



Casa abierta al tiempo



DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
POSGRADO EN BIOLOGÍA

Estudio anatómico, histoquímico y fitoquímico de
***Sticherus bifidus* (Willd.) Ching y *S. palmatus* (W. Schaffn. ex E. Fourn.)**
Copel.

TESIS

Que para obtener el grado de
Maestra en Biología

Presenta:

Biol. Exp. Diana Silva Puente
2202800684

Codirectora: Dra. Armida Leticia Pacheco Mota

Codirectora: Dra. Elisa Vega Ávila

Asesora: Dra. Susana Adriana Montaña Arias

Jurado

Presidente: Dra. Susana Adriana Montaña Arias

Secretaria: Dra. Perla Yolanda López Camacho

Vocal: Dra. Amelia López Herrera

Vocal: M. en B. Laura Guzmán Cornejo

Iztapalapa, Ciudad de México
a 17 de abril de 2023

dianixx.78@gmail.com



La Maestría en Biología de la Universidad Autónoma
Metropolitana pertenece al Padrón de Posgrados de
Calidad del Consejo Nacional de Ciencia y
Tecnología (CONACyT).



Esta idónea comunicación de resultados fue realizada dentro del **Programa de Maestría en Biología** de los Posgrados de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud (DCBS) de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. El trabajo experimental: “**Estudio anatómico, histoquímico y fitoquímico de *Sticherus bifidus* (Willd.) Ching y *S. palmatus* (W. Schaffn. ex E. Fourn.) Copel.**” fue realizado del 10 de agosto de 2020 al 26 mayo de 2022 en la UAM-I, en el Laboratorio de Biosistemática de helechos y licofitas del Departamento de Biología y el Laboratorio de Hematología Experimental del Departamento de Ciencias de la Salud. Además del laboratorio de Anatomía e Histoquímica Vegetal del Colegio de Posgraduados, Campus Montecillos.

Agradecimientos de becas otorgadas

A **CONACyT** por el apoyo económico a través del Programa de Becas Nacionales, **CVU: 1079959**, que me permitió realizar los estudios de Maestría en el Programa de Posgrados de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud (DCBS) de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.

Al **Proyecto de Biosistemática, Ecología, Usos y Filogenia de Helechos, Licofitas y Hongos** de la Dra. Leticia Pacheco, Departamento de Biología, **Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa**, ya que gran parte del financiamiento de mi investigación se realizó con los recursos de este proyecto.

A la **Universidad Autónoma Metropolitana** por la Beca para participar en **Eventos de Difusión y de Investigación en Ciencia y Tecnología** y la Beca de **Titulación para alumnos de Posgrado**.

Declaración de originalidad

La que suscribe Diana Silva Puente, alumna de la Maestría en Biología perteneciente a la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa y autora de la tesis o idónea comunicación de resultados titulada: “**Estudio anatómico, histoquímico y fitoquímico de *Sticherus bifidus* (Willd.) Ching y *S. palmatus* (W. Schaffn. ex E. Fourn.) Copel.**”

Declaro que:

1. La tesis o idónea comunicación de resultados que presenté ante **la Comisión académica de la Maestría en Biología, Tutoras y Jurado** para lo obtención del grado de **Maestra en Biología** es de mi autoría y original creación, producto del resultado de mi trabajo de investigación personal e individual; el cual cuenta con las correspondientes citas textuales del material bibliográfico utilizado y con el debido otorgamiento de los créditos autorales.
2. En la tesis o idónea comunicación de resultados no he reproducido párrafos completos; ilustraciones, fotografías, diagramas, cuadros y tablas, sin otorgamiento del crédito autoral y fuente correspondiente.
3. En consecuencia, relevo de toda responsabilidad a la Universidad Autónoma Metropolitana de cualquier demanda o reclamación que llegara a formular alguna persona física o moral que se considere con derecho sobre la tesis o idónea comunicación de resultados, respondiendo por la autoría y originalidad de la misma, asumiendo todas las consecuencias económicas y jurídicas si ésta no fuese de mi creación.

La presente declaración de originalidad se firma en la Ciudad de México el **10 de abril del 2023**.

Atentamente



Biol. Exp. Diana Silva Puente

*“...Cuando en tu camino no sepas a dónde vas, voltea
para que recuerdes de dónde vienes...”*

*Dedico este trabajo a mis padres, porque
gracias a su ejemplo y dedicación aprendí que
los sueños pueden ser reales si les pones el
empeño, esfuerzo y corazón necesarios.*

*A mis hijos esperando que siempre
encuentren la motivación y fuerza para vivir
plenamente.*

AGRADECIMIENTOS

Agradezco, en general, a toda mi familia por acompañarme a lo largo de este camino; a mis padres e hijos por el apoyo incondicional, la confianza, el inmenso amor y por estar presentes en todo momento significativo de mi vida, porque cuando los miro, siempre encuentro la motivación y coraje para ser mejor persona y profesionalista.

A mí querida Lety Pacheco, amiga y guía, por nunca dejar de creer en mí, motivarme y apoyarme en este viaje.

A mi Comité tutorial: las Dras. Elisa Vega Ávila, Susana Montaña Arias y Leticia Pacheco, les agradezco su paciencia, guía, consejos y tiempo, sin los cuales no habría conseguido este logro.

Agradezco a la Maestra Gabriela López, ya que sin su apoyo no habría sido posible la colecta del material Biológico necesario para este proyecto y al Biólogo Simón Morales, por su asesoría en la realización de las técnicas de Histoquímica y Microscopía, necesarias para la descripción anatómica de mis especies.

Finalmente, quiero agradecer a la vida por permitirme disfrutar y sufrir esta experiencia, que además de ser enriquecedora en conocimientos, me ha dejado momentos placenteros llenos de orgullo y satisfacción personal.

RESUMEN

En México hay gran cantidad de plantas de las que existe, en general, escaso conocimiento de su estructura y propiedades, lo cual es una necesidad urgente por atender. Los helechos son un ejemplo de ello, específicamente la Familia Gleicheniaceae, debido a que esta representada por varias especies cuya descripción anatómica y propiedades fitoquímicas no están bien determinadas, o ni siquiera se han realizados estudios. Como aporte, en este estudio, se analizaron dos especies de esta familia, *Sticherus bifidus* (Willd.) Ching y *S. palmatus* (W. Schaffn. ex E. Fourn.) Copel., para proporcionar una descripción amplia de sus caracteres anatómicos, histoquímicos, fitoquímicos y medir su actividad antioxidante; con el fin de conocer sobre su estructura, composición y posible aplicación farmacológica.

Para la descripción anatómica e histoquímica de las especies se realizaron cortes transversales de los diferentes órganos (raíz, rizoma y hoja). Las pruebas histoquímicas que se realizaron fueron: PAS/HIO₄, fluoroglucina clorhídrica, rojo oleoso, lugol y azul negro de naftol. En el estudio fitoquímico se utilizaron dos muestras de hoja y de rizoma-raíz, de las cuales se obtuvieron extractos etanólicos. Posteriormente, se realizó un estudio fitoquímico preliminar para detectar presencia de polifenoles totales, flavonoides y proantocianidinas; finalmente, éstos se cuantificaron y se midió la actividad antioxidante en ambas especies.

Los resultados anatómicos e histoquímicos mostraron que: 1) las dos especies presentan anatomía similar en todos sus órganos, con excepción del pecíolo, en el cual

presentó una solonestela en *S. bifidus*, mientras que en *S. palmatus* se observó una haplostela; 2) ambas especies presentan abundante tejido de sostén (colénquima y esclerénquima) en todos sus órganos; 3) los elementos conductores de ambas especies de *Sticherus*, son traqueidas escalariformes; 4) en ambas especies, hay presencia de dos endodermis y bandas de caspary en la segunda endodermis; además, de cavidades en el raquis y contenidos de color rojo y amarillo en los córtex de la raíz, rizoma y pecíolo.

Los resultados del análisis fitoquímico indican que ambas especies presentan polifenoles totales y flavonoides en la hoja, el rizoma y la raíz, cabe señalar que, en el rizoma y la raíz también se encontraron proantocianidinas. En cuanto a la actividad antioxidante en ambas especies, las muestras de hoja presentaron menor actividad que las de rizoma y raíz. Además, *S. bifidus* mostró la mejor actividad antioxidante (IC_{50} hoja 19.32; IC_{50} rizoma-raíz 12.98), aunque no difiere considerablemente *S. palmatus* (IC_{50} hoja 44.43; IC_{50} rizoma-raíz 13.11), por lo que ambas especies presentan buen poder reductor del radical DPPH°. La actividad antioxidante está relacionada directamente a las concentraciones de polifenoles, flavonoides y taninos condensados, encontrados en la cuantificación fitoquímica y observados en el estudio histoquímico en estos órganos.

ABSTRACT

In Mexico there are a large number of plants of which there is, in general, little knowledge of their structure and properties, which is an urgent need to attend. Ferns are an example of this, specifically the Gleicheniaceae family, because it is represented by several species whose anatomical description and phytochemical properties are not well determined, or studies have not even been carried out. For this reason, in this study, two species of this family, *Sticherus bifidus* (Willd.) Ching and *S. palmatus* (W. Schaffn. ex E. Fourn.) Copel., were analyzed to provide a broad description of their characters anatomical, histochemical, phytochemical and measuring its antioxidant activity; in order to know more about the structure, composition and possible pharmacological application.

Anatomical and histochemical studies, cross sections of the different organs (root, rhizome and leaf), the histochemical tests performed were: PAS/HIO₄, hydrochloric fluoroglucin, oily red, lugol, and naphthol black blue. In the phytochemical study, two leaf and rhizome-root samples were used, from which ethanolic extracts were obtained. Subsequently, a preliminary phytochemical study was carried out to detect the presence of total polyphenols, flavonoids and proanthocyanidins; finally, they were quantified, and their antioxidant activity was measured in both species.

Anatomical and histochemical results showed that: 1) the two species present similar anatomy in all their organs, with the exception of the petiole, in which a solonestela was

present in *S. bifidus*, while in *S. palmatus* a haplostela was observed; 2) both species present abundant supporting tissues (collenchyma and sclerenchyma) in all their organs; 3) the conducting elements of *Sticherus* are scalariform tracheids; 4) in both species, there is the presence of two endodermis and caspary bands in the second endodermis; in addition, of cavities in the rachis and contents of red and yellow color in the barks of the root, rhizome and petiole.

The results of the phytochemical analysis indicate in both species present total polyphenols and flavonoids in the leaf, rhizome and root; it should be noted that, proanthocyanidins were also found in the rhizome and root. Regarding the antioxidant activity in both species, the leaf samples presented lower activity than the rhizome and root samples (CI_{50}). In addition, *S. bifidus* showed the best antioxidant activity (CI_{50} hoja 19.32; CI_{50} rizoma-raíz 12.98), although *S. palmatus* did not differ considerably (CI_{50} hoja 44.43; CI_{50} rizoma-raíz 13.11), so both species have good reducing power of the DPPH° radical. The antioxidant activity is directly related to the concentrations of polyphenols, flavonoids and condensed tannins, found in the phytochemical quantification and observed in the histochemical study in these organs.

Contenido

Introducción	15
Diversidad de helechos en México	17
Importancia de los helechos	18
Antecedentes	19
Antecedentes anatómicos e histoquímicos en helechos	20
Antecedentes fitoquímicos en helechos	23
Características generales de la Familia Gleicheniaceae (Polypodiopsida)	24
Género <i>Sticherus</i> C. Presl.	26
Literatura citada	28
Justificación	35
Hipótesis	36
Objetivo General	37
Objetivos particulares	37
CAPÍTULO I. Anatomía e Histoquímica de <i>Sticherus bifidus</i> (Willd.)	
Ching y <i>S. palmatus</i> (W. Schaffn. ex E. Fourn.) Copel.	
Introducción	38
Objetivos	40
Materiales y Métodos	41
Resultados	45
Discusión	63
Conclusión	67

Literatura citada	68
CAPÍTULO II. Fitoquímica de <i>Sticherus bifidus</i> (Willd.) Ching y <i>S. palmatus</i> (W. Schaffn. ex E. Fourn.) Copel.	
Introducción	71
Objetivos	74
Materiales y Métodos	75
Resultados	81
Discusión	84
Conclusión	88
Literatura Citada	89
Discusión General	94
Conclusiones Generales	97
Anexos	
Anexo 1. Contenido de cuadros	99
Anexo 2. Contenido de figuras	100
Anexo 3. Complemento Capítulo I	101
Anexo 4. Complemento Capítulo II	103

Introducción

La mayoría de las veces se relaciona a las plantas con las flores y frutos e incluso con grandes formas arbóreas que forman los bosques de todo el mundo; sin embargo, muy pocas veces pensamos en los grupos de plantas que invadieron y poblaron la tierra en tiempos antiguos. Los helechos son de las primeras plantas vasculares que se diversificaron en forma y tamaño desde hace varios millones de años, cuya distribución es amplia y se han adaptado a una gran variedad de ambientes.

Los helechos pueden ser terrestres, trepadores, herbáceos, arborescentes, saxícolas, epífitos o hemiepífitos, también hay especies palustres (asociada a cuerpos de agua), enraizadas en el fondo o flotantes (Neira & Hernández, 2018). De acuerdo con de la Sota (1977), estas plantas se encuentran en casi toda la superficie del planeta (con excepción de las áreas polares, los desiertos y las altas cumbres), en un intervalo altitudinal de 0 a 5000 metros en las cadenas montañosas tropicales; sin embargo, éstas se distribuyén principalmente en regiones cálido-húmedas (Riba, 1998; Muñiz *et al.*, 2007). Los helechos crecen tanto en climas muy lluviosos como en regiones semidesérticas, en el interior de las comunidades selváticas o boscosas o en lugares abiertos y expuestos; en la hojarasca, en suelos arcillosos o arenosos, en fisuras de rocas, etc. (De la Sota, 1977). Estas plantas prefieren los sitios húmedos y sombríos, por lo que se encuentran a orillas de los ríos, los pantanos y áreas generalmente húmedas; sin embargo, también toleran condiciones de ambientes secos, debido a sus paredes protectoras de recubrimiento (Budowski, 1985; Raven *et al.*, 1992). Gracias a esto, los helechos presentan una amplia dispersión de esporas por el viento (Azana *et al.*,

2008). En los bosques tropicales, los helechos son abundantes y, son de los grupos más grandes de las plantas sobre la tierra (Moran, 2009).

Los helechos, se caracterizan por presentar dos fases morfológicamente distinguibles en su ciclo de vida: la fase gametofítica o sexual (n) y la fase esporofítica o asexual ($2n$). El ciclo de vida de los helechos implica una alternancia de generaciones muy bien definida, debido a que el esporofito y gametofito generalmente son plantas autotróficas (Hernández & Nelson, 2007).

El esporofito es la generación dominante y más desarrollada, es la fase que habitualmente se observa en el campo y, por tanto, la más conocida. El esporofito produce y libera las esporas que, al germinar, dan lugar al gametofito, que contiene los gametos masculino y femenino. Los gametos se liberan y se unen eventualmente (fecundación) para desarrollar un esporofito, y así reiniciar el ciclo de vida (Neira & Hernández, 2018). Una limitante en la reproducción de los helechos es que la fecundación generalmente se lleva a cabo en presencia de agua. El gametofito cuyas dimensiones son milimétricas, con frecuencia pasa desapercibido.

La planta gametofítica madura no guarda semejanza alguna con la generación esporofítica y, generalmente, esta muere poco después de la reproducción y de que surjan las primeras hojas del esporofito. El gametofito está formado por el prótalo que es una estructura pequeña, en muchas ocasiones en forma de corazón, crece plana al ras del suelo y, por tanto, carece de tejido vascular y posee rizoides que semejan a una raíz y lo fijan al suelo (Hernández & Nelson, 2007).

En el esporofito se pueden observar estructuras morfológicas como: el tallo, el cual dependiendo del hábito puede ser subterráneo (terrestre), aéreo (epífita) o reducido (acuático).

A éste se encuentran unidas las raíces y las hojas; algunos helechos no desarrollan raíces, sino una serie de pelos finos que le sirven para absorber nutrientes (Hernández & Nelson, 2007). Las hojas presentan dos regiones principales: el pecíolo, el cual está unido en su base al rizoma y en su ápice a la lámina, la otra región de la hoja, la cual puede ser simple (sin divisiones) o compuesta por un gran número de divisiones llamadas pinnas y un eje central que es el raquis (Neira & Hernández, 2018).

Finalmente, en el esporofito se encuentran las estructuras que contienen a los esporangios, éstos pueden ser solitarios o agruparse formando estróbilos, soros o esporocarpos, en los cuales se producen millones de esporas que son dispersadas por el viento (Murillo, 1983). Los esporangios pueden estar dispuestos en forma lineal, circular o abarcar toda la superficie abaxial de la lámina (Neira & Hernández, 2018). El tejido vascular del esporofito (xilema y floema) sirve para el transporte de agua y nutrientes, y permite al esporofito alcanzar alturas espectaculares y hace posible la posesión de verdaderas raíces, tallos y hojas (Hernández & Nelson, 2007).

Diversidad de helechos en México

México se encuentra entre los tres primeros lugares de los 12 países megadiversos que albergan alrededor del 70% de la biodiversidad del planeta (CONABIO, 2019), debido a que se encuentra en la zona tropical en donde existe mayor diversidad de especies y, además, presenta zonas de contacto entre dos regiones biogeográficas (Neártica y Neotropical) en donde se mezclan faunas y floras con diferentes historias evolutivas. Aunado a otros factores, la presencia oceánica, corrientes marinas, vientos alisios y eminentes sistemas montañosos, le

confieren una amplia diversidad de ambientes, climas y suelos (CONABIO, 2019). Además, en México se pueden encontrar casi todos los ecosistemas del planeta, desde desiertos en el norte del país, hasta nieves perpetuas localizadas en las montañas más altas (CONABIO, 2019).

La heterogeneidad paisajística, definida por la variedad de climas y la complejidad histórica, geológica y biológica, se refleja en la presencia de una importante diversidad florística que distingue a México (Sarukhán *et al.*, 1996; SEMARNAT, 2009). Se calcula que el número de especies florísticas que presenta es de 22,969 de las cuales el 50% son endémicas. Lo cual ubica a México como el tercer país con mayor riqueza de plantas en América Latina, después de Brasil, con aproximadamente 33,160 especies, y Colombia, con 23,100 especies (Villaseñor, 2016; Ulloa *et al.*, 2017).

De acuerdo con PPGI (2016), los helechos y licófitas tienen 1,034 especies que corresponden al 8.6 % del total de plantas (11,900) en todo el mundo (Villaseñor, 2016), por tal motivo, es en un grupo importante de estudio para entender la ecología e interrelaciones de diversas especies dentro de los ecosistemas (Moran, 2009).

Importancia ecológica de los helechos

Los helechos, al igual que las licófitas y briofitas, tienen importancia como plantas colonizadoras y formadoras de suelo, lo cual favorece el establecimiento de otras especies durante el proceso de sucesión vegetal. Al respecto, *Equisetum* L., *Dicranopteris* Benth., *Diplopteridium* (Diels) Nakay y *Gleichenia* Sm. son ideales para evitar la erosión en los cortes de camino o taludes. Otros géneros como *Cyathea* Sm., *Cristella* H. Lév., *Dipteris* Reinw. y

Thelypteris Schmidel, son colonizadores potenciales en la sucesión vegetal (Jones, 1987). Además, los helechos arborescentes son considerados indicadores biológicos de lugares poco o nada perturbados (Hernández & Nelson, 2007).

De acuerdo con Escámez (1989), los helechos son importantes por varias razones: son un grupo de plantas muy antiguo y, por tanto, de gran valor en estudios evolutivos y filogenéticos. Por otro lado, entre sus especies se encuentra gran número de relictos (especies relegadas en hábitats muy puntuales y que en otro momento tuvieron una amplia distribución), que dan testimonio de una vegetación ancestral. Además, su presencia suele estar ligada a ecosistemas muy particulares cuya fragilidad evidencia su necesidad de protección y conservación; así mismo, un gran número de especies sufren presiones ambientales que amenazan su supervivencia. Finalmente, un gran número de especies presentan metabolitos secundarios con actividades biológicas y antioxidantes.

Estas singularidades han interesado a numerosos y relevantes científicos en todo el mundo. Sin embargo, la situación taxonómica actual de géneros y familias de este grupo de plantas es compleja (Escámez, 1989).

Antecedentes

Los estudios morfológicos y anatómicos son de suma importancia para conocer a detalle las características estructurales de las plantas. Por medio del análisis morfológico se conoce la estructura externa de la planta, la cuál se refiere a los órganos que componen su cuerpo: hojas, tallos y raíces. Con la anatomía se reconoce la estructura interna de la planta, es

decir, los tejidos que componen cada uno de sus órganos y se identifican contenidos celulares (histoquímica) y metabolitos secundarios (fitoquímica).

La histoquímica permite el estudio de las sustancias orgánicas que se encuentran presentes en las estructuras de las plantas (Neira & Hernández, 2018). Esta se puede complementar con un análisis fitoquímico, el cual permite determinar cualitativamente los principales metabolitos secundarios presentes en una planta y, a partir de esto, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés (Gudiel, 2009).

Los metabolitos secundarios son los compuestos resultantes del metabolismo de la planta que no tienen una función reconocida en el mantenimiento de los procesos fisiológicos fundamentales de la misma. A estos compuestos se les atribuyen funciones como la protección frente a depredadores y estados de estrés perjudiciales para el individuo (Robert *et al.*, 1991). Ho *et al.* (2010), mencionan una variedad de metabolitos secundarios en especies de helechos que pertenecen principalmente al grupo de los terpenoides (triterpenoides, diterpenoides, sesquiterpenoides), compuestos fenólicos (derivados del fenilpropanoide y otros), flavonoides y alcaloides.

Antecedentes anatómicos e histoquímicos en helechos

En helechos, existen estudios anatómicos enfocados en diversas partes de la planta. Por ejemplo, White (1974), menciona la importancia de investigar la anatomía de los helechos enfocada a los meristemas del vástago, tejido vascular y tipos de estela, así como la ontogenia de los estomas (Hernández *et al.*, 2006). Otros autores se enfocan en caracteres importantes

para distinguir entre especies. Sen & Mittra (1966) y Zlotnik (1991) mencionan la presencia o ausencia de nidos de esclereidas y meristelas rodeadas o no por una banda esclerosada en el rizoma. Por otro lado, Pacheco & Moran (1999) y Pacheco *et al.* (2003) citan la presencia de cavidades de mucílago en el rizoma de algunas especies de helechos. Hernández *et al.* (2006) se enfocan en caracteres presentes en el pecíolo como: el número, forma, arreglo y configuración del xilema de las meristelas y la presencia de la banda esclerosada alrededor de éstos.

El estudio de la lámina en las especies puede proveer caracteres con relevancia taxonómica, entre ellos está: la forma y tamaño de las células epidérmicas; los tipos de estomas, su posición, tamaño y abundancia; la composición del mesófilo y la presencia de colénquima asociado a las meristelas (Riba, 1967; Velasco, 1971; Lin & De Vol, 1977, 1978; Velázquez-Montes, 1983; Moran, 1987; Saiki *et al.*, 1988; Guantay & Hernández, 1990; Kramer, 1990; Zlotnik, 1991; Herrera, 1993; Aguilar-Pérez *et al.*, 1994; Pérez García *et al.*, 1995; Zavaro *et al.*, 1995; Mendoza-Mociño *et al.*, 1998; Silva-Puente *et al.*, 2001; Hernández *et al.*, 2006).

