

Plantas medicinales del género *Smilax* ★ en Centroamérica



CATIE

Centro Agronómico Tropical
de Investigación y Enseñanza

CYTED

Programa Iberoamericano de Ciencia
y Tecnología para el Desarrollo

Plantas medicinales del género *Smilax* en Centroamérica

Actas de la reunión
celebrada del 22 al 25 de setiembre de 1997
en Turrialba, Costa Rica

**Gabriel Robles
Róger Villalobos, Editores**

**Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE)
Proyecto Conservación para el Desarrollo Sostenible en América Central
(Olafo)**

**Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED)
Sub Programa X de Química Fina Farmacéutica
Red Iberoamericana de Productos Fitofarmacéuticos (RIPROFITO)**

**Turrialba, Costa Rica,
1998**

El CATIE es una asociación civil, sin fines de lucro, autónoma, de carácter internacional, cuya misión es mejorar el bienestar de la humanidad, aplicando la investigación científica y la enseñanza de postgrado al desarrollo, conservación y uso sostenible de los recursos naturales. El Centro está integrado por miembros regulares y miembros adherentes. Entre los miembros regulares se encuentran: Belice, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Nicaragua, República Dominicana, Panamá, Venezuela y el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA).

Conservación para el Desarrollo Sostenible en América Central es un proyecto del Área de Manejo y Conservación de la Biodiversidad del CATIE, financiado por las Agencias de Cooperación Internacional de Dinamarca, Noruega y Suecia. Sus objetivos son investigar, validar y difundir modelos sostenibles de sistemas de producción basados en el uso integral de los productos y servicios del bosque. Las acciones del proyecto se basan en la participación y protagonismo de las comunidades locales, involucrando las instituciones nacionales.

© Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza
Turrialba, Costa Rica, 1998.

584.323

P713 1997 Plantas medicinales del género *Smilax* en Centroamérica: actas de la reunión celebrada del 22 al 25 de setiembre de 1997 en Turrialba. Costa Rica / Gabriel Robles, Róger Villalobos, eds. -- Turrialba, C.R. : CATIE. Proyecto Conservación para el Desarrollo Sostenible en América Central : CYTED : RIPROFITO, 1998. 178 p. ; 27 cm. -- (Serie técnica. Reuniones técnicas / CATIE : no. 2)

ISBN 9977-57-314-X

1. *Smilax* – América Central – Congresos, conferencias, etc.
 2. Plantas medicinales – América Central – Congresos, conferencias, etc.
- I. Robles, Gabriel, ed. II. Villalobos, Róger, ed. III. CATIE IV. Título V. Serie

Publicación financiada parcialmente por el Organismo Noruego de Cooperación para el Desarrollo (NORAD) y la Agencia Danesa para el Desarrollo Internacional (DANIDA)

El contenido de los trabajos publicados en esta obra es responsabilidad absoluta de los autores

INDICE

Presentación	v
La reunión sobre plantas medicinales del género <i>Smilax</i>	1
Acciones para el uso de plantas medicinales en Mesoamérica	
El Proyecto Olafo	13
El Programa CYTED	17
RIPROFITO	19
El INBio	23
Taxonomía	
Especies del género <i>Smilax</i> en Costa Rica	31
Zarzaparrilla	34
Determinación taxonómica de <i>Smilax aristolochiaefolia</i> y <i>S. moranensis</i> por medio de marcadores moleculares RAPD	43
Etnobotánica	59
Aprovechamiento	93
Métodos de propagación.....	101
Química	133
Bioensayos.....	145
Industrialización y comercialización	155
Anexos	171
1. Programa de la reunión	173
2. Lista de participantes	176

PRESENTACIÓN

Por más de 400 años, la zarzaparrilla ha sido extraída y comercializada, además al igual que ha ocurrido con otras tantas especies tropicales valiosas, estas plantas son extraídas de su hábitat natural, sin que existan planes técnicos que garanticen su manejo sostenible y por ende su conservación genética.

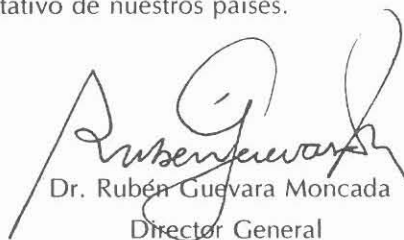
A nivel mundial existe un creciente interés por el uso de plantas medicinales, tanto en los países desarrollados- en donde una gran cantidad de medicamentos son elaborados a partir de la identificación de ingredientes activos obtenidos de material vegetal sacado directamente de los bosques tropicales- como en los países en desarrollo, cuyas condiciones económicas hacen de la medicina natural una alternativa importante y en algunos casos, la única opción accesible en muchas comunidades.

Los intereses comerciales, conjugados con las crecientes demandas por productos naturales, la explosión demográfica y las altas tasas de intervención de los ecosistemas naturales han llevado a situaciones de amenaza a muchas especies medicinales tropicales. En ese contexto, es necesario llevar a cabo un análisis interdisciplinario de la problemática en torno a los recursos derivados de la diversidad biológica, así como la determinación de las prioridades y las acciones a seguir para su utilización sostenida. Además se deben revisar las políticas existentes, sobre la utilización y conservación de los recursos naturales, basándolas en información científica, económica, social y ambiental, que permita una acertada toma de decisiones.

Frente a esta realidad, el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) considera que el desarrollo de Centroamérica debe centrarse en un equilibrio en la relación entre los intereses de corto, mediano y largo plazo, de las poblaciones locales, la conservación/ uso sostenible de los recursos naturales y sus hábitats y la derivación de beneficios tangibles para todos los actores involucrados.

La colaboración internacional sigue siendo fundamental para la búsqueda de alternativas viables conducentes al desarrollo de los países de la región latinoamericana, en general y sobre este tema en particular. Es así como el CATIE, con la colaboración del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED), organizó la "Reunión sobre plantas medicinales del género Smilax", como una iniciativa que pretende aportar un marco de referencia para la conservación y el uso sostenible de esta especie, en beneficio de los habitantes de nuestro planeta.

Esta es una actividad aislada que encaja como un eslabón mas de una cadena de actividades que contribuyen a alcanzar un desarrollo sostenible y equitativo de nuestros países.



Dr. Rubén Guevara Moncada
Director General

La Reunión sobre Plantas Medicinales del Género *Smilax*

INTRODUCCIÓN

Aunque los bosques tropicales ocupan apenas del 6 al 7% de toda la superficie terrestre, probablemente albergan entre el 50 y 90% de todas las especies de plantas y animales del mundo. En particular, los bosques de Mesoamérica sustentan una gran diversidad de especies, pero su extensión disminuye conforme las poblaciones humanas crecen y extienden su influencia. Entre 1981 y 1990, la tasa de deforestación en Mesoamérica fue de 1,5% anual; una de las más altas del mundo tropical. Esta situación pone en peligro la riqueza en recursos naturales existente en los bosques.

El hombre moderno desconoce el bosque, y el número de especies que de él aprovecha es reducido; por esa razón, le confiere muy poco valor y, en muchos casos, contribuye con la deforestación. Una alternativa para frenar la destrucción es valorizar los servicios y productos que ofrecen los bosques; en especial, la posibilidad de explotar infinidad de productos no maderables.

Numerosas plantas medicinales están amenazadas por la pérdida de variedad genética debido a la destrucción de su medio natural. A medida que se extinguen esas plantas, las comunidades locales pierden recursos utilizados por la medicina tradicional, y en general se pierde el material del cual se extraen, o podrían extraerse en el futuro, nuevos productos fitofarmacéuticos.

A nivel mundial, alrededor de 120 sustancias químicas puras usadas en medicina son extraídas de unas 90 especies de plantas. A nivel local, los grupos nativos que habitan en los bosques tropicales usan numerosas plantas como medicamentos. La Organización Mundial de la Salud ha listado aproximadamente 21 000 nombres de plantas (incluyendo sinónimos) usadas como medicamentos en el mundo. Sin embargo, muy pocas han sido sometidas a un escrutinio científico. Cerca de 5000 especies de plantas superiores han sido investigadas como fuentes potenciales de nuevos fármacos, la mayoría de las cuales provienen de bosques templados, lo que evidencia que el potencial bioquímico de las plantas tropicales ha sido pasado por alto.

La pérdida de material genético y de conocimientos tradicionales sobre las plantas medicinales ha motivado el trabajo de diferentes organismos, como el World Resources Institute (WRI), la Unión Mundial para la Naturaleza (UICN), el Proyecto de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), la Organización Mundial para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Organización de las Naciones Unidas para la educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO), el

Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) y el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED). El objetivo de sus acciones es alcanzar el desarrollo económico de las comunidades locales aprovechando para ello las alternativas que estén al alcance de toda la población mediante el uso racional y sostenible de la biodiversidad.

En este contexto, se realizó la 'Reunión sobre plantas medicinales del género *Smilax*', una iniciativa del CATIE a través de la Unidad de Manejo y Conservación de la Biodiversidad, la cual ejecuta el Proyecto Conservación para el Desarrollo Sostenible en América Central (Olafo). Con esta iniciativa cooperó el CYTED a través del Subprograma X de Química Fina Farmacéutica.

Esta iniciativa es producto de la cooperación entre dos organizaciones que están concientes de que la medicina tradicional es la base del cuidado primario de la salud para más de un 80% de la población de los países en desarrollo. Simultáneamente, las plantas medicinales forman parte de una creciente y próspera industria farmacéutica que puede aportar una contribución significativa a la economía de los distintos grupos involucrados en el proceso de producción, industrialización y comercialización. CATIE y CYTED unifican esfuerzos en la búsqueda de vías conjuntas que aseguren a la sociedad el acceso a la medicina natural, o a los productos fitofarmacéuticos cuyos ingredientes activos sean extraídos de plantas tropicales.

Con la participación de una amplia gama de profesionales cuyas actividades abarcan desde la producción y el aprovechamiento racional y sostenible de los recursos naturales hasta la industrialización de fitofármacos este evento pretendía reforzar las acciones regionales que se desarrollan con las plantas medicinales, como una forma de valorizar la biodiversidad en los bosques tropicales. Aunque el evento se centró en un género en particular, solo con el conocimiento de la mayoría de las especies de un ecosistema es que se puede contar con los elementos técnicos que permitan mejorar tanto los sistemas productivos naturales como los agroecosistemas. Bajo este mismo concepto, el CATIE realizó en 1995, con el apoyo de la Universidad de Costa Rica y la FAO, una reunión a nivel centroamericano para conocer el avance de la investigación sobre *Quassia amara*, especie con potencial como medicinal e insecticida natural, que constituye otro eslabón en el proceso de desarrollo de diferentes recursos nativos no maderables de la región.

Objetivos de la Reunión

1. Conocer los avances y resultados de las investigaciones biológicas en Mesoamérica sobre domesticación y manejo de poblaciones naturales de *Smilax* spp., así como en los aspectos químicos, bioquímicos y de estandarización de extractos para el uso de la medicina fitofarmacéutica.
2. Definir, en conjunto con investigadores, empresarios y técnicos, las estrategias de investigación y de producción a ser aplicadas con *Smilax* spp. para contribuir a la

conservación de los bosques tropicales y el desarrollo económico de las comunidades que aprovechan sus recursos.

Antecedentes

¿Por qué investigar *Smilax* spp.?

Una gran mayoría de las plantas medicinales son aprovechadas directamente del bosque en forma silvestre; son relativamente pocos los ejemplos de cultivo. Sólo en Costa Rica, de un total de 167 toneladas de plantas medicinales que se transforman y/o comercializan, casi 85 toneladas (36%) son de origen silvestre (Ammour et al. 1994). Aún en los países desarrollados, una alta proporción de las especies utilizadas como medicinales (con valores de millones de dólares) son extraídas de su ambiente natural, en tanto que el cultivo de las especies más importantes no se remonta a más de 20 años atrás (WCMC 1992). En muchos casos, los extractos bioquímicos de las plantas son usados como moldes para la síntesis de medicamentos, por lo que las fuentes de material natural ya no son requeridas; sin embargo, una gran cantidad de moléculas complejas cuya síntesis química se torna muy difícil requieren siempre de las fuentes de materia prima.

El aprovechamiento desde la época precolombina del género *Smilax* es un buen ejemplo del potencial de las plantas medicinales en los bosques de Mesoamérica; no sólo por su importancia en la medicina local, sino como producto de exportación (Ocampo 1994). Sin embargo, al igual que ocurre con otras especies, las poblaciones naturales de *Smilax* disminuyen drásticamente debido a la deforestación y a la extracción indiscriminada. Según FAO (1994), este género en Centroamérica y México es un recurso genético altamente degradado.

La necesidad del enfoque interdisciplinario e interinstitucional

El aprovechamiento y la conservación de la biodiversidad de los bosques tropicales sólo puede alcanzarse bajo un trabajo multidisciplinario y multisectorial, tal como lo ha demostrado la experiencia del Proyecto Olafo a través del diseño de sistemas de aprovechamiento diversificado de los recursos naturales, en beneficio de los habitantes de las regiones tropicales.

De igual forma, el Subprograma X de Química Fina Farmacéutica del CYTED ha procurado un enfoque alternativo de trabajo, al vincular la investigación química de los recursos naturales y las necesidades de la empresa privada, promoviendo en este caso el desarrollo de las plantas medicinales.

Si realmente existe un interés manifiesto por conciliar los términos conservación y desarrollo, el enfoque interdisciplinario y multisectorial constituye una herramienta fundamental

para identificar alternativas viables que contribuyan a la economía de las comunidades, ayudando a valorar y conservar la biodiversidad con base en el aprovechamiento racional y sostenible de sus recursos. Para esto, es preciso enfrentar el distanciamiento entre los investigadores y los empresarios, quienes son los que hacen viable el desarrollo económico de los recursos naturales.

Desarrollo de la Reunión

La Reunión sobre los avances de la investigación en el género *Smilax* se basó en la presentación de trabajos y experiencias generadas en la región, Se abarcaron temas como taxonomía, biología, técnicas de reproducción, producción en el bosque, domesticación, química, bioquímica, toxicidad, industrialización y mercado. También hubo presentaciones magistrales por parte de especialistas en la materia. Finalmente se abrió un espacio para discutir la problemática identificada, así como posibles alternativas de solución y propuestas que permitan llenar los faltantes de información necesaria para llevar adelante este proceso de desarrollo.

La etapa de discusión y análisis se llevó a cabo en dos grupos de trabajo por áreas temáticas y de interés. Al analizar los resultados expuestos y discutidos en plenaria, se constató una serie de coincidencias en la identificación de problemas y alternativas.

Conclusiones de la Reunión

El género *Smilax*, representado por varias especies en la región, es un recurso de la flora nativa de Mesoamérica con larga tradición de uso y de explotación como medicamento y materia prima industrial; pero cuyo verdadero potencial debe estudiarse más a fondo. *Smilax* puede ser, además de una alternativa para un mejor aprovechamiento de la biodiversidad, una fuente de sustancias útiles para varios sectores de la industria:

- medicinal
- alimentaria (colorante, cordial)
- biocida
- cosmético
- otras industrias vinculadas

Bajo este contexto, se plantearon tres objetivos que permiten establecer un marco, no sólo para la conservación y uso sostenible de estas plantas, sino también para orientar esfuerzos hacia la domesticación de las especies que se definan como prioritarias.

- 1• Lograr un mejor conocimiento taxonómico del género *Smilax* y de las especies representadas en la región.
- 2• Determinar las especies más promisorias del género a partir de los estudios actualmente existentes.
- 3• Promover el desarrollo de las especies con mayor potencial o valor económico.

Problemas por resolver para alcanzar los objetivos

- 1 • **La identificación taxonómica** de las especies de *Smilax* es, hasta el momento, bastante confusa e incierta. En la región centroamericana se encuentran varias especies sobre las cuales se han hecho diversas investigaciones. Sin embargo, no se sabe con certeza cuáles son las especies tratadas o si se han mezclado, lo que pone en evidencia una gran incertidumbre en la información disponible sobre la etnobotánica y etnofarmacología del género. Si se pretende conservar eficazmente esta planta es esencial conocer con precisión las especies de interés, sus nombres correctos y los sitios donde crecen.

Alternativas

- * Detrás de todo programa de conservación y uso de plantas medicinales debe haber un programa nacional de utilización y conservación. Este debe incluir un mecanismo que permita identificar las plantas, precisar su distribución y evaluar su escasez y abundancia. Los investigadores identifican las plantas a partir de especímenes de herbario, cuya identidad ha sido confirmada por especialistas. En este sentido, es fundamental recoger y reunir para los herbarios muestras de los especímenes del género *Smilax*, con el cuidado de recopilar todos los órganos necesarios para una identificación precisa: flores, frutos, semillas, raíces, hojas normales. En la III Reunión de la Red de Herbarios de Mesoamérica y El Caribe (17-21 noviembre 1997, San José, Costa Rica) se presentó un proyecto para **esclarecer la taxonomía** del género *Smilax* en la región (En la redacción de esta propuesta participarían técnicos de la *Unidad de Manejo y Conservación de la Biodiversidad*, específicamente del *Proyecto Olaño-CATIE* y del *Herbario USJ* de la *Universidad de Costa Rica*). En dicho proyecto, sería recomendable involucrar las universidades y/o estudiantes que estén realizando trabajos de graduación o tesis, dado que muchos de los herbarios pertenecientes a la Red forman parte de las Universidades.
- * Se deben realizar y promover **recolectas de muestras botánicas** de *Smilax* para constituir más y mejores colecciones del género en los herbarios e instituciones involucradas. Los representantes de la Escuela de Ciencias Ambientales y del Departamento de Química de la Universidad Nacional (Costa Rica); de la Facultades de Agronomía y de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos (Guatemala); del Laboratorio de Ensayos Biológicos (LEBI) y del Centro de Investigaciones en Productos Naturales (CIPRONA), de la Universidad de Costa Rica; del Departamento de Agronomía del Instituto Tecnológico (Costa Rica); del Área de Manejo y Conservación de Bosques Naturales y Biodiversidad del CATIE y de la Empresa FARMAYA (Guatemala) se comprometieron a colaborar con esta iniciativa, promoverla y buscar cooperación en su propia institución y en otras. En el caso de FARMAYA, la empresa estaría sirviendo como un canal de comunicación para que los empresarios que compran el material del campo, soliciten a los proveedores su apoyo para la recolección de muestras botánicas.

En el caso concreto del Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio-Costa Rica), y aprovechando la presencia en la reunión del *Dr. Werner Nader* y el apoyo del *Dr. Oscar Castro* (miembro fundador de INBio), se discutió la moción para solicitar y promover en el INBio la **colecta e identificación de muestras** de *Smilax* en el territorio de Costa Rica, declarando al género como prioritario en los programas de colectas permanentes que realiza su equipo de parataxónomos.

- * Es necesario **aclarar la información etnobotánica de *Smilax***, en cuanto a la relación entre identidad de las especies y los usos que se les da en la región. Para ello, la Lic. Rebeca Aragón, quien representó a la Agencia de Cooperación Técnica del IICA en Costa Rica, promovería la propuesta para que dentro de los estudios etnobotánicos que el IICA realiza se dé prioridad a la información del género *Smilax*, la cual se hará acompañar de muestras botánicas para tener una clara identificación taxonómica y, paralelamente, datos sobre su uso.
- 2• No hay claridad sobre **los principios activos que posee cada una de las especies con las que hasta el momento se ha venido trabajando**. Esto ha provocado generalizaciones peligrosas en cuanto a las propiedades y composición química atribuidas a las especies de *Smilax*. Dos de los tipos de sustancias químicas más importantes identificadas en las raíces de este género son saponinas y antocianinas que tienen mucha utilidad como principios químicos aunque en contextos y con fines diferentes y que, por lo común, no aparecen juntas en la misma planta.

Alternativas

- * **Realizar un tamizaje** para determinar los principios químicos en cada especie. Para ello se propone utilizar metodologías claras, que puedan repetirse para verificaciones, a fin de afinar y comparar los resultados. Se proponen como marcadores las moléculas de tipo:
 - .. Saponinas (como marcador universal asociado al género en la literatura)
 - .. Antocianinas (como indicador de un potencial importante en el mercado farmacológico y alimentario actual).

La orientación técnica en este proceso de tamizaje químico la pueden brindar el *Dr. Oscar Castro* y el *Dr. Gerardo Mora*. Actualmente el *Dr. Castro* se dedica a la determinación de las propiedades antihemorrágicas de la cuculmeca (posiblemente relacionadas con antocianinas). El *Dr. Mora* ofrece realizar la determinación básica de presencia de los indicadores en especies bien respaldadas por muestras botánicas.

Este tamizaje permite un primer agrupamiento de las especies en base a la identificación de los productos químicos que contienen sus raíces. La caracterización química de las especies debe ampliar los compuestos por identificar; necesariamente, todos los análisis

químicos de tamizaje y caracterización deben ir acompañados por muestras botánicas para su identificación taxonómica. Esto no significa, sin embargo, que a todas las muestras botánicas se les vaya a realizar análisis químicos. Es necesario establecer normas y procedimientos de análisis.

- 3• **No hay fuentes seguras de materia prima** para abastecer procesos industriales ni se han desarrollado criterios silviculturales para **hacer sostenible el aprovechamiento de poblaciones naturales**. A pesar que en Guatemala se empieza a hablar de algunas pequeñas zonas de "manejo" en donde están realizando un semicultivo, casi la totalidad de la materia prima proviene de la extracción en áreas boscosas. No se ha reflexionado sobre la sostenibilidad del sistema de cosecha o de la cantidad cosechada.

Alternativas

- * Promover **estudios sobre el manejo** de las poblaciones naturales (a la luz de las experiencias generadas por el CATIE en el proyecto Olafo), considerando que las áreas boscosas naturales son el hábitat donde se encuentran las plantas del género *Smilax*, y al mismo tiempo las fuentes actuales de toda la materia prima. Los representantes del CATIE se comprometen a que el Área de Manejo y Conservación de Bosques y Biodiversidad, dentro de su línea de investigación en productos no maderables del bosque, prosiga con esta actividad al menos en Guatemala y Costa Rica. Los representantes de la Universidad Nacional y del Instituto Tecnológico e Costa Rica se comprometen a fomentar y apoyar esta línea de acción dentro de sus instituciones.
 - * Debe realizarse un **diagnóstico de la distribución** de especies de *Smilax* en cada país de la región con el fin de determinar áreas claves para la conservación y manejo productivo del recurso. Esto significaría implementar un proyecto para el cual se requerirían *fondos específicos*; aunque con el apoyo del trabajo de colectas de los herbarios se puede ir avanzando en este sentido. El CATIE podría hacer parte de este trabajo en Petén, Guatemala, dadas las actividades que realiza en esa zona en relación con manejo de bosques (productos maderables y no maderables).
 - * Establecer áreas de enriquecimiento y conservación, tanto *in situ* (en el bosque) como *ex situ* (sistemas agroforestales), de las especies cuyo potencial para la industria haya sido verificado.
- 4• Deben desarrollarse criterios técnicos para el establecimiento de **sistemas de cultivo de especies comerciales seleccionadas por su potencial productivo**. Tales especies deben estar perfectamente identificadas a nivel taxonómico y caracterizadas a nivel químico. Dados los hábitos de crecimiento del género, se puede presuponer cultivo dentro del bosque ó en sistemas agroforestales. Al llegar a este nivel de producción controlada, es necesario que exista una estandarización de las características físicas y químicas del producto.

Alternativas

- * Realizar un **programa integral para la propagación** masiva de especies de *Smilax* con potencial económico (incluyendo técnicas de cultivo *in vitro*). Tal programa debe incluir análisis de costo-beneficio de las acciones realizadas. Dentro de esta línea, el ITCR y la Facultad de Agronomía de la USAC han realizado importantes avances, por lo que ambas instituciones seguirían sus trabajos y participarían en el programa, así como la empresa Bouganvillea, que ha realizado trabajos en métodos de reproducción asexual con fines de producción en un sistema de cultivo extensivo.
- * Promover, ante los diferentes sectores productivos forestales y agrícolas en cada país, el establecimiento de áreas de cultivo de *Smilax* con miras a una producción masiva que surta a la industria. Estos podrían ser, por ejemplo, el **sector cafetalero** de Guatemala y los **grupos organizados** de productores y recolectores de plantas medicinales.

5 • Se debe continuar la validación de la actividad biológica y farmacológica de los compuestos presentes en los extractos de *Smilax*. Esto no significa que se deba esperar a que la parte taxonómica esté totalmente aclarada, pero sí hay que tener la seguridad de que el material al que se le hacen los análisis químicos, sea el mismo con el cual se realiza la validación.

Alternativas

- * El Laboratorio de Ensayos Biológicos de la UCR y FARMAYA pueden complementar su trabajo a manera de control cruzado. En el caso del Laboratorio, se ha avanzado en la validación biológica y se trabaja a nivel de análisis de cortes histológicos de los tejidos; FARMAYA está en el proceso de validación. Es necesario que ambas trabajen sobre los mismos materiales, los cuales también deben corresponder a los análisis químicos realizados en el CIPRONA.
- * FARMAYA ha avanzado en ensayos clínicos de extractos de un material identificado (aunque tal vez no a nivel taxonómico), con actividades antifúngicas, antiinflamatoria y para psoriasis. La empresa está en disposición de compartir alícuotas con otros grupos interesados en esa clase de validación en la región; para ello, sería necesario identificar plenamente los materiales con los que el LEBI trabaja.

Síntesis

Hasta el momento son claros los compromisos; pero también es claro que por lo menos hay dos pasos necesarios para poder cumplirlos. Uno es simplemente seguir trabajando cada uno en su especialidad, aunque con mayor coordinación y con base en una estrategia común; se pretende que cada quien con los recursos que dispone avance y tenga resultados a corto plazo (un año).

El otro paso se refiere a todas las actividades pendientes, para las que es necesario elaborar propuestas y conseguir los fondos para su ejecución. Dado que los participantes conforman un equipo multidisciplinario; sería necesario que un grupo (CATIE, CYTED y CIPRONA) definieran un esquema de lo que podría ser ese proyecto (o varios proyectos por temas), y los demás aportarían ideas desde su perspectiva particular, pero concientes de que existe un objetivo común. Es necesario recalcar la importancia que puede tener una propuesta a nivel regional, que involucra a diferentes instituciones de investigación y empresas, y en la cual participan y apoyan también organizaciones internacionales.

Debido a la experiencia que posee el CATIE en el desarrollo de proyectos multidisciplinarios, y la incorporación de los productos no maderables del bosque dentro de sus líneas de investigación, los participantes sugieren que sea esta institución el ente coordinador. El CYTED apoyaría este trabajo y buscaría un espacio para que en un año se reunieran los investigadores que tengan nuevos resultados y hayan avanzado en la investigación sobre *Smilax*. Asimismo, la USAC se ofrece para organizar una segunda Reunión en dos años (con el apoyo de los demás en la búsqueda de fondos) para dar seguimiento a los compromisos adquiridos en esta reunión y evaluar el avance.

Bibliografía

- Ammour, T.; Ocampo, R.; Robles, G. 1994. Caracterización de los sectores asociados a la producción, comercialización y transformación de plantas medicinales en Costa Rica. Turrialba, Costa Rica, CATIE. Proyecto Olafo. 36 p. (Documento de Trabajo N°3)
- FAO. 1994. Conservation and sustainable utilization of the plant resources of Mexico and Central America: as part of the preparatory process for the Fourth International Technical Conference on Plant Genetic Resources (4, 1996, Leipzig, Germany). Rome. consultado 20 septiembre 1996. Disponible en <http://web.icppgr.fao.org/srm/srm-SYN/mex/2.html>.
- Ocampo, R. 1994. La domesticación de plantas medicinales; antecedentes de la reunión. *In* Domesticación de plantas medicinales. Actas de la Reunión Técnica Centroamericana (30 de mayo al 3 de junio de 1994, Turrialba, Costa Rica). CATIE-OPS/OMS-OEA p. 5-10.
- WCMC. 1992. Global Biodiversity. Londres, G.B., Chapman and Hall. 585 p.

Acciones para el uso de
plantas medicinales en Mesoamérica

*Acciones para el uso de
plantas medicinales en Mesoamérica*

EL PROYECTO OLAFO

El Proyecto Olafo

Tania Ammour¹

Los proyectos 'Conservación para el Desarrollo Sostenible en Centroamérica', comúnmente llamado Olafo y 'Uso Adecuado de los Recursos del Manglar en Estero Real (Nicaragua) y Térraba-Sierpe (Costa Rica)', llamado Manglares, iniciaron sus actividades en 1989 y 1992, respectivamente. Los dos proyectos buscan, en colaboración con las comunidades locales, diseñar modelos de desarrollo basados en el mejoramiento de los sistemas de producción, incorporando el aprovechamiento de la biodiversidad tropical nativa. Asimismo, pretenden que estas experiencias sean replicables a otras comunidades del área centroamericana.

Para la implementación, se establecieron siete áreas demostrativas en Guatemala, Honduras, Nicaragua, Costa Rica y Panamá. Estas áreas se ubican en zonas de frontera agrícola, en donde la especialización productiva relativa contrasta con la diversidad biológica. Son lugares donde se da un proceso activo de remoción de la cobertura arbórea y remplazo de los ecosistemas con alta diversidad biológica por áreas agrícolas y ganaderas. Las características principales de las áreas son baja densidad poblacional, heterogeneidad social y falta de cohesión organizativa a causa de un proceso continuo de migraciones, difícil acceso, aplicación de prácticas agrícolas ajenas a los ecosistemas y débil presencia institucional.

Puesto que los proyectos tienen un carácter demostrativo y se desarrollan en diferentes ecosistemas (bosque húmedo tropical, bosque subtropical y manglares), los beneficiarios también reúnen características disímiles. Así, se trabaja con campesinos, pequeños ganaderos/colonos, indígenas, leñadores/camaroneros, técnicos de instituciones gubernamentales y no gubernamentales y decisores.

Como consecuencia de esta última característica, los esfuerzos han sido dirigidos, con éxito, al establecimiento de relaciones directas de trabajo con las instituciones nacionales. Actualmente, las contrapartes de los proyectos en los diferentes países son: el Programa Nacional de Desarrollo Rural (PNDR) en Nicaragua, la Corporación de Desarrollo Forestal (COHDEFOR) en Honduras, el Ministerio de Agricultura (MAGA) y el Consejo Nacional de Áreas Protegidas (CONAP) en Guatemala y el Instituto Nacional de Recursos Naturales (INRENARE) en Panamá.

Objetivo de los proyectos

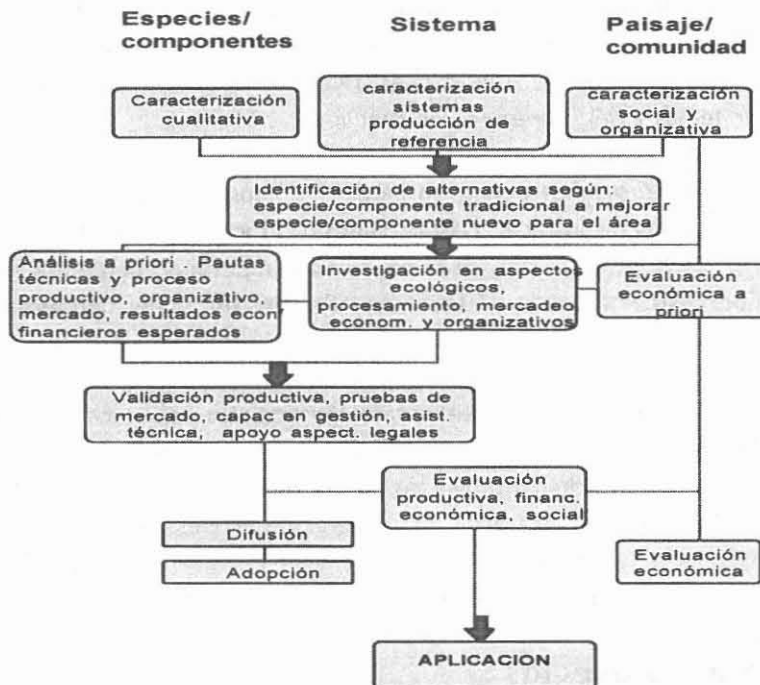
El objetivo específico de los proyectos es *"Implementar, con el apoyo de los organismos responsables de los recursos naturales, modelos de manejo sustentable de ecosistemas naturales"*

¹ Líder Proyectos Olafo y Manglares/CATIE

representativos de las zonas de frontera agrícola de América Central, de acuerdo con las condiciones específicas de cada zona”.

Metodología

El proceso metodológico seguido por Olafo para llegar a propuestas y pruebas de desarrollo parte de un elemento central: los temas y contenidos de las investigaciones, sean ecológicas, económicas o sociales, se definen con base en un problema de desarrollo y deben concretarse en la transferencia/desarrollo. En forma explícita, se reconoce que el problema de desarrollo no es únicamente tecnológico sino que se deben enfrentar elementos previos determinantes para lograr el desarrollo sostenible; entre ellos cabe mencionar: el control sobre los recursos naturales, la capacidad de gestión interna y externa por parte de las propias comunidades, la transformación y comercialización así como la adecuación del marco legal a las condiciones técnicas, económicas y sociales/organizativas de las comunidades que usan y conservan los recursos.



Metodología: Desarrollo rural basado en el manejo de ecosistemas naturales

En el diagrama se detallan las acciones correspondientes a cada fase y niveles jerárquicos (especies/componente, sistemas de producción y paisaje/ecosistemas). A la vez, para cada paso

(estudios etnobotánicos, caracterización social/organizativa y de los sistemas de producción, validación e investigación en alternativas promisorias o en el manejo diversificado del bosque, promoción de la organización) se desarrollan metodologías y herramientas de trabajo específicas.

Actividades

Se desarrollan en forma simultánea actividades de *investigación* para generar conocimientos sobre especies útiles de los ecosistemas, y actividades de *validación* y *estudios* económicos, financieros, ecológicos, productivos, de mercado, sociales. Los resultados de la investigación no podrían ser posibles sin *promover la organización comunitaria* alrededor del manejo de los recursos naturales y la capacitación en aspectos técnicos y organizativos. Asimismo, a nivel de paisaje, otra de las actividades innovadoras es el ordenamiento participativo de los recursos naturales, en conjunto con los diferentes actores involucrados.

Las principales líneas de actividades son:

Tipo de actividades

Líneas de actividades

Investigación

- Manejo de recursos vegetales no maderables del bosques (ecología y producción mediante domesticación en condiciones naturales)
- Manejo diversificado del bosque (maderables y no maderables, evaluación del impacto del manejo conjunto de productos)
- Evaluación económica de ecosistemas (metodología y estudios de casos)
- Evaluación de sostenibilidad de sistemas de producción
- Ordenamiento participativo

Validación

- Agroforestería y agricultura sostenible

Proyección a comunidades

- Fortalecimiento de la organización para la gestión alrededor de la producción y manejo de recursos naturales
- Capacitación y asistencia técnica

Proyección a instituciones

- Formación y asistencia técnica
- Apoyo técnico para la adecuación de políticas Enseñanza
- Maestría en manejo y conservación de la biodiversidad

Resultados

Los principales resultados de los proyectos Olafo y Manglares se centran en las metodologías generadas y las experiencias obtenidas en el proceso del diseño e implementación de áreas demostrativas con comunidades rurales. Entre ellas las siguientes.

- a. Experiencias en manejo sostenible de recursos naturales a nivel comunitario e individual:
 - En ejecución el plan de manejo de *Quassia amara* (Costa Rica)
 - Implementados planes de manejo forestal (Térraba Sierpe, Talamanca, Costa Rica) y aprovechamientos experimentales forestales comunitarios en manglares (Nicaragua)
 - Creadas e implementadas concesiones comunitarias para el manejo diversificado del bosque y las áreas agrícolas (Guatemala)
- b. Metodologías para el manejo sustentable de recursos naturales:
 - Aspectos biológico/productivos y de procesamiento de recursos no maderables ornamentales, medicinales, insecticidas naturales y fibras para artesanía (Costa Rica, Guatemala y Panamá)
 - Maderables en manglares (Nicaragua)
 - Ordenamiento participativo de manglares, en proceso (Nicaragua)
- c. Metodologías para la evaluación de la sostenibilidad
 - Evaluación económica de ecosistemas y aplicación de casos (Guatemala y Nicaragua)
 - Evaluación de la sostenibilidad de sistemas de producción y aplicación de casos (Guatemala y Panamá)
- d. Aplicación del modelo Olafo de desarrollo rural basado en el manejo de ecosistemas naturales mediante capacitación/aprendizaje a técnicos de ocho instituciones, tomando en cuenta los modelos desarrollados a nivel comunal, clínico, individual y de ordenamiento (Honduras)

Impactos

Los principales impactos de los resultados de los proyectos son:

- a. Nuevos instrumentos normativos para el manejo de recursos naturales
 - » Concesiones comunitarias en Petén, Guatemala
 - » Concesiones forestales en manglares en proceso de aprobación, Nicaragua
 - » Regulación del manejo de *Zamia skineri* por parte de las autoridades de la Convención sobre Comercio Internacional de especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES) de Costa Rica
- b. Consolidados grupos comunitarios alrededor del manejo de recursos naturales (Guatemala, Panamá y Costa Rica)
- c. Incorporación de líneas de trabajo sobre recursos no maderables dentro de instituciones gubernamentales y no gubernamentales (Guatemala, Costa Rica y Honduras)

EL PROGRAMA CYTED

El programa CYTED

Armando Cáceres²

El Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED), creado en 1984, integra a los 21 países iberoamericanos y además participan como organismos internacionales observadores, el Banco Interamericano de Desarrollo (BID), la Comisión Económica para América Latina (CEPAL), la Organización de Estados Americanos (OEA) y la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO). Desde 1992, el CYTED forma parte de los programas de cooperación de las Cumbres Iberoamericanas de Jefes de Estado y de Gobierno, que se celebran anualmente. El programa es un instrumento de carácter internacional y multilateral que facilita la cooperación científica y tecnológica en Iberoamérica, mediante la coordinación e interacción entre universidades, centros de investigación, de desarrollo tecnológico y empresas innovadoras de la región. CYTED promueve la modernización productiva, el mejoramiento de la calidad de vida de los países iberoamericanos y sirve de puente para la cooperación entre América Latina y Europa.

Su objetivo primordial es el fomento de la investigación aplicada y el desarrollo tecnológico para la obtención de resultados transferibles a los sistemas productivos y a las políticas sociales de los países iberoamericanos. La organización y gestión del Programa se basa en un modelo tipo "bicicleta": una rueda político-institucional constituida por los 21 organismos signatarios, y una rueda funcional constituida por los coordinadores internacionales de los subprogramas. Los órganos de poder en el Programa son la Secretaría General que coordina y gestiona, la Asamblea General y el Consejo Técnico Directivo que ejerce la dirección. El Programa es de carácter descentralizado y participativo, ya que aproximadamente 100 científicos y tecnólogos tienen responsabilidad directa en la gestión de las redes temáticas y proyectos de investigación precompetitiva.

El financiamiento proviene de los recursos que asignan los países a grupos nacionales de investigación participantes en las diversas redes y proyectos. Con esto se consigue un efecto sinérgico y de potenciación de los recursos. Además, recibe un apoyo económico de la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología de España (CICYT), la Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI), y contribuciones de los diferentes países para financiar las actividades de gestión y cooperación que hacen posible el Programa: reuniones de coordinación, talleres, experimentos conjuntos, intercambios, movilidad de científicos y tecnólogos, publicaciones.

¹ Facultad de Química y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Coordinador de la Red Iberoamericana de Productos Fitofarmacéuticos (RIPROFITO), perteneciente al Subprograma X del CYTED

En general, el CYTED es uno de los programas de cooperación que presenta un mejor balance de costo/beneficio. En el marco del CYTED se ejecutan los siguientes subprogramas temáticos:

- Acuicultura
- Biomasa como fuente de productos químicos y energía
- Nuevas fuentes y conservación de la energía
- Tecnología de materiales
- Química fina farmacéutica
- Diversidad biológica
- Tecnología para viviendas de interés social
- Biotecnología
- Catálisis y absorbentes
- Electrónica e informática de alimentos
- Tecnología mineral
- Corrosión: impacto ambiental sobre el material
- Gestión de la investigación y el desarrollo tecnológico (programa horizontal)

La modalidad de cooperación que desarrolla el Programa CYTED mediante sus Subprogramas se realizan a través de:

Redes temáticas.- Facilitan la interacción, la cooperación y la transferencia de conocimiento y tecnologías entre grupos que trabajan en temas similares, a través de actividades de capacitación, movilidad de científicos e ingenieros y la puesta en marcha de proyectos de investigación.

Proyectos de investigación precompetitiva.- Facilitan la ejecución de proyectos con objetivos aplicados y de naturaleza multidisciplinaria, a través de la colaboración y cooperación entre grupos de diferentes países que constituyen equipos internacionales.

Proyectos de Innovación IBEROEKA.- Facilitan la cooperación entre empresas de diferentes países, a través de proyectos conjuntos que buscan aumentar la productividad y competitividad de la industria y economía, así como la transferencia de los resultados de la investigación a los sectores productivos.

RIPROFITO

Riprofito

Armando Cáceres³

INTRODUCCIÓN

El CYTED, el principal mecanismo de cooperación técnico-científica en la región, actúa a través de 16 subprogramas, organizados en redes y proyectos. Las redes son asociaciones de unidades de investigación ubicadas en organismos públicos o privados cuyos intereses y actividades guardan relación con el tema. Esas redes tienen objetivos bien definidos y temas plenamente identificados; las unidades asociadas son los ejecutores dinámicos, para lo que se cuenta con una estructura y presupuesto mínimo para coordinar y organizar las actividades.

La Red Iberoamericana de Productos Fitofarmacéuticos (RIPROFITO) tiene como objetivo general propiciar la cooperación internacional entre los sectores empresarial, académico y de gobierno para estimular la industrialización de las plantas medicinales, con el fin de aprovechar al máximo los recursos vegetales autóctonos en el cuidado de la salud en Iberoamérica. Su fin primordial es el uso de la diversidad genética y cultural de la región como base para equiparar las plantas medicinales y productos derivados, como una opción terapéutica en los sistemas oficiales de salud.

Antecedentes

La diversidad genética y cultural del continente americano fue un elemento que admiraron los europeos desde su llegada a América y que ahora, ante el enorme interés por la conservación de la naturaleza y la búsqueda de una vida más natural, se reviste de particular importancia. Un ejemplo particular del desarrollo potencial lo constituyen las plantas medicinales y productos derivados, ya que existe un gran conocimiento acumulado que no ha sido utilizado adecuadamente.

El mercado mundial de fármacos terminados de origen vegetal es alrededor de US\$ 35 millones anuales. El aumento previsible del uso de las plantas medicinales para el cuidado de la salud en la región y el creciente interés de los países desarrollados en fitofármacos es una coyuntura propicia para estimular el estudio de ellos. Los fitofármacos tienen una amplia aceptación entre los consumidores y representan un mercado en crecimiento en todo el mundo. Algunos de los problemas que han incidido en el poco o ningún desarrollo de la industria farmacéutica basada en plantas en Iberoamérica son:

² Facultad de CCQQ y Farmacia, USAC v Laboratorio de Productos Fitofarmacéuticos Farmaya, Guatemala

- Poco reconocimiento del beneficio económico, social y médico de esta industria
- Poco conocimiento tecnológico para la fabricación
- Escasa prescripción de fitomedicamentos por los sistemas oficiales de salud
- Ausencia de política nacional o sectorial que estimule su producción y usos
- Desconocimiento o falta de métodos y procesos de control y estandarización
- Dificultad de obtener las plantas con la calidad y en la cantidad requerida
- Falta investigación y desarrollo en tecnología agrícola, farmacéutica y terapéutica
- Problemas de registros de fitomedicamentos y otros asuntos legales
- Desconocimiento del mercado y falta de promoción de los productos
- Poco incentivo gubernamental a esta industria (financiación, exoneraciones)

Pocos países en Iberoamérica tienen experiencia en el cultivo de plantas medicinales en forma científica y técnica, aún a nivel piloto. Existen diversos problemas que dificultan la equiparación de la fitoterapia, desde los botánicos y farmacognósticos hasta la producción sostenida y normalizada de fitofármacos.

Necesidades para equiparar la fitoterapia con la medicina convencional

Etnobotánicas	Encuestas etnomédicas con informantes seleccionados Caminatas etnobotánicas con conocedores del lugar Herbarios institucionales equipados y con materiales Jardines botánicos educativos por zona de vida Taxónomos con experiencia y especializados
Agrotecnológicas	Conservación de germoplasma nativo Manejo agroecológico productivo de bosques Cultivo orgánico de plantas con mercado potencial Técnicas de secado, procesamiento y control de calidad Estudios de rentabilidad económica
Biomédicas	Demostración de actividad biológica <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> Farmacología en modelos experimentales Farmacognosia de los extractos bioactivos Ensayos preclínicos y clínicos
Industriales	Tecnificación de los procesos de fitofármacos Estandarización de procedimientos de extracción y formulación Establecimiento de sistemas de garantía de calidad Normalización de materias primas y productos Modernización de las industrias del sector

Mercadológicas	Legalización de los productos fitofarmacéuticos Regulación de la distribución de los fitofármacos Incorporación de los productos al mercado farmacéutico Prescripción por los sectores médicos Apertura de mercados estratégicos (materiales y productos)
Educativas	Incorporación de estudios a trabajadores de la salud Realización de seminarios y talleres nacionales Capacitación de promotores y comadronas institucionales Información específica para todos los niveles educativos Participación activa de todos los sectores

Un problema que impide el desarrollo de esta industria es la falta de reglamentos apropiados para la producción, registro y control de estos productos. A través de RIPROFITO se busca identificar y preparar monografías sobre plantas medicinales iberoamericanas, lo cual facilitaría su industrialización y comercialización, asimismo, se promueve a nivel científico los fitofármacos y la fitoterapia y la armonización de sus regulaciones.

La producción sostenible de plantas medicinales y su formulación como producto fitofarmacéutico es un campo relativamente nuevo, pero con el empuje de los investigadores, las nuevas políticas de desarrollo y el interés de las compañías farmacéuticas se visualiza como un campo de mucho futuro para el desarrollo de la región. Las acciones industriales y comerciales que se llevan a cabo hacen pensar que RIPROFITO podría atraer a académicos, empresarios y autoridades para interactuar con miras a fortalecer este campo y facilitar la formulación y comercialización de los productos fitofarmacéuticos de la mejor calidad para los mercados globalizados. Estas actividades podrían ser un ejemplo de cooperación intersectorial y de paso mejorar la atención de la salud y promover el desarrollo económico de la región.

Objetivos y contenido

Los objetivos específicos de RIPROFITO son:

- Detectar los elementos que limitan el desarrollo industrial de los fitofármacos.
- Tener información sobre la situación de la industria fitofarmacéutica.
- Desarrollar actividades para evaluar productos fitofarmacéuticos (control, agrotecnología, tecnología industrial, comercialización, legislación y registro).
- Preparar monografías sobre plantas de la región y de sus preparados.
- Promover una legislación adecuada para equipar y fomentar estos productos.
- Propiciar la transferencia de conocimientos y resultados de la investigación sobre las plantas medicinales al sector productivo para su aplicación.
- Apoyar la investigación experimental y clínica de los fitofarmacéuticos.

- Estimular los aspectos científicos y el conocimiento teórico y productivo sobre estos productos.
- Publicar documentos relevantes al tema y un Boletín Informativo del Subprograma.

