. (2006). "Fracción metanólica de *Ligaria cuneifolia* "muérdago criollo": efecto sobre parámetros hemorreológicos y secreción biliar". *Dominguezia* 22 (1): 27-33.
- Izquierdo, J.A.; Starita, J.A. (1955). "Acciones vasculares de *Phrygilanthus flagellaris* y de *Psittacanthus cuneifolius*". *Revista Farmacéutica* 97: 177-181.
- Khanna, P.; Staba, E.J. (1968) "Antimicrobials from plant tissue culture". *Lloydia* 31: 347-359.
- Majid, B. N.; Roopa, G.; Sampath, K.; Kini, R.K.; Prakash, H.S.; Abbagani, S.; Mehdi, K.; Geetha, N. (2014). "Establishment of an efficient explant surface sterilization protocol for in vitro micropropagation of *Salacia chinensis* L. and endangered antidiabetic medicinal plant". *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3 (12): 1266-74.
- Makkar, H.P.S.; Bluemmel, M.; Borowy, N.K.; Becker, K. (1993). "Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical

- and protein precipitation methods”. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 61: 161-165.
- Murashige, T.; Skoog, F. (1962). “A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiology Plant* 15: 473-479.
- Mustafa, N.S.; Taha, R.A.; Hassan, S.; Zaid, N.S.M.; Mustafa, E.A. (2013). “Overcoming phenolic accumulation of date palm *in vitro* culture using tocopherol and cold pre-treatment”. *Middle-East Journal of Scientific Research* 15: 344-350.
- Ndakidemi, C.; Mneney, E.; Ndakidemi, P. (2014). “Effects of ascorbic acid in controlling lethal browning in *in vitro* culture of *Brahylaena huilensis* using nodal segments”. *American Journal of Plant Sciences* 5 (1): 187-191.
- Price, M.L.; Van Scoyoc, S.; Butler, L.G. (1978). “A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannins in sorghum grains”. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 26: 1214-1218.
- Ricco, R.A.; Agudelo, I.J.; Wagner, M.L. (2015). “Métodos empleados en el análisis de los polifenoles en un laboratorio de baja complejidad”. *Lilloa* 52 (2): 161-174.
- Soberón, J.R.; Sgariglia, M.A.; Maderuelo, M.R.; Andina, M.L.; Sampietro, D.A.; Vattuone, M.A. (2014). “Antibacterial activities of *Ligaria cuneifolia* and *Jodina rhombifolia* leaf extracts against phytopathogenic and clinical bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 118 (5): 599-605.
- Taira, C.A.; Wagner, M.L.; Adrados, H.M.; Pino, R.; Gurni, A.A. (1994). “Pharmacological study of a vasoactive agent present in infusions from *Ligaria cuneifolia* var. *cuneifolia*. *Pharmaceutical Biology* 42 (3): 234-239.
- Varela, B.G.; Fernández, T.; Taira, C.; Cerdá Zolezzi, P.; Ricco, R.A.; Caldas López, E.; Álvarez, É.; Gurni, A.A.; Hajos, S.; Wagner, M.L. (2000). “El muérdago criollo, *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh. -Loranthaceae-. Desde el uso popular hacia el estudio de los efectos farmacológicos”. *Dominguezia* 17 (1): 31-50.
- Waterman, P.G., Mole, S. (1994). *Analysis of polyphenolic plant metabolites*, Methods in Ecology, London, England: Blackwell Scientific Publications.
- Woisky, R.G.; Salatino, A. (1998). “Analysis of propolis: some parameters and procedures chemical quality control”. *Journal of Apicultural Research* 37: 99-105.

Índice acumulado

Dominguezia 32(1) 2016

Carlos Spegazzini: *Icones Cactacearum* (FABIÁN FONT)

Álbum y fotografías de Cactáceas del Dr. Carlos Spegazzini

Dominguezia 32(2) 2016

V Jornadas Nacionales de Plantas aromáticas nativas y sus aceites esenciales - I Jornadas Nacionales de Plantas medicinales nativas

Dominguezia 33(1) 2017

XII Simposio Argentino de Farmacobotánica - I Jornadas de la Enseñanza de la Farmacobotánica

Dominguezia 33(2) 2017

Búsqueda de compuestos bioactivos en *Erythrina crista-galli* infectada con *Phomopsis sp.* (FLAVIA REDKO)

Las especies arbóreas de los jardines del Hospital de Pediatría "Juan P. Garrahan" (BEATRIZ G. VARELA, HERNÁN G. BACH, MARCELO L. WAGNER, PAULO CÁCERES GUIDO)

"Improntas" reveladora de caracteres micrográficos epidérmicos con aplicación en el control de calidad de plantas medicinales (CARLOS G. ALTAMIRANO, MARTA E. YAJÍA)

Etnobotánica histórica de las misiones franciscanas del este de Formosa. II: Identificación y análisis de datos inéditos y reelaboración integral de fuentes ya publicadas a partir de hallazgos documentales (GUSTAVO F. SCARPA, LEONARDO M. ANCONATANI)