

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
CENTRO DE INVESTIGACIONES TROPICALES



**USO MEDICINAL DE *Aristolochia asclepiadifolia*
Brandeggee (GUACO), EN VERACRUZ Y BASES PARA EL
ESTUDIO DE SU DIVERSIDAD GENÉTICA**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN ECOLOGIA TROPICAL**

PRESENTA

ALFREDO OCTAVIANO HERRERA HERNÁNDEZ

Comité tutorial:
Dra. Leticia Margarita Cano Asseleih
Dra. Rebeca Alicia Menchaca García
Dr. Sergio Avendaño Reyes

XALAPA, VERACRUZ

2019



Centro de Investigaciones Tropicales
Universidad Veracruzana

ACTA DE APROBACIÓN DE TESIS

El presente documento titulado “Uso medicinal de *Aristolochia asclepiadifolia* Brandegees (guaco) en Veracruz y bases para el estudio de su diversidad genética” realizado por C. Alfredo Octaviano Herrera Hernández, ha sido aprobado y aceptado como requisito parcial para obtener el grado de **Maestro(a) en Ecología Tropical**.

Tutores

Tutor-Director Dra. Leticia M. Cano Asseleih _____

Dra. Rebeca Alicia Menchaca García _____

Dr. Sergio Avendaño Reyes _____

SINODALES

Dr. Gerardo Castro Bobadilla

Presidente

Dra. Yaeline Antonia Gheno Heredia

Secretario

Dr. Miguel de Jesús Cházaro Basáñez

Vocal

DECLARACIÓN

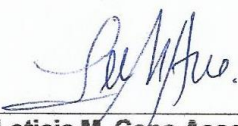
El trabajo de investigación contenido en esta tesis, fue efectuado por Alfredo Octaviano Herrera Hernández, como estudiante de la Maestría en Ecología Tropical comprendida entre los febrero 2017 a febrero 2019, bajo la dirección de la Dra. Leticia M. Cano Asseleih.

La investigación reportada en esta tesis no ha sido utilizada anteriormente para obtener otros grados académicos, ni será para tales fines en un futuro.

ATENTAMENTE



Alfredo Octaviano Herrera Hernández
ALUMNO



VO. BO. Leticia M. Cano Asseleih
TUTOR – DIRECTOR DE TESIS

Este trabajo de investigación se pudo realizar gracias al apoyo del programa de becas del Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).



Dedicatoria

Dedico esta tesis a mis padres quienes me han apoyado desde que me sostuvieron en sus brazos cuando era un bebe, gracias por todo el tiempo invertido, los regaños, la motivación, GRACIAS por hacerme un hombre, siempre llevaré conmigo los malos y buenos momentos, pero sobre todo los valores y enseñanzas que me regalaron.

A mis hermanos por todo el apoyo y motivación extra que me impulsó a continuar con mi formación profesional

¡SON LOS MEJORES!

A todos mis amigos

Gracias por todo el apoyo,

Son mi mejor acierto.

Agradecimientos

A todos los co-participantes de las localidades de Monte Blanco, Plan del Rio, Acazónica, Paso de la milpa y La Ceiba, en especial Don Gaspar por compartir su conocimiento sobre plantas medicinales.

A la Dra. Leticia M. Cano Asseleih por ser mi sensei durante todos estos años, por sus palabras, tiempo y apoyo.

Al Dr. Sergio Reyes por su apoyo académico, bibliográfico, por la aportación de ideas a la tesis.

A la Dra. Rebeca Menchaca por su apoyo académico y sus enseñanzas.

Al Dr. Armando Lozada por su apoyo académico, bibliográfico, por la aportación de ideas y por recibirme en su laboratorio.

A la Biól. Eloisa Jácome por la ayuda en la búsqueda de literatura, por su amistad y compañía.

Al M.C: Oscar Carmona, por el apoyo y asesoramiento en el laboratorio además de ser un gran amigo.