Para alcanzar los fines, la Red RIPROFITO se propone el siguiente contenido temático:

- Diagnóstico de la situación de la industria fitofarmacéutica en Iberoamérica.
- Aspectos básicos de plantas medicinales y productos derivados (agrotécnicos, estandarización de extractos y formulación de productos fitofarmacéuticos).
- Control de calidad de los productos fitofarmacéuticos
- Requisitos para el registro y legislación
- Fomento de la comercialización de productos fitofarmacéuticos
- Formación de recursos humanos en producción, industrialización y uso de la fitoterapia.
- Cooperación internacional (ONUDI, OPS/OMS, OEA, SECAB, IFS)
- Plan de acción para el desarrollo industrial de estos productos.

Metodología

La metodología empleada para alcanzar los fines es la de coordinar las actividades entre las unidades participantes, tanto aquellas de interés entre grupos específicos, como las de interés colectivo. Para realizar sus actividades, RIPROFITO se propone llevar a cabo seminarios y talleres para difusión y capacitación de personal institucional, organizar actividades de popularización de la información generada por los sectores académicos y detectar actividades específicas que contribuyan a la equiparación de la fitoterapia en la atención de salud y la promoción de los productos fitofarmacéuticos.

Resultados

Desde principios de 1996, conjuntamente con el Comité Coordinador del Subprograma X, y de común acuerdo con algunos de los integrantes de RIPROFITO, se han programado las siguientes actividades.

- Organización de RIPROFITO, invitación a sectores universitarios, institucionales y empresariales para participar en la Red y comunicación a través de circulares trimestrales.
- Elaboración de un formulario y realización de una encuesta para diagnosticar la situación de la industria fitofarmacéutica en Iberoamérica.
- Organización del Seminario sobre Industrialización y Legalización de Productos Fitofarmacéuticos en Iberoamérica y Reunión constituyente de la Red RIPROFITO.
- Organización de actividades específicas de capacitación de personal institucional.

El INBio

El INBio

¿Puede la fitoterapia coexistir con la química y biotecnología en la medicina del año 2000?

Werner Nader¹, Miguel Rojas¹

El fitofármaco más exitoso del mercado mundial se llama Tebonin, un producto de la empresa alemana Dr. Schwabe Arzneimittel que sólo en Europa tiene un volumen de ventas de US\$195 millones por año. Tebonin es un extracto de hojas de *Gingko biloba* conocido como el árbol de la vida y se aplica contra el senilismo. Junto con las ventas de los competidores de Dr. Schwabe, el mercado para extractos de *Gingko* es mucho más grande. Solamente en Alemania, se vendieron fármacos prescritos a base de ginkgo por US\$284 millones en 1994 (Schwabe/Pfaffrath 1995).

El origen de Tebonin se remonta a la década del 70, cuando el Dr. Wilmar Schwabe viajaba por los países tropicales y subtropicales y encontró plantas como *G. biloba* de Asia, *Piper methysticum* (pimiento de borrachera, usado contra la depresión) de Polinesia y *Serenoa repens* (saw palmetto, aplicada como adenoma de la próstata) de los Estados Unidos.

La empresa Dr. Wilmar Schwabe tiene una tradición de 130 años en la estandarización de fitofármacos de la medicina tradicional europea. Con base en esta experiencia y con estos nuevos productos, Dr. Schwabe Arzneimittel todavía una empresa familiar ha desarrollado un negocio de aproximadamente 300 millones de dólares anuales.

Si bien *G. biloba* fue extinguido en los bosques de Asia, al menos ha sobrevivido en los jardines y plantaciones de la industria farmacéutica. Ningún centavo de las inmensas ganancias que generó ginkgo contribuyó a la conservación de la especie y su ambiente. Una de las metas del Instituto Nacional de Biodiversidad es evitar que esta historia se repita indefinidamente.

El acuerdo entre el INBio y Merck, Sharp & Dohme fue un punto de inflexión en la política de la industria farmacéutica. Dicho acuerdo fue firmado ocho meses antes de la convención de las Naciones Unidas en Río de Janeiro y se convirtió en un modelo para gran parte de la convención sobre la biodiversidad (Reid *et al.* 1993). Merck & Co. fue el primer beneficiario de la biodiversidad de la industria farmacéutica que ha reconocido su responsabilidad en la conservación de la fuente de sus productos. Las regalías de ventas de productos futuros, que INBio compartirá al 50% con el

¹ Instituto Nacional de Biodiversidad, INBio

Ministerio del Ambiente y Energía (MINAE) y que serán dedicadas a la investigación y conservación de la biodiversidad, representan solamente uno de los tres elementos importantes del acuerdo. Los otros dos son el aporte presupuestario del 10% que el INBio otorga al MINAE para apoyar las áreas de conservación, y la transferencia de tecnología mediante la capacitación de científicos costarricenses y donaciones de equipo (Nader y Rojas 1996a).

Desde la firma del convenio con Merck & Co., INBio ha establecido siete acuerdos más (Nader y Mateo 1997):

- Bristol Myers Squibb, E.U.- Búsqueda de nuevos compuestos naturales de insectos para el desarrollo de fármacos, en colaboración con la Universidad Cornell, la Universidad de Costa Rica y el Área de Conservación de Guanacaste a través del programa "International Cooperative Biodiversity Groups" del US-AID, NIH y NSF.
- Indena, Italia.- Búsqueda de plantas con actividades antimicrobianas.
- AnalytiCon AG, Alemania.- Alianza para el desarrollo de nuevos fármacos.
- Recombinant BioCatalysis E.U.- Junto con esta empresa biotecnológica, se busca encontrar genes de microorganismos extremófilos para el desarrollo de enzimas industriales (Nader y Rojas 1996b).
- Givaudan-Roure, E.U.- Búsqueda de nuevas fragancias de flores de Costa Rica para el desarrollo de perfumes.
- British Technology Group y La Pacífica.- Esta colaboración con una empresa británica y otra nacional tiene como objetivo el desarrollo de un bionematicida que se encuentra naturalmente en una leguminosa del género *Lonchocarpus* (Birch *et al.* 1993, British Technology Group 1994).
- Intergraph, E.U.- Desarrollo de 'software' para el manejo de información sobre la biodiversidad.

Las colaboraciones con Merck, Bristol Myers Squibb y AnalytiCon son dirigidas al descubrimiento de nuevos compuestos naturales para el desarrollo de fármacos químicos con las metodologías de la biología molecular y química, y no al desarrollo de nuevos fitofármacos. Este es un proceso largo y caro que tarda aproximadamente diez años y cuesta entre 100 y 350 millones de dólares por producto.

Por ejemplo, entre 1960 y 1982 el 'National Cancer Institute' de E.U. investigó la actividad anticancerígena de extractos de 35 000 especies de plantas (Cragg *et al.* 1994), pero sólo dos productos llegaron al mercado: taxol y un derivado de camptothecina. Los trabajos del Instituto en la búsqueda de fármacos contra el SIDA son igualmente desilusionantes: de la investigación de extractos de 26 000 especies de plantas entre 1986 y 1993 solamente cuatro compuestos resultaron prometedores, pero ninguno de ellos ha llegado al mercado.

No obstante, la inversión en el desarrollo de nuevos fármacos vale la pena. El mercado farmacéutico se estima en 235 mil millones de dólares y al menos un 40% de sus productos son compuestos naturales o derivados. Ejemplos de fármacos exitosos, con volumen de ventas de más de 200 mil millones de dólares y originarios de la biodiversidad, son citostáticos como la adriamicina (*Streptomyces peucetius*), etoposida (*Podophyllum*), vinblastina y vincristina (*Catharanthus roseus*), mevacor y zocor (*Aspergillus terreus*) para la disminución de colesterol, ciclosporina (*Tolypocladium inflatum*) para la supresión del sistema inmunológico, xanthotoxina (Leguminosae, Umbelliferae y Rutaceae) contra psoriasis, pilocarpina (*Pilocarpus*) para tratar el glaucoma y el relajante muscular tubocurarina (*Chondodendron tomentosum*).

En la agricultura se desarrollaron nuevos pesticidas de compuestos naturales de plantas, hongos, bacterias e insectos, como el insecticida pirethrum (*Chrysanthemum*) y sus derivados, los piretroides; el herbicida fosfotricina (*Streptomyces* spp.) y el antiparasítico ivermectina (*Streptomyces avermitilis*) (Tamayo et al. 1997).

¡Qué diferencia entre estos esfuerzos de la alta tecnología y los viajes del Dr. Schwabe! El desarrollo de nuevos fitofármacos sin grandes inversiones fue factible debido a una política muy liberal para aprobar medicamentos en Alemania. El reglamento actual de la Unión Europea implica una homogenización de las normas de aprobación y el tratamiento de fitofármacos como drogas; pero deben registrarse según su calidad, seguridad y eficacia. Esto muestra que la aprobación de fitofármacos requiere las mismas pruebas preclínicas y clínicas que se utilizan para los químicos, lo que implica los mismos costos.

En E.U., tradicionalmente la FDA (Food and Drug Administration) ha aprobado sólo monosustancias con una eficacia científicamente comprobada, y los fitofármacos se pueden vender únicamente como suplementos alimentarios. Mientras que en Europa la fitoterapia todavía sirve como puente entre la medicina convencional y la complementaria, en E.U. no existe esta conexión. A pesar de la situación en E.U. y la complicación en Europa, el mercado para fitofármacos es grande, con volúmenes de ventas de 6,5 mil millones de dólares en Europa, 4,4 mil millones en Asia y 1,5 mil millones en América del Norte. En 1992, los crecimientos de tales mercados fueron del orden de 12% en América del Norte, 15% en Asia y 5% en la Unión Europea (Grünwald 1995).

Los fitofármacos más exitosos en Alemania son productos de ginkgo, castaña (enfermedades vasculares como várices), espino blanco (cardíaco), *Hypericum perforatum* (depresión), mirto (tos), ortiga (urológico), echinacea (estimulación del sistema inmune), *Serenoa repens* (adenoma de la próstata), muérdago (cáncer), cardo (urológico), hiedra (tos), soja (dermatológico), manzanilla (dermatológico), alcanfor (dermatológico) y kava-kava (depresión). El mercado en E.U. está restringido a tiendas de alimentos de salud, y los productos más exitosos son: echinacea y ajo (senilismo, anti-aterosclerótico), *Hydastis canadensis* (antibiótico, inflamaciones

de mucosas), ginseng (estimulación del sistema inmune, cáncer), ginkgo, *Serenoa repens*, aloe (dermatológico, estimulación del sistema inmune), ma huang (resfriado), ginseng siberiano (estimulación del sistema inmune) y arándano (enfermedades de la vejiga y uretra) (Brevoort 1996).

El consumidor favorece la fitoterapia más que a la química, porque quiere controlar su enfermedad pero no quiere subordinarse al control de la medicina convencional. Esto se manifiesta particularmente en el tratamiento de la depresión y problemas del sueño con productos como kava-kava, *Hypericum* y valeriana en contraste con valium y barbitúricos. Esta conducta se favorece debido a que muchas enfermedades como el senilismo son muy complejas y falta una explicación a nivel fisiológico o de biología molecular y celular. Sería difícil de probar, por ejemplo, la eficacia de extractos de ginkgo a nivel de las células y moléculas, lo que hace que estos fitofármacos no sean incorporados en las terapias de la medicina moderna.

Pero la fitoterapia y la metodología de la medicina moderna pueden complementarse. Un ejemplo es el ginseng siberiano o *Eleutherococcus senticosus*: extractos de estas raíces tienen una aplicación tradicional en Rusia contra la gripe. Una investigación involucró voluntarios y el análisis de células sanguíneas mediante citometría de flujo (Bohn et al. 1987). Con esta tecnología es factible analizar en gran detalle el porcentaje de los varios tipos de glóbulos blancos (monocitos, granulocitos, B-linfocitos, T-linfocitos, células asesinas) y sus subtipos (T-ayudantes, T-asesinos o T-inductores). El estudio reveló que el ginseng siberiano estimula particularmente los T-linfocitos que atacan células infectadas por un virus. La prueba de la eficacia de este producto solamente es posible *in vivo* y no en un modelo molecular. Este estudio fue suficiente para convencer a las autoridades en Alemania de aprobar el producto. Sería muy difícil el aislamiento del compuesto activo de este extracto, porque requiere el establecimiento de un bioensayo. Bajo los reglamentos de la FDA y de la Unión Europea que prefieren monosustancias es casi imposible aprobar estos productos como fármacos.

Sin duda, la fitoterapia ganará importancia a pesar de los avances inmensos de la medicina convencional porque el ser humano no es un robot compuesto de células y moléculas, gobernable por los químicos y aparatos de la medicina convencional; es parte de la naturaleza de este planeta y su salud depende de una vida en armonía con las plantas, animales y microorganismos.

Bibliografía

- Birch, A.N.E.; Robertson, W.M.; Geoghegan, I.E.; McGavin, W.J.; Alpey, T.J.W.; Phillips, M.S.; Fellows, L.E.; Watson, A.A.; Simmonds, M.S.J.; Porter, E.A. 1993. DMDP; a plant-derived sugar analogue with systemic activity against plant parasitic nematodes. *Nematologia* 29: 521-535.

- Bohn, B.; Nebe, C.T.; Birr, C. 1987. Durchflußzytometrische Untersuchungen auf immunmodulatorische Wirkungen von *Eleutherococcus senticosus*-Extrakt. *Arzneimittelforschung/Drug Research* 37: 1193-1196
- Brevoort, P. 1996. The U.S. botanical market - an overview. *HerbalGram* (Austin, Tx.) No. 36: 49-57
- British Technology Group Ltd. 1994. Control of parasitic nematodes. US-Patent Nr. 5,376,675.
- Cragg, G.; Boyd, M.R.; Cardellina, J.H.; Newman, D.J.; Snader, K.M.; McCloud, T.G. 1994. Ethnobotany and drug discovery: the experience of the US National Cancer Institute. *Ciba Foundation Symposium 185 (Ethnobotany and the Search for New Drugs)*, John Wiley & Sons, Great Britain, pp. 178-196.
- Grünwald, J. 1995. The European phytomedicines market: figures, trends, analyses. *HerbalGram* (Austin, Tx.) No. 34: 60-65.
- Nader, W.F.; Rojas, M. 1996a. New rules for natural compound and biotechnological research after INBio and Rio. *BIOForum* (Darmstadt), September and October issues.
- Nader, W.F.; Rojas, M. 1996b. Gene prospecting for sustainable use of the biodiversity in Costa Rica. *Genetic Engineering News* (NY), April.
- Nader, W.F.; Mateo, N. 1997. Biodiversity-Resource for New Products, Development and Self-Confidence. *In Proceedings of the International Conference on Biodiversity in Bonn* (Barthlott, ed.), Springer Verlag, Heidelberg
- Reid, W.V.; Laird, S.; Meyer, C.A.; Gámez, R.; Sittenfeld, A.; Janzen, D.H.; Gollin, M.A.; Juma, C. 1993. Biodiversity Prospecting: Using Genetic Resources for Sustainable Development. World Resources Institute, Washington D.C.
- Schwabe/Pfaffrath. 1995. *Arzneiverordnungsreport (Drug Prescribing Report)*ten Kate, Kerry. Biopiracy or Green Petroleum? Expectations & Best Practice in Bioprospecting. Overseas Development Administration, London.
- Tamayo, G.; Nader, W.F.; Sittenfeld, A. 1997. Biodiversity for the bioindustries. *In Biotechnology and Plant Genetic Resources: Conservation and Use*. (eds. B.V. Ford-Lloyd, H.J. Newbury and J.A. Callow) CAB International, Wallingford, Oxon, England.

Taxonomía

Taxonomía

Especies del género *Smilax* en Costa Rica

Especies del género Smilax en Costa Rica

Jorge Gómez-Laurito¹

La familia Smilacaceae está constituida por diez géneros y unas 400 especies. En el Neotrópico, excepto por dos o tres especies de *Luzuriaga* en Sudamérica (Mabberly 1987), las demás pertenecen al género *Smilax*. Este género abarca aproximadamente 350 especies en las regiones templadas y tropicales del mundo (Huft 1994); en Mesoamérica se han encontrado al menos 25 especies. Standley (1937) registra 14 especies en Costa Rica y Huft (1994) cita 13 especies. A estas se suman tres determinadas recientemente (*S. luculenta* Killip & S. Morton, *S. regelii* Killip & C. Morton y *S. velutina* Killip & C. Morton).

Las plantas del género *Smilax* son bejucos en su mayoría leñosos, que se originan de un rizoma delgado (como las zarzaparrillas) o de uno muy grueso (como las cuculmecas), dioicos, con zarcillos en pares que nacen de la base expandida de los peciolos, a menudo armados con aguijones en tallos y hojas. Hojas alternas con 3 a 9 nervios desde la base o triplinervias; o sea, el par interior sale un poco arriba de la base, venación secundaria reticulada. Flores pequeñas, actinomorfas, dispuestas en umbelas axilares, a veces racemosas, 6 tépalos libres, iguales, 6 estambres libres con anteras 2-loculares, estaminodios presentes en las flores pistiladas; ovario súpero, 3-locular, 3 estilos, de 1 a 2 rudimentos seminales en cada lóculo. Los frutos son bayas globosas, negras, púrpuras, rojas o anaranjadas.

Varios factores hacen que la taxonomía de este género sea particularmente difícil: pocas colectas con flores, en algunas especies no se conocen flores de determinado sexo ni los frutos, escasa información en las etiquetas de los especímenes, y la propia naturaleza dioica. Al presente, no se ha podido confeccionar una clave satisfactoria para separar las especies de *Smilax*. Sería muy deseable, en un futuro cercano, incrementar las colecciones de material apropiado: material fértil de ambos sexos, que se preste atención a detalles como tipo de rizoma, presencia o ausencia de aguijones en los tallos, si estos son cuadrados o teretes y color de los frutos maduros.

Con base en las colecciones existentes, el material costarricense puede agruparse de la siguiente manera:

¹ Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica

Plantas variadamente pelosas

- *S. angustiflora* A. DC.
- *S. candelariae* A. DC.
- *S. hirsutior* (Killip & C. Morton) C. Morton
- *S. mollis* H. & B. ex Willd.
- *S. subpubescens* A. DC.
- *S. velutina* Killip & C. Morton

Plantas glabras

- *S. chiriquensis* C. Morton
- *S. domingensis* Willd.
- *S. engleriana* F.W.Apt
- *S. luculenta* Killip & C. Morton
- *S. kunthii* Killip & C. Morton
- *S. panamensis* Morong
- *S. regelii* Killip & C. Morton
- *S. spinosa* Miller
- *S. spissa* Killip & C. Morton
- *S. vanilliodora* F.W.Apt

Plantas con aguijones

- *S. chiriquensis* C. Morton
- *S. domingensis* Willd.
- *S. kunthii* Killip & C. Morton
- *S. luculenta* Killip & C. Morton
- *S. panamensis* Morong
- *S. regelii* Killip & C. Morton
- *S. spinosa* Miller
- *S. spissa* Killip & C. Morton
- *S. vanilliodora* F.W.Apt

Plantas inermes

- *S. angustiflora* A. DC.
- *S. candelariae*
- *S. hirsutior* (Killip & C. Morton) C. Morton
- *S. engleriana* F.W.Apt
- *S. mollis* H. & B.
- *S. subpubescens* A. DC.
- *S. velutina* Killip & C. Morton

Plantas con tallos cuadrados

- *S. chiriquensis* C. Morton
- *S. subpubescens* A. DC.
- *S. vanilliodora* F.W.Apt
- *S. regelii* Killip & C. Morton

Plantas con tallos teretes

- *S. angustiflora* A. DC.
- *S. candelariae* A. DC.
- *S. domingensis* Willd.
- *S. engleriana* F.W.Apt.
- *S. hirsutior* (Killip & Morton) C. Morton
- *S. kunthii* Killip & C. Morton
- *S. zollis* H. & B. ex Willd.
- *S. panamensis* Morong

Plantas con flores estaminadas desconocidas

- *S. candelariae* A. DC.

Plantas con flores pistiladas desconocidas

- *S. angustiflora* A. DC.
- *S. candelariae* A. DC.
- *S. chiriquensis* C. Morton
- *S. hirsutior* (Killip & C. Morton) C. Morton
- *S. regelii* Killip & C. Morton
- *S. spissa* Killip & C. Morton

Plantas con frutos desconocidos

- *S. angustiflora* A. DC.
- *S. chiriquensis* C. Morton
- *S. hirsutior* (Killip & C. Morton) C. Morton

Plantas con rizoma grande (cuculmecas)

- *S. chiriquensis* C. Morton

Plantas con rizoma delgado (zarzaparrillas)

- *S. velutina* Killip & C. Morton

Bibliografía

- Huft, M.J. 1994. Flora Mesoamericana 6:20. Ed. Davidse G, Sousa M. Arthur S y Chater O. The Natural History Museum (Londres), Instituto de Biología (UNAM, México), Missouri Botanical Garden (USA).
- Mabberly, D. J. 1987. The Plant-book. Cambridge University Press. 543 p.
- Standley, P. C. 1937. Flora of Costa Rica. Field Museum of Natural History, Botanical Series 18: 171-174

Zarzaparrilla

Zarzaparrilla

Armando Cáceres¹

Como zarzaparrilla se conocen tres especies del género *Smilax*: *S. lundellii* Killip & Morton, *S. regelli* Killip & Morton y *S. spinosa* Mill. Sinónimos de las mismas son:

S. lundellii = *S. luculenta* Killip et Morton

S. regelii = *S. grandifolia* Regel

S. spinosa = *S. mexicana* Griseb. ex Kunth; *S. gaumei* Millsp.

Además de zarzaparrilla, estas especies se conocen como bejuco de la vida, cocolmecca o cuculmecca, diente de chucho, madre de zarzaparrilla, palo de la vida.



Smilax regelli

- (A) Hábito del tallo floral y hojas adheridas;
 - (B) Hoja de forma diferente;
 - (C) Estambre;
 - (D) Flor estaminada;
 - (E) Pistilo floral;
 - (F) Porción del tallo mostrando espinas
- Dibujo basado en Standley y Steyermark (1952)



Smilax spinosa

Dibujada por Valerio en House et al. (1992)

¹ Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos, Guatemala

Descripción botánica

Las especies del género *Smilax* son bejucos leñosos o herbáceos, dioicos y trepadores por zarcillos pareados; se trata de un género complejo, muy diverso y poco estudiado. Según Killip y Morton (1936) existen en Mesoamérica 26 especies, algunas usadas con fines medicinales, como *S. aristolochiaefolia* Miller, *S. lancerolata* L., *S. ornata* Lam., *S. lundellii*, *S. regelii* y *S. spinosa* (Standley y Steyermark 1952, House 1995, Cáceres 1996).

S. lundellii es de ramas inferiores firmes, robustas, cilíndricas, estriadas, espinas fuertes, glabras o pilosas; ramas superiores sin espinas, pecíolos de 1 a 2,5 cm de largo, articulados; rizoma leñoso, intenso color rojo, raicillas alrededor. Hojas oblongo-lanceoladas, verde-café; inferiores 27 cm de largo; superiores más pequeñas, agudas, obtusas a la base, pedúnculo estaminado, perianto segmentado, anteras cortas. Pedúnculo fructoso de 7 a 10 mm de largo; bayas globosas, 4 a 6 mm de diámetro, negro-azuladas (Standley y Steyermark 1952). Especie muy cercana a *S. spinosa*, y quizá no sea distinta.

S. regelii alcanza hasta 15 m de largo, sabor mucilaginoso ligeramente amargo; raíces delgadas, largas, color café; tallos inferiores agudos, cuadrangulares, ángulos con espinas grandes, anchas, comprimidas, rectas o encorvadas, 1 cm de largo. Hojas grandes, 20 a 30 cm de largo, oblongas, base cordiforme, 5 a 7 nervios, color verde claro. Pedúnculo estaminífero de 6,5 cm de largo, más corto que los pecíolos, pedúnculos de 7 a 12 mm de largo, perianto segmentado, fructíferos de 9 a 19 mm de largo. Bayas globosas, 1,3 cm de diámetro, color negro (House 1995).

S. spinosa es de tallos cilíndricos, espinas fuertes; ramas superiores de 4 a 6 ángulos, pecíolos cortos, espinosos. Hojas inferiores ovaladas o elípticas, 14 cm de largo; ápice agudo, redondeado, puntiagudo; superiores pequeñas, ovaladas o lanceoladas, cilíndricas en el ápice, venas del envés con espinas. Pedúnculos estaminados, 8 mm de largo, pecíolos cortos, pedicelos capilares, perianto segmentado, ovado-oblongo, filamentos más largos que las anteras. Bayas negras, globosas, 4-12 mm de diámetro (House 1995).

Hábitat

En Guatemala *S. lundellii* es endémica; se encuentra en bosques y espesuras húmedas hasta 1300 msnm; se ha descrito en Alta Verapaz, Izabal, Petén, San Marcos y Santa Rosa (House 1995, Arriaza 1983).

S. regelii es nativa de pantanos, selvas altas perennifolias, bosques de *Pinus* y *Quercus* y malezas. Se encuentra desde Oaxaca, México hasta Nicaragua, en alturas hasta 1500 msnm. (House 1995, Killip y Morton 1936).

S. spinosa es nativa de bosques húmedos y espesuras desde el norte de México a Panamá en alturas hasta 2800 msnm (House 1995, Killip y Morton 1936).

Historia

Los rizomas de zarzaparrilla fueron introducidos del Nuevo Mundo a la medicina europea por los comerciantes españoles del siglo XVI. Gerard (1633), citado por Hobbs (1988) la cataloga como "...un remedio contra los dolores crónicos de las articulaciones y la cabeza y contra los resfríos". Ximénez (1967) se refiere a esta planta como "...una de las cosas en que la Divina Omnipotencia parece que más se esmeró en comunicarle virtudes...".

La zarzaparrilla tuvo buen mercado para el tratamiento de sífilis y una variedad de enfermedades que requerían "purificación de la sangre". En el siglo XVII era recomendada por famosos clínicos como Dordyce y Cullen, pero hacia principios del siglo XVIII dejó de usarse, posiblemente por adulteraciones. En 1850 vuelve a tener importancia al incorporarse a la *U.S. Pharmacopeia* donde permanece para tratar sífilis hasta 1950. Por una combinación de factores ha perdido popularidad, aunque pareciera seguir siendo una droga útil en el tratamiento de ciertas enfermedades crónicas.

Agricultura

El material usado medicinalmente se obtiene por recolección en los campos de crecimiento silvestre. Se recomienda su manejo o cultivo con el fin de garantizar un aprovisionamiento sostenido. Para el cultivo se requiere suelo bien drenado, caliente a media sombra, abundante humedad y condiciones boscosas para la enredadera. La propagación puede hacerse por semillas, estacas o divisiones del rizoma; el rizoma se colecta al final de la época de lluvias y se seca al sol. En Guatemala hay algunos cultivos experimentales.

Usos atribuidos

El cocimiento del rizoma es de uso medicinal en la región. Por vía oral se usa para tratar anemia y afecciones gastrointestinales (Cáceres y Samayoa 1989, Logan 1973); hinchazón y malaria (Poll 1984); dolor de riñones, enfermedades de la sangre y venéreas, hepatitis y reumatismo (Standley 1930, Cabrera 1958, IIN 1978, Medieta 1981, Morton 1981) y tumores (Arriaza 1983, Hartwell 1982). También se aplica tópicamente para tratar afecciones dermatomucosas: alergia, eczema, liquen plano, tinea o psoriasis (Poll 1984, Standley 1930, Cabrera 1958, IIN 1978, CEMAT-FARMAYA 1990).

Se le atribuyen propiedades antiinflamatoria, antiprurítica, antireumática, antiséptica, antifúngica, cicatrizante, desinflamante, estimulante, diurética, depurativa, sudorífica y tónica (Cabrera 1958, Morton 1981, Aguilar 1966, British Herbal Pharmacopeia 1983).

Además, las raíces de varias especies del género se utilizan como colorante de refrescos (Williams 1981) o como componente de arreglos florales.

Farmacología

Experimental

Estudios antibacterianos demuestran que la tintura de raíz de *S. lundellii* es activa contra *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. typhi*, *S. dysenteriae*, *S. flexneri* y *S. pyogenes*, pero inactiva contra *V. cholera* (Cáceres et al. 1990). Estudios del espectro de inhibición bacteriana en 20 cepas provenientes de pacientes demuestran que inhibe el 85% de cepas de *P. aeruginosa*, 80% de *S. typhi* y 70% de *S. aureus* (Ramírez 1988). La tintura de raíz de *S. regelii* es activa contra *S. dysenteriae* y *S. flexneri* (Huft 1994, Cáceres et al. 1990). La decocción de raíz de *S. spinosa* es activa contra *E. coli*, que causa infecciones en la piel (Cáceres et al. 1987).

Estudios antifúngicos demuestran que la decocción y extracto metanólico de *S. lundellii* es activo contra *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. stellatoidea* (CIM: 1-2 mg.mL⁻¹). La decocción sola es activa contra *E. floccosum* y *T. mentagrophytes*. La decocción del rizoma de *S. regelii* es activa contra *C. albicans*, *E. floccosum*, *M. canis*, *T. mentagrophytes* y *T. rubrum* (CIM: 900 mg.mL⁻¹) y actividad fungicida. La decocción del rizoma de *S. spinosa* es activa contra *M. canis* (Cáceres et al. 1991).

Estudios farmacológicos en ratas demuestran que la decocción de raíz y rizoma de *S. lundellii*, *S. regelii* y *S. spinosa* tienen actividad diurética en ratas comparable con el fármaco de referencia (hidroclorotiazida) (Huft 1994). La infusión de *S. regelii* no tiene actividad espasmolítica (Chuga 1984), pero muestra actividad hepato-protectora (Rafatullah 1991).

La decocción del rizoma de *S. lundellii* tiene cierta actividad inmunomoduladora en ratones, medida por un aumento en la población de linfocitos y en los títulos de anticuerpos séricos (Lara 1991).

Clínica

Estudios clínicos con 50 pacientes con candidiasis vaginal demuestran que los óvulos vaginales de tintura del rizoma de *S. lundellii* se comporta en forma similar a la Nystatina (Urizar 1989). En otro ensayo se probó una crema a base de tintura en 76 trabajadores de dos industrias de alimentos que presentaban pie de atleta; en todos se confirmó una infección dermatofítica por KOH y cultivo y se demostró una mejoría clínica similar al fármaco de referencia (Tolnaftato) después de 15 días de tratamiento, aunque no se demostró negativización al examen con KOH o cultivo (Fuentes 1989).

Estudios en Alemania demuestran que una preparación de zarzaparrilla aumenta la excreción urinaria de ácido úrico, disminuyendo el 30% de los niveles sanguíneos. Otros estudios demuestran que el extracto acuoso es beneficioso en el tratamiento de eczema y psoriasis (Cáceres 1996). En Marruecos se han tratado exitosamente pacientes con lepra con una combinación de extracto de *S. ornata* y una terapia con dapsona (Martindale 1982).

Composición química

El tamizaje fitoquímico de *S. lundellii* indica la presencia de alcaloides, aceite esencial, esteroides insaturados, glicósidos esteroidales (saponinas, cardenólidos, bufadienólicos), flavonoides, leucoantocianinas, taninos, polifenoles, resinas, azúcares y grasas (Huft 1994). Se han aislado agliconas esteroidales (parillina, sarsasapogenina, smilagenina), B-sitosterol, stigmasterol, ácido sarsápico (Bérdy 1982); otros constituyentes son polinastanina, ácido paroapárico, resinas, aceites, ácidos grasos (palmítico, esteárico, behénico, oléico, linoléico); contiene sales minerales que incluye óxido silíceo (1,2%), aluminio (0,4%), calcio (0,4%), magnesio (0,3%), potasio (1,2%) y cloro (0,4%). *S. aristolochiaefolia* contiene vitamina C (19,4 mg%) (Cáceres 1996).

El tamizaje fitoquímico de *S. regelii* indica la presencia de alcaloides no cuaternarios, esteroides insaturados (saponinas, cardenólidos, bufadienólicos), flavonoides y polifenoles (Herrera 1981). El tamizaje fitoquímico de *S. spinosa* indica que contiene alcaloides cuaternarios, saponinas, antocianinas y polifenoles (Huft 1994).

Farmacognosia

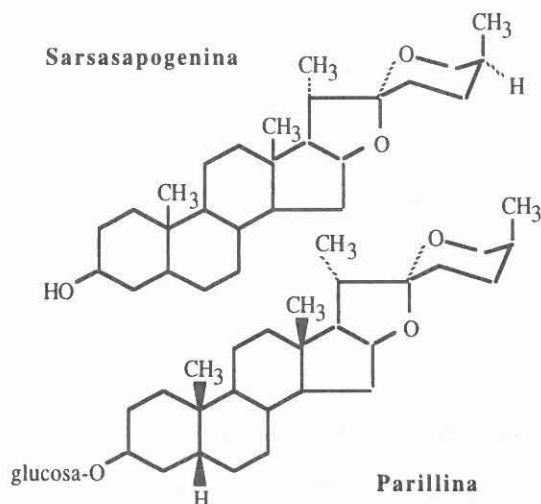
La materia médica son raíces y rizomas secos. Macroscópicamente son manojos de 60 a 70 cm de largo, arrugas longitudinales, color rojo-café, fractura de corteza corta con un centro fibroso; corteza blanco-café, xilema amarillo lignificado, zona parenquimatosa central cálida; sin olor; sabor amargo. Microscópicamente es un polvo rojo-café, inodoro, consistente de células parenquimatosas rectangulares con gránulos esferoidales de almidón, de hasta 30 μ m de diámetro, gránulos poliédricos; exodermis de dos capas engrosadas, paredes amarillentas; células de hipodermis lignificadas; xilema de vasos y fibras lignificados con engrosamientos espirales (CEMAT-FARMAYA 1990).

La materia médica no debe contener más de 10% de ceniza, 4% de ceniza insoluble en ácido y no menos de 10% de extraíbles solubles en ácido (CEMAT-FARMAYA 1990).

La actividad antimicrobiana se atribuye a las saponinas, en particular a sarsasapogenina y parillina. La parillina es una saponina neutra, peso molecular 1000, cristales blancos, con actividad antimicótica (*C. albicans* CIM: 16 mg.mL⁻¹; *Trichophyton* sp., CIM: 4 mg.mL⁻¹) y antitumoral (carcinosarcoma de Walker 256 en rata) (Urizar 1989). La sarsasapogenina tiene peso

molecular 416; son agujas prismáticas grandes al evaporar acetona, amarga, ácida, punto de fusión 199°C, rotación óptica específica -75°C, soluble en alcohol, acetona, benceno, se precipita con digitonina (Budavari 1989) y tiene actividad antiinflamatoria (Lewis 1989).

El extracto líquido de la raíz es de uso oficial en varios países. La zarzaparrilla es oficial en la USP desde 1820, y desde 1985 en la mayoría de farmacopeas. Se comercializan productos fitofarmacéuticos como polvo, tintura, extracto, jarabe, pomada y ungüento.



Toxicología

La decocción de raíces de *S. lundellii*, *S. regelii* y *S. spinosa* tienen una DL₅₀ por vía oral en ratones de más de 30 g/kg (Arraiza 1983). La administración aguda (0,5-3,0 g/kg) del extracto de *S. regelii* no produce efectos tóxicos en ratones; la administración crónica (100 mg.kg⁻¹ durante 90 días) tampoco produjo síntomas de toxicidad ni cambios sanguíneos sugestivos de toxicidad (Chuga 1984). En dosis inusualmente grandes puede causar daño, aunque su uso como alimento está aprobado por el FDA (Duke 1985). La DL₅₀ de la parillina cristalizada en ratones es de 10 mg.kg⁻¹ administrada por vía intraperitoneal y 30 mg.kg⁻¹ por vía oral (Fuentes 1989).

Indicaciones terapéuticas

Por su actividad antirreumática, antiinflamatoria y diurética, está indicado su uso oral para el tratamiento de artritis reumatoide, reumatismo crónico, lepra y disuria. Se recomienda administrar tres veces al día la dosis de 1-4 g en decocción, 8-15 mL del extracto líquido en alcohol al 20% con glicerol al 10% o 2-5 mL de tintura 1:10 en alcohol 35% (British Herbal Pharmacopeia 1983).

Por su actividad antifúngica, antiprurítica, cicatrizal y desinflamante se recomienda el uso tópico en el tratamiento de psoriasis, eczema, tinea y otras afecciones de la piel, en forma de tintura, ungüento o pomada.

Por su actividad antiinflamatoria, antifúngica y antiséptica puede combinarse con encino, guayaba, hierba del cáncer, llantén, nance y quilete (Cáceres 1996).

Bibliografía

- Aguilar, J.L. 1966. Relación de Unos Aspectos de la Flora Util de Guatemala. Guatemala. Ministerio de Agricultura. pp. 348-375.
- Arriaza, D.A. 1983. Acción diurética y antimicrobiana de algunos vegetales del género *Smilax*. Tesis. Guatemala, Facultad de CCQQ y Farmacia, USAC, 50 p.
- Berdy, J.; Aszlo, A.; Bostian, M.; Mcnitt, K.L. 1982. CRC Handbook of Antibiotic Compounds. Boca Ratón, CRS, pp. 255.
- BRITISH HERBAL PHARMACOPOEIA. 1989. London, British Herbal Medical Association, pp. 197.
- Budavari, S. 1989. The Merck Index. Rahway, Merck & Co. pp. 1329.
- Cabrera, L.G. 1958. Plantas Curativas de México. México, Ed. Cicerón. pp. 266-268.
- Cáceres, A.; Girón, L.M.; Martínez, A.M. 1987. Diuretic activity of plants used for the treatment of urinary ailments in Guatemala. *J. Ethnopharmacol* 19:233.
- _____; Girón, L.M.; Alvarado, S.; Torres, M.F. 1987. Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases. *J. Ethnopharmacol* 20:223.
- _____; Samayoa, B. 1989. Tamizaje de la actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de afecciones gastrointestinales. Cuadernos de Investigación No. 6-89. Guatemala, DIGI-USAC, 138 p.
- _____; Cano, O.; Samayoa, B.; Aguilar, L. 1990. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against enterobacteria. *J. Ethnopharmacol* 30:55.
- _____; López, B.R.; Girón, M.A.; Logeman, H. 1991. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. 1. Screening for antimycotic activity of 44 plant extracts. *J. Ethnopharmacol* 31: 263.

- _____; Torres, M.F.; Ortiz, S.; Cano, F.; Jauregui, E. 1993. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. IV. Vibriocidal activity of five American plants used to treat infection. *J. Ethnopharmacol* 39:73.
- _____; Jauregui, E.; Ayala, A.; Escobar, M.; Arriola, L. 1995. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal infections. II. Evaluation of antiyemat activity of 18 American plants. *J. Ethnopharmacol*
- _____. 1996. *Plantas de Uso Medicinal en Guatemala*. Guatemala, Ed. Universitaria. pp. 373.
- CEMAT-FARMAYA. 1990. *Fichas Populares sobre Plantas Medicinales*. Guatemala, CEMAT-FARMAYA 1:163.
- Chuga, S.L. 1984. *Acción espasmolítica de algunas plantas de la flora de Guatemala*. Tesis. Guatemala, Fac. CCQQ y Farmacia, USAC, 67 p.
- Davidse, G.; Souza, M.; Chater, A.O. 1996. *Flora Mesoamericana*. México, UNAM, MBG, NHM, pp. 20.
- Duke, J. 1985. *CRC Handbook of Medicinal Herbs*. Boca Raton, CRS Press. pp. 446.
- Fuentes, A.R. 1989. *Tratamiento de la tinea pedis con zarzaparrilla (Smilax)*. Tesis, Guatemala, Fac. Ciencias Médicas, USAC 53 p.
- Hartwell, J.L. 1982. *Plants used against cancer*. Lawrence, Quarterman Publications, pp. 144.
- Herrera, J.J. 1981. *Recopilación botánica y análisis químico cualitativo de algunas especies de plantas consideradas medicinales en Guatemala*. Tesis. Guatemala, Fac. CCQQ y Farmacia, USAC, 91 p.
- Hobbs, C. 1988. Sarsaparilla. A literature review. *Herbal Gram*. 17:1-25.
- House, P.R.; Lagos-Witte, S.; Ochoa, L.; Torres, C.; Mejía, T.; Rivas, M. 1995. *Plantas Medicinales Comunes de Honduras*. Tegucigalpa. UNAH/CIMN-H/CID/CIIR/GTZ, pp. 434.
- IIN. 1978. Aspectos de la medicina popular en el área rural de Guatemala. *Guatemala Indígena*. 13:28, 221, 231, 232.
- Jackson, B.P.; Snowdon, D.W. 1990. *Atlas of Microscopy of Medicinal Plants, Culinary Herbs and Spices*. Boca Raton, CRS Press. pp. 206.
- Killip, E.P.; Morton, C.V. 1936. A revision of the Mexican and Central American species of *Smilax*. *Carnegie Institute of Washington, Pub. No.* 461:257-297.
- Lara, R.; Sandoval, H.; Jiménez, M.; De La Roca Guzmán, A. 1991. *Determinación de la actividad inmunomoduladora de los extractos de zarzaparrilla, quilete y pericón*. Memorias. VI Congreso Nacional de Microbiología, Guatemala, pp. 88.

- Lewis, D.A. 1989. *Anti-inflammatory Drugs from Plants and Marine Sources*. Basel, Birkhauser Verlag, pp. 358.
- Logan, M.H. 1973. Digestive disorders and plant medicinals in Highland Guatemala. *Anthropos* 68:587-547.
- Martindale. *The Extra Pharmacopoeia*. 1982. Londres, James, E.S. Reynolds, pp. 430.
- Mendieta, R.M.; Del Amo, S. 1981. *Plantas Medicinales del Estado de Yucatán*. Xalapa, INIREB, pp. 311.
- Morton, J.F. 1981. *Atlas of Medicinal Plants of Middle America*. Springfield, Charles C. Thomas, pp. 83.
- Poll, E. 1984. Contribución al estudio de las Lorantáceas de Guatemala. *Rev. Fac. CCQQ y Farm.* 2:22-32.
- Ramírez, O. 1988. Espectro de inhibición de bacterias patógenas por extractos vegetales. Tesis. Guatemala, Fac. CCQQ y Farmacia, USAC, 49 p.
- Ratafullah, S.; Mossa.; J.S., Ageel, A.M.; Al-Yahya, M.A.; Tariq, M. 1991. Hepatoprotective and safety evaluation studies of sarsaparilla. *Int. J. Pharmacog.* 29:296.
- Standley, P.C. 1930. *Flora of Yucatán*. Chicago, Bot Ser Pub 279, Vol. 3, No. 3, pp. 229.
- _____; Steyermark, J. 1952. *Flora of Guatemala*. *Fieldiana: Botany* 24(3):92.
- Urizar, F.L. 1989. Ensayo clínico sobre la efectividad de *Smilax lundellii* en el tratamiento de candidosis vaginal. Tesis. Guatemala. Fac. Ciencias Médicas, USAC, 87 p.
- Williams, L.O. 1981. *The useful plants of Central America*. *Ceiba* 24:196.
- Ximénes, F. 1967. *Historia Natural del Reino de Guatemala*. Guatemala, Ed. José de Pineda Ibarra, 351 p.

Determinación taxonómica de *Smilax aristolochiaefolia* y *S. moranensis* por medio de marcadores moleculares RAPD

Domingo Amador¹, June Simpson², Martínez de la Vega³, Jorge Molina²

La zarzaparrilla es una planta arbustiva y trepadora, perteneciente a la clase monocotiledónea; forma parte de la familia Smilacaceae y del género *Smilax*. Se tienen evidencias de que la planta era utilizada con fines medicinales por los indígenas de la región mesoamericana desde la época prehispánica (Monardes 1990). Por sus propiedades antirreumática, antiséptica y antiprurítica fue incluida en la farmacopea británica en 1864 (Trease y Evans 1988), y en la farmacopea de los Estados Unidos en 1942 (Rafatullah et al. 1991).

Las partes más utilizadas de la planta son los rizomas y las raíces. Los principales usos que se le ha dado son como tónico sanguíneo, para combatir la lepra, contra enfermedades venéreas, para contrarrestar problemas de obesidad, artritis y reumatismo, problemas del hígado, herpes y deficiencia renal (Duke 1985, Rafatullah et al. 1991). En la actualidad la aplicación más importante es en la industria farmacéutica para facilitar la absorción de otros fármacos. Se utiliza además como saborizante en confitería y en la elaboración de almíbares, como agente espumante en bebidas y como texturizante en postres derivados de la leche (Price et al. 1987). En México se le utiliza todavía en la preparación de la denominada cerveza de raíz, una bebida refrescante sin contenido de alcohol.

Las propiedades bioactivas de la zarzaparrilla se atribuyen a su contenido de saponinas, las cuales son glicósidos conformados por un núcleo esterooidal al cual se unen diversos azúcares (Trease y Evans 1988, Tschesche et al. 1969).

Calderón y Rzedowski (1994) destacan la semejanza existente entre las diferentes especies de zarzaparrilla, ya que por lo general se distinguen una de otra en pocos rasgos. La naturaleza dioica del género *Smilax* y su ciclo de vida perenne dificulta la colecta de especímenes en flor en la mayoría de especies. Esos aspectos, entre otros, dificultan la clasificación de las especies sólo por caracteres morfológicos. Como prueba de las dudas en la clasificación de la zarzaparrilla, Huft (1994) sugiere que por su semejanza, ocho especies mesoamericanas deben ser reducidas a cuatro.

Se ha realizado considerable investigación de los compuestos activos de la planta, pero sin la adecuada identificación taxonómica, por las razones ya descritas. Para estos estudios es necesario

¹ Estudiante de Maestría en Biotecnología de Plantas, CINVESTAV, Irapuato, México

² Profesores-Investigadores del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Irapuato, Gto., México.

³ Profesor-Investigador de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México.

emplear técnicas versátiles que ayuden a identificar los especímenes sin depender de la medición de caracteres sujetos a influencias ambientales. Una de esas técnicas que puede apoyar a la taxonomía convencional basada en la medición de caracteres es el uso de los marcadores moleculares, los cuales no dependen de la edad de la planta ni de factores ambientales.

El objetivo del presente trabajo fue utilizar una de esas técnicas para identificar plenamente especies de zarzaparrilla. La técnica basada en el ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD) es una herramienta sencilla, rápida y relativamente precisa para casos de caracterización taxonómica de cultivares.

Materiales y métodos

Material vegetal y condiciones de cultivo

Para conocer la relación taxonómica a nivel molecular dentro y entre las especies *Smilax aristolochiaefolia* y *S. moranensis* se analizaron siete individuos de la primera especie y ocho de la segunda. Se colectaron plantas de *S. moranensis* en bosques de tipo mesófilo de montaña, propios de Pátzcuaro, Michoacán, México. Los especímenes de *S. aristolochiaefolia* se colectaron en bosques tropicales húmedos del Estado de Veracruz. Los ejemplares colectados se tuvieron bajo condiciones de invernadero y su identificación fue confirmada por el Dr. Jerzy Rzedowski, experto en taxonomía de la flora mexicana y estudioso del género *Smilax*. Ejemplares de las especies fueron depositados en el herbario del Instituto de Ecología A.C. con sede en Pátzcuaro, Michoacán.