Los estudios avanzados que abordan la anatomía comparada de especies de helechos son escasos y se limitan a unas pocas especies. Por ejemplo, se ha descrito y analizado la anatomía de especies de los géneros *Dryopteris* (Hernández *et al.*, 2006), *Polybotrya* (Moran, 1987), *Polypodium* (Tejero-Díez *et al.*, 2010), *Tectaria* (Velázquez-Montes, 1983; Velázquez-Morales, 2021) y *Thelypteris* (Zavaro *et al.*, 1995), o bien se han realizado estudios de especies pertenecientes a más de dos géneros, por ejemplo el realizado entre las familias Aspleniaceae y Athyriaceae (Umikalsom, 1992); o varios generos de la familias Cyatheaceae (Lucansky, 1981) o Polypodiaceae (Zlotnik, 1991). Otros trabajos anatómicos sobre helechos

facilitan y permiten la comparación entre familias, géneros y especies, lo cual favorece una clasificación más específica de este grupo (Ogura, 1972; Lin & De Vol, 1977, 1978; Moran, 1987).

Hay muchas familias de helechos de las cuales se tiene poca información sobre su anatomía, histoquímica y fitoquímica, la literatura citada es antigua y a pesar de los estudios realizados aún existe controversia sobre su morfología o anatomía. Ejemplo de ello es la Familia Gleicheniaceae, de la cual aún existe polémica en cuanto a su morfología foliar y la anatomía de sus especies. Ranker & Shaw (2011) y Andersen & Øllgaard (1996) utilizan una terminología que trata de ajustar la arquitectura foliar de las gleiquenáceas. Boodle (1901) describe los caracteres anatómicos de 18 especies predominando la presencia de protostelas y raíces tetrarcas en la mayoría de los ejemplares estudiados.

Por otro lado, Ogura (1972) cita que la familia se caracteriza por presentar protostelas vitalizadas, además, confirma la presencia de solenostela en *Gleichenella*. Schneider & Carlquist (1998b) aluden la presencia de vasos con placas de perforación en las raíces y rizomas de *Dicranopteris linearis*; lo cual, difiere de lo descrito anteriormente por Boodle (1901), para las gleiquenáceas. Un trabajo más reciente es el realizado por Gonzales (2003) sobre el género *Sticherus*, donde discute su historia taxonómica, morfología, relaciones intragenéricas y reconoce 53 especies y nueve híbridos, además de describir ocho nuevas especies: *S. albus* J. Gonzales, *S. chocoensis* J. Gonzales, *S. fuscus* J. Gonzales, *S. hispaniolensis* J. Gonzales, *S. jacha* J. Gonzales, *S. nervatus* J. Gonzales, *S. ovatus* J. Gonzales y *S. rufus* J. Gonzales & A.R. Sm.

Respecto de la información histoquímica en helechos es escasa. Jaime *et al.* (2007) mencionan que las pruebas histoquímicas en hojas de *Microgramma squamulosa* (Kaulf.) De la Sota, revelaron la presencia de taninos, lignina, grasas, mucílagos y almidón.

La familia Gleicheniaceae es muy compleja en cuanto a su morfología y anatomía; además de que no se cuenta con los suficientes estudios a nivel histoquímico que definan los contenidos celulares presentes en estos helechos. Por otro lado, hay poca información sobre las siete especies de gleichenáceas presentes en México. Por tanto, es relevante estudiar la anatomía, histoquímica y fitoquímica de dos especies del género *Sticherus* (*S. bifidus* (Willd.) Ching y *S. palmatus* (W. Schaffn. ex E. Fourn.) Copel.)

Antecedentes fitoquímicos en helechos

Estudios previos realizados por Zhou *et al.* (1998), indican que *Thelypteris hispidula* (Decné) tiene terpenoides, mientras que las especies *Adiantum capillus-veneris* L. (Pteridaceae), *Athyrium filix-femina* (L.) Roth (Athyriaceae), *Blechnum spicant* (L.) Roth (Blechnaceae) y *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott (Dryopteridaceae) presentan compuestos aromáticos, policétidos, derivados de carotenoides y compuestos volátiles. *Hypodematium squamuloso-pilosum* Ching contiene alcaloides, polifenoles simples y flavonoides (Tomšik, 2013). Así mismo, en *Pteris biaurita*, L., *Lygodium flexuosum* (L.) Sw., *Hemionitis arifolia* (Burm.f.) T. Moore, *Actinopteris radiata* (J. Koenig ex Sw.) Link y *Adiantum latifolium* Lam. se han encontrado esteroides, taninos, saponinas, antroquinonas, azúcares y aminoácidos (De Brito *et al.*, 2012).

Jaime *et al.* (2007), realizaron pruebas histoquímicas en hojas de *Microgramma squamulosa* y confirmaron la existencia de compuestos fenólicos y flavonoides a partir de extractos etanólicos y acuosos. Por otro lado, Gudiel (2009), realizó un tamizaje fitoquímico y evaluó la actividad antioxidante en el rizoma y hojas de *Polypodium triseriale* Sw. (= *Serpocaulon triseriale* (Sw.) A. R. Sm.). El autor encontró diferencias en el perfil químico y capacidad antioxidante entre hojas y rizoma.

Pastene *et al.* (2001) indicaron la presencia de flavonoides en *Cheilanthes glauca* (Cav.) Mett.; mientras que Cabrera (2014) cita la presencia de proteínas, azúcares reductores, alcaloides, compuestos fenólicos y flavonoides en tres especies del género *Cheilanthes*.

En la familia Gleicheniaceae se han realizado pocos estudios en el área fitoquímica, entre ellos destaca el trabajo de Wallace *et al.* (1983), donde mencionan la presencia de los flavonoles: quercetina y kaemperol en todas las especies de la familia. Dado que esta familia ha sido poco estudiada fitoquimicamente, se consideró importante analizar la presencia de metabolitos secundarios que presenten actividad antioxidante en las especies *Sticherus bifidus* (Willd.) Ching. y *S. palmatus* (W. Schaffn. ex E. Fourn.) Copel.

Características generales de la Familia Gleicheniaceae (Polypodiopsida)

Los miembros de la familia Gleicheniaceae son plantas terrestres con rizoma largamente rastrero, peloso o escamoso; tienen hojas monomorfas, trepadoras y bifurcadas pseudodicotómicamente, con una yema latente en la bifurcación; su pecíolo es continuo con el tallo y presenta un haz vascular que aparece en forma de “C” en sección transversal con márgenes incurvados (PPGI, 2016); la lámina tienen pinnas opuestas, 1-4-bifurcadas; puede

tener soros dorsales de 2 a 20 esporangios sin indusios; los esporangios con anillo oblicuo completo; el pedículo esporangial tiene numerosas hileras de células; finalmente, las esporas pueden ser monoletes o triletes psiladas (Moran, 1995).

Estos helechos crecen típicamente en hábitats abiertos como orillas de caminos en los trópicos y subtropicos. La manera discontinua en que crece la hoja la adapta particularmente bien para trepar por la vegetación circundante (Moran, 1995).

De acuerdo con el criterio de clasificación de Smith *et al.* (2006), el cual se basa en datos morfológicos y moleculares, Gleicheniaceae constituye una familia pantropical monofilética que a nivel mundial se compone por seis géneros y aproximadamente 157 especies. Los géneros son: *Sticherus* C. Presl (95 sp.), *Gleichenia* Sm. (15 sp.), *Dicranopteris* Bernh. (20 sp.), *Diplopterygium* (Diels) Nakai (25 sp.), *Gleichenella* Ching y *Stromatopteris* Mett., ambas monotípicas (PPGI, 2016).

Sticherus es el género más abundante de Gleicheniaceae, pero, los estudios morfológicos y anatómicos que lo respaldan taxonómicamente son escasos. Entre los trabajos relevantes está el de Gonzales (2003), quien hizo una revisión taxonómica de varias especies de *Sticherus* del neotrópico y propuso cambios nomenclaturales para algunas especies. Sin embargo, el trabajo quedó con varios problemas taxonómicos sin resolver debido a que es un género bastante complicado en su morfología y anatomía, además de ser el más abundante en especies.

Los análisis moleculares realizados por Schuettpelz & Pryer (2007) mostraron que *Sticherus* está cercanamente emparentado con *Gleichenia* y *Stromatopteris*. Así mismo, existe literatura que menciona el uso de algunas especies de *Sticherus* con fines medicinales, ya que

presentan cualidades digestivas y afrodisiacas (Looser & Rodríguez, 2004 y Rodríguez *et al.* 2009).

Con base en la información se consideró relevante realizar un estudio amplio de las especies *Sticherus bifidus* y *S. palmatus*, con el fin de conocer más acerca de la estructura, composición y presencia de metabolitos secundarios que presentarán actividad antioxidante.

Género *Sticherus* C. Presl.

Las especies de *Sticherus* presentan rizomas simples o ramificados, largamente rastreros, escamosos, glabrescentes, pardos (en varias tonalidades que van de rojizos a oscuros), protostélicos; las escamas del rizoma son lanceoladas, peltadas, con un margen ciliado y pardas. Las hojas presentan crecimiento indeterminado y pueden medir varios metros de largo, además de ser erectas o escandentes; los pecíolos tienen forma cilíndrica con escamas en la base, lustrosos y lisos; el raquis y ramas accesorias están ausentes; pueden presentar yemas prolíferas o no las cuales están cubiertas por escamas y con 2 pseudoestípulas en su base; las pinnas se encuentran bifurcadas; las últimas ramas son largamente lanceoladas; los segmentos pueden ser lineares a lanceolados, con o sin escamas sobre la vena media en la superficie abaxial, por lo general glabros adaxialmente; sus venillas están una vez bifurcadas y son catádromas. Sus soros pueden ser inframedios, medios o supramedios, redondeados y con un receptáculo ligeramente prominente, sin parafisos. Los esporangios se encuentran agrupados de 3 a 5 (6) en cada soro, son globosos o piriformes, sésiles, con anillo oblicuo y sin parafisos ni escamas; las esporas son monoletes, reniformes con perisporio ligeramente rugulado y diminutamente foraminado (Velázquez-Montes, 2012).

Las especies de *Sticherus* se ubican, por lo general, en trópicos o regiones pantropicales y australes. En los países, principalmente de América central, viven 40 especies (Velázquez-Montes, 2012). En México se encuentran 4 géneros con siete especies en total: *Dicranopteris* (1 sp.), *Diplopterygium* (1 sp.), *Gleichenella* (1 sp.) y *Sticherus* (4 sp.) (Mickel & Smith, 2004). *Sticherus bifidus* y *S. palmatus*, se distribuyen en los estados de Chiapas, Guerrero, Hidalgo, Oaxaca, Puebla y Veracruz. Sin embargo, *S. bifidus*, también se localiza en Jalisco, Estado de México y Tabasco (Velázquez-Montes, 2012).

Las especies de este género se pueden encontrar en altitudes desde 900 a 2800 m en bosques mesófilos de montaña, bosques *Quercus-Pinus*, bosques de coníferas (*Abies-Pinus*) y bosques tropicales caducifolios. Así mismo, estas crecen en vegetación riparia y sobre suelos arcillosos ricos en humus y, generalmente, se les encuentra en sitios expuestos o sombreados y húmedos, cerca de cañadas a orillas de arroyos, taludes y en cortes de caminos (Velázquez-Montes, 2012).

De acuerdo con Velázquez-Montes (2012), en el estado de Guerrero, *S. bifidus* es fértil durante todo el año, mientras que *S. palmatus*, se encuentra fértil en los meses de junio a agosto. En el estado de Puebla ambas especies son fértiles durante los meses de abril a julio.

Literatura citada

- AGUILAR-PÉREZ C., PACHECO L. & ZELAYA-MOLINA L. 1994. Estudio anatómico de *Diplazium plantaginifolium* (L.) Urban, *D. ternatum* y *D. striatum* (L.) Presl. In VII Congreso Latinoamericano de Botánica. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina. 903 pp.
- ANDERSEN E.O. & OLLGAARD B. 1996. Una nota sobre algunos términos morfológicos de la hoja en las Gleicheniaceae. *Diario del helecho americano*. 86(2):52-57.
- ASANZA M., INCA J. & NEILL D. 2008. Plantas Útiles del Nororiente Ecuatoriano en el Área de Influencia de Petroecuador: Kichwa, Secoya, Siona, Shuar, Waorani. PETROECUADOR, Corporación Botánica Ecuadendron, Missouri Botanical Garden, Escuela de Biología de la Universidad Central del Ecuador, Quito.
- BOODLE L.A. 1901. Comparative Anatomy of the Hymenophyllaceae, Schizaeaceae and Gleicheniaceae. On the Anatomy of the Gleicheniaceae. *Annals of Botany*, 15(58):359-421.
- BUDOWSKI G. 1985. La conservación como instrumento para el desarrollo. Editorial Universidad Estatal a Distancia. San José, Costa Rica. 408 pp.
- CABRERA M.J.L. 2014. Determinación de metabolitos secundarios en tres Pteridofitos, plantas de interés medicinal. Tesis para obtener el Título de Biólogo. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas. Lima, Perú. 47 pp.
- COMISIÓN NACIONAL PARA EL CONOCIMIENTO Y USO DE LA BIODIVERSIDAD "CONABIO". 2019. México, país de las maravillas. <https://www.gob.mx/conabio>.
- DE BRITTO A.J., GRACELIN D.H.S. & KUMAR P.B.J.R. 2012. Phytochemical studies on five medicinal ferns collected from Southern Western Ghats, Tamilnadu. *Asian Pacific of Tropical Biomedicine* 2(2):536-538.

- DE LA SOTA E.R. 1977. Flora de la provincia de Jujuy. Parte II. Pteridophyta. Colección Científica del INTA. Tomo XIII: 275 pp.
- ESCÁMEZ P.A.M. 1989. Los helechos: elementos esenciales en la conservación de la flora. Revista Centro Asociado de la UNED de Melilla. 13:79-118.
- GONZALES R.M.J. 2003. Una revisión Taxonómica del Género *Sticherus* (Gleicheniaceae–Pteridophyta) en los Neotrópicos. Tesis para Doctorado de las Facultades de Matemáticas y Ciencias Naturales en la Universidad Georg-August, Goettingen. 182 pp.
- GUANTAY M.E. & HERNÁNDEZ M. 1990. Estudio morfoanatómico de las especies del género *Elaphoglossum* Schott de Tucumán. Lilloa, 38:73-84.
- GUDIÉL C.L.A. 2009. Evaluación fitoquímica y actividad antioxidante de *Polypodium triseriale* Sw. (calahuala). Tesis para Título de Química Farmacéutica. Guatemala. 86 pp.
- HERNÁNDEZ C.R.K. & NELSON S.C.H. 2007. Etnobotánica de los Helechos de Honduras. Ceiba, 48(1-2):1-10.
- HERNÁNDEZ V., TERRAZAS T. & ÁNGELES G. 2006. Anatomía de seis especies de *Dryopteris* en México. Revista de Biología Tropical, 54:1157-1169.
- HERRERA M.C.M. 1993. Anatomía de dos especies de *Cheilanthes* Swartz. Tesis de Maestría, Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 107 pp.
- HO R., TEAI T., BIANCHINI J.P., LAFONT R. & RAHARIVELOMANANA P. 2010. Capítulo 23: Helechos: de usos tradicionales al desarrollo farmacéuticos e identificación química de principios activos.
- JAIME S.G., BARBOZA G. & VATTUONE M.A. 2007. Sobre los caracteres foliares diagnósticos de *Microgramma squamulosa* (Kaulf.). Boletín Latinoamericano de Plantas Médicas Aromáticas del Caribe, 6(5):195-196.
- JONES D.L. 1987. Introduction to ferns. Their structure, biology, importance, cultivation and propagation. Encyclopaedia of Ferns. An Etnobiology Lothian Publishing Company PTY LTD. Melbourne, Sydney, Auckland. 5:2005-2007. 348 pp.

- KRAMER K.U. 1990. Gleicheniaceae. In: K.U. Kramer & P.S. Green (volume editors). Pteridophytes and Gymnosperms. In: K. Kubitzki (Ed. Gral.). The Families and Genera of Vascular Plants. Springer-Verlag, Berlin.1:145-152.
- LIN B.L. & DEVOL C.D. 1977. The use of stipe characters in fern taxonomy I. *Taiwania* 22:91-99.
- LIN B.L. & DEVOL C.D. 1978. The use of stipe characters in fern taxonomy II. *Taiwania* 23:77-95.
- LUCANSKY T.W. 1981. Cadena de Helechos de Florida. *Diario del Helecho Americano* 71:101-108.
- MENDOZA-MOCIÑO S., PACHECO L., ZELAYA-MOLINA L., & AGUILAR-PÉREZ C. 1998. Anatomía de varias especies del género *Diplazium* Swartz. In VII Congreso Latinoamericano de Botánica. XIV Congreso Mexicano de Botánica, Diversidad y Conservación de los Recursos Vegetales en Latinoamérica. México, DF, México. 4 pp.
- MICKEL J.T. & SMITH A.R. 2004. Los pteridofitos de México. *Memorias del Jardín Botánico de Nueva York* 88: 1-1054.
- MORAN R.C. 1987. Monograph of the neotropical fern genus *Polybotrya* (Dryopteridaceae). III. *Illinois Natural History Survey Bulletin*, 34:1-138.
- MORAN R.C. 1995. Gleicheniaceae. En: Moran R.C. & Riba, R. (eds. del volumen) *Flora Mesoamericana 1. Psilotaceae a Salviniaceae*. Instituto de Biología. UNAM, México. Missouri Botanical Garden. Museo de Historia Natural (London). 470 pp.
- MORAN R. C. 2009. Géneros Neotropicales de Helechos Licofitos: Una guía para Estudiantes. Organización para Estudios Tropicales. San José, Costa Rica. 406 pp.
- MUÑIZ D. DE L. M. E., MENDOZA R. A. & PÉREZ G. B. 2007. Usos de los helechos y plantas afines. *Etnobiología*, 5:117-125.
- MURILLO M. T. 1983. Usos de los helechos en Suramérica con especial referencia a Colombia. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Bogotá, Colombia, D.E.
- NEIRA D.A. & HERNÁNDEZ M.A. 2018. Nociones generales de helechos. *Universo Tacumo*. 18: s/p.

- OGURA, Y. 1972. Comparative anatomy of vegetative organs of the pteridophytes. 2nd. Ed. Gebrüder Borntraeger. Berlin, Germany. 502 pp.
- PACHECO L. & MORAN R.C. 1999. Monograph of the neotropical species of *Callipteris* with anastomosing veins (Woodsiaceae). *Brittonia*, 51:343-388.
- PACHECO L., MENDOZA-MOCIÑO S., SILVA-PUENTE D. & GRANADOS B. 2003. Estructuras mucilaginosas en helechos y plantas afines con énfasis en el género *Diplazium* (Woodsiaceae). *ContactoS*, 48:56-60.
- PASTENE E.R., WILKOMIRSKY T., BOCAEZ G., HAVEL J., PERIC I., VEGA M., GONZÁLEZ M. & ALDERETE J. 2001. Uso de espectroscopía de rnm y maldi-tof ms en la elucidación estructural de flavonoides antioxidantes provenientes de la planta medicinal chilena *Cheilanthes glauca* (Cav.) Mett. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química*, 46 (4):449-457.
- PÉREZ GARCÍA M., PÉREZ GARCÍA B. & RIBA R. 1995. Anatomía foliar de especies mexicanas de *Pleopeltis* (Filicales: Polypodiaceae). In XIII Congreso Mexicano de Botánica, Diversidad vegetal de México. Cuernavaca, Morelos, México. 7 pp.
- PTERIDOPHYTE PHYLOGENY GROUP I (PPGI). 2016. A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. *Journal Systematics and Evolution*, 54 (6):563–603.
- RANKER T.A. & SHAW S.W. 2011. New and Improved Leaf Terminology for Gleicheniaceae. *American Fern Journal*, 101(2):117–124.
- RAVEN P.H., EVERT R.F. & EICHORN S.E. 1992. *Biología de las plantas*. Editorial Reverté. España.
- RENZAGLIA K.S., DUFF R.J., NICKRENT D.L. & GARBARY D.J. 2000. Vegetative and reproductive innovations of early land plants; implications for a unified phylogeny. *Philosophical Transactions of the Royal Society Botanica*, 355:769–793.
- RIBA R. 1967. Monographic review of the complex *Alsophila swartziana* Martius (Cyatheaceae). *Anales Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México*. 38. Serie Botánica, 1:61-100.

- RIBA R. 1998. Pteridofitas mexicanas: distribución y endemismo. En: Ramamoorthy T. P., Bye, R., Lot, A. & Fa, J. (eds). Diversidad biológica de México: orígenes y distribución. Instituto de Biología, UNAM, México; D.F. 369-384 pp.
- ROBERT M.L., REYES J. & LOYOLA V.M. 1991. Biosíntesis y bioconservación de metabolitos secundarios por células cultivadas *in vitro*. Cultivo de tejidos en la agricultura. CIAT. Cali. 211-238 pp.
- SAIKI Y., MATSUMOTO M. & MITSUDA Y. 1988. Vascular patterns in the petiole of Aspleniaceae. Proceeding of the ISSP: 273-278 pp.
- SARUKHÁN J., SOBERÓN J. & LARSON-GUERRA J. 1996. Biological Conservations in a High Betadiversity Country. En Castri F. Di. & Younés T. (Eds.), Biodiversity Science and Development: Towards a New Partnership. Paris, France: CAB International-IUBS. 246–263 pp.
- SCHNEIDER E.L. & CARLQUIST S. 1998b. SEM studies on vessels in ferns 9. *Dicranopteris* (Gleicheniaceae) and vessel patterns in leptosporangiate ferns. American Journal Botany, 85:1028-1032.
- SCHUETTPELZ E. & PRYER K.M. 2007. Fern phylogeny inferred from 400 leptosporangiate species and three plastid genes. Taxon, 56(4):1037-1050.
- SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES (SEMARNAT). 2009. Biodiversidad. Retrieved from information ambiental /Documents /pdf/cap_4_biodiversidad.
- SEN U. & MITTRA D. 1966. The anatomy of *Cystodium*. American Fern Journal, 56:97-101.
- SILVA-PUENTE, D., PACHECO L. & MENDOZA S. 2001. Morfología y anatomía foliar de los géneros *Diplazium* y *Callipteris* (Woodsiaceae), CD-ROM. In XV Congreso Mexicano de Botánica. Querétaro, México.
- SMITH A.R., PRYER K.M., SCHUETTPELZ E., KORALL P., SCHNEIDER H. & WOLF P.G. 2006. A classification for extant ferns. Taxon, 55(3):705-731.

- TEJERO-DÍEZ J.D., AGUILAR-RODRÍGUEZ S., TERRAZAS T. & PACHECO L. 2010. Arquitectura y anatomía foliar comparada del complejo *Polypodium plesiosorum sensu* Moran (Polypodiaceae). *Revista de Biología Tropical*, 58 (3):955-976.
- TOMŠÍK P. 2013. Helechos y licopodios: un tesoro potencial de agentes anticancerígenos, pero también un peligro cancerígeno. *Investigación en Fitoterapia*, 28 (6):798-810.
- ULLOA U.E., ACEVEDO R.P., BECK S., BELGRANO M. J., & JØRGENSEN P. M. 2017. An integrative assessment of the vascular plant species of the Americas. *Science*, 358:614-1617.
- UMIKALSOM Y. 1992. Anatomical studies of the Malaysian Aspleniaceae and Athyriaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 110:111-119.
- VELASCO R.C. 1971. Estudio anatómico comparativo de dos especies del género *Marattia* (Marattiales, Pteridophyta). Tesis profesional, Universidad Nacional Autónoma de México, México, DF, México. 63 pp.
- VELÁZQUEZ-MONTES E. 1983. Anatomía comparada de dos especies del género *Tectaria* Cav. (Filicales, Pteridophyta). Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, México, DF, México. 62 pp.
- VELÁZQUEZ-MONTES. E. 2012. *Gleicheniaceae* (Pteridophyta). México. *Flora de Guerrero*, 53.
- VELÁZQUEZ-MORALES E. 2021. Filogenia y taxonomía de las especies mexicanas del género *Tectaria* (Tectariaceae-Polypodiopsida) basada en caracteres morfológicos. Tesis de Maestría en Biología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. 213 pp.
- VILLASEÑOR J.L. 2016. Lista de las plantas vasculares nativas de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87(3):559- 902.
- WHITE R.A. 1974. Comparative anatomical studies of the ferns. *The Annals of the Missouri Botanical Garden*, 61:379-387.
- WALLACE J.W., POZNER R.S. & GÓMEZ L.D. 1983. A phytochemical approach to the *Gleicheniaceae*. *American Journal Botanical*, 70:207-211.

