

Facultad de Farmacia y Bioquímica
Universidad de Buenos Aires

Propietario
Museo de Farmacobotánica
“Juan Aníbal Domínguez”

Dominguezia

Volumen 17 (1), 2001

Director Responsable: Dr. José Laureano Amorín

Comisión Redactora: Dr. Arnaldo L. Bandoni
Ing. Agr. Gustavo C. Giberti
Dr. Alberto A. Gurni
Dr. Marcelo L. Wagner

Comisión Científica Asesora:

Dr. Aníbal Amat	(Universidad Nacional de Misiones, Argentina)
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. Ramón A. de Torres	(Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. José Luis López	(Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. Eloi Mandrile	(Universidad Nacional de La Plata, Argentina)
Dra. Marta Nájera	(Universidad Nacional de La Plata, Argentina)
Dr. Rafael A. Ricco	(Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. Lionel G. Robineau	(Universidad de las Antillas y de la Guayana)
Dr. Rubén V. Rondina	(Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. Otmaro Roses	(Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. Adriana Saubois	(Universidad Nacional del Litoral, Argentina)
Dra. Etilé Spegazzini	(Universidad Nacional de La Plata, Argentina)
Dr. Carlos Taira	(Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. María L. Tomaro	(Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. Edda C. Villaamil	(Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Editora Asociada: María Cristina Ratto de Sala

Colaboradora técnica de edición: Lorena S. Arias

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

Publicación semestral

Precio del ejemplar: US\$18 o su equivalente en pesos.

Each issue: US\$18

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

Lámina de Tapa

Viscum album L. -Viscaceae-

Lámina extraída de Kohler's Medizinal Pflanzen (1898)

Incluida en el Directorio de LATINDEX por el Centro Argentino de Información Científica y Tecnológica (CAICYT-CONICET) con el número de Folio 2787 Dominguezia

Registro de la Propiedad Intelectual N° 165674
Composición y armado: Pedro Schapira Ediciones
Correo electrónico: pedro@freemail.org.mk

Distribución: Mapaguan Libros
Correo electrónico: mapaguanlibros@sinectis.com.ar

Se terminó de imprimir en noviembre de 2001

Índice de contenido

POTENCIAL CITOSTÁTICO DE UN EXUDADO DE SEMILLAS DE CEDRELA FISSILIS VELL. (MELIACEAE)
EN GERMINACIÓN
Teresa Argüelles y Graciela Fernández 5

EFFECTOS ALELOPÁTICOS DE TRIDAX PROCUMBENS L.
Marta Krautmann, Silvia Turbay y Elmira Riscalá 13

ESPECIES EQUISETIFORMES UTILIZADAS EN MEDICINA TRADICIONAL EN LA PROVINCIA DE JUJUY
(ARGENTINA)
Nilda Dora Vignale y Alberto Ángel Gurni 23

Revisión

EL "MUÉRDAGO CRIOLLO", LIGARIA CUNEIFOLIA (R. ET P.) TIEGH -LORANTHACEAE-
DESDE EL USO POPULAR HACIA EL ESTUDIO DE LOS EFECTOS FARMACOLÓGICOS
Beatriz G. Varela, Teresa Fernández, Carlos Taira, Paula Cerdá Zolezzi, Rafael A. Ricco, Eloisi Caldas López,
Élida Álvarez, Alberto A. Gurni, Silvia Hajos y Marcelo L. Wagner 31

Redacción y comunicación científicas

DIFUSIÓN, ACCESO Y VISIBILIDAD DE PUBLICACIONES CIENTÍFICAS SERIADAS DE IBEROAMÉRICA.
EL SISTEMA LATINDEX
María Cristina Ratto de Sala y Amalia Beatriz Dellamea 51

Reuniones Científicas - Cursos

Index

CYTOSTATIC POTENTIAL OF A GERMINATING SEED EXUDATE FROM CEDERELA FISSILIS VELL.,
(MELIACEAE)
Teresa Argüelles y Graciela Fernández 5

ALLELOPATHIC EFFECTS OF TRIDAX PROCUMBENS L.
Marta Krautmann, Silvia Turbay y Elmira Riscalá 13

EQUISETIFORM SPECIES EMPLOYED IN FOLK MEDICINE IN THE PROVINCE OF JUJUY (ARGENTINA)
Nilda Dora Vignale y Alberto Ángel Gurni 23

Review

THE ARGENTINE MISTLETOE, LIGARIA CUNEIFOLIA (R. ET P.) TIEGH. –LORANTHACEAE–
FROM FOLK MEDICINE TO THE STUDY OF PHARMACOLOGICAL EFFECTS
Beatriz G. Varela, Teresa Fernández, Carlos Taira, Paula Cerdá Zolezzi, Rafael A. Ricco, Eloisi Caldas López,
Élida Álvarez, Alberto A. Gurni, Silvia Hajos y Marcelo L. Wagner 31

Scientific writing and journalism

DIFFUSION, ACCESS AND VISIBILITY OF IBEROAMERICAN SERIAL SCIENTIFIC PUBLICATIONS.
LATINDEX SYSTEM
María Cristina Ratto de Sala y Amalia Beatriz Dellamea 51

Scientific Meetings - Courses

POTENCIAL CITOSTÁTICO DE UN EXUDADO DE SEMILLAS DE *CEDRELA FISSILIS* VELL. (MELIACEAE) EN GERMINACIÓN

Teresa Argüelles^{1*} y Graciela Fernández²

¹LInQuiF, Facultad de Ciencias Forestales, Univ. Nac. de Misiones. Bertoni 124, (3380) Eldorado. Misiones. Correo electrónico: arguelles@facfor.unam.edu.ar

²Departamento de Ciencias Básicas. Univ. Nac. de Luján. Rutas 5 y 7, (6700) Luján. Pcia. de Bs. As.

*Autor a quien dirigir la correspondencia.

Resumen

Semillas de cedro misionero (*Cedrela fissilis* Vell. —Meliaceae—) se pusieron a germinar sobre un medio sintético compuesto por las sales minerales de la formulación de Murashige y Skoog a la mitad de su concentración, y solidificado con agar. Se determinó que las semillas exudaban sustancias hacia el medio de cultivo que inhibía el crecimiento de los hongos contaminantes frecuentes en el cultivo *in vitro* de explantos vegetales. En este trabajo se determinó que esas sustancias son capaces de inhibir el crecimiento de hifas de *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Mucor* spp., así como de levaduras. Por otro lado, los estudios realizados indican que también inhiben el crecimiento de estafilococos y estreptococos.

CYTOSTATIC POTENTIAL OF A GERMINATING SEED EXUDATE FROM *CEDRELA FISSILIS* VELL., (MELIACEAE)

Summary

Seeds from *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae) were put to germinate on synthetic medium made out of the saline formulation of Murashige and Skoog diluted to half of its strength and solidified with agar. The seed exuded substances into the substrate, which inhibited the growth of fungi normally found as contaminant in tissue culture of explants. In this study it was determined that those substances can inhibit the growing of hyphae of *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Mucor* spp., and yeast. Preliminary analysis indicate bacterial, staphylococcus and streptococcus growth inhibition.

Palabras clave: *Cedrela fissilis* - semillas - actividad antifúngica.

Key words: *Cedrela fissilis* - seed - antifungal activity.

Introducción

Cedrela fissilis Vell. (Meliaceae) (ex *Cedrela tubiflora* Bertoni) es un árbol de la familia de las Meliáceas; su madera es muy apreciada ya que posee óptimas características fisicomecánicas y agradable fragancia (Dimitri y col., 1997). Es un componente importante de la Selva Paranaense Misionera, parte remanente de la gran Mata Atlántica, que desde el Océano Atlántico se adentra en el continente hasta la Provincia de Misiones y el este del Paraguay (Clayton Ferreira, 1992).

Debido a que el cultivo del árbol presenta serios problemas fíto-sanitarios (Brugnoni, 1980), se comenzó, en 1993, un experimento destinado a la inducción de mutaciones y a la propagación agámica del material transformado. Con el objetivo de obtener plantines se utilizó material vegetal joven. Sobre un medio de cultivo de alta molaridad, y en forma aséptica, se pusieron a germinar semillas sin los dos tegumentos y el endosperma, y solamente se dejó el embrión con los cotiledones.

Al cabo de tres semanas se observó que en el medio donde estaban los embriones, relativamente rico y complejo, no había contaminación; los embriones completos mantenían su coloración blanco-lechosa, efecto que hizo suponer la presencia de sustancias antioxidantes.

Así, en 1993, se inició el estudio de las propiedades antioxidantes de las sustancias que se encontraban en el embrión. En primer lugar, los medios donde habían permanecido los embriones fueron inoculados con los hongos contaminantes comunes de los medios de cultivo (*Penicillium* spp., *Aspegillus* spp., *Mucor* spp). La inoculación no progresó, ya que no se formaron las hifas de los hongos.

En 1994 y 1995 se repitió el experimento; se corrigieron las condiciones técnicas y la metodología.

Materiales y métodos

Frutos de *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae) fueron recolectados durante junio y julio en los departamentos de Guaraní (54° 15' de longitud Oeste; 26° 56' latitud Sur) y de Eldorado (54° 40' de longitud Oeste; 26° 23' de latitud Sur) de la Provincia de Misiones.

Mapa 1.- Provincia de Misiones (Argentina). Zonas de recolección



● Departamento de Eldorado.

■ Departamento de Guaraní.

En el Departamento Guaraní se recogieron las semillas de árboles situados en el predio Reserva Forestal de Uso Múltiple Guaraní de la Universidad Nacional de Misiones y en el Departamento de Eldorado, se recogieron en la zona de influencia de la ciudad de Eldorado, a orillas del río Paraná.

Los frutos fueron mezclados sin distinguir su procedencia y fueron dejados a la sombra en un ambiente seco, a temperatura no mayor de los 30 °C. Cuando los frutos se abrieron, se extrajeron las semillas, eliminando las que se detectaban vacías al tacto. Luego, las semillas fueron almacenadas en una bolsa de polietileno a 12 °C hasta su utilización.

Para promover la germinación, las semillas fueron dispuestas sobre dos sustratos: a) y b);

- a) medio de cultivo preparado con la formulación de sales inorgánicas de Murashige y Skoog a la mitad de su concentración (Murashige y Skoog, 1962), pH 5,7, solidificado con 0,65 % de Difco-bacto agar;
- b) agua desionizada, ajustada al mismo pH, y solidificada con la misma concentración de agar.

Ambos medios de cultivo fueron esterilizados en autoclave a 121 °C durante 20 minutos.

Todas las semillas fueron sometidas a un flujo de agua corriente durante dos horas (Sauls, 1972); posteriormente las semillas fueron agrupadas en cuatro lotes, tres de ellos de 300 ejemplares cada uno y el cuarto, de 100 ejemplares.

En el primer lote las semillas fueron escarificadas (se les cortó el ala membranosa y se verificó que los tegumentos se hubieren perforado, para permitir el libre acceso de agua).

En el segundo lote los tegumentos y el endosperma fueron removidos completamente, quedando los embriones desnudos.

En el tercer lote las semillas fueron desmembradas con el fin de separar el endosperma y los cotiledones de los embriones, y los cotiledones y los embriones sin cotiledones fueron sembrados por separado. El cuarto lote, de 100 semillas enteras, fue sometido a un baño de agua a 100 °C durante 5 minutos. Durante todo el proceso las semillas estuvieron en contacto con el agua, pero se verificó que el tiempo total de lavado no superara las tres horas.

La cantidad total de semillas sembradas fue aproximadamente de 1.000.

En los sustratos a) y b) se sembraron:

1. Semillas enteras con tegumentos perforados.
2. Semillas enteras con tegumentos perforados, inactivadas por calor.
3. Embriones enteros, sin tegumentos ni endosperma.
4. Embriones sin cotiledones.
5. Cotiledones aislados.

Cuadro 1.- Esquema de la siembra en los sustratos a) y b)

Sustrato a)	Sustrato b)
<i>Semillas enteras escarificadas</i> 15 recipientes, 10 semillas c/u	<i>Semillas enteras escarificadas</i> 15 recipientes, 10 semillas c/u
<i>Semillas enteras escarificadas y en baño de agua 100 °C, 5 minutos</i> 12 recipientes, 10 semillas c/u	<i>Semillas enteras escarificadas y en baño de agua 100 °C, 5 minutos</i> 12 recipientes, 10 semillas c/u
<i>Embriones desnudos, sin tegumento ni endosperma</i> 12 recipientes, 10 semillas c/u	<i>Embriones desnudos, sin tegumento ni endosperma</i> 12 recipientes, 10 semillas c/u
<i>Embriones sin cotiledones</i> 12 recipientes, 10 embriones c/u	<i>Embriones sin cotiledones</i> 12 recipientes, 10 embriones c/u
<i>Cotiledones aislados</i> 12 recipientes, 20 cotiledones c/u	<i>Cotiledones aislados</i> 12 recipientes, 20 cotiledones c/u

Como controles se dejaron sin sembrar 5 recipientes de cada uno de los sustratos.

Los recipientes que contenían el material vegetal se mantuvieron con un fotoperíodo de 16 horas luz de $27 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, a una temperatura que osciló entre los 25 y los 30 °C.

Al cabo de 30 días se comenzaron los ensayos de inoculación con hongos y bacterias.

Se preparó agar-papa glucosado y agua de peptona-agar, ambos fortificados 2X, a fin de obtener la concentración final adecuada (Becker y col., 1996) para el crecimiento de hongos y bacterias. Los medios fueron esterilizados a 121 °C, y cuando el medio agar-papa se enfrió a una temperatura de 45 °C, fue mezclado en partes iguales con el sustrato proveniente de las semillas mediante agitación rápida y enérgica; inmediatamente fue sometido a un enfriamiento rápido por inmersión del recipiente que contenía la mezcla, en agua helada. Se procedió de igual forma con el agua de peptona.

Los medios así preparados con agar-papa glucosado, y los tres recipientes con el sustrato original sin la adición del agar-papa, fueron inoculados con ansa de platino en estría, con cultivos puros de cada uno de los hongos: *Aspergillus* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp. y *Saccaromices* spp. Los medios reelaborados con agua de peptona, y tres recipientes con el sustrato original fueron sembrados en los cuatro cuadrantes

con *Escherichia coli*, *Stafilococcus aureus* y *Streptococcus piogenes*. Ambos cultivos fueron mantenidos en la oscuridad; los inoculados con hongos, a temperatura ambiente (24-30 °C), y los cultivos inoculados con bacterias, a 35 °C, en estufa.

En seis de los recipientes que habían contenido semillas enteras escarificadas, se eliminaron estas y se sembraron 10 semillas de citrus, extraídas de naranja dulce, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. (Rutáceas) "Calderón", de origen comercial.

Después de 72 horas se observaron los recipientes con bacterias para determinar si había desarrollo de colonias. Al cabo de 10 días se analizaron las inoculaciones con hongos.

Para la determinación de glúcidos y proteínas se tomó uno de los medios de cultivo preparados con agua desionizada y solidificados con agar, que habían contenido las semillas, y se centrifugó a 5.000 G durante 10 minutos, utilizando el sobrenadante de esta centrifugación. Para la determinación de hidratos de carbono se utilizó el método de Dubois (Dubois y col., 1965); las proteínas fueron determinadas por el método de Bradford (Bradford, 1976). Para el aislamiento y el ensayo de compuestos orgánicos se siguió el esquema de extracción de Kefeli (Kefeli, 1978).

Resultados y discusión

La inoculación sobre el medio combinado formado por 20 ml de agar-papa glucosado 2X, más igual cantidad de sustrato a) o b), que había contenido las semillas enteras escarificadas, o los embriones, dio crecimiento negativo para todos los hongos y las bacterias ensayados. Sin embargo, en los controles donde nunca hubo semillas, el crecimiento de bacterias fue positivo y, en el caso de los hongos, fue notable (Tabla 1).

Así pues, la inhibición del crecimiento fue total en el medio que había contenido semillas completas; fue menor en el medio con embriones sin cotiledones; y menor aún, en aquel que había contenido solo cotiledones. En este aspecto no se registraron diferencias entre los medios.

En el caso de *Aspergillus* sp y *Phytophthora* sp, la inoculación sobre el medio que contenía semillas (con tegumentos o desnudas) fue negativa durante las primeras 5 semanas, en las que no se observó crecimiento. Después de este tiempo, se comenzó a ver en la parte superior de la cubierta seminal y en el cotiledón desnudo (la parte de la semilla que no estaba en contacto con el medio), conidióforos y esterigmas típicos de *Aspergillus* sp, e hifas de *Phytophthora* sp, en otros recipientes. Después de 45 días se observó en el 3 % de los recipientes una colonización del medio de cultivo en zonas muy restringidas alrededor de las semillas y con un patrón de crecimiento en forma de estrías circulares. En la observación microscópica de este crecimiento no se detectaron hifas, solo esporas de resistencia.

Tabla 1.- Crecimiento de las especies de hongos consignados según los diferentes tratamientos

Tratamientos Hongos	Control	Semillas con tratamiento térmico	Semillas enteras con tegumentos	Semillas enteras sin tegumento ni endosperma	Embriones aislados	Cotiledones aislados
<i>Aspergillus sp.</i>	+++	+++	—	—	+	—
<i>Rhizopus sp.</i>	+++	++	—	—	+	—
<i>Penicillium sp.</i>	++	+++	—	—	—	—
<i>Mucor sp.</i>	++	++	—	—	—	—
<i>Fusarium sp.</i>	+++	+++	—	—	+	+
<i>Phytophthora sp.</i>	+++	+++	—	—	+	+
<i>Saccaromices sp.</i>	+	++	—	—	++	+

Los datos fueron tomados diez días después de la inoculación en el medio agar-papa glucosado con el exudado de las semillas.

+++ Crecimiento óptimo, ++ Crecimiento bueno, + Crecimiento pobre, — Sin crecimiento.

En los medios que habían contenido las semillas tratadas con calor, el crecimiento de hongos y bacterias fue equivalente al de los controles.

Las semillas de citrus no germinaron sobre los medios que habían contenido semillas. En cambio, germinaron las 30 semillas sembradas sobre los controles.

Los ensayos se repitieron 3 años consecutivos, y aunque el procedimiento descrito corresponde solo al último año, donde se completó totalmente, los resultados de la inhibición del crecimiento han sido coherentes y se han repetido todos los años con la misma intensidad, independientemente de la proporción de semillas de cada localidad que pudieran integrar la muestra.

La hipótesis de que las semillas, antes de germinar, exudan sustancias al medio con poder antifúngico parece eficientemente probada con los experimentos descritos. Tenemos cierta reserva en cuanto al poder bactericida de las sustancias exudadas, ya que no se pudo establecer fehacientemente; algunas bacterias necesitan de sustratos que requieren medios específicos diferentes a los empleados con los hongos. El crecimiento sobre los controles bacterianos fue positivo, pero no tan notorio como con los hongos.