Se usó, además, un grupo de diferentes individuos que sirvieran de comparadores taxonómicos entre especies y entre géneros, y para certificar la confiabilidad de la prueba. Dicho grupo se conformó de especímenes del mismo género y de géneros diferentes, como *Arabidopsis thaliana*, maíz (*Zea mays*) y tabaco (*Nicotiana tabacum*).

Debido a la dificultad de tener los ejemplares bajo las condiciones ambientales prevalecientes en la región fue necesario establecer cultivos *in vitro*. Los primeros cultivos *in vitro* de *S. moranensis* fueron establecidos a partir de brotes apicales de las plantas mantenidas en el invernadero. Para establecer los primeros cultivos de *S. aristolochiaefolia* fue necesario extraer los embriones cigóticos maduros, quebrando las semillas con ayuda de un martillo dada la dureza de las mismas. Los explantes se cultivaron en recipientes de vidrio de 100 mL de capacidad, con 20 mL del medio nutritivo artificial. Los cultivos se mantuvieron 14 semanas en la oscuridad y posteriormente se colocaron en el cuarto de crecimiento.

En los cultivos *in vitro*, el medio basal utilizado fue la formulación comercial distribuida por Sigma Chemical Co. (catálogo No. M5519. El medio basal fue complementado con 30 g.L⁻¹ de

sacarosa y 3 g.L⁻¹ de Phytigel de Sigma Chemical Co. (catálogo No. P8169) como agente gelificante. El pH del medio de cultivo fue ajustado a 5,75 antes de agregar el agar y el medio fue esterilizado en autoclave durante 20 min a 1 kg.cm⁻² de presión y 121C de temperatura. Con este sistema se obtuvieron plantas con follaje y raíz en 24 semanas de cultivo.

Extracción del ADN genómico

Para la extracción del ADN genómico de cada una de las plantas de las especies de zarzaparrilla, así como el de los individuos comparadores, se utilizó la metodología descrita por Dellaporta (1994). Se partió de plantas de *S. moranensis* obtenidas *in vitro* y de invernadero, así como de plantas exclusivamente *in vitro* de *S. aristolochiaefolia*.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Se preparó una mezcla madre para la reacción de amplificación para todas las muestras. El volumen total de esta mezcla fue de 25 mL conformado por agua desionizada estéril; un amortiguador de la reacción a base de Tris-HCl 10 mm, pH 8,3; KCl 50 mm; MgCl 21,5 mm; gelatina; 100 mm de una mezcla de nucleótidos dATP, dCTP, dGTP y dTTP; 0,2 mm del oligonucleótido a probar; 30 mg del ADN genómico del individuos de *Smilax* o de la especie a tratar y 5 U.mL⁻¹ de la enzima polimerasa-Taq (AmpliTaq, Perkin Elmer Cetus).

Oligonucleótidos iniciadores utilizados

Como iniciadores de la reacción se incluyeron los siguientes oligonucleótidos sintéticos de secuencia conocida, identificados con sus códigos comerciales (Operon Technologies, Inc.) y pesos moleculares: OPE01(2964), OPE02(3124), OPE03(2988), OPE04(3019), OPE05(3099), OPE16(3090), OPG02(3084), OPG09(2979), OPG12(2988), OPG15(3019), OPH11(2970), OPRO1(3026), OPRO8(2946) y OPR19(1890).

Condiciones experimentales para la reacción de amplificación

La reacción se llevó a cabo bajo condiciones estrictamente controladas de temperatura usando un termociclador Gene Amp PCR System 9600 de Perkin Elmer. Con este equipo las muestras fueron sometidas a amplificación durante 40 ciclos después de 2 minutos de calentamiento. Cada ciclo consistió de 1 min a 94C, 2 min a 32C y 2 min a 72C. El tiempo total de reacción fue de cinco horas, aproximadamente.

Detección de similitudes y diferencias entre individuos en un gel de agarosa

Al final de la reacción, los fragmentos de ADN amplificados fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa 1,2% con un sistema de amortiguador conformado por 0,045 M de Tris-borato y 0,002 M de EDTA. El volumen de reacción total fue cargado en el gel utilizando un amortiguador de carga compuesto por 30% de glicerol, 0,25% de azul de bromofenol, 0,25% de xilencianol, 1,00 mM de EDTA y el amortiguador TAE 1x (0,04 M de Tris-acetato y 0,001 M de EDTA). Las muestras fueron corridas aproximadamente a 100 voltios por espacio de 2 horas. Los geles fueron tejidos con bromuro de etidio a razón de 1,0 mg/mL y la información obtenida de los fragmentos RAPD, como producto del proceso electroforético, fue transferida por procedimientos fotográficos a placas negativas y positivas para su análisis.

Evaluación global de la relación taxonómica entre individuos y entre especies de *Smilax*

Los datos de la proporción de fragmentos compartidos fueron analizados con el Análisis de Conglomerados del Programa SAS para obtener un dendrograma o árbol filogenético que describiera la relación entre individuos y entre especies, por medio de la ecuación de similitud sugerida por Nei y Li (1979)⁴. El análisis se realizó utilizando los datos generados por todos los oligos al mismo tiempo.

Por otro lado, con base en la proporción de fragmentos no compartidos, de acuerdo con la ecuación sugerida por Skroch *et al.* (1992)⁵ que permite establecer las diferencias entre individuos los datos fueron también analizados dando origen a un dendrograma similar.

Resultados y discusión

Número de oligos para describir la variabilidad

Para describir la variabilidad o la relación taxonómica en especies de zarzaparrilla se utilizaron 14 oligonucleótidos de 10 bases nitrogenadas de tamaño. En algunos casos, el uso de un solo oligo describe la variabilidad de las especies en estudio. Este resultado contrasta con los obtenidos por Wilde *et al.* (1992) en un estudio de la variabilidad del cacao (*Theobroma cacao*), en el cual con 9 oligos iniciadores de 10 bases, se obtuvieron las huellas dactilares de todos los cultivares utilizados en el estudio. Por otro lado, un estudio de las relaciones entre diez cultivares

4 $[S = 2 \text{ veces el número de fragmentos compartidos entre dos individuos} / \text{la sumatoria de los fragmentos de dichos individuos}]$ (ecuación 1))

5 $[D = \text{Número de fragmentos no compartidos entre dos individuos} / \text{Número de fragmentos considerados entre dichos individuos}]$ (ecuación 2))

de papaya (*Carica papaya* L.) fue realizado con 11 oligos iniciadores de diez bases (Stiles et al. 1993). En algunos casos, el número de iniciadores utilizado ha sido alto, como en el caso del estudio para la selección de recombinantes de trigo x centeno, en donde usaron 89 (Koebner y Martin 1994).

Adicionalmente, se pudo observar que diferentes oligos detectan diferente información. Algunos detectan alto grado de polimorfismo, otros bajo; unos sirven para analizar la relación entre individuos de una sola especie de zarzaparrilla, y otros para las dos. Por ejemplo, cuando se probó el oligo OPE02, los índices de similitud fueron de 0,97 y 0,93 entre los individuos de *S. moranensis* y *S. aristolochiaefolia*, respectivamente; pero el valor de similitud entre ambas especies fue de cero.

Estos índices evidencian la estrecha relación entre los individuos de una misma especie, pero ninguna relación entre especies. Dichos resultados son consistentes, en parte, con los obtenidos por Stiles et al. (1993) en papaya, donde la similitud mínima detectada entre individuos fue 0,7, lo que sugiere que el germoplasma de papaya domesticada es muy estrecho en forma intraespecífica.

Muestra representativa de la población

Para analizar la relación filogenética entre individuos y entre especies de zarzaparrilla se utilizaron entre seis y ocho ejemplares de plantas, las cuales representaron la variabilidad genética de cada especie. Al respecto, Yu y Pauls (1994) sugieren que siete individuos constituyen la muestra representativa de la variabilidad de una población. Es evidente que al aumentar el tamaño de la muestra disminuye el error experimental y los datos obtenidos se ajustan en mayor grado a los esperados. Dos Santos et al. (1994), en un estudio de 45 genotipos de *Brassica oleracea* L., concluyeron que las diferencias observadas en la estimación de la similitud genética obedecieron a un error en el tamaño de la muestra debido a diferencias basadas en el AND; es decir, en la forma cómo los RAPD y RFLP detectan el polimorfismo. Así, el coeficiente de variación disminuye al aumentar el tamaño de la muestra.

Grado de polimorfismo

En cuanto al grado de polimorfismo, la producción de fragmentos fue abundante; posiblemente debido a que además de ser una planta silvestre, es una planta de polinización cruzada. Esto quiere decir que conserva toda su variabilidad genética ya que no ha sido sometida a programas de mejoramiento de ningún tipo.

Se pudo observar la presencia de hasta ocho fragmentos por individuo con un solo iniciador. En promedio, el número de fragmentos generado por cada uno de los iniciadores en cada una de las especies de zarzaparrilla fue similar, lo cual contrasta con otros estudios. Vierling y Nguyen

(1992) emplearon los marcadores RAPD para determinar la diversidad genética de genotipos de trigo diploide (*Triticum monococcum* y *T. urartu*), mediante análisis electroforético de los productos de amplificación. Ellos determinaron una mayor incidencia de polimorfismo en *T. urartu* que en *T. monococcum*; un dendrograma construido con coeficientes de similitud indicó mayor similitud dentro de las especies *T. monococcum* que dentro de *T. urartu*.

Tamaño de los fragmentos RAPD

Para calibrar el tamaño de los fragmentos en pares de bases se utilizaron los datos del estándar de peso molecular considerado en el estudio y, por extrapolación logarítmica con los datos de los fragmentos RAPD, se estimaron los valores de tamaño. Para calibración se consideraron solamente los fragmentos del ADN estándar que fueron claramente visibles y que migraron en el rango de distancia en que se desplazaron también los fragmentos RAPD.

En un análisis conjunto del resultado de todos los ensayos se pudo observar que el tamaño de los fragmentos oscila entre aproximadamente 260 y 3000 pares de bases en *S. aristolochiaefolia*, mientras que en *S. moranensis* el tamaño osciló entre 260 y 2750. La mayor frecuencia en la distribución de los valores de ubicó entre 750 y 1250 pares de bases en *S. aristolochiaefolia*, y entre 750 y 1500 pares de bases en *S. moranensis*. En *S. aristolochiaefolia*, el número promedio de fragmentos diferentes fue de 12,6; mientras que en *S. moranensis* fue de 12,3. Estos resultados son consistentes con los obtenidos por Wilde *et al.* (1992) en cacao en donde el rango de fragmentos varió entre cero y 3000 pares de bases.

Patrones de fragmentos generados

La cantidad de fragmentos más alta fue de ocho en seis casos y la más baja de uno en 35 casos. El número de fragmentos en 14 patrones generados varió de 46 a 109. Los valores más altos se obtuvieron con los oligos OPGL2, OPGO2 y OPRO8, con 102, 105 y 109 fragmentos RAPD, respectivamente.

La Fig. 1 presenta una registro fotográfico de un gel después de la electroforesis en los oligos iniciadores OPE02 Y OPE03. Se observan dos patrones de fragmentos y el comportamiento de los mismos.

Los codigos s1 a s4 son las muestras comparadoras del mismo género *Smilax*. Las letras a, m, y t son muestras comparadoras de géneros diferentes, es decir *Arabidopsis thaliana* (a), *Zea mays* (maíz, m) y *Nicotiana tabacum* (tabaco, t).

Relación taxonómica entre individuos y entre especies de *Smilax*

Por medio de técnicas de análisis de conglomerados, se realizó un análisis global tomando en cuenta los datos de todos los oligos probados al mismo tiempo. El análisis de conglomerados (cluster analysis) permite representar la variabilidad en forma multidimensional de manera que sea más comprensible, con la finalidad de encontrar las relaciones filogenéticas entre individuos, especies y/o poblaciones.

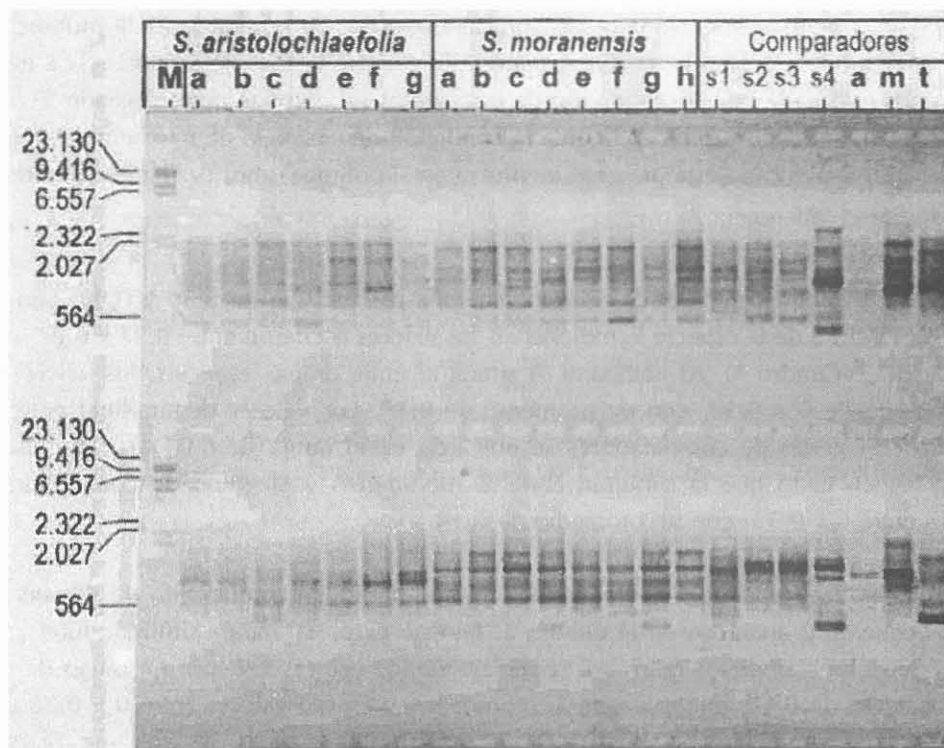


Fig. 1. Patrones de fragmentos obtenidos de la reacción de amplificación utilizando muestras de ADN genómico de diferentes individuos y los oligonucleótidos iniciadores OPE02 y OPE03. La letra M indica el marcador /HINDIII, los números colocados en el lado izquierdo indican el tamaño de los fragmentos de dicho marcador.

Los datos analizados se originaron en la codificación de la condición de presencia o ausencia de fragmentos obtenidos con los oligos sobre el ADN, de los individuos de las dos especies de *Smilax* e individuos de otras especies y géneros. Esta codificación se realizó de la siguiente manera:

- Identificando los lugares donde se presentó algún fragmento RAPD en al menos un individuo. Dichos fragmentos fueron codificados numerándolos consecutivamente a partir de su origen de migración en el gel de agarosa, o sea la parte inicial del gel.
- Una vez que se obtuvo una matriz, cuyas columnas indican los individuos y las filas los fragmentos, se asignó '1' si el fragmento estaba presente y '0' si el fragmento estaba ausente.

Para el análisis de relación entre individuos fue necesario, primero, definir la métrica adecuada para evaluar la distancia filogenética, y segundo; definir el procedimiento de agrupamiento. Así, la métrica seleccionada fue la distancia estimada partiendo de la proporción de fragmentos compartidos (ecuación 1). Otra manera de estimar la distancia filogenética entre pares de individuos está dada por la proporción de fragmentos no compartidos (ecuación 2). En este caso la distancia filogenética toma en cuenta la condición de ausencia de fragmentos, ya que el hecho de que un fragmento no esté presente involucra en sí polimorfismo, de manera que debe ser contabilizado como 'diferencia'.

Los valores de similitud dentro de *S. aristolochiaefolia* oscilaron entre 0,30 y 0,90, con un promedio de 0,67. Dentro de la especie *S. moranensis* los valores oscilaron entre 0,27 y 0,87, con un promedio de 0,52 (Cuadro 1). Al comparar la similitud entre ambas especies, los valores se ubicaron en el rango de 0 a 0,32, con un promedio de 0,17. Los valores de similitud entre *S. aristolochiaefolia* y el grupo de comparadores se ubicaron en el rango de 0,04 a 0,18 con un promedio de 0,10; en tanto que la similitud entre *S. moranensis* y el grupo de comparadores presentó valores entre 0 y 0,33, con un promedio de 0,14.

Las estimaciones de proporción de fragmentos no compartidos o proporción de diferencias con base en la ecuación 2 aparecen en el Cuadro 2. En este caso, '0' indica similitud total y '1' similitud nula. Entre los individuos de *S. aristolochiaefolia* los valores tuvieron un rango de 0 a 0,15 con un promedio de 0,10; mientras que *S. moranensis* presentó valores entre 0 y 0,26 con un promedio de 0,14. Entre ambas especies los valores oscilaron de 0,24 a 0,36, con un promedio de 0,31. Al relacionar la especie *S. aristolochiaefolia* con el grupo de comparadores, los valores oscilaron entre 0,26 y 0,36, con un promedio de 0,31. Finalmente, la relación de *S. moranensis* con el grupo de comparadores tuvo valores de 0,19 a 0,35, con un promedio de 0,32.

El análisis de conglomerados de los datos de distancia dio origen a gráficas bidimensionales donde se describe la diversidad genética entre individuos y entre especies. En la Fig. 2 se observa la estrecha relación entre los individuos y entre las especies de *Smilax*; claramente se distinguen tres grupos taxonómicos: el de *S. aristolochiaefolia*, el de *S. moranensis* y el de los comparadores intra y intergenéricos. La Fig. 3, construida con datos de proporción de fragmentos no compartidos, describe la diversidad de las dos especies de *Smilax* en forma similar.

Bagheri et al. (1995), al analizar datos con base en la presencia o ausencia de fragmentos y la proporción de fragmentos compartidos obtenidos con 34 iniciadores, establecieron diferencias claras entre un grupo de variedades australianas de chícharo (*Pisum sativum* L.) y un grupo de entradas del mismo cultivo tolerantes al boro. Por otro lado, Wilkie et al. (1993), a partir de un dendrograma construido con coeficientes de distancia, encontraron alta correlación entre la información obtenida de RAPD y la clasificación taxonómica ya establecida en especies del género *Allium*. Orozco Castillo et al. (1994), al evaluar la diversidad genética de café en general y entre genotipos de *Coffea arabica* usando marcadores RAPD, observaron que algunos productos de la amplificación de *Coffea canephora* fueron comunes en dos genotipos de *C. arabica*, Rume Sudán y Catimor; con ello se estableció evidencia del flujo de genes entre especies.

En algunos casos la técnica RAPD ha puesto en duda la clasificación ya establecida de las especies. Por ejemplo, Figueira et al. (1994) realizaron un estudio de verificación de la clasificación de ocho especies y 29 genotipos latinoamericanos de *Theobroma cacao*. El dendrograma obtenido, con base en datos de presencia o ausencia de fragmentos y proporción de fragmentos compartidos, reveló que la separación de los genotipos representantes de todas las razas y procedencias no era congruente con la clasificación convencional en tres razas establecidas: criollo, forastero y trinitario.

Por otra parte, aunque la técnica RAPD ha encontrado aplicación en un buen número de plantas, la técnica no parece ser aplicable a trigo, quizás debido a su tamaño grande de genoma y/o a su abundancia de secuencias altamente repetitivas (Koebner y Martin 1994).

Cuadro 1. Distancia genética considerando datos de los fragmentos compartidos.

	<i>Smilax aristolochiaefolia</i>								<i>Smilax moranensis</i>								Comparadores							
	Saa	Sab	Sac	Sad	Sae	Saf	Sag	Sah	Sma	Smb	Smc	Smd	Sme	Smf	Smg	Smh	s1	s2	s3	s4	a	m1	m2	t
Saa	1.00																							
Sab	0.75	1.00																						
Sac	0.75	0.90	1.00																					
Sad	0.77	0.88	0.87	1.00																				
Sae	0.79	0.72	0.76	0.80	1.00																			
Saf	0.70	0.73	0.72	0.80	0.87	1.00																		
Sag	0.64	0.61	0.63	0.72	0.67	0.71	1.00																	
Sah	0.40	0.41	0.42	0.47	0.40	0.39	0.51	1.00																
Sma	0.28	0.23	0.26	0.26	0.27	0.28	0.32	0.24	1.00															
Smb	0.18	0.11	0.11	0.12	0.18	0.19	0.14	0.00	0.60	1.00														
Smc	0.18	0.13	0.14	0.14	0.17	0.15	0.11	0.09	0.42	0.46	1.00													
Smd	0.25	0.19	0.18	0.20	0.27	0.22	0.17	0.05	0.40	0.37	0.67	1.00												
Sme	0.21	0.16	0.14	0.17	0.24	0.20	0.17	0.04	0.31	0.38	0.61	0.69	1.00											
Smf	0.21	0.16	0.14	0.17	0.21	0.20	0.17	0.04	0.32	0.33	0.65	0.72	0.87	1.00										
Smg	0.21	0.20	0.20	0.20	0.21	0.21	0.17	0.05	0.35	0.27	0.58	0.64	0.67	0.73	1.00									
Smh	0.22	0.12	0.12	0.14	0.22	0.20	0.18	0.00	0.34	0.48	0.35	0.47	0.63	0.62	0.56	1.00								
s1	0.13	0.16	0.18	0.17	0.16	0.16	0.15	0.06	0.16	0.13	0.22	0.29	0.29	0.29	0.33	0.24	1.00							
s2	0.05	0.08	0.06	0.05	0.07	0.07	0.05	0.06	0.17	0.07	0.17	0.22	0.17	0.21	0.22	0.02	0.53	1.00						
s3	0.06	0.09	0.07	0.06	0.07	0.08	0.06	0.07	0.23	0.06	0.22	0.22	0.15	0.20	0.23	0.05	0.47	0.74	1.00					
s4	0.12	0.13	0.13	0.14	0.12	0.13	0.18	0.17	0.22	0.14	0.24	0.13	0.11	0.17	0.17	0.08	0.15	0.21	0.22	1.00				
a	0.10	0.06	0.06	0.10	0.11	0.09	0.10	0.06	0.09	0.03	0.12	0.11	0.05	0.07	0.11	0.00	0.12	0.16	0.11	0.13	1.00			
m1	0.11	0.11	0.12	0.11	0.12	0.11	0.09	0.06	0.16	0.13	0.13	0.12	0.14	0.13	0.16	0.12	0.05	0.04	0.03	0.05	0.12	1.00		
m2	0.07	0.07	0.07	0.06	0.06	0.04	0.04	0.04	0.08	0.06	0.04	0.02	0.06	0.06	0.10	0.08	0.00	0.00	0.00	0.03	0.11	0.38	1.00	
t	0.12	0.16	0.14	0.11	0.14	0.16	0.13	0.06	0.14	0.15	0.14	0.16	0.13	0.13	0.08	0.07	0.07	0.04	0.05	0.15	0.10	0.07	0.08	1.00

Cuadro 2. Distancia genética considerando datos de los fragmentos no compartidos

	<i>Smilax aristolochiaefolia</i>							<i>Smilax moranensis</i>							Comparadores								
	Saa	Sab	Sac	Sad	Sae	Saf	Sag	Sma	Smb	Smc	Smd	Sme	Smf	Smg	Smh	s1	s2	s3	s4	a	m1	m2	t
Saa	0.00																						
Sab	0.10	0.00																					
Sac	0.09	0.03	0.00																				
Sad	0.09	0.04	0.05	0.00																			
Sae	0.09	0.11	0.10	0.08	0.00																		
Saf	0.13	0.11	0.11	0.08	0.06	0.00																	
Sag	0.14	0.15	0.14	0.11	0.14	0.12	0.00																
Sma	0.25	0.25	0.24	0.25	0.27	0.26	0.24	0.00															
Smb	0.27	0.28	0.28	0.29	0.30	0.29	0.30	0.08	0.00														
Smc	0.31	0.33	0.32	0.32	0.34	0.33	0.34	0.18	0.07	0.00													
Smd	0.29	0.30	0.31	0.31	0.30	0.32	0.31	0.19	0.15	0.07	0.00												
Sme	0.33	0.34	0.34	0.35	0.34	0.35	0.35	0.24	0.21	0.09	0.11	0.00											
Smf	0.33	0.34	0.35	0.35	0.36	0.36	0.35	0.26	0.23	0.08	0.11	0.06	0.00										
Smg	0.30	0.32	0.32	0.32	0.33	0.34	0.30	0.22	0.20	0.13	0.13	0.11	0.09	0.00									
Smh	0.27	0.30	0.30	0.30	0.30	0.31	0.31	0.21	0.18	0.12	0.13	0.09	0.06	0.05	0.00								
s1	0.29	0.27	0.26	0.28	0.31	0.30	0.29	0.24	0.25	0.24	0.23	0.25	0.25	0.23	0.24	0.00							
s2	0.34	0.31	0.31	0.33	0.36	0.35	0.34	0.25	0.27	0.30	0.27	0.31	0.30	0.28	0.31	0.13	0.00						
s3	0.29	0.28	0.28	0.29	0.31	0.30	0.28	0.19	0.24	0.25	0.23	0.27	0.26	0.24	0.28	0.13	0.07	0.00					
s4	0.32	0.33	0.33	0.33	0.34	0.34	0.30	0.25	0.26	0.31	0.35	0.35	0.32	0.33	0.31	0.26	0.26	0.25	0.00				
a	0.31	0.32	0.31	0.32	0.34	0.35	0.31	0.26	0.29	0.29	0.30	0.35	0.34	0.31	0.34	0.25	0.25	0.22	0.29	0.00			
m1	0.30	0.28	0.28	0.30	0.32	0.32	0.30	0.24	0.24	0.30	0.28	0.30	0.32	0.29	0.28	0.26	0.28	0.26	0.34	0.24	0.00		
m2	0.29	0.28	0.27	0.30	0.32	0.33	0.30	0.23	0.21	0.28	0.28	0.30	0.30	0.27	0.26	0.25	0.27	0.23	0.28	0.23	0.12	0.00	
t	0.29	0.27	0.27	0.29	0.31	0.30	0.29	0.24	0.24	0.28	0.26	0.31	0.31	0.31	0.31	0.25	0.28	0.24	0.27	0.25	0.25	0.22	0.00

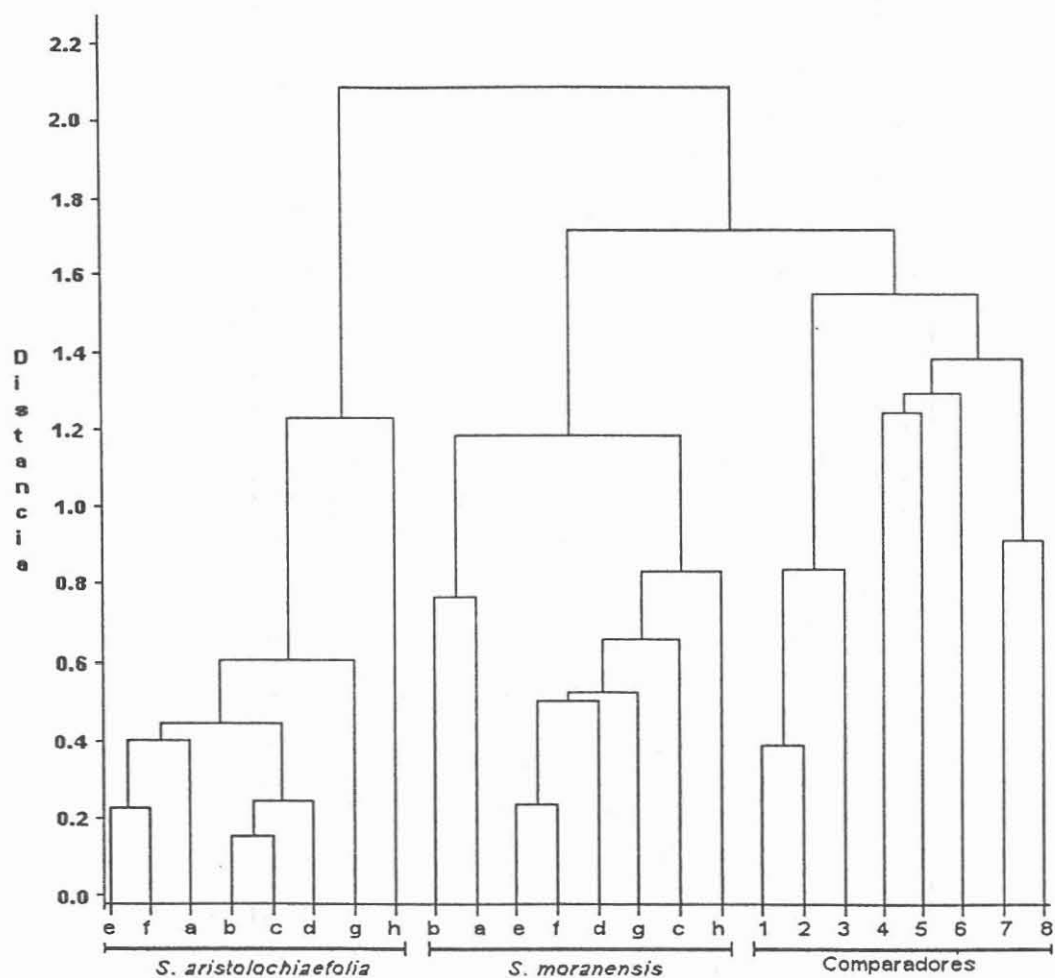


Fig. 2. Dendrograma de la relación taxonómica obtenido con base en los fragmentos RAPD compartidos en dos especies de *Smilax* y cuatro especies de comparadores.

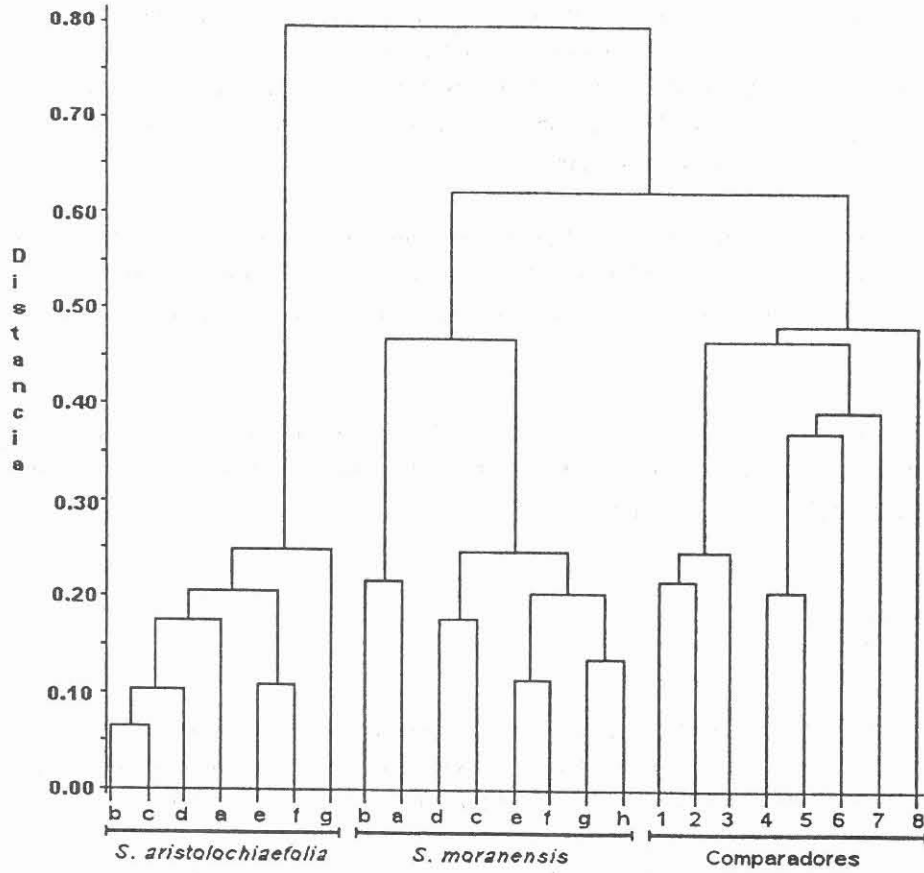


Fig. 3. Dendrograma de la relación taxonómica obtenido con base en los fragmentos RAPD compartidos en dos especies de *Smilax* y cuatro especies de comparadores.

Conclusiones y perspectivas

El presente trabajo permitió describir la relación existente entre individuos de una misma especie de zarzaparrilla y establecer diferencias entre especies utilizando datos de marcadores RAPD. Es incuestionable que este sistema de marcadores constituye una técnica útil para apoyar la taxonomía clásica, especialmente en los casos de difícil identificación, como el de la zarzaparrilla.

El uso de un número grande de oligonucleótidos y una muestra grande de individuos que represente la variabilidad de una misma especie contribuyó a un mejor ajuste entre la información obtenida y la esperada. Los dendrogramas obtenidos describieron el agrupamiento entre individuos en forma congruente con la clasificación ya establecida de la zarzaparrilla; la variabilidad interespecífica fue mayor que la intraespecífica.

Los resultados obtenidos en dos especies de zarzaparrilla pueden ser de utilidad en la identificación de plantas para estudiar sus compuestos activos. Esta técnica también pueden ser útil para certificar la identidad de las plantas al momento de su comercialización.

Agradecimiento

Agradecemos la colaboración de Cano L. y Díaz-Barriga H. por su ayuda en la colecta de los especímenes de la planta. También al Dr. Rzedowski J. por la certificación de la identidad por caracteres morfológicos de las plantas.

Bibliografía

- Bagheri, A.; Paul, J.G.; Langridge, P.; Rathjen, A.J. 1995. Genetic distance detected with RAPD markers among selected Australian commercial varieties and boron-tolerant exotic germplasm of pea (*Pisum sativum* L.). *Molecular Breeding* 1:193-197.
- Calderón, G.; Rzedowski, J.R. 1994. Familia Smilacaceae. *In* Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Fascículo 26. Rzedowski J y Calderón G. (Eds). Instituto de Ecología, Centro Regional del Bajío, México.
- Dellaporta, S. 1994. Plant DNA miniprep and microprep: versions 2.1-2.3. The maize handbook. Freeling M y Walbot V. (Eds). Springer-Verlag, New York.

Dos Santos, J.B.; Nienhuis, J.; Skroch, P.; Tivang, J.; Slocum, M.K. 1994. Comparison of RAPD and RFLP genetic markers in determining genetic similarity among *Brassica oleracea* L. genotypes. *Theoretical and Applied Genetics* 87:909-915.

Duke, J. 1985. *Handbook of medicinal herbs* pp 446. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Figueira, A.; Janick, J.; Levy, M.; Goldsbrough, P. 1994. Reexamining the classification of *Theobroma cacao* L. using molecular markers. *Journal of American Society for Horticultural Science* 119:1073-1082.

Huft, M.J. 1994. Descripción de la familia Smilacaceae. *In* *Flora Mesoamericana* v. 6 pp 20-25. Davidse G, Sousa M, Arthur S y Chater O (Eds). The Natural History Museum (Londres), Instituto de Biología (UNAM, México), Missouri Botanical Garden (USA),

Koebner, RM; Martin, P.K. 1994. RAPDs as molecular markers for the detection of the presence of rye chromosomes in wheat. *Journal of Genetics & Breeding* 48:85-88.

Monardes, N. 1990. Historia medicinal de las cosas que se traen de nuestras Indias Occidentales. *In* *Herbolaria de Indias; historia natural del Nuevo Mundo*. Denot E y Satanowsky N (Eds). Instituto Mexicano del Seguro Social, México. pp 56-76.

Orozco-Castillo, C.; Chalmers, K.J.; Waugh, R.; Powell, W. 1994. Detection of genetic diversity and selective gene introgression using RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics* 87:934-940.

Price, K.R.; Johnson, I.T.; Fenwick, G.R. 1987. The chemistry and biological significance of saponins in foods and feedingstuffs. *CRC Critical reviews in food science and nutrition* 26:27-135.

Rafatullah, S.; Mossa, J.S.; Ageel, A.M.; Al-Yahya, M.A.; Tariq, M. 1991. Hepatoprotective and safety evaluation studies on sarsaparilla. *Journal of Farmacognosy* 29:296-301.

- Skroch, P.; Tivang, J.; Nienhuis, J. 1992. Analysis of genetic relationships using RAPD marker data. *In Plant Breeding Symposium, Applications of RAPD Technology to Plant Breeding*. Minneapolis. pp 26-30
- Stiles, J.I.; Lemme, C.; Sondur, S.; Morshidi, M.B.; Manshardt, R. 1993. Using randomly amplified polymorphic DNA for evaluating genetic relationships among papaya cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* 85:696-701.
- Tschesche, R.; Lodke, G. U.; Wulff, G. 1969. Sarsaparillosid, ein bisdesmosidisches 22-hidroxy-furostanol-saponin. *Chemische Berichte* 102:1253 - 1269.
- Trease, G.E.; Evans, W.Ch. 1988. *Tratado de Farmacognosia*. Nueva Editorial Interamericana, México. pp 492-531; 688-691.
- Vierling, R.A.; Nguyen, H.T. 1992. Use of RAPD markers to determine the genetic diversity of diploid wheat genotypes. *Theoretical and Applied Genetics* 84:835-838.
- Wilde, J.; Waugh, R.; Powell, W. 1992. Genetic fingerprinting of *Theobroma* clones using randomly amplified polymorphic DNA markers. *Theoretical and Applied Genetics* 83:871-877.
- Wilkie, S.E.; Isaac, P.G.; Slater, R.J. 1993. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers for genetic analysis in *Allium*. *Theoretical and Applied Genetics* 86:497-504.
- Yu, K.; Pauls, K.P. 1994. The use of RAPD analysis to TAG genes and determine relatedness in heterogeneous plant populations using tetraploid alfalfa as an example. *In PCR Innovations: current innovations*. Griffin HG y Griffin AM (Eds). CRC Press, Boca Raton. pp 201 - 214.

Etnobotánica

Etnobotánica

Historia y etnobotánica de *Smilax* sp.

Róger Villalobos¹, Rafael Ocampo¹

Sarah Dalle², Gabriel Robles¹

La extracción de productos vegetales a partir de sus poblaciones naturales en el bosque no sólo es parte de la cultura y la historia de los pueblos indígenas americanos, sino también de los conquistadores europeos, quienes se contagiaron del afán por encontrar recursos vegetales valiosos. Desde el inicio de la colonización de la América tropical, la historia incluye varios capítulos donde la extracción de recursos del bosque fue la base de importantes negocios, que provocaron además la explotación y muerte de miles de indígenas.

Entre los variados productos forestales cuyo aprovechamiento ha involucrado a pueblos enteros, como fibras de palmas, fibras de agaves y pitas (*Bromelia spp.*), cera vegetal (*Myrica spp.*), sarrapia o cumarú (*Coumarouna spp.*), fuente de cumarina para perfumes y medicamentos, polvo de guaraná (*Paullinia cupana*), nuez del Brasil (*Bertholletia excelsa*), aceite de babasú (*Orbignya phalerata*) palmitos (*Bactris gasipaes*, *Euterpe spp.*) y otros, se incluyen varias plantas medicinales, algunas tan importantes como las quinas, rubiáceas con propiedades febrífugas y antimaláricas de los géneros *Cinchona*, *Remijia* y *Landenbergia* (Domínguez y Gómez 1990, May 1991).

Una de las plantas cuyo uso medicinal por parte de los españoles ha sido documentado históricamente es la zarzaparrilla, que fue el principal producto de exportación del puerto de Iquitos en 1853 (Domínguez y Gómez 1990) y uno de los principales extraídos de la cuenca del río Magdalena durante la colonia (Galvis 1994). Pero a diferencia de la quina, que fue trasplantada a las colonias asiáticas francesas, inglesas y holandesas, con lo que desapareció la que fuera una importante actividad extractiva en los bosques sudamericanos durante los siglos XVIII y XIX (Domínguez y Gómez 1990), la zarzaparrilla (especies de *Smilax*) se siguió cosechando en el bosque, aunque con distintas intensidades, a lo largo de estos 500 años.

La capacidad del recurso para soportar este saqueo está aún por investigarse. La extracción indiscriminada de plantas medicinales a partir del bosque ha colocado las poblaciones naturales de varias especies en peligro de extinción. Gupta (1995) menciona los casos de *Rauvolfia serpentina* y *Dioscorea deltoidea* en India, *Ephedra sinecia* en China, *Artemisia maritima* en Pakistán, *Hyocyanus muticus* en Egipto, *Cassia acutifolia* en Etiopía y *Catharantus roseus* en las Antillas.

¹ Proyecto Olafo, CATIE

² Universidad McGill, Canadá

Aunque el estado de las poblaciones naturales de *Smilax* spp. y el efecto de la actividad extractiva sobre ellas no ha sido cuantificado ni evaluado, la acelerada reducción de su hábitat el bosque húmedo tropical conlleva la pérdida de diversidad genética para el género. En estos momentos, la zarzaparrilla es considerada como un recurso muy degradado en Centroamérica y México (FAO 1994).

Por otra parte, los estudios realizados en Costa Rica sobre propagación, principios químicos y comercialización de *Smilax* spp. (Castro y Umaña 1990, Chavarría 1987, Gadea 1994, Palma 1995) son preliminares, y el conocimiento documentado sobre ecología, fenología y otros aspectos biológicos es mínimo (Barrantes et al. 1994).

El género *Smilax*

El género *Smilax* estuvo incluido dentro de la familia Liliaceae, junto con otros 15 géneros botánicos; pero en años recientes se constituyó en el único representante de una nueva familia: Smilacaceae (Huft 1994). Esta decisión fue respaldada por estudios cromosómicos (Vijayavalli et al. 1989) y de la composición de las semillas (Morice 1970) y por la revisión del género en Brasil (Andreatta 1980).

El género lo componen lianas leñosas y plantas trepadoras, dioicas, con raíces abundantes que pueden formar rizomas o tubérculos. En el campo se reconocen por sus tallos verdes, angulares o redondos, cubiertos de espinas, así como por sus hojas alternas palmitinervadas, con tres a nueve venas, de pecíolo laminado en la base. Las flores, unisexuales y con perianto en seis segmentos, son blancas o verdosas y forman umbelas solitarias o pseudoracemosas axilares en ramificaciones cortas. Los frutos son bayas rojas, azules o negras, con una a seis semillas (Gentry 1993, Huft 1994, Huxley et al. 1992, Conzatti 1947, García 1975, Gentry 1993, Howard 1979, Ocampo 1986, Woodson 1965).

Los miembros de esta familia pueden confundirse con cierta facilidad con las especies del género *Dioscorea* sp. debido a la similitud de los tallos y de los aguijones (Gentry 1993). *Smilax* L. incluye aproximadamente 350 especies distribuidas en todo el mundo, incluyendo las zonas templadas, aunque es predominantemente tropical (Gentry 1993).

En América Central estas plantas son típicas de regiones boscosas, donde generalmente aparecen en áreas bien drenadas, aunque de suelos arcillosos, con un pH entre 5,0 y 5,3; la temperatura promedio anual en esas regiones es de 18 a 23 °C y la precipitación de 1700 a 5600 mm (Ocampo 1986).

En Costa Rica, sin un proceso sistemático de búsqueda, se han encontrado plantas del género

Smilax hasta los 1100 msnm (Ocampo 1986). En un listado de flora de Costa Rica del Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio) y el Missouri Botanical Garden aparecen 12 especies³: *S. candelariae* A. DC., *S. chiriquensis* C.V. Morton, *S. domingensis* Willd., *S. engleriana* F. W. Apt., *S. kunthii* Killip y C.V. Morton, *S. mollis* Humb. y Bonpl. ex Willd., *S. panamensis* Morong, *S. spinosa* Mill., *S. spissa* Killip y C.V. Morton, *S. subpubescens* A. DC., *S. vanilliodora* F. W. Apt., *S. velutina* Killip y C.V. Morton.

El Herbario de la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica incluye, además, una muestra de *S. regelii* Killip y Morton. Todas ellas han sido clasificadas con base en la clave de Huft (1994).

Se conoce poco sobre la biología reproductiva y la fenología del género, aunque su permanencia en el ecosistema parece depender en gran medida de su reproducción vegetativa (Dalle 1996, Putz 1984).

Especies útiles del género *Smilax*

Su condición dioica y las diferencias morfológicas (sobre todo de las hojas) entre individuos y entre estados de madurez han dificultado la clasificación taxonómica de las especies de *Smilax*; más si se considera que las colecciones que incluyen órganos florales de ambos sexos son escasas (Huft 1994).

Aunque los criterios de clasificación de Huft (1994) no incluyen la morfología de los órganos subterráneos, de especial interés en este género, en su clasificación de la flora mesoamericana el autor identifica como sinónimos diez nombres descritos previamente.

Según Andreata (1980) y Gratani *et al.* (1989), la morfología de las hojas de *Smilax* varía no sólo con la edad de la planta, sino con el microambiente e incluso dentro del mismo individuo, lo que hace aún más difícil la clasificación de las especies a partir de muestras estériles.

Estudios biométricos para enfrentar el problema de variación morfológica de hojas e identificación de especies de *Smilax* en Brasil han sido realizados por Mandarim-de-Lacerda *et al.* (1992), para *S. rufescens* Griseb, Cruz *et al.* (1994), para *S. fluminensis* Streudel, Andreata y Pereira (1990) para plántulas en germinación de cinco especies y Mandarim-de-Lacerda y Andreata (1993-1994). Estos últimos, mediante análisis estadístico por conglomerados identificaron la combinación de dos criterios morfométricos y cinco morfológicos que permitieron diferenciar 50 muestras de *S. campestris* Griesbach y *S. cognata* Kunth con un 75% de aciertos.

³ INBio, Missouri Botanical Garden. 1995. Manual de la Flora de Costa Rica.
<http://www.mobot.org/manual.plantas/046762/G046762.html>.

Para una buena clasificación taxonómica se requieren muestras tanto de las partes juveniles como maduras de las lianas. Se debe poner el énfasis en la observación de características claves como: longitud y forma del pecíolo, pubescencia, forma de los aguijones, presencia y características del rizoma, forma del tallo (ya sea cuadrangular o redondeado), largo del pedúnculo floral, color de los frutos y tipo de flores⁴.

En América Central se reconocen popularmente dos tipos de *Smilax* a las cuales se les atribuyen propiedades medicinales: cuculmecha y zarzaparrilla. En Costa Rica y Honduras se llama zarzaparrilla a una planta de raíces alargadas de menos de 5 mm de diámetro y cuculmecha a una planta que forma una especie de rizoma voluminoso y duro, de color anaranjado rojizo y hasta 20 kg de peso (Barrantes *et al.* 1994, House *et al.* 1995, Ocampo *et al.* 1997). En Guatemala estos nombres comunes se usan en forma inversa, y cuculmecha es la planta de raíces alargadas⁵.

A esta falta de uniformidad en la asignación de los nombres comunes debe agregarse la falta de claridad en la identificación taxonómica de los tipos mencionados. La planta llamada zarzaparrilla en Costa Rica ha sido identificada como *Smilax chiriquensis* C. Morton o *Smilax vanilliodora*⁶, que podrían ser sinónimos, aunque según Huft (1994) difieren en la longitud relativa de los filamentos y las anteras. Para este autor existe la posibilidad de que se trate de dos especies geográficamente separadas: *S. chiriquensis* en el oeste de Panamá y el extremo este de Costa Rica y *S. vanilliodora* en el centro y oeste de Costa Rica.