A todas aquellas personas que aportaron granitos de arena para construir este trabajo.

Resumen

Con el nombre de guaco se conoce a un grupo de plantas medicinales del género *Aristolochia* L. Existen registros de su uso en México desde la época prehispánica, principalmente contra la mordedura de serpientes y otros animales ponzoñosos. Se reconoce que una de las especies de guaco más importantes es *Aristolochia asclepiadifolia* Brandegees, la cual es endémica de Veracruz y su localización se restringe a algunas zonas del centro del Estado. No se encontraron estudios que documenten los usos y su importancia actual, así como su presencia, abundancia y diversidad genética lo que aseguraría su sobrevivencia. El objetivo de este trabajo fue documentar el uso medicinal del guaco en la zona centro del estado de Veracruz y estandarizar un protocolo de extracción de ADN para la especie y realizar una propuesta metodológica para el estudio de su diversidad genética. Para ello, en el presente trabajo se realizó una exploración de los sitios donde han sido recolectadas de acuerdo con los registros del herbario XAL, se seleccionaron cinco localidades de las cuales se recolectaron especímenes de herbario, muestras para laboratorio y se realizaron entrevistas abiertas y semiestructuradas para el estudio etnobotánico. Se documentó el uso tradicional y se realizó un análisis etnobotánico cuali y cuantitativo. Se probaron dos métodos de extracción: Qiagen plant min kit y el método del CTAB (Bromuro de centiltrimetilamonio). Los resultados etnobotánicos cualitativos indicaron que las poblaciones de *A. asclepiadifolia*, se observaron disminuidas y en algunos sitios no se logró detectar su presencia. Del 100% de los entrevistados, el 31% no conoce la planta, el 14% si la reconoce, pero desconoce los usos medicinales y el 55% si reconoció la especie *A. asclepiadifolia* como una planta medicinal. Mediante un análisis cuantitativo se determinaron los índices de nivel uso significativo (UST) y nivel de Fidelidad (FL) se demostró que la afección con mayor aceptación cultural es la mordedura de serpiente con los niveles más altos. La comparación de los dos métodos de extracción nos dio como resultado un protocolo de extracción especializado para la especie y se realizó una propuesta metodológica para llevar a cabo estudios de su diversidad genética.

INDICE

INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1. El uso de las plantas medicinales en México.....	3
2.2. La investigación etnobotánica y el estudio de las plantas medicinales.....	4
2.3. Las aristolochias (guacos) y su importancia en México	5
2.3.1. las especies de <i>Aristolochia</i> L. de Veracruz y su estatus de vulnerabilidad	8
2.4. <i>Aristolochia asclepiadifolia</i> Brandegees	9
2.4.1. Fenología y ecología	11
2.4.2. Distribución	12
2.4.3. Usos	13
2.5. Diversidad genética	14
2.5.1. Métodos de estudio para la diversidad genética	16
2.5.1.1. Marcadores moleculares	17
2.5.1.2. Marcadores repetición de secuencia Inter simples (ISSR)	18
3. JUSTIFICACIÓN	19
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	21
5. OBJETIVOS	22
5.1. Objetivo general.....	22
5.2. Objetivos específicos	22
5.2.1. Registrar su uso medicinal en los sitios de estudio con enfoque etnobotánico cualitativo y cuantitativo.....	22
5.2.2. Estandarizar un protocolo adecuado para la especie a través de la evaluación de dos métodos para la extracción de ADN.....	22
6. MÉTODO.....	23
6.1. Selección de los sitios de recolecta y localidades del estudio etnobotánico.....	23
6.2. Investigación etnobotánica cualitativa	25
6.2.1. Recolecta de ejemplares de herbario.....	25
6.2.2 Registro del uso medicinal	25
6.3. Investigación etnobotánica cuantitativa	25
6.3.1. Índice de nivel de uso significativo (UST).....	26
6.3.2. Índice de Friedman y colaboradores (1986).....	26
6.4 Métodos de extracción de ADN	27