Las sustancias exudadas al medio poseen un carácter antifúngico, por lo menos para los hongos empleados en los experimentos realizados (Tabla 1).

En las pruebas efectuadas en los años anteriores (1993 y 1994) con hongos no caracterizados que normalmente infectan los cultivos *in vitro* también se detectó la propiedad antifúngica. De acuerdo con los resultados obtenidos, no se trata de principios activos presentes en el cotiledón, y tampoco en el embrión, sino que necesita de la presencia de ambos, embrión y cotiledón, para activarse, o sintetizarse *de novo*. Esas sustancias no permanecen en los cotiledones, sino que migran al medio, ya que los cotiledones se infectan mucho más fácilmente que el medio donde descansa la semilla. Acompaña al poder antifúngico un olor característico que se asemeja al de las sustancias azufradas.

En los extractos acuosos no se detectó la presencia de proteínas, y se descartó, por lo tanto, la naturaleza proteica de las sustancias. Se detectaron 20 mg/ml de glúcidos en esos extractos.

En los extractos metanólicos, con las pruebas del cloruro férrico y ester 2-aminoetil difenil bórico al 1 % en metanol (Wagner y col., 1984), se detectó la presencia de ácidos fenólicos. En la fracción clorofórmica alcalina dio resultado positivo la reacción con hexacloroplatinato de hidrógeno, lo que indicaría la presencia de compuestos heterocíclicos de nitrógeno y/o aminas cuaternarias.

Conclusiones

La bibliografía consultada revela que *Cedrelela fissilis* parece producir ciertos metabolitos secundarios con efectos de interés en el área biomédica y bioquímica. Los extractos acuosos de hojas presentan actividad antimalaria (Mackinnon y col., 1997), actividad sobre macrófagos y leucocitos polimorfonucleares (Benencia y col., 1996) y actividad inmunomoduladora (Benencia y col., 1995). En nuestros experimentos se han detectado sustancias específicas producidas en un órgano (la semilla) y durante la iniciación de un proceso (la germinación), con funciones importantes de preservación. Los trabajos anteriores sobre el estudio anatómico y sobre la germinación de estas semillas no lo informan (Berltrati y col., 1985; Corbineau y col., 1985). La semilla de cedro relativamente pequeña delimita un sustrato sobre el cual germinar y desarrollarse durante los primeros estadios de vida, y se asegura que este espacio no sea invadido por otros organismos mediante la exudación de sustancias que impedirán el crecimiento de organismos tan invasores como los hongos, o la germinación de otra semilla en el mismo lugar. Podría ser esta una adaptación química para la supervivencia, de la misma forma que la especie desarrolla adaptaciones morfológicas (Marques y col., 1996) cuando se encuentra en condiciones adversas.

Referencias bibliográficas

- Becker, J.M.; Caldwell, G.A. y Zachgo, E.A. (1996). En: *Biotechnology: A laboratory course*. Academic Press. London-Sidney.
- Benencia, F.; Courreges, M.C.; Nores, M.M. y Coulombie, F.C. (1995). "Inmunomodulatory activities of *Cedrela tubiflora* leaf aqueous extracts". *Jour of Ethnopharmacology* 49 (3): 133-139.
- Benencia, F.; Courreges, M.C. y Coulombie, F.C. (1996). "In vitro activities of *Cedrela tubiflora* aqueous leaf extracts on murine macrophages". *Phytotherapy Research* 10 (1): 37-41.
- Berltrati, C.M.; Alves Júnior V.V. y Pagano, S.N. (1985). "Morpho-anatomical studies of the seeds and seedlings of *Cedrela fissilis*, Meliaceae". *Revista Brasileira de Biología* 45 (4): 499-506.
- Bradford, M.M. (1976). "A rapid and sensitive method for the quantitation of micrograms quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding". *Anal. Biochem.* 72: 218-225
- Brugnoli, H.C. (1980). En: *Plagas forestales*. Cap. II. Hemisferio Sur: 78-80.
- Clayton Ferreira L., (Ed.) (1992). Consorcio Mata Atlántica. Universidade Estadual de Campinhas. *Reserva da Biófera da Mata Atlántica* 1 (101).
- Corbineau, F.; Defresne, S. y Come D. (1985). "Some characteristics of seed germination and seedling growth of *Cedrela odorata*, Meliaceae". *Bois et forets des Tropiques* (207): 17-22.
- Dimitri, M.J.; Leonardis, R. y Biloni, J.S. (1997). En: *El Nuevo Libro del Árbol*, Tomo II (Dir. Francisco Erize) El Ateneo, Buenos Aires. Versión ampliada y actualizada de *El Libro del Árbol*, (Celulosa Argentina, 1977).
- Dubois, M.; Gilles, K.A.; Hamilton, J.K.; Rebers, P.A. y Smith, F. (1965). *Anal. Chem.* 28: 350-356.
- Kefeli, V.I. (1978). En: *Natural Plant Growth Inhibitors and Phytohormone*. The Hague Publishers. Boston.
- Mackinnon, S.; Durst, T.; Arnason, J.T. y Angerhofer, C., (1997). "Antimalarial activity of tropical meliaceae extracts and genudin derivatives". *Jour of Nat. Products* 60 (4): 336-341.
- Marques, M.C.; Pimenta, J.A. y Colli, S. (1996). "Aspects of metabolism and morphology of *Cedrela fissilis* Vell., and *Anadenanthera colobrina* (Vell) Bren to different water regimes". *Arquivos de Biología e Tecnología* 39 (2): 385-392.
- Murashige, T. y Skoog, F. (1962). "A revised médium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures". *Physiol. Plantarum* (15): 473-497.
- Sauls, J.W. (1972). *Studies on seed dormancy*. Tesis Doctoral. Univ. of Florida. Gainesville (EE.UU.).
- Wagner, H.; Blau, S. y Zgainski, E.M. (1984). En: *Plant Drug Analysis*. Cap. 1. Springer Verlag.

EFFECTS ALELOPÁTICOS DE *TRIDAX PROCUMBENS* L.

Marta Krautmann¹, Silvia Turbay y Elmira Riscala

Facultad de Agronomía y Zootecnia, Universidad Nacional de Tucumán. Av. Roca 1900, (4000) San Miguel de Tucumán, República Argentina.

¹ Autor a quien dirigir la correspondencia.

Resumen

El objetivo de este estudio es el análisis de la capacidad de un metabolito del subextracto clorofórmico de *Tridax procumbens* L. (Asteraceae-Heliantheae) para afectar la germinación de semillas de *Lactuca sativa* L. var. *Grand rapid* (Asteraceae). Para ello se determinó: el número de semillas germinadas, la longitud de plántulas, las alteraciones enzimáticas y de permeabilidad celular y el índice mitótico. Con las partes aéreas de *Tridax procumbens* L. (Asteraceae-Heliantheae) se preparó un extracto clorofórmico que fue fraccionado por columna de sílica gel con solventes de diferente polaridad; se recogieron 253 fracciones que fueron purificadas por cromatografía líquida-líquida de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC). De los distintos compuestos purificados se seleccionó, para este trabajo, el proveniente de la fracción N° 176 por presentar en IR bandas de absorción a 1.760 cm⁻¹ que se asignan a carbonilo de lactona, compuestos de conocida actividad biológica: herbicida, bactericida, funguicida, entre otras. La germinación de semillas se realizó en cajas de Petri; fueron empleadas concentraciones de lactona de 250, 500, 750 y 1.000 ppm y agua y cloroformo como testigos; las semillas se incubaron a 25 °C durante 96 horas, y luego se efectuaron las determinaciones indicadas. Los resultados muestran que el metabolito ensayado no influye en el número de semillas germinadas pero sí afecta profundamente el crecimiento de las plántulas, donde se observaron alteraciones morfológicas y fisiológicas. Por esta razón podemos concluir que el compuesto ensayado tiene acción herbicida sobre el crecimiento de *Lactuca sativa* L. var. *Grand rapid* (Asteraceae) que actúa luego de la emergencia de la raíz.

ALLELOPATHIC EFFECTS OF *TRIDAX PROCUMBENS* L.

Summary

The objective of the present work is to analyse the capacity of one chloroform subextract metabolite of *Tridax procumbens* L. (Asteraceae-Heliantheae) to affect seed germina-

Palabras clave: maleza - lactona - alelopatía - germinación - *Tridax procumbens* L.

Key words: weed - lactone - allelopathy - germination - *Tridax procumbens* L.

tion of *Lactuca sativa* L. var. *Grand rapid* (Asteraceae). In this sense, number of germinated seeds, length of seedlings, enzymatic and cells permeability alterations and mitotic index were determined.

Chloroformic extract was prepared from aerial part of *Tridax procumbens* L. (Asteraceae-Heliantheae) and was further fractionated by column chromatography (Silica gel, increasing polarity solvent mixtures) obtaining 253 fractions, and purified by reverse phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC). One of the purified (from Fr 176) compounds presented an IR absorption band at 1.760 cm^{-1} which is typical of carbonyl group of sesquiterpene lactones (estructures of recognized biological activity) was selected for this work.

Seed germination assays were performed at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ in Petri dishes by using lactone concentrations of 250, 500, 750 and 1.000 ppm. Water and chloroform were used as control treatments. After 96 hours of incubation the above mentioned determinations were performed.

Results show that the tested metabolite does not affect the number of germinated seeds but it affects seedling growth in the sense that morphologic and physiologic alterations are observed. Thus, we can conclude that the tested compound has a certain herbicide effect on growth of *Lactuca sativa* L. var. *Grand rapid* (Asteraceae) that acts after root protrusion.

Introducción

La competencia que ejercen las malezas en las especies cultivadas a las que se asocian, es uno de los grandes problemas que afectan la producción agropecuaria. Los métodos empleados para combatir malezas se basan principalmente en el uso de compuestos químicos que son, en general, perjudiciales para el medio ambiente debido a que contaminan las aguas y el suelo.

Existe un especial interés en el ámbito científico internacional en determinar cuáles son los metabolitos elaborados por las plantas que pueden o tienen capacidad de alterar el desarrollo de otras especies.

Al respecto se han informado, en los últimos 20 años, los resultados de numerosas investigaciones, (Rice, 1984; Lydon y col., 1997; Nawamaki y Kuroyagi, 1996; Rizvi y col., 1999). Es particularmente interesante la revisión realizada por Alan Putman (1983) y la publicación *Advances in Chemical Ecology* de Harborne (1993). En la India, Baruah y col. (1994) ensayaron el efecto inhibitorio de las lactonas sobre la germinación y el crecimiento de varias especies cultivadas; además, en este trabajo se formulan propuestas sobre la relación que existe entre la estructura y la bioactividad de las lactonas sesquiterpénicas.

Los experimentos de laboratorio realizados por Fisher, Weidenhamer y Bradow (1989) compararon el efecto inhibitorio de seis lactonas sesquiterpénicas sobre la germinación de 16 especies monocotiledóneas y 9 especies dicotiledóneas. Observaron inhibición a concentraciones muy bajas (1mM) y sostienen que cuando las plantas liberan lactonas sesquiterpénicas en el suelo ejercen efectos negativos en el crecimiento de las especies vecinas.

Este trabajo constituye parte de un proyecto dirigido al aislamiento y la purificación de metabolitos producidos por malezas, para luego determinar si los metabolitos pueden inhibir el crecimiento de otras especies vegetales. Se propone encontrar herbicidas naturales no contaminantes que permitan la conservación de los suelos.

El compuesto para este ensayo presenta bandas en el IR que se asignan a carbonilo de lactona. Según la literatura, las lactonas tienen, además, otros efectos biológicos: fungicidas (Ando e Isogai, 1991; Jarvis y col., 1988; Rice, 1998), bactericidas y citotóxicos (Picman, 1986; Mazid y col., 1999; Esimone y Adikwn, 1999), entre otros.

Materiales y métodos

Material vegetal

El material empleado fue *Tridax procumbens* L. (Asteraceae-Heliantheae), (Botta y Cabrera, 1986; Robinson, 1981), una especie frecuente en las regiones tropicales, a menudo con carácter de maleza. En América se extiende desde el Sur de los Estados Unidos de Norteamérica hasta Bolivia. En la Argentina ha sido encontrada en la Provincia de Jujuy en 1983. El primer informe acerca de la presencia de esta especie en Tucumán fue realizado en diciembre de 1993 por la Cátedra de Química Orgánica (Facultad de Agronomía y Zootecnia-Universidad Nacional de Tucumán). Un ejemplar de referencia fue depositado en el Herbario del Instituto Miguel Lillo de Tucumán (LIL 597.214).

Preparación de los extractos

El material vegetal recolectado fue secado a temperatura ambiente y a la sombra. Luego se procedió de la siguiente forma (Hernández y col., 1996). Fueron juntadas las hojas y las flores (1.276 g) y posteriormente extraídas con cloroformo (2x6 l) durante 7 días a temperatura ambiente y con agitación ocasional. La evaporación del solvente dejó un residuo (extracto clorofórmico) de 107 g (rendimiento: 8,38 %). A continuación se realizó la partición del extracto, que fue suspendido en 916 ml de etanol a 50 °C y luego diluido con 687 ml de agua. La suspensión fue extraída sucesivamente con hexano (2x350 ml) y cloroformo (2x350 ml) y se obtuvo el subextracto hexánico (SEH) y el subextracto clorofórmico (SEC), respectivamente.

El SEC (20 g) fue fraccionado por cromatografía en columna de sílica gel (relación g extracto/g sílica gel 1:30); los solventes utilizados fueron, primero, cloroformo (2 volúmenes de columna) y luego, mezclas cloroformo-acetato de etilo de polaridad creciente (5-100 %). De esta columna se recolectaron 253

fracciones que fueron controladas por cromatografía en capa fina (TLC) y agrupadas según sus perfiles cromatográficos.

Para las TLC se empleó como fase fija cromatofolios de sílica 60 F₂₅₄ (Merck artículo 5.554) y, como fase móvil, cloroformo puro (fracciones 1-28), CHCl₃-AcOEt 2:0,05 (fracciones 29-45), CHCl₃-AcOEt 2:0,15 (fracciones 46-69), CHCl₃-AcOEt 2:0,40 (fracciones 70-96), CHCl₃-AcOEt 2:0,80 (fracciones 97-123), CHCl₃-AcOEt 2:1 (fracciones 124-137), CHCl₃-AcOEt 2:1,5 (fracciones 138-175), CHCl₃-AcOEt 1:1 (fracciones 176-195), CHCl₃-AcOEt 1,2:2 (fracciones 196-200), CHCl₃-AcOEt 0,80:2 (fracciones 201-204), CHCl₃-AcOEt 0,20:2 (fracciones 205-208), AcOEt puro (fracciones 209-226); AcOEt-CH₃OH 2:0,15 (fracciones 227-239) y AcOEt-CH₃OH 2:0,30 (fracciones 240-253).

Para los ensayos de actividad biológica se seleccionó un compuesto proveniente de la fracción N° 176, cuyo IR indica la presencia de carbonilo de lactona (1.760 cm⁻¹), que fue purificado por cromatografía líquida-líquida de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC). Se utilizó una columna Beckman ultrasphere, octyl (10 mm x 250 mm), el solvente de corrida MeOH-H₂O (1:1) a 2 ml/min. El tiempo de retención para el compuesto ensayado fue de 11,5 min.

Pruebas biológicas

a) Ensayos sobre germinación

Para observar las alteraciones en el proceso de germinación se empleó el método de Kato y col. (1977). Se impregnaron papeles de filtro (Whatman GP) de 9 cm de diámetro con soluciones clorofórmicas de 250, 500, 750 y 1.000 ppm del compuesto ensayado. Como blancos se emplearon papeles de filtro, unos impregnados con cloroformo y otros, con agua. Por medio de un desecador al vacío se evaporó el solvente y los papeles fueron distribuidos individualmente en cajas de Petri. Sobre cada papel se colocaron 25 semillas de lechuga, *Lactuca sativa* L. var. *Grand rapid* (Asteraceae) y se agregó 3 ml de agua bidestilada para conservar el ambiente húmedo.

Las cajas de Petri fueron incubadas a 25 °C en oscuridad durante 96 horas. Cada experimento se repitió cuatro veces, tanto para cada concentración como para los blancos.

Diariamente fueron contadas las semillas que dispararon su radícula, que fueron consideradas semillas germinadas.

b) Longitud de plántulas

Al cabo de 96 horas de incubación las longitudes de las plántulas fueron medidas con precisión de ± 1 mm. También se realizaron observaciones a la lupa, en particular de las plántulas más afectadas (torsiones, necrosis, falta de pelos radiculares, geotropismo negativo, entre otros).

c) Actividad deshidrogenásica

Sobre las plántulas se determinó la actividad de deshidrogenasas usando el método del cloruro de trifeniltetrazolio, (Steponkvs, 1971) y se repitieron las determinaciones para cada concentración y cada testigo por triplicado. El reactivo utilizado fue el 2,3,5-trifeniltetrazolio al 0,6 % en buffer fosfato ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ 0,05 M pH 7,4). Con 3 ml de este reactivo, 100 mg de material vegetal fue incubado durante 15 horas a 25 °C. Una vez filtrado y sumergido en etanol al 95 % (10 ml) fue calentado en baño de María (BM) hirviendo durante 5 minutos; se obtuvo así una solución coloreada. La absorbancia se leyó en espectrofotómetro a 530 nm.

d) Evaluación de la conductividad del eflujo celular

Por medio de la técnica de Dexter (1932) se realizó el ensayo con las plántulas (500 mg) que emergieron hasta las 96 horas; fueron incubadas durante 15 horas a 25 °C en 10 ml de agua bidestilada y desionizada. Por medio de un conductímetro 644-Metrohm fue determinada la conductividad específica frente a una solución patrón de KCl 0,1 N.

e) Efecto sobre la división celular

Los meristemas radicales se fijaron en una solución de alcohol etílico y ácido acético en una proporción 3:1 durante 24 horas; luego fueron hidrolizados en HCl 1N a 60 °C durante 3 minutos. Para realizar los preparados se empleó hematoxilina al 2 % como colorante, y citrato férrico al 1 %, como mordiente. Para determinar el índice mitótico se escogieron campos microscópicos al azar (Andrada y col., 1975).

Análisis estadístico

Los datos se procesaron mediante análisis de varianza (ANOVA) y el test de Tukey ($p < 0,05$) para confrontación de medias.