- ZAVARO P.C.A., SÁNCHEZ C. & BOZÁN J. 1995. Anatomía de las especies cubanas del género *Thelypteris* Schmidel, subgénero *Cyclosorus* Morton. *Fontqueria*, 42:195-198.
- ZHOU T.S., YE W.C., WANG Z.T., CHE C.T., ZHOU R.H. & XU G.J., XU, L.S. 1998. β -carboline alkaloids from *Hypodematium squamuloso-pilosum*. *Phytochem*, 49(6):1807-1809.
- ZLOTNIK E.A. 1991. Anatomía de Polypodiaceae s. str. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, México, DF, México. 103-109 pp.

Justificación

El escaso conocimiento en la morfología, anatomía y fitoquímica de las especies vegetales que viven en algunas regiones de México, es una necesidad urgente por atender. Varios de los trabajos realizados en helechos están incompletos, en el sentido de que falta realizar estudios a fondo en anatomía, histoquímica, fitoquímica y posible aplicación farmacológica.

Dado el problema para el reconocimiento de las especies de la familia Gleicheniaceae, en especial del género *Sticherus* que tiene importancia biológica y ecológica, se considera relevante su estudio anatómico. Así mismo, es importante incorporar estudios histoquímicos y fitoquímicos, que ayuden a detectar la presencia de contenidos celulares y metabolitos secundarios en los diferentes órganos de las plantas y cuantificar aquellos asociados a la actividad antioxidante.

Estos estudios permitirán actualizar y complementar la información que ya se tiene sobre la estructura y composición de las especies que forman la familia Gleicheniaceae y, con ello, darles un mejor uso y aplicación.

Hipótesis

El género *Sticherus* es complejo en cuanto a su morfología y anatomía, por lo que la descripción de la anatomía de las especies *Sticherus bifidus* (Willd.) Ching y *S. palmatus* (W. Schaffn. ex E. Fourn.) Copel., proporcionará información valiosa para definir más acertadamente la taxonomía de este género.

Por otro lado, si las especies *S. bifidus* y *S. palmatus* presentan metabolitos secundarios con actividad antioxidante, los estudios histoquímicos y espectrofotométricos demostraran que contienen dichos metabolitos y permitirán conocer la especie y el órgano que los producen en mayor cantidad.

Objetivos

Objetivo general

Analizar los aspectos anatómicos, histoquímicos y propiedades antioxidantes de *Sticherus bifidus* (Willd.) Ching y *S. palmatus* (W. Schaffn. ex E. Fourn.) Copel.

Objetivos específicos

1. Estudiar la anatomía comparada de *Sticherus bifidus* y *S. palmatus*, para poder definir de manera más acertada su taxonomía.
2. Analizar histoquímicamente las hojas fértiles y estériles y determinar la presencia de metabolitos secundarios.
3. Realizar un estudio fitoquímico preliminar y cuantificar algunos de los metabolitos de naturaleza polifenólica y flavonoide, presentes.
4. Evaluar la actividad antioxidante *in vitro* de *S. bifidus* y *S. palmatu*.

CAPÍTULO I. Anatomía e Histoquímica de *Sticherus bifidus* (Willd.) Ching y *S. palmatus* (W. Schaffn. ex E. Fourn.) Copel.

Introducción

La taxonomía de Gleicheniaceae ha sido muy controvertida, particularmente en lo que se refiere a la circunscripción de los géneros, subgéneros o subfamilias. Actualmente, la familia cuenta con seis géneros: *Sticherus* C. Presl, *Gleichenia* Sm., *Dicranopteris* Bernh., *Diplopterygium* (Diels) Nakai, *Gleichenella* Ching, y *Stromatopteris* Mett. (PPGI, 2016).

Los estudios anatómicos para la familia Gleicheniaceae son escasos, uno de los trabajos más amplios es el de Boodle (1901), quién intentó relacionar a esta familia con las Hymenophyllaceae y Schizaeaceae; además, propuso a *Lygodium* (Schizaeaceae) como el tipo más primitivo dentro de estas tres familias. Sin embargo, es literatura muy antigua y la clasificación taxonómica de esta familia es diferente en la actualidad.

Boodle (1901) analizó el rizoma y pecíolo de varias especies de Gleicheniaceae: *Pteris platyzomopsis* Christenh. & H. Schneid (= *Platyzoma microphyllum* R.Br.); *Stromatopteris moniliformis* Mett. (= *Gleichenia moniliformis* (Mett.) T. Moore); *Gleichenia polypodioides* (L.) Sm. (= *Calymella polypodioides* (L.) Ching, *G. argentea* Kaulf, *G. glauca* Sw., *Mertensia coeruleoglauca* Poir., *Onoclea polypodioides* L.); *G. circinata* Sw.; *G. boryi* Kunze (= *Rouxopteris boryi* (Kunze) Hong M. Liu); *G. dicarpa* R. Br.; *Diplopterygium longissimum* (Blume) Nakai (= *G. longissima* Blume); *Sticherus flabellatus* (R. Br.) San Juan (= *G. flabellata* R. Br.); *S. cunninghamii* (Hook.) Ching (= *G. cunninghamii* Gancho); *S. squamulosus* (Desv.) Nakai var. *squamulosus* (= *G. pedalis* (Kaulf.) Spreng.); *Gleichenia*

cryptocarpa Hook (= *Sticherus cryptocarpus* (Hook.) Ching var. *looserianus* Kunkel); *S. revolutus* (Kunth) Ching (= *G. revoluta* Kunth); *S. simplex* (Desv.) Ching (= *Gleichenia simplex* (Desv.) Hook.); *S. bifidus* (Willd.) Ching (= *Gleichenia pubescens* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Kunth); *S. flagellaris* (Willd.) Ching (= *G. flagellaris* (Willd.) Spreng.); *S. vestitus* (Blume) Ching (= *G. vestita* Blume); *Gleichenella pectinata* (Willd.) Ching (= *Gleichenia pectinata* (Willd.) C. Presl, *Mertensia pectinata* Willd., *Dicranopteris pectinata* (Willd.) Underw., *M. brasiliana* Desv., *M. glaucescens* Humb. & Bonpl. ex Willd., *M. emarginata* Raddi, *G. dichotoma*. El autor menciona la presencia de dos estructuras estelares en el tallo: protostela, presente en casi todas las especies de la familia y solenostela, encontrada únicamente en la especie *Gleichenia pectinata* (= *Gleichenella pectinata* (Willd.) Ching). La mayoría de las especies presentaron xilema mesarco con distintos grupos de protoxilema en espiral y traqueidas abundantemente esclerificadas; así mismo, el pecíolo presentó un haz redondeado y arqueado, rodeado por un periciclo esclerificado.

Además, Boodle (1901) encontró que todas las especies estudiadas tienen una sola traza foliar que ingresa al pecíolo y, generalmente, se divide en tres. El xilema del pecíolo suele tener la forma de un arco con extremos curvados y se encuentra una isla nodal en el xilema de la estela, ésta contiene floema y esclerénquima el cual está rodeado por una endodermis. Solo en *G. pectinata* encontró dos islas nodales, pero algunos de sus elementos constitutivos pueden continuar hasta el siguiente nodo. Las raíces son en su mayoría tetrarcas, mientras que las raicillas pueden ser triarcas.

Ogura (1972) caracterizó a Gleicheniaceae por presentar protostelas vitalizadas, es decir, que las paredes celulares del xilema están débilmente lignificadas y dan la apariencia de ser una médula.

Otro estudio es el realizado por Schneider & Carlquist (1998b) donde mencionan que las raíces y rizomas de *Dicranopteris linearis* presentan vasos con numerosas placas perforadas y que aparentemente carecen de traqueidas. Además, observaron que los vasos presentes en las raíces tienen placas perforadas más desarrolladas que los tallos. Este patrón también fue visto en otros helechos como *Phlebodium* y *Polystichum* (Schneider & Carlquist, 1997). Debido a este hallazgo, los autores sugieren que la presencia de vasos puede ser un indicador de que la posición filogenética de esta familia es poco confiable.

Con base en lo anterior, se consideró importante actualizar la información y describir detalladamente los caracteres anatómicos e histoquímicos de cada uno de los órganos de las especies *Sticherus bifidus* (Willd.) Ching y *S. palmatus* (W. Schaffn. ex E. Fourn.) Copel., con la finalidad de contribuir a la taxonomía del género.

Materiales y Métodos

Área de estudio. El material biológico se recolectó en el Municipio de Tlatlahuiquitepec, Puebla, el cual que cuenta con una superficie de 294.15 Km² y se localiza en la parte noreste, entre las coordenadas (19° 36' 24" y 20° 03' 18" N y 97° 14' 42" y 97° 28' 06" O). En el municipio confluyen tres regiones morfológicas: el extremo noreste se ubica en la porción sur oriental del declive del Golfo; la parte central de la Sierra Norte y el declive austral de la Sierra de Puebla. El clima característico es semifrío subhúmedo con lluvias en verano (INAFED, 2021).

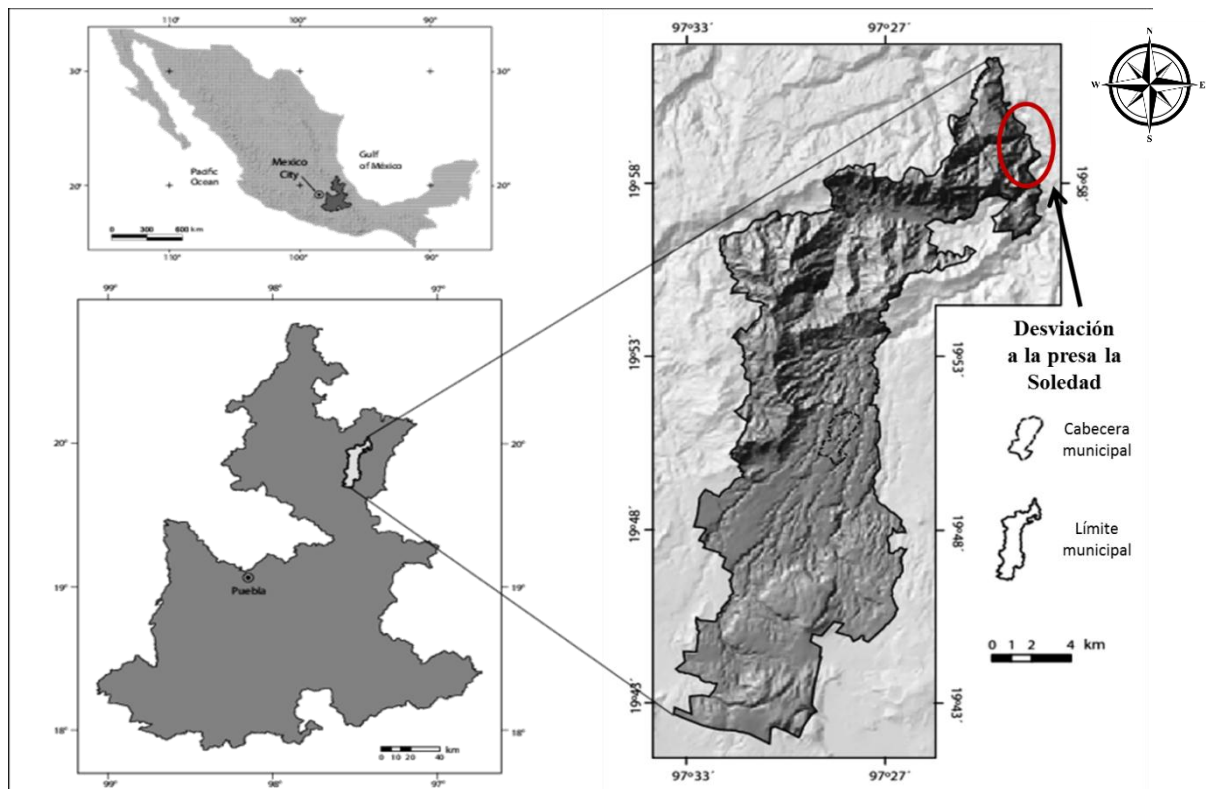


Figura 1. Ubicación del municipio de Tlatlahuiquitepec, Sierra Norte de Puebla. (Mapa tomado y modificado de Borja-Baeza & Alcántara-Ayala, 2010).

Recolección de material. El material biológico se recolectó en un bosque mesófilo de montaña, sobre cortes de camino expuestos, con suelos arcillosos con abundante *humus*, ubicados sobre la carretera hacia la presa la Soledad, a una altitud de entre 700-1200 m. El muestreo se realizó durante los meses de abril y julio de 2021, tratando de abarcar la fenología de las especies en estudio (anexos). Se seleccionaron de 10-15 individuos por especie de los cuales se eligieron 5 individuos por especie y se separaron en: raíz, rizoma y hoja; se fijaron en alcohol al 70% para su análisis anatómico e histoquímico.

Un individuo por especie se recolectó de acuerdo con Lorea y Riba (1990), como ejemplares de referencia, estos se identificaron a nivel de género y especie de acuerdo con Velázquez-Montes (2012); una vez etiquetados se montaron e incorporaron al Herbario Metropolitano UAMIZ.

Estudio anatómico. Se realizaron cortes histológicos de los cinco individuos por especie fijados en etanol al 70%, para esto se tomaron segmentos de planta localizados en la parte media de los diferentes órganos, evitando tomar tejido muy viejo y dañado y/o tejido joven y poco desarrollado. Se analizaron solo las raíces primarias, los segmentos localizados entre las bifurcaciones del rizoma y la hoja se dividió en tres partes: pecíolo, raquis y segmento foliar.

Posteriormente, se realizaron cortes transversales de los diferentes órganos con micrótopo de mano (100 μ m de grosor). Una vez obtenidos los cortes, se deshidrataron en concentraciones graduales de alcohol etílico (50, 60, 70, 80, 95, 100 %) y xilol; se tiñeron con safranina-verde rápido y montaron en resina sintética (Sass, 1961).

Dado que el rizoma y el pecíolo de la hoja son órganos duros, éstos se colocaron en GAA (Glicerina-Etanol-Agua 1:1:1) por 2 meses y posteriormente en agua caliente a 40°C por

30 min, para ablandar el material. Después, se realizaron cortes transversales y se siguió el mismo procedimiento para el resto de los órganos.

Para observar los elementos conductores se realizaron cortes longitudinales a mano alzada del pecíolo. Una vez obtenidos los cortes, se deshidrataron en concentraciones graduales de alcohol etílico (50, 60, 70, 80, 95, 100 %) y xilol; se tiñeron con azul de toluidina y montaron en resina sintética (Sass, 1961).

Todas las preparaciones fijas de los cortes, transversales y longitudinales, se observaron en un microscopio óptico Axiostar plus, Carl Zeiss y se tomaron fotografías de los diferentes tejidos que componen los órganos de las especies analizadas, con una cámara Canon EOS Rebel T6. La descripción de los tejidos se hizo de acuerdo con Evert (2006).

Para observar los complejos estomáticos se tomaron segmentos foliares de ambas especies del material fijado en etanol al 70 %, y se diafanizaron de acuerdo con el protocolo propuesto por Johansen (1940). Los segmentos foliares se sumergieron en una solución al 6 % de hipoclorito de sodio, hasta alcanzar su completa decoloración (10-15 h). Los segmentos foliares que no se decoloraron completamente se colocaron en una solución de KOH al 6% hasta que se clarificaron por completo (12-24 h). Posteriormente, las muestras se enjuagaron con agua destilada y se tiñeron con safranina alcohólica. Finalmente, los segmentos foliares se montaron con resina sintética para su posterior observación. La descripción de los complejos estomáticos está de acuerdo con Van Cotthem (1970 a, b; 1973).

Estudio Histoquímico. Del material fijado en etanol al 70% se hicieron cortes transversales de raíz, rizoma y hoja (pecíolo, raquis y último segmento foliar) con un micrótopo

de mano (100 µm de grosor) y se tiñeron con diferentes colorantes y reactivos para detectar contenidos celulares.

Las pruebas histoquímicas que se realizaron para localizar polisacáridos insolubles (PAS/HIO₄), lignina (fluoroglucina clorhídrica), lípidos (rojo oleoso), almidón (lugol) y proteínas (azul negro de Naftol). Los detalles de estas pruebas se pueden apreciar en los anexos (Krishnamurthy, 1988; Ruzin, 1999; López-Curto *et al.*, 2005). Los cortes de los diferentes tejidos de los órganos analizados en ambas especies, se observaron en un microscopio óptico Axiostar plus, Carl Zeiss y se tomaron fotografías con una cámara Canon EOS Rebel T6.

Resultados

La descripción anatómica de todos los órganos se presenta en orden a partir de la raíz hasta el segmento foliar.

Raíz: En ambas especies la raíz es tetraarca (figura 2 y figura 3 A-C); sin embargo, en *S. bifidus*, puede variar de diarca a tetraarca (figura 3 A-C). Así mismo, ambas especies presentan de 2-3 hileras de células de floema muy pequeñas e isodiamétricas, 1-2 hileras de células del periciclo y una endodermis con 1-2 hileras de células alargadas y engrosadas en las paredes radiales que rodearon por completo al haz vascular (figura 3 C).

Las especies se diferencian por el número de células de protoxilema en cada polo que para *S. bifidus* es de 2-4 y para *S. palmatus* es de 2-3; el número de células de metaxilema son de 5-6 y 2-3, respectivamente.

El córtex en *S. bifidus* presenta de 1-2 hileras de células engrosadas de colénquima con contenidos color amarillos y fibras de esclerénquima; mientras que en *S. palmatus* el córtex está constituido por 2-3 hileras de colénquima seguidas por 1-2 hileras de células parenquimatosas de paredes delgadas, ambos tejidos presentaron contenidos celulares de color amarillo (figura 3D). Finalmente, se observó una rizodermis engrosada en ambas especies (Figura 3 C-D).

Las pruebas histoquímicas realizadas en todos los órganos dieron positivo para ambas especies, excepto la de almidones. Los resultados se muestran en los anexos.

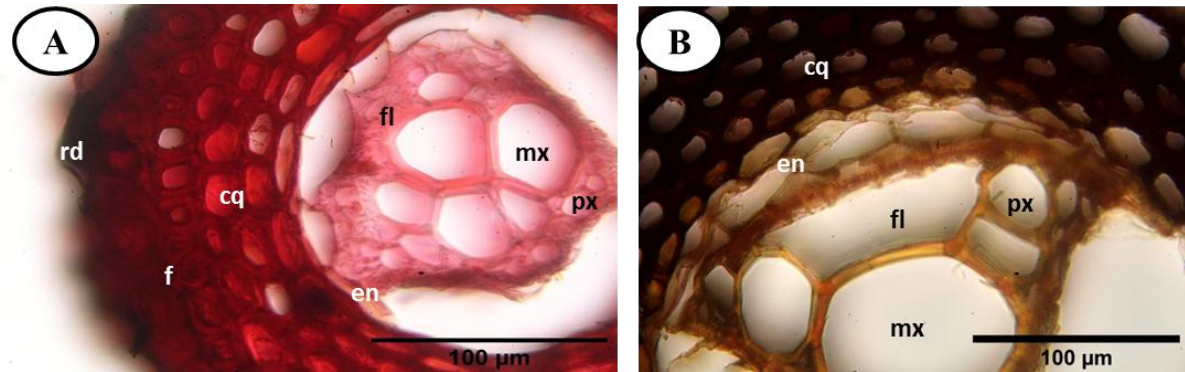


Figura 2. Corte transversal de raíz. A. *Sticherus bifidus*, tinción safranina-verde rápido; B. *S. palmatus*, tinción con lugol. Abreviaturas: **cq**=colénquima; **en**=endodermis; **f**=fibras; **fl**=floema; **mx**=metaxilema; **px**=protoxilema; **rd**=rizodermis.

En cuanto a los contenidos celulares, en ambas especies se observaron polisacáridos insolubles en la endodermis y en los elementos conductores, como se puede apreciar en *Sticherus bifidus* (figura 3 A). Así mismo, se observó la presencia de proteínas por la coloración azulácea obtenida en los elementos del xilema (figura 3 B). Las sustancias lipídicas en las células de la endodermis, periciclo y parte del floema se observaron en color rojo (figura 3 C). También en color rojo se tiñeron las fibras del esclerénquima que indican la presencia de lignina. En ninguna de las dos especies se apreció la presencia de gránulos de almidón de color púrpura en el córtex; sin embargo, sí se visualizaron contenidos de color amarillo (Figuras 3 D).

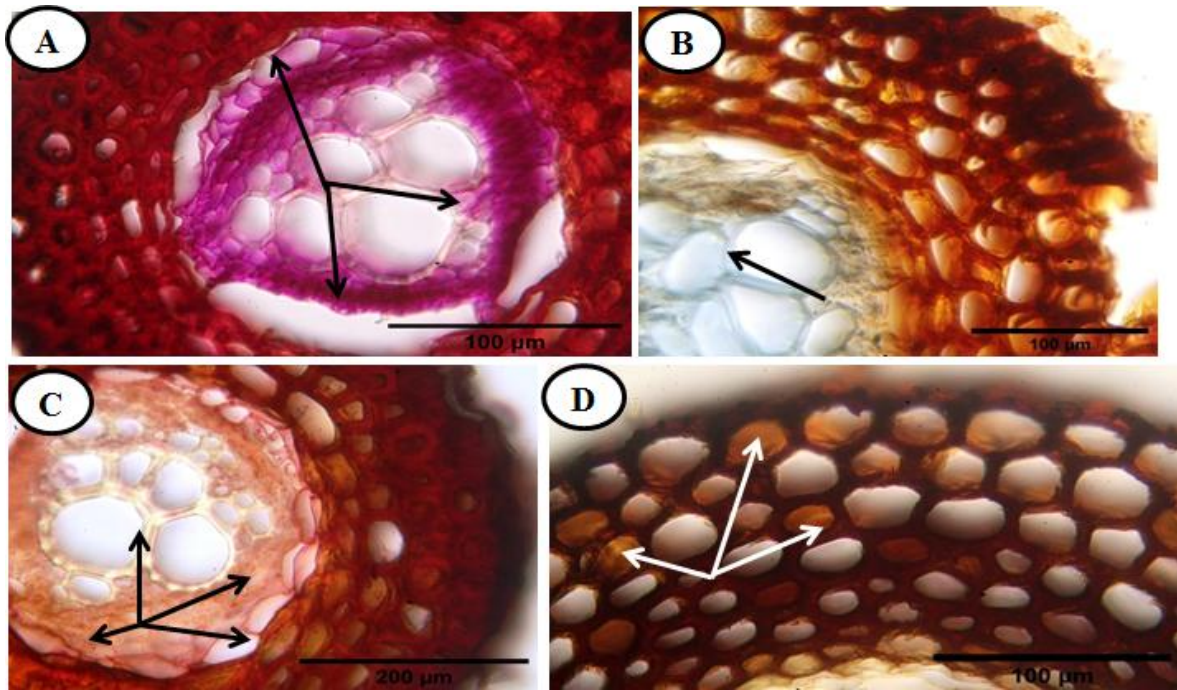


Figura 3. Pruebas histoquímicas en raíz de *Sticherus*. *S. bifidus* (A-C); *S. palmatus*: (D). A. Polisacáridos insolubles (PAS) (flechas); B. Azul negro de naftol, se indica con la flecha la presencia de proteínas; C. Rojo oleoso, presencia de lípidos en la endodermis, periciclo y floema (flechas); D. Lugol, no se observan granulos de almidón, pero sí ven contenidos color amarillo en células del córtex (flechas).

Rizoma: Las dos especies presentaron una estructura similar. En ambas especies se apreció protostela de tipo haplostélico (figuras 4 A-B y 5 A, E).