En este contexto, se identificó como *Smilax chiriquensis* a la zarzaparrilla del Atlántico de Costa Rica, sobre la cual el CATIE ha realizado estudios de composición, biología, domesticación y silvicultura en conjunto con el Centro de Investigaciones en productos Naturales (CIPRONA) de la Universidad de Costa Rica y el Instituto Tecnológico de Costa Rica (Barrantes *et al.* 1994, Castro y Umaña 1990, Ling *et al.* 1996, Montiel 1997).

Dalle (1996) divide las plantas identificadas como zarzaparrilla por los pobladores de la Reserva Indígena de Kéköldi, en el sur de la costa atlántica de Costa Rica, en dos grupos morfológicos. Uno de ellos se describe como de hoja ancha (llamada 'zas' en bribri, la lengua indígena local), con cinco a siete nervios principales por hoja y tallos de hasta 3 cm de grosor; el otro es de hoja angosta ('yri'tú'kacha'), con tres nervios principales muy evidentes, a menudo con manchas blancas y con un tallo principal de hasta 1 cm de grueso. Los usos medicinales dados popularmente a esos diferentes tipos de plantas son los mismos. Aunque Dalle (1996) menciona por lo menos cuatro tipos posibles de *Smilax* con uso medicinal en esa reserva indígena, no se cuenta con un estudio sistemático sobre los ecotipos o especies de *Smilax* en la región.

En cuanto a la cuculmecha, Gupta (1995) relaciona el nombre común con al menos 12 especies; de ellas, documentó el uso medicinal de *Smilax aristolochiaefolia*, *S. lundellii*, *S. regelii*

4 Gómez-Laurito, J. 1996. Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica. Com. pers.

5 Cáceres, A. 1996. CEMAT-FARMAYA. Com. pers.

6 Gómez-Laurito, J. 1996. Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica. Com.pers.

Sprenger, A. 1996. Estudiante de doctorado, Universidad de Hohemheim, Alemania. Com. pers.

y *S. spinosa*. El autor describe *S. lundellii* como una enredadera de ramas inferiores cilíndricas, estriadas y con espinas fuertes; sin espinas en las ramas superiores y con un rizoma leñoso de color rojo intenso con raicillas alrededor; hojas oblongo lanceoladas de hasta 27 cm de largo. Es nativa de los bosques húmedos de México y Centroamérica hasta los 1300 msnm.

S. regelii presenta raíces delgadas, largas, color café; tallos inferiores agudos, cuadrangulares, de ángulos con espinas grandes, comprimidas, rectas o encorvadas, de 1 cm de largo; hojas de hasta 30 cm de largo, oblongas, de base cordiforme y cinco a siete nervios. Es nativa de los bosques de México y Centroamérica hasta los 1500 msnm.

S. spinosa tiene tallos cilíndricos, espinas fuertes, ramas superiores de cuatro a seis ángulos, pecíolos cortos y espinosos; hojas inferiores ovadas o elípticas de 14 cm de largo, con ápice agudo, redondeado y puntiagudo; hojas superiores ovaladas o lanceoladas con espinas en las venas del envés; no incluye una descripción de la raíz. Señala que es nativa de los bosques húmedos o secos de México y Centroamérica hasta los 2800 msnm.

Con base en las descripciones de Gupta (1995), *S. lundellii* coincide con el tipo de planta denominado cuculmeca en Costa Rica, mientras que *S. regelii* presenta raíces con una morfología típica de la zarzaparrilla tal y como se la conoce en Costa Rica. En Honduras House et al. (1995) se refieren a la cuculmeca como *S. spinosa* y a la zarzaparrilla como *S. regelii*.

El documento de CEMAT-FARMAYA (1990) que rescata el conocimiento popular guatemalteco se refiere a la zarzaparrilla como *S. lundellii* o *S. regelii* Killip y Morton, y la describe como una planta con 'una gran raíz subterránea', de tallos cuadrados espinosos. Según Huft (1994) *Smilax lundellii* debe llamarse *S. spinosa* var. *spinosa* que según su clave es una especie diferente de *S. regelii*. También en Guatemala, Cáceres (1989) le atribuye a *S. regelii* el nombre popular 'bejuco de la vida'.

Esta confusión en cuanto a la identidad de las especies de *Smilax* que tienen usos medicinales en Centroamérica debe resolverse, para orientar mejor las investigaciones sobre el aprovechamiento técnico de estos recursos y evitar el uso de materiales con propiedades desconocidas para fines terapéuticos.

Antecedentes de la comercialización de *Smilax* en Costa Rica

En América Central se conoce del aprovechamiento de especies del género *Smilax* desde la colonia, no sólo con fines medicinales sino también como fuente de fibra, como en el caso del bejuco de canasta (*S. lanceolata*).

En sus expediciones de principio de siglo por Costa Rica, hizo la mejor recopilación sobre la biodiversidad vegetal aprovechada tradicionalmente en el país. Definió la zarzaparrilla como *“el nombre colectivo para las especies de Smilax...bejucos trepadores de tallos cuadrados y espinosos...abundantes en el lado Atlántico”* (Pittier 1978). Desde entonces y hasta la fecha, los campesinos e indígenas recolectores han sido expertos en reconocer los fenotipos de mejor calidad, al margen de su identificación taxonómica.

Aunque en su ‘Historia General y Natural de las Indias’ el cronista Gonzalo Fernández de Oviedo no la menciona, hay abundantes referencias históricas sobre zarzaparrilla durante la colonia, como las anotadas a continuación sobre la costa atlántica de Costa Rica.

Un informe de Fray Ceballos fechado en 1610 sobre el comercio de la provincia de Costa Rica afirma que *“... en la región de Talamanca abunda el cacao (Theobroma cacao), hay mucha miel y cera, pita (Aechmea magdalenae, planta proveedora de fibras) y zarzaparrilla”*. En el documento se menciona la importancia de esta última como producto comercial, aunque los antecedentes sobre el tema datan de 1579, cuando se documentó la exportación de productos como maíz, miel, madera, aves y zarzaparrilla hacia Panamá; actividad que resultó afectada por los asaltos de los piratas.

En 1651 se exportaban por el Puerto de Suerre *“carne salada, tasajo, cueros, harinas, bizcocho y otros productos, entre los que se destacan la sal y la zarzaparrilla.”* En 1666 se menciona que la región del río San Juan, entre Nicaragua y Costa Rica, *“es muy fértil, cálida, no hay mosquitos y se ha descubierto desde el Puerto de Santa Cruz ...una gran suma de zarzaparrilla”*. En 1675, un informe de Fernando de Escobedo indica que en Costa Rica hay *“muchas sumas de maderas y zarzaparrilla y que la zarza es la mejor de todas las Indias”*.

Aunque las primeras referencias no sugieren ningún nivel de domesticación o cultivo por parte de indígenas o colonos, un escrito de 1676 menciona que el valle de Matina es muy importante y en él hay *“excelentes fincas de cacao, vainilla, zarzaparrilla y muchos otros productos”*.

Un texto, de 1719, no ratifica el cultivo de estas plantas cuando afirma que *“el cacao y el sebo son los únicos géneros de comercio”* en la zona de Limón. Sin embargo, en 1803, el gobernador Acosta hace mención al cultivo de plantas medicinales e incluye la zarzaparrilla; otro escrito de 1833 se refiere a siembras permanentes de esta planta. No se sabe de ningún antecedente o de vestigios de tales plantaciones, lo que hace pensar que en esos textos se emplea la expresión “cultivo” o “siembra” para referirse a poblaciones naturales. Esto podría valer para el comentario de Fray Ceballos, en 1610: *“Los indios de Talamanca siembran mucho maíz, cacao y zarzaparrilla, con los que hacen sus bebidas alcohólicas o chichas con que se embriagan en sus fiestas paganas y de sacrificios”*.

La importancia económica que adquirió este recurso nativo motivó la toma de algunas disposiciones legales durante el siglo pasado. La primera, que data de 1869, reza: *“para precaver la destrucción de los frutos naturales de los terrenos baldíos en la región del Atlántico, reprimir el contrabando y proteger el comercio lícito, se prohíbe en lo sucesivo por la vía del San Juan, el embarque de maderas, zarzaparrilla, hule...”*.

En 1871 se gravó la exportación de *“frutos naturales como maderas, zarzaparrilla, bálsamos, resinas (hule) y coco con el impuesto siguiente... y \$0,04 la zarza”*. Otra disposición, de 1888, indica que *“durante el término de 5 años, se libera de pagos la introducción de mercaderías al territorio de Talamanca, excepto el ron y el tabaco, pero se cobra para la zarzaparrilla, hule y pieles que se exporten de allí”*.

En 1899 se documentó que, no obstante la política de explotación de los bosques para obtener madera para ebanistería y construcción, hule, tintes y zarzaparrilla, se fijaron prohibiciones para quien lo hiciera sin el control del estado, disponiendo severas penas para los infractores.

Posteriormente, en 1905, se publicó esta revocatoria: *“Al decretar el gobierno la libre explotación de los bosques nacionales, no fue su intención establecer monopolio alguno en ellos, por eso se revoca la concesión dada a los señores Don Federico Alvarado y Federico Golcher para la explotación de árboles de hule, zarzaparrilla, vainilla y otros productos de los bosques de Talamanca...”*.

***Smilax* sp. en Europa**

Desde comienzos del siglo XVI, cuando se establecieron los viajes transatlánticos en forma regular, se instauró un importante comercio de plantas del nuevo mundo, las que siempre fueron identificadas en forma empírica por los recolectores en el bosque.

En el 1536 se publicó *Pharmacodilosis*, documento escrito por el médico sevillano Nicolás Monardes, en el que se recomienda el uso seguro de los medicamentos europeos y se pone en duda la efectividad de los llegados de América. Durante treinta años este autor se dedicó al estudio farmacológico de esas nuevas plantas que invadían el mercado europeo, como la zarzaparrilla, el tabaco, la cañafístula, el nopal, el copal, el guayacán, la raíz de Michoacán y muchas otras (Sanfilippo 1993).

Monardes publicó en 1565 la primera parte de su estudio sobre los productos de las Indias Occidentales, éxito editorial de su tiempo, que alcanzó 26 ediciones en los 35 años siguientes y fue traducido a todos los idiomas reconocidos en la época. A este primer documento sobre las plantas americanas le siguen dos más, publicados en 1571 y 1574, los que constituyeron una

nueva materia médica que se sumó a las obras de consulta terapéutica clásica de Dioscórides, Plinio y Celso, en las que se basaron los médicos durante los dos siglos siguientes.

En 1570 se publicó el primer libro de medicina impreso en la Nueva España, *La Opera Medicinalia*, por el doctor Francisco Bravo. Al parecer, la mayor parte de la obra la escribió en España, un año antes de su llegada a México, donde sólo hizo el último libro (el cuarto). En él incluyó un estudio sobre la zarzaparrilla, muy usada en la época. No obstante, la explicación farmacológica de sus propiedades varió con frecuencia entre el siglo XVI y el XIX.

Monardes había descrito la planta previamente en su obra, pero sin llegar a conocerla en su hábitat natural, lo que sí hizo Bravo en el corto tiempo que estuvo en tierras americanas. Bravo la estudió desde el punto de vista de sus conocimientos europeos y se dio cuenta de que Pedro Arias de Benavídez había confundido la zarzaparrilla mexicana con el *Smilax áspera* de Dioscórides. El concluye que es una planta diferente y le atribuye propiedades "caliente y seca" y no las contrarias ("fría y húmeda") que le habían atribuido otros autores.

Consideraciones sobre etnobotánica de *Smilax*

La calidad de mucha de la información etnobotánica disponible en torno al género *Smilax* resulta afectada por el problema de identificación botánica descrito antes. Sin embargo, como ya se indicó, la gente de las comunidades rurales suele manejar una terminología suficientemente clara para sus fines, en cuanto a los tipos de *Smilax* que cosecha. Por lo general, entre Panamá y Honduras, los campesinos coinciden en la diferenciación entre cuculmecha y zarzaparrilla, siendo esta última la de mayor tradición y la que se utiliza desde hace más tiempo.

Los indígenas del Atlántico sur de Costa Rica (una de las áreas con mayor tradición de cosecha de este recurso) llaman 'zas', o más exactamente 'zaskicha' (bejuco de zas) a la planta que los ladinos o mestizos del resto del país denominan zarzaparrilla. El zas es una liana de raíces de no más de 5 mm de grosor, de color crema y hasta dos metros de longitud. A la planta conocida como cuculmecha por los mestizos, la del rizoma voluminoso de color rojizo, la llaman 'chichikarke' (cabeza de perro). La población afrocaribeña relaciona las especies de *Smilax* con las plantas que producen un rizoma grande de coloración rojiza, a las que por lo general denominan 'china root'.

El conocimiento popular no siempre es rescatado adecuadamente por los estudios etnobotánicos, que a veces son hechos en un tiempo reducido de trabajo de campo, por técnicos con poca experiencia y/o que no tienen un enfoque interdisciplinario. Por otra parte, la modernización y los procesos de aculturación pueden provocar confusiones en cuanto al uso de la terminología. En este contexto, es difícil diferenciar los tipos de uso por especie en la región mesoamericana.

En varias partes del mundo se ha documentado el empleo de *Smilax* spp. no sólo con fines medicinales sino también en productos alimenticios y para la construcción. Phillips (1991), en su trabajo sobre etnobotánica de lianas, anota varias especies de Asia y el Caribe productoras de rizomas, tallos y frutos comestibles, así como fibras y materiales de cercado.

Tanaka (1976) menciona más de veinte especies alimenticias de *Smilax*, incluyendo algunas de Norte América, Asia y el Mediterráneo. En la mayoría de los casos se consume la raíz de las plantas jóvenes, aunque las hojas de varias especies chinas se usan para comerlas, como té o para preparar cigarrillos. En la India consumen las hojas y raíces de *S. macrophylla* que los granjeros de Bangladesh utilizan como forraje (Alam et al. 1994). En el neotrópico, los rizomas de algunas especies son usados como fuente de saborizantes, uno de los principales usos comerciales del género (Phillips 1991).

Etnofarmacología

Desde que comenzó a exportarse a Europa, la zarzaparrilla fue considerada como un remedio excelente contra la sífilis, enfermedad pandémica en el siglo XVI; también fue usada como depurativo de la sangre, diurético, diaforético y contra la psoriasis. (Pahlow 1979, Sanfilippo 1993, Thomson 1981). Según Brown (1995), los materiales exportados a Europa provenían especialmente de México (*S. aristolochiaefolia*), Honduras (*S. regelii*), Ecuador y Perú (*S. febrifuga*).

En homeopatía, la zarzaparrilla se utiliza con frecuencia para el tratamiento de erupciones de diverso tipo acompañadas de prurito intenso. También es común usarla contra la psoriasis, eczemas, costra láctea, verrugas y forúnculos. Otro tipo de enfermedades tratadas con zarzaparrilla son la gota, el reuma y las afecciones vesiculares y renales.

En la mayoría de los casos son los órganos subterráneos de la planta los que se emplean con fines medicinales. Un conocedor de plantas de la Reserva Indígena Kéköldi, en Costa Rica, explicó a Dalle (1996) que tanto la hoja como la raíz pueden usarse como medicamento para purificar la sangre, contra el reumatismo, los dolores de estómago y otros padecimientos, pero que la última resulta mucho mejor. El mismo informante habla de dos tipos de cuculmecha, de tallo rojo y de tallo verde, atribuyéndole a la primera una mejor calidad medicinal.

En Latinoamérica, por lo general se considera a la zarzaparrilla un purificador de la sangre y se la utiliza comúnmente contra reumatismo, gota, artritis, inflamaciones, anemia, problemas abdominales y cutáneos, enfermedades venéreas y vaginitis (Arias 1989, Brown 1995, CEMAT-FARMAYA 1990, Fouque 1981, House et al. 1995, White 1985). En Colombia se ha documentado el uso contra mordeduras de serpientes y para restaurar la virilidad y tratar males asociados a la menopausia en la población makuna (García 1975).

Hartwell (1982) menciona diez especies de *Smilax*, incluyendo varias de América Latina, que han sido documentadas con propiedades anticancerígenas. *S. canariensis* se emplea como laxante, purgante, vermífida y contra la hipoglicemia en las Islas Canarias (Darias et al. 1990); en Paraguay *S. fluminensis* se usa como abortivo (Basualdo et al. 1995); en la India se aplican hojas de *S. macrophylla* en compresas para tratar dolores de cabeza y detener sangrados en heridas (Pal et al. 1989). Según House et al. (1995), en Honduras se emplea la cuculmecha (identificada como *Smilax spinosa*) como regulador menstrual, en tratamientos de fertilidad femenina y de dolencias post parto, problemas renales y otros males tratados también con zarzaparrilla. En la China se emplean tradicionalmente varias especies de *Smilax* para tratar artritis, intoxicaciones, tumores y lumbago (Jia y Ju 1992, Woo et al. 1992).

Dado el amplio uso medicinal de *Smilax* spp. se ha investigado la farmacología de varias especies. El Tratado de Farmacognosia de 1988 describe el producto de la zarzaparrilla como constituido por raíces desecadas y a veces también por rizomas de especies del género *Smilax*; sólo incluye fotografías de la raíz y señala que el origen geográfico y botánico exacto de las numerosas variedades importadas a lo largo de la historia, constituye un problema por resolver. El Cuadro 1 ilustra las descripciones incluidas en el tratado.

Cuadro 1. Especies de *Smilax*, origen y caracteres macroscópicos del producto aprovechado, según el Tratado de Farmacognosia de 1988

	México	Honduras	Ecuador	Centroamérica
Longitud de los haces (de raíz)	<i>S. aristolochaefolia</i> hasta 65cm	<i>S. regelii</i> 50 - 75 cm	<i>S. febrifuga</i> unos 50 cm	<i>Smilax</i> spp. unos 45 cm
Parte utilizada	rizoma y tallo hasta un 10%	sólo raíz	raíz y tallo hasta un 10%	sólo raíz
Diámetro de raíz	3,5 - 6 mm	2 - 5,5 mm	2 - 6 mm	1 - 4,5 mm
Color	pardo, con tonalidad grisácea, rojiza o amarillenta	pardo rojizo a pardo oscuro	pardo rojizo a purpúreo	pardo rojizo a pardo amarillento

Es evidente que la información sobre la identidad y el origen de los materiales comercializados de *Smilax* spp. que manejan quienes los emplean o estudian como medicinales puede ser ambigua, y que ello afecta la calidad de los datos disponibles sobre su biología y sus efectos farmacológicos.

En Guatemala un grupo de investigadores que trabaja en la valoración de las virtudes atribuidas popularmente a muchas plantas medicinales, ha encontrado actividad de *S. lundellii* contra bacterias que causan infecciones dermatológicas, vaginitis (*Candida albicans*), desórdenes gastrointestinales (enterobacterias) y contra dermatofitos fúngicos. También encontró actividad de *S. regellii* contra dermatofitos fúngicos y de *S. spinosa* contra enterobacterias (Cáceres 1989, Cáceres et al. 1990, Cáceres et al. 1991, Girón et al. 1988). Esta última también ha mostrado actividad diurética (Cáceres et al. 1987 citado por House et al. 1995). Continuando esos primeros estudios se encontró que *S. lundellii* no muestra actividad significativa contra el *Vibrio cholerae* 01 (Cáceres et al. 1993).

Urizar (1989, citado por Gupta 1995) mostró que la respuesta al tratamiento de vaginitis (*Candida albicans*) con la infusión hidroalcohólica de *S. lundellii* fue similar a la obtenida con Nistatina, el fármaco recomendado. Ensayos clínicos también confirmaron la efectividad de *S. lundellii* contra el pie de atleta (Fuentes 1989, citado por Gupta 1995).

La actividad diurética de *S. lundellii*, *S. regellii* y *S. spinosa* en ratas también fue comparable a la del fármaco recomendado Hidroclorotiacida (Arraiza 1983, Cáceres et al. 1987 citado por Gupta 1995). También se han encontrado efectos de *S. lundellii* sobre el sistema inmunológico de las ratas (Lara et al. 1991, citado por Gupta 1995).

Además de lo descrito para esas plantas en Guatemala, las propiedades medicinales de varias especies de *Smilax* han sido evaluadas en otros sitios. En Arabia Saudí se usa *S. sarsaparilla* contra el reumatismo y para promover la curación de fracturas. Ageel (1989) encontró que esta especie inhibe significativamente la inflamación inducida en ratas (como simulación de reuma), mientras que Ahsan et al. (1989) encontraron que no promueve la deposición de colágeno y la resistencia a la tensión en la tibia de ratas.

También se han investigado las propiedades insecticidas de *Smilax* spp. En México, Martínez Palomera et al. (1986) encontraron que *S. aristolochiaefolia* Mill reduce el crecimiento de larvas en una plaga del maíz, y en China se encontraron propiedades larvicidas *in vitro* de *S. glabra* contra *Clonorchis sinensis* (Rhee 1982).

En China, *S. glabra*, usada para tratar intoxicaciones, mostró capacidad para reducir el contenido de etanol en la sangre de ratas a las que se les había suministrado alcohol (Sakai et al. 1989).

Fitoquímica

Los principales metabolitos secundarios documentados para *Smilax* spp. son las saponinas esteroidales. Estas sustancias, que se emulsionan en contacto con el agua, se componen de un

grupo aglicona (una saponina triterpenoide, esteroide o esteroide básico) y un azúcar, el que puede ser removido por hidrólisis, dando lugar a una sapogenina (Mahato et al. 1982).

Este tipo de saponinas esteroidales precursores de la producción de progesterona, cortisona, anticonceptivos y otros fármacos puede tener interés farmacológico. Su presencia ha sido ampliamente documentada en plantas: 500 especies en 80 familias, entre las que se destaca *Dioscorea* spp. (Hegarty et al. 1991, Trease y Evans 1988).

Se han encontrado saponinas esteroidales en las raíces de unas 15 especies de *Smilax*, incluyendo las neotropicales *S. regellii*, *S. aristolochiaefolia*, *S. spinosa*; pero la mayoría de los intentos por detectarlos en tejidos aéreos ha fallado (Andreato 1980, Chein y Adam 1979). Sprenger (1993) encontró que tanto los extractos de tallo como los de raíz de plantas de zarzaparrilla del Atlántico costarricense presentan actividad hemolítica (indicadora de la presencia de saponinas), pero que ésta es más fuerte en los segundos.

Estudiando la zarzaparrilla y la cuculmea de Costa Rica, Castro y Umaña (1990) encontraron, por hidrólisis, un porcentaje máximo de 0,40 de sapogenina en la zarzaparrilla; según los autores, este es muy inferior al documentado para varias especies del género *Yucca* (1-8%), pero similar al de otras especies de *Smilax*. Es importante considerar que el contenido de metabolitos secundarios puede variar en función de múltiples factores (Wagner y Gurni 1989, Granda 1985, Vanhaelen et al. 1991). Sprenger (1993) observó mayor actividad hemolítica en los extractos de plantas cosechadas en la época seca que en los obtenidos en los meses lluviosos.

En la cuculmea, Castro y Umaña (1990) encontraron antocianinas, un tipo de flavonoide, pero no saponinas. En contraste, Cáceres y Samayoa (1989, citados por House et al. 1995) encontraron tanto saponinas como antocianinas, alcaloides cuaternarios y polifenoles en *S. spinosa*. Es evidente que las implicaciones comparativas de estos resultados dependerán de una aclaración adecuada de las identidades taxonómicas de los materiales. En una sola especie pueden encontrarse varias saponinas esteroidales diferentes; Woo et al. (1992) documentaron el aislamiento de cinco saponinas de las raíces de *S. sieboldii*.

A continuación se presenta una lista de especies del género *Smilax* spp. para las que se ha documentado el contenido de saponinas esteroidales (Dalle 1996).

Especie	Referencia
<i>S. aristolochiaefolia</i>	Mahato et al. 1982
<i>S. aspera</i>	Bruno S. et al. 1985, Mahato et al. 1982
<i>S. china</i>	Sashida et al. 1992
<i>S. excelsa</i>	Mahato et al. 1982
<i>S. glabra</i>	Chein y Adam 1979
<i>S. krausiana</i>	Lavaud et al. 1992
<i>S. lebrunii</i>	Jia y Ju 1992, Ju y Jia 1993
<i>S. menispermoida</i>	Ju et al. 1994, Ju et al. 1993, Ju y Jia 1992
<i>S. parvifolia</i>	Sharma et al. 1980
<i>S. regellii</i>	Trease y Evans 1988, Morton 1981 citado por House et al. 1995
<i>S. riparia</i>	Sashida et al. 1992
<i>S. spinosa</i>	Cáceres y Samayoa 1989 citado por House et al. 1995
<i>S. sieboldii</i>	Woo et al. 1992
<i>S. zeylanica</i>	Kar y Sen 1984
<i>S. sp.</i>	Castro y Umaña 1990

Según Mahato et al. (1982) la actividad biológica de las saponinas incluye varias acciones sobre el metabolismo (nivel de colesterol, captación de glucosa por la insulina, producción de bilis), el sistema vascular (frecuencia y fuerza de las contracciones cardíacas, ritmo cardíaco, respiración), el sistema reproductivo (infertilidad, abortición, estímulo antiinflamatorio del útero). Estos autores también atribuyen un efecto antifúngico y antibacteriano a ese tipo de compuestos, así como acción hemolítica y antiinflamatoria.

Pahlow (1979) les atribuye actividad hemolítica, efecto diurético, capacidad de evitar la congestión mucosa, acción contra impurezas de la piel, edemas, reumatismo e inflamaciones. Además, afirma que las saponinas pueden incrementar la absorción de otros principios farmacéuticos activos, uso dado a la zarzaparrilla según Trease y Evans (1988).

En *Smilax* spp. se han encontrado otros principios químicos. Por ejemplo, *S. regellii* contiene un ácido carboxílico llamado sarsápico, además de varias saponinas, ácidos grasos y resinas (Morton 1981 citado por House et al. 1995). En una búsqueda de saponinas, esteroides y alcaloides en hojas de *S. spicata* Vell., *S. quinqueruvia* Vell., y *S. syringoides* Griseb, Andreatta (1980) sólo encontró alcaloides en las dos primeras. Según Hegarty et al. (1989) en algunas especies del género se han encontrado alcaloides, así como fenoles en las hojas de *S. glycophylla* (Long Ashton 1964).

En la cubierta seminal de *S. quinquenervia*, Andreata (1980) encontró un polímero de galactosa y manosa; también encontró lípidos y proteínas en la testa, acompañados de proteínas en el endosperma y taninos en el fruto. El contenido de grasa de la semilla fue de 11,9 y 9,1% del peso seco para dos especies australianas (*S. glycyphylla* y *S. australis*), y de 11,2 y 7% para las asiáticas *S. china* y *S. nipponica* (Morice 1970), valores demasiado bajos para obtener utilidad comercial.

También se ha encontrado acetilcolina (Miura et al. 1984), ácido glutámico y algunos derivados (Kasai et al. 1984), y varios aminoácidos no proteicos, incluyendo un caso atípico en la naturaleza, cuyo residuo N-terminal es la isoserina, análogo a un componente del antibiótico edeina, lo que podría atribuirle algún potencial de importancia económica (Kasai y Sakamura 1982, Kasai et al. 1983).

Bibliografía

- Ageel, A.M. 1989. Experiments studies on antirheumatic crude drugs used in Saudi traditional medicine. *Drugs Experimental Clinical Research* 15(8): 369-372.
- Ahsan, S.K.; Tariq, M.; Ageel, M.; Al-yanya, M.A.; Shah, A.H. 1989. Studies on some herbal drugs used in fracture healing. *International Journal of Crude Drug Research* 27(4): 235-239.
- Alam, M.R.; Djajanegara, A. (Ed.); Sukmawati, A. 1994. Nutritive values and yield of potential tree leaves and shrubs in Bangladesh. *In Sustainable animal production and the environment. Proceedings of the 7th AAAP Animal Science Congress, Bali, Indonesia, 11-16 July, 1994. V. 2: Contributed Papers.* p. 317-318.
- Andreata, R.H.P. 1980. *Smilax* L. (Smilacaceae): Study for the purpose of revising Brazilian sp. *Arquivos Jardim Botânico de Rio de Janeiro* 24(0): 179-301.
- Andreata, R.H.P.; Pereira, T.S. 1990. Morfologia das plantulas de algumas especies de *Smilax* L.. *Pesquisas Botanica* 0(41): 7-24.
- Arias A., E. 1989. *Plantas Medicinales.* 19 ed. Medellín, Colombia.
- Barrantes, J.C.; Carmona, M.; Díaz, M.; Duro, J.M.; Ling, F.; Ocampo, R.; Villalobos, R. 1994. Documento de Trabajo Número 5: Diagnóstico y Resultados de Investigación de la Región de Baja Talamanca, Costa Rica. Proyecto Conservación para el Desarrollo Sostenible en América Central. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 32 p.

- Basualdo, I.; Zardini, E.M.; Ortiz, M. 1995. Medicinal plants of Paraguay: Underground organs, II. *Economic Botany* 49(4): 387-394.
- Brown, D. 1995. *Encyclopedia of Herbs and their Uses*. Dorling Kindersley Limited, London.
- Bruno, S.; Laurentis, N. de; Amico, A.; Stefanizzi, L. 1985. Fluorescence spectra of some steroidal saponin fluorophores. *Fitoterapia* 56 (1): 39-41.
- Cáceres, A. 1989. Actividad antimicrobiana de plantas de uso medicinal en Guatemala. In II Seminario Mesoamericano de Etnofarmacología y II Congreso Nacional de Medicina Vegetal Popular, San José, Costa Rica, diciembre 11-15.
- Cáceres, A.; Cano, O.; Samayoa, B.; Aguilar, L. 1990. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders: I. Screening of 84 plants against enterobacteria. *Journal of Ethnopharmacology* 30(1): 55-74.
- Cáceres, A.; Girón, L.; Martínez, S. 1987. Diuretic activity of plants used for the treatment of urinary ailments in Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology* 19(3): 233-235.
- Cáceres, A.; López, B.R.; Girón, M.A.; Logemann, H. 1991. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections: I. Screening for antimycotic activity of 44 plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 31(3): 263-276.
- Cáceres, A.; Samayoa, B. 1989. Tamizaje de la actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de afecciones gastrointestinales. Universidad San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Cáceres, A.; Torres, M.F.; Ortiz, S.; Cano, F.; Jauregui, E. 1993. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. IV. Vibriocidal activity of five American plants used to treat infections. *Journal of Ethnopharmacology* 39(1): 73-75.
- Castro, O.; Umaña, R.E. 1990. Análisis químico preliminar de dos especies de *Smilax* conocidas como zarzaparrilla y cuculmecha. Centro de Investigaciones en Productos Naturales (CIPRONA), Universidad de Costa Rica. Mimeografiado.
- CEMAT-FARMAYA. 1990. Fichas Populares Sobre Plantas Medicinales. 1a Serie (No 1-40), 2a Edición. Centro Mesoamericano de estudios sobre tecnología apropiada, Laboratorio y Droguería de Productos Fitofarmacéuticos FARMAYA S.A. Guatemala. 174 p.

- Chavarría, P.J. 1987. Efecto de los grados de inclinación y el número de nudos sobre el enraizamiento de estacas de zarzaparrilla, *Smilax* sp. Instituto Tecnológico de Costa Rica, Departamento de Agronomía, Santa Clara, San Carlos, Costa Rica. Mimeografiado. 64 p.
- Conzatti, C. 1947. Flora Taxonómica Centroamericana (Plantas Vasculares). Tomo II. Sociedad de Historia Natural. Talleres Gráficos de la Nación. México.
- Cruz, C.R.; Mandarim-de-Lacerda, A.F.; Andreato, R.H.P. 1994. Morfometría foliar de *Smilax fluminensis* Streudel. XLV Congreso Nacional de Botánica. San Leopoldo. p. 15.
- Dalle, S. 1996. Trabajo sobre Zarzaparrilla. Reserva Indígena Kéköldi. Informe Interno. Proyecto de Conservación para el Desarrollo Sostenible en América Central, CATIE, Turrialba, Costa Rica. 56 p.
- Darías, V.; Bravo, L.; Rabanal, R.; Abdallah, S.; Sánchez-Mateo, C.; Cruz-Jaramillo, J.J. 1990. Especies laxativas et purgatives de la flore canarienne. In Ethnopharmacologie: Sources, Methodes, Objectives. Actes du 1er Colloque Européen d'Ethnopharmacologie, Metz, 23-25 mars 1990. p. 161-163.
- FAO. 1994. Conservation and sustainable utilization of the plant resources of Mexico and Central America: as part of the preparatory process for the Fourth International Technical Conference on Plant Genetic Resources (4, 1996, Leipzig, Germany). Rome. consultado 17 julio 1996. Disponible en <http://web.icppgr.fao.org/srm/srm-SYN/mex/2.html>.
- Fouque, A. 1981. Les plantes medicinales presentes en foret guyanaise. *Fruits* 36(3): 157-170.
- Fuentes, A.R. 1989. Tratamiento de la *Tinea pedis* con zarzaparrilla (*Smilax*) (Tesis). Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas, USAC. 53 p.
- Gadea, B. A. 1994. Estrategia para la comercialización de la zarzaparrilla (*Smilax* sp.), Caso Coope San Juan. Proyecto de graduación para optar al grado de Master en Administración de empresas. Instituto Tecnológico de Costa Rica, Departamento de Administración de Empresas, San Carlos, Costa Rica. 58 p.
- Galvis, G. 1994. Economía extractiva y desarrollo sostenible. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias* 19(73): 299-304.
- García, B.H. 1975. Flora Medicinal de Colombia: Botánica Médica. Talleres Editoriales de la Imprenta Nacional, Bogotá, Colombia.

- Gentry, A.H. 1993. A Field Guide to the Families and Genera of Woody Plants of Northwestern South America. Conservation International, Washington, DC. 895 p.
- Gratani, L.; Fiorentino, E.; Kubova, A.; Marzi, P. 1989. Effects of microclimate on ecophysiological features of some sclerophyllous species. *Photosynthetica* (Prague) 23(2): 230-233.
- Granda, M.M. 1985. *Rauvolfia serpentina*. Boletín de Reseñas. Plantas Medicinales (Cuba) 12: 5-28.
- Gupta, M.P. (Ed.). 1995. 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. CYTED-SECAB. Talleres de Editorial Presencia Ltda., Bogotá, Colombia.
- Hartwell, J.L. 1982. Plants Used Against Cancer. Quarterman Publications, Inc., Lawrence, Massachusetts.
- Hegarty, M.P.; Hegarty, E.E.; Gentry, A.H. 1991. Secondary compounds in vines with an emphasis on those with defensive functions. In, *Biology of Vines* eds. F. E. Putz, H. A. Mooney. Cambridge University Press, New York. p. 287-310.
- House, P.R.; Lagos-Witte, S.; Ochoa, L.; Torres, C.; Mejía, T.; Rivas, M. 1995. Plantas Medicinales Comunes de Honduras. Litografía López, S. de R. L., Tegucigalpa, Honduras.
- Howard, R. 1979. *The Genus Smilax* L. in the Lesser Antilles. *Taxonomy* 28(1,2/3): 55-58.
- Huft, M.J. 1994. Smilacaceae. In Davidse, G.; Sousa, M.; Chater, A. Eds. *Flora Mesoamericana*, Volumen 6: Alismataceae a Cyperaceae, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología. p. 20-26.
- Huxley, A.; Griffiths, M.; Levy, M. (eds.). 1992. *The New Royal Horticultural Society Dictionary of Gardening*. Macmillan Press Limited, London.
- Jia, Z. J.; Ju, Y. 1992. Steroidal saponins from *Smilax lebrunii*. *Phytochemistry* 31(9): 3173-3175.
- Ju, Y.; Jia, Z.J. 1992. Steroidal saponins from the rhizomes of *Smilax menispermoidea* D.C. *Phytochemistry* 31(4): 1349-1351.
- Ju, Y.; Jia, Z.J. 1993. Minor steroidal glycosides from the roots of *Smilax lebrunii*. *Phytochemistry* 33(5): 1193-1195.
- Ju, Y.; Jia, Z.J.; Sun, X.J. 1994. Steroidal saponins from *Smilax menispermoidea* and *S. lebrunii*. *Phytochemistry* 37(5): 1433-1436.

- Ju, Y.; Jia, Z.J.; Sun, X.J. 1993. Studies on chemical constituents of *Smilax menispermoides* D.C. China Journal of Chinese Materia Medica 18(10): 611-613, 639.
- Kar, D.K.; Sen, S. 1984. *Smilax zeylanica* Linn. - a new source of diosgenin. Current Science (India) 53(12): 661.
- Kasai, T.; Nishitoba, T.; Shiroshta, Y.; Sakamura, S. 1984. Several 4-substituted glutamic acid derivatives and small peptides in some Liliaceae plants. Agricultural and Biological Chemistry 48(9): 2271-2278.
- Kasai, T.; Sakamura, S. 1982. Isoseryl S-methylcysteamine sulfoxide a new amide in the tubers of sarutribara (*Smilax china*). Phytochemistry 21(8): 2128-2129.
- Kasai, T.; Shiroshta, Y.; Uomoto, K.; Sakamura, S. 1983. Acidic N(alpha)-acylarginine derivatives in arginine-accumulating plant tissues. Phytochemistry 22(1): 47-49.
- Lara, R.; Sandoval, H.; Jiménez, M.; De la Roca, D.; Guzmán, A.; Dubon, D.; Meneses, M.A.; Arévalos, C.; Cáceres, A. 1991. Determinación de la actividad inmunomoduladora de los extractos de zarzaparrilla, quilete y pericón. Memorias. IV Congreso Nacional de Microbiología. 88 p.
- Lavaud, C.; Massiot, G.; Le-men-Olivier, L. 1993. Saponines steroïdiques de *Smilax krausiana* [Steroidal saponins of *Smilax krausiana*]. Plantes Medicinales Phytotherapiques 26(1): 64-73.
- Ling, F.; Villalobos, R.; Marmillod, D.; Robles, G. 1996. Aprovechamiento de productos no maderables del bosque. Área Demostrativa de Talamanca. In RENARM/CATIE. Silvicultura y manejo de bosques naturales tropicales. Curso intensivo internacional. Volumen 2: estudios de casos. Turrialba, Costa Rica, CATIE. p. 49-73.
- Long Ashton. 1964. Annual Report of the Agricultural and Horticultural Research Station, Long Ashton, Bristol. 193 p.
- Mahato, S.B.; Ganguly, A.N.; Sahu, N.P. 1982. Steroid saponins. Phytochemistry 21(5): 959-978.
- Mandarim-de-Lacerda, A.F.; Andreato, R.H.P.; Peres-Neto, P.R. 1992. Ensaio metodológico de avaliação biométrica em folhas adultas de *Smilax rufescens* Griseb. (Smilacaceae). Pesquisas Botanica 0(43): 199-221.
- Mandarim-de-Lacerda, A.F.; Andreato, R.H.P. 1993. Estudo comparado entre folhas adultas de *Smilax* L. (Smilacaceae - Liliopsida) do sul do Brasil. Pesquisas Botanica No. 45: 77-114.

- Martínez Palomera, S.; Lagunas Tejeda, A.; Domínguez Rivero, R. 1986. Búsqueda de plantas medicinales con propiedades insecticidas contra el gusano cogollero del maíz. *Revista Chapingo* 9(43/44): 97-103.
- Miura, G.A. et al. 1984. Cholinergic constituents in plants: characterization and distribution of acetylcholine and choline. *Physiologia Plantarum* 61(3): 417-421.
- Montiel, H. 1997. Desarrollo de una técnica no destructiva para la determinación del producto cosechable de plantas medicinales de *Smilax chiriquensis* C.V. Morton (Smilacaceae) en la Reserva Indígena Kéköldi, Baja Talamanca, Limón. Práctica de especialidad Ing. Forestal. Instituto Tecnológico de Costa Rica, Cartago. 93 p.
- Morice, I.M. 1970. Seed fats of some New Zealand and Australian monocotyledons. *Phytochemistry* 9: 1829-1833.
- Morton, J. 1981. Atlas of Medicinal Plants of Middle America, Bahamas to Yucatán. Charles Thomas. Illinois.
- Ocampo, R.A. 1986. Zarparrilla. In *Cultivo y Utilización de las Plantas Medicinales en Costa Rica*, Colegio de Ingenieros Agrónomos, Conferencias, 19-20 junio 1986.
- Ocampo, R.A.; Cifuentes, M.; Villalobos, R. 1997. Productos no maderables del bosque en Baja Talamanca, Costa Rica. CATIE-CIFOR-ASACODE-Herbario Nacional de Costa Rica. Turrialba. 118 p.
- Pahlow, M. 1979. El Gran Libro de las Plantas Medicinales: Salud a Través de las Fuerzas Curativas de la Naturaleza. Editorial Everest S. A., Madrid. 459 p.
- Pal, D.C.; Saren, A.M.; Sen, R. 1989. Less known uses of twenty plants from the tribal areas of Bankura District, West Bengal (India). *Journal of Economic and Taxonomic Botany* 13(3): 695-698.
- Palma, Z.T. 1995. Micropropagación de la Zarparrilla, *Smilax* sp. Laboratorio de Biotecnología Instituto Tecnológico de Costa Rica, San Carlos, Costa Rica. 41 p.
- Phillips, O. 1991. The ethnobotany and economic botany of tropical vines. In *Biology of Vines* eds. F. E. Putz, H. A. Mooney. Cambridge University Press, New York. p. 427-475.
- Pittier, H. 1978. Plantas usuales de Costa Rica. 2ª Edición. Editorial Costa Rica, San José. 329 p.
- Putz, F.E. 1984. Natural history of lianas on Barro Colorado Island, Panama. *Ecology* 65(6): 1713-1724.

- Rhee, J.K. 1982. Screening of the wormicidal chinese raw drugs on *Clonorchis sinensis*. *American Journal of Chinese Medicine* 9(4): 277-284.
- Sakai, K.; Saitoh, Y.; Ikawa, C.; Nishihata, T. 1989. Effect of water extracts of Aloe and some herbs in decreasing blood ethanol concentration in rats. II. *Chemical Pharmacology Bulletin* 37(1): 155-159.
- Sashida, Y.; Kubo, S.; Mimaki, Y.; Nikaido, T.; Ohmoto, T. 1992. Steroidal saponins from *Smilax riparia* and *S. china*. *Phytochemistry* 31(7): 2439-2443.
- Sharma, S.C. et al. 1980. [Saponins (including diosgenin) from *Smilax parvifolia* (roots).] Uber Saponine von *Smilax parvifolia* Wall. *Pharmazie* 35(10): 646.
- Sprenger, A. 1993. Observaciones sobre *Smilax* (Notas de campo, abril-diciembre 1993). Mimeografiado. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Proyecto Conservación para el Desarrollo Sostenible en América Central.
- Tanaka, T. 1976. *Tanaka's Encyclopedia of Edible Plants of the World*. Ed. S. Nakao. Keigaku Publishing Co, Tokyo, Japan.
- Trease, G.E.; Evans, W.C. 1988. *Tratado de Farmacognosia*. 12a edición. Nueva Editorial Interamericana. México, D. F.
- Urizar, F.L. 1989. Ensayo clínico sobre la efectividad de *Smilax lundellii* en el tratamiento de candidiasis vaginal. Tesis, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de San Carlos, Guatemala. 87 p.
- Vanhaelen, M.; Lejoly, J.; Hanocq, M.; Molle, L. 1991. Climatic and geographical aspects of medicinal plant constituents. In Wijesekera, R.O.B. Ed. *The medicinal plant industry*. Florida, CRC press. p. 59-76.
- Vijayavalli, B. et al. 1989. Karyomorphology of five south Indian spp. of *Smilax* Linn. *Cytologia (Tokyo)* 54(1): 65-72.
- Wagner, M.L.; Gurni, A. 1989. Consideraciones sobre la variabilidad química en las plantas superiores. *Dominguezia* 7(1): 23-30.
- White, A. 1985. *Hierbas del Ecuador, Herbs of Ecuador*. Ediciones Libri Mundi. Quito, Ecuador.
- Woo, M.H.; Do, J.C.; Son, K.H. 1992. Five new spirostanol glycosides from the subterranean parts of *Smilax sieboldii*. *Journal of Natural Products*, 55(8): 1129-1135.
- Woodson, R. ; Schery, R. 1965. Flora de Panamá. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 32(1): 6-11.

Estudios ecológicos sobre zarzaparrilla y cuculmeca en Talamanca, Costa Rica

Francisco Ling Nieto¹

En la búsqueda de nuevas alternativas para enriquecer los sistemas de producción en las comunidades de Talamanca, el Proyecto Conservación para el Desarrollo Sostenible en América Central (Olafo) del CATIE ha realizado investigaciones basadas en los recursos no maderables del bosque de esta región.

Con el fin de obtener la información necesaria para la utilización de plantas medicinales, a partir de 1989 se evaluaron varias especies del género *Smilax*. Las actividades se iniciaron con el rescate de la información local sobre usos y antecedentes de extracción y comercialización en la zona. (Barrantes *et al.* 1994). Estos estudios ecológicos iniciales pretenden recopiar información básica y muy práctica que motive la realización de otras investigaciones, para así generar el conocimiento necesario para impulsar el uso de estas especies medicinales como productos manejados en forma agroecológica.

Con este proceso se intenta disminuir la presión ocasionada por los pobladores locales que extraen indiscriminadamente el recurso de especies como la zarzaparrilla.

El área de estudio se encuentra en el cantón de Talamanca, provincia de Limón, en los bosques de la Reserva Indígena de Kéköldi, a 3 km de Puerto Viejo, dentro del bosque húmedo tropical bajo transición a premontano (Holdridge 1982), y en el bosque de la comunidad de agricultores ladinos de San Rafael, clasificado como bosque húmedo tropical bajo transición a muy húmedo premontano (Holdridge 1982).

De las especies de *Smilax*, en Talamanca se reconocen la cuculmeca y la zarzaparrilla, que se utilizan para producir un cocimiento a partir de la raíz. Ambas especies se diferencian por el tipo de raíz que producen: la cuculmeca presenta un rizoma leñoso de gran tamaño; la zarzaparrilla tiene raíces fibrosas y largas. En cuanto al uso, la cuculmeca se utiliza como depurativo de la sangre, contra la anemia, como vigorizador, sudorífero y antirreumático; la zarzaparrilla se usa como depurativo y fortificante, para tratar dolores reumáticos y sarpullidos y contra la leishmaniasis (Gupta 1995).

Metodología

El estudio recogió la información generada a través de diferentes mecanismos de muestreo y siguió la metodología de incorporación de recursos no maderables en sistemas de manejo

¹ Proyecto Olafo, CATIE

diversificado del bosque (Ling et al. 1996). Según esta metodología, la información recopilada debe responder a diferentes preguntas; en este caso, sólo se obtuvo información para las primeras etapas de la investigación que corresponden a:

1. Acercamiento inicial a la especie
2. Desarrollo de las herramientas necesarias para caracterizar su estructura poblacional
3. Desarrollo de las herramientas necesarias para estimar el producto cosechable en una población
4. Desarrollo de una propuesta de sistema silvicultural
5. Diseño de un plan de aprovechamiento sostenible de la especie dentro de una unidad de manejo.

En el Cuadro 1 se presentan las investigaciones realizadas en orden cronológico. En cada caso, los objetivos perseguidos van de lo general a lo específico; en esta forma, el diseño y planeamiento de objetivos parten de las necesidades presentadas en el nivel anterior.