Tabla 1.- Porcentajes de semillas germinadas a diferentes concentraciones del compuesto ensayado

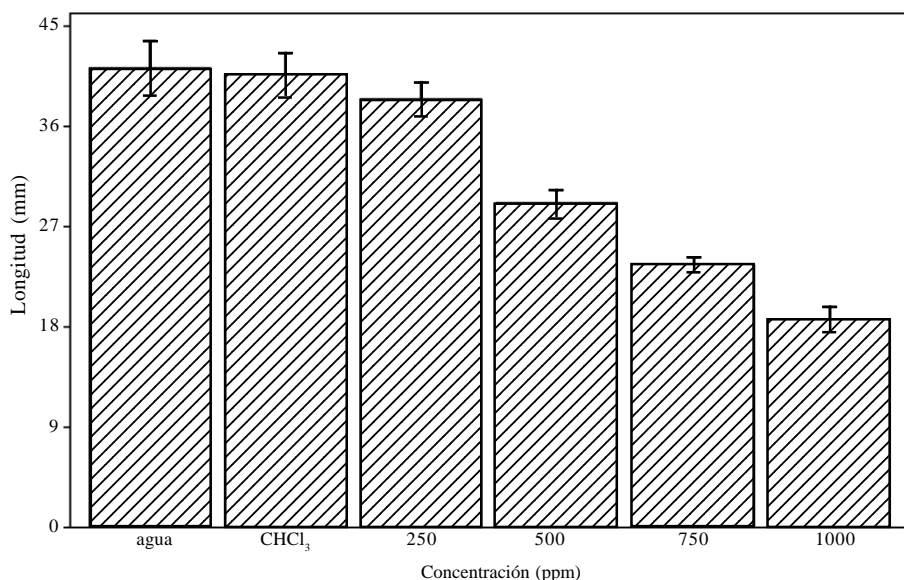
Tiempo	AGUA	CHCl_3	100 ppm	250 ppm	500 ppm	750 ppm	1000 ppm
24 h	2 ± 2,2	0,4 ± 1,3	1,5 ± 1,8	2,1 ± 2,1	2,8 ± 4,3	3,8 ± 3,6	3,7 ± 4,5
48 h	47,1 ± 17,2	48,3 ± 12,6	48,5 ± 9,6	48,3 ± 8,2	48,5 ± 9,7	45,7 ± 13,6	44,3 ± 12,5
72 h	59,8 ± 12,8	60,0 ± 11,8	59,7 ± 10,8	60,4 ± 10,1	59,9 ± 10,3	57,1 ± 12,3	56,4 ± 11,7
96 h	64,3 ± 13,8	68,5 ± 12,0	67,8 ± 19,3	64,0 ± 11,2	65,4 ± 9,8	60,2 ± 11,9	62,7 ± 10,4

Resultados y discusión

La lactona ensayada tiene escasa influencia en el porcentaje de las semillas germinadas. Los valores obtenidos no muestran diferencias significativas entre los testigos y las distintas concentraciones empleadas.

Se observa una notable disminución de la longitud total de la plántula a medida que aumenta la concentración de la lactona. Al comparar los valores obtenidos en el testigo agua y en 1.000 ppm puede apreciarse una reducción de aproximadamente 60 % de la longitud.

Gráfico 1.- Longitud de las plántulas en relación con las distintas concentraciones de la lactona en estudio ($p < 0,05$)



La actividad de deshidrogenasas resultó notablemente alterada en las plántulas tratadas con el compuesto en estudio. Los resultados muestran un incremento de la actividad enzimática; a medida que aumenta la concentración de la lactona se acentúa el efecto, presentando diferencias significativas entre los testigos y los tratamientos de 750 y 1.000 ppm.

Los valores de conductividad del eflujo celular obtenidos no presentan diferencias significativas entre los testigos y las concentraciones ensayadas (250, 500, 750 y 1.000 ppm).

Gráfico 2.- Actividad de deshidrogenasas en función de concentración de la lactona ($p < 0,05$)

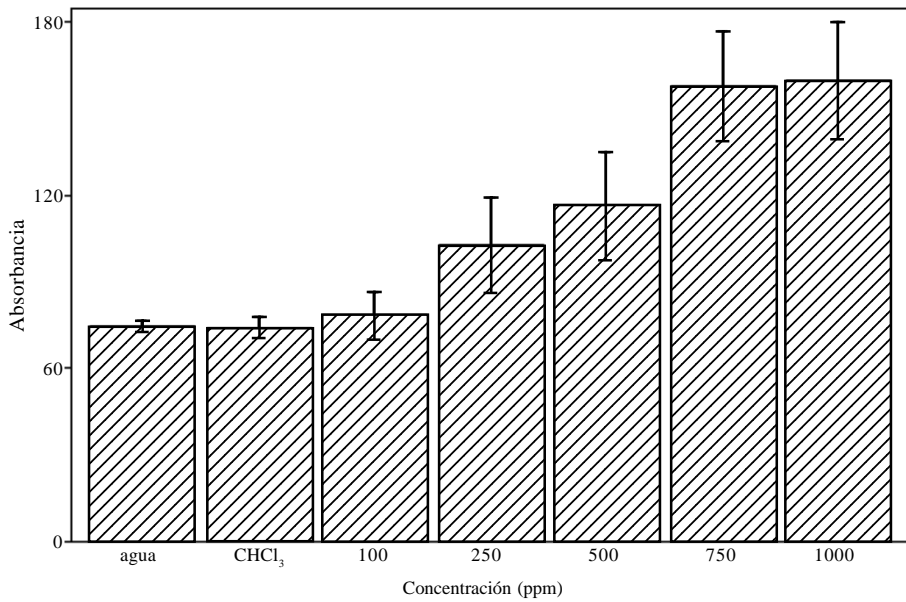
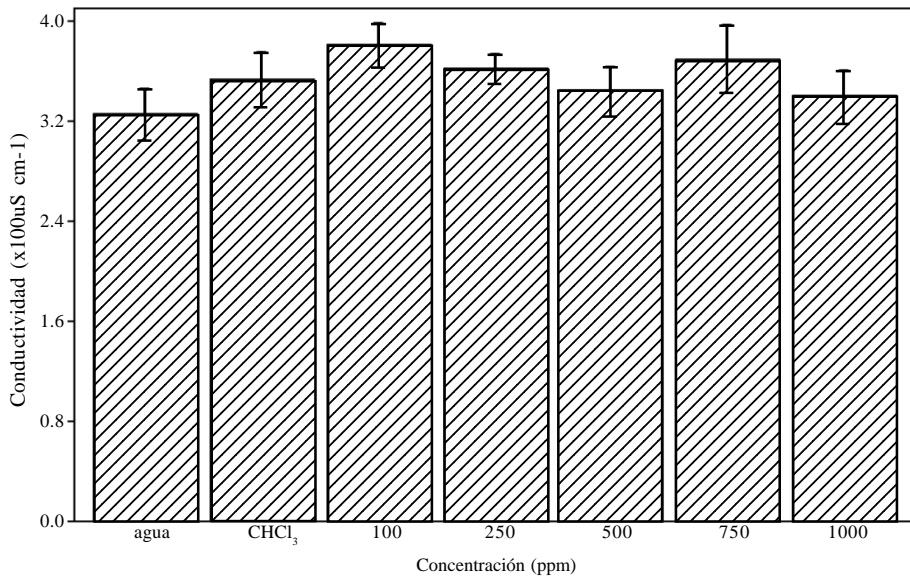
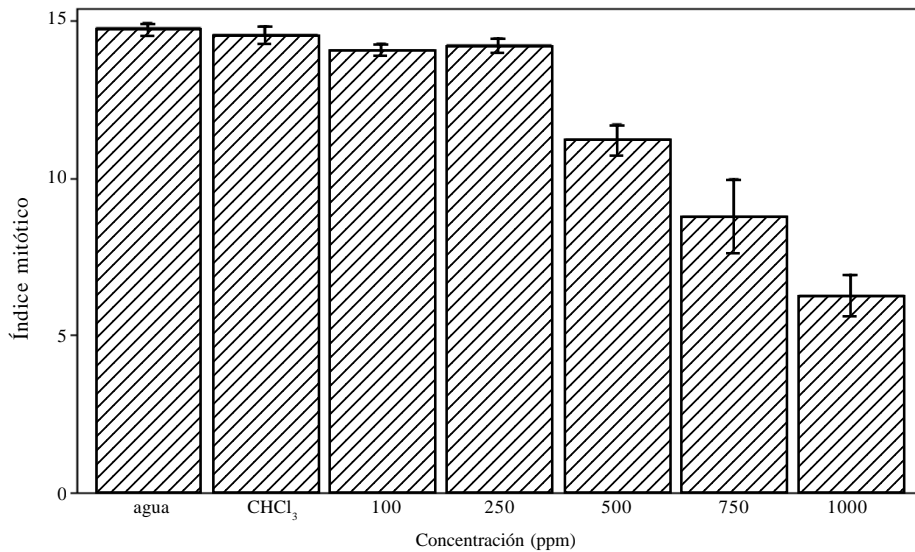


Gráfico 3.- Alteraciones de la conductividad con las diferentes concentraciones de la lactona en estudio ($p < 0,05$)



En relación con el índice mitótico, solo en altas concentraciones la lactona probada produce disminución del número de células en división de los meristemas radiculares. Como se observa en este gráfico, a 250 ppm los valores obtenidos son casi iguales a los correspondientes a los testigos; en cambio, se produce un fuerte decremento a 750 y 1.000 ppm. Estos resultados indican que el compuesto probado produce un efecto inhibitorio sobre la división celular en el meristema radicular y explica la disminución de la longitud de las plántulas, ya que los valores de índice mitótico y longitud de plántula a 500, 750 y 1.000 ppm presentan las mismas variaciones.

Gráfico 4.- Variaciones del índice mitótico según las distintas concentraciones de lactona aplicadas ($p < 0,05$)



Conclusiones

Se puede concluir que el compuesto ensayado tiene acción herbicida sobre el crecimiento de *Lactuca sativa* L. var. *Grand rapid* (Asteraceae) que se manifiesta en la etapa postgerminativa. Es posible que los efectos observados se deban a que el metabolito en estudio no puede ser transportado hacia el embrión a través de los tegumentos de las semillas; ejerce la acción herbicida cuando emerge la radícula.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo de Investigaciones de la Universidad Nacional de Tucumán (CIUNT) por el apoyo financiero otorgado.

Referencias bibliográficas

- Ando, M. e Isogai, K. (1991). "Studies on the synthesis of sesquiterpene lactones and their biological activities". *J. Org. Chem.* 54 (4): 1017-1024.
- Andrada, A.B.; Boggiatto, A.J.; Auad, L.G. y Collado M. (1975). "Estudios citogenéticos en el híbrido intergenérico *Euchlaena perennis* Hitch. por *Zea mays* L. I. Análisis meiótico en plantas de dos generaciones". *R.A.N.A.* 12 (3-4): 323-330.
- Baruah, N.C.; Sarma, J.C.; Barua, N.C.; Sarma, S. y Sharma, R.P. (1994). "Germination and growth inhibitory sesquiterpene lactones and a flavone from *Tithonia diversifolia*". *Phytochemistry* 36 (1): 29-36.
- Botta, S.M. y Cabrera, A.L. (1986). "Novedades para la flora de Jujuy". *Darwiniana* 27 (1-4): 1-8.
- Dexter, S.T. (1932). "Investigations of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity". *Plant Physiology* 7: 63-78.
- Esimone, C.O. y Adikwn, M.V. (1999). "Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Romalina farinacea*". *Fitoterapia* 70 (4): 428-431.
- Fischer, H.; Weidenhamer, J.D. y Bradow, J.M. (1989). "Sesquiterpene lactones: structure and biological action". *J. Chem. Ecol.* 15: 1785-1793.
- Harborne, J.B. (1993). "Advances in Chemical Ecology". *Natural Product Reports*: 327-348.
- Hernández, L.R.; Riscala, E.C.; Catalán, C.A.N.; Díaz, J.D. y Herz, W. (1996). "Sesquiterpene lactones and other constituents of *Stevia maimarensis* and *Synedrellopsis grisebachii*". *Phytochemistry* 42 (3): 681-684.
- Jarvis, B.B.; Midiwo, J.O.; Bean, G.A.; Abdoul-Nasr, M.B. y Barras, C.S. (1988). "The mystery of trichothecene antibiotics in *Baccharis* species". *J. Nat. Prod.* 51 (4): 736-744.
- Kato, T.; Tsunakawa, M.; Sasaki, N.; Aizawa, H.; Fujita, K.; Kitahara, Y. y Takahashni, N. (1977). "Growth and germination inhibitors in rice husks". *Phytochemistry* 16: 45.
- Lydon, J.; Teasdale, J.R. y Chen, P.K. (1997). "Allelopathic activity of *Artemisia annua* and the role of artemisinin". *Weed Science* 45 (6): 807-811.
- Mazid, M.A.; Hasan, C.M. y Rashid, M.A. (1999). "Antibacterial activity of *Parmelia Kamstchandalis*". *Fitoterapia* 70 (6): 615-617.
- Nawamaki, K. y Kuroyanagi, M. (1996). "Sesquiterpenoids from *Acourus calamus* as germination inhibitors". *Phytochemistry* 43 (6): 1175-1182.
- Picman, A.K. (1986). "Biological activity of sesquiterpene lactones". *Biochem. Syst. & Ecol.* 14: 255-281.
- Putman, A.R. (1983). "Allelopathic chemicals Nature's herbicides in action". *Chemical & Engineering News Special Report*: 34-45.
- Rice, E.L. (1984). *Allelopathy*, 2nd, Academic Press, New York, 422 pp.
- Rice, E.L. (1998). "Biological control of weeds and plant diseases: advances in applied allelopathy". *J. Chem. Ecol.* 24 (3): 439.
- Rizvi, S.J.H.; Tahir, M.; Rizvi, V.; Kohli, R.K. y Ansari, A. (1999). "Allelopathic interactions in agroforestry systems". *Plant Science* 18 (6): 773-796.
- Robinson, H. (1981). "A revision of the tribal and subtribal limits of the Heliantheae (Asteraceae)". *Smithsonian Contrib. Botany* 51: 1-102.
- Steponkvs, P.L. (1971). "Effect of freezing on dehydrogenase activity and reduction of triphenil tetrazolium chloride". *Cryobiology* 8: 570-573.



ESPECIES EQUISETIFORMES UTILIZADAS EN MEDICINA TRADICIONAL EN LA PROVINCIA DE JUJUY (ARGENTINA)

Nilda Dora Vignale¹ y Alberto Ángel Gurni^{2*}

¹ Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Jujuy. Alberdi 47 (4600) S.S. de Jujuy. República Argentina. Correo electrónico: taxon@fca.unju.edu.ar

² Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junín 956, 4º piso (1113) Buenos Aires. República Argentina. Correo electrónico: aagurni@huemul.ffyb.uba.ar

* Autor a quien dirigir la correspondencia.

Resumen

Se realizó el estudio micrográfico de los tallos de *Equisetum giganteum* L. (Equisetaceae), de *Ephedra breana* Phil. (Ephedraceae) y de *Aphyllocladus spartioides* Wedd. (Asteraceae), especies que comparten el aspecto exomorfológico equisetiforme, que son utilizadas por la medicina tradicional en la Provincia de Jujuy (Argentina).

El objetivo fue aportar referencias anatómicas que permitan identificar estas especies, principalmente cuando se las comercializa en estado fragmentado.

Se aplicaron las técnicas de disociación leve y fuerte. Con los resultados obtenidos, en observación al microscopio óptico, se confeccionó un cuadro comparativo donde se destacan los siguientes caracteres diferenciales: células epidérmicas raquimorfias y células oclusivas con estriaciones en *E. giganteum*; estomas hundidos y abundantes fibras delgadas en *E. breana*; presencia de pelos lanosos, gotas lipídicas y miembros de vaso con colas en sus extremos en *A. spartioides*.

EQUISETIFORM SPECIES EMPLOYED IN FOLK MEDICINE IN THE PROVINCE OF JUJUY (ARGENTINA)

Summary

A comparative micrographic study was performed on stems of *Equisetum giganteum* L. (Equisetaceae), *Ephedra breana* Phil. (Ephedraceae) and *Aphyllocladus spartioides* Wedd. (Asteraceae). These species are used in the folk medicine at the Province of Jujuy (Argentina). They share an exomorphylogical equisetaceous aspect. With the aim of

Palabras clave: *Equisetum giganteum* - *Ephedra breana* - *Aphyllocladus spartioides* - Análisis micrográfico - Jujuy.

Key words: *Equisetum giganteum* - *Ephedra breana* - *Aphyllocladus spartioides* - Micrographic survey - Jujuy.

contributing with anatomic data to enable the specific identification of commercial samples, soft and strong maceration methods were applied. With the results obtained from light microscope observations, a table summarizing the following anatomic characters was prepared: rachymorphic epidermal cells, striated occlusive stomatal cells in *E. giganteum*, abundant fibers and sunken stomata in *E. breana*, filiform hairs, lipidic drops and long-tailed vessel members in *A. spartioides*.

Introducción

Entre las especies medicinales de la Provincia de Jujuy, (Noroeste argentino) *Equisetum giganteum* L. (Equisetaceae), *Ephedra breana* Phil. (Ephedraceae) y *Aphyllocladus spartioides* Wedd. (Asteraceae) comparten los caracteres exomorfológicos equisetiformes: ramas verdes estriadas longitudinalmente y hojas escamosas verticiladas.

En medicina popular se emplean los tallos acompañados de las hojas, que son caducas solo en *Aphyllocladus spartioides*.

Equisetum giganteum (Figura 1) se conoce con el nombre común de “cola de caballo”. Sus tallos son huecos, articulados, con costillas muy notorias y ásperos por la presencia de células silicificadas en su epidermis. Las hojas son verticiladas, unidas entre sí formando una vaina a la altura de los nudos. Los tallos principales miden más de 1 cm de diámetro. Los tallos jóvenes, que forman las ramas, generalmente no sobrepasan 0,5 cm de diámetro.

Esta especie es utilizada como diurético en forma de infusiones (Amorín, 1982). Además, se menciona su empleo en uso interno como astringente; como eupéptica, en el tratamiento de afecciones hepáticas y renales; para la disentería, y como antogonorreica. En cuanto a sus usos externos, se emplea su infusión como astringente y para lavados oculares (Gupta, 1995); también para calmar dolores óseos en forma de baños (Vignale, 1996). Tanto las infusiones como las decocciones se aplican como vulnerarios para el lavado de heridas, herpes y llagas (Vignale, 1996).

Está incluida en la Farmacopea Nacional Argentina, VI Ed.

Figura 1.- *Equisetum giganteum* L. Vista general de la planta



Ehedra breana (Figura 2) es conocida con el nombre común “pingo-pingo”, extensivo a otras especies del género (Aldunate y col., 1981).

Sus tallos son macizos, estriados. En general no sobrepasan 0,5 cm de diámetro. Las hojas están reducidas a escamas. Se presentan de 2 a 3 por nudo. Son coriáceas y poseen dientes apicales cortos, triangulares.