Del centro a la periferia, el tejido vascular está circunscrito dentro de una endodermis y formando un núcleo sólido. En el xilema, las traqueidas se encontraron mezcladas con células de parénquima pequeñas y de paredes delgadas y de 2-3 hileras de células de floema pequeñas e isodiamétricas. En seguida, se ubican de 1-2 hileras de células de periciclo y una hilera de células pequeñas que presentaron color oscuro que, por su ubicación se consideró una segunda endodermis, la cual presentó bandas de caspary. Nuevamente, se presentan de 4-5 hileras de

células de periciclo, y la primera endodermis con células isodiamétricas engrosadas en las paredes radiales. Cabe mencionar que la primera endodermis es la que esta ubicada como capa de células al interior del córtex y la segunda endodermis es la que queda cercana al tejido vascular y presenta células color pardo oscuro y bandas de caspary.

En *S. bifidus*, del centro a la periferia del rizoma, el córtex presentó de 8-10 hileras de células de colénquima con engrosamientos angulares y 18-20 hileras de células parenquimatosas isodiamétricas (figura 5 C). Por otro lado, *S. palmatus* presentó el mismo patrón que *S. bifidus* (figura 4 A-B) pero, difiere en el número de hileras celulares de estos tejidos, presentando 4-6 hileras de colénquima y 12-14 hileras de parénquima. Posteriormente, ambas especies presentaron 6 hileras de células isodiamétricas de colénquima, 5-6 hileras de fibras de esclerénquima y, finalmente, las células epidérmicas isodiamétricas con paredes ligeramente engrosadas (figuras 4 A-B y 5 C).

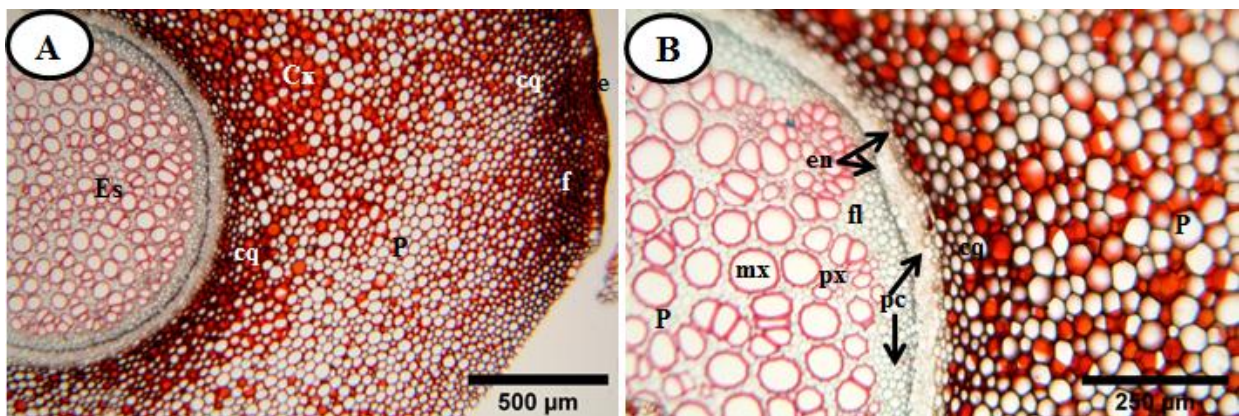


Figura 4. Corte transversal de rizoma de *Sticherus palmatus*. Tinción con safranina-verde rápido. A. Se muestra el rizoma completo, distinguiéndose el córtex y la estela; B. Se indican con flechas: la primera endodermis, nótese que presenta un color oscuro y bandas de caspary, la segunda endodermis y el periciclo después de cada endodermis. Abreviaturas: **cq**=colénquima; **Cx**=córtex; **e**=epidermis; **en**=endodermis; **Es**=estela; **f**=fibras (esclerénquima); **fl**=floema; **mx**=metaxilema; **P**=parénquima; **pc**=periciclo; **px**=protoxilema.

En las pruebas histoquímicas realizadas en el rizoma con safranina-verde rápido (para *S. palmatus*) y fluoroglucina clorhídrica (para ambas especies), las paredes secundarias engrosadas de las células del esclerénquima y xilema, se observaron de color rojo intenso (figura 4 A-B) y rojo cereza (figura 5 B y D) por la presencia de lignina.

En el rizoma de ambas especies, se observaron pequeños gránulos de almidón de color púrpura en el córtex (figura 5 A y C). En *S. bifidus* se encontraron en las células del parénquima cercanas a la estela y en aquellas células que dan hacia la periferia (Figura 5 A); mientras que en *S. palmatus*, se observaron en las células del parénquima que dan hacia la estela (cercanas al esclerénquima) (figura 5 C).

Los polisacáridos insolubles se observaron de color rosa-fiusha en ambas especies; para *S. bifidus*, los encontramos en todos los tejidos (imagen no mostrada); en *S. palmatus* se identificaron en las células del floema, periciclo y en las células parenquimatosas (figura 5 E). Los lípidos se observaron de color rojo en la capa que recubre la epidermis de ambas especies y en células de la endodermis y periciclo; mientras que las proteínas se tiñeron en las paredes de las fibras de esclerénquima y en mayor proporción en el xilema. En la figura 5 F se muestra la presencia de lípidos en *S. palmatus*.

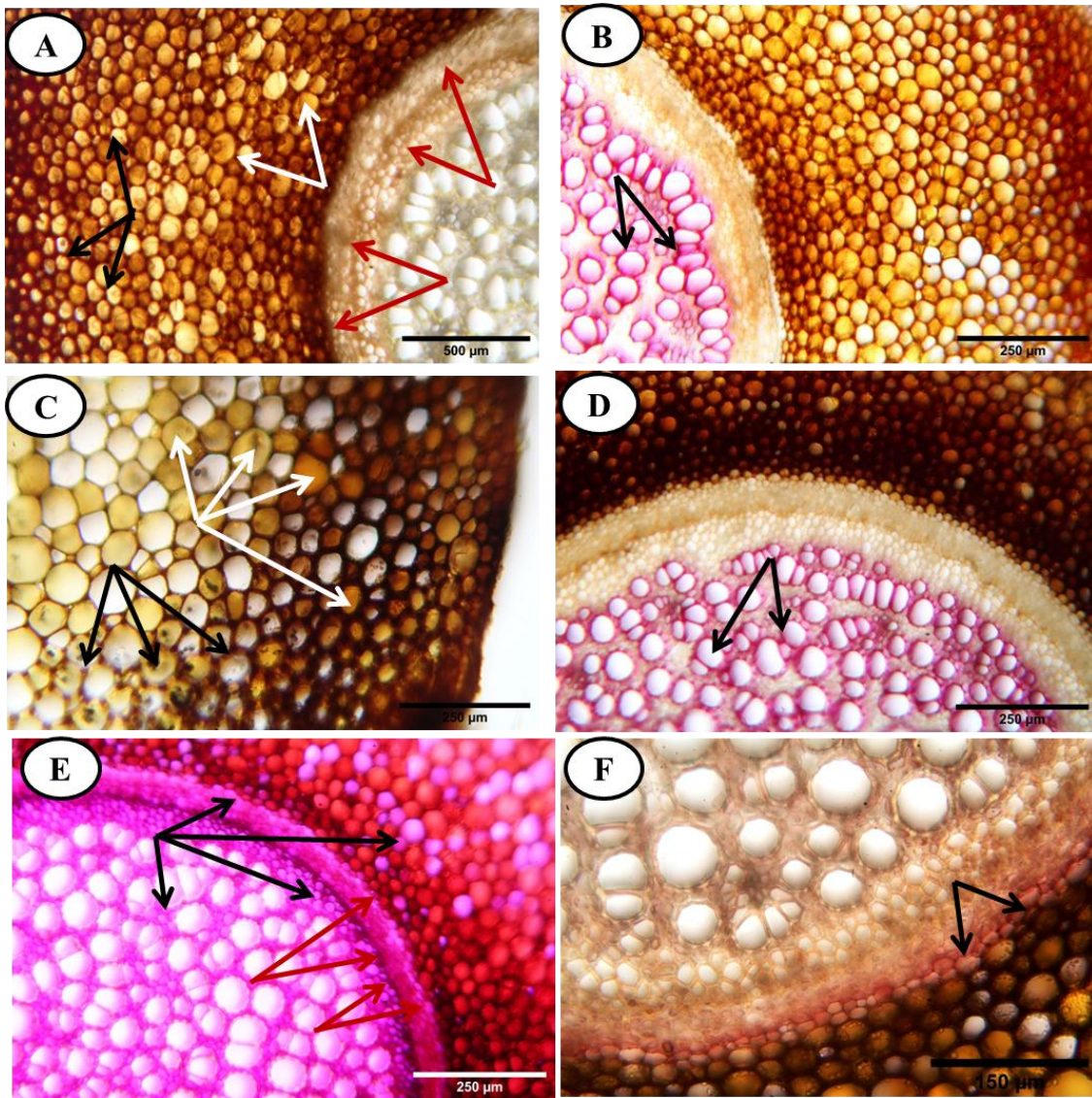


Figura 5. Pruebas histoquímicas del rizoma. *Sticherus bifidus* (A y B); *S. palmatus* (C, D, E y F). A y E. Muestran la haplostela en ambas especies, se indican con flechas rojas la primera y segunda endodermis y la ubicación del periciclo. A y C. Lugol, se indican con flechas negras los gránulos de almidón y con flechas blancas los contenidos color amarillo; B y D. Fluoroglucina clorhídrica, se indican con flechas negras las traqueidas teñidas en color rojo cereza; E. PAS, se observan los tejidos que contienen polisacáridos insolubles (flechas); F. Rojo oleoso, los lípidos de color rojo están indicados con las flechas.

Pecíolo: En el corte transversal de este órgano se encontraron diferencias mayores; en *S. bifidus* (figura 6 A), se observó una solenostela, el arreglo del xilema presentó forma de arco o “V” que termina en un gancho curvado hacia adentro, las células de metaxilema se distribuyeron a lo largo de toda la “V”, se observaron de 6-10 células de protoxilema distribuidos en la parte interna de la “V” al lado del metaxilema, quedando el xilema delimitado por capas de floema tanto externas como internas. Por otra parte, en *S. palmatus* (figura 6 B), presentó una protostela de tipo haplostélico.

Del centro a la periferia, el tejido vascular está circunscrito dentro de una endodermis y formando un núcleo sólido. En el xilema, las traqueidas se encontraron mezcladas con células de parénquima pequeñas y de paredes delgadas, seguidas de células de floema pequeñas e isodiamétricas. Posterior, en ambas especies, se observaron de 1-2 hileras de células de periciclo y de 1-2 hileras de células pequeñas alargadas correspondientes a la segunda endodermis, el color pardo oscuro indicó la presencia de bandas de caspary; se observaron de 1-2 hileras de células de periciclo seguidas de una hilera de células endodérmicas alargadas y engrosadas en las paredes radiales.

En *S. bifidus* (figura 7 A), el córtex presentó 2 hileras de células de colénquima con engrosamientos angulares y de 4-5 hileras de células de parénquima isodiamétricas, seguidas nuevamente de 3-4 hileras de células isodiamétricas de colénquima y de 4-6 hileras de fibras de esclerénquima. En *S. palmatus* (figura 7 D), el córtex muestra un patrón similar, excepto por el número de hileras celulares (de 7-8 hileras de células de colénquima, 18-20 hileras de células de parénquima y 13 hileras de colénquima y, no presenta fibras). La epidermis, en

ambas especies, mostró células isodiamétricas con una ligera capa de lípidos y paredes engrosadas (figura 7 H).

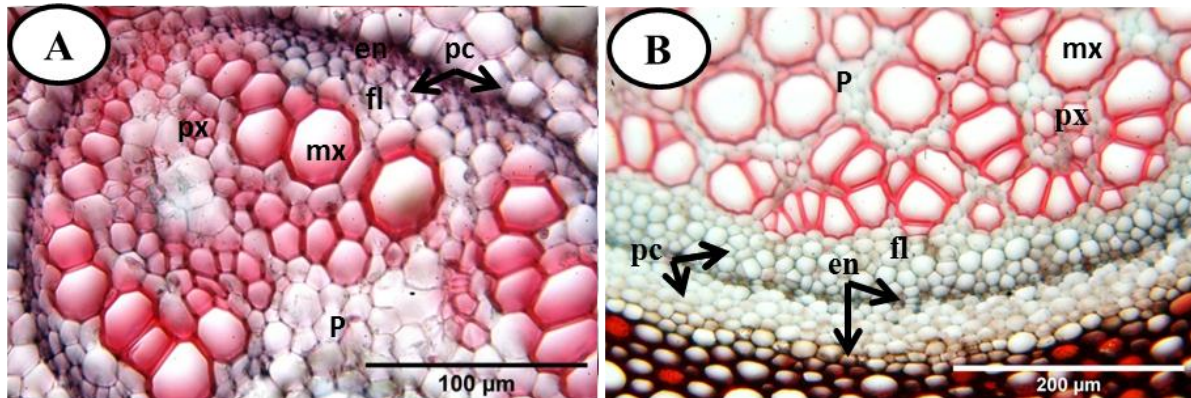


Figura 6. Corte transversal de pecíolo de *Sticherus bifidus* (A); *S. palmatus* (B). Tinción con safranina-verde rápido. A. Meristela de la Solenostela; B. Haplostela. Se indican con flechas la primera endodermis, la segunda endodermis (notese que presenta un color oscuro y bandas de caspary) y la ubicación del periciclo (A-B). Abreviaturas: **en**=endodermis; **fl**=floema; **mx**=metaxilema; **P**=parénquima; **pc**=periciclo; **px**=protoxilema.

En *S. bifidus* (figura 7A), la presencia de almidones se observaron como corpúsculos color púrpura en el parénquima externo del pecíolo y en las células cercanas al haz vascular; mientras que en *S. palmatus* (figura 7 D) se observaron en el tejido parenquimatoso externo (cercano al esclerénquima). En ambas especies, los polisacaridos insolubles observaron de color rosa fiusha intenso (7 B y E) y la lignina en el esclerénquima y traqueidas del xilema de color rojo cereza (ambos tejidos con paredes secundarias muy gruesas) (figura 7 C y F).

Ambas especies presentaron abundantes contenidos color amarillo (figura 7 A, D y H) y rojizo (figura 7 E) en los tejidos del córtex. Los lípidos se ubican en la capa que recubre la epidermis (figura 7 H) y en las células de endodermis y periciclo que rodean al tejido vascular (figura 7 G) y en las células de endodermis y periciclo que rodean al tejido vascular (figura 7 G). Así mismo, las proteínas se observaron en las traqueidas del xilema de manera similar como se presentó en el rizoma.

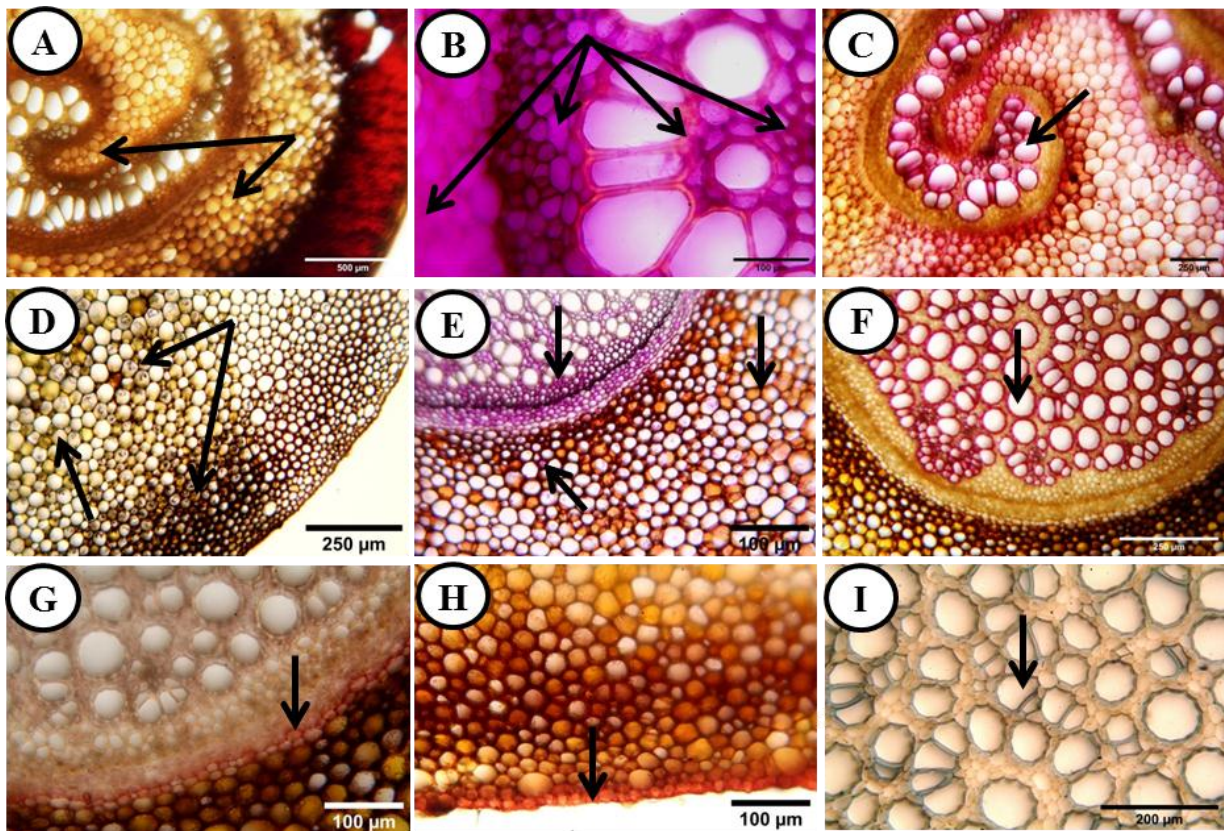


Figura 7. Pruebas histoquímicas en pecíolo de *Sticherus bifidus* (A-C); *S. palmatus* (D-I). A y D. Lugol, indican con flechas la presencia de almidones; B y E. PAS, las flechas señalan los polisacáridos insolubles y contenidos celulares color rojo fuisa intenso; C y F. Fluoroglucina clorhídrica, muestran las traqueidas que presentan lignina (indicado con una flecha; G y H. Rojo oleoso, indican con flechas la ubicación de los contenidos lípidicos; I. Azul negro de naftol, prueba para detectar presencia de proteínas.

En los cortes longitudinales de *S. bifidus* (figura 8 A y B) y *S. palmatus* (figura 8 C), se observaron traqueidas como elementos conductores del xilema, con engrosamientos de sus paredes secundarias de tipo escalariforme (indicados con flechas).

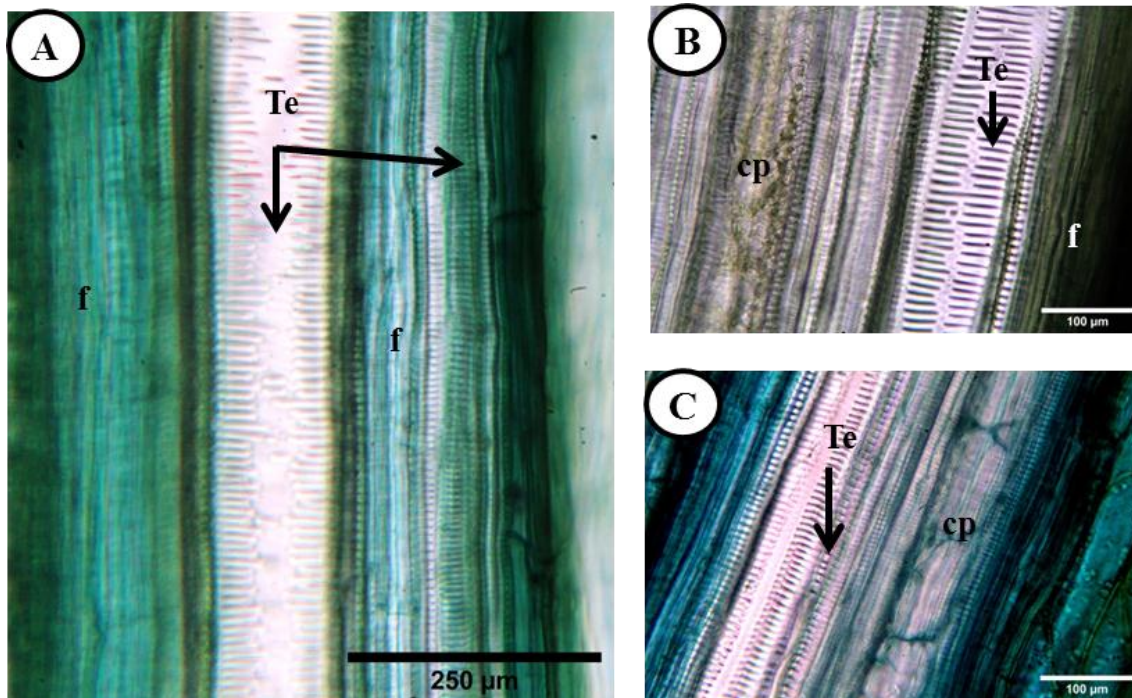


Figura 8. Corte longitudinal del Pecíolo de *Sticherus bifidus* (A-B); *S. palmatus* (C). Azul de toluidina. A, B y C. En las traqueidas, las flechas indican los engrosamientos de la pared secundaria de tipo escalariforme. Abreviaturas: **cp**=células de parénquima; **f**=fibras; **Te**=traqueidas escalariformes.

Raquis: En ambas especies el arreglo del xilema presentó forma de arco o “V” que termina en un gancho curvado hacia adentro. *Stiquerus bifidus* (figura 9 A, C) mostró de 3-7 células de metaxilema hacia la cara adaxial y algunas de ellas localizadas en la región donde

inicia la zona curvada y 8-11 células de protoxilema distribuidas en varios puntos rodeando al metaxilema.

Por otro lado, *S. palmatus* (figura 9 B, D) mostró de 11-13 células de metaxilema hacia la cara adaxial y de 5-7 células donde inician la zona curvada de la meristela, las células de protoxilema (20-25 células) se ubican entre la “V” y la zona donde inician los ganchos.

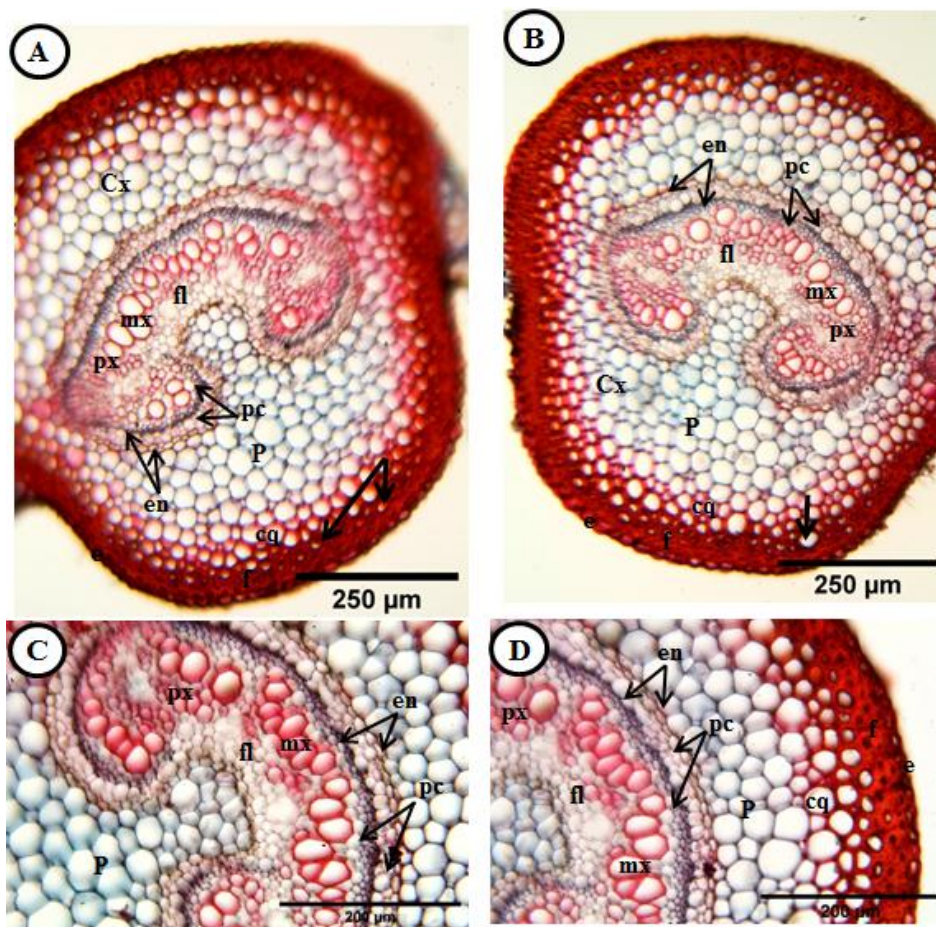


Figura 9. Corte transversal del raquis de *Sticherus bifidus* (A y C); *S. palmatus* (B y D). Tinción con safranina-verde rápido. A y B. Arreglo del xilema en forma de arco o “V”. Se indica con flechas la primera endodermis, la segunda endodermis (nótese que presenta un color oscuro y bandas de caspary) y la ubicación del periciclo (C-D). Abreviaturas: e=epidermis; en=endodermis; cq=colénquima; Cx=córtex; f=fibras; fl=floema; mx=metaxilema; P=parénquima; pc=periciclo; px=protoxilema.