Cuadro 1. Metodología seguida por el Proyecto Olafo para determinar las condiciones ecológicas de *Smilax* spp. en Talamanca

Etapa	Metodología	Objetivos
Estudio etnobotánico	Recolección de información de los pobladores locales sobre uso y explotación histórica	Determinar las características del grupo cuculmecha y del grupo zarzaparrilla
Muestreo exploratorio (setiembre 1990)	11 parcelas en diferentes ambientes (seis en Kéköldi y cinco en San Rafael) de 100 x 10 m, divididas en subparcelas de 10 x 10 m	Conocer las características generales de varios sitios en forma rápida (variables medidas, estado de desarrollo)
Determinación de características específicas (1990-1993)	A. Levantamiento de cuatro parcelas de 200 X 50 m (dos en Kéköldi y dos en San Rafael), divididas en subparcelas de 20 x 10 m, donde se midieron las condiciones del ambiente (1990-1991) B. Observaciones fenológicas (1990-1993) Obtener información sobre la producción de frutos C. Mapeo de parches en Baja Talamanca mediante recorridos (1992)	Obtener información de las variables que determinan el estado de desarrollo, medir el número de tallos y su diámetro Obtener la ubicación de poblaciones importantes y ambientes diferentes

Resultados

Estudios etnobotánicos

El estudio etnobotánico fue realizado entre 1989-1990 (Barrantes *et al.* 1994) y su principal aporte desde el punto de vista ecológico fue la definición de características fáciles de reconocer en el campo para la identificación de la especie o especies que componen los grupos cuculmecha y zarzaparrilla.

Cuculmecha se caracteriza por tener en la base de la liana tallos robustos, cilíndricos, de color rojo y con espinas fuertes en forma cónica. A menudo se observa el rizoma leñoso surgiendo del suelo; si no es así, se escarba un poco y se encuentra el rizoma con pequeñas raicillas.

Zarzaparrilla se caracteriza por presentar tallos cuadrangulares, alados, de color verde desde la base, con espinas planas y cóncavas. Si se remueve el suelo en la base de la planta se pueden encontrar raíces largas y fibrosas que salen de una raíz principal pequeña, pero más gruesa.

Evaluación del estado de desarrollo

Para determinar el estado de desarrollo de los *Smilax* se consideraron variables que fueran fáciles de evaluar en el campo para poder reconocer los dos grupos mediante técnicas accesibles, prácticas y sencillas.

Se midió el número de tallos, contados en la base de la planta, sobre la raíz, y el diámetro de cada tallo, medido en centímetros con un calibrador, entre el primer y segundo nudo del tallo. A cada planta se le asignó un estado de desarrollo determinado por la presencia-ausencia de material aprovechable, a través de un reconocimiento hecho mediante la remoción superficial del suelo, en la base de los tallos.

En un principio se pensó que buscar el diámetro de tallo más grueso por planta sería la forma más fácil de caracterizar su estado de desarrollo; sin embargo, esta medida no resultó apropiada, pues la planta puede presentar de uno a cinco tallos basales, y considerar sólo uno desestima la biomasa aérea de los otros, que también aportan nutrimentos para el desarrollo de las raíces como materia productiva. Además, al no haber una relación lineal entre el diámetro mayor y el número de tallos por planta (Fig. 1), es difícil encontrar relaciones adecuadas entre cualquiera de las variables anteriores y el estado de desarrollo de la planta a partir de una sola variable.

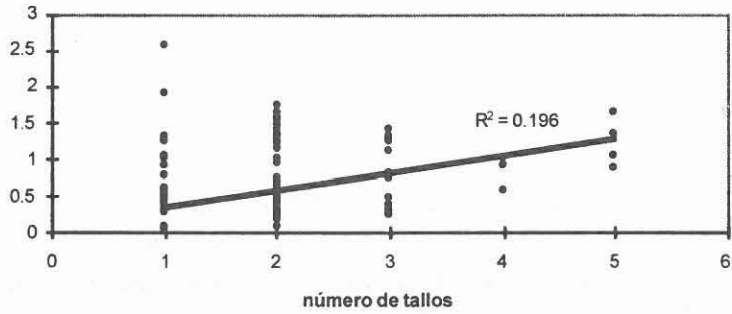


Fig 1. Realación entre el número de tallos y el diámetro mayor en plantas de cuculmecha en Talamanca, Costa Rica.

Si se utiliza el diámetro cuadrático, que relaciona tanto el número de tallos en la planta como su diámetro, se tiene una medida que funciona como indicador del estado de desarrollo para los individuos de *Smilax* (Fig. 2). Sin embargo, al ubicar las plantas en las diferentes categorías de desarrollo, sólo se utilizó una estimación subjetiva y no se cuantificó el material cosechable disponible ni su madurez sexual mediante la presencia de flores o frutos.

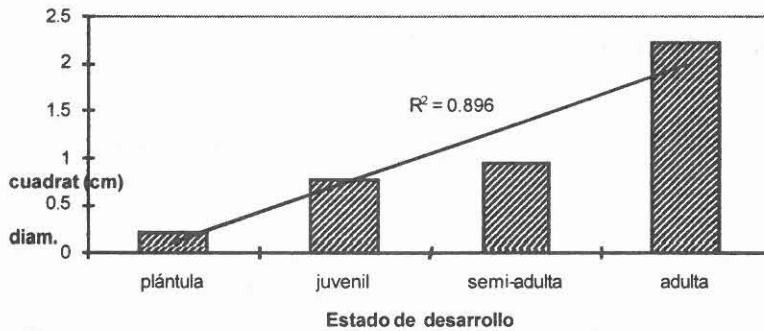


Fig 2. Diámetro basal según estado de desarrollo de 78 plantas de zarzaparrilla en Talamanca, Costa Rica.

Se cosecharon los rizomas de cuatro plantas adultas de cuculmecha en la comunidad de San Rafael, los que pesaron 3, 23, 46 y 49 kg . Para el caso de la zarzaparrilla, en la misma comunidad se extrajeron las raíces de tres plantas, que pesaron 94,3, 446,8 y 231 gramos².

Ambientes, estado de desarrollo y agregaciones

En el muestreo exploratorio y en el mapeo de parches de *Smilax* en Baja Talamanca se encontró que tanto cuculmecha como zarzaparrilla se encuentran en condiciones de bosque primario, bosque secundario y en tacotales en diferentes etapas de sucesión.

² Solano, G., Barrantes, J.C. 1993, Proyecto Olafo, CATIE. Com. pers.

Se hizo un muestreo de individuos utilizando parcelas de 100 m² en el muestreo exploratorio y de 200 m² en el levantamiento de parcelas; se encontró que la mayor parte de los individuos son plántulas o plantas jóvenes que todavía no están en producción (Fig. 3).

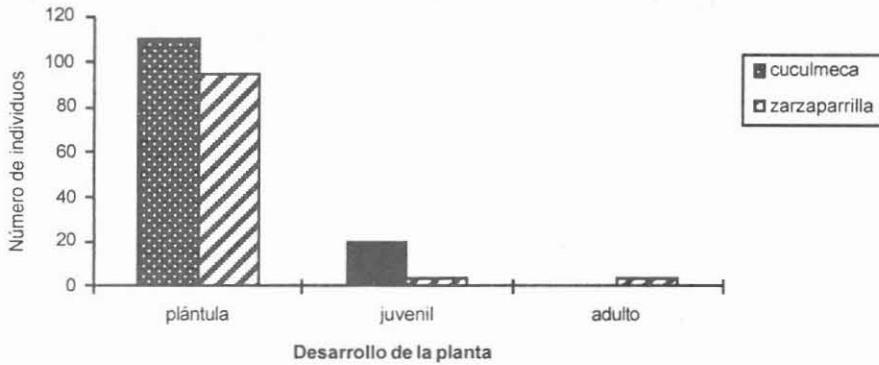


Fig 3. Plantas de *Smilax* muestreadas mediante parcelas en Talamanca, Costa Rica.

Una posible explicación para la escasa presencia de plantas adultas o productoras en la región pueden ser las labores de extracción para el comercio o para uso local realizadas por los pobladores de esas localidades. En este caso, sería necesario comparar este comportamiento con el de poblaciones de *Smilax* en sitios donde no haya tanta presión sobre el recurso.

El estudio de la distribución de plantas por subparcelas en cada una de las parcelas de 1 ha demuestra que existen grandes agrupaciones de hasta 36 individuos en 200 m²; estos pertenecen a la categoría de plántulas y posiblemente sean la regeneración de un solo adulto. Es posible que los frutos de *Smilax*, por sus características el color y la presencia de un arilo sufran dispersión por aves. Esta subparcela de 200 m², con tantos individuos de regeneración y ninguna planta adulta, sugiere la intervención de algún ave frugívora que mantenga algún grado de territorialidad.

Producción de frutos en cuculmecha

Es difícil hacer un seguimiento fenológico de las plantas de *Smilax* porque las lianas presentan varios tallos que pueden crecer sobre las copas de diversos árboles y las diferentes ramificaciones dificultan el reconocimiento de un sólo individuo.

Durante el estudio, sólo se encontró un individuo de cuculmecha en producción. Las plantas producen de una a cuatro semillas por fruto ($X = 2,14$ semillas por fruto, $N = 280$ frutos); los racimos tienen entre dos y nueve frutos.

La germinación de semillas libres de cáscara y pulpa, usando camas de arena como germinadores, se produce a partir de la quinta semana después de la siembra ($N = 600$ semillas).

En Talamanca, en condiciones de sombra natural, se alcanzó un 98% de germinación.

El reconocimiento taxonómico de las especies mediante muestras vegetativas imposibilita la identificación de los individuos estudiados; a menudo, las limitaciones del conocimiento botánico en los trabajos taxonómicos en *Smilax* también dificultan la identificación de especies incluso con muestras botánicas de flores.

Conclusiones

La presión de los extractores de plantas medicinales sobre las poblaciones naturales del género *Smilax* dificulta la interpretación de los estudios sobre la biología de la planta, pues provoca alteraciones en la estructura de las poblaciones que se estudian.

Para conocer las variables que caractericen adecuadamente la población de *Smilax* desde el punto de vista de la madurez biológica y la madurez productiva se requieren estudios más precisos, donde se evalúe en forma detallada la producción de material aprovechable comercialmente. Entre ellos, el diámetro basal cuadrático de los ejes de la planta se vislumbra como una variable de interés para futuros estudios.

La identificación de las especies en el ámbito de los grupos cuculmecha y zarzaparrilla y no de las especies taxonómicas constituye una seria limitación para el desarrollo de un sólido plan de manejo en *Smilax*.

Bibliografía

- Barrantes, J.C.; Carmona, M.; Díaz, M.; Duro, M.; Ling, F.; Ocampo, R.; Villalobos, R. 1994. Diagnóstico y resultados de investigación de la región de Baja Talamanca, Costa Rica. Documento de trabajo Olafo 5. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 32 p.+ mapas.
- Gupta, M. P. 1995. 270 Plantas medicinales iberoamericanas. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, Subprograma de Química Fina Farmacéutica. CYTED-SECAB. Bogotá, Colombia. 617 p.
- Holdridge, L. 1982. Ecología basada en zonas de vida. San José, Costa Rica, IICA. 216 p.
- Ling, F.; Villalobos, R.; Marmillod, D.; Robles, G. 1996. Aprovechamiento de productos no maderables del bosque; Area Demostrativa de Talamanca. In: Silvicultura y Manejo de Bosques Naturales Tropicales, V. 2. Serie Material Educativo No 34. Turrialba, Costa Rica, CATIE. pp: 49-73

Distribución de las especies de *Smilax* en Guatemala

José Vicente Martínez Arévalo⁴

Las especies más utilizadas son *S. lundellii* y *S. regelii*, que crecen en ambientes boscosos, en alturas comprendidas entre cerca del nivel del mar y 2000 m. En este trabajo se describe la distribución de las especies de acuerdo con la flora de Guatemala y las áreas donde se han encontrado recientemente algunas de ellas.

Descripción del género

Las plantas del género *Smilax* son enredaderas herbáceas o leñosas, con tallos provistos de espinas o desprovistos de ellas, raíces leñosas a tuberosas o con largos rizomas engrosados; hojas usualmente coriáceas, enteras o lobadas; perianto segmentado en diversas formas; pedicelos con un receptáculo globoso o cónico, insertados en unos pequeños orificios, entre diminutas bracteolas; flores estaminadas con o sin ovario abortivo o flores pistiladas generalmente tan pequeñas como las estaminadas, con ovarios y varios estambres abortivos.

Clave del género *Smilax* para Guatemala

1. Plantas más o menos pubescentes, a veces glabras cuando maduras, pero con unos pocos pelos persistentes en los pecíolos, pedúnculos o pedicelos; siempre desprovistas de espinas.

1.1 Ramas obtusamente cuadrangulares, glabras cuando maduras; con seis estaminodios en las flores pistiladas:

S. subpubescens

1.2 Ramas cilíndricas excepto las más bajas, en general abundantemente pilosas, también cuando maduras.

1.2.1 Tallos densamente lanoso-tomentosos; hojas muy tomentosas debajo, con triple nervadura:

S. velutina

1.2.2 Tallos pilosos o subtomentosos, pelos toscos y esparcidos, al menos en parte; hojas pubescentes con pelos largos y cortos; 7-nervadas; todos los nervios parten de la base de las hojas:

S. mollis

2. Plantas glabras en todas partes, a menudo provistas de espinas.

2.1 Flores estaminadas de 2,8 mm de longitud o menos.

⁴ Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos, Guatemala

2.1.1 Hojas con venas conspicuamente reticuladas, membranosas o cartáceas; si coriáceas, pequeñas y a menudo espinosas en las nervaduras de abajo; ramas anguladas y a menudo flexuosas:

S. spinosa

2.1.2 Hojas con venas oscuras, coriáceas, largas, sin espinas, con ramillas cilíndricas erguidas.

2.1.2.1 Con bayas globosas:

S. lundellii

2.1.2.2 Con bayas elongadas, acutadas al final:

S. munda

2.2 Flores estaminadas de 4 mm de longitud o más.

2.2.1 Pedúnculos de los pistilos umbelados más cortos que los pecíolos, subtendidos y subcilíndricos:

S. lanceolata

2.2.2 Pedúnculos de los pistilos umbelados más largos que los pecíolos, casi siempre conspicuamente comprimidos.

2.2.2.1 Anteras más cortas que los filamentos; hojas sin espinas. Pecíolos articulados a la mitad o por debajo.

2.2.2.1.1 Ramillas cilíndricas o irregulares subanguladas. Hojas desecativas negruzcas:

S. jalapensis

2.2.2.1.2 Ramillas cuadrangulares.

2.2.2.1.2.1 Hojas desecativas negruzcas, 7-nervadas, las más grandes a menudo subcordadas en la base:

S. jalapensis var. *botterii*

2.2.2.1.2.2 Hojas desecativas negruzcas, verde pálidas, 5-nervadas, nunca subcordadas en la base:

S. standleyi

2.2.2.2. Anteras más grandes que los filamentos.

2.2.2.2.1. Tallos cilíndricos; pecíolo articulado por debajo de la mitad de la porción libre; hojas acutadas en la base; sin espinas:

S. panamensis

2.2.2.2.2. Tallos agudos u obtusamente cuadrangulares, al menos los de abajo; pecíolo articulado sobre la mitad de la porción libre; hojas más bajas cordadas o de punta aguda en la base, a menudo acutadas.

2.2.2.2.2.1. Bayas rojas; tallos obtusamente cuadrangulares; subcilíndricos encima:

S. aristolochiaefolia

2.2.2.2.2.2. Bayas negras; tallos muy cuadrangulares en todas partes:

S. regeli

Distribución de las especies

De acuerdo con la descripción de la flora de Guatemala, las 13 especies de *Smilax* que hay en el país se encuentran distribuidas en esta forma:

- *S. aristolochiaefolia* Mill. Nombre común: escoca. Se encuentra en el Petén (Uaxactún) y probablemente en Alta Verapaz. Llega hasta el sur de México y Belice.
- *S. jalapensis* Schlecht. Crece en bosques o matorrales húmedos o lluviosos entre 1200 y 2700 msnm. Se distribuye en Alta Verapaz, Zacapa, Guatemala, Chimaltenango, Quiché, Huehuetenango, San Marcos y en el sur de México.
- *S. lanceolata* L. Nombres comunes: tietie, china-root, zarza y corona de Cristo. Crece en bosques o matorrales húmedos desde cerca del nivel del mar hasta 1200 m. Se encuentra en Alta Verapaz, Baja Verapaz, Izabal, Zacapa, Escuintla y Sacatepéquez. También en México, Belice, Honduras, El Salvador, Costa Rica, Panamá y en la India occidental.
- *S. lundellii* Killip & Morton. Nombres comunes: zarza y diente de chucho. Crece en bosques o matorrales húmedos, entre el nivel del mar y 1300 m. Se encuentra en el Petén, Alta Verapaz y San Marcos. También hay en Belice.
- *S. mollis* Humb & Bonpl, ex Willd. Nombre común: pate. Crece en matorrales y bosques, desde el nivel del mar hasta casi 3000 m. Hay en el Petén, Alta Verapaz, Izabal, Chiquimula, Chimaltenango, Quetzaltenango y San Marcos. Se extiende desde el sur de México hasta Panamá.
- *S. munda* Killip & Morton. Crece en bosques a 75 msnm; se localiza en el Petén y también en Belice.
- *S. panamensis* Morong. Crece en Baja Verapaz. También se le encuentra en Honduras, Costa Rica y Panamá.
- *S. papyraceae* Duham. Restringida al Volcán de Fuego.
- *S. regelii* Killip & Morton. Nombres comunes: zarza, zarzaparrilla y bejuco corona. Crece entre matorrales o bosques, desde el nivel del mar hasta 1500 m. Hay en el Petén, Izabal, Jalapa, Santa Rosa, Chimaltenango, Quetzaltenango y San Marcos. También en Belice y Honduras.
- *S. spinosa* Mill. Nombres comunes: madre de zarzaparrilla, zarza, zarzaparrilla macho y bejuco de la vida. Crece en matorrales o bosques húmedos o lluviosos, desde el nivel del mar hasta casi 2800 m, pero abunda más a poca altura. Se le encuentra en el Petén, Alta Verapaz, Izabal, Zacapa, Jutiapa, Santa Rosa, Guatemala, Suchitepéquez, Retalhuleu, Quetzaltenango y Huehuetenango. Se distribuye desde México hasta Belice y Panamá.

- *S. standleyi* Killip & Morton. Crece en bosques y matorrales húmedos, entre 200 y 1800 msnm. Hay en Alta Verapaz, Chimaltenango, Suchitepéquez, Quetzaltenango y Huehuetenango. También en las tierras bajas del Pacífico de Costa Rica (Guanacaste).
- *S. subpubescens* A. D.C. Crece en matorrales o bosques húmedos entre 1500 y 2500 m. Se le encuentra en Alta Verapaz, Zacapa, El Progreso, Chimaltenango, Suchitepéquez, Quiché, Huehuetenango, Quetzaltenango y San Marcos. Se extiende desde el sur de México hasta Costa Rica.
- *S. velutina* Killip & Morton. Crece en bosques y matorrales húmedos, algunas veces en bosques de pino, desde el nivel del mar hasta casi 1500 m. Hay en Alta Verapaz, Izabal, San Marcos y Huehuetenango. También en Chiapas y Belice.

Entre 1991 y 1992 se hizo una exploración y recolección del género *Smilax* en todo el país; se obtuvieron 17 recolectas de diferentes especies. Durante el trabajo se observó que era relativamente difícil localizar sitios donde hubiera plantas de zarzaparrilla. En las entrevistas con los pobladores se mencionó la gran erosión genética que presenta este género, debido a que es una planta que ha sido utilizada como medicina desde tiempos de la colonia. Además, la parte utilizable es la raíz engrosada y para aprovecharla, se corta completamente la planta y no se le da ningún manejo agronómico; sólo se practica la extracción del bosque.

Por otra parte, los bosques donde crecen las plantas del género *Smilax* se explotan en forma irracional, por lo que en varias localidades donde se recolectaron, la vegetación es secundaria en estados tempranos de sucesión; incluso se encontraron especies de *Smilax* creciendo en matorrales.

En algunas localidades se hizo una estimación de la densidad y se encontró que está entre las tres y diez plantas por hectárea, lo que puede ser un indicador de lo referido anteriormente, pues los pobladores mencionan que antes la cantidad de plantas existente era superior a la actual. Por otra parte, se notó que la repoblación natural es muy baja o nula.

En el Cuadro 1 se presenta la información sobre los sitios de recolección, tomada del informe de Herrera et al. (1993); desdichadamente hubo problemas con la identificación de las muestras del herbario, por lo que sólo se menciona el nombre común.

Cuadro1. Recolectas de *Smilax* spp. en Guatemala (1991-1992)

Nombre común	Localidad	Altitud msnm	Zona de vida
Zarzaparrilla	El Palmar, Santa Rosa	1.900	Bosque húmedo Subtropical templado
Zarzaparrilla	Cerro Gordo, Santa Rosa	1.100	Bosque húmedo Subtropical templado
Curlo	San José Pinula, Guatemala	1.700	Bosque húmedo Subtropical templado
-----	Mataquescuintla, Jalapa	2.000	Bosque húmedo montano bajo Subtropical
corona de Cristo	Alotenango, Sacatepéquez	1.300	Bosque muy húmedo Subtropical cálido
Zarzaparrilla	Acatenango, Sacatepéquez	2.000	Bosque muy húmedo Montano bajo Subtropical
diente de chucho	Campur, Alta Verapaz	900	Bosque muy húmedo Subtropical cálido
uña de gato	Campur, Alta Verapaz	900	Bosque muy húmedo Subtropical cálido
palo de la vida	Patulul, Suchitepéquez	900	Bosque muy húmedo Subtropical cálido
palo de la vida	Santa Bárbara, Suchitepéquez	900	Bosque muy húmedo Subtropical cálido
uña de gato	San Fco. Zapotitlán, Suchi	1.800	Bosque muy húmedo Subtropical cálido
bejuco de la vida.	San Martín Chiquito, Quetzaltenango	2.000	Bosque muy húmedo Subtropical cálido
Zarzaparrilla	La Reforma, San Marcos	1.110	Bosque muy húmedo Subtropical cálido
Zarzaparrilla	Sta. C. Ixtahuacán, Sololá	2.600	Bosque muy húmedo Montano bajo Subtropical
sinaca	Erivón, Río Dulce, Izabal	20	Bosque muy húmedo Tropical
Coculmecca roja	San Miguel Palotada, Petén	200	Bosque húmedo Subtropical cálido
Coculmecca roja	Uaxactún, Petén	185	Bosque húmedo Subtropical cálido

Bibliografía

Herrera, M.; Moreno, P.; Perla, H. 1993. Informe de actividades 1991-1993 sobre la domesticación de cinco especies medicinales. Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos. Guatemala.

Aprovechamiento

Aprovechamiento

Desarrollo de una técnica no destructiva para la determinación del producto cosechable de *Smilax chiriquensis*

Hiram Montiel¹, Róger Villalobos², Daniel Marmillod²
Rafael Ocampo², Juvenal Valerio¹

El Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) promueve el máximo aprovechamiento sostenible de las especies maderables y no maderables del bosque, como una forma de fomentar el desarrollo rural, y a la vez, garantizar la conservación de la biodiversidad del bosque a través de su manejo diversificado. Este trabajo es parte de la búsqueda de alternativas productivas para el desarrollo rural basado en el aprovechamiento de ecosistemas naturales, acciones impulsadas por el proyecto Conservación para el Desarrollo Sostenible en América Central (Olafo) del CATIE y apoyadas por el departamento de Ingeniería Forestal del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR).

El manejo forestal diversificado implica la integración de criterios silviculturales basados en la ecología de especies con variados hábitos de crecimiento y nichos ecológicos, según la relación entre su capacidad productiva y la dinámica del ambiente, e interpretados en función del tipo y cualidades del producto por cosechar (Ling *et al.* 1996). Así, el diseño de planes de manejo para cada especie implica la diferenciación de áreas productivas, sus existencias y posibilidades de cosecha, así como el sistema silvicultural respectivo. Para llegar a ese punto se debe contar con herramientas de estimación de existencias y evaluación del crecimiento; es decir variables dasométricas cuya relación con el producto cosechable sea cuantificable y confiable (Marmillod y Villalobos 1997).

Estas variables facilitan la caracterización cuantitativa de la población en términos de la madurez de los individuos y del potencial productivo y reproductivo. La diferenciación de estados de desarrollo generalmente se relaciona con los individuos calificados como productivos. Este conocimiento dasométrico de la especie constituye el eje del proceso de investigación y validación que lleva al aprovechamiento sostenible (Marmillod y Villalobos 1997). En ese contexto, la zarzaparrilla (*Smilax chiriquensis*) es uno de los recursos no maderables estudiados por el CATIE debido a su reconocido valor como planta medicinal, tanto en mercados tradicionales populares como a nivel industrial, y al peligro que corren sus poblaciones naturales ante la extracción indiscriminada del recurso y las elevadas tasas de deforestación en la región (Ocampo 1994).

¹ Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR)

² Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).

Este estudio tuvo como objetivo la determinación de variables dasométricas que permitan cuantificar la biomasa aprovechable de individuos de zarzaparrilla en poblaciones naturales, como una herramienta para el desarrollo de criterios silviculturales y de manejo de la especie. El trabajo se realizó con poblaciones naturales de *S. chiriquensis* de la Reserva Indígena Kéköldi, Baja Talamanca, en el sur de la costa atlántica de Costa Rica.

La identidad de la especie *Smilax chiriquensis* se verificó en el área de trabajo (muestras botánicas USJ Dalle, S. No. 104 y 109, 1996). Se trata de una liana leñosa cespitosa, de tallo cuadrangular, cubierto de aguijones planos de ápice cóncavo, con hojas alternas, palmitinervadas y raíces abundantes, color crema, de hasta 2 m de largo y 1 a 5 mm de grosor, que constituyen el único producto actualmente cosechado de la planta (Gupta 1995, Ocampo 1994).

En una de las tres poblaciones naturales de zarzaparrilla encontradas en la Reserva -todas en bosques intervenidos- se caracterizaron en forma preliminar las dimensiones típicas de la especie. Para ello se estableció una parcela de 1300 m² (50 x 26 m), subdividida en diez subparcelas de 130 m² (10 x 13 m). A los 170 individuos presentes en la parcela se les midió el número de tallos y su diámetro basal (tomado en el segundo entrenudo desde la base de los tallos primarios, que se originan desde el suelo) y la altura total de la planta (en lo posible con una cinta métrica o estimada visualmente en las más altas). Estos individuos mostraron una distribución de J invertida (Fig. 1).

Los diámetros encontrados alcanzaron un máximo por eje entre 2,6 y 3,0 cm. Se establecieron siete categorías de diámetro cuadrático representativas de la población: 0-0,49; 0,5-0,99; 1-1,99; 2-2,99; 3-3,99; 4-4,99 y >4,99 cm. Se procuró disectar y medir diez plantas por categoría diamétrica, para una muestra total de 70 plantas, de manera que no afectara severamente las existencias de la especie en Kéköldi.

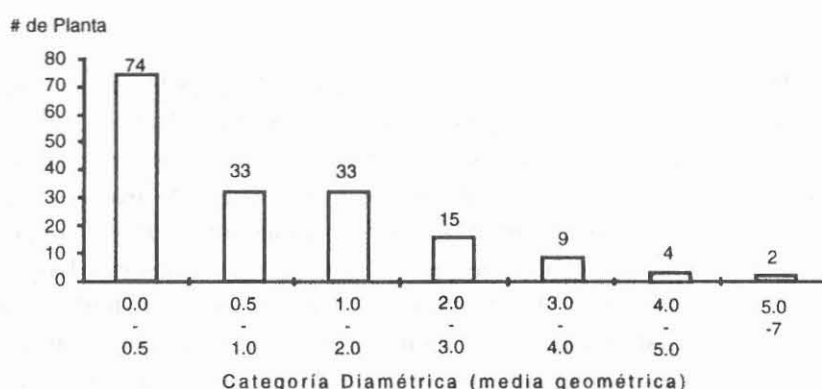


Fig. 1. Distribución diamétrica de plantas de *Smilax chiriquensis* en una parcela de caracterización de la especie en la reserva Indígena Kéköldi, Talamanca, Costa Rica, 1996.

Para cada planta se recolectaron muestras (30-200 g) pesadas en el campo con una balanza electrónica y secadas posteriormente en un horno con flujo de aire a 50°C durante seis días; se determinó el porcentaje medio de humedad en las secciones basal, media y superior de los ejes, así como en la raíz. El análisis de variancia no detectó diferencias estadísticamente significativas entre el contenido de humedad de las secciones. Los promedios de humedad resultaron ser 79.93% y 76.49% para ejes y raíz, respectivamente.

A cada planta extraída se midieron las siguientes variables:

- Diámetro cuadrático (DC).- raíz cuadrada de la sumatoria de los diámetros al cuadrado del total de ejes de la planta. El diámetro fue tomado en el segundo entrenudo de cada eje que se originaba desde el suelo.
- Número de tallos por tipo.- se consideraron como tallos tipo A (TA) a los tallos principales que surgen desde el suelo; tallos tipo B (TB), los que corresponden a ramificaciones a partir de tallos A, y como tallos C, D y E, las ramificaciones subsecuentes.
- Número de entrenudos por tipo de tallo (EA, EB, EC...).- se refiere al número total de entrenudos que se encuentran en cada tipo de tallo.
- Número de entrenudos totales (E).- se refiere a la sumatoria del total de entrenudos de todos los tipos de tallos.
- Sumatoria de la longitud de los entrenudos por tipo de tallo (LA, LB...).- obtenida al sumar el largo de todos los entrenudos presentes en un tipo determinado de tallo.
- Longitud promedio de los entrenudos por tipo de tallo (LPA, LPB...).- resultado de la división del largo total de los entrenudos en un tipo de tallo entre el número total de entrenudos presentes en el mismo tallo.
- Peso fresco de los tallos (PT).- determinado en el campo utilizando una balanza electrónica.
- Peso fresco de la raíz (PR).- determinado en el campo utilizando una balanza electrónica.
- El peso seco de tallos y raíces se determinó utilizando el cálculo de porcentaje de humedad de tallos y raíz, respectivamente.

Aunque se encontraron plantas grandes, con hasta cinco tallos primarios, el 48% de los individuos solo tenían dos tallos; solo las plantas con diámetro cuadrático mayor a 1,5 cm presentaron los cinco tipos de tallos descritos (Figs 2 y 3 respectivamente).

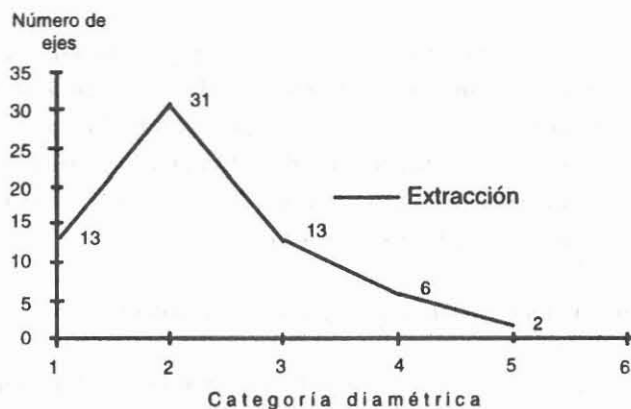


Fig. 2. Distribución de plantas de *Smilax chiriquensis* según el número de tallos por planta, en la reserva Indígena Kéköldi, Costa Rica, 1996.

Las variables cuya correlación según el procedimiento de Pearson (Steel y Torrie 1985) alcanzó un valor de r^2 superior a 0,8 se anotan a continuación:

TB vs E	E vs EA	EA vs PT	EPA vs EPB	EPB vs DC
TC vs E	E vs EB	EB vs PT	PT vs PR	E vs DC
EC vs E	E vs LB	LB vs PT	PT vs DC	
TA vs DC	E vs LA	LA vs DC	DC vs PR	

La variable de mayor valor práctico que presenta una correlación significativa y favorable es el peso de la raíz con el diámetro cuadrático, con un r^2 de 0,83176. Esa es la única relación encontrada con un aprovechamiento práctico para efectos de manejo: el resto de las relaciones implican mediciones complejas y destructivas, aunque su interpretación puede ser útil para estudios anatómicos de la planta.

La relación significativa entre el peso total de los ejes y el peso de las raíces refleja la proporcionalidad entre el crecimiento aéreo y subterráneo de la planta. Esta relación no tiene utilidad dasométrica práctica en procesos comerciales por el carácter destructivo de su medición, aunque sus implicaciones son de interés en cuanto al análisis del crecimiento de la especie.

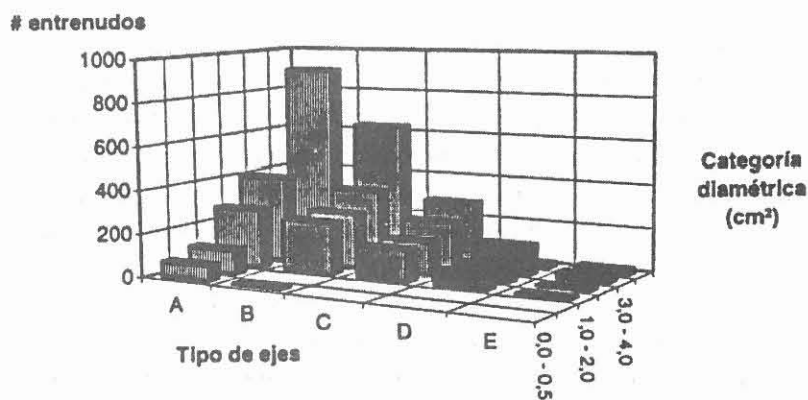


Fig. 3. Número de entrenudos por tipo de tallo, distribuidos en categorías diamétricas para plantas de *Smilax chiriquensis* en la reserva Indígena Kéköldi, Baja Talamanca, Costa Rica, 1996

La relación entre el diámetro cuadrático y el peso de la raíz esta dada por la siguiente ecuación:

$$PFR = e^{2,985220 * LN(\varnothing) - 3,930510}$$

donde: PFR = peso fresco de raíces

LN = logaritmo natural

\varnothing = diámetro cuadrático de la planta

La Fig. 4 muestra la comparación de los datos de peso fresco de la raíz reales junto a los datos obtenidos al utilizar la ecuación.

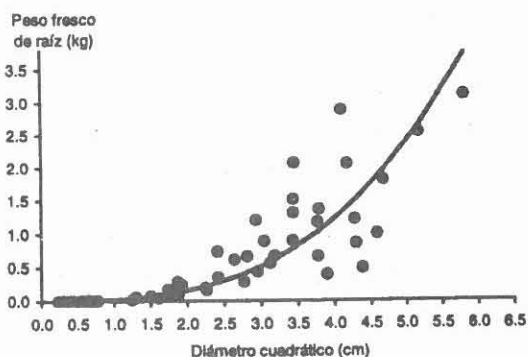


Fig. 4. Peso fresco de la raíz en función del diámetro cuadrático en plantas de *Smilax chiriquensis* (peso real y teórico) en la Reserva Indígena Kéköldi, Baja Talamanca, Costa Rica, 1996.

Las plantas empleadas en esta investigación representan un ámbito variado de dimensiones, desde los individuos más pequeños encontrados en la parcela. Uno de los pasos siguientes para el manejo de la especie es la definición de los individuos productivos, que probablemente se incluyan a partir de un límite superior de dimensiones, por encima del cual la anterior relación estadística podría resultar menos precisa. Sin embargo, brinda una excelente base de trabajo para la valoración del potencial productivo de poblaciones naturales de zarzaparrilla.

Futuros estudios deberán verificar la precisión de esta relación matemática para la subpoblación de individuos productivos y la eventual necesidad de retomar algunas de las otras relaciones significativas entre variables, siempre que resulten prácticas para su aplicación en inventarios comerciales y/o de investigación para el manejo productivo de la zarzaparrilla.

El análisis minucioso de la relación entre variables dasométricas puede resultar tedioso e implicar la destrucción de algunos individuos; pero puede ser, a la vez, la única forma de determinar variables prácticas que permitan procesos de investigación y de aprovechamiento sostenible.

Bibliografía

- Gupta, M. 1995. 270 plantas medicinales iberoamericanas. Convenio Andrés Bello/Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Bogotá. 617 p.
- Ling, F.; Villalobos, R.; Marmillod, D.; Robles, G. 1996. Aprovechamiento de productos no maderables del bosque. Área demostrativa Talamanca. *In* Silvicultura y manejo de bosques naturales tropicales; Curso Intensivo Internacional. V 2: Estudios de casos. Turrialba, Costa Rica, CATIE. p. 49-73.
- Marmillod, D; Villalobos, R. 1997. Incorporación de especies no maderables en procesos productivos de bosques naturales; metodología e implicaciones. Congreso Forestal Centroamericano, San José, 15-17 de setiembre.
- Ocampo, R. 1994. Situación actual de los productos no maderables del bosque en Costa Rica. Turrialba, Costa Rica, CATIE. Documento de trabajo No. 7. Proyecto Conservación para el Desarrollo Sostenible en América Central. 15 p.
- Steel, R.G.; Torrie, J.H. 1985. Bioestadística: Principios y procedimientos. 2 ed. Colombia, McGraw-Hill Latinoamericana. P. 132-187

Métodos de propagación

Métodos de propagación

Reproducción vegetativa de *Smilax* sp.

Ricardo Valverde¹, Rafael Ocampo¹

La zarzaparrilla es una de las plantas medicinales más importantes de América Latina por el uso, el conocimiento etnofarmacológico y su empleo en la industria farmacéutica. La raíz de *Smilax* se empleó y comercializó ininterrumpidamente entre los siglos XVI y XIX y sigue siendo muy importante en la actualidad (Gupta 1995).

En un estudio de mercado realizado en Costa Rica, Ammour et al. (1994) encontraron que se comercializan dos toneladas anuales de la raíz y el rizoma de dos especies del género *Smilax* provenientes del bosque, conocidas popularmente como zarzaparrilla y cuculmecca.

Estas plantas crecen en los bosques tropicales húmedos, de donde se extraen para el mercado nacional e internacional. A pesar de su importancia, no se conocen actividades de cultivo, por lo que el uso comercial podría ponerlas en peligro de extinción en su medio natural. Por esta razón, desde la década del 80, en Costa Rica se han buscado alternativas para la reproducción del cultivo, sobre todo en forma asexual (Ocampo 1986, Chavarría 1987, Bross 1988).

El objetivo de esta investigación fue evaluar el enraizamiento de diferentes tipos de estacas de zarzaparrilla (*Smilax* sp.) con varias concentraciones de auxinas, bajo condiciones controladas de luz y humedad, en un vivero localizado en la zona atlántica de Costa Rica.

Revisión de literatura

Reproducción sexual

En forma natural, en el bosque, la zarzaparrilla se reproduce por medio de semillas sexuales que no presentan dormancia, pero necesitan luz para poder germinar (Andreatta y Pereira 1990, Pogge y Bearce 1989). Estos autores evaluaron la germinación de cinco especies brasileñas en relación con la emergencia de la raíz y encontraron que la duración de este período varía entre 39 y 93 días. Para alcanzar el estado de plántula con una hoja desarrollada necesitaron entre 50 y 190 días y para establecerse como plántula con cuatro hojas desarrolladas, entre 128 y 341 días. Parece evidente que el desarrollo de especies de *Smilax* a partir de semillas sexuales es muy lento, por lo que puede resultar poco práctico utilizar ese método de propagación con fines comerciales.

¹ Bouganvillea S.A.

Reproducción asexual

La propagación vegetativa en sus diferentes modalidades constituye una herramienta importante para multiplicar plantas con fines comerciales o de mejoramiento y puede ofrecer en ambos casos ventajas relativas: bajos costos, facilidad de proceso y calidad del material obtenido (Hartmann y Kester 1972).

Acodado

En forma natural, algunas especies de *Smilax* sp. tienen la capacidad de producir raíces aéreas en los nudos de los tallos cuando estos entran en contacto con el suelo (Ocampo 1986). Sprenger (1993), en observaciones preliminares, no encontró enraizamiento de acodos realizados en plantas establecidas en los bosques de Talamanca, después de seis meses. No hay mucha claridad respecto a la aplicación de este método en *Smilax* y puede resultar poco práctico en el medio natural, que es donde se encuentran generalmente las plantas adultas.

Cortes de rizoma

Las especies de *Smilax* spp., conocidas popularmente como cuculmeca, pueden reproducirse a partir de trozos de rizoma que contengan yemas latentes en sus tejidos jóvenes. Sin embargo, los estudios documentados presentan resultados variables.

Pogge et al. (1974), con *S. glauca*, obtuvieron un vigoroso enraizamiento en alrededor del 69% de las repeticiones. Schmoker (1992), en Panamá, obtuvo enraizamiento en el 15% de 40 bulbos evaluados, después de dos meses. Bross (1988), en Costa Rica, no observó signos de raíz un mes después del establecimiento. Pero ninguno de estos autores menciona el tamaño y las características del rizoma utilizado, ni los detalles del sistema de corte.

Posiblemente este método, que debe investigarse con más detenimiento, constituya una experiencia importante para conservar la especie en su medio natural, si se manejan cortes de rizoma con presencia de yemas latentes, ya que su crecimiento es vigoroso.

Cortes de raíz

Algunas especies de *Smilax* que no tienen un rizoma voluminoso, como las denominadas zarzaparrillas, se pueden propagar mediante partes de la raíz.

Pogge et al. (1974) obtuvieron un enraizamiento relativamente bueno con cortes de raíz de dos especies de *Smilax* de zona templada, seis meses después del establecimiento. Este método constituye una buena alternativa para desarrollar un sistema de aprovechamiento sustentable, pues se cosecha parte de las raíces de la planta y el resto se establece en su medio natural. Lo que aún no se conoce es el comportamiento de los nuevos individuos ni el tiempo que necesitan para producir raíces para una nueva cosecha.

Corte de tallos

En general el éxito de la reproducción a través de tallos depende de diversos factores, como nutrición de la planta, edad y tipo de tallo (verde, maduro, lateral, terminal, estéril, con floración), tiempo de cosecha, presencia de hojas y botones florales (Hartmann y Kester 1972).

Pogge et al. (1974) lograron el enraizamiento de *S. rotundifolia* mediante la auxina ácido indol butírico (IBA). Conran (1986), con concentraciones de 0,8% de IBA, logró un 60% de enraizamiento después de diez semanas, en cortes de tallos maduros de *S. australis* con tres hojas, bajo un 70% de sombra.

Chavarría (1987) probó el efecto de número de nudos e inclinación de tallos de zarzaparrilla sobre la producción de raíces. A los tres meses de la siembra, observó un enraizamiento promedio del 53% en tallos en posición horizontal e inclinada con tres nudos. La raíz apareció a los 30 días y las primeras hojas, a los 60.

Schmocker (1992) empleó tallos de cuculmecha de diferentes diámetros (1 cm, 1-2 cm, 2-3 cm), con uno o dos nudos, sin hojas, con o sin raíz. El mejor enraizamiento fue el de los tallos maduros con dos nudos y con raíz, que mostraron un 85% de prendimiento después de dos meses.

Bross (1988) y Sprenger (1993), con diversos tratamientos en estacas de *S. chiriquensis*, lograron un mejor enraizamiento con estacas de tres nudos tomadas de las secciones medias y apicales de los tallos y plantadas en un ángulo de 45, que con estacas tomadas de los tallos basales. Además, determinaron que la presencia de hojas en las estacas incrementa la producción de raíces.

Por la diversidad de condiciones, especies y tratamientos, los estudios de propagación realizados en *Smilax* spp. son difíciles de comparar. Aún hay lagunas de conocimiento en cuanto a la metodología empleada; sobresale la falta de información sobre el establecimiento y la respuesta al crecimiento del material propagado en el medio natural. Sólo se ha hecho una investigación en condiciones de bosque, por lo que es necesario obtener más información para poder enriquecer los bosques con diversas especies de *Smilax*.

Cultivo de tejidos

En los últimos años se han estudiado las técnicas de propagación *in vitro* en varias especies de *Smilax*. En Costa Rica, Palma (1995) empleó yemas axilares de bejuco de zarzaparrilla en diferentes medios, y obtuvo entre 81 y 95% de supervivencia, a los 120 días de la siembra.

Otras especies, como *S. oldhamii* Mig. (Kawamura 1992, Kawamura y Koroda 1990), y varias especies asiáticas como *S. rilparia* (Ishioka y Tanimoto, 1992), *S. zeylanica* (Jha et al. 1987) y *S.*

corbularia (Mongkhon 1989) han sido propagadas exitosamente mediante técnicas de micropropagación.

Metodología

Sitio del ensayo

La investigación se realizó en el vivero Arco Iris del Caribe, en la localidad de Baltimore, distrito 1 del cantón de Matina, provincia de Limón, entre julio y setiembre de 1995.

Los maceteros plásticos con las estacas se colocaron sobre mesas construidas con tubos metálicos y cedazo, en un área de 1000 m² cubierta con un sarán de polipropileno que proporciona una sombra del 80%.

El riego se aplicó durante el día, con un sistema automático de "neblina", que se activa durante cinco segundos cada cinco minutos. La temperatura media osciló entre los 24 y 25°C.

Material de reproducción

El material de reproducción se obtuvo de plantas silvestres establecidas en el bosque, en el pie de monte de la Cordillera de Talamanca, cerca de Baltimore. Aunque no se colectó una muestra de herbario, en el futuro se podrá hacer la identificación taxonómica, pues el material está creciendo en el Jardín Agroecológico de Plantas Medicinales TRAMIL-Centroamérica, ENDA-Caribe, cerca del vivero.

Tipos de ensayo

Ensayo No 1

- Efecto de diferentes dosis de auxinas en el enraizamiento de estacas de zarzaparrilla provenientes de tallo y de rama.

Los tratamientos consistieron en tres dosis del regulador de crecimiento ANA (ácido naftalenacético a 0, 500 y 1000 ppm). La sección basal de las estacas se humedeció con la solución. Cada tratamiento constó de dos repeticiones de 15 estacas. Las estacas, con dos nudos y sin hojas, se establecieron en un sustrato de burucha o viruta (desechos de cepillado de madera), con un ángulo de inclinación de 45°. Se evaluó la supervivencia y el número de raíces y de brotes a los 67 días de la siembra.

Ensayo No 2

- Efecto del sustrato, número de nudos y presencia de hojas en el enraizamiento de estacas de zarzaparrilla.

Este ensayo se estableció en ocho tratamientos, con estacas de tallo, uno y dos nudos, con y sin hojas, en dos tipos de sustrato: burucha y oasis (material sintético, en forma de cubo esponjoso). Los demás procedimientos fueron los mismos que para el ensayo No 1.

Ensayo No 3

- Efecto de diferentes dosis de auxinas en el enraizamiento de estacas de tallo de zarzaparrilla.

En este ensayo se aplicaron soluciones de 0, 500, 1000 y 1500 ppm de ANA a estacas de tallo con dos nudos, sin hojas. Cada tratamiento constó de 30 estacas y dos repeticiones con sustrato de burucha. Se hicieron observaciones a los 59, 67 y 79 días de la siembra.

Resultados

Ensayo No 1

A los 67 días se encontró un 27% de estacas con raíz y un 17% con raíz y brote, para un total de 44% de estacas enraizadas. En la Fig. 1 se muestra el efecto del tipo de estaca: las obtenidas del tallo primario muestran mejor enraizamiento (40%) que las provenientes de ramas laterales (14%); no se observa un efecto claro de los tratamientos de auxina.