Es utilizada para lastimaduras y torceduras, en baños (Vignale, 1996; Castro, 1982). Se cita, además, el empleo de la raíz en mate para afecciones renales, “mal de orina”, y enfermedades de la vejiga. Sus falsos frutos rojos, dulces y comestibles, son conocidos como “tomatitos” (Castro, 1982) y también como “granada”.

Aphyllocladus spartioides (Figura 3), conocida con los nombres vulgares de “pular” y “tola blanca” posee tallos macizos, surcados. Los tallos jóvenes no sobrepasan generalmente 0,5 cm de diámetro.

Las hojas, prontamente caedizas, son lineal-lanceoladas, enteras, de 1,5 a 2,5 cm de longitud y de 0,2 a 0,3 cm de ancho. Un estudio anatómico detallado fue realizado por Giberti en 1983.

Se emplea en uso interno como digestiva y antirreumática por vía oral, y en uso externo, se indica en forma de baños para torceduras (Aldunate, 1981; Vignale, 1999).

Las tres especies mencionadas se comercializan en mercados y ferias regionales en diversos estados de fragmentación; así, los caracteres diferenciales exomorfológicos, en numerosas ocasiones, resultan insuficientes para asegurar una correcta identificación, particularmente cuando integran preparaciones compuestas por varias plantas.

Se realizó el estudio micrográfico de las especies citadas, con el objetivo de aportar referencias anatómicas de valor diagnóstico que contribuyan a su reconocimiento.

Figura 2.- *Ehedra breana* Phil. Rama con hojas escamosas y estrobilos femeninos



Figura 3.- *Aphyllocladus spartioides* Wedd. Ramas floríferas estomas con estriaciones notorias



Materiales y métodos

Materiales

Los materiales examinados han sido depositados en el Herbario del Museo de Farmacobotánica "Juan A. Domínguez", Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires (BAF).

Se efectuaron consultas de materiales de referencia en los siguientes herbarios argentinos: Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata (LP) e Instituto de Botánica Darwinion, San Isidro, Buenos Aires (SI).

Material examinado

Equisetum giganteum

Jujuy. Dpto. Dr. Belgrano. Chijra. Losada, A. s/n (BAF) 4/II/99.

Ephedra breana

Jujuy. Dpto. Rinconada. Vizcachani. Vignale, N.D. 825 (BAF) 5/II/97.

Aphyllocladus spartioides

Jujuy. Dpto. Tilcara. Tilcara. Vignale, N.D. 652 (BAF) 12/III/92.

Material consultado

Equisetum giganteum

Prov. Jujuy. Dpto. Santa Bárbara. Vinalito Yuto. Cabrera, A.L. 4095, 8/VII/1937 (SI); Dpto. Ledesma. Cerca Río San Lorenzo. Yudam, W.J.E. 222611, 18/X/1938 (SI).

Ephedra breana

Prov. Jujuy. Dpto. Tilcara. Subida de Tilcara a Alfarcito. Zuloaga, F. y Deginani, N. 33706, 22/I/1988 (SI); Dpto. Tumbaya. El Moreno. Kiesling et al. 5272, 16/II/1985 (SI), Al E de Abra de Pives. 3870 m. Ruthsatz 136/10, 18/XII/1971 (SI), El Moreno, al S camino a El Angosto. Kiesling et al/522289, 16/II/1985 (SI), Abra de Lipán. 4000 m. Cabrera et al/3305532, 24/III/1979 (SI); Dpto. Humahuaca. Mina Aguilar. Molinos. Ruthsatz 63/13, 15/II/1971 (SI); Camino de Coctaca a Rodero. 3250 m. Ruthsatz 107/1, 13/XII/1971 (SI).

Aphyllocladus spartioides

Prov. Jujuy. Dpto. Humahuaca. Qda. de la Soledad. 3000 m. Caro, J.A. 5064, 10/I/1983 (BAF).

Métodos

La metodología utilizada fue la siguiente:

a- disociación leve, que consiste en tratar la droga vegetal con solución acuosa de NaOH 5 % a ebullición, durante 5 minutos y posterior lavado con agua (Norma IRAM 37500, 1993);

b- disociación fuerte, que comprende la ebullición con KOH 5 % durante 10 minutos, lavado con agua, tratamiento con solución al 25 % de ácido crómico a temperatura ambiente durante 30 minutos y nuevo lavado con agua (Norma IRAM 37501, 1993).

c- reacción con Sudan III, para la caracterización de lípidos.

Las observaciones y fotomicrografías originales se realizaron con un fotomicroscopio Zeiss, modelo Axiolab MC 80 DX.

Resultados y discusión

La observación microscópica reveló los siguientes caracteres:

1- Disociación leve

Equisetum giganteum. Células epidérmicas raquimorfos. Células estomáticas con estriaciones cuticulares notables en sentido perpendicular al ostíolo (Figura 4). Células de clorénquima. Fibras. Fragmentos de elementos conductores.

Ephedra breana. Células epidérmicas alargadas. Estomas hundidos (Figura 5). Células de clorénquima. Abundantes fibras (Figura 6). Fragmentos de elementos conductores.

Aphyllocladus spartioides. Células epidérmicas alargadas, pelos largos lanosos (Figura 7), presencia de gotas lipídicas (Figura 8). Células clorénquimáticas. Fibras. Fragmentos de elementos conductores.

2- Disociación fuerte

Equisetum giganteum. Células epidérmicas raquimorfos. Células estomáticas con estriaciones cuticulares notables en sentido perpendicular al ostíolo. Escasas células punteadas, de paredes gruesas. Fibras. Traqueidas. Miembros de vaso espiralados o anillados.

Ephedra breana. Células epidérmicas alargadas. Estomas hun-

Figura 4.- *Equisetum giganteum* L. Disociado leve. Epidermis: células oclusivas de los estomas con estriaciones notorias

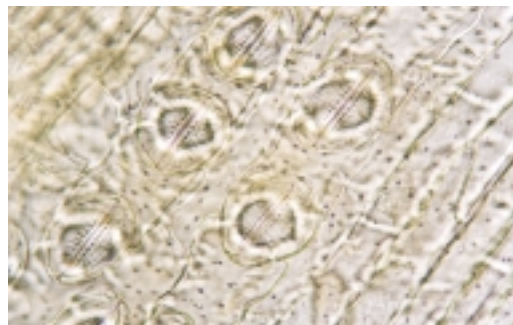


Figura 5.- *Ephedra breana* Phil. Disociado leve. Epidermis con estomas hundidos

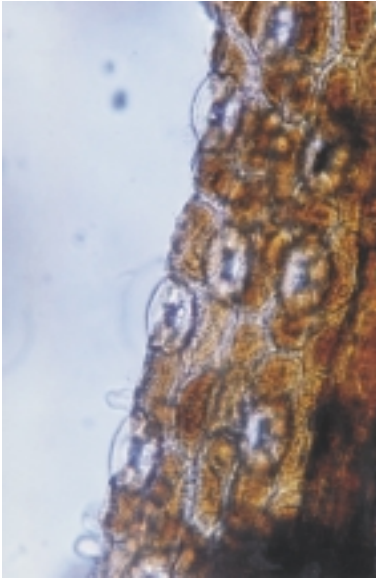


Figura 6.- *Ephedra breana* Phil. Disociado leve. Abundantes fibras

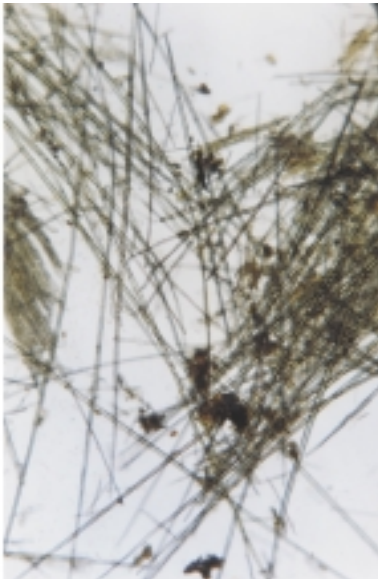


Figura 7.- *Aphyllocladus spartioides* Wedd. Disociado leve. Pelos lanosos

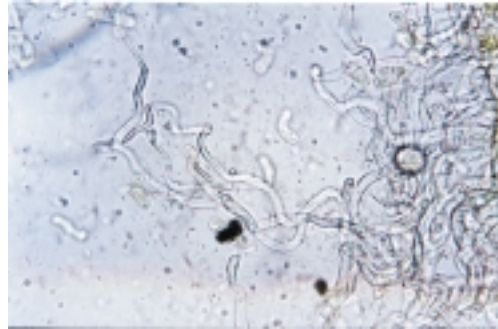


Figura 8.- *Aphyllocladus spartioides* Wedd. Disociado leve. Gotas lipídicas

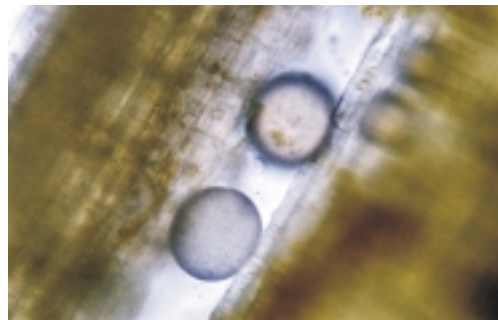


Figura 9.- *Aphyllocladus spartioides* Wedd. Disociado fuerte. Miembros de vasos con colas



didos. Células de tipo parenquimático. Escasas células de paredes gruesas de formas diversas. Fibras muy largas, de escaso lumen. Traqueidas planas largas, pero siempre de menor longitud que las fibras. Traqueidas anilladas, largas, angostas. Escasos miembros de vaso anillados de mayor diámetro que las traqueidas anilladas, pero mucho más cortos.

Aphyllocladus spartioides. Células epidérmicas alargadas, pelos largos lanosos Células de tipo parenquimático. Fibras largas y cortas. Miembros de vaso reticulados, con colas (Figura 9).

En el cuadro 1 se consignan los caracteres anatómicos de cada especie.

Cuadro 1.- Caracteres micrográficos de las tres especies

Caracteres	<i>Equisetum giganteum</i>	<i>Ephedra breana</i>	<i>Aphyllocladus spartioides</i>
Estomas	No hundidos. Células oclusivas con estriaciones	Hundidos. Células oclusivas no estriadas	No hundidos. Células oclusivas no estriadas
Células epidérmicas	Raquimorfias	No raquimorfias	No raquimorfias
Tricomias	Ausentes	Ausentes	Pelos largos lanosos
Gotas lipídicas	Ausentes	Ausentes	Presentes
Elementos de conducción xilemáticos	Traqueidas. Miembros de vaso anillados o espiralados.	Traqueidas de distinto tipo, abundantes. Escasos miembros de vaso anillados.	Miembros de vaso reticulados. Extremos con colas.

Conclusiones

Las tres especies analizadas presentan características equisetiformes. Debido a que son muy diferentes entre sí la posibilidad de hallar estructuras histológicas que permitan su caracterización es muy alta.

Desde el punto de vista micrográfico, las estructuras más relevantes son:

- Estomas con estriaciones cuticulares notables en *Equisetum giganteum*.

- Estomas sin estriaciones en *Ephedra breana* y en *Aphyllocladus spartioides*.
- Fibras largas muy abundantes en *Ephedra breana*.
- Pelos largos lanosos, gotas lipídicas y miembros de vaso con extremos terminados en colas en *Aphyllocladus spartioides*.

Referencias bibliográficas

- Aldunate, C.; Armesto, J.J.; Castro, V. y Villagrán, C. (1981). Ethnobotany of Pre-Andean Community in the Andes of Northern Chile. *Economic Botany* 37(1): 120-135.
- Amorín, J.L. (1982). "Las especies medicinales de *Equisetum* sp". Inédito.
- Castro, M.; Villagrán, C. y Arroyo, M.K. (1982). "Estudio etnobotánico en la precordillera y altiplano de los Andes del Norte (18-19° S)". En: UNESCO, Veloso, A. y Bustos, E.E. *El ambiente natural y las poblaciones humanas en los Andes del Norte de Chile (Arica, 18° 28' S.)*. *Biología humana y aspectos de antropología social en el transecto Arica – Lago Chungara, Santiago de Chile* 2: 133-203.
- Giberti, G. (1983). "Herbal folk medicine in Northwestern Argentina: Compositae". *J. Ethnopharmacology* 7 (3): 321-341.
- Gupta, M.P. (ed.) (1995). *270 Plantas Medicinales Iberoamericanas*. CYTED-SECAB. Santafé de Bogotá.
- Normas IRAM 37500 y 37501 (1993).
- Vignale, N.D. (1996). Plantas medicinales del área andina de la provincia de Jujuy. *Anales SAIPA* 14: 177-182.
- Vignale, N.D. (1999). "Los estudios etnobotánicos en el NOA. Las plantas medicinales". En: Amat, A. (ed.) *Farmacobotánica y Farmacognosia en Argentina 1980-1998*. Ediciones Científicas Americanas. Buenos Aires (en prensa).
- Vignale, N. y Gurni, A. "Estudios micrográficos de *Aphyllocladus spartioides* Wedd. de Jujuy". *Anales SAIPA* 18 (en prensa).

Revisión

EL “MUÉRDAGO CRIOLLO”, *LIGARIA CUNEIFOLIA* (R. ET P.) TIEGH. –LORANTHACEAE– DESDE EL USO POPULAR HACIA EL ESTUDIO DE LOS EFECTOS FARMACOLÓGICOS

Beatriz G. Varela¹, Teresa Fernández², Carlos Taira^{3*}, Paula Cerdá Zolezzi², Rafael A. Ricco¹, Eloisi Caldas López², Élica Álvarez^{2*}, Alberto A. Gurni¹, Silvia Hajos^{2*} y Marcelo L. Wagner^{1,4**}

¹ Cátedra de Farmacobotánica.

² Cátedra de Inmunología. IDEHU.

³ Cátedra de Farmacología.

⁴ Museo de Farmacobotánica “Juan A. Domínguez”. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. Junín 956, (1113) Buenos Aires, República Argentina. Correo electrónico: mlwagner@huemul.ffyb.uba.ar

* Miembro de la Carrera de Investigador, CONICET.

** Autor a quien dirigir la correspondencia.

Resumen

Ligaria cuneifolia (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae), “muérdago criollo”, es una planta hemiparásita que presenta una amplia distribución en la República Argentina. Su empleo en la medicina popular como sustituto del muérdago europeo (*Viscum album* L. -Viscaceae-) está basado en su presunta acción sobre la presión arterial.

Los estudios anatómicos muestran que el elemento característico es la presencia de esclereidas cristalíferas en hojas y tallos, la ausencia de otros cristales y la presencia de epidermis cuticular en el tallo. El análisis de los polifenoles mostró que, junto a las leucocianidinas y las proantocianidinas, el único flavonol detectado fue la quercetina libre y glicosilada. La dihidroquercetina puede seguir dos vías metabólicas: una que por la acción de la flavonol sintasa lleva a la producción de quercetina, o la otra, que produce leucoantocianidinas por la acción de una 3-hidroxiflavanona-4-reductasa. La presencia simultánea de ambos tipos de compuestos sirve para caracterizar al muérdago criollo cuando se lo compara con otras Loranthaceae y Viscaceae.

En la mayoría de los ejemplares analizados se detectó la presencia de tiramina, cuya concentración no fue superior a los 10 mg %, pero en los ejemplares que parasitan a *Geoffroea decorticans*, los niveles de tiramina pueden superar los 360 mg %. Los componentes proteicos de los extractos analizados por electroforesis presentan un patrón de distribución diferente del muérdago europeo, pero las proteínas presentan epitopes comunes con las proteínas del *V. album*.

Palabras clave: muérdago criollo - *Ligaria cuneifolia* - anatomía - flavonoides - efectos cardiovasculares - acción citostática - acción inmunomoduladora.

Key words: Argentine mistletoe - *Ligaria cuneifolia* - anatomy - flavonoids - cardiovascular effects - cytostatic activity- immunomodulatory actions.

Los estudios realizados sobre el muérdago criollo en modelos animales han permitido establecer los efectos biológicos sobre el sistema cardiovascular y la acción citostática e inmunomoduladora. Las infusiones producen, de acuerdo con el hospedante, un efecto presor acompañado, o no, de vasodilatación y un efecto cardíaco variable. Los extractos acuosos de *L. cuneifolia* fueron capaces de producir inhibición del crecimiento de células linfoides activadas a través de un mecanismo apoptótico. Además, estos extractos pueden modular la actividad de las células macrofágicas por medio de la inducción de la producción de óxido nítrico. La lectina galactósido-específica presente en ese extracto produce la inhibición de la proliferación de las células tumorales LB.

La revisión realizada sobre *L. cuneifolia* contribuye a profundizar el conocimiento de esta especie de la flora argentina, empleada por sus efectos beneficiosos en medicina popular.

THE ARGENTINE MISTLETOE, *LIGARIA CUNEIFOLIA* (R. ET P.) TIEGH. –LORANTHACEAE– FROM FOLK MEDICINE TO THE STUDY OF PHARMACOLOGICAL EFFECTS

Summary

The “Argentine mistletoe”, *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae), is a widespread hemiparasitic plant in the Argentine Republic. It is employed in folk medicine as a substitute of the “European mistletoe”, *Viscum album* L. (Viscaceae), because of its supposed action on decreasing high blood pressure.

The anatomical studies on the “Argentine mistletoe” showed branched, crystalliferous stone cells as the main feature for this species, besides no other crystals were detected and the stem lacks cork.

The study on polyphenols characterized the free or glycosilated quercetin as the only flavonol, together with leucocyanins and proanthocyanidins. Dihydroquercetin may follow two different metabolic pathways: one leading to quercetin by action of a flavonol-synthase, or another one which produces leucoanthocyanidins by a 3-hydroxyflavanone-4-reductase. The joint of both types of compounds is characteristic for the “Argentine mistletoe” when compared to another Loranthaceae and Viscaceae.

Proteins from extracts analyzed by electrophoresis showed a different pattern of distribution if compared to the “European mistletoe”, but some of them have common epitopes.

Surveys on the “Argentine mistletoe” on animal models showed effects on the cardiovascular system and cytostatic and immunomodulatory actions.

Infusions can produce, according to the host plant, increase of blood pressure, either with vasodilatation or not, and a variable cardiac effect. Aqueous extracts from *L. cuneifolia* were able to inhibit activated lymphoid cell growth, through an apoptotic mechanism.

These same extracts were able to modulate the activity of macrophage cells by inducing the production of nitric oxide. A specific-galactosid lectin present in this extract inhibits the proliferation of tumor cells LB.

This review on *Ligaria cuneifolia* is a contribution to a better knowledge of this species, used in folk medicine because of its beneficent effects.

Introducción

La medicina popular se desarrolla en las diferentes culturas como consecuencia de la interacción del hombre con la naturaleza que lo rodea. Inicialmente surge como un conocimiento empírico que se va profundizando al avanzar el conocimiento científico de los principios activos, presentes en las preparaciones utilizadas en la medicina popular. Por esa razón, en la actualidad existe un interés internacional para sistematizar la información y el uso de las plantas medicinales de cada región a partir de datos etnobotánicos y de trabajos de validación científica.