En ambas especies se observaron 3 hileras de células floemáticas isodiamétricas y diminutas, seguidas de 1-2 hileras de células de periciclo y de 2-3 hileras de células alargadas pequeñas y de color pardo oscuro que forman la segunda endodermis, la cual presentó bandas de caspary; posteriormente, se identificaron 1-2 hileras de células isodiamétricas de mayor tamaño que constituyen el periciclo y 1-2 hileras de células alargadas y engrosadas radialmente que conformaron la primer endodermis (figura 9 C-D).

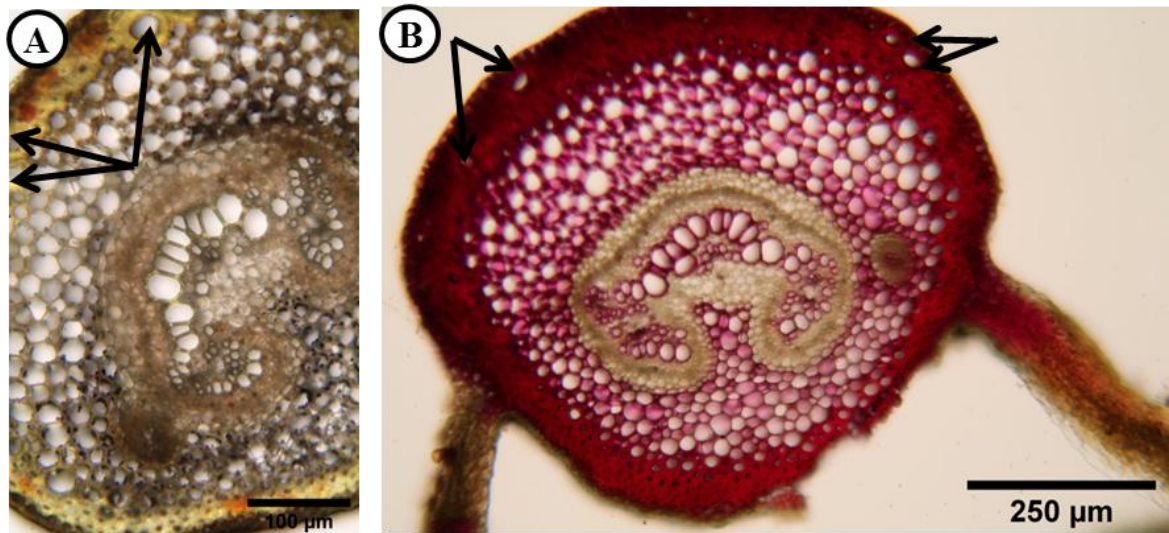


Figura 10. Corte transversal del raquis de: A. *Sticherus bifidus*, tinción con lugol; B. *S. palmatus*, tinción con fluoroglucina clorhídrica. A-B. Las flechas indican las cavidades en el raquis de ambas especies.

El córtex fue similar en ambas especies (figura 9 A-B), se presentaron de 12-14 hileras de células parenquimatosas isodiamétricas de gran tamaño; de 2-3 hileras de colénquima seguido por el mismo número de hileras de fibras de esclerénquima con cavidades; finalmente, se observó una epidermis monoestratificada con células isodiamétricas y engrosadas recubiertas por una capa de lípidos cuticulares (figura 10 A-B).

Las pruebas histoquímicas mostraron presencia de almidón en el parénquima externo y en las células cercanas al haz vascular de *S. bifidus* (figura 11 A); mientras que en *S. palmatus* se observó almidón en el tejido parenquimatoso externo cercano al esclerénquima (figura 11 B). Los polisacáridos insolubles presentaron una distribución similar al del rizoma y pecíolo en ambas especies (figura 12 A-B).

La lignina se observó en las paredes secundarias engrosadas de las fibras de esclerénquima (figura 12 C-D), en las traqueidas del xilema (figura 12 E-F), y en las células parenquimatosas de la corteza, aunque estas presentan paredes delgadas (figura 12 C-D).

En *S. bifidus* y *S. palmatus* las proteínas se observaron por debajo de la epidermis y en las paredes de 2-3 hileras de células del córtex contiguas al colénquima y en las traqueidas del haz vascular (figura 12 G-H). Finalmente, los lípidos se observaron en la cutícula que recubre la epidermis, en las células de la endodermis y del periciclo de ambas especies (figura 12 I y J).

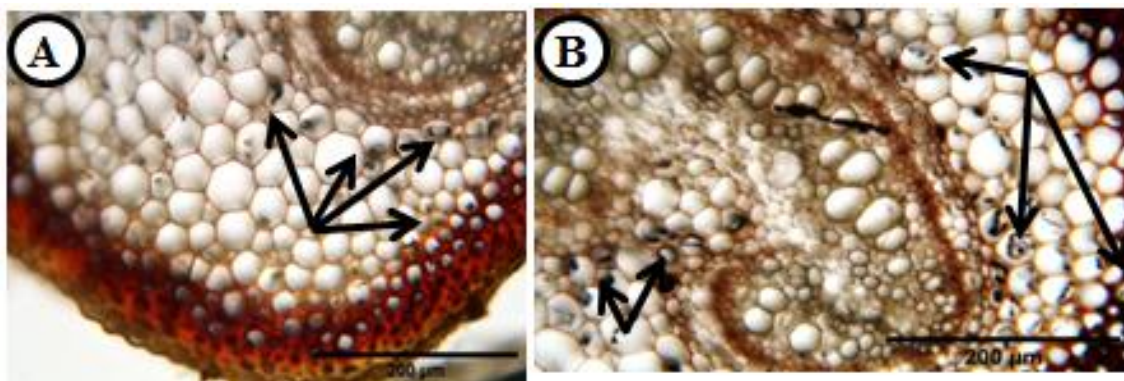


Figura 11. Prueba histoquímica del raquis de A. *Sticherus bifidus*; *S. palmatus* (B). A y B. Tinción con Lugol. Se indica con flechas la presencia de almidones.

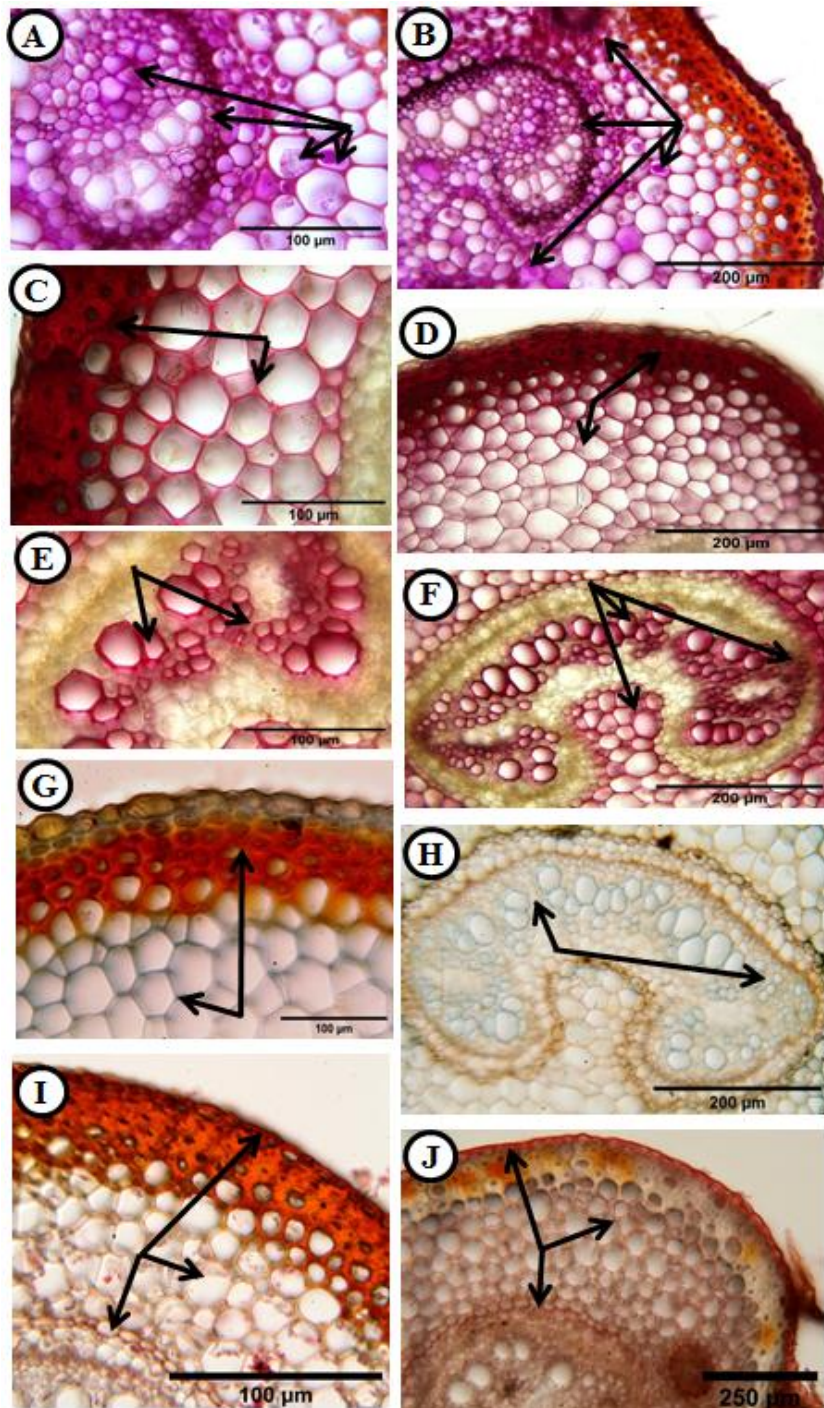


Figura 12. Pruebas histoquímicas en el raquis de *Sticherus bifidus* (A, C, E, G, I); *S. palmatus* (B, D, F, H, J). A y B. PAS, se indica con flechas polisacáridos insolubles; C, D, E, y F. Fluoroglucina clorhídrica, muestran los tejidos que presentan lignina (indicados con una flecha); G y H. Azul negro de naftol, revelan la presencia de proteínas I y J. Rojo oleoso, indican con flechas la ubicación de los contenidos lipídicos.

Segmento foliar: En las dos especies de *Sticherus*, el segmento foliar es monofaciado (figura 13 A, B y C); el haz vascular presentó células de floema en el lado abaxial y el xilema al centro; la vena principal está rodeada por una hilera de células endodérmicas engrosadas radialmente y por 4-5 hileras de células de esclerenquima; posteriormente se observó parénquima esponjoso con escasos espacios intercelulares; ambas epidermis presentaron células muy grandes con forma cuadrada a rectangular, pero es más evidente el tamaño de estas células en la cara abaxial; en ambas caras (adaxial y abaxial) se observó una capa lipídica de grosor medio (Figuras 13 A-B).

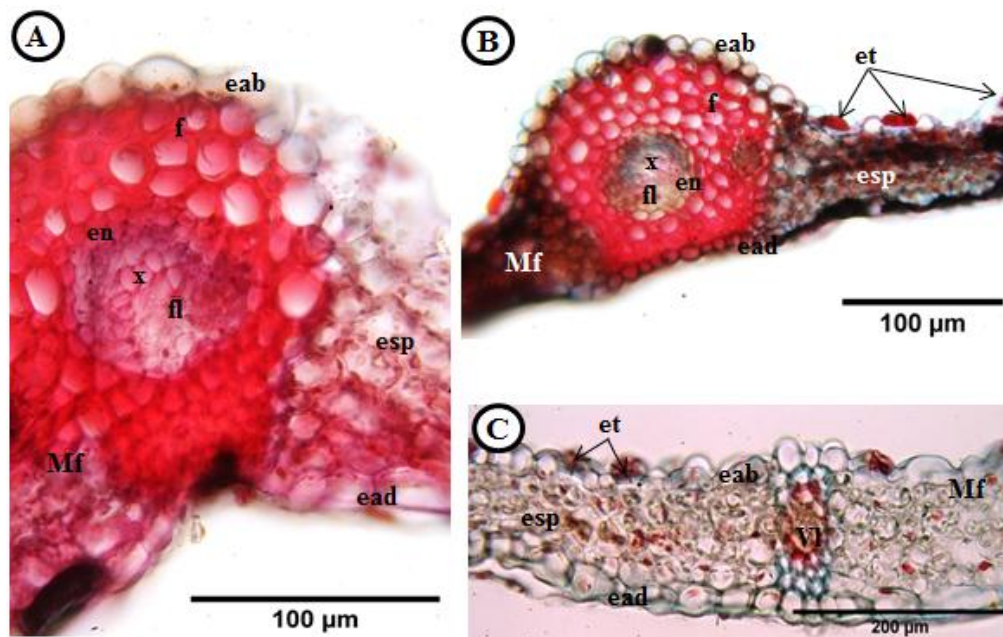


Figura 13. Corte transversal del segmento foliar de A. *Sticherus bifidus*; B-C. *S. palmatus*. A, B y C. Tinción con safranina-verde rápido. B-C. Los estomas se indican con flechas. Abreviaturas: **eab**=epidermis abaxial; **ead**=epidermis adaxial; **en**=endodermis; **esp**= parénquima esponjoso; **et**=estoma; **f**=fibras (esclerenquima); **fl**=floema; **Mf**=mesófilo; **VI** = vena lateral; **x**=xilema.

En ambas especies, se encontraron estomas hipostomáticos de tipo anomocítico, es decir, situados solamente en el envés foliar, sin células acompañantes (figura C-D). En la epidermis adaxial no se encontraron estomas (figura 14 A-B). Las células epidérmicas adaxiales y abaxiales de *S. bifidus* (figura 14 A), son muy sinuosas, es decir que, muestran más plegamientos y ondulaciones irregulares en sus paredes celulares y por tanto, parecen más alargadas y delgadas en comparación con las células de *S. palmatus* que presentaron ligeras ondulaciones, son cortas y anchas (figura 14 B).

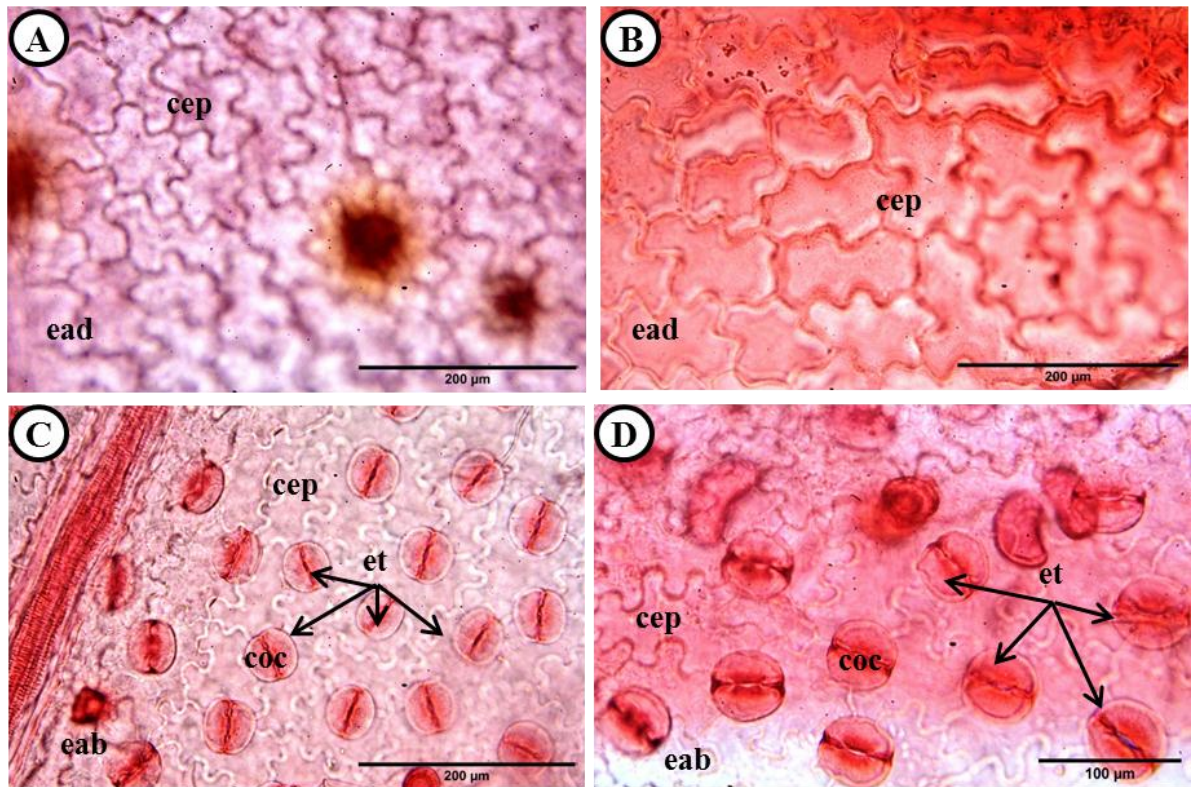


Figura 14. Epidermis de *Sticherus bifidus* (A y C); *S. palmatus* (B y D). A, B, C y D. Safranina alcohólica. A y B. Células epidérmicas adaxiales; C y D. Estomas anomocíticos en la epidermis abaxial, se indican con flechas los estomas. Abreviaturas: **eab**: epidermis abaxial; **ead**: epidermis adaxial; **cep**: células epidérmicas; **coc**: células oclusivas; **et**: estoma.

En ambas especies, los almidones se apreciaron como pequeños gránulos de color púrpura, son abundantes, sobre todo en las células de parénquima (figura 15 A-B); polisacáridos insolubles se encuentran en algunas células de parénquima esponjoso y en las paredes del floema (imágenes no mostradas). La presencia de lignina (figura 15 C-D) y de proteínas (figura 15 G-H) en las fibras de esclerénquima que rodean al haz vascular de las venas media y laterales y en las traqueidas del xilema; y lípidos cuticulares en las epidermis adaxial y abaxial (figura 15 E-F).

En general, en los órganos analizados en ambas especies (raíz, rizoma, pecíolo, ráquiz y segmento foliar), se identificaron traqueidas con paredes secundarias engrosadas y lignificadas, así como colénquima y esclerénquima en los órganos de sostén.

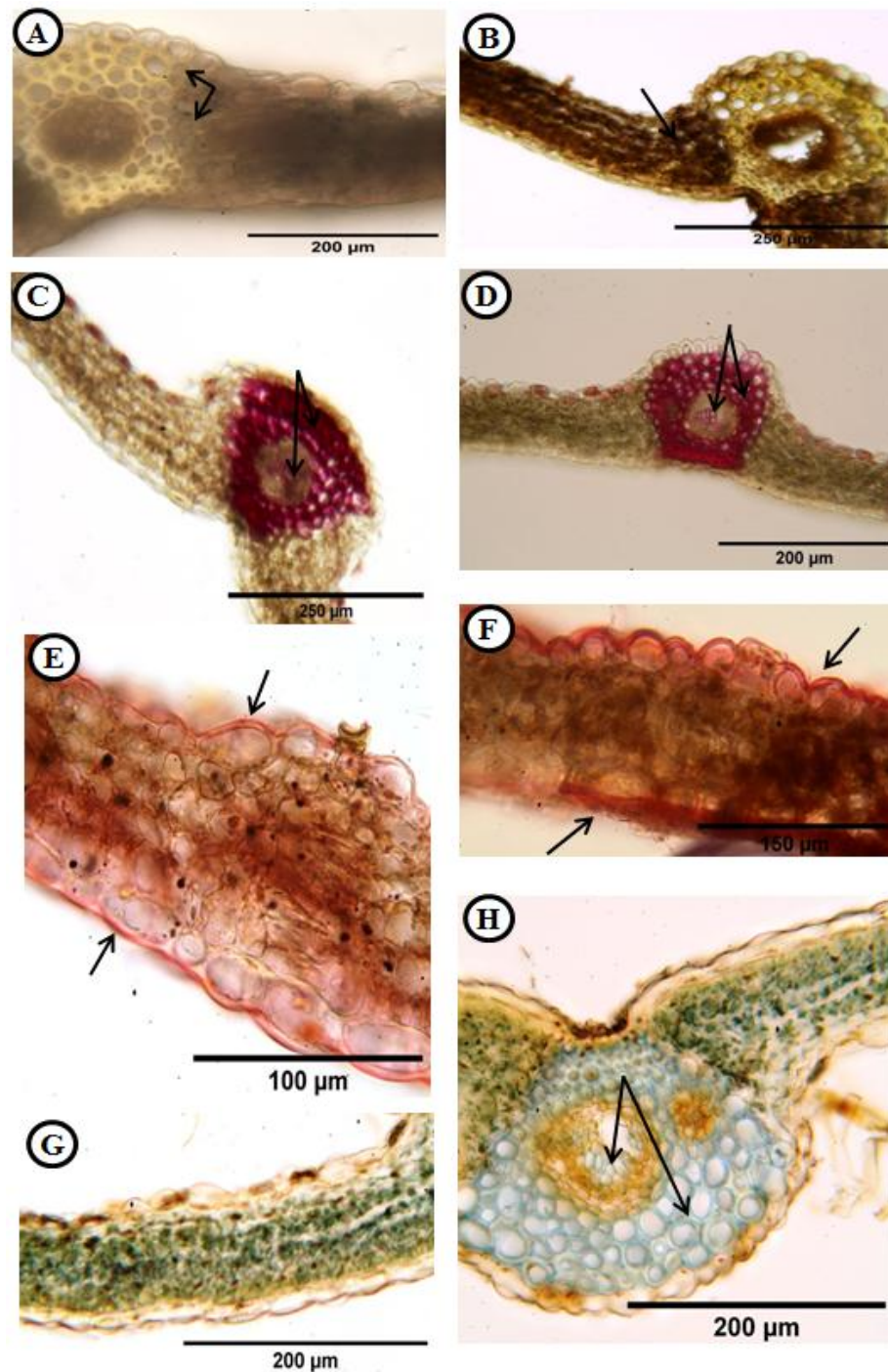


Figura 15. Pruebas histoquímicas en segmento foliar de: *Sticherus bifidus* (A, C, E, G); *S. palmatus* (B, D, F, H). A y B. Lugol, se indican con flechas la presencia de almidones; C y D. Fluoroglucina clorhídrica, muestran los tejidos que presentan lignina (indicados con una flecha); E y F. Rojo oleoso, se indican con flechas la ubicación de los lípidos; G y H. Azul negro de naftol, denotan la presencia de proteínas.