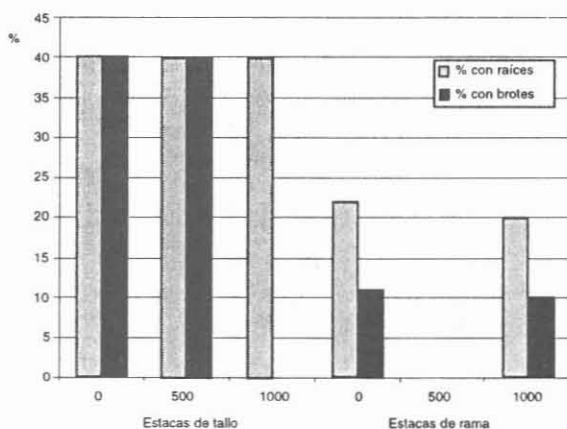


Fig. 1. Porcentaje de estacas de zarzaparrilla de tallos primarios y secundarios, con raíces y brotes, expuestas a soluciones de ANA de 0, 500, y 1000 ppm, a los 67 días de la siembra

Las estacas produjeron entre una y ocho raíces; a los 67 días, el tratamiento con la concentración de 500 ppm de ANA fue el que tuvo mayor número de raíces (Cuadro 1).

Cuadro 1. Producción de raíces en estacas tratadas de zarzaparrilla provenientes de tallos o ramas, a los 67 días de la siembra

Tratamiento (ppm ANA)	Promedio de raíces (S)	Número
0	3,17 (1,72)	6
500	4,50 (2,64)	4
1000	3,00 (2,00)	6
Estaca de tallo	3,83 (2,08)	12
Estaca de rama	2,25 (1,50)	4

Ensayo No 2

Este ensayo presentó mayor enraizamiento que el primero, lo que podría deberse a que sólo se utilizaron estacas de tallo. Después de 67 días en vivero, el 48% de las estacas tenía raíz y el 36% raíz y brotes, para un total de 84%. Las estacas de dos nudos se comportaron mejor que las de uno (Fig. 2).

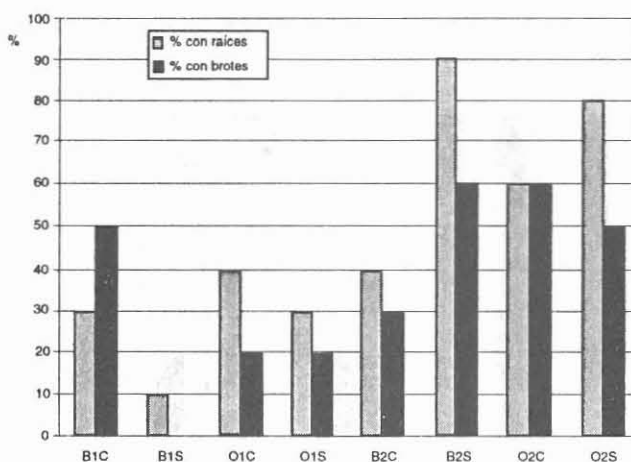


Fig. 2. Porcentaje de estacas de zarzaparrilla con raíces y brotes, a los 67 días de la siembra con tratamientos de: 1=un nudo, 2=dos nudos, S=sin hojas, C=con hojas, en sustratos de: B= burucha, O= oasis

En relación con la presencia de hojas se observó un efecto inverso entre las estacas con uno y dos nudos. Las estacas con un solo nudo mostraron mejor producción de raíz cuando tenían hojas, mientras que las estacas con dos nudos sin hojas enraizaron mejor que aquellas con hojas. En cuanto al número de raíces, después de los 67 días, se contaron entre una y diez por estaca. El Cuadro 2 muestra los resultados por tratamiento. No se realizó un análisis estadístico entre tratamientos para determinar si las diferencias eran significativas, pero parece haber una tendencia a mejor enraizamiento cuando se utiliza burucha como sustrato.

Cuadro 2. Producción de raíces en estacas de zarzaparrilla a los 67 días de sembradas

Tratamiento	Promedio de raíces (S)	Número
Sustrato burucha	3,06 (2,35)	17
Sustrato oasis	2,33 (0,856)	21
un nudo	2,27 (1,27)	11
dos nudos	2,81 (1,86)	27
con hojas	3,23 (2,077)	17
sin hojas	2,19 (1,21)	21

Ensayo No 3

En este ensayo de evaluación de dosis de ANA se logró un 100% de supervivencia de las estacas hasta los 67 días; luego, una falla en el sistema de riego provocó la muerte del 46% de ellas a los 79 días. Esta experiencia merece ser documentada, como una prueba de la importancia de mantener condiciones de alta humedad durante el enraizamiento, algo difícil de lograr sin una infraestructura de vivero adecuada.

Cuadro 3. Producción de raíces y brotes en estacas de zarzaparrilla, 59 días después de la siembra

Tratamiento (ppm ANA)	Porcentaje con raíces	Porcentaje con brotes	Promedio de raíces (S)
0	35	10	4,5 (2,73)
500	37	8,3	3,7 (2,37)
1000	30	10	4,4 (2,75)
1500	30	5	3,8 (1,90)

En relación con la presencia de raíces, hasta los 59 días sólo las produjeron el 33% de las estacas, lo que parece indicar que el regulador de crecimiento no promovió el crecimiento radical. La diferencia en el porcentaje de enraizamiento con respecto al ensayo No 2 puede indicar el efecto de algún factor ajeno a los tratamientos.

Conclusiones

Las observaciones más importantes sobre el comportamiento de la zarzaparrilla que se desprenden de las prácticas de multiplicación evaluadas son:

- 1• Los tallos principales o de crecimiento primario son los más adecuados para obtener el material para reproducción por estacas.
- 2• Las estacas de dos nudos responden mejor que las de uno.
- 3• No queda claro el efecto de la presencia o ausencia de hojas en la respuesta de enraizamiento.
- 4• Se debe investigar más el uso de la auxina ANA para promover la producción de raíces en estacas de zarzaparrilla tanto en cuanto a dosis como a formas de aplicación, antes de emitir recomendaciones al respecto.
- 5• Las condiciones de humedad controlada y alta temperatura posiblemente constituyen un factor de suma importancia en el enraizamiento de estacas de zarzaparrilla.

Bibliografía

- Ammour, T.; Ocampo, R.; Robles, G. 1994. Caracterización de los sectores asociados a la producción, comercialización y transformación de plantas medicinales en Costa Rica. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 16 p.
- Andreatta, R.H.P.; Pereira, T.S. 1990. Morfología das plantulas de algumas especies de *Smilax* L. Pesquisas Botanica 0(41): 7-24.
- Bross, E.L. 1988. Investigation of sarsaparilla and cuculmeca, *Smilax* spp., for use as nontraditional crops in the forest reserve of the central volcanic range. Manuscript. ACM Spring, San José, Costa Rica. 31 p.
- Chavarría P.J. 1987. Efecto de los grados de inclinación y el número de nudos sobre el enraizamiento de estacas de Zarzaparrilla, *Smilax* sp. Instituto Tecnológico de Costa Rica, Departamento de Agronomía, Santa Clara, San Carlos, Costa Rica. Mimeografiado. 64 p.
- Conran, J.G. 1986. *Smilax*. Australian Plants 13(106): 275.

- Conran, J.G. 1988. The reproductive and vegetative phenology of some southeast Queensland rainforest monocotyledons. *Proc. R. Soc. Queens L.*, 99(0): 35-44.
- Gupta, M.P. (Ed.). 1995. 270 Plantas medicinales iberoamericanas. CYTED-SECAB. Talleres de Editorial Presencia Ltda., Bogotá, Colombia.
- Hartmann, H.T.; Kester, D.E. 1972. Propagación de plantas: principios y prácticas. Edición Revolucionaria, Instituto Cubano del Libro.
- Ishioka, N.; Tanimoto, S. 1992. Plant propagation through cultures of stem segments in *Smilax riparia*. *Bulletin of the Faculty of Agriculture Saga University (Japan)*. 72: 77-81.
- Jha, S. ; Gupta, J.S.; Sen, S. 1987. Tissue culture of *Smilax zeylanica* L. *Acta Horticulturae*, No 208: 273-279.
- Kawamura, H. 1992. Mass propagation of *Smilax oldhami* Miq. [Liliaceae] by tissue culture, 2: Effects of sucrose concentrations on the formation of adventitious shoot and root. *Tokushima Agricultural Experiment Station Reports (Japan)*, 28: 30-34.
- Kawamura, H.; Kuroda, S. 1990. Mass propagation of *Smilax oldhami*, Miq. [Liliaceae] by tissue culture, 1: Formation of adventitious shoot from winter bud. *Tokushima Agricultural Experiment Station Reports (Japan)*, 27: 39-43.
- Mongkhon, R. 1989. Effect of auxins and cytokinins on tissue culture of *Smilax corbularia* Kunth. Srinakharinwirot University Prasarnmit Campus, Bangkok (Thailand). *Srinakharinwirot University Research Report*. pp. 51-56.
- Ocampo, R.A. 1986. Zarzaparrilla. *In* Cultivo y utilización de las plantas medicinales en Costa Rica. Colegio de Ingenieros Agrónomos, Conferencias, 19-20 junio 1986.
- Palma, T.; Hidalgo, N. 1995. Biotecnología: elemento importante en la domesticación de plantas medicinales. *In* Ocampo, R. Ed. Domesticación de plantas medicinales en Centroamérica. Actas de la reunión técnica centroamericana, 30 mayo - 3 junio 1994, CATIE, Turrialba, Costa Rica. CATIE-CYTED-OPS/OMS-OEA. p. 99-107.
- Pogge, F.L.; Bearce, B.C. 1989. Germinating common and cat greenbrier. *Tree Planter's Notes*, 40(1): 34-37.

Pogge, F.L.; Gill, J.D.; Bearce, B. C. 1974. Rooting common and cat greenbrier. Research Note NE-189. Upper Darby, PA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Northeastern Forest Experiment Station. 6 p.

Schmocker, B. 1992. Sin título. Proyecto Conservación para el Desarrollo Sostenible en América Central. Turrialba, Costa Rica, CATIE. Mimeografiado.

Sprenger, A. 1993. Sin título (notas de campo abril-diciembre 1993). Proyecto Conservación para el Desarrollo Sostenible en América Central. Turrialba, Costa Rica, CATIE. Mimeografiado.

Micropropagación de plantas medicinales para la industria

Roberto Enciso¹

El uso de plantas medicinales como materia prima de la industria se enfrenta actualmente a una problemática marcada por factores como disminución de la disponibilidad por el aumento de la demanda, heterogeneidad y peligro de sobreexplotación. La propagación y el cultivo inciden favorablemente sobre la conservación, al disminuir la presión extractiva sobre el medio ambiente y ofrecer materia prima de calidad en cantidades controlables. En la actualidad se depende básicamente de la colecta de plantas silvestres para cubrir la demanda; las poblaciones silvestres disminuyen por la falta de regeneración y se ven amenazadas por la deforestación, la desertificación, la contaminación y el crecimiento urbano. El cultivo permite contar con materia prima para la industria, la fitoterapia y la medicina tradicional.

El cultivo *in vitro* es un conjunto de técnicas que permiten manipular células, tejidos y órganos vegetales y mantenerlos en un medio artificial, lo que brinda la posibilidad de dirigir su crecimiento y desarrollo. Esta forma de cultivo tiene vastas aplicaciones: desde los estudios genéticos, fisiológicos y bioquímicos hasta la selección de plantas, la micropropagación y la producción de metabolitos secundarios. El cultivo *in vitro* puede ser un medio para obtener y propagar plantas útiles para sectores relacionados con la producción vegetal, como la agricultura y la industria de extractos vegetales para alimentos, medicinas y cosméticos.

Los primeros intentos de cultivo *in vitro* los realizó Haberlandt, quien en 1902, mantuvo fragmentos de plantas en un medio artificial. Nobecourt, Gautheret y White, en forma independiente, lograron el cultivo de tejidos vegetales en 1937. Desde entonces, la técnica se ha desarrollado y perfeccionado hasta contar, en la actualidad, con múltiples líneas de investigación y aplicaciones.

Micropropagación

La micropropagación de plantas medicinales se aplica a la producción de materias primas para la industria farmacéutica y a la conservación de las especies. Es útil cuando los métodos convencionales de multiplicación toman mucho tiempo, cuando las plantas producen pocos frutos, las semillas tienen un bajo índice de germinación, o cuando es necesario conservar especies sobreexplotadas (Bajaj *et al.* 1988).

¹ Laboratorios MIXIN, México

La micropropagación es la propagación clonal *in vitro* a partir de meristemos apicales, axilares, nodales o adventicios, con una proliferación rápida de los nuevos brotes durante los subcultivos. También se define como una propagación conforme de un genotipo seleccionado usando las técnicas del cultivo *in vitro* (Debergh y Read 1991). Según Bajaj et al. (1988) hay dos formas de micropropagación:

- 1• La formación directa de plantas por meristemos o por embriones; este es un método útil para la multiplicación de plantas idénticas con características escogidas.
- 2• La formación indirecta a través de la diferenciación de un callo (tejido indiferenciado), con la formación de embriones somáticos con un elevado rendimiento por gramo de callo; estos embriones pueden usarse para la producción de semillas artificiales o para desarrollar plántulas *in vitro*.

Para obtener cultivos de meristemos, se corta un ápice u otro tipo de meristemo y se coloca en un medio de cultivo con alguna citocinina que induzca la ramificación axilar. Los brotes axilares se separan y se pueden obtener plantas completas si se induce la formación de raíces en un medio con auxinas o libre de hormonas. Después, se necesita una etapa de adaptación: la formación de una cutícula capaz de reducir la transpiración, el cambio de un crecimiento heterotrófico a uno autotrófico y el desarrollo de raíces funcionales para que las plantas puedan ser cultivadas normalmente en el campo (Giles y Morgan 1987). Por lo general, la técnica consta de cinco etapas aunque pueden ser menos según el procedimiento utilizado.

- Etapa 0: preparación del material seleccionado para la propagación, el que puede ser cultivado en condiciones controladas de invernadero para asegurar un buen estado sanitario que favorezca el inicio del cultivo *in vitro*.
- Etapa 1: establecimiento de un fragmento de planta viable y axénico; puede ser un meristemo u otra parte como tallos, pecíolos, hojas o raíces.
- Etapa 2: proliferación de los brotes.
- Etapa 3: enraizamiento para obtener plántulas completas.
- Etapa 4: establecimiento de las plántulas en condiciones de invernadero.

Aplicaciones y ventajas de la micropropagación

- 1• **Previene la variación de la reproducción sexual.** Evita algunos problemas propios de los métodos convencionales, como la variación de caracteres agronómicos en la multiplicación de semillas.
- 2• **Favorece una rápida multiplicación vegetativa.** Los nuevos brotes se obtienen con más rapidez en el laboratorio que en el vivero. En un ciclo de cultivo de cuatro semanas en promedio, puede obtenerse lo que en un vivero se obtiene en un año. Es un método de multiplicación vegetativa más rápido que los métodos convencionales.

- 3• **Permite la multiplicación de un carácter especial.** Se puede multiplicar directamente cierto carácter fenotípico, lo que acorta el tiempo de introducción de una nueva variedad (Giles y Morgan 1987). En la producción de plantas medicinales es muy importante contar con plantas seleccionadas por el contenido de principios activos. En esta forma se cosecha materia prima de características fitoquímicas definidas en lo cualitativo y cuantitativo.
- 4• **Facilita la disponibilidad permanente.** El material propagativo puede obtenerse en cualquier momento del año si se tiene un programa de la cantidad y el período en el que se van a necesitar las plantas.
- 5• **Es una herramienta muy útil en los programas de fitomejoramiento y aumento de la variabilidad.** La micropropagación puede inducir los cambios conocidos como variación somaclonal. Esta es una variación fenotípica de origen genético o epigenético que se presenta en la clonación de una planta, a través del cultivo de células somáticas.
- 6• **Permite introducir nuevos genes.** Las células en cultivo pueden ser modificadas genéticamente por diversos métodos, como fusión de protoplastos, uso de plásmidos, bombardeo molecular, radiación o agentes químicos mutagénicos. Las células modificadas se pueden cultivar y regenerar en una planta entera.
- 7• **Permite obtener plantas de genotipos seleccionados o modificados.** Es posible multiplicar plantas seleccionadas; por ejemplo, plantas resistentes a insectos, a hongos y bacterias, a la sequía o a la salinidad. En el caso de las plantas medicinales es muy importante la multiplicación rápida de híbridos seleccionados que posean características mejoradas, como un mayor contenido de principios activos.
- 8• **Contribuye a la sanidad del cultivo.** Permite combinar la producción de plantas a gran escala con la eliminación de enfermedades, sobre todo en la producción de plantas libres de virus.
- 9• **Provee plantas uniformes.** La obtención de plantas uniformes tiene ventajas que inciden en la optimización del cultivo en el campo y en la producción de materias primas. Se pueden obtener plantas con desarrollo uniforme que faciliten las labores del campo; por ejemplo, plantas con desarrollo y madurez homogéneos.

Hay dificultades para utilizar el método en gran escala, como un descenso en el factor de multiplicación, la contaminación por hongos y bacterias o la inducción de cierto grado de variación (Schumacher 1991). Además, la clonación de plantas puede hacer que la población de individuos similares resulte vulnerable de manera uniforme a efectos adversos del medio ambiente, a enfermedades o a ataques de parásitos. Sin embargo, esto puede contrarrestarse si se mantiene cierto grado de variabilidad natural, usando varios clones o por medio de la variación somaclonal. En la práctica, el paso por una forma de tejido indiferenciado, como los callos o por embriogénesis somática, induce a cierta variabilidad que de manera controlada puede ser positiva para el manejo de un cultivo en particular (Schumacher 1991).

Conclusiones

El cultivo *in vitro* tiene una aplicación importante en la micropropagación de plantas medicinales. Las principales ventajas que ofrece son: la conservación de especies sobreexplotadas, la selección de plantas con características fitoquímicas definidas y la producción uniforme. El cultivo de plantas medicinales en el campo contribuye a la conservación de la flora silvestre y mejora el suministro de materias primas.

Bibliografía

- Bajaj, Y.P.S.; Furmanowa, M.; Olszowska, O. 1988. Biotechnology of the Micropropagation of Medicinal and Aromatic Plants. *In* Biotechnology in Agriculture and Forestry. Vol. 4, Medicinal and Aromatic Plants I, Y.P.S. Bajaj, Ed. Berlin, Springer Verlag. p. 60-103.
- Debergh, P.C.; Read, P.E. 1991. Micropropagation. *In* Micropropagation. P.C. Debergh y R.H. Zimmerman, Eds. Netherlands, Kluwer Acad. Pub. 1-13.
- Giles, K.L.; Morgan, W.M. 1987. Industrial-scale micropropagation. *Trends in Biotechnology* 5:35-39.
- Schumacher, H.M. 1991. Biotechnology in the Production and Conservation of Medicinal Plants. *In* The Conservation of Medicinal Plants, O. Akerele et al., eds. New York, Cambridge University Press. p. 179-198.

Propagación de *Smilax aristolochiaefolia* y *S. moranensis* por técnicas de cultivo de tejidos

Domingo Amador Pérez¹

La zarzaparrilla es una planta arbustiva y trepadora, perteneciente a la clase monocotiledónea, de la familia Smilacaceae, género *Smilax* (Calderón y Rzedowski 1994). Hay evidencias de que la planta era utilizada con fines medicinales por los indígenas de la región mesoamericana desde la época prehispánica (Monardes 1990). Por sus propiedades antirreumáticas, antisépticas y antipruríticas fue incluida en la farmacopea británica en 1864 (Trease y Evans 1988) y en la de los Estados Unidos en 1942 (Rafatullah et al. 1991).

Las partes más utilizadas de la planta son los rizomas y raíces. Los principales usos registrados son: como tónico sanguíneo, para combatir la lepra y las enfermedades venéreas y para contrarrestar problemas hepáticos, obesidad, artritis, reumatismo, herpes y deficiencia renal. En la actualidad, la aplicación más importante es en la industria farmacéutica, donde se usa para facilitar la absorción de otros fármacos (Duke 1985, Rafatullah et al. 1991).

En la industria alimenticia se le utiliza como saborizante para almíbares y productos de confitería, como agente espumante en bebidas y como texturizante en postres derivados de la leche (Price et al. 1987). En México se utiliza en la preparación de la 'cerveza de raíz', una bebida refrescante sin alcohol.

Las propiedades bioactivas de la zarzaparrilla se atribuyen a su contenido de saponinas, que son glicósidos conformados por un núcleo esteroidal al que se unen diversos azúcares (Trease y Evans 1988, Tschesche et al. 1969).

Dado el uso que tiene la zarzaparrilla en la farmacología moderna y el hecho de que es un importante recurso de exportación en México y Centroamérica, se trató de estudiar su comportamiento en sistemas de cultivo *in vitro*, pues tradicionalmente para el aprovechamiento se recurre a la colección de especímenes silvestres. Se necesita generar información tecnológica sobre el cultivo, tanto para el estudio de sus compuestos activos como para el uso en la industria farmacéutica.

En este trabajo se presentan las respuestas de dos especies de zarzaparrilla a los sistemas de cultivo *in vitro*. Cabe destacar los resultados obtenidos con la formación de embriones somáticos previo a la regeneración de plantas, fenómeno que no se observa con frecuencia en plantas monocotiledóneas.

¹ Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos, Guatemala

Materiales y métodos

Material vegetal y condiciones de cultivo

En México se colectaron plantas de *Smilax moranensis* en bosques de montaña de tipo mesófilo en Pátzcuaro, Michoacán y especímenes de *Smilax aristolochiaefolia* en los bosques tropicales húmedos del estado de Veracruz. Los ejemplares colectados se tuvieron bajo condiciones de invernadero; la identificación fue confirmada por el Dr. Jerzy Rzedowski, experto en taxonomía de la flora mexicana y estudioso del género *Smilax*. Se depositaron ejemplares de las especies en el herbario del Instituto de Ecología A.C. de Pátzcuaro.

El medio basal utilizado en todos los experimentos fue la formulación descrita por Murashige y Skoog (1962), que en este trabajo se denominará MS. Para el estudio se utilizó la fórmula comercial distribuida por Sigma Chemical Co. (catálogo No M5519). El medio basal se complementó con 30 g.L⁻¹ de sacarosa y 3 g.L⁻¹ de Phytigel de Sigma Chemical Co. (catálogo No P8169) como agente gelificante. El pH del medio de cultivo se ajustó a 5,75 antes de agregar el agar; el medio se esterilizó en autoclave durante 20 minutos a 1 kg.cm⁻².

Establecimiento de cultivos in vitro

Los primeros cultivos *in vitro* de *S. moranensis* se establecieron a partir del cultivo de brotes apicales de las plantas mantenidas en el invernadero. Pero para establecer los primeros cultivos de *S. aristolochiaefolia* se debieron extraer los embriones cigóticos maduros; como las semillas son muy duras, se partieron con ayuda de un martillo.

Certificación histológica de las estructuras embriogénicas

Para asegurar que se estaban obteniendo embriones somáticos, se aplicó un procedimiento de fijación, deshidratación, imbibición, corte y tinción de los tejidos.

Una vez obtenidos los cultivos *in vitro* de inicio con suficiente cantidad de material biológico, se procedió a cultivar tejidos de hoja con pecíolo, aplicando al medio MS diferentes niveles de ácido naftalenacético (ANA), consistentes en 0,1; 0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 7,0; 10,0 mg.L⁻¹ y bencilaminopurina (BAP) de 0,5; 1,0; 3,0 mg.L⁻¹. Los explantes se cultivaron en recipientes de vidrio de 100 mL de capacidad, con 20 mL del medio de cultivo. Se utilizaron 12 réplicas por explante. Los cultivos se mantuvieron en la oscuridad durante 14 semanas y luego se colocaron en el cuarto de crecimiento.

Crecimiento y desarrollo de las plántulas

Con la finalidad de inducir un mayor crecimiento de raíces para que las plantas resintieran lo menos posible el traslado a macetas, las plántulas regeneradas en los experimentos anteriores fueron subcultivadas en un medio líquido MS en diluciones de 50, 25 y 12% de la concentración original.

Con este sistema se obtuvieron plantas con follaje y raíz a las 24 semanas de cultivo, las que luego se transfirieron a macetas con tierra y se aclimataron paulatinamente en las condiciones semiestériles del cuarto de cultivo y el laboratorio.

Resultados y discusión

Inducción de callo

A las seis semanas de haber cultivado el tejido de hoja empezó a ser visible la inducción de callo alrededor del corte del pecíolo. También se observó formación de callo en forma esporádica sobre la lámina foliar. Todos los tratamientos generaron callo, pero los tratamientos con 0,5 – 5,0 mg.L-1 de ANA y 1,0 – 3,0 mg.L-1 de BAP mostraron más abundancia de tejido no diferenciado. En estos rangos se destacaron los tratamientos con 3,0/0,5; 3,0/1,0; 3,0/3,0 y 5,0/1,0 de ANA/BAP en mg.L-1, respectivamente (Cuadro 1). El tallo presentó consistencia compacta y una coloración entre blanco y café claro.

Presencia de masas de células embriogénicas

Entre 8 y 12 semanas después del inicio del cultivo, sin hacer ningún subcultivo, se detectó la formación de masas de células embriogénicas a partir del tejido calloso. Los datos del Cuadro 1 se registraron a las 15 semanas, cuando las estructuras eran abundantes y presentaban diferentes estados de desarrollo; incluso algunos embriones estaban regenerando plántulas. El total de masas embriogénicas observadas tuvo relación directa con el grado de formación de callo en los explantes. Los mejores tratamientos, con abundante presencia de masas embriogénicas, se derivaron de tejido de callo inducido con las combinaciones hormonales de 3,0/0,5; 3,0/1,0; 3,0/3,0 y 5,0/1,0 de ANA/BAP en mg.L-1, respectivamente. En la Fig. 1A se presenta una muestra típica de tejido embriogénico obtenido con el tratamiento de 3,0/0,5 ANA/BAP en mg.L-1 a las 12 semanas de cultivo.

El tejido que presentó este tipo de respuesta fue el de hoja con fragmento de pecíolo. El tejido de pecíolo ha sido muy útil para la obtención de embriones somáticos, sobre todo en umbelíferas.

Ammirato (1983) menciona que los tejidos de origen reproductivo, meristemático o de embrión cigótico son los más propensos a inducir crecimiento embriogénico. Esta hipótesis ha sido confirmada con los resultados obtenidos en coníferas (Attree y Fowke 1993).

Por otra parte, la auxina ANA junto con la citocinina BAP en el medio de cultivo indujeron callo y masas de células embriogénicas. Como regla general, Sondahl *et al.* (1985) sostienen que para la inducción de embriogénesis, las monocotiledóneas responden mejor a aplicaciones de 2,4-D solo, en el medio de inducción. No obstante, se ha demostrado como en el caso de la zarzaparrilla que las respuestas pueden variar incluso entre cultivares de una misma especie. Esto se debe a factores como el tipo de explante, el estado de desarrollo de la planta y el modo de herencia de la competencia embriogénica, que controlan la embriogénesis somática *in vitro* (Debeaujon y Branchard 1993).

Presencia de embriones somáticos

Dos semanas después de la formación de las masas embriogénicas a partir de callos se pudo observar la secuencia de eventos que resultaría en la aparición de las formas peculiares de la estructura del embrión somático: estado globular, de corazón y de torpedo.

La presencia de embriones somáticos en sus diferentes estadios, así como la regeneración de plantas, se observó en el medio inicial de cultivo; es decir, en el medio de inducción de callo. En otras monocotiledóneas, como *Cocos nucifera*, la obtención de embriones somáticos y la regeneración de plantas, requiere de medios y subcultivos especiales (Verdeil *et al.* 1994). En *Asparagus officinalis*, otra monocotiledónea de relación filogenética con la zarzaparrilla y también fuente de saponinas, para que se cumplan estos procesos se requieren, por lo menos, dos medios: uno de inducción y otro de desarrollo (Debreil y Julien 1994).

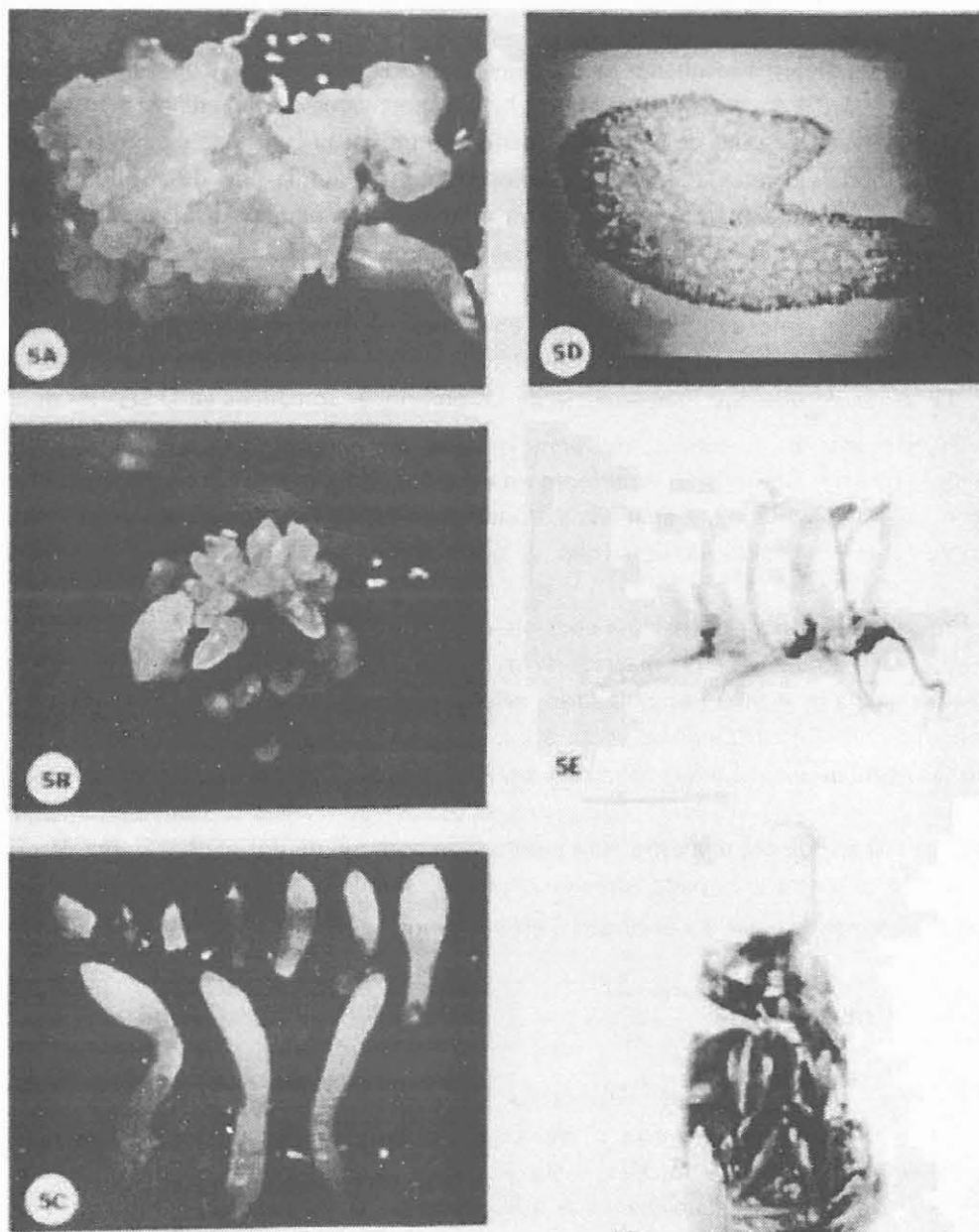


Fig 1. Secuencia de la regeneración de plantas de *Smilax* por embriogénesis somática en tejido de hoja de zarzaparrilla con pecíolo (*Smilax* spp.). (A) Tejido embriogénico a las 12 semanas de cultivo habiendo tratado el explante con 3.0 mg de ANA mas 0.5 mg de BAP. (B) Embriones en estado globular. (C). Embriones en diferentes estados de desarrollo. (D) Corte histológico de un embrión mostrando su orientación bipolar. (E). Plántulas de tres semanas de edad originadas de embriones somáticos. (F) Planta regenerada vía embriogénesis somática enraizada en medio líquido al 50% de su concentración original.

La presencia de embriones somáticos fue proporcional al grado de abundancia de tejido embriogénico. Los mejores resultados se obtuvieron en los tratamientos con combinaciones de 3,0/0,5; 3,0/3,0 y 5,0/1,0 de ANA/BAP en mg.L-1, respectivamente. Los datos del Cuadro 1 se registraron una semana después de haber trasladado los cultivos al cuarto de crecimiento para que los embriones morfológicamente maduros regeneraran en plántulas de desarrollo normal. En condiciones de oscuridad, algunos embriones ya estaban regenerando en plántulas, pero como era de esperar, estas presentaron las características de una planta etiolada.

En el ámbito de concentración hormonal en el que se observó respuesta, todos los callos presentaron masas embriogénicas, que dieron origen a embriones en cerca del 100% de los casos. En la Fig. 1B se puede observar la apariencia de los embriones somáticos en la fase de desarrollo inicial. En esta sección de tejido, que tiene un área de aproximadamente 4 mm² de masa embriogénica, se aprecian unos 20 embriones en estado globular. En este estado, los embriones presentaron coloración blanca y apariencia translúcida. En la Fig. 1C se observan embriones somáticos en diferentes estados de desarrollo: globoso, de corazón y de torpedo.

Estos resultados indican un sistema eficiente de embriogénesis somática en la zarzaparrilla; algo que no es fácil establecer en la mayoría de las plantas. Por ejemplo, Martins y Sondahl (1984) reportan la presencia de estructuras globulares, células embriogénicas y embriones somáticos muy escasos obtenidos en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), una planta recalcitrante en sistemas de cultivo *in vitro*; estas estructuras ni siquiera desarrollaron al ser transferidas a un medio sólido.

En la Fig. 1D se aprecia una estructura bipolar que comprende dos regiones: una da origen a la zona radicular y la otra, a la parte aérea de la planta. Puede verse la activa división celular en los domos meristemáticos que darán origen a esos órganos.

Regeneración de plántulas

Desde las 14 semanas después del cultivo, los explantes de hoja con pecíolo todavía en condiciones de oscuridad empezaron a regenerar los primeros embriones en plántulas. Las primeras estructuras generadas medían hasta 5 mm y presentaban apariencia etiolada. Los embriones originados en los tratamientos con 0,1/3,0 mg.L-1 de ANA más 0,5/3,0 mg.L-1 de BAP dieron origen a las primeras plántulas.

En la Cuadro 2 se registran los datos de las plántulas regeneradas a las 24 semanas del inicio del cultivo, en los tratamientos con mejor respuesta en cuanto a inducción de callo y presencia de embriones somáticos: 0,1-5,0 mg.L-1 de ANA y 0,5-3,0 mg.L-1 de BAP. Estos resultados se registraron para evaluar el potencial de regeneración en los tratamientos. Los datos se presentan en relación con el número de plantas regeneradas por explante.

Los tratamientos más eficientes en la regeneración de plántulas fueron las combinaciones hormonales de 0,1/0,5, 0,1/1,0 y 0,5/3,0 de ANA/BAP en mg.L-1 (Cuadro 2). Los tratamientos con dosis bajas de ANA presentaron mejor respuesta que aquellos con dosis altas. Las plántulas fueron vigorosas, pero reducidas en relación con el número visible de embriones en el tejido embriogénico, lo que indicaría que ese vigor pudo agotar los nutrimentos del medio e inhibir la regeneración del resto de los embriones.

Cabe destacar que por diferentes razones, en ningún momento se hicieron subcultivos. En primer lugar, no se disponía de información que sirviera de guía para la manipulación de los cultivos de zarzaparrilla en diferentes fases. En segundo lugar, al realizar las revisiones rutinarias, se observó que la secuencia de eventos para obtener plantas completas se estaba desarrollando en el mismo medio de cultivo. Por lo tanto, lo más prudente era no interferir en los cultivos hasta que se completara todo el proceso; es decir, hasta contar con plantas completas. Por último, como estos estudios *in vitro* eran iniciales para la zarzaparrilla, el objetivo principal no era determinar la eficiencia de la regeneración de plantas a partir de embriones somáticos.

Dado que los cultivos se mantuvieron en el mismo medio nutritivo, sin realizar subcultivos y debido a la competencia por nutrimentos, la tasa de plantas regeneradas (Cuadro 2) en relación con el número estimado de embriones visibles fue baja (Cuadro 1). En la Fig. 1E se pueden ver plántulas de tres semanas de edad con su estructura completa; es decir, con brote y raíz originadas de los embriones.

En la Fig.1F se aprecian las características de una planta cultivada en el MS líquido diluido al 50% de su concentración original. Las plantas regeneradas vía embriogénesis somática fueron sembradas en macetas y sometidas a aclimatación; la respuesta fue positiva, aunque lenta. Aparentemente, presentaron una morfología similar a la de los ejemplares de invernadero que sirvieron como fuente de explantes.

Conclusiones y perspectivas

Con la aplicación de diferentes dosis de ANA y BAP al medio de cultivo se obtuvieron diferentes respuestas de inducción de callo, embriones somáticos y regeneración de plantas en dos especies de zarzaparrilla. En el mismo medio de cultivo fue posible observar toda la secuencia de eventos. Estos resultados son los primeros reportados hasta la fecha para *Smilax* spp.

La inducción de callos y masas embriogénicas y la alta eficiencia en la formación de estructuras embriogénicas en la zarzaparrilla ofrece un modelo atractivo para estudios de transformación genética en monocotiledóneas. Las ventajas del proceso de obtención de embriogénesis somática pueden constituir un modelo que puede ser aprovechado para estudiar los eventos regulatorios y morfogenéticos en el proceso de embriogénesis de plantas. Por otra parte,

optimizar el sistema de obtención de estructuras embriogénicas en la zarzaparrilla por períodos prolongados y con almacenamiento a largo plazo, puede ser un modelo probable para estudios de tecnología de semilla sintética.

La zarzaparrilla es una planta que tiene una participación económica importante en la farmacología moderna, pero presenta la limitante de la propagación por métodos convencionales y el establecimiento de cultivos silvícolas a largo plazo. La semilla sintética puede constituir un sistema atractivo para los productores e industrializadores, pues facilita el aprovechamiento en gran escala.

Bibliografía

- Ammirato, P.V. 1983. Embryogenesis. *In Handbook of plant culture; techniques for propagation and breeding.* Evans DA, Sharp WR, Ammirato PV; Yamada Y., Eds. Londres, McMillan Publishers. p 82-123.
- Attree, S.M.; Fowke, L.C. 1993. Embriogeny of gymnosperms: advances in synthetic seed technology of conifers. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 35: 1-35.
- Calderón, G.; Rzedowski J.R. 1994. Familia Smilacaceae. *In Flora del Bajío y regiones adyacentes.* Fascículo 26. Rzedowski J y Calderón G., Eds. Instituto de Ecología, Centro Regional del Bajío, México.
- Debeaujon, I.; Branchard, M. 1993. Somatic Embryogenesis in Cucurbitaceae. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 34: 91-100.
- Debreil, B.; Julien, M. 1994. Evidence for *in vitro* induced mutation which improves somatic embryogenesis in *Asparagus officinalis* L. *Plant Cell Reports* 10: 230-234.
- Duke, J. 1985. *Handbook of medicinal herbs.* CRC Press, Boca Raton, Florida. pp 446.
- Martins, I.S.; Sondahl, M.R. 1984. Early stages of somatic embryo differentiation from callus cells of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in liquid medium. *Journal of Plant Physiology* 117:97-103.
- Monardes, N. 1990. Historia medicinal de las cosas que se traen de nuestras Indias Occidentales. Partes 1, 2 y 3. *In Herbolaria de Indias, historia natural del Nuevo Mundo.* Denot E. y Satanowsky N., eds. Instituto Mexicano del Seguro Social, México. pp 56-76.

- Murashige, T.; Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15:473-497.
- Price, K.R.; Johnson, I.T.; Fenwick, G.R. 1987. The chemistry and biological significance of saponins in foods and feedingstuffs. *CRC Critical reviews in food science and nutrition* 26:27-135.
- Rafatullah, S.; Mossa, J.S.; Ageel, A.M.; Al-yahya, M.A.; Tariq, M. 1991. Hepatoprotective and safety evaluation studies on sarsaparilla. *Journal of Farmacognosy* 29:296-301.
- Sondahl, M.R.; Nakamura, T.; Sharp, W.R. 1985. Propagation of coffee. *In Tissue Culture in Forestry and Agriculture*. E: Henke RR, Hughes KW, Constantin MJ y Hollaender A., Eds. Nueva York, Plenum Press. p 215-232.
- Trease, G.E.; Evans, W.CH. 1988. *Tratado de Farmacognosia*. México, Nueva Editorial Interamericana. p. 492-531; 688-691.
- Tschesche, R.; Lüdke, G.; Wulff, G. 1969. Sarsaparillosid, ein bisdesmosidisches 22-hidroxy-furostanol-saponin. *Chemische Berichte* 102:1253-1269.
- Verdeil, J.L.; Huet, C.; Grosdemange, F.; Buffard-Morel, J. 1994. Plant regeneration from cultured immature inflorescences of coconut (*Cocos nucifera* L.): evidence for somatic embryogenesis. *Plant Cell Reports* 13:218-221.

Micropropagación de la zarzaparrilla

Tomás Palma Zúñiga¹

La zarzaparrilla es un producto que ha estado presente en la farmacopea de grupos indígenas y poblaciones mestizas desde hace siglos; se sabe que ha sido comercializada en el mercado internacional desde el año 1685. Actualmente se usa sobre todo como medicina, en la fabricación de bebidas no alcohólicas y para la producción de varios productos farmacéuticos, incluyendo hormonas sintéticas. Desde el punto de vista de la mercadotecnia, se considera que la raíz y el rizoma de *Smilax* son productos que tienen diferenciación provechosa oculta; es decir, con una gran probabilidad de aceptación si se logra ponerlos a disposición del usuario (Gadea 1994).

Dado el interés tanto de las poblaciones locales como del sector comercial, la zarzaparrilla ha sido extraída del bosque hasta el punto que FAO (1994) la cataloga como un recurso genético altamente degradado en México y Centroamérica. Por esta razón, en Costa Rica hay mucho interés en domesticar la zarzaparrilla, de manera que se disponga de material para uso local y comercial, manteniendo la integridad de las poblaciones silvestres.

Se han realizado algunos estudios para propagar zarzaparrilla determinando la respuesta de estacas a las auxinas (Naranjo 1987, Pogge *et al.* 1974) o el grado de inclinación y la parte de la planta (Chavarría 1987). Sin embargo, mediante estos métodos se obtiene un número limitado de plantas. Para complementar esos esfuerzos, se ha considerado la micropropagación como un método con el cual se obtiene un gran número de plantas, capaz de suministrar material para un desarrollo sostenible. Kawamura (1992) y Kawamura y Kuroda (1990), citados por Dalle (1996), establecieron la metodología necesaria para micropropagar *Smilax oldhamii*, una especie del Japón. En 1995, en Costa Rica, Palma implementó una metodología de laboratorio con la que se obtuvieron plantas de *Smilax* sp. que fueron establecidas en el campo. Dalle (1996) menciona otros intentos por micropropagar algunas especies de *Smilax*.

En este trabajo se expone la metodología desarrollada en el Laboratorio de Biotecnología de Plantas Tropicales del Instituto Tecnológico de Costa Rica para la propagación masiva de *Smilax* sp.

Metodología

Las plantas utilizadas en el experimento se seleccionaron con base en su vigor y sanidad, en la Unidad de Recursos Genéticos del Departamento de Agronomía del Instituto Tecnológico de Costa Rica. Luego se trasladaron al laboratorio, donde se seccionaron en estacas con un solo nudo y se lavaron con agua y detergente líquido. Las estacas se seccionaron nuevamente en trozos de

¹ Laboratorio de Biotecnología de Plantas Tropicales, Instituto Tecnológico de Costa Rica

dos centímetros y se dejaron bajo agua corriente durante una hora con el fin de eliminar los fenoles solubles en agua. A continuación se sumergieron en una solución de Benomyl + agrymicin (sulfato de cobre y sulfato de estreptomina) durante 20 minutos, y después en una solución de cloruro de mercurio a razón de 0,15 g en 100 mL de agua, durante 15 minutos. Por último el material vegetativo se trasladó hasta la cámara de flujo laminar, donde se realizaron tres lavados con agua destilada estéril.

Los explantes sembrados consistieron en yemas de 3 a 5 mm de longitud, que se colocaron en un cuarto de crecimiento con un fotoperíodo de 16 horas luz, una temperatura de 27°C, una intensidad lumínica de 2000 lux y una humedad relativa del 80%.

Con el fin de promover la formación de brotes, las yemas axilares se cultivaron en un medio que contenía las sales de Murashige y Skoog (1962) (Cuadro 1) suplementado con 30 g.L⁻¹ de sacarosa, 100 mg.L⁻¹ de mio-inositol, 0,5 mg.L⁻¹ de ácido nicotínico y 0,5 g.L⁻¹ de piridoxina-HCl. El medio se solidificó con 1,7 g.L⁻¹ de phytigel SIGMA, después de ajustar el pH a 5,7. Se dispensaron 15 mL de medio de cultivo en tubos de ensayo de 25 cm de largo por 2,5 cm de diámetro. El medio de cultivo se suplementó con diferentes dosis de benciladenina (BA) y ácido naftalénacético (ANA).

Para promover la rizogénesis, los brotes obtenidos *in vitro* se sometieron a un estudio para determinar el medio de cultivo que mejor estimula el enraizamiento. El procedimiento utilizado fue el mismo que se usó para la formación de brotes. Los tratamientos consistieron en diferentes dosis de ácido indolbutírico (AIB) y ácido indolacético (AIA).

Una vez que los brotes desarrollaron raíces y alcanzaron una longitud de 15 cm, se trasladaron al invernadero, donde se controló la sombra y se aplicó riego nebulizado durante 5 segundos, cada 10 minutos.

Las yemas de zarzaparrilla que mostraron respuesta en el ensayo de proliferación de brotes se procesaron para microscopía electrónica de rastreo. Las variables evaluadas fueron porcentaje de supervivencia, número y longitud de brotes.

Para estudiar el medio de cultivo que promovió el mayor número de brotes, así como el que permitió el mayor desarrollo de raíces, se utilizó un diseño completamente aleatorio con seis tratamientos y cuatro repeticiones. Cada unidad experimental estuvo integrada por diez tubos de ensayo.

Resultados y discusión

La metodología utilizada para la desinfección de los explantes permitió el establecimiento aséptico de las yemas nodales de zarzaparrilla en forma satisfactoria y una semana después de la

siembra se cuantificaron valores de supervivencia del 92,5 al 100 %. En la última evaluación, realizada a los 120 días de la siembra, los valores de sobrevivencia registrados fueron de 81-95%. Uno de los factores fundamentales para la supervivencia fue la contaminación por bacterias endógenas que se presentó a partir de los dos meses de la siembra. Hidalgo (1993) e Hidalgo y Palma (1991) encontraron que las bacterias endógenas están presentes en microestacas de *Psychotria ipecacuanha* y se manifiestan en el segundo y tercer subcultivo; el explante empleado en el ensayo de *Psychotria* fue similar al utilizado en el presente estudio y ambas plantas se desarrollaron en las mismas condiciones de campo.