Durante miles de años se utilizó en Europa el muérdago (*Viscum album* L. -Viscaceae-) en preparaciones para el tratamiento de la epilepsia, la infertilidad y la debilidad, pero los usos farmacológicos más reconocidos son sus efectos sobre el sistema cardiovascular (Benigni y col., 1964; Wagner y col., 1986) y la presión arterial (Youngken, 1951; Font Quer, 1962; Paris y col., 1981).

En las últimas décadas se ha incrementado el interés por la presencia de constituyentes macromoleculares con acción citotóxica sobre las células tumorales; uno de los constituyentes más estudiado es una glucoproteína, la lectina MLI, que tiene un efecto inhibitorio sobre la síntesis ribosomal de proteínas en las células eucarióticas (Ferraras y col., 1995). También en Asia, los muérdagos han sido reconocidos desde la antigüedad como hierbas terapéuticas, según el compilado de Shen-Nong Ben Cao Jing (Zee Cheng, 1997).

En la Argentina, principalmente en las provincias del interior, como en el resto del mundo, la palabra "muérdago" es aplicada a las plantas que tienen un comportamiento similar al de *V. album*, y cierto grado de relación taxonómica. Son plantas hemiparásitas que se desarrollan sobre vástagos leñosos, es decir que dependen del hospedante para vivir, de donde obtienen el agua y los nutrientes minerales; son organismos fotosintetizadores ya que producen sus propios carbohidratos. Por su condición de hemiparásitas, en general están desprovistas de raíces; al germinar la semilla da lugar a un disco de adhesión en el hipocótilo que le permite aferrarse a la superficie de las ramas y de los tallos del hospedante. Luego generan un cono de penetración que crece entre los tejidos hasta llegar al xilema por donde circulan el agua y las sales (Abbiatti, 1946; Becker, 1986; Luther y col., 1987).

De acuerdo con el trabajo realizado por Abbiatti (1946), existen 23 especies diferentes de muérdagos que crecen en varias regiones fitogeográficas del

país, con excepción de la estepa pampeana y los desiertos patagónico y andino. La región fitogeográfica más poblada es la denominada "Formación del Monte", donde abundan las leguminosas arbóreas, las plantas que los muérdagos infectan preferentemente.

Tabla 1.- Muérdagos que crecen en la República Argentina (Abbiatti, D., 1946; Subils, R., 1984 y Wagner, M.L., 1993)

Loranthaceae D. Don	<i>Tripodanthus</i> (Eichl.) Tiegh. [= <i>Phrygillanthus</i> Eichl.]	<i>T. acutifolius</i> (R. et P.) Tiegh. <i>T. flagellaris</i> (Cham. et Schlecht.) Tiegh.
	<i>Struthanthus</i> Mart.	<i>S. acuminatus</i> (R. et P.) Blume <i>S. angustifolius</i> (Griseb.) Haum. <i>S. ilanensis</i> Ruiz Leal <i>S. uraguensis</i> (Hook. et Arn.) G. Don.
	<i>Ligaria</i> Tiegh.	<i>L. cuneifolia</i> (R. et P.) Tiegh.
	<i>Tristerix</i> Mart.	<i>T. corymbosus</i> (L.) Kuijt <i>T. verticillatus</i> (R. et P.) Barlow et Wiens
	<i>Psittacanthus</i> Mart.	<i>P. cordatus</i> (Hoffmans.) Blume
Eremolepidaceae Tiegh.	<i>Eubrachion</i> Hook. f.	<i>E. ambiguum</i> (H. et A.) Engler [= <i>E. andalgalense</i> Abbiatti]
		<i>P. acinacifolium</i> Mart. <i>P. balansae</i> Trel. <i>P. burkartii</i> Rizzini et Ulibarri <i>P. dipterum</i> Eichl. <i>P. falcifrons</i> (Hook. et Arn.) Eichl. <i>P. hieronymi</i> Trel. <i>P. liga</i> (Gill.) Eichl. <i>P. mucronatum</i> (D.C.) Krug et Urb. [= <i>P. argentinum</i> Urb.] <i>P. perrottetii</i> (D.C.) Nutt. <i>P. piperoides</i> (H.B.K.) Nutt. <i>P. pruinatum</i> Urb. <i>P. quadrangulare</i> (Kunth) Griseb. <i>P. salicifolium</i> (Presl.) Eichl. <i>P. subfalcatum</i> Abbiatti

Desde el punto de vista taxonómico, los muérdagos se distribuyen en las tres familias en que ha sido dividida Lorantheaceae (*lato sensu*): Lorantheaceae D. Don. (*stricto sensu*), Eremolepidaceae Tiegh. y Viscaceae Miq. (Barlow, 1964; Kuijt, 1988a y 1988b; Subils, 1984; Barlow y col., 1989).

El uso que la población realiza de los muérdagos es muy variado; depende de la especie, de la etnia y de la región geográfica. En las provincias de Salta y de Catamarca se emplean las ramas florecidas de *Tripodanthus acutifolius* en la festividad de Corpus Christi, en junio, época de su máxima floración, cuando sus flores, se destacan por su color blanco y su fragancia características (Abbiatti, 1946).

Asimismo, de las bayas de *Tristerix corymbosus* y de *Ligaria cuneifolia* se extrae una sustancia viscosa, denominada viscina o liga, que se utiliza para cazar pájaros e insectos (Abbiatti, 1946; Diem, 1950). En la región chaqueña, los tobos utilizan *Phoradendron liga*, *P. hieronymi* y *Tripodanthus flagellaris* para elaborar amuletos y elementos de magia (Martínez Crovetto, 1964).

Desde la etnofarmacología, se verifica que *Phoradendron pruinosum* y *P. liga* son las especies que los pobladores del noreste de la Argentina utilizan para las afecciones cardíacas y, *P. hieronymi*, para el tratamiento del asma (Martínez Crovetto, 1981; Toursarkissian, 1980; Wagner y col., 1986). Por otra parte, los aborígenes y los criollos del Chaco utilizan *P. liga* para sedar a los caballos (Arenas, 1982).

En la Argentina el muérdago criollo, *Ligaria cuneifolia* var. *cuneifolia*, es la especie que más se emplea como sustituto del muérdago europeo, aunque se ubica, botánicamente, en una familia diferente. Los inmigrantes europeos y sus descendientes encontraron que esta especie poseía un hábitat y tenía una morfología similar a la del *V. album*; por esa razón, la tomaron como su sustituto natural (Nájera, 1983; Wagner, 1993). Así, comenzaron a utilizar infusiones de hojas y tallos -ocasionalmente acompañadas por flores- como agentes terapéuticos para disminuir la presión arterial (Domínguez, 1928; Ratera y col., 1980).

Muérdago Criollo

Ligaria cuneifolia (R. et P.) Tiegh. var. *cuneifolia* [= *Psittacanthus cuneifolius* (R. et P.) Blume]

Entre los pobladores de la Argentina se la conoce con los nombres de "liga", "liguilla" o "muérdago criollo".

Distribución geográfica

Es una especie sudamericana que se encuentra en Perú, Bolivia, Argentina, Chile, Brasil y Uruguay. En la Argentina presenta una gran dispersión; se extiende desde Salta y Jujuy en el Norte hasta La Pampa en el Sur, y desde Entre Ríos

y al noreste de Buenos Aires hasta la precordillera andina (Figura 1).

Hospedantes

L. cuneifolia se desarrolla con preferencia en Leguminosas arborescentes (*Geoffroea*, *Anadenanthera*, *Prosopis* y *Acacia*); además, parasita especies de *Celtis*, *Schinus*, *Bulnesia*, *Schinopsis* y *Ephedra*. Crece sobre plantas cultivadas como *Malus domestica* (manzano), *P. communis* (peral), *Prunus* spp. y *Robinia* spp.

Caracteres morfológicos

L. cuneifolia var. *cuneifolia* es una planta arbustiva, glabra y desprovista de raíces aéreas. Las ramas son rugoso-estriadas, subcomprimidas cuando son jóvenes, y gruesas y cilíndricas, cuando son adultas.

Las hojas se disponen en forma alterna, pueden ser subsésiles, lineares, oblongas, lanceoladas o linear-espatuladas; miden entre 15 y 65 mm de largo por 4 a 15 mm de ancho; son carnosas, de superficie rugosa y sus nervaduras no son visibles.

Las flores se disponen en racimos uniflorales; presentan escamas basales (profilos) de forma aovada, de 1 mm de largo; la cúpula subfloral es ciatiforme, triangular y tridentada. Las flores son hexámeras y su pigmentación varía desde el color rojo, en los ejemplares que crecen en la región central y occidental del país, hasta color naranja, en los individuos que se desarrollan en la parte oriental (Figura 2).

Los tépalos son linear-espatulados y pueden soldarse en un tubo en su mitad inferior. Los estambres se disponen alternados, son desiguales e insertos a

Figura 1.- Distribución geográfica de *Ligaria cuneifolia* en la República Argentina

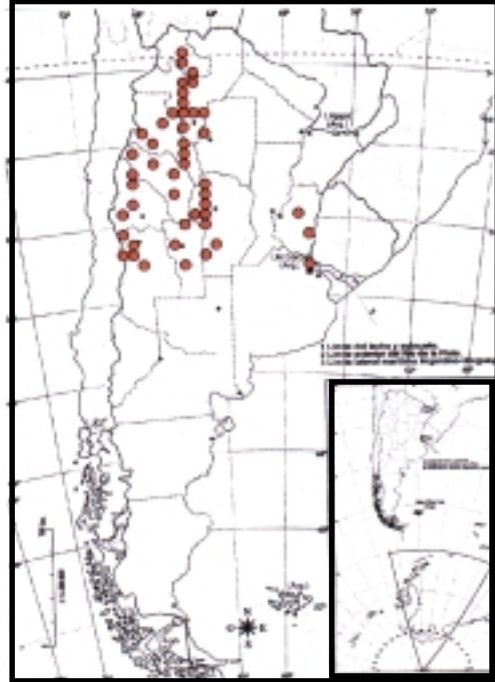


Figura 2.- Flor de *Ligaria cuneifolia* var. *cuneifolia*



los tépalos hasta la mitad de su longitud; la región basal de los estambres queda libre formando una lígula. Las anteras son versátiles, oblongas y apiculadas. El estilo es filiforme y el estigma es capitado. La floración se produce en la primavera y se prolonga hasta el otoño.

El fruto es una baya globosa, negruzca y está coronada por el cálculo tubuloso. Las semillas son endospermatadas y germinan a principios de noviembre (Abbiatti, 1946; Subils, 1984; Wagner, 1993).

En el centro y oeste de Entre Ríos y en la costa occidental de la República del Uruguay se desarrolla *L. cuneifolia* (R. et P.) Tiegh. var. *flava* Abbiatti que se caracteriza por presentar flores de color amarillo (Abbiatti, 1949) (Figura 3).

Figura 3.- Flor de *Ligaria cuneifolia* var. *flava*



Anatomía

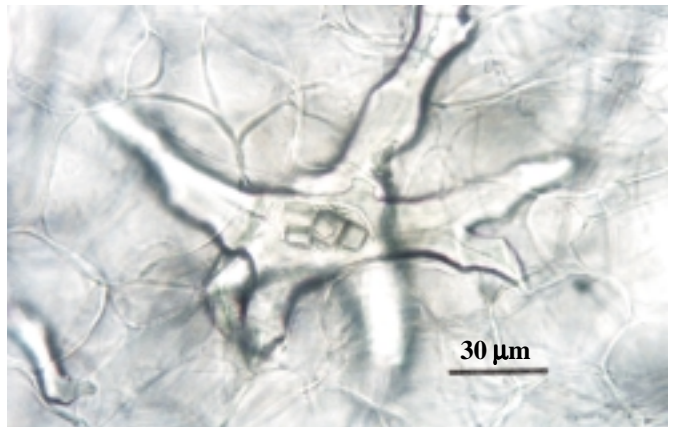
Anatomía foliar

Epidermis. Las células epidérmicas son cuadrangulares, con paredes gruesas. Están cubiertas por una cutícula medianamente gruesa. Los estomas son de tipo paracítico y abundan en la epidermis inferior. La epidermis superior presenta escasos estomas (Varela y col., 1995; Wagner, y col. 1998).

Mesófilo. El clorénquima es de tipo isobilateral, constituido por dos capas de células alargadas radialmente lindando con ambas epidermis; el centro del mesófilo está ocupado por células más cortas. En esta región se observan en forma dispersa esclereidas irregulares, ramificadas, con cristales cúbicos de oxalato de calcio (Figura 4).

El tejido conductor está constituido por un haz vascular central grande y varios haces menores a cada lado. Los ha-

Figura 4.- Esclereida irregular con cristales cúbicos de oxalato de calcio (400X)



ces están acompañados por arcos de células con paredes engrosadas, de naturaleza celulósica. Las venas terminan frecuentemente en traqueidas muy dilatadas (Varela y col., 1995; Wagner y col., 1998).

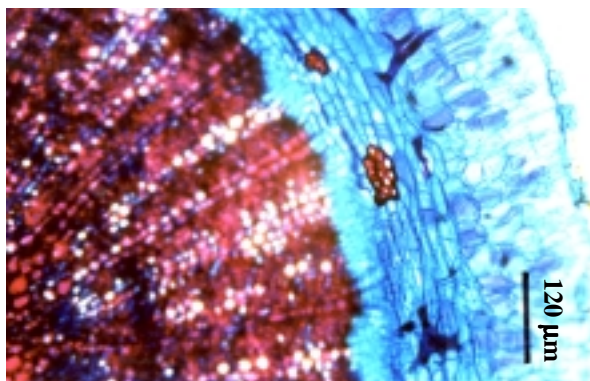
Anatomía caulinar

Epidermis. Está constituida por células cuadrangulares, cubiertas por una gruesa cutícula papilosa amarilla. Se observa cantidad regular de estomas paracíticos (Varela y col., 1995; Wagner y col., 1998) (Figura 5).

Corteza. El parénquima cortical es heterogéneo; está constituido por 3 ó 4 capas de células clorenquimáticas alargadas radialmente y por varias capas de células más internas, alargadas tangencialmente.

En la primera región se observan esclereidas irregulares, ramificadas, con cristales cúbicos de oxalato de calcio. En la segunda región se observan grupos

Figura 5.- Transcorte de tallo de *L. cuneifolia* (100X)



de fibras esclerenquimáticas de estrecho lumen y gruesas paredes (Varela y col., 1995; Wagner y col., 1998).

Cilindro central. Está formado por haces vasculares colaterales abiertos. El xilema forma un cilindro casi continuo; presenta abundante cantidad de fibras lignificadas de pared engrosada formando grupos variables por haz. Los miembros de vaso son de tipo punteado,

reticulado y anillado. Los radios medulares están formados por 2-5 hileras de células parenquimáticas alargadas radialmente. Aparece una región perimedular diferenciada formada por células redondeadas con puntuaciones simples y gruesas paredes esclerosadas. El parénquima medular presenta células redondeadas grandes de paredes celulósicas y algunas esclereidas irregulares, cristalíferas, de pared gruesa (Varela y col., 1995; Wagner y col., 1998).

Características fitoquímicas

Compuestos micromoleculares

Flavonoides

El estudio de los flavonoides de los ejemplares analizados, independientemente del hospedante y del lugar geográfico, revelan la presencia de quercetina como

el único flavonol (Graziano y col., 1967; Wagner, 1993; Wagner y col., 1998).

La quercetina se presenta libre y monoglicosidada con xilosa, ramosa y arabinosa en el hidroxilo de la posición 3 del esqueleto del flavonol (Wagner, 1993; Wagner y col., 1998; Fernández y col., 1998).

Además, se detectaron leucoantocianidinas, catequina-4-β-ol y proantocianidinas en distinto grado de polimerización: polímeros, oligómeros y dímeros, que, por tratamiento ácido, producen cianidina (Wagner, 1993; Wagner y col., 1998; Fernández y col., 1998) (Figura 6).

En *L. cuneifolia* la biosíntesis de estos compuestos puede seguir dos caminos. En un camino, la dihidroquercetina es oxidada por la enzima flavonol sintasa y genera quercetina; parte de este compuesto se acumula, pero gran parte sufre glicosidaciones en el OH del carbono 3 por la enzima UDP-azúcar:flavonoide 3-O-glicosil transferasa. En el otro camino, el grupo ceto de la dihidroquercetina es reducido por acción de la enzima 3-hidroxi-flavonona-4-reductasa NADPH dependiente y origina leucocianidina. Este compuesto puede ser transformado en flavan-3-oles [(+) catequina o (-) epicatequina] por la 3,4-cis-diol-reductasa. Ambos, la leucocianidina y los flavan-3-oles pueden ser condensados y originar dímeros, oligómeros y polímeros por la actividad del complejo enzimático proantocianidina sintasa (Stafford, 1990; 1991).

La vía biosintética de los flavonoides en *L. cuneifolia* es menos compleja si se compara con la de *V. album*, porque este presenta una diversificación en la biosíntesis, debido a la acción de la S-adenosil-L-metionina-X-O-metilasa (SAM) que genera flavonoides metilados (Becker y col., 1978; Becker y col., 1980), compuestos no detectados en el muérdago criollo (Figura 7).