Discusión

La presencia de protostelas en el rizoma de *S. bifidus* y en el rizoma y pecíolo de *S. palmatus* y las meristelas con forma de arco o “V” que termina en un gancho curvado hacia adentro, presentes en el pecíolo, raquis y segmento foliar de *S. bifidus* y en el raquis y segmento foliar de *S. palmatus* confirman lo evaluado por Boodle (1901), quién describió varias especies de gleiquenáceas con rizomas protostélicos, xilema mesarco y traqueidas abundantemente esclerificadas, pecíolos con un haz redondeado, arqueado y rodeado de un periciclo esclerificado.

En el presente estudio, la anatomía de raíz, rizoma, raquis y segmento foliar fueron similares en ambas especies; sin embargo, el haz vascular del pecíolo de las especies estudiadas fue diferente, siendo *S. bifidus* quien presentó la estela más evolucionada. Debido a que, en plantas fósiles como Psilophyton y Pteridophyta de la era Paleozoica se encontraron protostelas formando el cilindro vascular, estas estelas son consideradas como las más simples y primitivas filogenéticamente; por otra parte, la solenostela, es una estela más avanzada, cuyo floema se encuentra rodeando al xilema y la médula central no vascular (Arbo, 2013). Boodle (1901), menciona a varias especies del género *Gleichenia* que presentan protostela, sin embargo, también encontró solenostela en *Gleichenella pectinata*.

S. bifidus y *S. palmatus*, crecen en cortes de caminos, taludes y orillas de arrollos (Velázquez-Montes, 2012); en este estudio se encontró que ambas especies presentan abundante tejido de colénquima y esclerénquima en todos los órganos estudiados, los cuales son acordes a los caracteres anatómicos que han desarrollado estas plantas para adaptarse al tipo de ambiente en el que viven. Dichos caracteres anatómicos son, un rizoma largamente rastrero y ampliamente ramificado y hojas con crecimiento indeterminado.

En ninguna de las dos especies estudiadas se encontró periciclo esclerificado como cita Boodle (1901); no obstante, los elementos conductores se apreciaron rodeados por dos endodermis, de las cuales la segunda o más cercana al tejido conductor, se caracterizó por la presencia de bandas de caspary. Hernández *et al.* (2006) observaron bandas de caspary en la endodermis localizada en el pecíolo y la lámina de seis especies del género *Dryopteris*; en la cual se apreciaron células con una pared engrosada formando un casquete o una “U”. Los autores, observaron que al someter a las muestras a un proceso de aclaramiento, la banda conservó las paredes no lignificadas y, consideraron que se trata de tejido colenquimatoso que ayuda a la planta dando sostén y flexibilidad a nivel de pecíolo y lámina (Esau 1976; Niklas 1992). Además, sugieren confirmar la presencia de colénquima en otras especies de helechos, debido a que también la banda se ha observado en las familias Blechnaceae, Davalliaceae, Polypodiaceae, Oleandraceae (Lin & DeVol 1977, 1978).

Esta misma banda fue observada en especies del género *Tectaria* y la describen como engrosamientos en las paredes radiales de las células endodérmicas, últimas que constituyen la capa más interna de la corteza (Velásquez-Montes, 1983). Otros autores como Ogura (1972), Lin & DeVol (1977, 1978) y Zlotnik (1991), mencionan la presencia de esta banda como vaina, anillo o banda esclerosada o esclerótica.

En este estudio, no se realizó el proceso de aclaramiento, ni se identificó la naturaleza química de las bandas de caspary, sin embargo, se apreciaron engrosamientos de la paredes radiales de las células contiguas al floema y los contenidos presentan color marrón oscuro sobresalientes en la tinción de safranina-verde rápido. Además, los resultados indicaron que en la raíz, rizoma y hoja de las dos especies del género *Sticherus* estudiadas, los compuestos presentes en la banda de caspary, no contienen lignina, porque no se tiñeron de rojo con la fluoroglucina clorhídrica; tampoco contienen suberina porque no se tiñeron de rojo con el rojo oleoso; además, la banda de caspary se tiñó diferente al colenquima y, éste se encontró ubicado en el córtex, después de la estela y antes de la epidermis en todos los órganos estudiados. Sin embargo, no se descartó que los contenidos presentes en estas células sean compuestos polifenólicos o taninos (Bell 1951).

Se encontraron cavidades isodiamétricas en el córtex del raquis, de ambas especies. Fahn (1979) menciona que este tipo de estructuras pueden contener mucílago, es probable que las cavidades encontradas en el raquis de *Sicherus bifidus* y *S. palmatus* sean de este tipo, ya

que Pacheco & Moran (1999) y Pacheco *et al.* (2003) mencionan la presencia de cavidades mucilaginosas en la médula, corteza y haces vasculares de varias especies de los géneros *Callipteris* y *Diplazium*.

Por otra parte, *S. palmatus* y *S. bifidus* tienen traqueidas escalariformes como elementos conductores en el pecíolo; sin embargo, Schneider & Carlquist (1998b) mencionan que las raíces y rizomas de *Dicranopteris linearis* presentan vasos con numerosas placas perforadas. Probablemente, esta diferencia encontrada en los elementos conductores se deba a que, estas estructuras se observaron en diferentes órganos o pertenecen a géneros distintos de la misma familia.

Por tal motivo, se considera importante continuar con estudios que permitan conocer la naturaleza química de los contenidos de las cavidades encontradas en el raquis de las especies del género *Sticherus* para conocer su posible función dentro del ecosistema y su relación con el medio ambiente en el que crecen.

Conclusiones

Las especies difieren en el tipo de estela en *S. bifidus* es solenostela, mientras que en *S. palmatus* es protostela de tipo haplostélico. Así mismo, ambas especies presentaron traqueidas escalariformes como elementos conductores, así como una doble endodermis presente en el córtex de la raíz, rizoma y pecíolo, dado que los compuestos presentes en la banda de caspary se observaron de color rojo y amarillo a pardo oscuro sugiriendo que pueden ser metabolitos secundarios de naturaleza polifenólica o taninos.

Por otro lado, debido a que las especies *S. bifidus* y *S. palmatus*, crecen en ambientes hostiles, y que además forman parte de la sucesión vegetal de ambientes fragmentados, como son los cortes y orillas de caminos, han desarrollado caracteres anatómicos como un rizoma rastrero, ampliamente ramificado y colenquimatoso que les confiere la flexibilidad, así como hojas con crecimiento indeterminado y ejes de la hoja con tejidos de sostén como colénquima y esclerénquima. Estas modificaciones les permiten daptarse convenientemente, evitando la erosión del suelo y desgajamiento de los cerros en cortes de caminos y, de esta manera, poder colonizar estos espacios.

Literatura citada

- ARBO M.M. 2019. Anatomía de la raíz. Morfología de Plantas Vasculares. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes, Argentina. 410-413 pp.
- BELL P.R. 1951. Studies in the genus *Elaphoglossum*. III. Anatomy of the rhizome and frond. *Annals of Botany*, 15:347-357.
- BOODLE L.A. 1901. Comparative Anatomy of the Hymenophyllaceae, Schizaeaceae and Gleicheniaceae. On the Anatomy of the Gleicheniaceae. *Annals of Botany*, 15(58):359-421.
- BORJA-BAEZA R.C. & ALCÁNTARA-AYALA I. 2010. Susceptibility to mass movement processes in the municipality of Tlatlauquitepec, Sierra Norte de Puebla. *Investigaciones Geográficas, Boletín del Instituto de Geografía, UNAM*, 73:7-21
- ESAU K. 1976. Anatomía vegetal. Omega, Madrid, España. 779 pp.
- EVERT R.F. 2006. Anatomía vegetal. Meristemos, células y tejidos de las plantas: su estructura, función y desarrollo. 3ed. Omega. Barcelona, España.
- FAHN A. 1979. Secretory Tissues in Plants. Academic Press. London. 302 pp.
- HERNÁNDEZ V., TERRAZAS T. & ÁNGELES G. 2006. Anatomía de seis especies de *Dryopteris* en México. *Revista de Biología Tropical*, 54:1157-1169.
- INSTITUTO NACIONAL PARA EL FEDERALISMO Y EL DESARROLLO MUNICIPAL (INAFED). (2022). Guía Consultiva de Desempeño Municipal. <https://www.gob.mx/inafed>.
- JOHANSEN D.A. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill Book Company. New York-London.
- KRISHNAMURTHY K.V. 1988. Methods in Plant Histochemistry. S. Viswanathan (Printers & Publishers) Private Limited. Madras, India.
- LIN B.L. & DEVOL C.D. 1977. The use of stipe characters in fern taxonomy I. *Taiwania*, 22:91-99.
- LIN B.L. & DE VOL C.D. 1978. The use of stipe characters in fern taxonomy II. *Taiwania*, 23:77-95.

- LÓPEZ-CURTO M.L., MÁRQUEZ G.J. & MURGUÍA S.G. 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. Libro de Laboratorio. Las Prensas de Ciencias, UNAM. México, D. F.
- LOREA F. & RIBA R. (1990). Guía para la recolección y preparación de ejemplares para herbario de Pteridofitas. Consejo Nacional de la Flora de México, México. 18 pp.
- NIKLAS K.J. 1992. Plant biomechanics. Chicago, Illinois, EEUU. 607 pp.
- OGURA Y. 1972. Comparative anatomy of vegetative organs of the pteridophytes. 2nd. Ed. Gebrüder Borntraeger. Berlin, Alemania. 502 pp.
- PACHECO L., MENDOZA-MOCIÑO S., SILVA-PUENTE D. & GRANADOS B. 2003. Estructuras mucilaginosas en helechos y plantas afines con énfasis en el género *Diplazium* (Woodsiaceae). *ContactoS*, 48:56-60.
- PACHECO L. & MORAN R.C. 1999. Monograph of the neotropical species of *Callipteris* with anastomosing veins (Woodsiaceae). *Brittonia*, 51:343-388.
- PTERIDOPHYTE PHYLOGENY GROUP I (PPGI). 2016. A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. *Journal Systematics and Evolution* 54(6):563–603.
- RUZIN S.E. 1999. Plant microtechnique & microscopy. Oxford University Press. New York.
- SASS J.F. 1961. Botanical Microtechnique. 3ª. Ed. The Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- SCHNEIDER E.L. & CARLQUIST S. 1997. Estudios SEM sobre vasos en helechos. *Phlebodium* y *Polystichum*. *International Journal of Plant Sciences*, 158:343–349.
- SCHNEIDER E.L. & CARLQUIST S. 1998b. Estudios SEM sobre vasos en helechos 9. *Dicranopteris* (Gleicheniaceae) y patrones de vasos en helechos leptosporangios. *American Journal Botany*, 85:1028-1032.
- VAN COTTEN W. R. J. 1970A. Estudio morfológico comparativo de los estomas en Filicopsida. *Toro*, *Boletín del Jardín Botánico Nacional de Bélgica*, 40:81-239.
- VAN COTTEN W. R. J. 1970B. Una clasificación de tipos de estomas. *Revista de la Sociedad Linneana*, 63:235-246.

VAN COTTHEM W. R. J. 1973. Tipos y sistemática de estomas. En: Crabbe, J. A. & B. A. Thomas (Eds.). La filogenia y clasificación de los helechos. Académico, Nueva York. 59-71 pp.

VELÁZQUEZ-MONTES E. 1983. Anatomía comparada de dos especies del género *Tectaria* Cav. (Filicales, Pteridophyta). Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México. 62 pp.

VELÁZQUEZ-MONTES E. 2012. Gleicheniaceae (Pteridophyta). México. Flora de Guerrero; 53.

ZLOTNIK E.A. 1991. Anatomía de Polypodiaceae *s. str.* Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México. 103 pp.

CAPÍTULO II. Fitoquímica de *Sticherus bifidus* (Willd.) Ching y *S. palmatus* (W. Schaffn. ex E. Fourn.) Copel.

Introducción

Todos los seres vivos están constituidos internamente por compuestos químicos de naturaleza orgánica, como resultado de la actividad metabólica, es por esto por lo que se les denomina metabolitos. Estos se clasifican en: primarios, fundamentales en los procesos vitales y con mayor abundancia y, secundarios, que no son esenciales para la vida y su síntesis es restringida principalmente a los organismos autótrofos como las plantas (Almaraz *et al.*, 2010). Sin embargo, los metabolitos secundarios presentan una distribución restringida en el reino vegetal, ya que se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada (Jordá-Sierra, 2010).

A pesar de que estos compuestos no tienen una función vital en las plantas, son utilizados frecuentemente como mecanismos de defensa en respuesta adaptativa a factores bióticos como patógenos, plagas y simbiontes, o abióticos como alta o baja temperatura, radiación, salinidad, entre otros (Jiménez & Girbes, 2013).

Los helechos son un extenso grupo de plantas que se han adaptado a diversos ambientes y, es de suponerse que han desarrollado vías de síntesis de metabolitos secundarios que les permiten sobrevivir ante la hostilidad de los depredadores y factores ambientales con los que interaccionan. Ho *et al.* (2010) y De Brito *et al.* (2012), mencionan una amplia variedad de metabolitos secundarios activos de especies de helechos que pertenecen principalmente al grupo de los terpenoides (triterpenoides, diterpenoides, sesquiterpenoides),

compuestos fenólicos (derivados del fenilpropanoide y otros), flavonoides, alcaloides, compuestos aromáticos, policétidos y derivados de carotenoides, esteroides, taninos, saponinas, antroquinonas, azúcares y aminoácidos.

Los metabolitos secundarios, no solo tienen utilidad para las mismas plantas, sino que pueden ayudar a una gran cantidad de organismos, por ejemplo, actuando como antioxidantes, término utilizado originalmente para referirse a un producto químico que previene el consumo de oxígeno (Matill, 1947). Actualmente, un antioxidante es una sustancia que en bajas concentraciones retarda, inhibe o previene la oxidación de un sustrato oxidable (biomoléculas); y desde el punto de vista biológico, es todo compuesto que protege a los sistemas vivos de los agentes que causan deterioro oxidativo (Halliwell & Gutteridge, 2007).

En las últimas dos décadas, los antioxidantes presentes en las plantas han cobrado gran interés puesto que el estrés oxidativo, que es un desbalance entre las sustancias oxidantes y prooxidantes, está implicado en un gran número de afecciones de la salud. Este se relaciona con una amplia gama de enfermedades y desordenes incluyendo fallo cardíaco, inflamaciones, cataratas, daños cerebrales, entre otros (Youngson, 2003). Entre los antioxidantes de origen natural se destacan los carotenoides y polifenoles (Tsao & Dengb, 2004).

Los compuestos fenólicos, también llamados polifenoles, son un grupo fitoquímico extenso y diverso, son químicamente heterogéneos y se caracterizan por presentar en su estructura al menos un núcleo bencénico, sustituido con uno o varios grupos hidroxilos y una cadena lateral funcional (Monagas *et al.*, 2005). En general, los polifenoles pueden establecer fácilmente puentes de hidrógeno con otras moléculas, por lo que son muy susceptibles a la oxidación (Jordá-Sierra, 2010); por este motivo, actúan como antioxidantes naturales (Lopera *et al.*, 2013; Ricco *et al.*, 2010; Szliszka & Krol, 2013). Básicamente, los compuestos

fenólicos se clasifican en dos amplios grupos: los flavonoides y los no flavonoides. En el anexo 4 se pueden apreciar las diferencias químicas estructurales de los compuestos fenólicos de acuerdo a esta clasificación.

De acuerdo con Jordá-Sierra (2010), los no flavonoides presentan diversas funciones entre las que destacan las estructurales (lignina y suberina), de protección frente a radiaciones ultravioleta y formación de pigmentos (antocianinas, flavonas y flavonoles), así como de regulación, en general, de las interacciones de microorganismos de los géneros *Rizobium*, y *Agrobacterium* con las plantas, y de mecanismos de defensa (taninos y furanocumarinas). Otros compuestos polifenólicos tienen efectos alelopáticos (ácido cafeico, ácido ferúlico) o juegan un importante papel en la tolerancia al estrés oxidativo.

El contenido de polifenoles en las plantas varía dependiendo de varios factores como el genotipo, especie, condiciones ambientales, grado de madurez, composición del suelo, ubicación geográfica y condiciones de almacenamiento (Haminiuk *et al.*, 2012). Además, es muy frecuente que se les atribuyan propiedades benéficas para la salud como antiinflamatorias (Moreno-Jiménez *et al.*, 2015), antialérgicas, antitrombóticas, antimicrobianas y citotóxicas (A Van Dorsten *et al.*, 2012; Groh *et al.*, 2013; Zapata *et al.*, 2013).

Existen ensayos para determinar la actividad antioxidante, los cuales se basan en la cuantificación de los productos formados tras el proceso oxidativo. Uno de los métodos más usados para este fin es el ensayo de decoloración del radical 1-1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH°), propuesto por Blois (1958). Los resultados del ensayo DPPH° se citan de diferentes formas. La mayoría de los estudios expresan como el valor de la concentración inhibitoria 50 (CI₅₀), el cual se define como la cantidad de antioxidante necesaria para disminuir la concentración inicial de DPPH° al 50 %.

La Actividad Antioxidante Relativa (AAR) es la actividad antioxidante de una sustancia comparada con la de un patrón en las mismas condiciones. El valor de este se indica en forma de porcentaje y se calcula dividiendo el coeficiente de inhibición de la muestra analizada (CI₅₀) entre el CI₅₀ del patrón usado (trolox, quercetina o ácido ascórbico) multiplicado por 100 (Rodríguez-Aguirre *et al.*, 2015).

Un estudio fitoquímico realizado en toda la familia Gleicheniaceae, menciona la presencia de quercetina y kaempferol (Wallace *et al.*, 1983), que son compuestos polifenólicos de tipo flavonoide (Martínez-Flores *et al.*, 2002; Vázquez-Flores *et al.*, 2012), a los cuales se les asocia actividad antioxidante. Además, se ha visto que la ingesta de plantas que contienen compuestos polifenólicos en la dieta diaria de humanos, pueden contribuir a reducir el deterioro oxidativo (Ricco *et al.*, 2010; Lopera *et al.*, 2013; Szliszka & Krol, 2013).

Con base en lo anterior, se consideró importante realizar un estudio fitoquímico preliminar en las especies *Sticherus bifidus* (Willd.) Ching y *S. palmatus* (W. Schaffn. ex E. Fourn.) Copel, para detectar la presencia de polifenoles totales, flavonoides y proantocianidina y cuantificar las concentraciones de estos. Además, de medir la actividad antioxidante y determinar en qué órgano y especie se presenta mayor concentración de estos compuestos y cuál presenta mejor actividad antioxidante *in vitro*, con la finalidad de conocer más acerca de su composición, función y posible aplicación.

Materiales y Métodos

Muestreo. Se utilizaron ejemplares completos de las especies *Sticherus palmatus* y *S. bifidus* como material biológico; 10 individuos de cada especie se separaron para obtener dos muestras: una de hoja (pecíolo, raquis y segmento foliar) y otra muestra compuesta de raíz y rizoma. Todas las muestras se dejaron secar a temperatura ambiente protegidas de la luz y el polvo. Después, estas se trituraron y almacenaron en frascos para posteriormente obtener los extractos etanólicos de ambas especies.

Obtención de los extractos. Los extractos se obtuvieron macerando una cantidad conocida de las 2 muestras de cada especie, por separado (anexos), en etanol al 95% durante 3 días (6 cambios) a temperatura ambiente. Una vez transcurridos los 20 días, el extracto se filtró con papel filtro marca Whatman No.1. Posteriormente, se reunieron los filtrados de todas las muestras por separado y se eliminó el etanol por evaporación. Los extractos secos se colocaron en frascos previamente tarados y se pesaron; así se obtuvo el peso del extracto seco.

El porcentaje de rendimiento de la planta se calculó utilizando la ecuación 1 (modificado de Bénitez *et al.*, 2020).

$$\% \text{ de rendimiento} = \frac{\text{Peso del extracto seco}}{\text{Peso del material vegetal}} \times 100$$

Ecuación 1

Estudio fitoquímico preliminar. Se realizó este estudio para detectar la presencia de metabolitos secundarios (polifenoles totales, flavonoides y proantocianidinas) en las muestras.

Para la detección de polifenoles totales se colocó en tubos de ensayos: 2.0 mL del extracto etanólico filtrado y se le agregaron 0.2 mL de una disolución de cloruro férrico al 1.0 % p/v en ácido clorhídrico 1.0 M. Al control negativo se le adicionó agua en lugar del extracto. La coloración azul, verde o verde-azul de la muestra indicó la presencia de compuestos polifenólicos (Vega-Avila *et al.*, 2004).

La detección de flavonoides se realizó en tubos de ensayo, en donde se colocaron 2.0 mL del extracto etanólico filtrado, 0.20 mL de cloruro de aluminio al 10 % (p/v) y 0.20 mL de acetato de potasio 1.0 M. Al control negativo se le adicionó agua en lugar del extracto. Los tubos se protegieron de la luz con una mata oscura y después de 30 minutos se observó la coloración amarilla que indicó la presencia de flavonoides (Ricco *et al.*, 2015).

Por otro lado, para la detección de proantocianidinas se colocaron en tubos de ensayo 200 μ L del extracto disuelto en metanol (4 mg/mL), 1.2 mL de una solución de vainillina al 4% (p/v) en metanol al 100 % y 0.6 mL de ácido clorhídrico concentrado. Al control negativo se le adicionó metanol en lugar del extracto. La muestra se dejó reposar por 30 minutos en la oscuridad y después se observó la coloración. La formación de color rojo indica la presencia de proantocianidinas (Lillo *et al.*, 2016).

Análisis cuantitativo. Después del análisis fitoquímico preliminar, el cual fue de carácter cualitativo, las concentraciones de los compuestos detectados en el estudio fitoquímico (polifenoles totales, flavonoides y proantocianidinas) se cuantificaron con un espectrofotómetro marca UNICO, modelo 2802 UV/VIS. Las muestras se procesaron como se describe a continuación.

Cuantificación de compuestos polifenólicos totales. Se prepararon disoluciones acuosas de los diferentes extractos (3.33 mg/mL) por separado, se tomaron 30 μ L de estas y se colocaron en tubos de ensayo. Posteriormente, a cada disolución se agregaron 250 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu y después de 5 min, se adicionaron 1250 μ L de carbonato de sodio al 20% y agua destilada hasta obtener un volumen total de 2000 μ L. La una curva de calibración con ácido gálico (2-20 μ g) se realizó de manera simultánea, empleando como blanco un tubo que contenía agua en lugar de ácido gálico o muestra problema.

Todos los tubos (blancos y muestras analizadas) se mantuvieron protegidos de la luz durante 40 minutos y, posteriormente, se midió la absorbancia a 760 nm (Wolfe *et al.*, 2003). La absorbancia se graficó contra concentración de ácido gálico (μ g) y, se obtuvo la ecuación de la recta mediante análisis de regresión lineal ($Y=0.0195x+0.0119$; $R^2=0.9973$). La ecuación se empleó para calcular la cantidad de polifenoles totales en las muestras. El experimento se realizó por duplicado en tres experimentos independientes y se cita el valor promedio como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) /100 mg de extracto seco.

Cuantificación de flavonoides. Se prepararon diluciones acuosas de cada uno de los extractos (3.33 mg/mL). En una serie de tubos se añadió por separado, 50 μ L del extracto de hoja y 20 μ L del extracto de rizoma-raíz, más 1600 μ L de agua destilada y 75 μ L de solución acuosa de nitrito de sodio al 5 % (p/v). 5 min después, se agregaron a las muestras 150 μ L de solución acuosa de cloruro de aluminio al 10 % (p/v) y se dejaron reposar en la oscuridad durante 6 min. Posteriormente, se les agregaron 500 μ L de solución acuosa de hidróxido de sodio 1.0 M y agua destilada hasta llegar a un volumen total de 2.5 mL. La curva de

calibración se realizó con catequina (4-20 μg) de manera simultánea, empleando como blanco un tubo que contenía metanol en lugar de catequina o muestra problema.