En menor grado se presentó oxidación de los explantes, lo que obedece a las enzimas polifenoloxidasas y tirosinasas que se liberan o sintetizan en los tejidos en los que se practica alguna herida. La acción enzimática sobre los polifenoles y la tirosina provoca su oxidación y produce quinonas fitotóxicas, que a su vez pueden polimerizarse y afectar las proteínas (Jalal 1977).

Número y longitud de brotes

El análisis de varianza practicado para determinar el medio de cultivo en el cual se promueve mayor número de brotes de zarzaparrilla resultó en diferencias altamente significativas entre las evaluaciones realizadas. A los 90 y 100 días de la siembra, los medios de cultivo suplementados con 1 mg.L-1 de BA y 3 mg.L-1 de BA más 1 mg.L-1 de ANA fueron los que permitieron un mayor número de brotes según la prueba de Duncan (Cuadro 1). A partir de los 110 días, el medio de cultivo suplementado con 1 mg.L-1 de ANA y 3 mg.L-1 de BA fue el que promovió el mayor número de brotes. La importancia de las citocininas (como la benziladenina) como factor que promueve la formación de brotes está bien documentada (Murashige 1974).

A pesar de que el mayor número de brotes cuantificados fue de 7,5 el desarrollo posterior de algunos de los explantes mostró la formación de múltiples estructuras que diferenciaron en brotes. Los brotes desarrollados se separaron de la masa de células, la que fue subcultivada en un medio fresco con la misma composición para permitir la diferenciación y el desarrollo de nuevos brotes.

El análisis de varianza para la longitud de brotes mostró diferencias significativas a partir de los 90 días después de la siembra. Los tratamientos que mostraron mayor longitud de brotes fueron los suplementados con 3 mg.L-1 de BA más 1 mg.L-1 de ANA y el correspondiente a 3 mg.L-1 de BA. A pesar de que los componentes del medio de cultivo buscaban promover el número de brotes y no la longitud, los tratamientos con dosis mayores de citocininas resultaron los mejores para esta variable. Probablemente al promover en forma previa los brotes, estos adquirieron una mayor longitud en comparación con los tratamientos con bajas cantidades de reguladores del crecimiento que promovieron la formación tardía de brotes.

Cuadro 1. Supervivencia y producción de brotes en yemas de zarzaparrilla como respuesta a diferentes dosis de auxinas en dos edades después de la siembra.

Tratamiento mg.L-1		Supervivencia%		Número de brotes		Longitud de brotes mm	
BA	ANA	80 días	120 días	80 días	120 días	80 días	120 días
2	0	97,50	82,50 a	0,75 ab	2,25 bc	8,75	18,50 b
1	0	100,00	87,50 b	1,00 ab	3,75 b	14,00	23,00 b
0	0	95,00	87,50 b	1,00 a	1,75 c	10,25	17,50 b
3	1	100,00	95,00 a	2,50 a	7,50 a	17,00	31,75 a
3	0	95,00	87,50 b	1,50 ab	3,00 bc	13,00	25,00 ab
4	1	92,50	81,25 b	1,50 ab	1,75 c	13,00	21,75 b

Prueba Duncan: los valores promedios con la misma letra no difieren estadísticamente (P 0,05)

Número y longitud de raíces

El análisis de varianza del número de raíces mostró diferencias altamente significativas como respuesta a los diferentes medios de cultivo a partir de los 90 días. El tratamiento que contenía el 50% de las sales MS suplementado con 3 mg.L-1 de AIB fue el que promovió el mayor número de raíces. Este estudio pone de manifiesto la necesidad de suplementar el medio de cultivo con auxinas para promover el enraizamiento, ya que el medio carente de ellas no desarrolló ninguna raíz (Cuadro 2).

Al realizar el análisis de varianza para determinar el efecto de los medios de cultivo sobre la longitud de las raíces se detectaron diferencias altamente significativas. El tratamiento que promovió mayor longitud de raíces fue el que contenía 50% de sales MS, suplementado con 3 mg.L-1 de AIB; la respuesta se mantuvo constante durante todo el estudio. Estos resultados obedecen a que los componentes del medio de cultivo permitieron una regeneración temprana en relación con los demás tratamientos, y como consecuencia, una mayor longitud.

En cuanto a la longitud de brotes, el análisis de varianza no indicó diferencias significativas cuando se evaluó el efecto de los medios de cultivo. Es importante destacar que los componentes del medio se adicionaron con el fin de promover la rizogénesis y no de estimular la longitud de brotes.

Cuadro 2. Producción de raíces y de brotes promedio en brotes de zarzaparrilla regenerados *in vitro*, como respuesta a diferentes dosis de ácido naftalenacético y ácido indolbutírico en dos momentos después de la siembra

Tratamiento mg.L-1		Número de raíces		Longitud de raíces		Longitud de brotes mm	
AIB	AIA	60 días	100 días	60 días	100 días	60 días	100 días
3*	0	2,75 a	3,25 b	18,00 b	31,25 a	17,50	30,00 a
3**	0	2,75 a	6,00 a	29,50 b	42,00 a	20,50	32,25 a
0	3**	0,25 b	0,75 bc	2,50 c	9,50 bc	27,50	32,50 a
0	3*	0,50 b	0,75 bc	6,25 c	5,50 b	18,75	39,25 a
0	0*	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,00 b	19,75	29,25 a
0	0**	0,25 b	0,75 bc	0,00 c	8,75 b	21,25	36,25 a

* Con 100% de sales MS

** Con 50% de sales MS

*** Prueba Duncan: los valores promedios con la misma letra no difieren estadísticamente (P 0,05)

Aclimatación y traslado al campo

Cuando los brotes desarrollaron raíces y alcanzaron una longitud de 10 cm, se trasladaron a un área sombreada con sarán (60% de sombra) y se sembraron en un sustrato de tierra-arena en proporción de 3:1. Se aplicó riego nebulizado de 5 segundos cada 10 minutos. Cuando las plantas alcanzaron una longitud aproximada de 15 cm (30 días después de la siembra) se trasladaron a una plantación de *Erythrina poeppigiana* que funcionó como tutor. La respuesta de las plántulas al transplante aparece en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Respuesta al transplante al campo de plantas de zarzaparrilla producidas *in vitro*

Semana	Altura de planta cm	Número de hojas	Número de nudos
1	19,4	11,69	4,92
2	21,38	12,07	5,40
3	24,77	12,71	5,70
4	27,07	13,23	5,90
5	28,78	14,30	6,15
6	30,78	15,62	6,32
7	32,60	16,83	7,64
8	35,60	18,25	8,43
9	39,89	19,13	8,97
10	45,36	20,33	9,21
11	48,40	21,20	10,40
12	53,20	22,30	11,30

Conclusiones

1. El establecimiento aséptico del explante de zarzaparrilla tuvo éxito cuando se utilizó Benomyl más sulfato de estreptomycin y sulfato de cobre, seguido de la inmersión en una solución de cloruro de mercurio (0,15 g/100 mL de agua durante 15 minutos).
2. La mayor proliferación de brotes se obtuvo cuando las sales MS se suplementaron con 3 mg.L-1 de BA y 1 mg.L-1 de ANA.
3. La rizogénesis *in vitro* fue posible cuando se suplementó el medio de cultivo que contenía las sales MS al 50 % con 3 mg.L-1 de AIB.
4. Las plantas se aclimataron exitosamente cuando se sembraron en un sustrato de tierra-arena en proporción 3:1 y se colocaron en un área con 60% de sombra y riego nebulizado de 5 segundos cada 10 minutos.
5. Las plantas de zarzaparrilla instaladas en el campo mostraron una excelente adaptación.

Bibliografía

- Chavarría, P. 1987. Efecto de los grados de inclinación y el número de nudos sobre el enraizamiento de estacas de zarzaparrilla *Smilax* sp. Práctica de Especialidad, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Departamento de Agronomía. Santa Clara, San Carlos. 64 p.
- Dalle, S. 1996. Literature review of the genus *Smilax* (Smilacaceae). Turrialba, Costa Rica, CATIE. 23 p.
- Duke, J.A.; Duceillier, J.L. 1993. CRC Handbook of alternative Cash Crops. CRC Pres Inc. 416 p.
- FAO. 1994. Conservation and sustainable utilization of the plant resources of Mexico and Central America: as part of the preparatory process for the Fourth International Technical Conference on Plant Genetic Resources (4, 1996, Leipzig, Germany). Rome. consultado 17 julio 1996. Disponible en <http://web.icppgr.fao.org/srm/srm-SYN/mex/2.html>.
- Gadea, A. 1994. Estrategia para la comercialización de la zarzaparrilla (*Smilax* sp.) Caso CoopeSanJuan. Tesis Mg. Adm. Empresas. Instituto Tecnológico de Costa Rica. 60 p.
- Hidalgo, D. N. 1993. Cultivo *in vitro* de la raicilla (*Psychotri ipecacuanha*). Tesis Mg.Sc. Universidad de Costa Rica. 79 p.

- Hidalgo, N.T.; Palma, Z. 1991. Cultivo *in vitro* de la raicilla (*Psychotri ipecacuanha*). Informe final. Vicerrectoría de Investigación y Extensión. Instituto Tecnológico de Costa Rica. 60 p.
- Jalal, M.A.F.; Colling, H.A. 1977. Polyphenols of mature plant seedling and tissue cultures of *Theobroma cacao*. *Phytochemistry*(GB).16:1377-1380.
- Murashige, T; Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and a bioessay with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* (Dinamarca). 15:437-497
- Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue culture. *Annual Review of plant Physiology* (EEUU). 23:136-166.
- Naranjo, P. 1987. Efecto de la auxina sobre el enraizamiento y rebrote de estacas de zarzaparrilla (*Smilax* sp.) Práctica de Especialidad. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Santa Clara, San Carlos. 42 p.
- Palma, T. 1995. Micropropagación de zarzaparrilla (*Smilax* spp.). Vicerrectoría de Investigación y Extensión. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Santa Clara, San Carlos. 41 p.
- Pogge, F.L.; Gill, J.D.; Bearce, B. C. 1974. Rooting common and cat greenbrier. Research Note NE-189. Upper Darby, PA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Northeastern Forest Experiment Station. 6 p.

Química

Química

Fitoquímica y actividad biológica del género *Smilax* en Mesoamérica

Gerardo Alberto Mora¹

Con excepción de *Luzuriaga* en Perú, *Smilax* es según Huft (1994) el único género de la familia Smilacaceae (anteriormente Liliaceae) presente en el Neotrópico. El mismo Huft indica que tanto la naturaleza dioica de estas plantas, como la escasez de colectas en flor hace que el género sea particularmente difícil. Esta situación se agrava al considerar que algunos de los caracteres utilizados en la clasificación se han probado inútiles. Huft apunta que diez especies han sido colocadas en sinonimia y que cuatro pares de especies afines (*S. spinosa* y *S. luculenta*; *S. kunthii* y *S. chiapensis*; *S. aristolochiifolia* (sic.) y *S. ornata*; *S. vanilliodora* y *S. chiriquensis*) podrían (deberían, según el autor) ser reducidas con un estudio más detallado.

Morton (1981) incluye cinco especies que son utilizadas con fines medicinales en la región mesoamericana; como se indica entre paréntesis, cuatro de ellas son conocidas como zarzaparrilla: *Smilax domingensis* Willd. (alcacatza, bejuco chino, bejuco de membrillo, chiquihuite, corona de Cristo, dunguey, dunguez blanco, raíz de china, tietie, zarza, zarzaparrilla de la tierra); *Smilax havanensis* Jacq. (bejuco chino, bejuco de ñame, chaney-vine, chaney-winder, chaney-wine, china briar, ñame cimarrón, prickly greenbrier, saw brier); *Smilax mexicana* Griseb. (bejuco de chiquihuite, bejuco de corona, bejuco diente de perro, coceeh, coceh, espuela de gallo, xcoceh, xcocehak, xcoche, zarza, zarzaparrilla, zarzón); *Smilax papyracea* Poir. (boyau diable, boyau du diable, chinese smilax, esquine, fausse squine, raíz china, salsaparilha de maranhao, salse pareille, sarsaparilla); *Smilax regelii* Killip & Morton (*S. ornata* Hook. f.) (bejuco de corona, brown sarsaparilla, Honduras sarsaparilla, Jamaica sarsaparilla, zarzaparrilla).

Evans (1989) hace mención de cuatro especies de *Smilax* conocidas como zarzaparrilla: *S. aristolochiaefolia* (sic.), o zarzaparrilla mexicana (veracruz o gris), que crece en el sur de México, Guatemala y Belice; *S. regelii*, o zarzaparrilla de Honduras (café), que crece en Guatemala, Belice y Honduras y es cultivada en Jamaica; *S. febrifuga*, o zarzaparrilla peruana o ecuatoriana (de Guayaquil); y la centroamericana (de Costa Rica o Jamaica), que se señala como indeterminada. Nótese que únicamente *S. regelii* coincide con las mencionadas por Morton. Stahl y Schild (1981) describen el estudio en cromatografía en capa fina de *S. regelii* Killip et Morton (sin. *S. utilis* Hemsley) y de *S. aristolochiaefolia* Miller, identificadas ambas como zarzaparrilla, e indican un contenido de 2-4% de saponinas que, en el estudio de cromatografía de capa fina [gel de sílice F254; n-BuOH/HOAc/H₂O (40:10:50)], es evidente que no es idéntico para las dos variedades.

¹ Centro de Investigaciones en Productos Naturales (CIPRONA), Universidad de Costa Rica

Según Reynolds (1996), 'sarsaparilla' es la raíz o el rizoma de varias especies de *Smilax*, salvo en el caso de las farmacopeas china y japonesa, que especifican que debe ser *S. glabra*.

A pesar de que como lo indica Evans (1989), la zarzaparrilla gozó de cierta reputación en el tratamiento de la sífilis, el reumatismo y ciertas enfermedades de la piel, su uso principal es como vehículo o coadyuvante en preparaciones farmacéuticas y bebidas no alcohólicas; las geninas se utilizan en la síntesis parcial de cortisona y otros esteroides. Desde este último punto de vista, el interés comercial y las posibilidades de aprovechamiento industrial radican en su contenido de saponinas esteroidales y en la liberación de las correspondientes geninas para su uso en semisíntesis. Por lo tanto, su estudio fitoquímico debe apuntar, preferentemente, hacia la determinación de este tipo de compuestos. Por supuesto, no se debe menospreciar la presencia de otros componentes que podrían ser aprovechados en procesos de escala industrial, incluyendo la celulosa misma, o que podrían ser responsables de alguna de las acciones que se le atribuyen, o que se han comprobado experimentalmente en plantas del género *Smilax*.

Desde este punto de vista, es muy importante hacer un análisis de la información obtenida de NAPRALERT² para este género que incluye un total de 54 especies, como se detallan a continuación. Las letras entre paréntesis indican el tipo de información incluida: E = etnomédica; B = biológica; Q = química y P = prospección fitoquímica.

<i>Smilax anceps</i> (E, P)	<i>Smilax herbacea</i> (E, P)	<i>Smilax officinalis</i> (E, B, Q)
<i>Smilax aritolochiaefolia</i> (E, B, Q)	<i>Smilax hispida</i> (Q)	<i>Smilax ornata</i> (E, B, P)
<i>Smilax aspera</i> (E, B, Q, P)	<i>Smilax indica</i> (E)	<i>Smilax ovalifolia</i> (E, B)
<i>Smilax balbisiana</i> (E)	<i>Smilax japicanga</i> (E, P)	<i>Smilax ovato-lanceolata</i> (E)
<i>Smilax blumei</i> (P)	<i>Smilax kraussiana</i> (E)	<i>Smilax perfoliata</i> (E, P)
<i>Smilax bracteata</i> (E)	<i>Smilax lanceaefolia</i> (Q)	<i>Smilax poliacantha</i> (P)
<i>Smilax calophylla</i> (E)	<i>Smilax lanceolata</i> (E, B)	<i>Smilax prolifera</i> (E, B)
<i>Smilax campestris</i> (E, P)	<i>Smilax laurifolia</i> (B)	<i>Smilax regelii</i> (E, B, Q)
<i>Smilax canariensis</i> (E)	<i>Smilax lebrunii</i> (E, Q)	<i>Smilax riparia</i> (B, Q)
<i>Smilax china</i> (E, B, Q, P)	<i>Smilax leucophylla</i> (E, P)	<i>Smilax rotundifolia</i> (B, Q)
<i>Smilax chinensis</i> (E)	<i>Smilax lundellii</i> (E, B)	<i>Smilax sarsaparilla</i> (?) (B)
<i>Smilax corbularia</i> (E, B, Q)	<i>Smilax macrophylla</i> (E, B, Q)	<i>Smilax siamensis</i> (E)
<i>Smilax coriacea</i> (E)	<i>Smilax medica</i> (B, Q, P)	<i>Smilax sieboldii</i> (E, B, Q)
<i>Smilax excelsa</i> (Q)	<i>Smilax menispermoidea</i> (E, B, Q)	<i>Smilax spinosa</i> (E, B)
<i>Smilax glabra</i> (E, B, Q)	<i>Smilax mollis</i> (E)	<i>Smilax tamnoides</i> (B)
<i>Smilax glaucophylla</i> (B, Q)	<i>Smilax myosotiflora</i> (E)	<i>Smilax utilis</i> (E)
<i>Smilax glycyphylla</i> (Q)	<i>Smilax nigrescens</i> (Q)	<i>Smilax wightii</i> (B)
<i>Smilax havanensis</i> (E, B)	<i>Smilax nipponica</i> (E, Q)	<i>Smilax zeylanica</i> (E, B, Q, P)

²N. R. Farnsworth (Director y Editor en Jefe), Natural Products Alert Data Base. The Board of Trustees of The University of Illinois. Chicago, Illinois. Información 'on line' sobre el género *Smilax*. Setiembre de 1997.

De estas 54, únicamente seis especies están incluidas en la Flora Mesoamericana (*S. aristolochiaefolia*, *S. lanceolata*, *S. mollis*, *S. ornata*, *S. regelii* y *S. spinosa*); sólo dos están en Morton (1981) (*S. havanensis* y *S. regelii*) y dos son mencionadas por Evans (*S. aristolochiaefolia* y *S. regelii*). Sin embargo, el origen del reporte del uso etnomédico indica nueve especies que se podrían catalogar como mesoamericanas (*S. aristolochiaefolia*, reportada en México; *S. balbisiana*, reportada en Jamaica; *S. coriacea*, reportada en las Islas Vírgenes; *S. havanensis*, reportada en las Bahamas, las Indias Occidentales y Cuba; *S. lanceolata*, reportada en México; *S. lundellii*, reportada en Guatemala; *S. mollis*, reportada en México; *S. regelii*, reportada en Guatemala; y *S. spinosa*, reportada en Nicaragua) y una reportada en el Perú (*S. utilis* = *S. regelii*?). Las actividades atribuidas incluyen acciones diaforéticas, diuréticas, antiinflamatorias o antirreumáticas, hemenagogas, antimicrobianas, tónicas, abortifacientes, antiparasitarias, afrodisíacas, promotoras de la concepción, coagulantes, febrífugas y para tratar el asma y la tos. De todas estas especies, que se podrían catalogar como interesantes para la región, solamente tres tienen estudios químicos (*S. aristolochiaefolia*, *S. macrophylla*, y *S. regelii*). Estas mismas especies reportan estudios de actividad biológica, además de otras cuatro (*S. havanensis*, *S. lanceolata*, *S. lundellii* y *S. spinosa*).

Las actividades biológicas que se han reportado para estas especies se describen a continuación. Las referencias utilizadas son las incluidas en el reporte de NAPRALERT:

S. aristolochiaefolia: En Alemania, extractos acuosos, tanto de la raíz seca como de la madera presentan actividad diurética en ratas, a dosis de 5% (Jartetzky 1951). No se demostró actividad mutagénica (Schimmer et al. 1994), ni capacidad de promover la recuperación en fracturas (Ahsan 1989) con extractos hidroalcohólicos.

S. havanensis: Un estudio realizado en Puerto Rico no pudo demostrar que tuviera actividad antimalárica (Antoun 1993). No se especificó cuál parte de la planta fue usada.

S. lanceolata: Una investigación efectuada en Alemania, con material de México, no encontró actividad antiamébrica ni antifúngica en extractos etanólicos de la raíz seca; pero sí encontró actividad antibacteriana (*Bacillus subtilis*, 1,0 g/disco; *Micrococcus luteus*, 10,0 g/disco y *Escherichia coli*, 20 g/disco) (Heinrich et al. 1992).

S. lundellii: Cáceres et al. (1987a) encontraron actividad antimicrobiana en la tintura de raíz seca (10 g/100 mL) (*Bacillus subtilis*, 0,1 mL/disco; *Proteus vulgaris*, 0,1 mL/disco; *Salmonella typhi*, 0,1 mL/disco; *Shigella flexnerii*, 0,1 mL/disco; *Pseudomonas aeruginosa*, 30,0 L/disco; *Staphylococcus aureus*, 30,0 L/disco y *Candida albicans*, 30,0 L/disco). No se encontró actividad contra *Streptococcus pyogenes* ni *Escherichia coli*. La actividad contra *C. albicans* es corroborada por Girón et al. (1988), pero se contradice en Cáceres et al. (1991a). La actividad antifúngica, sin embargo, parece estar confirmada, con algunas reservas, por los resultados con extractos acuosos (Cáceres et al. 1991b). Cáceres et al. (1990) señalan la actividad contra

especies de *Shigella*; asimismo, un extracto hidroalcohólico del rizoma mostró baja actividad contra *Neisseria gonorrhoea* (Cáceres et al. 1995). El mismo laboratorio reportó una potente actividad diurética de la decocción en dosis de 1,0 g/kg, en ratas (Cáceres et al. 1987b).

S. macrophylla: El único estudio mencionado fue hecho en Italia, donde se reporta, para los extractos acuosos de la raíz seca proveniente de Centroamérica, actividad antihiperuricémica y actividad uricosúrica a dosis intragástricas de 1-2g/kg, tomadas con base en el peso seco de la planta (Giachetti 1988). No se demostró actividad diurética a las mismas dosis.

S. ornata: Únicamente hay dos estudios reportados: uno en Estados Unidos (Gottshall et al. 1949) y otro en Marruecos (Rotlier et al. 1951). En el primero no se demostró ningún tipo de actividad antimicrobiana en la raíz de la planta. En el segundo se utilizó un extracto de la raíz en agua caliente para el tratamiento de la lepra dosis de 15 g de material seco por persona, por vía oral con resultados mejores que los obtenidos con sulfonas. Los datos provienen de un resumen y son incompletos.

S. regelii: En Guatemala se reportó actividad antifúngica (Cáceres et al. 1991b) contra *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum canis* y *Tricophyton mentagrophytes*; pero escasa actividad antibacteriana contra *Shigella dysenteriae* (Cáceres et al. 1990). Curiosamente en Arabia se reportó actividad hepatoprotectora para la misma planta (Rafatullah et al. 1991).

S. spinosa: Presenta poca actividad antibacteriana (Cáceres et al. 1990); principalmente restringida a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (Cáceres et al. 1987a). También tiene actividad antifúngica contra *Microsporum canis* (Cáceres et al. 1991b) y actividad diurética en ratas (Cáceres et al. 1987b).

Algunos aspectos comunes a todas las especies son la actividad antimicrobiana, que no es ajena a otras saponinas (Silva et al. 1992), y alguna actividad diurética o uricosúrica. Curiosamente, no hay menciones a la validación de actividades tónicas o endocrinológicas, tan comúnmente mencionadas en el uso etnomédico; ni se mencionan otras actividades atribuidas a las saponinas, tales como antiinflamatoria, citotóxica o citostática (Silva et al. 1992). Vale la pena resaltar la actividad contra la lepra reportada para *S. ornata* en Marruecos y la actividad hepatoprotectora que se reporta para *S. regelii*.

Los estudios químicos se restringen a tres especies de las mencionadas. Cada una se describe por aparte, utilizando, entre paréntesis, la notación de NAPRALERT para el tipo de compuesto. Cabe anotar que esta notación tiende a confundir al lector, por lo que se debe tener cuidado al interpretar la información.

S. aristolochiaefolia: Se reporta la presencia de ácido ascórbico (Giral y Aguilar 1953), *n*-hentriacontano (alcano) (Simpson y Williams 1937), parrillina (sapogenina) (Teschesche et al.

1960, Mahato et al. 1982), desgluco desramno parrillina (sapogenina), desgluco parrillina (sapogenina) (Teschesche et al. 1960), sarsaparrillósido (sapogenina) (Simpson y Williams 1937, Teschesche et al. 1960), sarsasapogenina (sapogenina) (Askew et al. 1936) y sarsasaponina (sapogenina) (Teschesche et al. 1960). Algunos de estos son distintos nombres para una misma substancia.

S. macrophylla: Únicamente se registra la presencia del ácido 9-ceto octadec-*cis*-13-enoico (lípidos) en el aceite esencial de las semillas (Daulatabad et al. 1996).

S. regelii: Curiosamente, sólo se reporta beta-sitosterol y estigmasterol (esteroides) en una muestra de Honduras (Giral y Aguilar 1953).

Esta información es muy escasa y probablemente no representativa del trabajo que se realiza en este campo. Es impresionante, sin embargo, la ausencia de información disponible.

El reporte sobre prospección fitoquímica, en general, no aporta mayor información que pueda ser útil al estudiar fitoquímicamente este género: de un total de 13 especies estudiadas (que no incluye a las tres anteriores), tres reportan alcaloides presentes, seis los reportan ausentes y cuatro no los reportan; asimismo, siete reportan únicamente la prospección de alcaloides; cuatro la presencia de saponinas en el rizoma o la raíz y dos la ausencia de ellas en las hojas o tallos. Otros tipos de compuestos reportados ocasionalmente son los iridoides en rizoma; los taninos en hojas, y esteroides o triterpenos en rizomas.

La información química reportada para otras especies, que no son propias de la región, apunta en especial a la presencia de saponinas, sapogeninas y esteroides. En menor cuantía se reportan flavonoides y otros metabolitos aromáticos. El resumen de datos en el cuadro 1 parece concordar con lo que se reporta para las especies de la región, aunque no ayuda a explicar los usos etnomédicos ni las actividades biológicas reportadas.

Cuadro 1. Información química reportada para especies de fuera de la región

<i>S. aspera</i>	saponinas(raíz y hojas), cardenólidos y taninos (hojas), bencenoides (piperonal, éter metílico de la vainillina) (rizoma)
<i>S. china</i>	alcanos (toda la planta), saponinas (rizoma y raíz), flavonoides (rutina) (hojas), fenilpropanoides (smilaxina) (raíz)
<i>S. corbularia</i>	sapogeninas (rizoma)
<i>S. excelsa</i>	saponinas y sapogeninas (raíz) y proteínas (?)

continúa....

<i>S. glabra</i>	flavonoides (hojas y rizoma), esteroides (rizoma y raíz), saponinas (rizoma y raíz), cromonas (raíz), alcanos (rizoma y raíz), bencenoides (rizoma)
<i>S. glaucophylla</i>	sapogeninas y saponinas (raíz)
<i>S. glycyphylla</i>	flavonoides y xantonas (hojas)
<i>S. hispida</i>	colina y acetilcolina (hojas)
<i>S. lanceifolia</i>	lectina (?)
<i>S. lebrunii</i>	esteroides y saponinas (raíz y rizoma)
<i>S. maedica</i>	esteroide (hojas y rizoma) y flavonoide (hojas)
<i>S. menispermoidea</i>	esteroides, saponinas y sapogeninas (raíz y rizoma), bencenoides (3,3',4',5-tetrahidroxi <i>syn</i> -difeniletieno, análogo 3,4',5-trihidroxi) (raíz)
<i>S. nigrescens</i>	bencenoide (arbutina), esteroides, saponinas (raíz)
<i>S. nipponica</i>	esteroides, saponinas (raíz)
<i>S. officinalis</i>	saponinas (rizoma)
<i>S. riparia</i>	saponinas (rizoma y raíz)
<i>S. rotundifolia</i>	hule (semilla)
<i>S. sieboldii</i>	saponinas, sapogeninas (rizoma, raíz y tallo)
<i>S. sp.</i>	carotenoides (hojas) y sapogeninas (raíz)
<i>S. zeylanica</i>	sapogeninas (hojas y raíz)

Es evidente que la información, tanto fitoquímica como sobre actividad biológica, es escasa y que se justifica un estudio mas sistemático de este género. En investigaciones futuras es fundamental garantizar la calidad de la parte botánica; es decir, procurar hacer las colectas de material fértil de tal modo que se asegure la correcta identificación y que permita depositar la muestra botánica en un herbario adecuado. Además, un mejor conocimiento de la química asociada a este género podría contribuir al problema de clasificación botánica.

Desde este punto de vista, es importante mencionar que los métodos de estudio fitoquímico modernos ofrecen una serie de posibilidades que no eran accesibles cuando se generó la mayor parte de la información ahora disponible; especialmente en términos de sistemas cromatográficos.

Evidentemente, la presencia de saponinas, u otros glicósidos, su número y proporción, puede ser útil en un sentido quimiotaxonómico. Además, dado que la sapogenina parece ser la misma (o interconvertible) en todos los casos, cabe la posibilidad de convertir las saponinas a sapogenina y utilizar el resultado del análisis para evaluar las posibilidades de aprovechamiento de la especie como materia prima para la industria de hormonas. A continuación se presenta una metodología simple, basada en algunos esfuerzos que se han hecho en el Centro de Investigaciones en Productos Naturales (CIPRONA), del la Universidad de Costa Rica, para el análisis de la zarzaparrilla. Esta metodología podría contribuir al estudio sugerido.

Metodología CIPRONA

El material vegetal (raíz o rizoma de *S. chiriquensis*, o posiblemente *S. vanilliodora*) se lavó con agua, se secó a 40°C y se molió. Inicialmente se utilizaron muestras de 100 gramos de rizoma, con el fin de aislar suficiente cantidad de saponinas para utilizarlas como patrón. La extracción se llevó a cabo en un Soxhlet, con etanol de 95%, durante 24 horas. Otra extracción se llevó a cabo con etanol al 50%, con fines comparativos. La presencia de las saponinas se determinó con ayuda de cromatografía en capa fina (TLC), como lo describen Sthal y Schild (1981).

La visualización de la placa con anisaldehído/ácido sulfúrico mostró tres saponinas como manchas azul-verdoso. Los extractos se evaporaron al vacío, se disolvieron en metanol, y se dejaron en refrigeración toda la noche para precipitar las grasas. Los extractos se filtraron, se evaporaron al vacío y se suspendieron en agua para pasarlos por una columna de DIAION HP-20 (Mitsubishi). Esta es una resina de fase reversa que permite la separación de los componentes por su polaridad: se utiliza una proporción de 10:1 respecto a la muestra y se empaca con agua. Normalmente se eluye con iguales volúmenes (5X el peso de la resina) de agua, metanol/agua (1:1), metanol y acetato de etilo o éter etílico. En este caso solamente se utilizó agua, metanol y acetato de etilo. El uso de los disolventes en reversa permite restaurar la columna a sus condiciones originales. Dos saponinas eluyeron en la fracción acuosa y una en la fracción metanólica.

Los extractos mostraron la presencia de taninos, por lo que fue necesario eliminarlos con polvo de cuero cromado. Los extractos de raíz mostraron siete saponinas en TLC; cinco de estas eluyeron en la fracción acuosa y dos en la metanólica. La separación de estas saponinas en HPLC, usando una columna de C-18 o de C-8, fue posible, pero no con buena resolución. Para esto probablemente funcione mejor una columna polar, tipo CN, NH₂ u OH (como las que se usan para carbohidratos), ya que en TLC se separan bien.

El análisis de las placas de TLC con un densitómetro debería proveer un método simple de cuantificación de las siete saponinas.

El procedimiento para la cuantificación de la saponina es un poco más elaborado, pero no es complicado. Se probó con muestras de 60-70 gramos, para la obtención de la sarsapogenina patrón y luego se demostró su utilidad en el análisis de muestras de 3-5 gramos. En este caso la extracción se hizo con agua, pues se evidenció que este disolvente es suficiente para lograr la extracción completa de las saponinas. Dos extracciones consecutivas, de una hora cada una, en Soxhlet, son suficientes. Los extractos se juntan, se filtran y se lavan dos veces con éter etílico (se descartan los lavados orgánicos).

La fase acuosa se acidifica con cerca de 20 mL de ácido clorhídrico concentrado por cada 100 mL de extracto acuoso y se refluja durante 6 horas. Después de enfriar se neutraliza con carbonato de sodio y la disolución restante se extrae exhaustivamente con éter etílico. El extracto etéreo se evapora a sequedad, a 40°C y se pasa a una columna de gel de sílice (proporción 1:10, en peso) y se eluye con una cantidad de éter etílico/hexano (8:2) igual a 5X la cantidad de gel de sílice. El eluato se recoge y se evapora al vacío, a sequedad (puede ayudarse con tetracloruro de carbono para secar el residuo). El residuo se transfiere cuantitativamente a un balón aforado de 1-2 mL y se afora con etanol de 95% (HPLC). Esta disolución se inyecta en un aparato de HPLC equipado con una columna de C18 (5m, 25 cm), usando un detector adecuado y etanol de 95% como eluyente, a 1,5 mL/min. En este caso, se utilizó como detector uno de índice de refracción. El pico de la sarsapogenina sale como a los 5,5-6,0 minutos. Se utilizó la altura del pico para establecer una curva de calibración que permitió hacer el análisis en forma cuantitativa.

Bibliografía

- Ahsan, S.K.; Tariq, M.; Ageel, M.; Al-Yahya, M.A.; Shah, A.H. 1989. Studies on some Herbal Drugs Used in Fracture Healing. *Int. J. Crude Drug Res.* 27(4): 235-239.
- Antoun, M.D.; Gerena, L.; Milhous, W.K. 1993. Screening of the Flora of Puerto Rico for Potential Antimalarial Bioactives. *Int. J. Pharmacog.* 31(4): 255-258.
- Askew, F.A.; Farmer, S.N.; Kon, G.A.R. 1936. Saponins. Part I. The Saponins of Sarsaparilla Root. *J.Chem. Soc.* 1936: 1399-1403.
- Cáceres, A.; Girón, L.M.; Alvarado, S.R.; Torres, M.F. 1987a. Screening of Antimicrobial Activity of Plants Popularly Used in Guatemala for the Treatment of Dermat mucosal Diseases. *J. Ethnopharmacol.* 20(3): 223-237.
- Cáceres, A.; Girón, L.M.; Martínez, A.M. 1987b. Diuretic Activity of Urinary Ailments in Guatemala. *J. Ethnopharmacol.* 19 (3): 233-245.

- Cáceres, A.; Cano, O.; Samayoa, B.; Aguilar, L. 1990. Plants Used in Guatemala for the Treatment of Gastrointestinal Disorders. 1. Screening of 84 Plants Against Enterobacteria. *J. Ethnopharmacol.* 30(1): 55-73.
- Cáceres, A.; Jauregui, E.; Herrera, D.; Logemann, H. 1991a. Plants Used in Guatemala for the Treatment of Dermat mucosal Infections. 1: Screening of 38 Plant Extracts for Anticandidal Activity. *J. Ethnopharmacol.* 33(3): 277-283.
- Cáceres, A.; López, B.R.; Girón, M.A.; Logemann, H. 1991b. Plants Used in Guatemala for the Treatment of Dermatophytic Infections. 1. Screening for Antimycotic Activity of 44 Plant Extracts. *J. Ethnopharmacol.* 31(3): 263-276.
- Cáceres, A.; Menéndez, H.; Méndez, E.; Cohobón, E.; Samayoa, B.E.; Jauregui, E.; Peralta, E.; Carrillo, G. 1995. Antigonorrhoeal Activity of Plants Used in Guatemala for the Treatment of Sexually Transmitted Diseases. *J. Ethnopharmacol.* 48(2): 85-88.
- Daulatabad, C.D.; Bhat, G.G.; Jamkhandi, A.M. 1996. A Keto Fatty Acid from *Smilax macrophylla* Seed Oil. *Phytochemistry* 42(3): 889-890.
- Evans, W.C. 1989. *Trease and Evans' Pharmacognosy*. 13 ed. Cambridge, Baillière Tindall. p. 488-489.
- Giachetti, D.; Taddei, L.; Taddei, E. 1988. Effects of *Smilax macrophylla* vers. in Normal or Hyperuricemic and Hyperuricosuric Rats. *Pharmacol. Res. Commun. Suppl.* 20(5): 59-62.
- Giral, F.; Aguilar, M.D. 1953. Vitamin C Content of Medicinal Drugs. II. Barks, Roots and Rhizomes. *Ciencia (Mex)* 12: 283-285.
- Girón, L.M.; Aguilar, G.A.; Cáceres A.; Arroyo, G.L. 1988. Anticandidal Activity of Plants Used for the Treatment of Vaginitis in Guatemala and Clinical Trial of a *Solanum nigrescens* Preparation. *J. Ethnopharmacol.* 22(3): 307-313.
- Gottshall, R.Y.; Lucas, E.H.; Lickfeldt, A.; Roberts, J.M. 1949. The Occurrence of Antibacterial Substances Active Against *Mycobacterium tuberculosis* in Seed Plants. *J. Clin. Invest.* 28: 920-923.
- Heinrich, M.; Kuhnt, M.; Wright, C.W.; Rimpler, H.; Phillipson, J.D.; Schndelmaier, A.; Warhurst, D.C. 1992. Parasitological and Microbiological Evaluation of Mixe Indian Medicinal Plants (Mexico). *J. Ethnopharmacol.* 36(1): 81-85.

- Huft, M.J. 1994. Smilacaceae. In *Flora Mesoamericana*. V 6. Davidse G, Sousa M. Arthur S y Chater O. (Eds) The Natural History Museum (Londres), Instituto de Biología (UNAM, México), Missouri Botanical Garden (USA). p. 20-25
- Jartetzky, R. 1951. Action of Radix Sarsaparillae, Lignum guaiaci, and Esberisan on diuresis and Elimination of Substances in the Urine. *Pharmazie* 6: 115-117.
- Mahato, S.B.; Ganguly, A.N.; Sahu, N.P. 1982. Steroid Saponins. *Phytochemistry* 21: 959-978.
- Morton, J.F. 1981. *Atlas of Medicinal Plants of Middle America; Bahamas to Yucatan*. Springfield, Illinois, Charles C. Thomas, Publisher. p. 82-85.
- Rafatullah, S.; Mossa, J.S.; Ageel, A.M.; Al-Yahya, M.A.; Tariq, M. 1991. Hepatoprotective and Safety Evaluation Studies on Sarsaparilla. *Int. J. Pharmacog.* 29(4): 296-301.
- Reynolds, J.E.F. 1996. *Martindale. The Extra Pharmacopoeia*. 31 ed. London, The Royal Pharmaceutical Society. 1750 p.
- Rotlier, R.; Noury; Weisgerber; Maury. 1951. Treatment of Leprosy by a *Smilax* Species. *Maroc. Med.* 30: 776-780.
- Schimmer, O.; Kruger, A.; Paulini, H.; Haefele, F. 1994. An Evaluation of 55 Commercial Plant Extracts in the Ames Mutagenicity Test. *Pharmazie* 49(6): 448-451.
- Silva, M.; Bittner, M.; Hoeneises, M.; Becerra, J.; Campos, V.; González, F.; Céspedes, C.; Marambio, O. 1992. *Química de los Triterpenos*. Monografía No. 34. Washington, D.C., Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos. p. 329-331.
- impson, J.C.E.; Williams, N.E. 1937. The Ether-Soluble Constituents of Sarsaparilla Root. Part I. *J. Chem. Soc.* 1937: 733-738.
- Stahl, E.; Schild, W. 1981. *Pharmazeutische Biologie*. V.4: Drogenanalyse II: Inhaltsstoffe und Isolierungen. Stuttgart, Gustav Fischer Verlag. p. 165-169.
- Teschke, R.; Ludke, G.; Wulff, G. 1960. Sarsaparrilloside, a Bisdesmosidic 22-Hydroxy-Furostanol Saponin. *Chem. Ber.* 102(4): 1253-1269.

Bioensayos

Bioensayos

Evaluación de la actividad antihemorrágica de *Smilax* spp.

Oscar Castro¹, José M. Gutiérrez¹, Juan Villegas²

En 1997 se exploró la utilización del veneno de terciopelo (*Bothrops asper*) como sustrato experimental para establecer bioensayos que permitieran evaluar la capacidad que tienen extractos crudos, derivados de plantas, para neutralizar los tres principales efectos tóxicos de este veneno: efecto hemorrágico, coagulante y fosfolipasa A₂ (Castro et al. 1997). La investigación mostró que los extractos crudos hidroalcohólicos derivados de una muestra de 400 g de rizoma de *Smilax* spp., conocida como cuculmecha, anulaban totalmente el efecto hemorrágico provocado por una dosis controlada de este veneno, inyectado intradérmicamente en piel de ratón.

Posteriormente, estos mismos extractos fueron particionados con los siguientes solventes de polaridad creciente: hexano, diclorometano y acetato de etilo. La evaluación de los extractos, incluyendo el extracto acuoso remanente, mostró que la actividad se concentra únicamente en los extractos de acetato de etilo y el acuoso. Todas las concentraciones utilizadas resultaron inocuas para las ratas, lo cual resultaba previsible, tomando en consideración el uso popular que como vigorizante se da en Costa Rica a los extractos acuosos obtenidos por maceración de esta raíz.

La metodología básica del bioensayo consistió en seleccionar primero una dosis del veneno del ofidio que indujera una respuesta submáxima desde el punto de vista farmacológico. Para alcanzar este propósito se seleccionó una dosis que no saturara el sistema de cuantificación.

También se hicieron estudios de la relación dosis-respuesta para calcular la dosis hemorrágica mínima y determinar la dosis de reto contra la que se probaron las muestras. Dicha dosis de reto correspondió a cinco dosis hemorrágicas mínimas.

Cada ensayo se realizó por triplicado, utilizando las siguiente materias primas:

1. Veneno solo
2. Veneno mezclado con el extracto en proporción 1:100
3. Extracto solo

Tanto el veneno como los extractos se disolvieron en solución salina amortiguada con fosfatos, pH 7,2 (PBS). Los tubos que contenían estas tres muestras se incubaron por separado a 20-23°C durante 30 minutos. Luego se tomaron alícuotas para medir la actividad hemorrágica.

¹Departamento de Química, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica

²Instituto Clodomiro Picado, Universidad de Costa Rica

Se prepararon dos soluciones, una solución patrón (2,5 mg de veneno en 1 mL de PBS) y el extracto en prueba (14 mg de extracto en 1 mL de PBS). Luego se mezcló:

- a. 0,45 mL de extracto con 0,05 mL de veneno
- b. 0,45 mL de PBS con 0,05 mL de PBS
- c. 0,45 de PBS con 0,05 mL de veneno

Un volumen de 0,1 mL de cada una de estas mezclas se inoculó intradérmicamente en ratones blancos de 20-22 g de peso. Como controles, se inocularon ratones:

- a. veneno solo
- b. extracto solo
- c. solución salina amortiguada con fosfatos, pH 7,2 (PBS)

Dos horas después del inóculo se sacrificó el animal y se midió el área hemorrágica. El efecto neutralizante se calculó en términos porcentuales, considerando la disminución o ausencia de hemorragia observada en el ratón. Se evidenció la presencia de compuestos de naturaleza antocianídica, cuyos espectros ultravioleta muestran efecto batocrómico al adicionar $AlCl_3$, lo cual permite confirmar que la mayoría de estas presentan dos hidróxilos libres en el anillo B (Castro y Umaña 1990).

Dado que las toxinas hemorrágicas del veneno son metaloproteinasas similares estructural y funcionalmente a otras metaloproteinasas presentes en otras patologías como la metástasis de células cancerosas y daños tisulares típicos de cuadros inflamatorios, como la artritis la presencia de antocianinas en estos extractos, como potenciales principios activos antimetaloproteinasas, amplía el valor de este material genético y sugiere la necesidad de apoyar la continuación de estas investigaciones para orientar las estrategias de uso sostenible de este valioso material genético casi en vías de extinción.

Bibliografía

- Castro, O.; Gutiérrez, J.; Barrios, M. 1997. Identificación de principios activos elaborados por plantas con efecto antihemorrágico, anti-coagulante y anti-fosfolipasa A2 en extractos derivados de planas del Bosque Tropical de Costa Rica. Documento final del proyecto BID-CONICIT-UNA y UCR.
- Castro, O.; Umaña, E. 1990. Investigación química comparativa preliminar de dos especies de *Smilax* conocidas como zarzaparilla y cuculmecha. Centro de Investigación en Productos Naturales (CIPRONA), Universidad de Costa Rica.

Validación preliminar del extracto acuoso de *Smilax* sp.

Mildred García González¹, Sara Ma. González Camacho¹
Liliana Pazos Sanou¹

El género *Smilax* está conformado por un grupo de plantas trepadoras, con bejucos leñosos o herbáceos, espinas pequeñas y fuertes, con ligeras diferencias morfológicas según la especie. En Mesoamérica existen 26 especies diferentes distribuidas en México y Centroamérica, donde se utilizan como plantas medicinales (Cáceres 1996). En Costa Rica, la cuculmeca y la zarzaparrilla, pertenecientes al género *Smilax*, tienen además importancia comercial (Ocampo et al. 1994).

La zarzaparrilla fue un recurso vegetal de exportación durante los siglos XVI y XVII. (Núñez 1982). Actualmente la zarzaparrilla y la cuculmeca se utilizan en el mercado nacional y para la exportación (Ocampo et al. 1994).

La considerable extracción de estas especies con fines comerciales, junto con la necesidad de condiciones de bosque específicas para lograr su supervivencia, hacen que estas especies se encuentren dentro del grupo de plantas medicinales en peligro de extinción (Ocampo et al. 1994).

La utilización del género *Smilax* con fines medicinales se conoce desde el siglo XIV. En esa época se utilizaba para aliviar los dolores crónicos de las articulaciones, dolores de cabeza y contra los resfríos (Cáceres 1996). En Costa Rica, los rizomas en cocción se utilizan contra la diarrea, disentería y reumatismo. Las semillas se utilizan contra la diabetes, para fortalecer la sangre (García 1994) y como depurativo de la sangre (Núñez 1982). La U.S. Pharmacopeia incorporó el uso de este género, en 1950, para el tratamiento de la sífilis (Cáceres 1996).

Los rizomas se utilizan por vía oral contra la anemia, afecciones gastrointestinales, hinchazón, malaria, dolor de riñones, enfermedades de la sangre, venéreas, hepatitis, reumatismo y tumores (Cáceres 1996).

Los extractos de cuculmeca aumentan la excreción de ácido úrico y alantoína (Giachetti et al. 1988); inhiben la antimutagenicidad de la benzophyrina (Lee y Lin 1988) y presentan actividad antiinflamatoria (Hirai 1983).

En este trabajo se presentan los resultados de los ensayos realizados en el Laboratorio de Ensayos Biológicos sobre la toxicidad subcrónica de dos dosis del extracto acuoso de *Smilax* sp.