Figura 6.- Fórmula de los flavonoides aislados de *L. cuneifolia*

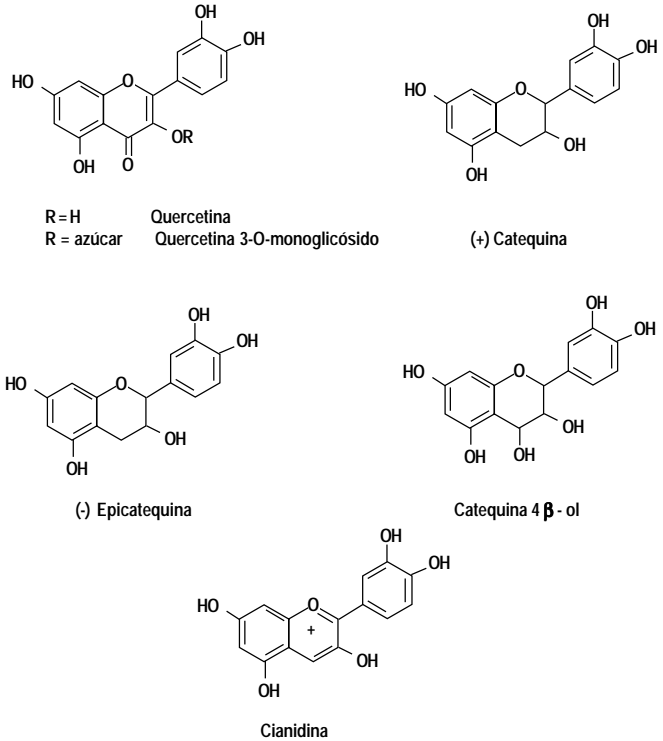
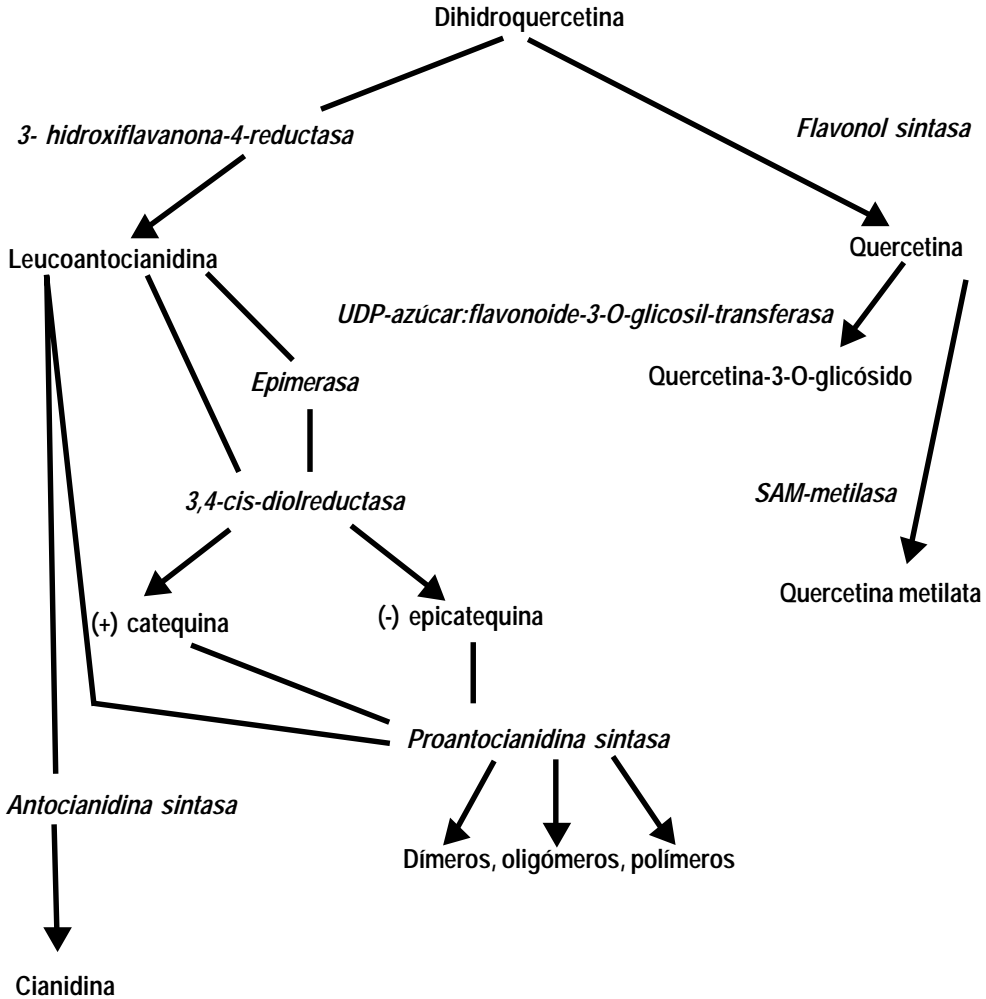


Figura 7.- Probables vías metabólicas de la síntesis de flavonoides en *L. cuneifolia* y *V. album*



Compuestos aminados

Los estudios realizados en ejemplares que se desarrollaban sobre diferentes hospedantes, y recogidos en distintas áreas geográficas, demostraron la presencia de tiramina (Vázquez y Novo y col., 1989).

La concentración detectada en la mayoría de los ejemplares no sobrepasaba los 10 mg %, si bien se detectaron ejemplares con niveles superiores de 100 mg %. En los individuos que parasitan *Geoffroea decorticans* (H. et Arn.) Burkart (Fabaceae), se detectaron los niveles más altos, con valores que van de 120 a 360 mg de tiramina por 100 g de material vegetal seco.

Compuestos macromoleculares

La caracterización de los componentes macromoleculares de *L. cuneifolia* mostró un perfil proteico característico que permite diferenciarlo de *V. album*. El análisis electroforético presentó componentes de PM entre 14 y 90 kD (Figura 8). El análisis de extractos de *L. cuneifolia* y de *V. album*, tanto por Ouchterlony como por Western blot, utilizando suero de ratones inmunizados con muérdago criollo, probó la presencia de epitopes relacionados entre ambas especies (Wagner y col., 1998).

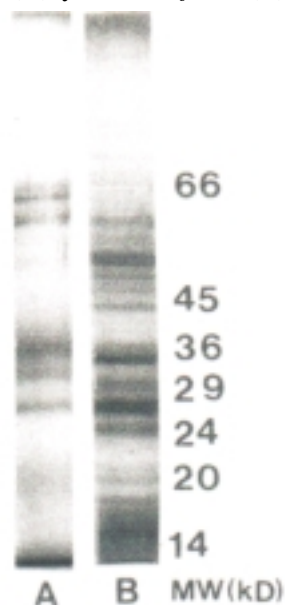
Propiedades biológicas y farmacológicas

Acción vasopresora

La infusión de *L. cuneifolia* se utiliza en medicina popular por una supuesta acción antihipertensiva. Sin embargo, los resultados obtenidos muestran un efecto presor, que puede estar acompañado de vasodilatación y de un variado efecto cardíaco. Esta diversidad de efectos puede estar relacionada con los hospedantes sobre los cuales se recolectaron los diferentes ejemplares (Domínguez, 1928; Izquierdo y col., 1955).

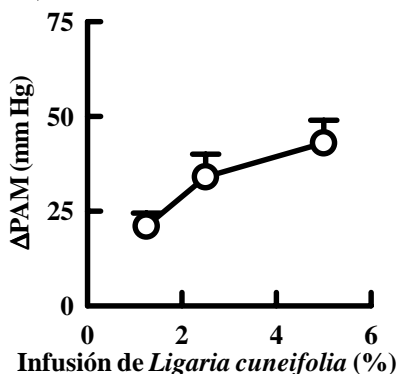
Las infusiones obtenidas a partir de ejemplares de *L. cuneifolia* recolectados sobre *Schinus polygamus* (Cav.) Cabr. (Anacardiaceae), producen un incremento de la presión sanguínea arterial que indican la presencia de un agente vasoactivo presor. También se observa una fase hipotensora secundaria y la caída de la frecuencia cardíaca (Figura 9) (Taira y col., 1994).

Figura 8.- Perfiles de SDS-PAGE de *V. album* (A) y *L. cuneifolia* (B)



Los números indican la posición de los pesos moleculares.

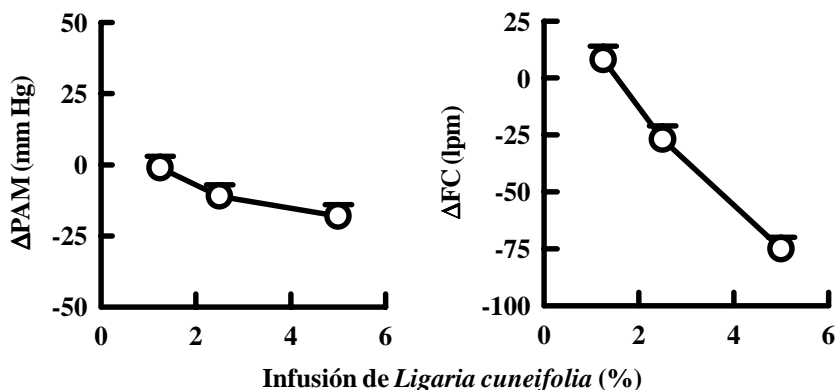
Figura 9.- Efecto presor de *L. cuneifolia* recolectada sobre *Schinus polygamus*



Curva de dosis-efecto presor de las infusiones de *L. cuneifolia* (1,25-5 %). El incremento de la presión arterial media (PAM) es dosis-dependiente.

Cada punto representa la media \pm EEM de cinco animales.

Figura 10.- Efecto cardiovascular de *L. cuneifolia*, recolectada sobre *Schinus polygamus*, en ratas con bloqueo adrenérgico α



La curva de dosis-efecto (A) y el efecto cardíaco (B) de las infusiones de *L. cuneifolia* (1,25 % - 5 %) en ratas pretratadas con fenoxibenzamina (1,5 mg/kg, iv).

Cada punto representa la media \pm EEM de cinco animales.

La administración de estas infusiones a ratas con bloqueo α adrenérgico inducen una caída de la presión arterial y de la frecuencia cardíaca, pero no se observa el incremento de presión sanguínea arterial. Estos resultados indicarían que el efecto presor es de naturaleza adrenérgica α (Figura 10) (Lefkowitz y col., 1991).

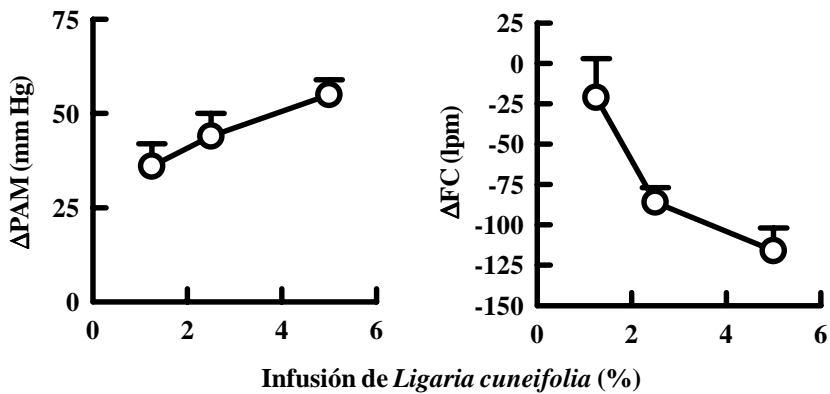
Cuando se realiza un pretratamiento con atropina, antagonista muscarínico, se bloquea la hipotensión y la bradicardia. Este pretratamiento, sugiere la presencia de una sustancia de naturaleza colinérgica muscarínica en las infusiones (Lefkowitz y col., 1991).

Los estudios realizados con ejemplares de *L. cuneifolia* recolectados sobre diferentes hospedantes y en distintos puntos de la Argentina demostraron la presencia de tiramina, una amina simpaticomimética de acción indirecta (Vázquez y Novo y col., 1989). Por lo tanto, existe la posibilidad de que el efecto presor observado esté mediado por una amina de acción indirecta. Para confirmar esta hipótesis se depletan las vesículas noradrenérgicas con reserpina, para evitar que actúen las aminas de acción indirecta. A las 48 horas de la reserpinización se administran las infusiones de *L. cuneifolia* recolectada sobre *S. polygamus* y se observa un efecto presor. Este efecto indica que la acción del agente vasoactivo no sería de acción indirecta, sino de acción directa sobre los receptores adrenérgicos (Taira y col., 1994).

Por lo expuesto, se sugiere que en los ejemplares de *L. cuneifolia* recolectados sobre *S. polygamus* habría un agente vasoactivo de tipo presor adrenérgico de acción directa, un agente hipotensor colinérgico muscarínico y, además, un agente bradicardizante muscarínico (Taira y col., 1994).

En las infusiones preparadas con ejemplares de *L. cuneifolia*, recolectados sobre *Acacia caven* (Mol.) Molina (Mimosaceae) también se observó un efecto presor y bradicardia. El efecto presor se previno con el bloqueo adrenérgico α que confirmó la naturaleza simpaticomimética de la acción, pero no se observó un cambio de frecuencia cardíaca. El efecto del bloqueo podría sugerir que la bradicardia observada originalmente fuera un efecto adrenérgico α . Sin embargo, es más probable que la bradicardia sea una respuesta compensadora barorrefleja al aumento de la presión sanguínea, dada la magnitud del efecto presor (Figura 11) (Lefkowitz y col., 1991).

Figura 11.- Efecto cardiovascular de *L. cuneifolia*, recolectada sobre *Acacia caven*

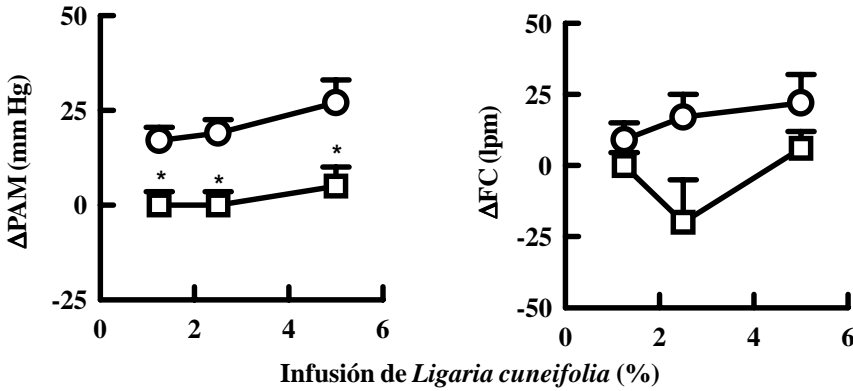


Curvas de dosis-efecto presor (A) y del efecto cardíaco (B) de las infusiones de *L. cuneifolia* (1,25 % - 5 %). Cada punto representa la media \pm EEM de cinco animales.

Por otra parte, las infusiones de *L. cuneifolia* recolectada sobre *Geoffroea decorticans* (Gill. ex Hook. et Arn.) Burkart tendrían solo acción presora y de menor magnitud si se la compara con los otras muestras estudiadas. Como en los otros casos, la naturaleza del efecto presor es adrenérgico α , ya que el antagonista fentolamina previene esa acción (Figura 12) (Lefkowitz y col., 1991).

El análisis de estos resultados muestran que la administración intravenosa de los extractos de *L. cuneifolia* inducen principalmente un incremento de la presión arterial más que su descenso, hecho que restaría justificación para su uso como antihipertensivo. El efecto hipotensor sería secundario, y no la acción principal. En cuanto a la acción cardíaca, es más variable y participarían componentes colinérgicos y un componente barorreflejo. De acuerdo con estos datos, la diferencia de la acción entre las distintas muestras de *L. cuneifolia* estaría relacionada con los hospedantes (Figura 13).

Figura 12.-



Curva de dosis-efecto (A) y el efecto cardíaco (B) de las infusiones de *L. cuneifolia* (1,25 % - 5 %) en ratas no tratadas (círculos) y en ratas pretratadas con fentolamina (1,5 mg/kg, iv, cuadrados). Cada punto representa la media \pm EEM de cuatro animales.

* $p < 0.05$.

Acción citostática e inmunomoduladora

Los extractos del muérdago europeo han sido muy populares en Europa, durante las últimas décadas, como agentes coadyuvantes en el tratamiento del cáncer (Bloskma y col., 1982; Hajto, 1986; Jurin y col., 1993). Los componentes activos contra el tumor han sido identificados como lectinas, viscotoxinas, proteínas, péptidos, oligosacáridos, alcaloides, compuestos polifenólicos y flavonoides (Beuth y col., 1996; Büssing y col., 1996; Gabius y col., 1992; Zee Cheng, 1997).

Figura 13.- Comparación entre el efecto presor de *L. cuneifolia* recolectada sobre *Acacia caven* y sobre *Geoffroea decorticans*

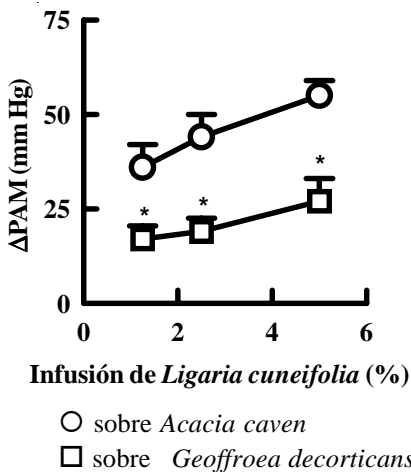


Figura 14.- Efecto de distintas dosis de extracto de *L. cuneifolia* sobre la proliferación de esplenocitos murinos normales

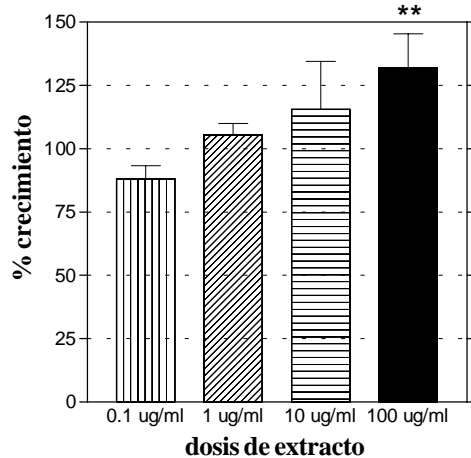
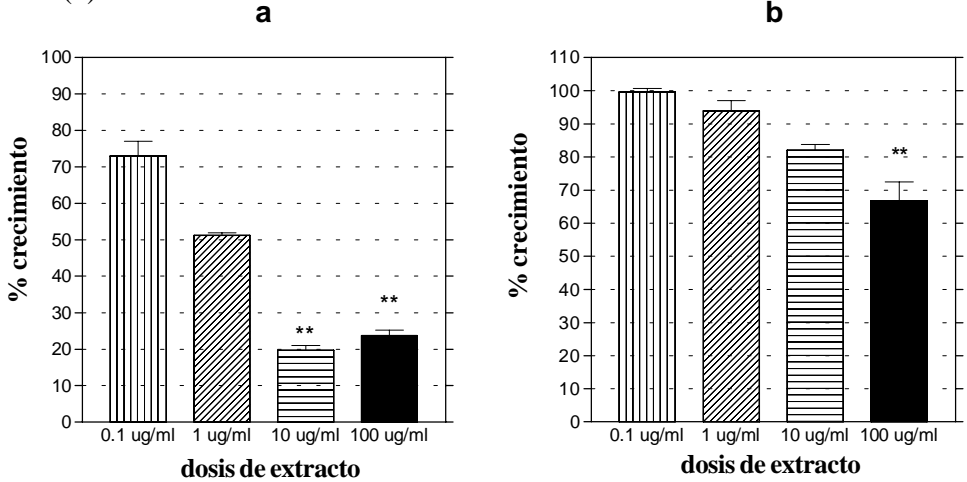


Figura 15.- Efecto de distintas dosis de extracto de *L. cuneifolia* sobre la proliferación de esplenocitos murinos estimulados con ConA (a) y esplenocitos murinos estimulados con LPS (b)



Está comprobado que la actividad anticancerígena no es debida solamente a la inhibición de la proliferación celular sino también a la inducción de citoquinas y a los efectos inmunoadyuvantes (Hostanska y col., 1995). Esta capacidad puede atribuirse a una lectina galactósido específica, que induce secreción de citoquinas por parte de las células mononucleares in vitro y una acción antitumoral y antimetastática en linfosarcomas murinos (Gabius y col., 1992). Los estudios realizados en ratones Balb/c han demostrado que la lectina MLI es el componente inmunoactivo del extracto, porque después de la depleción de la lectina la actividad inmunomoduladora desaparece (Beuth y col., 1995; Beuth y col., 1996). Por esta razón, los estudios sobre el efecto inmunomodulador de *L. cuneifolia* son determinantes para asegurar su potencial inmunoterapéutico.