Todos los tubos (blancos y muestras analizadas) se mantuvieron en la oscuridad por 30 minutos y se midió la absorbancia a 510 nm (Ricco *et al.*, 2015). La absorbancia se graficó contra la concentración de catequina (μg), y así obtener la ecuación de la recta mediante análisis de regresión lineal ($Y=0.0092x+0.0119$; $R^2=0.9998$). Esta ecuación se empleó para calcular la cantidad de flavonoides en las muestras. La cuantificación se realizó por duplicado en tres experimentos independientes y se cita el valor promedio como mg equivalentes de catequina (EC) /100 mg de extracto seco.

Cuantificación de proantocianidinas. De las dos especies se pesaron por separado 5.0 mg de los extractos secos de hoja y rizoma-raíz, se disolvieron en 2 mL de metanol al 100%. En una serie de tubos se colocaron 200 μL de los diferentes extractos por separado, más 1200 μL de una solución de vainillina al 4% (p/v) en metanol al 100 % y 600 μL de ácido clorhídrico concentrado. La curva de calibración se realizó con catequina (7.5-45 μg) de manera simultánea, empleando como blanco un tubo que contenía metanol en lugar de catequina.

Todos los tubos (blancos y muestras analizadas) se mantuvieron en la oscuridad por 30 minutos y se midió la absorbancia a 500 nm (Lillo *et al.*, 2016). La absorbancia se graficó contra concentración de catequina (μg), para obtener la ecuación de la recta mediante análisis de regresión lineal ($Y= 0.0124x-0.0428$; $R^2= 0.9862$). Esta ecuación se empleó para calcular la cantidad de proantocianidinas en las muestras. Las pruebas se realizaron por duplicado en

dos experimentos independientes y se cita el valor promedio como mg equivalentes de catequina (EC) /100 mg de extracto seco.

Evaluación de la capacidad antioxidante. La actividad antioxidante se determinó mediante el método propuesto por Brand-Williams *et al.* (1995), con algunas modificaciones. Se realizó por separado una serie de diluciones en metanol de los diferentes extractos a evaluar y se colocaron en tubos de ensayo 250 μ L de las muestras con 2250 μ L de la disolución de DPPH^o (2.0 mg/100 mL, ⁵¹⁷A de 0.70). Las concentraciones finales de los extractos se observan en el Cuadro 1.

De manera simultánea se realizó una curva de calibración con ácido ascórbico (4-40 μ g/mL). Se emplearon 3 blancos: 1) una mezcla de 250 μ L del extracto a probar y 2250 μ L de metanol; 2) una mezcla de 250 μ L de ácido ascórbico y 2250 μ L de metanol y; 3) una mezcla de 2250 μ L DDPH^o y 250 μ L de metanol. Los tubos se protegieron de la luz y a los 30 min se leyó la absorbancia a 517 nm. Este experimento se realizó por duplicado en dos ensayos independientes.

Los resultados se expresaron como valores promedio de la concentración inhibitoria CI₅₀ y en AAR.

Cuadro 1. Concentraciones finales de los extractos evaluados de las especies *S. bifidus* y *S. palmatus*.

Especie	Muestra	Concentración del extracto (µg/mL)
<i>Sticherus bifidus</i>	Hoja	215 - 14
	Rizoma-raíz	95 - 6
<i>Sticherus palmatus</i>	Hoja	480 - 30
	Rizoma-Raíz	115 - 4

Los datos obtenidos se procesaron para obtener el porcentaje de reducción del radical DPPH° (ecuación 2) y después se graficó el porcentaje de reducción contra la concentración de la muestra (Yen & Duh, 1994). Posteriormente, se realizó un análisis de regresión lineal y las ecuaciones obtenidas se emplearon para obtener la concentración a la cual se inhibe el 50% del ion DDPH° (CI₅₀) en µg/mL.

$$\% \text{ de Inhibición} = \frac{(A - A_1)}{A} \times 100$$

Ecuación 2

A= absorbancia sin muestra (DPPH)

A₁= absorbancia con muestra

Por otro lado, la actividad antioxidante relativa (AAR) es la actividad antioxidante de una muestra comparada con un patrón de referencia y se expresa como porcentaje. En este estudio se utilizó la ecuación 3 para obtener el AAR, usando como patrón de referencia el ácido ascórbico que es un potente antioxidante (Rodríguez-Aguirre *et al.*, 2015).

$$AAR = \frac{CI_{50} \text{ muestra analizada}}{CI_{50} \text{ muestra patrón}} \times 100$$

Ecuación 3

Resultados

El rendimiento de los extractos etanólicos de las especies *S. bifidus* y *S. palmatus* mostraron que el mejor porcentaje de rendimiento se presentó en la hoja de *S. palmatus* con 5.7%, seguido de la muestra raíz-rizoma de *S. bifidus* con 3.7 % (Cuadro 2).

Cuadro 2. Rendimiento de los extractos etanólicos de las especies *S. bifidus* y *S. palmatus*.

Especie	Muestra	Extracto seco (g)	Porcentaje de rendimiento (%)
<i>Sticherus bifidus</i>	Hoja	17.3638	3.5
	Rizoma-raíz	5.1916	3.7
<i>Sticherus palmatus</i>	Hoja	9.6673	5.7
	Rizoma-Raíz	0.6931	3.5

Estudio fitoquímico preliminar. En ambas muestras (hoja y rizoma-raíz) de las dos especies, las pruebas para polifenoles totales y flavonoides dieron positivo. La presencia de proantocianidinas solo dio positivo en las muestras de rizoma-raíz, en muestras de hoja no se observó la reacción (Cuadro 3).

Cuadro 3. Resultados del análisis fitoquímico preliminar para polifenoles en las especies *S. bifidus* y *S. palmatus*.

Especie	Ensayo	Muestra	Resultados
<i>S. bifidus</i>	Polifenoles	Hoja	+
		Rizoma-raíz	+
	Flavonoides	Hoja	+
		Rizoma-raíz	+
	Proantocianidinas	Hoja	-
		Rizoma-raíz	+
<i>S. palmatus</i>	Polifenoles	Hoja	+
		Rizoma-raíz	+
	Flavonoides	Hoja	+
		Rizoma-raíz	+
	Proantocianidinas	hoja	-
		Rizoma-raíz	+

Análisis cuantitativo. La cuantificación de polifenoles totales y flavonoides se determinaron en todas las muestras (hoja y rizoma-raíz), mientras que la cuantificación de proantocianidinas solo se realizó en las muestras de raíz-rizoma, debido a que la prueba dio negativo para la presencia de estos compuestos, en las muestras de hoja.

En ambas especies, todos los compuestos que se cuantificaron (polifenoles totales, flavonoides y proantocianidinas), presentaron concentración superior en las muestras de rizoma-raíz que las muestras de hoja. Así mismo, *S. palmatus* presentó concentraciones más bajas en las muestras de hoja y rizoma-raíz con respecto a las concentraciones que presenta *S. bifidus* (Cuadro 4).

En las muestras de rizoma-raíz de *S. bifidus* un 95% de los de polifenoles totales corresponden a flavonoides y dentro de los flavonoides, tenemos aproximadamente 18% de proantocianidinas; mientras que en *S. palmatus* el 86% de los de polifenoles totales corresponden a flavonoides y dentro de los flavonoides, tenemos aproximadamente 25% de proantocianidinas. Por otro lado, en las muestras de hoja no se apreció esta tendencia, ya que la concentración de flavonoides en estas fue muy baja y las proantocianidinas no estuvieron presentes (Cuadro 4). Se encontraron mayores concentraciones flavonoides en *S. bifidus* y de proantocianidinas en *S. palmatus*.

La concentración de polifenoles totales en las muestras de rizoma-raíz y hoja en *S. bifidus* fue mayor la de *S. palmatus*. En los otros compuestos cuantificados se obtuvo el mismo comportamiento (Cuadro 4). Las concentraciones de flavonoides y proantocianidinas fueron superiores en *S. bifidus* en comparación a las obtenidas en *S. palmatus*.

Cuadro 4. Concentración de metabolitos secundarios en las especies *S. bifidus* y *S. palmatus*.

Especie	Método usado	Metabolitos	Muestra	Concentración (mg E AG o EC /100 mg de extracto seco)
<i>Sticherus bifidus</i>	Folin-Ciocalteu	Polifenoles	Hoja	13.5 ± 0.6
			Rizoma-raíz	36.6 ± 1.2
	Nitrito de sodio-cloruro de aluminio	Flavonoides	Hoja	2.71 ± 0.23
			Rizoma-raíz	35.02 ± 0.12
	Price	Proantocianidinas	Rizoma-raíz	6.1 ± 1.2
<i>Sticherus palmatus</i>	Folin-Ciocalteu	Polifenoles	Hoja	6.04 ± 0.22
			Rizoma-raíz	27.5 ± 2.2
	Nitrito de sodio-cloruro de aluminio	Flavonoides	Hoja	0.55 ± 0.92
			Rizoma-raíz	24.2 ± 0.5
	Price	Proantocianidinas	Rizoma-raíz	5.8 ± 1.1

Los valores que se presentan corresponden al promedio ± desviación estándar.

Evaluación de la capacidad antioxidante. *Sticherus bifidus* presentó CI_{50} (12.98 ± 0.02), valor menor que *S. palmatus* (13.11 ± 0.12), es decir, se requiere menor concentración de extracto para reducir el 50 % del radical DPPH°. Además, las muestras de rizoma-raíz de *S. bifidus* y *S. palmatus* (12.98 mg EAG o EC /100 mg de extracto seco ± 0.02 y 13.11 mg EAG o EC /100 mg de extracto seco ± 0.12 , respectivamente) presentaron una mejor actividad antioxidante que las muestras de hoja (19.32 mg E AG o EC /100 mg de extracto seco ± 0.123 y 44.43 mg E AG o EC /100 mg de extracto seco ± 0.55 , respectivamente). Lo cual está relacionado directamente con las mayores concentraciones de polifenoles totales, flavonoides y proantocianidinas en estas muestras. Además, en *S. palmatus* se pudo observar que la actividad antioxidante de la muestra de hoja es casi cuatro veces menor que la de rizoma-raíz

(13.11 mg E AG o EC /100 mg de extracto seco \pm 0.12 y 44.43 mg E AG o EC /100 mg de extracto seco \pm 0.55); mientras que en *S. bifidus* la actividad antioxidante entre las muestras de hoja y de rizoma-raíz la diferencia es una y media veces menor (12.98 mg E AG o EC /100 mg de extracto seco \pm 0.02 y 19.32 mg E AG o EC /100 mg de extracto seco \pm 0.123) (Cuadro 5).

La CI_{50} obtenida para el patrón de referencia (ácido ascórbico) fue de 4.74 μ g/mL \pm 0.0098 lo que nos indica una potente actividad antioxidante que supera las CI_{50} de las muestras. Se observó que la actividad antioxidante del ácido ascórbico es 9.37 veces mayor que la muestra de hoja de *S. palmatus* (44.43 μ g/mL \pm 0.55) y 4.07 veces mayor que la misma muestra de la especie *S. bifidus* (19.32 μ g/mL \pm 0.123). Por otro lado, la actividad antioxidante de las muestras de rizoma-raíz es 2.76 veces menor que la del ácido ascórbico, en ambas especies. Los valores de AAR muestran la misma tendencia que los valores de CI_{50} en todas las muestras (Cuadro 5).

Cuadro 5. Actividad antioxidante en las especies *S. bifidus* y *S. palmatus*.

Especies analizadas y patrón de referencia	Muestra	Concentración Inhibitoria al 50% (CI_{50}) (μ g/mL)	Actividad Antioxidante Relativa (AAR)
Ácido ascórbico	Patrón de referencia	4.74 \pm 0.010	100 (nota 4.74 / 4.74) * 100= 100)
<i>Sticherus bifidus</i>	Hoja	19.32 \pm 0.123	407.6220278
	Rizoma-raíz	12.98 \pm 0.02	174.1487729
<i>Sticherus palmatus</i>	Hoja	44.43 \pm 0.55	937.5360967
	Rizoma-raíz	13.11 \pm 0.12	276.5937926

Discusión

En las plantas, los compuestos polifenólicos más abundantes son los flavonoides (Cartaya & Reynaldo 2001); por lo que no es de extrañarse que se hayan encontrado en las especies de *Sticherus* analizadas, ya que todas las plantas presentan este tipo de metabolitos secundarios en diferentes concentraciones; sin embargo, se consideró un hallazgo relevante debido a que, los helechos son un grupo de plantas abundantes en el mundo, pero poco estudiadas a nivel fitoquímico. A pesar de que los flavonoides son compuestos que ingerimos comúnmente en nuestra dieta diaria a través de una gran variedad de frutos y vegetales (Cartaya & Reynaldo 2001), en México no hay gran referencia del uso comestible de especies de *Sticherus* se utilicen con ese fin. No obstante, Jiménez (2011), alude que algunas especies de *Dicranopteris* y *Gleichenella* se usan como alimento y fines medicinales en Colombia, aunque no especifica cómo se emplean.

En el presente estudio, se detectó la presencia de proantocianidinas en rizoma y raíz de *Sticherus bifidus* y *S. palmatus*. Los flavonoides son un grupo de compuestos que derivan de la ruta de los fenilpropanoides y comúnmente se dividen en tres grupos: flavanoles, flavonoles y antocianinas (Adams, 2006; Taiz & Zeiger, 2002); podemos encontrarlos de manera condensada en polímeros de flavan-3-ol, integrados de varias subunidades de catequinas, epicatequinas y epigallocatequinas (Adams, 2006; Downey *et al.*, 2006). Las proantocianidinas son polímeros que pertenecen a este grupo, también se les conoce como taninos condensados (Galindo, 2014).

Las proantocianidinas, son oligómeros de dos o más flavanóles y tienen una muy alta afinidad por las proteínas, formando complejos proteína-taninos (Hoste *et al.*, 2006; Makkar, 2006). En general, esta interacción es muy selectiva teniendo especial afinidad por aquellas de cadenas más largas y con proteínas ricas en prolinas. La facilidad de los TC de formar esos complejos es el aspecto más importante en sus efectos nutricionales y toxicológicos (Waghorn *et al.*, 1987).

Las proantocianidinas se encuentran presentes en tallos, hojas, inflorescencias y semillas de diversas especies usadas como forraje y se ha observado que los animales que consumen plantas con elevados niveles de TC disminuyen en gran medida, la utilización de nutrientes, principalmente las proteínas. De acuerdo con Jean-Blain (1998), las plantas sintetizan taninos como sistema de defensa contra herbívoros y otros patógenos (bacterias, hongos, insectos y virus); estos compuestos juegan un papel ecológico importante, ya que por sus caracteres astringentes no son muy apetecidos por varios herbívoros; de esta manera la planta reduce la frecuencia de ataque de los rumiantes y mejora sus posibilidades de sobrevivir. Es probable que en *Sticherus bifidus* y *S. palmatus* las proantocianidinas se sintetizan en la raíz y, posteriormente, se almacenen en el rizoma; o que se sintetizan en el rizoma y se almacenen en el mismo rizoma y raíz. En cualquiera de los dos casos, la acumulación de estos metabolitos secundarios, puede servir como mecanismo de protección en estos helechos, contra patógenos y/o animales depredadores, facilitando su supervivencia. Esto se debe a que las plantas que reciben mayor ataque de depredadores son capaces de aumentar su concentración de taninos (Torres-Acosta *et al.*, 2008).

Hasta la fecha no se ha citado la actividad antioxidante para ninguna especie de la familia Gleichenaceae, por lo que este estudio es el primero realizado en esta área y, se

lograron resultados interesantes. Se determinó la actividad antioxidante de los extractos etanólicos de muestras de hoja y rizoma-raíz en dos especies del género *Sticherus* usando como patrón de referencia al ácido ascórbico (vitamina C), el cual es un potente antioxidante. Se encontró, de manera general, que en la raíz y el rizoma hay mayores concentraciones de polifenoles totales, flavonoides y proantocianidinas, que en las hojas. Por tanto, la actividad antioxidante que presentó la hoja es inferior a la de rizoma-raíz. A su vez, las concentraciones de estos compuestos fueron mayores en *S. bifidus* que en *S. palmatus*, lo que concuerda con la mayor actividad antioxidante que presentó en *S. bifidus*, aunque no difiere considerablemente de la actividad que presentó *S. palmatus*.

Los metabolitos secundarios (polifenoles, flavonoides y proantocianidinas) encontrados en ambas especies de *Sticherus* son fuertes antioxidantes naturales (Lopera *et al.*, 2013; Ricco *et al.*, 2010; Szliszka & Krol, 2013). Al comparar su actividad antioxidante con la del patrón de referencia (ácido ascórbico), se consideró que estos helechos podrían presentar estos compuestos como mecanismo de defensa o protección ante las condiciones ambientales que enfrentan en los cortes de camino, como la exposición al sol y a diferentes tipos de rumiantes de la zona. De acuerdo con Jordá-Sierra (2010), las funciones que desempeñan algunas flavonas y flavonoles son de protección frente a radiaciones ultravioleta y algunos taninos e isoflavonoides son usados como defensa contra predadores o agentes patógenos.

Conclusiones

Las proantocianidinas se encontraron únicamente en los extractos de rizoma/raíz de *S. bifidus* y *S. palmatus* lo cual se correlacionó con el mayor contenido de polifenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante. Además, las hojas, raíz y rizoma de *Sticherus bifidus* y *S. palmatus* presentaron un buen potencial antioxidante en referencia al ácido ascórbico (vitamina C), el cual es un potente antioxidante.

Por otro lado, *Sticherus bifidus* presentó la mayor concentración de polifenoles totales, flavonoides y proantocianidinas. La concentración de las muestras de hoja fue menor que la de las muestras de rizoma-raíz para ambas especies. La actividad antioxidante de los extractos de rizoma-raíz fueron menores que el del ácido ascórbico, compuesto puro que se empleó como referencia.

Literatura citada

- ADAMS D. O. 2006. Phenolics and ripening in grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3):249-256.
- A VAN DORSTEN F., PETERS S., GROSS G., ROLDAN V.G., KLINKENBERG M., DE VOS R. C. H., VAUGHAN E., VAN J. P. M., POSSEMIERS S., VAN DE WIELE T. & JACOBS D.M. 2012. "Gut Microbial Metabolism of Polyphenols from Black Tea and Red Wine / Grape Juice Is Source-Specific and Colon-Region Dependent Gut Microbial Metabolism of Polyphenols from Black Tea and Red Wine / Grape Juice Is Source-Specific and Colon-Region Dependent," *J. Agric. Food Chemical*, 60(45):11331-11342.
- ALMARAZ A. N., ÁVILA R. J.A., DELGADO A. E., NARANJO J.N. & HERRERA C. J. 2010. El metabolismo secundario de las plantas, un nuevo concepto. *Vidsupra*, 1(2):39-50.
- BLOIS M.S. 1958. Antioxidant determination by use of a stable free radical. *Nature*, 181:1199-1200.
- BRAND-WILLIAMS W., CUVELIER M.E. & BERSET C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* 25-30 pp.
- CARTAYA O. & REYNALDO I. 2001. Flavonoides: características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22(2):5-14.
- DE BRITTO A.J., GRACELIN D.H.S. & KUMAR P.B.J.R. 2012. Phytochemical studies on five medicinal ferns collected from Southern Western Ghats, Tamilnadu. *Asian Pacific of Tropical Biomedicine*, 2(2):536-538.
- DOWNEY, M. O., N. K. DOKOOZLIAN Y M. P. KRSTIC. 2006. Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: a review of recent research. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3):257-268.
- GALINDO R. A. 2014. Proantocianidinas. IQB, la web de MEDCICLOPLEDIA, Diccionario ilustrado de términos médicos. <https://www.iqb.es/monografia/fichas/proantocianina.htm>

- GROH I.A. M., CHEN C., LÜSKE C., CARTUS A.T. & ESSELEN M. 2013. Plant polyphenols and oxidative metabolites of the herbal alkenylbenzene methyleugenol suppress histone deacetylase activity in human colon carcinoma cells. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2013:1-10.
- HALLIWELL B. & GUTTERIDGE J.M.C. 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press. United Kingdom. 704 pp.
- HAMINIUK C.W.I., MACIEL G.M., PLATA-OVIEDO M.S.V. & PERALTA R. M. 2012. Phenolic compounds in fruits-an overview. *International Journal of Food Science & Technology (IJFST)*, 47(10):2023-2044.
- HO R., TEAI T., BIANCHINI J.P., LAFONT R. & RAHARIVELOMANANA P. 2010. Capítulo 23: Helechos: de usos tradicionales al desarrollo farmacéuticos e identificación química de principios activos.
- HOSTE H., JACKSON F., ATHANASIADOU S., THAMSBORG S.M. & HOSKIN S.O. 2006. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends Parasitol*, 22:253-261.
- JEAN-BLAIN C. 1998. Aspectes nutritionnels et toxicologiques des tannins. *Revista de Medicina Veterinaria*, 149: 911-920.
- JIMÉNEZ A.S.E. 2011. Estado actual de conocimiento del uso de algunos de los Helechos presentes en Colombia. Tesis de Licenciatura. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias Bogotá D. C. 240 pp.
- JIMÉNEZ P. & GIRBES T. 2013. Determinación de la capacidad antioxidante en extractos de manzana, brocoli y alcachofa. Tesis doctoral. Nutrición y Bromatología, Facultad de Biología. Universidad de Valladolid. 168 pp.
- JORDÁ-SIERRA A. 2010. Los compuestos fenólicos como antioxidantes naturales para superar situaciones de estrés abiótico. Universidad Politécnica de Valencia. Grupo Agrotecnología (Iberfol S.L.)

- LILLO A., CARVAJAL-CAICONTE F., NUÑEZ D., BALBOA N. & ALVEAR ZAMORA M. 2016. Cuantificación espectrofotométrica de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en distintos berries nativos del Cono Sur de América. *RIA*, 42(2):168-174.
- LOPERA Y. E., FANTINELLI J., GONZÁLEZ-ARBELÁEZ L.F., ROJANO B., RÍOS J.L. & SCHINELLA G. 2013. “Antioxidant activity and cardioprotective effect of a nonalcoholic extract of *Vaccinium meridionale* Swartz during ischemia-reperfusion in rats.” *Evidence-based Complement. Altern. Med.* 1-10 pp.
- MAKKAR H.P.S. 2006. Chemical and biological assays for quantification of major plant secondary metabolites. BSAS Publication 34. The assessment of intake, digestibility and the roles of secondary compounds. Edited by C.A. Sandoval-Castro, F.D.DeB.D. Hovell, J.F.J. Torres-Acosta and A. Ayala-Burgos. Nottingham University Press. 235-249 pp.
- MARTÍNEZ F. & GONZÁLEZ G. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Departamento de Fisiología, Universidad de León y Hospital de León. España. *Nutrición Hospitalaria*, XVII:271-278.
- MATTIL H.A. 1947. Antioxidant. *The Annual Review of Biochemistry*, 16:177-192.
- MORENO-JIMÉNEZ M.R., TRUJILLO-ESQUIVEL F., GALLEGOS-CORONA M.A., REYNOSO-CAMACHO R., GONZÁLEZ-LAREDO R.F., GALLEGOS-INFANTE J.A., ROCHA-GUZMÁN N.E. & RAMOS-GÓMEZ M. 2015. Antioxidant, anti-inflammatory and anticarcinogenic activities of edible red oak (*Quercus* spp.) infusions in rat colon carcinogenesis induced by 1,2-dimethylhydrazine. *Food and Chemical Toxicology*, 80:144–153.
- MONAGAS M., SUAREZ R., GÓMEZ-CORDOVÉS C. & BARTOLOMÉ B. 2005. Simultaneous determination of nonanthocyanin phenolic compounds in red wines by HPLC - DAD/ESI-MS. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56:139-147.
- RICCO R.A., WAGNER M.L., PORTMANN E., REIDES C., LLESUY S., GURNI A.A. & CARBALLO M.A. 2010. Análisis de polifenoles, actividad antioxidante y genotoxicidad en especies argentinas de

- Lippia* y *Aloysia* (Verbenaceae). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 9(5):388-396.
- RICCO R. A., AGUDELO I.J. & WAGNER M.L. 2015. Métodos empleados en el análisis de los polifenoles en un laboratorio de baja complejidad. Lilloa, 52(2):161-174.
- RODRÍGUEZ-AGUIRRE O. E., ANDRADE-BARREIRO W.A. & DIAZ-LÓPEZ F.E. 2015. Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocconia frutescens* L. (Papaveraceae). Journal of Technology, 14(2):21-36.
- SZLISZKA E. & KROL W. 2013. Polyphenols isolated from propolis augment TRAIL-induced apoptosis in cancer cells. Evidence-based Complement. Alternative Medicine, vol. 2013.
- TAIZ, L. & E. ZEIGER. 2002. Plant Physiology. Plant cells Ed. Sinauer Associates. Estados Unidos. 3.
- TSAO R. & DENG Z. 2004. Procedimientos de separación de fitoquímicos antioxidantes naturales. Revista de cromatografía. B, Tecnologías analíticas en las ciencias biomédicas y de la vida, 812(1-2):85-99.
- TORRES-ACOSTA J.F. DE J., ALONSO-DÍAZ M.A., HOSTE H., SANDOVAL-CASTRO C.A. & AGUILAR-CABALLERO A.J. 2008. Efectos negativos y positivos del consumo de forrajes ricos en taninos en la producción de caprinos. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 9:83-90.
- VÁZQUEZ-FLORES A.A., ÁLVAREZ-PARRILLA E., LÓPEZ-DÍAZ J.A., WALL-MEDRANO A. & DE LA ROSA L.A. 2012. Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. Tecnociencia Chihuahua, 6(2):84-93.
- VEGA-AVILA E., TAPIA-AGUILAR R., JIMÉNEZ-ESTRADA M., VILLARREAL-ORTEGA M.L. & ROMÁN-RAMOS R. 2004. Cytotoxic activity of *Cuphea aequipetala*. Proceedings of the Western Pharmacology Society, 47:129-133.
- WAGHORN G.C., ULYATT M.J., JOHN A. & FISHER M.T. 1987. The effect of condensed tannins on the site of digestion of amino acids and other nutrients in sheep fed on *Lotus corniculatus*. British Journal of Nutrition, 57:115-126.