¹Laboratorio de Ensayos Biológicos y Escuela de Medicina, Universidad de Costa Rica

(2000 y 5000 mg.kg⁻¹) en ratones albinos. Se evalúa, además, la influencia en el peso corporal; los niveles de glicemia, hematocrito, diuresis; la actividad sobre el sistema nervioso central y sobre el tránsito intestinal.

Los datos presentados en este estudio abarcan un período total de 29 días de observación, con administración diaria cada 5 días consecutivos.

Material y métodos

Preparación del extracto

El material utilizado se recolectó en octubre de 1995 en San Miguel, Matina, provincia de Limón; sobre la Cordillera de Talamanca, en una región boscosa a 250 msnm.

El liofilizado se preparó en el CIPRONA, Universidad de Costa Rica, de la siguiente manera: se colocaron dos kilogramos de material seco en un recipiente con 10 L de agua a 90°C, se agregaron 8 L más y se dejó por 30 minutos a una temperatura de 70-80°C. Luego la preparación se filtró en una manta y después en algodón. El filtrado se concentró a una temperatura de 50°C y se liofilizó hasta obtener un peso total de 181,1 g.

La solución de trabajo o solución madre se preparó diluyendo 20 g de liofilizado en 100 mL de agua destilada para una concentración final de 200 mg.mL⁻¹.

Preparación del reactivo biológico

Se utilizaron 30 ratones albinos (15 hembras y 15 machos) de la cepa NGP-UCR producidos por la Unidad de Bioterios de la Universidad de Costa Rica, con un peso promedio inicial de $21,86 \pm 0,23$ g para los machos y $18,62 \pm 0,21$ g para las hembras. Los ratones se subdividieron en tres grupos de 10 individuos (5 hembras y 5 machos) y se mantuvieron en jaulas (5 ind/jaula); se les proporcionó agua y comida *ad libitum*.

El extracto se administró vía oral con ayuda de una cánula intragástrica, en dosis diarias de 5000 y 2000 mg.kg⁻¹ y un grupo control que recibió 0,5 mL de agua destilada.

Prueba de toxicidad subcrónica.- Las observaciones de toxicidad se realizaron en forma individual diariamente, siguiendo el esquema de observación polidimensional de Irwin (CYTED 1995). El control del peso corporal de todos los grupos se realizó semanalmente.

Determinación de glicemia y hematocrito.- Se realizaron tres mediciones de los niveles de glicemia y hematocrito en los ratones que recibieron el extracto en dosis diarias de 5000 mg.kg⁻¹ y 2000 mg.kg⁻¹ y el grupo control. La primera se hizo antes de la administración de los tratamientos, la segunda a medio período de observación y la tercera al finalizar el ensayo.

Las pruebas de glicemia se realizaron por sangrado retroorbital y se evaluaron con el método de glucosa oxidasa de Trinder modificado (Schosinsky et al. 1991). Los niveles de hematocrito se determinaron con un lector después de la separación del plasma en una centrífuga a 3000 rpm.

Determinación de diuresis.- Para esta prueba, las jaulas fueron acondicionadas con una rejilla de separación forrada con malla metálica para evitar el contacto con el fondo de las jaulas y facilitar la recolección de la orina excretada. El volumen urinario fue medido diariamente en cada jaula con ayuda de una jeringuilla graduada. Se calculó el volumen promedio de orina (mL/hora) excretado por animal.

Actividad sobre el sistema nervioso.- Para evaluar el efecto del extracto acuoso de *Smilax* sp. sobre el sistema nervioso, se realizó la prueba de modificación de la actividad motora descrita por el CYTED (1995), en los mismos 30 ratones albinos utilizados para la prueba de determinación de toxicidad subcrónica. La prueba se llevó a cabo una vez por semana.

Prueba de modificación de la actividad motora.- Para esta prueba se utilizó una placa cuadrada (40 x 40 cm), subdividida en 16 cuadros de igual tamaño. Se contabilizó el número de cuadros que el animal recorrió en cinco minutos. Para esto, el animal debió colocar al menos sus dos patas delanteras en un cuadro.

Prueba de tránsito intestinal.- Se siguió la técnica descrita por el CYTED (1995). Se utilizaron 20 ratones de la cepa NGP-UCR (10 machos y 10 hembras), con un peso promedio de 21 g. Se dividieron en dos grupos de 10 ratones cada uno (5 hembras y 5 machos) que recibieron el extracto en dosis única de 5000 mg.kg⁻¹ vía oral y agua destilada como control, en un volumen no mayor de 0,5 mL por cada 20 gramos de peso corporal.

Los animales se expusieron a un ayuno de seis horas antes de la administración de los tratamientos. Los datos se expresaron en porcentaje del recorrido intestinal. Se compararon el grupo tratado y el control con la distribución de 'T de Student'.

Resultados y discusión

Los resultados de la toxicidad subcrónica del extracto acuoso por vía oral de *Smilax* sp. en dosis de 5000 y 2000 mg.kg-1 de peso corporal no mostraron alteraciones en los parámetros evaluados, ni signos de toxicidad que evidencien alteración sobre la actividad del sistema nervioso central en ninguno de los grupos tratados, en comparación con el grupo control.

Se observó un aumento esperado de peso corporal en los grupos de ratones que recibieron las dosis de 2000 y 5000 mg.kg-1 al finalizar el período. No hay diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre las curvas de peso corporal obtenidas para los grupos que recibieron las dosis del extracto y la obtenida por el grupo control. Esto evidencia la no toxicidad del extracto sobre el organismo, aún en dosis tan altas como 5000 mg.kg-1 de peso corporal.

No se observó ningún cambio estadísticamente significativo a lo largo del período de observación en los niveles de glicemia ni en los porcentajes de hematocrito con respecto al grupo control. En consecuencia, no se pudieron comprobar los efectos atribuidos a la especie, como antianémico y depurativo de la sangre.

Se presentó una relación dosis-efecto entre las dosis administradas del extracto de *Smilax* sp. y el volumen urinario dado en mL/hora/animal. Estas mediciones demostraron que existe un efecto significativo sobre el volumen de orina excretado por los animales tratados con los extractos de *Smilax* sp., lo cual avala su uso como diurético.

Se presentó una relación dosis-respuesta entre las dosis administradas del extracto de *Smilax* sp. y la actividad motora presentada por los animales sometidos a la prueba. Asimismo, se obtuvo un aumento estadísticamente significativo del tránsito intestinal con la dosis de 5000 mg.kg-1, comparado con el grupo control. Esto contradice el uso popular de esta planta contra la diarrea.

Agradecimientos

Al proyecto Conservación para el Desarrollo Sostenible en América Central (Olafo), del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), por el apoyo a esta investigación y el suministro de la materia prima.

A la Red Iberoamericana de Validación de Plantas Medicinales, sub-programa X de Química Fina Farmacéutica (CYTED), por el apoyo brindado en las técnicas utilizadas en este trabajo.

Bibliografía

- Cáceres, A. 1996. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala, Editorial Universitaria. 373 p.

- CYTED. 1995. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Sub-Programa X Química Fina Farmacéutica. Proyecto X-I. Búsqueda de principios bioactivos en plantas de la región. Manual de Técnicas de Investigación. Panamá. p. 28, 53, 151.
- García, A. 1994. Plantas de la medicina bri-bri. San José, Costa Rica, Editorial Universidad de Costa Rica. p. 54, 63, 71.
- Giachetti, D.; Taddei, E.; Taddei, I. 1988 Effects of *Smilax macrophylla* vers in normal or hyperuricemic and hypericosuric rats. Pharmacol Res Commun (P3W) 20(5):59-62.
- Hirai, Y. et.al. 1983. Screening test for antiinflammatory crude drugs based on the inhibition effect of histamine release from mast cell. Shoyakugaku Zasshi. 37(4):374-378.
- Lee, H.; Lin, Y. 1988 Antimutagenic activity of extracts from anticancer drugs in Chinese Medicine. Mutation Research 204(2): 229-234.
- Núñez, E. 1982. Plantas medicinales de Costa Rica y su folklore. San José. Costa Rica, Editorial Universidad de Costa Rica. p. 153-154.
- Ocampo, R.; Palma, T.; Hidalgo, H. 1994. Diagnóstico de Costa Rica: *In* Domesticación de plantas medicinales en Centroamérica; Actas de la Reunión Técnica Centroamericana. R. Ocampo (Ed.). CATIE, Turrialba, Costa Rica. p. 50-59.
- Schosinsky, K.; Vargas, M.; Jiménez, M. 1991. Manual de Técnicas de laboratorio en química clínica. Oficina de Publicaciones de la Universidad de Costa Rica.

Industrialización y Comercialización

Industrialización y Comercialización

Aprovechamiento industrial de *Smilax* Experiencia en Guatemala

Lidia M. Girón¹

Las plantas medicinales constituyen un rico acervo biológico y cultural de nuestros países ya que son de gran utilidad en la atención a las necesidades de salud de la población; a la vez, se trata de un recurso con gran potencial económico.

En los últimos años, se ha incrementado el interés de los países industrializados hacia los productos naturales, entre los que las plantas medicinales juegan un importante papel. A pesar de ser los países en desarrollo los dueños de una gran diversidad biológica, es de lamentar que este recurso no ha sido adecuadamente explotado y aprovechado. Hace falta generar información propia, a través de la validación y estandarización, para obtener productos que sean legalmente incorporados a los sistemas oficiales de salud. Estas acciones necesariamente implican llevar a cabo un proceso en el que el tema de la industrialización se torna imprescindible, aunque difícil de abordar ya que requiere de la participación multidisciplinaria de los diferentes sectores.

En esta ponencia se pretende dar a conocer los primeros pasos que se han dado en Guatemala para el aprovechamiento industrial de *Smilax*, un recurso sometido a una explotación desmedida y que es una de las 12 especies nativas descritas en la Flora de Guatemala (Standley y Steyermark 1952).

La flora medicinal

Guatemala posee 14 zonas de vida, por lo que es un país con gran diversidad. La flora es muy variada, e incluye especies provenientes de la masa continental del norte y especies neotropicales del sur. De la mayoría de las especies, a pesar de los trabajos de exploración botánica, aún no se tienen datos completos. La publicación más completa hasta la fecha es la Flora de Guatemala que describe unas 8670 plantas superiores; indudablemente un trabajo sistemático ampliaría los conocimientos que sobre la flora existen.

En cuanto a la flora medicinal, la información disponible indica que el 25% tiene su hábitat exclusivamente bajo cobertura boscosa y que la mayoría de especies son nativas, lo cual debe considerarse como una interesante base para estudios de bioactividad de los recursos nativos (Duro 1996, Girón 1994).

¹ Laboratorio FARMAYA, Apto. 1160, Guatemala

En relación con el género *Smilax*, en Guatemala existen al menos 12 especies que se distribuyen en todo el país. Entre ellas, *S. lanceolata*, *S. ornata*, *S. lundellii*, *S. regelii* y *S. spinosa* son nativas de México y Centroamérica y se usan indistintamente con fines medicinales. Debido a que no se ha realizado un trabajo botánico sistemático, y a pesar de contar con referencias confiables, aún hoy existe confusión y controversia entre los escasos botánicos y taxónomos del país. No obstante, se tienen datos interesantes de validación y su aprovechamiento industrial y comercial es un hecho.

Estudios etnobotánicos y exploraciones demuestran que todavía es posible encontrar poblaciones grandes de *Smilax* en las zonas boscosas de Guatemala, entre 300 y 1500 msnm. Las encuestas indican que es una planta de amplio uso popular y que las diferentes especies se utilizan indistintamente.

Sin embargo, existen serias dudas sobre su taxonomía y no ha habido un interés real por estudiar sistemáticamente la taxonomía de las diferentes especies, de esta forma se han llevado a cabo estudios de validación y procesos preindustriales con especímenes de los cuales no se tiene aún la confirmación botánica.

Uso industrial de plantas medicinales

Si bien Guatemala, al igual que el resto de países de Latinoamérica, ha sido proveedor de materia prima, no hay mucha información sobre el estado actual de la industrialización de plantas medicinales en el país. A nivel de estadísticas, se trabaja con datos poco confiables que no se presentan en forma desagregada. Los datos más actualizados indican que entre 1992 y 1995 se exportaron 957 toneladas de plantas medicinales hacia mercados de Asia, Canadá, Estados Unidos y Europa. Se conoce el cultivo o manejo agrícola de unas 37 plantas nativas e introducidas, de las cuales se puede obtener un volumen que podría ser rentable para la industrialización, aunque sea a pequeña escala, y que podría tener un valor agregado importante. Por otra parte, hay unas 14 plantas con potencial industrial, de las cuales se han hecho estudios preliminares de proceso industrial (Girón 1996a).

En el país hay unos diez laboratorios dedicados a actividades de procesamiento de plantas medicinales, los cuales están en una categoría de preindustrialización y cuentan con los requisitos mínimos de funcionamiento. La mayoría están legalmente registrados en la Dirección General de Servicios de Salud, Departamento de Control de Establecimientos del Ministerio de Salud.

Aprovechamiento industrial de *Smilax*

Smilax sp. se extrae y exporta a España como materia prima, donde industrias farmacéuticas la procesan para obtener productos terminados. Entre 1996 y 1997 se han exportado unas 15 ton, lo cual pone en peligro a este género; especialmente si se tiene en cuenta que es una planta de la que se aprovecha el rizoma, que no se cultiva sistemáticamente y que no existen en el país cultivos extensivos. *Smilax* crece en lugares boscosos, y si se considera que Guatemala pierde un promedio de 90 000 ha de bosque al año, y que actualmente la cobertura boscosa es de 33 900 km² (el 31% del territorio), en unos pocos años el género se extinguirá.

No existen cultivos sistemáticos y la información sobre su domesticación es aún preliminar. Los especímenes que se consumen y exportan se extraen de los bosques sin ningún control. El precio del rizoma puede alcanzar US\$ 3/kg en la Ciudad de Guatemala, mientras que un producto terminado alcanza un promedio de US \$ 5 y un producto con materia prima llevada del país puede costar unos US\$ 10 en el extranjero y ese mismo producto en el país puede alcanzar hasta US\$ 15-20.

Es necesario llevar a cabo estudios multidisciplinarios que permitan un avance sistemático de esta planta y aprovechar integralmente sus bondades. Por ello, el Laboratorio FARMAYA ha colaborado en los estudios de domesticación. Actualmente cuenta con una parcela experimental boscosa donde se tienen unos 50 individuos. Se espera que a mediano plazo pueda evaluarse su actividad farmacológica en condiciones de domesticación y manejo. A nivel experimental, se ha repoblado un bosque proveedor de materia prima que abastece a FARMAYA y se dotó de semilla y material vegetativo al proyecto Desarrollo Agrotecnológico de Cinco Especies Medicinales Silvestres con Potencial de Exportación, ejecutado por la Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos durante los años 1992 y 1993 (Herrera 1994).

FARMAYA ha diseñado cuatro productos a base de *Smilax*: una tintura, un elixir para el tratamiento de reumatismo (MAYARTRIL[®]), una tintura antimicótica (MAYADERM-M[®]) y un gel para el tratamiento de psoriasis (MAYADERM-P[®]) (Girón 1996b). Otros estudios a nivel de planta piloto se realizan en la Escuela de Ingeniería Química de la USAC, donde se trabaja en la determinación de saponinas en el rizoma seco de *Smilax* y en desarrollo de una metodología de análisis para la caracterización y preparación de la Norma Nacional de Zarzaparrilla (Reyes 1992).

Bibliografía

- Duro, J.M. 1996. Estado de conservación de la flora útil de Guatemala. *Memorias IX Seminario Nacional de Plantas Medicinales*. Izabal, CONAPLAMED. p. 45-54.

- Girón, L.M. 1994. Estado de conservación de la flora útil de Guatemala. Presentado en el Seminario Taller Plantas útiles amenazadas de la cuenca del Caribe. Santo Domingo, WWF/UNESCO/Enda-Caribe. 15 p.
- Girón, L.M. 1996a. Situación de la industria fitofarmacéutica en Guatemala *Memorias Primera Reunión de Coordinación Internacional. Red Iberoamericana de Productos Fitofarmacéuticos (RIPROFITO)*. Antigua Guatemala, CYTED. p. 149-155.
- Girón, L.M. 1996b. Producción y comercialización de plantas medicinales y productos derivados por el Laboratorio FARMAYA. *Memorias Primera Reunión de Coordinación Internacional. Red Iberoamericana de Productos Fitofarmacéuticos (RIPROFITO)*. Antigua Guatemala, CYTED. p. 86-89
- Herrera, M. 1994. Desarrollo agrotecnológico de cinco especies medicinales silvestres con potencial de exportación. GEXPRONT-FAUSAC-USAID. p.23-36.
- Reyes, I.A. 1992. Obtención y caracterización de saponinas de la raíz seca de *Smilax lundelli* & *S. regeli* (zarzaparrilla), a nivel de planta piloto utilizando diferentes métodos de extracción. Tesis Ing. Escuela de IQ, USAC. 34 p.
- Standley P.C.; Steyermark, J.A. 1952. Flora de Guatemala. *Fieldiana: Botany* 24(3):92.

Estrategia para la comercialización de la zarzaparrilla en Costa Rica

Antonio Gadea Baltodano¹

JUSTIFICACIÓN

El uso racional de los recursos ofrecidos por el bosque se convierte en una opción de desarrollo sostenible para el país, donde se conjugan la diversidad biológica de los bosques, el desarrollo racional de especies potenciales y la existencia de nuevas posibilidades de producción. Costa Rica en general, y específicamente en los bosques de la Región Huetar Norte, tiene un gran potencial biológico aún no explotado, que bajo una forma de manejo racional ofrecería una base económica para un gran segmento de la población rural.

El impulso a nuevas alternativas de producción no debe quedarse al margen del concepto de desarrollo sostenible. Es prioritario comenzar con el uso racional de los recursos que el bosque ofrece antes de que estos desaparezcan. El deterioro de los recursos exige acciones inmediatas e impostergables para obtener resultados a corto, mediano y largo plazo. Además, la población rural dedicada a la explotación del bosque requiere de alternativas de producción que sean fuente de ingresos en el menor tiempo posible.

Dentro de este contexto, los productos no maderables del bosque (PNMB) juegan un papel prioritario para la población rural del país, y han tenido una participación muy importante en la economía nacional, aunque con variaciones motivadas por el contexto histórico-social donde se han dado.

Desde la época colonial se han extraído recursos naturales del bosque, tales como vainilla, hule, bálsamos, resinas y la misma zarzaparrilla (*Smilax* spp.); pero la información sobre estadísticas de producción y su impacto en la economía es escasa y a veces fragmentada (Ocampo 1994).

La utilización por parte de la población de aproximadamente 500 plantas medicinales, 133 de ellas en forma comercial (167 toneladas métricas por año), contribuye a la seguridad alimentaria y de salud de un segmento de la población costarricense. (Ocampo 1994). El conocimiento tradicional de los productos no maderables del bosque, importante para el desarrollo y bienestar de la comunidad, no ha sido valorado adecuadamente ni ha recibido la promoción institucional necesaria. Esta situación, junto con otros factores como el deterioro cultural y la desaparición del

¹ Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede Regional San Carlos

bosque mismo, constituyen el mayor obstáculo para el aprovechamiento sustentable de estos recursos.

Antecedentes

La zarzaparrilla se ha conocido y distribuido en el mundo desde hace bastantes años. En Costa Rica, dicho producto fue explotado en forma comercial desde la época colonial, principalmente en Talamanca, hasta la primera mitad del siglo XX.

La especie se identifica como una planta medicinal, aunque también tiene importancia económica en el campo industrial, en la rama de alimentos, ya que se utiliza en la preparación de bebidas no alcohólicas como la cerveza de raíz (*root beer*) para dar sabor y estabilizar la espuma. Además, se usa en la producción de repostería, confites y postres. Hoy en día su uso se ha restringido por la proliferación de productos sintéticos. Sin embargo, en los mercados más importantes del mundo, la tendencia es volver a los productos naturales; principalmente aquellos cuya extracción no perjudique la ecología y contribuya al desarrollo sostenible de los diferentes sistemas.

Para su crecimiento y desarrollo, *Smilax* necesita de un ambiente con sombra y un sostén que le sirva de soporte. Por esto se considera una buena alternativa de producción y desarrollo para el bosque tropical húmedo ya que podría cultivarse perfectamente dentro del bosque natural o en proyectos de desarrollo forestal, que podrían mejorar las condiciones económicas de los grupos humanos que se dediquen a su cultivo y comercialización.

Comercialización de *Smilax*

Existe poca información sobre el comercio de esta raíz. Según Duke (1984), México es el mayor productor de raíces secas de zarzaparrilla seguido por Honduras y Costa Rica. Estados Unidos importa alrededor de 72 ton de México y 3 ton de Honduras y Jamaica anualmente. Costa Rica ha exportado *Smilax* desde el siglo pasado, aunque no existen datos de volumen en la Oficina de Estadística y Censos.

Los productores/exportadores de los países en desarrollo pueden darle valor agregado a sus productos y aumentar sus ingresos, para lo cual necesitan procesar de alguna manera el producto en el mismo lugar de extracción. En este sentido, los productores cuentan con una ventaja comparativa al tener la materia prima disponible y costos laborales y de transporte relativamente reducidos. Sin embargo, enfrentan también una serie de barreras que es necesario destacar:

- El costo inicial del equipo necesario puede ser considerable; además, puede haber limitaciones de tipo tecnológico o de falta de conocimiento técnico sobre el proceso de producción.
- Los vínculos entre quienes tradicionalmente procesan el producto y sus clientes están ya consolidados; esto crea una barrera a quienes quieren ingresar y desconocen los requisitos del mercado y de los clientes.
- Existen exigencias fitosanitarias que se deben cumplir, las cuales son más estrictas para los productos elaborados.
- La competencia comercial es muy fuerte; por eso se debe establecer una estrategia apropiada que permita competir dentro de las reglas de juego ya establecidas. Se necesita ser creativo para colocar el producto; los criterios de calidad y precio son factores importantes para entrar en los mercados meta.

Posicionamiento del producto en el mercado

Para colocar un producto en el mercado es necesario considerar aspectos como calidad, patrones de uso, tecnología, diseño y confiabilidad. Con base en esos aspectos se evalúan y comparan los productos. Ante todo, se debe partir de la satisfacción a una necesidad de los clientes dentro del segmento de la población que potencialmente va a adquirir el producto. Por ello, hay que dar al consumidor el máximo de información sobre las bondades del producto.

Dentro de este proceso, la venta es otro concepto básico, ya que los consumidores no comprarán un producto si la empresa no emprende una labor de promoción y difusión para lograr su aceptación en el mercado. Asimismo, en el proceso de desarrollo de un nuevo producto, el esfuerzo debe centrarse en mejorar la producción y lograr una eficiente distribución, ya que los consumidores preferirán los productos fáciles de encontrar y de bajo precio. Para incursionar eficazmente en el mercado es necesario tener un plan estratégico, que consiste en desarrollar y mantener una relación adecuada entre la misión, las metas y las capacidades de la organización, y los cambios en sus oportunidades de mercadotecnia (Kotler 1992).

Dentro de este marco conceptual desarrollar una estrategia de comercialización para la zarzaparrilla implica ubicarla en el mercado y dirigir las actividades de mercadeo hacia un segmento determinado, utilizando criterios de segmentación de tipo demográfico, geográfico y de conducta del consumidor.

El concepto de conducta del consumidor es importante, y se puede definir como las acciones que realizan los consumidores al buscar, adquirir, usar, comparar o disponer de los productos o servicios que requieren para satisfacer sus necesidades. Este comportamiento es influenciado por la motivación, las necesidades, la cultura, la percepción de los productos y los medios de comunicación, los cuales actúan como agentes para hacer variar sus necesidades. El mercadeo es básico para lograr el éxito de cualquier empresa que se dedique a la comercialización

de bienes o servicios. Entre las funciones importantes del mercadeo está la selección de la población meta, hacia la cual se dirigen los esfuerzos de mercadotecnia.

Estrategia de comercialización de *Smilax*

Mezcla de mercadeo

El producto que se requiere comercializar es la zarzaparrilla. Se espera que mediante un plan adecuado de manejo se pueda domesticar, logrando con ello su producción y propagación dentro de un ambiente adecuado, como una alternativa económica para la población.

Producto

La zarzaparrilla es un producto 100% natural, utilizado principalmente por sus propiedades medicinales. La raíz, donde se concentran sus principios activos, es la parte que tiene un alto potencial de comercialización, tanto a nivel nacional como para exportación. Su presentación para la venta se hace normalmente en bultos de raíz seca.

Este producto se destaca por sus propiedades particulares y beneficios para la salud. Desde el punto de vista mercadotécnico, se cataloga como un producto con diferenciación provechosa pero oculta; o sea que tiene una alta posibilidad de triunfo si se logra poner a disposición del usuario todas las características como un producto medicinal, con lo que podría publicitarse fácilmente.

Sin embargo, el conocimiento que a nivel general se tiene sobre las propiedades del mismo es escaso, lo cual se nota por la poca cantidad demandada en el mercado como lo demuestra el sondeo de mercado realizado entre agosto y septiembre de 1997 a los gerentes y encargados de producción de siete empresas de fitofármacos de Costa Rica (Fig. 1).

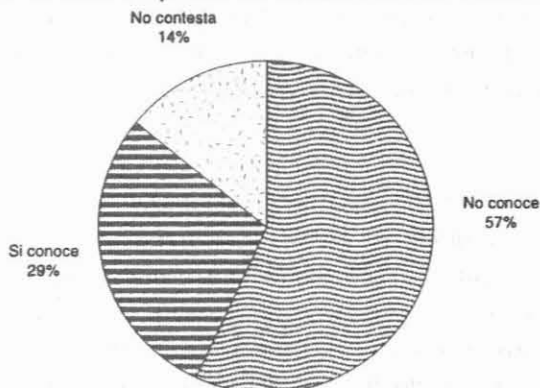


Fig. 1. Conocimiento de las propiedades de la zarzaparrilla

Precio

Según la demanda actual en el mercado local, y considerando la trayectoria de precios para el mercado nacional, el precio de la zarzaparrilla puede oscilar entre ¢300 y ¢400/kg. Este precio aumentaría si se considera el valor agregado que se le daría al venderse en polvo. Los comercializadores extraen la planta del bosque, luego la secan y la venden, aunque generalmente la venden sin secar.

A nivel internacional, principalmente en los mercados europeos, y tomando como referencia los precios ponderados internacionales para 1991, este producto puede tener un valor entre US\$8 y US\$10/kg de raíz seca cortada. Este dato es aproximado, ya que no se tiene información actualizada.

Según el sondeo realizado a nivel nacional, los compradores consideran aceptable el precio del producto (Cuadro 1).

Cuadro 1. Opinión sobre el precio actual de venta de la zarzaparrilla

Opinión del precio	Absolutos	Relativos (%)
Alto	4	57
Aceptable	2	29
Bajo		
No contesta	1	14
Total	7	100

Plaza

Las empresas consumidoras nacionales compran la zarzaparrilla a particulares y la utilizan para la preparación de productos medicinales y macrobióticos. En algunos casos hacen una indicación de las ventajas que para la salud tiene el producto. A pesar del potencial de uso, son pocas las empresas nacionales que utilizan *Smilax*; y las que lo usan, no tienen más de dos proveedores (Fig. 2).

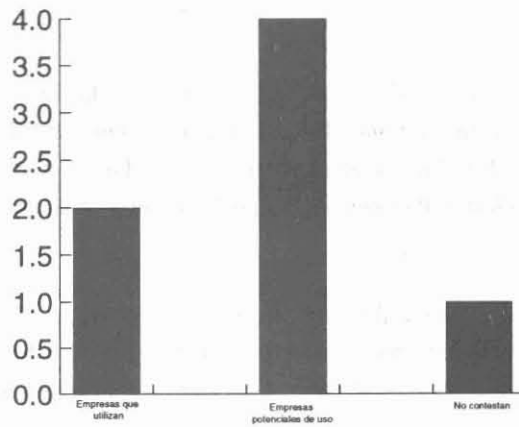


Fig. 2. Utilización de la zarzaparrilla por empresas nacionales

En cuanto al canal de distribución, este es muy corto: la persona que extrae la raíz del bosque, la puede entregar a un intermediario o directamente al industrial, quien la hace llegar al consumidor final. En la actualidad no hay exportación ya que los productores no pueden responder a la demanda del mercado internacional. Empresas multinacionales en el país importan esencias o jarabe de este producto para la preparación de bebidas no alcohólicas.

Promoción

Actualmente no existe ninguna organización que se dedique al cultivo y explotación a escala comercial; por tanto la zarzaparrilla como producto no tiene promoción ni publicidad y no cuenta con una estrategia de ventas. La demanda actual a nivel nacional no representa cifras relevantes dentro del comercio de plantas medicinales. Con base en el mercado y las tendencias que sobre el consumo de productos naturales se están dando en el mundo, se puede afirmar que el cultivo de este producto podría representar un factor de desarrollo económico alternativo bastante interesante para quienes decidan incursionar en el mismo.

Estrategia de mercado

Se pretende colocar en el mercado nacional, un producto que se utiliza en forma natural o como materia prima para la elaboración de otros productos. Las propiedades y características medicinales no se han sabido explotar comercialmente, dando a conocer mediante un enfoque de beneficios la importancia que tiene para la salud el uso cotidiano del producto.

El posicionamiento del producto en el segmento poblacional al que se quiere llegar se hará mediante una campaña publicitaria patrocinada por las empresas, a través de los medios de

comunicación. Se espera que la venta del producto, aparte de las utilidades que pueda generar, cumpla con el objetivo social de mejorar las condiciones de vida de las personas o grupos humanos que la cultivan, aprovechando los recursos que el bosque ofrece.

Estrategia creativa.- Se quiere comunicar al mercado meta la idea de que los productos naturales que contengan zarzaparrilla son de gran beneficio, y que su uso continuo mejora notablemente la salud.

El mercado meta se divide en dos grupos:

- El industrial, al que se le venderá la raíz de la zarzaparrilla para fabricar otros productos, principalmente en la industria de bebidas, extractos de productos naturales y jarabes.
- El naturista, se refiere a la venta del producto con fines medicinales o macrobióticos. Este segmento poblacional está compuesto por personas que acostumbran tomar productos naturales, ya sea en pastillas, infusiones o con alimentos.

Estrategia de medios.- Se utilizará la televisión como canal principal para hacer llegar el mensaje del producto y sus características al gran mercado naturista. A la prensa escrita se llegará a través de notas en los suplementos semanales y reportajes en revistas.

La utilización de espacios disponibles, como Semana Verde que transmite la televisión de Costa Rica, el Suplemento Agropecuario del periódico La Nación y las ferias botánicas de orientación ecológica, son algunos de los medios que se cubrirán. A las empresas dueñas de medios de comunicación, se les invitará para que realicen reportajes de la forma cómo se aprovecha el bosque bajo el marco del desarrollo sostenible. Al mercado industrial se enviarán muestras del producto y será visitado por agentes comercializadores, para que actúen como representantes técnicos.

Estrategia de promoción de ventas.- La zarzaparrilla se puede catalogar como un producto de uso común, dentro de los bienes de consumo. Por tener características particulares relacionadas directamente con la salud humana, se espera que motive de manera positiva al consumidor final, provocando en él el acto de recompra, por lo que podría llegar a ser un artículo de consumo masivo.

El material promocional será distribuido entre quienes se acerquen a los exhibidores que se coloquen en ferias y exposiciones. La idea es promocionar la zarzaparrilla como un producto 100% natural, cuya explotación comercial se realiza de acuerdo con un plan de manejo del bosque. La estrategia principal consiste en hacer más accesible el producto al consumidor final, una vez que este haya sido informado por los diferentes canales de comunicación acerca del producto y sus beneficios.

En cuanto a la estrategia para la fijación del precio, se utilizará el llamado precio unitario que consiste en darle a la marca de este producto un precio por paquete y por volumen, manteniendo un precio atractivo de introducción, competitivo con el del mercado. Por tener costos de operación relativamente bajos, el precio del producto puede serlo también.

El empaque del producto debe ser atractivo, acorde con el producto y sobre todo, que sirva como medio para comunicar en forma clara y precisa sus beneficios. El empaque debe ir de acuerdo con la estrategia de mercadeo y ser claramente diferenciable en relación con otros productos naturales que se venden en el mercado. De igual forma, la marca que se escoja debe posicionarse en la mente del consumidor, debe tener personalidad y ser fácil de recordar.

Estrategia de relaciones públicas.- Se tendrá un contacto directo con las empresas nacionales seleccionadas, tanto industriales como de productos naturales, con el fin de ofrecer el producto. Se entregarán muestras del producto a empresas potenciales en las cuales se pretenda introducirlo.

Se buscará el interés de los medios de comunicación masivos, para que cubran actividades relacionadas con el producto, aprovechando la tendencia internacional sobre el desarrollo sostenible y protección al medio ambiente.

Planificación de las estrategias

Plan creativo.- Este plan busca captar la atención del consumidor ofreciéndole un beneficio para la satisfacción de una necesidad. El mensaje debe quedar en la mente del cliente para que provoque un efecto residual de recordación y se produzca el acto de recompra. Para ello debe existir un mensaje simple de efecto duradero.

Plan de medios.- Se pretende lograr el patrocinio de las empresas por medio de la publicidad no pagada, la cual consiste en estimular la demanda del producto con la presentación del mismo ante diferentes medios publicitarios que hagan reportajes y comentarios acerca de sus propiedades.

La prensa escrita, la radio, las exposiciones de productos naturales, la participación en ferias y la posibilidad de publicar artículos en revistas de circulación nacional y regional serán los principales medios a utilizar. El mercado que primordialmente se pretende atacar es el naturista ubicado en las ciudades de San José, Alajuela y Heredia, con el fin de probar en ellos el potencial de demanda que tendrá el producto. De ser positiva la respuesta, se ampliaría el radio de acción si la capacidad de producción pudiera hacer frente a una mayor demanda. El mercado industrial sería atendido por un representante de ventas.

Plan de promoción de ventas.- La promoción debe informar, persuadir y recordar al usuario acerca el producto. En este caso, su objetivo es influir en el consumidor potencial del producto, tomando en cuenta sus creencias, sentimientos y forma de comportamiento. Se confeccionarán folletos publicitarios con información detallada del producto

Plan de relaciones públicas.- Se realizarán visitas a las empresas seleccionadas para incentivar la compra del producto. Se visitarán medios de comunicación nacionales a los cuales les pueda interesar realizar reportajes sobre la explotación comercial de este producto, con un manejo sostenible del bosque y su conservación.

Bibliografía

Duke, J.A. 1984. Handbook of Medicinal Herbs, CRC Press. 677 p.

Kotler, P. ; Armstrong, G. 1996. Mercadotecnia. 6 ed. México, Prentice-Hall Hispanoamericana._826 p.

Ocampo, R. 1994. Situación actual de los productos no maderables del bosque en Costa Rica. Turrialba, Costa Rica, CATIE. Proyecto OLAFO. 15 p. (Documento de Trabajo N°7)

ANEXOS

PROGRAMA

LUNES 22 DE SEPTIEMBRE

INAUGURACION

Líder, Proyecto Olafo
Coordinador RED RIPROFITO-CYTED
Sub-Director de CATIE
Gabriel Robles

Coordinador
Dra. Tania Ammour
Dr. Armando Cáceres
M.Sc. Rómulo Olivo M.Sc.

El proceso de investigación/desarrollo para el manejo diversificado de bosques: la experiencia de Olafo
Dra. Tania Ammour

Puede la fitoterapia coexistir con la química y biotecnología en la medicina del año 2000
Dr. Werner Nader
INBIO, Costa Rica

Etnobotánica de *Smilax* spp. en el Neotrópico
Ing. Rafael A. Ocampo Sánchez, M.Sc. Róger Villalobos Soto,
M.Sc. Gabriel Robles Valle, Proyecto Olafo/CATIE

Inventario de *Smilax* spp. en Guatemala
Ing. Vicente Martínez
Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala

Estudio ecológico de *Smilax* spp. en la Región de Talamanca
Lic. Francisco Ling
Costa Rica

Monografía de plantas de uso medicinal: zarzaparrilla
Dr. Armando Cáceres
Fac. CCQQ y Farmacia
Universidad de San Carlos Guatemala

Determinación de una técnica no destructiva para la determinación del producto cosechable de plantas medicinales de *Smilax chiriquensis* C.V. Morton (Smilacaceae) en la reserva Indígena de Këkoldí, Baja Talamanca, Limón, Costa Rica”

Bach. Hiram Montiel
Instituto Tecnológico de Costa Rica

Propagación de *Smilax aristolochiaefolia* Miller y *S. moranensis* Martens & Galeotti, por técnicas de cultivo de tejidos vegetales

Ing. Domingo Amador
Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala

Micropropagación de plantas medicinales para la industria

Dr. Roberto Enciso
Laboratorios MIXIM S.A. de C.V., México

Discusión Plenaria

MARTES 23 DE SEPTIEMBRE

Experiencias y métodos de reproducción *in vitro* de *Smilax* spp. en Costa Rica

M.Sc. Tomás Palma
Laboratorio de Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede San Carlos

Estudio preliminar sobre reproducción de *Smilax* spp.

Ing. Rafael Ocampo, Ing. Ricardo Valverde
Bouganvillea S.A.

“Evaluación de la actividad Anti-hemorrágica de extractos derivados de *Smilax cuculmeca*”. Dr.

Oscar Castro
Universidad Nacional, Costa Rica

Toxicología de extractos de *Smilax* spp.

M.Sc. Mildred García
Lic. Sara González
Laboratorio de Ensayos Biológicos - LEBI
Universidad de Costa Rica

Datos preliminares sobre la potencialidad de industrialización de extractos de *Smilax* spp.

Lic. Lidia Girón
Empresa FARMAYA, Guatemala

Propuesta para la estrategia de comercialización de zarzaparrilla (*Smilax* spp.) en Costa Rica

Lic. Antonio Gadea
Instituto Tecnológico de Costa Rica

Estudios químicos en extractos de *Smilax* spp.

Dr. Gerardo A. Mora L.

Director CIPRONA

Universidad de Costa Rica

El CYTED y la Red Iberoamericana de Productos Fitofarmacéuticos (RIPROFITO)

Dr. Armando Cáceres

Fac. CCQQ y Farmacia

Universidad de San Carlos

Guatemala

Taxonomía molecular de la zarzaparrilla

Ing. Domingo Amador

Facultad de Agronomía,

Universidad de San Carlos de Guatemala

Discusión plenaria

Metodología de trabajo y formación de grupos y discusión de prioridades de trabajo por grupos

MIÉRCOLES 24 DE SEPTIEMBRE

Notas sobre la taxonomía de *Smilax* spp. en Costa Rica

M.Sc. Jorge Gómez-Laurito

Universidad de Costa Rica

Discusión de prioridades de trabajo por grupos

Presentación por grupos

Discusión plenaria

Conclusiones

Lista de Participantes

COSTA RICA

M.Sc. Jorge Gómez Laurito
Escuela de Biología
Universidad de Costa Rica
Ciudad Universitaria 2060, San Pedro, Montes de
Oca
Costa Rica
Tel: 00 (506)-207-5432
FAX: 00 (506)-207-4216
correo electrónico: jgomezl@cariari.ucr.ac.cr

M.Sc. Tomás Palma Zúñiga
Departamento de Agronomía
Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede San
Carlos
Apartado 223
Costa Rica
Tel: 00 (506)-475-5033
FAX: 00 (506)-475-5395

Ing. Rafael Angel Ocampo Sánchez
Arco Iris del Caribe S.A., Bouganvillia S.A.
Costa Rica
Teléfono: 00 (506) 718-6787
Tel/FAX: 00 (506)-236-3775

Lic. Ricardo Valverde
Instituto Desarrollo Agrario
Bribri, Talamanca
Costa Rica
Tel/Fax:00 (506)-758-1255

Lic. Francisco Ling
Costa Rica
Tel: 00(506)-254-1281

Dr. Gerardo A. Mora
Centro de Investigaciones en Productos
Naturales (CIPRONA)
Universidad de Costa Rica
Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio"
2060 San José, Costa Rica

Tel: 00 (506)-207 44 74
FAX: 00 (506)-225-9866

M.Sc. Mildred García González
Laboratorio de Ensayos Biológicos (LEBI)
Universidad de Costa Rica
San Pedro, Costa Rica
Tel: 00 (506) 207 4565 / 253-5333 ext. 4565
FAX: 00 (506) 207 3083

Licenciada en Biología Sara María González
Camacho
Laboratorio de Ensayos Biológicos (LEBI)
Universidad de Costa Rica
San Pedro, Costa Rica
Tel: 00 (506) 207-4565 / 253-5333 ext. 4565
FAX: 00 (506) 207-3083

Dr. Oscar Castro Castillo
Departamento de Química
Universidad Nacional
Heredia, Costa Rica
Tel. 00(506)-277-3353

Ing. Hiram Montiel
Apartado 35-7150
Turrialba, Costa Rica
Tel: 00(506)-556-6325

Sr. Luis Diego Vargas S.
Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio)
Santo Domingo de Heredia
Heredia, Costa Rica
Tel.: 00 (506) 244-6093

Dr. Werner Nader
Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio)
Apartado postal 22-3100
Santo domingo, de Heredia, Costa Rica
Tel.: 00 (506)-244-0690
FAX. 00 (506)-244-2816
Correo electrónico: wnader@maruca.inbio.ac.cr

M.Sc. Martha Eugenia Marín Meléndez
Red Costarricense de Reservas Naturales
De Farmacia La Paulina, 50mts este
Casa de 2 plantas color blanco
Sabanilla, Costa Rica
Tel.: 00 (506) 256-6050
Fax. 00 (506)-225-1292

Sra. Rebeca Aragón García
Estudiante Biología Tropical
IICA-ACT C.R., Proyecto IICA/ASDI
Coronado, Costa Rica
Tel.: 00 (506) 229-0222 Ext.2902

M.Sc. Jhonny Rosales Córdoba
Liga Conservacionista de Monte Verde
P.O. Box 10581 - 1000
San José, Costa Rica
Tel.: 00 (506) 645-5003
Fax: 00 (506) 645-5104

M.Sc. José Edgardo Arévalo Hernández
Liga Conservacionista de Monte verde
P.O. Box 10581 - 1000
San José, Costa Rica
Tel.: 00 (506) 645-5003
Fax: 00 (506) 645-5104

M.B.A. Antonio Gadea Baltodano
Instituto Tecnológico de Costa Rica
San Clara, San Carlos, Alajuela, Costa Rica
Tel.: 00 (506) 475-5033
Fax: 00 (506) 475-53 95

Lic. Milena Andrea Segura Madrigal
Universidad Nacional (UNA)
Heredia, Costa Rica
Tel.: 00 (506)-441-2719

GUATEMALA

Lic. Armando Cáceres
Escuela de Química y Biología, Facultad de
Ciencias Químicas y Farmacia
Universidad de San Carlos de Guatemala

Edificio T-10, Ciudad Universitaria zona 12
Guatemala, Guatemala
Coordinador RIPROFITO
Apartado postal 1160
Guatemala, Guatemala
Tel: 00 (502)-4769889
FAX:00 (502)-4769808/2305006
correo electrónico: farmaya@uvalle.edu.gt

M.Sc. Domingo Amador
Universidad de San Carlos de Guatemala
Ciudad Universitaria zona 12
Guatemala, Guatemala
Tel: 00 (502) 476 9758
FAX: 00 (502)-476 97 70
Teléfono personal: 00(502)-4481042

Lic. Lidia Girón
FARMAYA
Av. Centroamérica 18-92, zona 1
Apartado Postal 1160
Guatemala, Guatemala
Tel/FAX: (502)-2305006
correo electrónico: farmaya@uvalle.edu.gt

M.Sc. José Vicente Martínez Arévalo
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos
Ciudad Universitaria zona 12, edificio T-8
Guatemala, Guatemala
Tel.: 00 (502) 476 9794
Fax: 00 (502) 476 9770

OTROS

Dr. Roberto Enciso Rodríguez
Laboratorios MIXIM S.A.de C.V.
Calle Jardín sur 6, Naucalpan Centro
53000 Estado de México, México
Tel.: 00(52-5) 576-5800
FAX: 00(52-5) 359-4512

B.A. Jennifer E. Guy
9586 LAGERSFIELD CIRCLE, VIENNA VA
22181
U.S.A

Tel.: 703 938 1151 Fax: 703 938 1153
Tel: 00 (506) 282 96 741

M.Sc. Juan Flores
Proyecto TRANSFORMA
Centro Agronómico Tropical de Investigación y
Enseñanza (CATIE)
Turrialba, Costa Rica
Tel.: 00 (506) 556-7730
Fax: 00 (506) 556-1533

Dra. Tania Ammour
Líder Proyecto Conservación para el Desarrollo
Sostenible en Centro América
Centro Agronómico Tropical de Investigación y
Enseñanza (CATIE)
Turrialba, Costa Rica
Tel.: 00 (506)-556-6882/556-0301
Fax: 00 (506)- 556-8417
e.mail. tammour@computo.

M.Sc. Gabriel R. Robles Valle
Proyecto Conservación para el Desarrollo
Sostenible en Centro América
Centro Agronómico Tropical de Investigación y
Enseñanza (CATIE)
Turrialba, Costa Rica
Tel.: 00 (506)-556-6882/556-0301
Fax: 00 (506)- 556-8417
e-mail: grobles@catie.ac.cr

M.Sc. Róger Villalobos Soto
Proyecto Conservación para el Desarrollo
Sostenible en Centro América
Centro Agronómico Tropical de Investigación y
Enseñanza (CATIE)
Turrialba, Costa Rica
Tel.: 00 (506)-556-6882/556-0301
Fax: 00 (506)- 556-8417
e-mail: rvillalo@catie.ac.cr

Dr. Daniel Marmillod Sigríst
Proyecto Conservación para el Desarrollo
Sostenible en Centro América
Centro Agronómico Tropical de Investigación y
Enseñanza (CATIE)
Turrialba, Costa Rica

Tel.: 00 (506)-556-6882/556-0301
Fax: 00 (506)- 556-8417
e-mail: dmarmill@catie.ac.cr

M.Sc. José Oduber Rivera Romero
Proyecto Conservación para el Desarrollo
Sostenible en Centro América
Centro Agronómico Tropical de Investigación y
Enseñanza (CATIE)
Turrialba, Costa Rica
Tel.: 00 (506)-556-6882/556-0301
Fax: 00 (506)- 556-8417

M.Sc. Sandra Ramírez
Proyecto Conservación para el Desarrollo
Sostenible en Centro América
Centro Agronómico Tropical de Investigación y
Enseñanza (CATIE)
Turrialba, Costa Rica
Tel.: 00 (506)-556-6882/556-0301
Fax: 00 (506)- 556-8417
e-mail: sramirez@catie.ac.cr

M.Sc. Justine Kent
Proyecto Conservación para el Desarrollo
Sostenible en Centro América
Centro Agronómico Tropical de Investigación y
Enseñanza (CATIE)
Turrialba, Costa Rica
Tel.: 00 (506)-556-6882/556-0301
Fax: 00 (506)- 556-8417
e-mail: jkent@catie.ac.cr

M.Sc. Jorge Jiménez
Proyecto Conservación para el Desarrollo
Sostenible en Centro América
Centro Agronómico Tropical de Investigación y
Enseñanza (CATIE)
Turrialba, Costa Rica
Tel.: 00 (506)-556-6882/556-0301
Fax: 00 (506)- 556-8417
e-mail: jjimenez@catie.ac.cr