Los extractos acuosos de *L. cuneifolia* demostraron que eran capaces de inhibir el crecimiento de las células activadas tumorales y normales tratadas con los mitógenos ConA o LPS. Por el contrario, los extractos ejercieron un leve efecto estimulante, no significativo desde el punto de vista estadístico, sobre células normales no estimuladas (Figuras 14, 15 y 16).

Figura 16.- Efecto de distintas dosis de extractos de *L. cuneifolia* sobre la proliferación de células leucémicas murinas LB

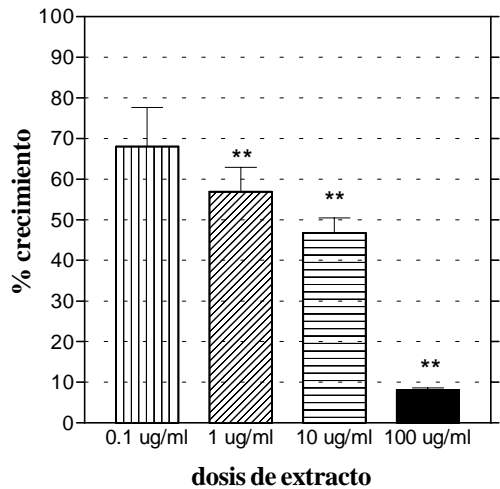


Figura 17.- Efecto de distintas dosis de extractos de *L. cuneifolia* sobre la apoptosis de (a) esplenocitos murinos normales y (b) células leucémicas murinas LB

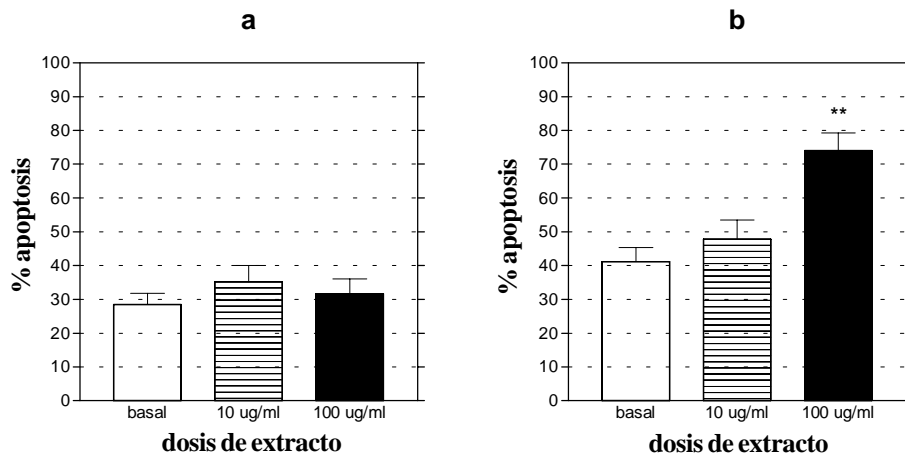
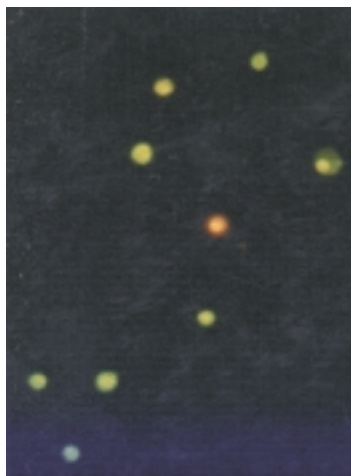
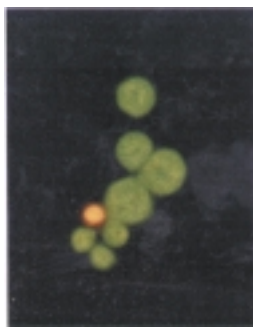


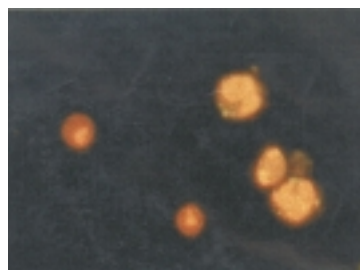
Figura 18.- Observación microscópica de apoptosis celular por coloración con bromuro de etidio-naranja de acridina



A: Esplenocitos murinos normales en presencia de extracto de *L. cuneifolia*.



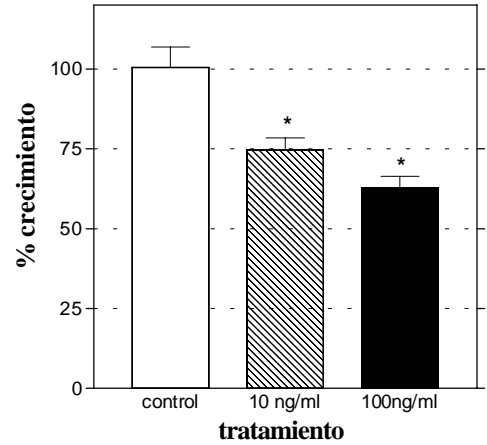
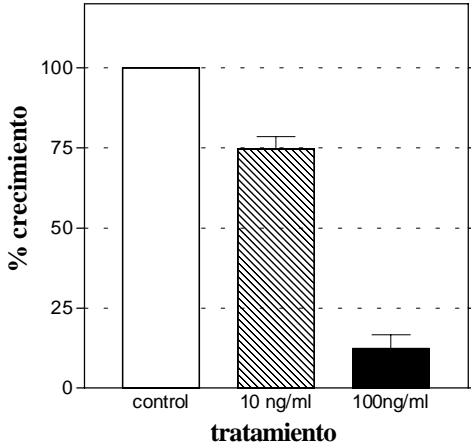
B: Células LB en ausencia de extracto de *L. cuneifolia*.



C: Células LB en presencia de extracto de *L. cuneifolia*.

Células teñido con naranja de acridinina (verde) corresponde a células viables.
Células teñidas con bromuro de etidio (naranja) corresponde a células muertas.

Figura 19.- Efecto de la lectina L-Lc de *L. cuneifolia* sobre la proliferación de células leucémicas murinas LB

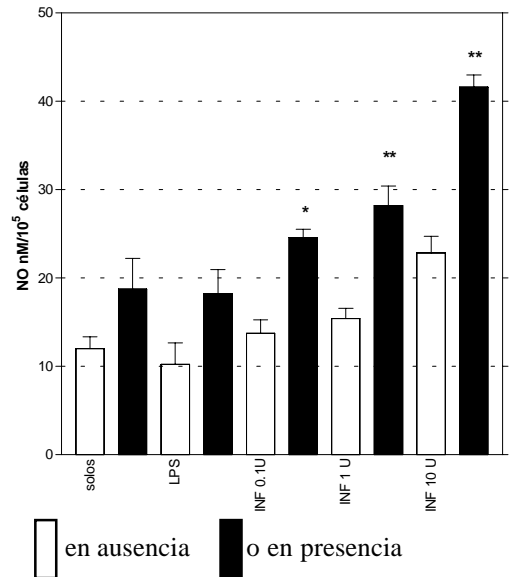


Para dilucidar el mecanismo que conduce a la inhibición de la proliferación celular, se analizó la inducción de apoptosis en presencia del extracto acuoso. Las células tumorales LB, en presencia de los extractos, mostraron un aumento del nivel de apoptosis. Por el contrario, los esplenocitos normales tratados con extractos acuosos no modificaron su índice de muerte por apoptosis en relación con las células normales no tratadas (Figuras 17 y 18).

Una lectina galactósido-específica aislada de extractos acuosos de *L. cuneifolia* (L-Lc) fue responsable de una inhibición de un $27 \pm 2\%$ (10 ng/ml) y $88 \pm 3\%$ (100 ng/ml) del crecimiento de células tumorales LB in vitro (Figura 19). Este efecto también fue demostrado para las lectinas del muérdago europeo (Gabiús y col., 1992).

Cuando los extractos estuvieron presentes en el cultivo de macrófagos preactivados por ConA (solos o estimulados con LPS o Interferón γ) fue posible verificar un incremento en la producción de óxido nítrico (Figura 20). Este fenómeno

Figura 20. Producción de óxido nítrico por macrófagos peritoneales murinos



del extracto acuoso de *L. cuneifolia* con distintos tratamientos: solos, con LPS-100 μ g/ml; con IFN (recombinante murino 0.1–10 U/ml.)

meno se produce debido a la activación de la enzima óxido nítrico sintasa, que genera niveles de óxido nítrico que, a su vez, permite la activación de los macrófagos. Este mecanismo desempeña un papel importante en la destrucción de los microorganismos y las células tumorales, que constituiría un hecho relevante para una posible acción terapéutica (Cui y col., 1994).

Conclusión

Las características anatómicas principales para reconocer *L. cuneifolia* son: la presencia de esclereidas irregulares con cristales cúbicos de oxalato de calcio y la ausencia de súber en el tallo. Es probable que la gruesa cutícula cumpla la función del corcho (epidermis cuticular) (Metcalf y col., 1957).

El estudio micromolecular indica que el único flavonol detectado es quercetina. *L. cuneifolia* presenta un metabolismo simple para la síntesis de los flavonoles, a pesar de que es glicosilada con diferentes azúcares.

También se detecta la presencia de leucoantocianidinas y proantocianidinas que producen cianidina después del tratamiento ácido. La biosíntesis de estos compuestos es más compleja y los monómeros se encuentran libres o en diferente grado de polimerización.

Los estudios realizados sobre el "muérdago criollo" en modelos animales han permitido establecer efectos biológicos sobre el sistema cardiovascular y una acción citostática e inmunomoduladora.

Los efectos cardiovasculares observados indican que las infusiones de *L. cuneifolia* producen, según el hospedante, un efecto presor acompañado, o no, de vasodilatación, y un efecto cardíaco variable.

Los extractos acuosos de *L. cuneifolia* fueron capaces de producir inhibición en el crecimiento de las células linfoides activadas. Esta inhibición estaría mediada por la inducción de la muerte celular a través de un mecanismo apoptótico. Además, estos extractos pueden modular la actividad de las células macrofágicas a través de la inducción en la producción de óxido nítrico.

Una lectina galactósido-específica presente en el extracto acuoso inhibe la proliferación de las células tumorales LB. La lectina galactósido-específica es el primer componente aislado responsable de una acción biológica en esta especie.

La revisión realizada sobre *L. cuneifolia* contribuye a un mejor conocimiento de esta especie de la flora argentina, empleada por sus efectos beneficiosos en medicina popular.

Referencias bibliográficas

- Abbiatti, D. (1946). "Las Lorantáceas Argentinas". *Revista del Museo de La Plata* (nueva serie) 7 (sección botánica): 1-110.
- Abbiatti, D. (1949). "Una nueva variedad de *Psittacanthus cuneifolius*". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 3 (1): 34.

- Arenas P. (1982). "Recolección y agricultura entre los indígenas Maká del Chaco Boreal". *Parodiana* 1(2): 171-243.
- Barlow, B.A. (1964). "Classification of the Loranthaceae and Viscaceae". *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales* 89: 268-272.
- Barlow, B.A.; Hawsksworth, F.G.; Kuijt, J.; Polhill, R.M. y Wiens, D. (1989). "Genera of Mistletoes". *The Golden Bough* 11: 1-3.
- Becker, H.; Exner, J. y Schilling, G. (1978). "Isolierung und Strukturaufklärung von 2'-hydroxy-4', 6'-dimethoxychalcon-4-glukosid aus *Viscum album* L." *Z. Naturforsch.* 33 c: 771-773.
- Becker, H. y Exner, J. (1980). "Vergleichende Untersuchungen von Mistel verschiedener Wirtsbäume an Hand der Flavonoide und Phenolcarbonsäuren". *Zeitschrift für Pflanzen physiologie*. Bd. 97 (5): 417-428.
- Becker, H. (1986). "Botany of European Mistletoe (*Viscum album* L.)". *Oncology* 43 (supl. 1): 2-7.
- Benigni, R.; Capra, C. y Cattorini, P.E. (1964). *Piante Medicinali, Chimica, Farmacologia e Terapia*. Vol II, Inverni della Beffa, Milán: 1760-1782.
- Beuth, J.; Stoffel, B.; Ko, H.; Jeljaszewicz, J. y Pulvere, G. (1995). "Immunomodulating activity of galactoside-specific lectin standardized and depleted mistletoe extract". *Arzneimittel-Forsch./Drug Res.* 45 (II): 1240-1242.
- Beuth, J.; Stoffel, B.; Samtleben, R.; Stoak, O. y col. (1996). "Modulating activity of mistletoe lectins 1 and 2 on lymphatic system in BALB/c mice". *Phytomedicine* 2: 269-273.
- Bloksma, N.; Schimiermann, P.; de Reuver, M.; van Dijk, H. y col. (1982). "Stimulation of humoral and cellular immunity by *Viscum* preparations". *Journal of Medicinal Plant Research* 46: 221-227.
- Büssing, A.; Suzart, K.; Bergmann, J.; Pfeiller, U.; Schietzel, M. y Schuweizer, K. (1996). "Induction of apoptosis in human lymphocytes treated with *Viscum album* L. is mediated by the mistletoe lectins". *Cancer Letters* 99: 59-72.
- Cui, S.J.; Reichner, J.S.; Mateo, R.B. y Albina, J.E. (1994). "Activated murine macrophages induce apoptosis in tumor cells through nitric oxide-dependent or independent mechanism". *Cancer Research* 54: 2462-2467.
- Diem, J. (1950). "Las plantas huéspedes de la lorantacea *Phrygillanthus tetrandrus* (R. et P.) Eichl.". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 3: 177-179.
- Domínguez, J.A. (1928). *Contribuciones a la Materia Médica Argentina*. Peuser, Buenos Aires: 260-264.
- Fernández, T.; Wagner, M.L.; Varela, B.G.; Ricco, R.A.; Hajos, S.E.; Gurni, A.A. y Álvarez, E. (1998). "Study of an Argentine Mistletoe, the hemiparasite *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae)". *Journal of Ethnopharmacology* 62: 25-34.
- Ferraras, J.L.; Iglesias, R.; Barbieri, L.; Alegre, C.; Bolognesi, A.; Rojo, M.A.; Carbajales, M.; Escarmis, C. y Girbés, T. (1995). "Effects and molecular action of ribosome-inactivating proteins on ribosomes from *Streptomyces lividnas*". *Biochimica et Biophysica Acta* 1243: 85-93.
- Font Quer, P. (1962). *Plantas Medicinales: El Dioscórides Renovado*. Labor, Barcelona: 136-139.
- Gabius, S.; Joshi, S.; Kayser, K. y Gabius, H. (1992). "The galactoside-specific lectin from mistletoe as biological response modifier". *International Journal of Oncology* 1: 705-708.
- Graziano, M.N.; Widmer, G.A.; Julián, R. y Coussio, J.D. (1967). "Flavonoids from the argentine mistletoe *Psittacanthus cuneifolius*". *Phytochemistry* 6: 1709-1711.
- Hajto, T. (1986). "Immunomodulatory effects of Iscador: A *Viscum album* preparation". *Oncology* 43 suppl. 1: 51-65.
- Hostanska, K.; Hajto, T.; Spagnoli, G.; Fiher, J.; Lentzen, H. y Herrman, R.A. (1995). "Plant Lectin derived from *Viscum album* induces cytokine gene expression and protein production in cultures of human peripheral blood nononuclear cells". *Natural Immunity* 14: 295-304.
- Izquierdo, J.A. y Starita, J.A. (1955). "Acciones vasculares de *Phrygilanthus flagellaris* y del *Psittacanthus cuneifolius*". *Revista Farmacéutica* 97: 177-181.
- Jurin, M.; Zarkovic, N.; Hrenjak, M. e Ilic, Z. (1993). "Antitumorous and immunomodulatory effects of the *Viscum album* L. Preparation Isorel". *Oncology* 50: 1-6.

- Kuijt, J. (1988a). "Revision of *Tristerix* (Loranthaceae)". *Systematic Botany Monographs* 19: 1-61.
- Kuijt, J. (1988b). "Monographs of the Eremolepidaceae". *Systematic Botany Monographs* 18: 1-60.
- Lefkowitz, R.Y.; Hoffman, B.B. y Taylor, P. (1991). "Transmisión neuro-humoral: los sistemas nerviosos autónomos y motor somático". En: Goodman Gilman, A.; Rall, T.W.; Nies, A.S. y Taylor, P. (eds.). "Las bases farmacológicas de la terapéutica" 8ª ed. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires: 97-113.
- Luther, P. y Becker, H. (1987). "Parasitische Phase". *Die Mistel: Botanik, Lektine, Medizinische Anwendung*. Springer-Verlag Berlín, Heidelberg, New York: 27-35.
- Martínez Crovetto, R. (1964). "Estudios Etnobotánicos I. Nombres de plantas, su utilidad según los indios Tobas del Este del Chaco". *Bonplandia* 1(4): 279-333.
- Martínez Crovetto, R. (1981). "Las plantas utilizadas en Medicina Popular en el Noroeste de Corrientes (República Argentina)". *Miscelánea* N° 69. S.M. de Tucumán: Fundación Miguel Lillo: 1-139.
- Metcalfe, C.R. y Chalk, L. (1957). *Anatomy of the Dicotyledons*. Oxford, Clarendon Press: 1188-1194.
- Nájera, M.T. (1983). "La herboristería en la República Argentina". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 2 (1): 55-59.
- Paris, R.R. y Moyses, H. (1981). *Précis de Matière Médicale*. Tomo 2. Masson, París: 108-110.
- Ratera, E.L. y Ratera, M.O. (1980). *Plantas de la Flora Argentina empleadas en Medicina Popular*. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 82.
- Stafford, H.A. (1990). *Flavonoid Metabolism*. CRC Press. Inc., Boca Raton, Florida: 1-298.
- Stafford, H.A. (1991). "Flavonoid Evolution: An Enzymic Approach". *Plant Physiology* 96: 680-685.
- Subils, R. (1984). "Eremolepidaceae, Loranthaceae, Viscaceae". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 23 (1-4): 121; 176; 264.
- Taira, C.A.; Wagner, M.L.; Adrados, H.M.; Pino, R. y Gurni, A.A. (1994). "Estudio Farmacológico de un Agente Vasoactivo presente en *Ligaria cuneifolia* var. *cuneifolia*". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 13 (2): 91-95.
- Toursarkissian, M. (1980). *Plantas Medicinales de la Argentina. Sus nombres botánicos, vulgares, usos y distribución geográfica*. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 79.
- Varela, B.G. y Gurni, A.A. (1995). "Anatomía foliar y caulinar comparativa del muérdago criollo y del muérdago europeo". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 14 (1): 21-29.
- Vázquez y Novo, S.P.; Wagner, M.L.; Gurni, A.A. y Rondina, R.V.D. (1989). "Importancia Toxicológica de la presencia de sustancias aminadas en ejemplares de *Ligaria cuneifolia* var. *cuneifolia* colectados en diferentes áreas de la República Argentina". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 8 (1): 23-29.
- Wagner, H.; Feil, B.; Seligmann, O.; Petricic, J. y Kavogjera, Z. (1986). "Phenylpropanes and lignans of *Viscum album* L. Cardioactive drugs V". *Planta Medica* 2: 77-162.
- Wagner, M.L.; Vaccaro, M.C.; Gurni, A.A.; Coussio, J.D. y Rondina, R.V.D. (1986). "Estudio de la variabilidad en compuestos aminados de diferentes ejemplares del género *Phoradendron* que crecen en las zonas centro-oeste y misionera argentinas". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 5 (3): 139-148.
- Wagner, M.L. (1993). *Estudios Fitoquímicos Comparativos de los Flavonoides de Loranthaceae de la Flora Argentina. Relación con el Muérdago Europeo*. Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires.
- Wagner, M.L.; Fernández, T.; Varela, B.G.; Álvarez, E.; Ricco, R., Hajos, S. y Gurni, A.A. (1998). "Anatomical, Phytochemical and Immunochemical Studies on *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae)". *Pharmaceutical Biology* 36 (2): 1-9.
- Youngken, H.W. (1951). "Muérdago". *Tratado de Farmacognosia*. Atlante, México: 365-367.
- Zee Cheng, R.K.Y. (1997). "Anticancer research on Loranthaceae plants". *Drugs of the Future* 22: 519-530.