- WALLACE J.W., POZNER R.S. Y GÓMEZ L.D. 1983. A phytochemical approach to the Gleicheniaceae. American Journal of Botany, 70:207-211.
- WOLFE K., WU X. & LIU R.H. 2003. Antioxidant activity of apple peels. Agricola Food Chemistry, 51:609-614.
- YEN C.G. & DUH D.P. 1994. Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active-oxygen species. Department of Food Science, National Chung Hsing University. Taiwan, Republic of China, 42:629-632.
- YOUNGSON R. 2003. Antioxidantes y Radicales Libres. Editorial Edaf, S.A. Madrid. España.
- ZAPATA K., CORTES F.B. & ROJANO B. A. 2013. Polifenoles y Actividad Antioxidante del Fruto de Guayaba Agria (*Psidium araca*). Tecnologías de Información, 24(5):103–112.

DISCUSIÓN GENERAL

Las especies *Sticherus bifidus* y *S. palmatus* han desarrollado caracteres anatómicos en rizomas y hojas, con tejidos de sostén como colénquima y esclerénquima que les confieren flexibilidad y crecimiento indeterminado. Además, en el rizoma y todas las partes de la hoja (pecíolo, raquis y segmento foliar), presentaron doble endodermis alrededor del haz vascular; la primera endodermis presenta paredes engrosadas radialmente y la segunda endodermis muestra bandas de Caspary. Ogura (1972), señala que esta banda es una vaina de soporte y la considera como tejido mecánico alrededor de las meristelas del rizoma y pecíolo, por estar constituida por esclereidas con paredes gruesas de color marrón (Hernández *et al*; 2006). En *Sticherus bifidus* y *S. palmatus*, esta banda no está constituida por esclereidas, sino por bandas de Caspary cuya composición puedan ser compuestos fenólicos o taninos.

Se encontró en el córtex de los diferentes órganos de *Sticherus bifidus* y *S. palmatus*, células de parénquima y colénquima con contenidos color amarillo y rojizo, siendo más abundantes en la raíz, rizoma y pecíolo. Se consideró que estos contenidos corresponden a metabolitos secundarios de tipo polifenólico, ya que en el análisis fitoquímico, las pruebas para polifenoles y flavonoides dieron positivo para las muestras de hoja y, sobre todo, para las muestras de rizoma-raíz, además de ser donde se encontraron mayores concentraciones de estos componentes.

También se encontraron proantocianidinas (polímeros de flavan-3-ol, taninos condensados) en el rizoma y raíz. Sin embargo, la prueba dio negativa en la hoja, lo que indicó que estos compuestos no están presentes en este órgano. Esto coincide con el análisis histoquímico, donde se observó que solo a nivel de pecíolo había contenidos de color amarillo y rojo, en el raquis y segmento foliar estaban ausentes.

El hallazgo de proantocianidinas en las especies analizadas, es de gran importancia, ya que puede ser un parteaguas para una gran cantidad de estudios fitoquímicos y de actividad biológica. Una ventaja adicional de la presencia de proantocianidinas es que atraviesan la barrera hematoencefálica, lo que no ocurre con otros antioxidantes, y conlleva a la reducción del riesgo de enfermedades coronarias al mantener la permeabilidad vascular, evitando las lesiones de los radicales libres sobre las paredes de las arterias (Galindo, 2014).

De los polifenoles totales encontrados en las especies de *Sticherus* analizadas, aproximadamente el 85-95% corresponde a flavonoides y del 18-25% atañe a proantocianidinas; sin embargo, en el resto de compuestos polifenólicos corresponde a sustancias no flavonoideas entre las que podemos encontrar taninos hidrolizables. Los taninos condensados no son el único tipo de taninos presentes en las plantas. De acuerdo con Makkar (2006), los taninos son compuestos polifenólicos que por sus características se dividen en dos grandes grupos: i) taninos hidrolizables clasificados dentro de los compuestos polifenólicos no flavonoides y ii) taninos condensados que pertenecen a los polifenoles de tipo flavonoide (anexo 4). Los taninos hidrolizables (TH), contienen un carbohidrato como núcleo central, al cual se unen mediante enlaces éster, ácidos fenólicos carboxílicos (generalmente ácido gálico o

elágico) (Hoste *et al.*, 2006). Estos compuestos son altamente tóxicos y afectan principalmente al hígado y riñones, llegando a ocasionar la muerte (Waghorn & McNabb, 2003), ya que pueden ser absorbidos y circular por el flujo sanguíneo causando gran cantidad de efectos nocivos (Jean-Blain, 1988; Reed, 1995; Torre-Acosta *et al.*, 2008).

En vista de que éste estudio no abarcó los taninos hidrolizables, ni otros compuestos como terpenoides, alcaloides, esteroides, saponinas, antraquinonas, ácidos hidroxicinámicos, y otros compuestos aromáticos, referidos por De Brito *et al.* (2012) y Ho *et al.* (2010) como metabolitos secundarios presentes en helechos; es importante realizar otras pruebas para detectar la presencia y cuantificación de dichos compuestos y así, ampliar el conocimiento de los componentes fitoquímicos en estas plantas.

CONCLUSIONES GENERALES Y RECOMENDACIONES

En este estudio se analizaron aspectos anatómicos e histoquímicos de *Sticherus bifidus* y *S. palmatus* mediante una descripción de su anatomía, se encontró la presencia de traqueidas escalariformes en el pecíolo, una doble endodermis con bandas de caspary, cuya naturaleza química probablemente sea de compuestos polifenólicos o taninos y abundante tejido de sostén (colénquima y esclerénquima) presente en el córtex de la raíz, rizoma, pecíolo y raquis, en ambas especies. Esto proporcionó información valiosa para definir más acertadamente la taxonomía de este género y comprender cómo estos helechos se han adaptado a las condiciones hostiles de ambientes fragmentados.

Por otro lado, se encontró que ambas especies presentaron metabolitos secundarios con actividad antioxidante, de naturaleza polifenólica, flavonoidea y proantocianidinas. *S. bifidus* es la especie que presentó mayor concentración de estos tres componentes y una mejor actividad antioxidante; por otro lado, los órganos en donde se concentraron con abundancia estos metabolitos son la raíz y el rizoma y, en menor proporción, el pecíolo.

Se recomienda continuar con un análisis más a fondo, para determinar la naturaleza química de las bandas de caspary y cavidades presentes en el raquis de ambas especies. Además, se sugiere extender el análisis anatómico e histoquímico comparativo a las otras especies de *Sticherus* y los tres géneros de la familia Gleichenaceae presentes en México.

Por otro lado, se podrían realizar pruebas para detectar la presencia de taninos hidrolizables así como de otros metabolitos secundarios reportados en otras especies de helechos; ya que se desconoce si este tipo de compuestos está presente en las hojas, rizoma y/o raíz de las especies de *Sticherus* analizadas, debido a que no se hicieron pruebas fitoquímicas preliminares para detectarlos.

ANEXOS

ANEXO 1. CONTENIDO DE CUADROS

CAPÍTULO II.

CUADRO 1. Concentraciones de los extractos obtenidos de las especies *S. bifidus* y *S. palmatus* **Pág. 80**

CUADRO 2. Rendimiento de los extractos etanólicos de las especies *S. bifidus* y *S. palmatus*. **Pág. 81**

CUADRO 3. Análisis fitoquímico preliminar para polifenoles en las especies *S. bifidus* y *S. palmatus*.
Pág. 81

CUADRO 4. Resultados del análisis fitoquímico preliminar en las especies *S. bifidus* y *S. palmatus*.
Pág. 83

CUADRO 5. Actividad antioxidante en las especies *S. bifidus* y *S. palmatus*. **Pág. 84**

ANEXO 3. COMPLEMENTO DEL CAPÍTULO I.

CUADRO 1. Localidades de colecta del material de estudio. **Pág. 101**

CUADRO 2. Pruebas histoquímicas realizadas a las especies del género *Sticherus* analizadas (Fuentes: Krishnamurthy, 1988; López-Curto *et al.*, 2005; Ruzin, 1999). **Pág. 102**

CUADRO 3. Resultados de las pruebas histoquímicas en las especies *S. bifidus* y *S. palmatus*. **Pág. 102**

ANEXO 4. COMPLEMENTO DEL CAPÍTULO II.

CUADRO 1. Estructura química general de los compuestos Polifenólicos. (Fuentes: Martínez-Flores *et al.*, 2002; Vázquez-Flores *et al.*, 2012). **Pág. 103**

CUADRO 2. Concentraciones finales de los extractos obtenidos de las especies *S. bifidus* y *S. palmatus*. **Pág. 104**

ANEXO 2. CONTENIDO DE FIGURAS

CAPÍTULO I.

- FIGURA 1.** Ubicación del municipio de Tlatlauquitepec, Sierra Norte de Puebla. (Mapa tomado y modificado de Borja-Baeza & Alcántara-Ayala, 2010). **Pág. 41**
- FIGURA 2.** Corte transversal de raíz de *Sticherus bifidus*. **Pág. 46**
- FIGURA 3.** Pruebas histoquímicas en raíz de *Sticherus*. **Pág. 47**
- FIGURA 4.** Corte transversal de rizoma de *Sticherus palmatus*. **Pág. 48**
- FIGURA 5.** Pruebas histoquímicas en rizoma de *Sticherus*. **Pág. 50**
- FIGURA 6.** Corte transversal de pecíolo de *Sticherus*. **Pág. 52**
- FIGURA 7.** Pruebas histoquímicas en pecíolo de *Sticherus*. **Pág. 53**
- FIGURA 8.** Corte longitudinal de pecíolo de *Sticherus*, elementos conductores. **Pág. 54**
- FIGURA 9.** Corte transversal de raquis de *Sticherus*. **Pág. 55**
- FIGURA 10.** Corte transversal de raquis de *Sticherus*, cavidades. **Pág. 56**
- FIGURA 11.** Pruebas histoquímicas en raquis de *Sticherus*. **Pág. 57**
- FIGURA 12.** Pruebas histoquímicas en raquis de *Sticherus*. **Pág. 58**
- FIGURA 13.** Corte transversal de segmento foliar de *Sticherus*. **Pág. 59**
- FIGURA 14.** Epidermis de *Sticherus*. **Pág. 60**
- FIGURA 15.** Pruebas histoquímicas en segmento foliar de *Sticherus*. **Pág. 62**

ANEXO 3. COMPLEMENTO DEL CAPÍTULO I.

- FIGURA 1.** **Especies del Género *Sticherus*.** Municipio de Tlatlahuiquitepec, Puebla. **Pág. 101**

ANEXO 4. COMPLEMENTO DEL CAPÍTULO II.

- FIGURA 1.** **Estructura del DPPH* antes y después de la reacción con el antioxidante** (Imagen tomada y modificada de Alam *et al.*, 2012). **Pág. 104**

ANEXO 3. COMPLEMENTO CAPÍTULO I (CUADROS Y FIGURAS)

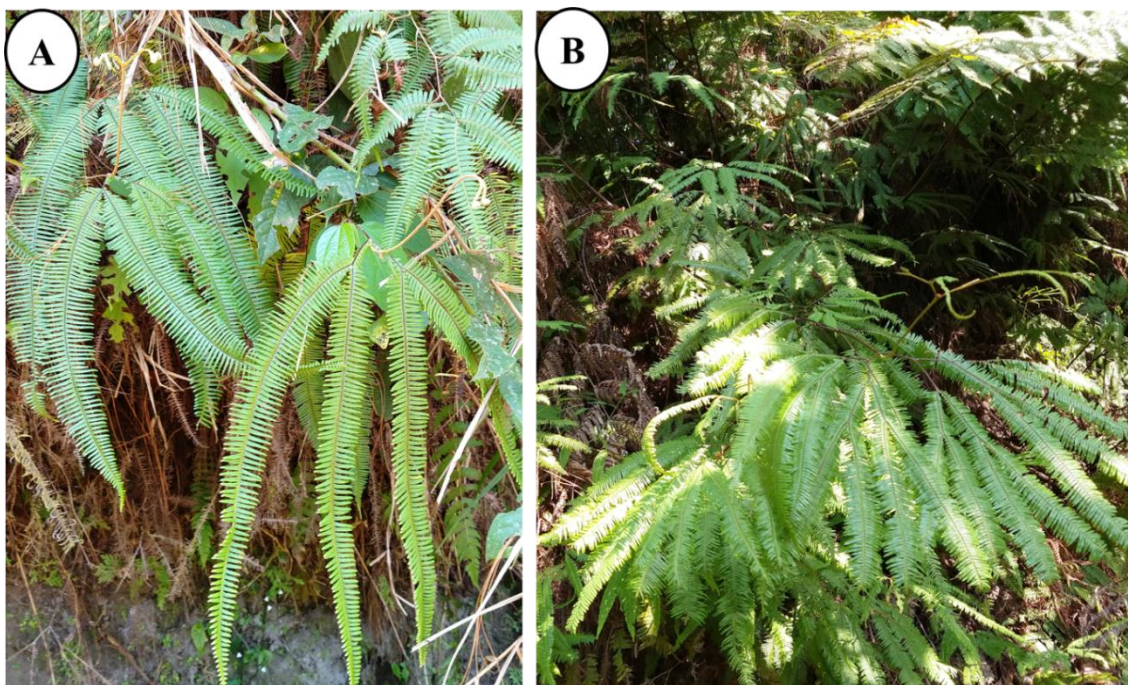


Figura 1. Especies del género *Sticherus* que se recolectaron en el Municipio de Tlatlahuiquitepec, Sierra Norte de Puebla. A. *S. bifidus*; B. *S. palmatus*.

Cuadro 1. Localidades de colecta del material de estudio.

Especie	Localidad	Coordenadas y altitud	Tipo de vegetación
<i>Sticherus bifidus</i>	Desviación a la presa de la Soledad, Mpio. Tlatlahuiquitepec, Puebla	30°40'40" S 102°23'140" W 734 msnm	Bosque mesófilo de montaña
<i>Sticherus palmatus</i>	Cerro de Guadalupe, carretera Km 18, antes de la desviación a la Presa de la Soledad Mpio. Tlatlahuiquitepec, Puebla.	19°55'34" N 93°14'702" W 1194 msnm	Bosque mesófilo de montaña

Cuadro 2. Pruebas histoquímicas realizadas a dos especies del género *Sticherus* (Krishnamurthy, 1988; Ruzin, 1999; López-Curto *et al.*, 2005).

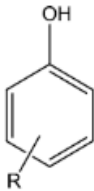
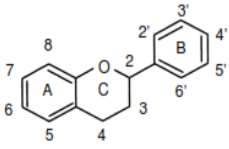
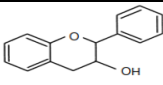
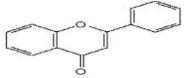
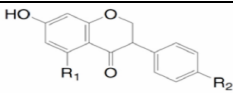
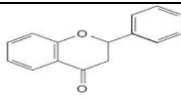
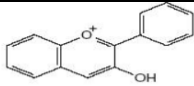
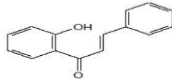
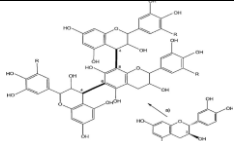
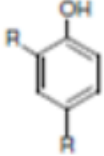
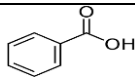
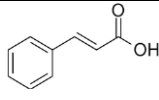
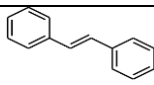
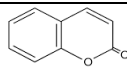
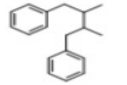
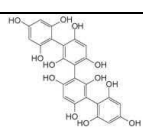
Compuesto	Colorante o reactivo	Resultados
Carbohidratos (polisacáridos)	PAS/HIO ₄	Rojo-púrpura
Almidón	Lugol	Azul-violeta intenso
Cutina y Lípidos	Rojo oleoso	Rosa-rojo
Lignina	Fluoroglucina clorhídrica	Rojo cereza
Proteínas	Azul negro de Naftol	Azul

Cuadro 3. Resultados de las pruebas histoquímicas en las especies *S. bifidus* y *S. palmatus*.

Prueba histoquímica	Coloración	Tejidos donde se ubicó	Especies	
			<i>S. bifidus</i>	<i>S. palmatus</i>
Rojo oleoso (Lípidos)	Rosaceo tenue a rojo	Raíz: endodermis y floema Rizoma: epidermis, endodermis y periciclo Pecíolo: epidermis, endodermis y periciclo Raquis: ambas epidermis, endodermis y periciclo Segmento foliar: capa que recubre ambas epidermis	+	+
PAS (Polisacáridos insolubles)	Rosa fusha	Raíz: endodermis, floema y xilema (haz vascular) Rizoma: floema y periciclo (haz vascular); parénquima (corteza) Pecíolo: floema y periciclo (haz vascular); parénquima (corteza) Raquis: floema y periciclo (haz vascular); parénquima (corteza) Segmento foliar: parénquima esponjoso y floema	+	+
Fluoroglucina clorhídrica (Lignina)	Rojo cereza	Raíz: esclerenquima y xilema Rizoma: esclerenquima y xilema Pecíolo: esclerenquima y xilema Raquis: esclerenquima y xilema (haz vascular); parénquima (corteza) Segmento foliar: esclerenquima y xilema	+	+
Lugol (Almidón)	Púrpura intenso	Raíz: no se encontró Rizoma: corteza (parénquima) Pecíolo: corteza (parénquima) Raquis: corteza (parénquima) Segmento foliar: parénquima esponjoso	+	+
Azul negro de Naftol (Proteínas)	Azul-verdoso	Raíz: xilema Rizoma: esclerenquima y xilema Pecíolo: xilema y en células por debajo de la epidermis Raquis: xilema y en células por debajo de la epidermis Segmento foliar: esclerenquima y xilema	+	+

ANEXO 4. COMPLEMENTO CAPÍTULO II (CUADROS)

Cuadro 1. Estructura química general de los compuestos polifenólicos. (Martínez-Flores *et al.*, 2002; Vázquez-Flores *et al.*, 2012).

<p>Compuestos polifenólicos</p> 	<p>Flavonoides (C₆-C₃-C₆)</p> 	<p>Flavan-3-ol</p> 
		<p>Flavona</p> 
		<p>Isoflavonas</p> 
		<p>Flavanona</p> 
		<p>Antocianidina</p> 
		<p>Chalconas</p> 
		<p>Taninos condensados</p> 
	<p>No flavonoides</p> 	<p>Ácidos benzoicos</p> 
		<p>Ácidos cinámicos</p> 
		<p>Estilbenos</p> 
		<p>Cumarinas</p> 
		<p>Lignanos</p> 
		<p>Taninos hidrolizables</p> 

Cuadro 2. Muestras obtenidas de las especies *Sticherus palmatus* y *Sticherus bifidus*.

Especies	Muestras (extractos etanólicos)	Cantidad de planta (gr)
<i>Sticherus bifidus</i>	Hoja	190
	Rizoma-raíz	20
<i>Sticherus palmatus</i>	Hoja	500
	Rizoma-Raíz	140

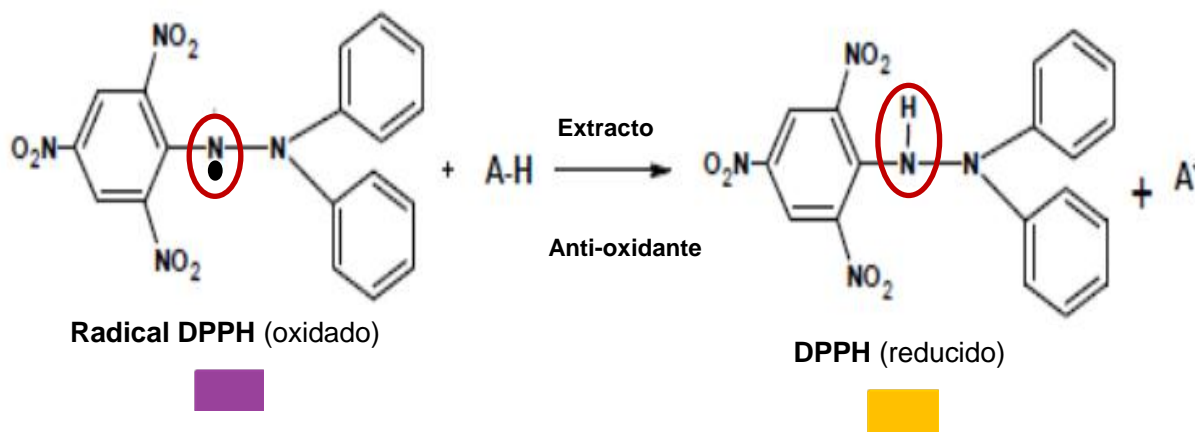


Figura 1. Estructura del DPPH* antes y después de la reacción con el antioxidante (Imagen tomada y modificada de Alam *et al.*, 2012).



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00219

Matricula: 2202800684

Estudio anatómico, histoquímico y fitoquímico de *Sticherus bifidus* (Willd.) Ching y *S. palmatus* (W. Schanfn. ex E. Fourn.) Copel.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 10:00 horas del día 17 del mes de abril del año 2023 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. SUSANA ADRIANA MONTAÑO ARIAS
DRA. AMELIA LOPEZ HERRERA
M. EN B. LAURA GUZMAN CORNEJO
DRA. PERLA YOLANDA LOPEZ CAMACHO

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGIA

DE: DIANA SILVA PUENTE

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



DIANA SILVA PUENTE
ALUMNA

REVISÓ

MTRA. ROSALÍA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBS

DR. JOSE LUIS GOMEZ OLIVARES

PRESIDENTA

DRA. SUSANA ADRIANA MONTAÑO ARIAS

VOCAL

DRA. AMELIA LOPEZ HERRERA

VOCAL

M. en B. LAURA GUZMAN CORNEJO

SECRETARIA

DRA. PERLA YOLANDA LOPEZ CAMACHO