Redacción y comunicación científicas

DIFUSIÓN, ACCESO Y VISIBILIDAD DE PUBLICACIONES CIENTÍFICAS SERIADAS DE IBEROAMÉRICA. EL SISTEMA LATINDEX

María Cristina Ratto de Sala¹ y Amalia Beatriz Dellamea²

¹Profesional Principal de la Carrera del Personal de Apoyo (CONICET). Miembro del Centro de Divulgación Científica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

²Directora a cargo del Centro de Divulgación Científica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. Junín 956, (1113) Buenos Aires, República Argentina. Telefax: 54 11 4964-8200 (int. 8335). Correo electrónico: cdc@ffyb.uba.ar

DIFFUSION, ACCESS AND VISIBILITY OF IBEROAMERICAN SERIAL SCIENTIFIC PUBLICATIONS. LATINDEX SYSTEM

La escasa visibilidad de las publicaciones científico-técnicas, particularmente de las que se editan en español, sumado a las dificultades que entraña la distribución y la circulación de los materiales editados, no sólo son problemas que afectan a las comunidades académicas de América Latina y el Caribe, sino también de España y Portugal.

La problemática de la visibilidad de las revistas que se editan en Latinoamérica afecta sin duda a los investigadores científico-técnicos de la región cuando son evaluados en el área de sus publicaciones. Así, en este contexto se observa una tendencia, entre las instituciones académicas que evalúan la producción de sus científicos, a minusvalorar, cuando no a ignorar, las publicaciones de sus trabajos en revistas que no están incluidas en bases de datos especializadas como *Index*, *Citation Index*, *Abstracts* y *Current Contents*.

Como señala Octavio Alonso Gamboa (1998), las publicaciones periódicas científicas latinoamericanas siguen constituyendo, aún hoy, un universo poco conocido, en especial debido a factores tales como: la escasa presencia de los materiales en servicios internacionales, regionales e incluso nacionales de información; normalmente no están accesibles en bibliotecas y centros de documentación, tanto dentro como fuera de la región; y reciben poco reconocimiento por parte de la comunidad científica internacional, a pesar de la relevancia que puedan tener, en muchas ocasiones, los artículos publicados en las revistas latinoamericanas. También las publicaciones enfrentan problemas graves, en especial de tipo económico, asociados con su producción y distribución, así como dificultades para cumplir la periodicidad. Para agravar todavía más la cues-

ción, no se han generalizado suficientemente aún las pautas de normalización en materia de publicaciones científicas, lo que dificulta que las revistas accedan con relativa rapidez a los niveles de calidad científica formal y editorial requeridos hoy internacionalmente.

La producción científico-tecnológica de un país se evalúa generalmente por métodos bibliométricos, a través de indicadores cuantitativos basados en la cantidad y en la difusión de las publicaciones. Si bien son indicadores tradicionales extrínsecos de fácil medición numérica, presentan la restricción de basarse en las condiciones e hipótesis relevantes solamente para los países desarrollados, donde existe una tradición muy prolongada de la actividad científica y tecnológica, una infraestructura de información establecida y se utilizan sistemas apropiados para recolectar datos, y donde, por otra parte, la máxima "publicar o perecer" está impuesta fuertemente (Sancho, 1992).

Este no es el caso de los países en desarrollo, que tienen muy diferentes condiciones relacionadas con graves problemas sociales, políticos y económicos. Podría señalarse aquí la "aislación científica" que generalmente caracteriza el *status* de la ciencia en la periferia (*ciencia oculta*, *ciencia periférica* o *ciencia invisible*) ya que no se puede recuperar por medios informáticos o resulta muy difícil lograrlo (Cahuépe, 1997). Esto se deriva, principalmente del insuficiente financiamiento para las actividades científico-tecnológicas, de la carencia de proyectos de investigación encarados en colaboración con instituciones extranjeras, la práctica de divulgar las investigaciones prioritariamente en publicaciones locales, o por medio de canales absolutamente no convencionales (informes, notas informales, discusiones orales, etcétera, ya que las investigaciones no son avaladas para publicar sus resultados), así como de la falta de recursos y bibliografía nacional.

El *Science Citation Index* como indicador bibliográfico solo resulta, entonces, adecuado para evaluar la contribución de cada país, conocida como *mainstream* (literatura científica mundial de corriente principal), pero no para cuantificar y valorar la producción científica total de los países. De hecho, la contribución de los países en desarrollo a la *mainstream* de la ciencia es actualmente casi insignificante (Garfield, 1983; Frame y col. 1977).

La falta de visibilidad a la cual la *mainstream* de las publicaciones científicas condena a una gran proporción de las investigaciones de los países en desarrollo bloquea los esfuerzos de esos países para fortalecer sus publicaciones científicas locales, y atenta, así, contra la calidad de las investigaciones en las regiones que más lo necesitan (Gibbs, 1995).

Puede observarse esta cuestión cuando se valora el factor de impacto, que es una medida de la frecuencia a través del cual el "artículo promedio" de una revista ha sido citado en un año dado. Este parámetro se calcula dividiendo el número total de citas efectuadas en el año en curso, en los artículos publica-

dos en una revista durante los dos años previos, entre el número total de artículos publicados en esos mismos dos años por la misma revista.

El factor de impacto en América Latina es, en general, bajo. Si bien algunas revistas se destacan, es notoria la irregularidad del impacto de otras y, en muchos casos, ciertamente preocupante, dado que registra una tendencia decreciente.

La producción científica de los países en desarrollo es superior que la estimada por los medios convencionales. Este registro inexacto obedece a que una gran cantidad de sus publicaciones científicas es desconocida (literatura gris) para el resto de la comunidad científica, porque no está incluida en las bases de datos internacionales, debido a que su mayor producción se relaciona con necesidades locales, y sus resultados son publicados principalmente en fuentes locales. Esa clase de investigación significativa nunca será, consecuentemente, conocida.

Según Frame (en Sancho, 1992), algunos de los factores que influyen en la tendencia de los países en desarrollo a publicar en revistas locales son: la sensación de que los problemas locales no interesan al resto del mundo, la urgencia que tienen algunas áreas de investigación para resolver problemas críticos y no “derrochar el tiempo” escribiendo publicaciones, y la ausencia de infraestructura de apoyo en la redacción de *papers*.

En este contexto de situación, la necesidad de edición de revistas científicas locales parece estar claramente justificada; sin embargo, persisten situaciones que deben conducir a un profundo análisis y, entre ellas, la calidad científica y editorial de las publicaciones.

Por esa razón, en diversas reuniones de científicos y editores de publicaciones periódicas de Iberoamérica, se recomendó con insistencia la creación de bases de datos nacionales y la promoción de bases de datos cooperativas donde se publique la producción científica local. Por otro lado, es necesario poder consultar otras bases de datos, además del SCI, para obtener información de las publicaciones científicas de los países en desarrollo, y así elaborar nuevos y confiables indicadores susceptibles de revelar el auténtico esfuerzo científico de esos países, de acuerdo con sus características específicas (Sancho, 1992).

Salvo Brasil y México, pocos países de Latinoamérica abordaron algún sistema para valorar los esfuerzos de edición científica; aunque es reconocido el sesgo que sufre la comunidad de editores científicos latinoamericanos para lograr que sus revistas, aun aquellas que reúnen los requisitos de alta calidad, se incorporen a los índices del *Institute for Scientific Information* (ISI). Pero, indudablemente las que han accedido, han ganado un lugar de relevancia en el mundo académico, de las agencias de financiación, de la política científico-tecnológica, y en la opinión pública especializada (Kraustopf y Vera, 1995).

En este contexto problemático surgió el proyecto *Latindex*, con el objetivo de iniciar un proceso de reconversión hacia la calidad científica, académica y editorial de las revistas iberoamericanas.

Latindex es un sistema regional de información bibliográfica en línea para revistas científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal, publicadas en español, portugués, inglés o francés. En este proyecto coopera una red de Centros Regionales y Nacionales que, en forma coordinada, compila, normaliza y distribuye información bibliográfica sobre las publicaciones científicas seriadas que se publican en la región.

El sistema *Latindex* también actúa como catalizador para las nuevas colaboraciones e iniciativas en el campo de la publicación periódica científica. Brinda apoyo en el entrenamiento a editores, organiza talleres y aconseja sobre los varios aspectos que hacen a las publicaciones.

El proyecto *Latindex*

En noviembre de 1994, en el taller *Publicaciones científicas en Latinoamérica* que tuvo lugar en Guadalajara, surgió la propuesta de elaborar una base de datos de publicaciones periódicas científicas en Latinoamérica (Cetto y Hillerud, 1995). La Universidad Nacional de México (UNAM) delineó, en 1995, el proyecto de creación de *Latindex*, un sistema automatizado de información de publicaciones científicas periódicas editadas en América Latina y el Caribe (Cetto, 1997).

En la *Segunda Reunión Regional* que tuvo lugar en México, en febrero de 1997, se acordó constituir un grupo de coordinación regional y un grupo de tareas especializado para abordar los diversos aspectos relacionados con la puesta en práctica del proyecto.

Posteriormente se realizaron tres reuniones: en La Habana (1997), para la elaboración de las conclusiones del grupo; en Guadalajara (1997), para establecer normas editoriales y criterios de calidad para la inclusión y clasificación de los títulos de las publicaciones; en México (1998), donde se formó el comité para determinar los parámetros de evaluación.

Durante la *Quinta Reunión Técnica de Latindex*, realizada en Caracas, del 18 al 20 de noviembre de 1999, en la que participaron todos los países miembros, se expuso el desarrollo del Directorio de Revistas Científicas, con 6.864 publicaciones. Por otra parte, se resolvió que la tarea prioritaria para 2000 sería el diseño y la puesta en línea del Catálogo de Revistas Científicas, a partir de una selección de revistas del Directorio, de acuerdo con los criterios de excelencia editorial aprobados por los países miembros.

El Directorio, que en 1997 contaba con 2.460 títulos, en diciembre de 2000 registraba 9.739. En febrero de 2001 se llevó a cabo en Lisboa la *Sexta Reunión Técnica de Latindex*, donde los representantes de las instituciones iberoamericanas y del Caribe, cooperantes del Sistema, revisaron el avance de los diferentes productos y del Sistema en general.

Se acordaron las metodologías de acopio y actualización de la información (nuevos títulos y bajas) y la cooperación con otros organismos internacionales.

Se firmaron acuerdos de cooperación y transferencia de tecnología con el Centro Internacional de ISSN y con el *International Council of Science, Technology and Information* (ICSTI).

En la *Asamblea General del ICSTI*, que se realizó entre el 3 y el 7 de mayo de 2001 en Munich, *Latindex* fue invitado a afiliarse al ICSTI como miembro asociado en su carácter de organismo regional.

Productos ofrecidos por *Latindex*

El sistema *Latindex* comprende tres productos principales que se desarrollan en fases sucesivas: un Directorio, un Catálogo y un Índice.

- El **Directorio** comprende los títulos registrados de más de 10.000 revistas provenientes de treinta países latinoamericanos, España y Portugal e incluye una descripción bibliográfica normalizada básica y datos del editor. Las revistas que aparecen en el Directorio contienen en forma sistemática informaciones de interés para investigadores, estudiosos, profesionales, técnicos y agentes de actividades productivas, educacionales y culturales. No incluye revistas empresariales ni las de carácter promocional de productos y servicios. El Directorio ha sido visualizado como un producto en constante actualización, que implica un proceso de revisión y normalización de la información, complementando la ya existente e ingresando nuevos títulos.
- El **Catálogo** cubre una selección de títulos, clasificados según parámetros de calidad previamente acordados. Es un sistema de categorización de revistas; es una plataforma de evaluación que cada país utiliza para generar o apoyar otros sistemas de evaluación científica y académica. La selección de revistas presentará información detallada y confiable sobre parámetros de calidad editorial e indirectamente pone de relieve algunos parámetros de calidad de contenido. El Sistema *Latindex* permite que los países socios dejen de ser espectadores del ámbito de las publicaciones periódicas para ser generadores de decisiones
- El **Índice** contendrá información bibliográfica sobre los títulos de publicaciones iberoamericanas y del Caribe. Su elaboración se iniciará posteriormente a la presentación del Catálogo en línea, de acuerdo con los parámetros utilizados por otros servicios bibliográficos. Se seleccionarán las revistas que acrediten niveles de excelencia en cuanto a contenido, periodicidad, edición.

Proyectos como *Latindex* y los sistemas de evaluación que, paulatinamente, están poniendo en marcha las comunidades científico-académicas de los países de Iberoamérica, constituyen esfuerzos para difundir y hacer visibles las publicaciones periódicas y seriadas que se editan en la región con criterios de calidad estandarizados y consensuados internacionalmente.

En este sentido, contribuyen a llenar un vacío para investigadores, docentes, estudiantes, administradores y planificadores de la actividad científica, editores, bibliotecarios y especialistas de la información; al mismo tiempo demandan un compromiso y un cambio actitudinal en todos los actores que participan del hacer científico-tecnológico a fin de que las publicaciones sean verdaderamente representativas de la ciencia que se produce en los países de la región.

Latindex

Instituciones cooperantes

Argentina

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)
Centro Argentino de Información Científica y Tecnológica (CAICYT)

Brasil

Instituto Brasileño de Información en Ciencia y Tecnología (IBICT)

Chile

Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT)
Departamento de Información

Colombia

Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología "Francisco José de Caldas" COLCIENCIAS

Cuba

Instituto de Información Científica y Tecnológica (IDICT)
Biblioteca Nacional de Ciencia y Tecnología (BNCT)

España

Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)
Centro de Información y Documentación (CINDOC)

México

Universidad Nacional Autónoma de México
Coordinación de Servicios Académicos
Dirección General de Bibliotecas
Dirección General de Servicios de Cómputo Académico
Instituto de Física

Portugal

Ministerio de Ciencia y Tecnología
Fundación para la Ciencia y la Tecnología

Puerto Rico

Universidad de Puerto Rico Escuela Graduada de Ciencias y Tecnologías de la Información

Venezuela

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT)

Instituciones internacionales cooperantes

- **ISSN International Centre**

- **International Nuclear Information System of the International Atomic Energy Agency**

Organismos patrocinadores

UNESCO

Unidad de Publicaciones, Dirección Adjunta de Ciencia, París.
Oficina Regional de Ciencia y Tecnología para América Latina y el Caribe, Montevideo

ICSU

ICSU Press Committee
Secretariado Regional de COSTED para América Latina

Referencias bibliográficas

- Alonso Gamboa, Octavio. "Hacia el establecimiento del índice latinoamericano de publicaciones científicas Latindex". [en línea]. *Biblioteca Universitaria*, boletín informativo de la Dirección General de Bibliotecas. Nueva época, 1 (2), julio-diciembre, 1998: 53-58 <<http://www.dgbiblio.unam.mx/servicios/dgb/publicd-gb/bole/fulltext/vol12/default.html>> [consulta: 13 de julio de 2001].
- Cauhépé, Miguel A. "Publicar o no publicar, ¿es esa la cuestión?". *Nexos*, Secretaría de Investigación y Desarrollo Tecnológico. Universidad Nacional de Mar del Plata, diciembre 1997.
- Centro Argentino de Información Científica y Tecnológica (Caicyt-Conicet). *Primer Seminario Nacional de Edición Científica y Tecnológica*. Buenos Aires, 26-27 de julio de 1999.
- Cetto, Ana M. y Hillerud, K. (Comps). *Publicaciones científicas en América Latina*. Fondo de Cultura Económica, México, 1995; pp. 305.
- Cetto, Ana M. "Regional Cooperation in Science Publishing". *Proceedings of the Caribbean Academy of Sciences*, 1997; 8: 66-71.
- Frame, J.D.; Narin, F. y Carpenter, P. "The distribution of world science". *Social Studies of Science*, 7 (4), 1977: 501-516.
- Garfield, E. "Mapping science in the Third World". *Science and Public Policy*, 10: 112-127.
- Guibs, W. Wayt. "Lost Science in the Third World". *Scientific American*, August 1995.
- Krauskopf, Manuel y Vera, María Inés. "Las revistas latinoamericanas de corriente principal: indicadores y estrategias para su consolidación". *Interciencia*, 10 (3), 1995: 144-148.
- Reig, Osvaldo. "Las razones de publicar en revistas internacionales especializadas en Argentina". *Interciencia*, 14 (2), 1989.
- Sancho, Rosa. "Misjudgements and shortcomings in the measurement of scientific activities in less developed countries". *Sciencometrics* 23, 1992. Ponencia presentada en la International Conference on Science Indicators for Developing Countries, París, 15-19 de octubre, 1990.
- UNAM. *Latindex* [en línea]. Universidad Autónoma de México. <<http://www.latindex.unam.mx>> [Consulta: 5 de junio de 2001].