6.4.1. Recolecta de muestras.....	27
6.4.2. Extracción ADN	27
6.4.2.1. Método Qiagen	27
6.4.2.2. Método Bromuro de cetil-trimetil amonio (CTAB)	28
7. RESULTADOS Y DISCUSION.....	30
7.1. Usos medicinales del guaco en las zonas de estudio.....	30
7.1.1. Monte Blanco, Mpio. Teocelo, Veracruz.....	30
7.1.2. Plan del Rio, Mpio. Emiliano Zapata, Veracruz	31
7.1.3. Acazónica, Mpio. de Paso de Ovejas, Veracruz	33
7.1.4. Paso de la Milpa, Mpio. Actopan, Veracruz.....	34
7.1.5. La Ceiba, Mpio. Puente Nacional, Veracruz.....	36
7.4. Estudio etnobotánico cuantitativo	45
7.5 Extracción ADN	46
8. CONCLUSIÓN	49
9. RECOMENDACIONES	50
10. BIBLIOGRAFÍA	51
11. ANEXOS	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Uso medicinal de las especies de guaco (<i>Aristolochia</i> L.).....	7
Tabla 2. Estatus de vulnerabilidad de las especies de <i>Aristolochia</i> de Veracruz	8
Tabla 3. Uso medicinal del guaco (<i>A. asclepiadifolia</i>) en Monte Blanco	30
Tabla 4. Uso medicinal del guaco (<i>A. asclepiadifolia</i>) en Plan del Río.....	32
Tabla 5. Uso medicinal del guaco (<i>A. asclepiadifolia</i>) en Acazónica.....	33
Tabla 6. Uso medicinal del guaco (<i>A. asclepiadifolia</i>) en Paso de la Milpa.....	34
Tabla 7. Uso medicinal del guaco (<i>A. asclepiadifolia</i>) en La Ceiba.....	36
Tabla 8. Afecciones tratadas con el guaco y forma de uso	43
Tabla 9. Índices cuantitativos	46
Tabla 10. Comparación de protocolos de extracción ADN.....	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>A. asclepiadifolia</i>	10
Figura 2. Distribución de <i>A. asclepiadifolia</i>	12
Figura 3. Sitios de recolecta y localidades del estudio etnobotánico.....	24
Figura 4. Análisis de entrevistas Monte Blanco.....	31
Figura 5. Análisis de entrevistas Plan del Río	33
Figura 6. Análisis de entrevistas Acazónica	34
Figura 7. Análisis de entrevistas Paso de la Milpa	36
Figura 8. Análisis de entrevistas La ceiba	37
Figura 9. Conocimiento de la población sobre el uso medicinal de <i>A. asclepiadifolia</i>	38
Figura 10. Afecciones tratadas por población con <i>A. asclepiadifolia</i>	40
Figura 11. Origen del conocimiento sobre la utilidad del guaco	41
Figura 12. Transmisión de conocimientos sobre el uso medicinal del guaco	43

INTRODUCCIÓN

Todos los pueblos del mundo, desarrollados y en desarrollo, han usado las plantas para atender sus problemas de salud y una gran mayoría, sigue haciendo uso de ellas actualmente (Argueta y Cano 1994). Se tiene registros de que existen en México alrededor de 4 000 plantas medicinales, por lo que una de cada siete especies en nuestro país, tiene asociada alguna propiedad terapéutica (Ocegueda *et al.*, 2005). Una de éstas, es el guaco, *A. asclepiadifolia* de la familia Aristolochiaceae, originaria y endémica de México (Ortega y Ortega, 1997; Castillo-Campos *et al.*, 2005; Palacios-Wessenaar *et al.*, 2014). Su distribución se restringe a una zona muy limitada del centro de Veracruz, en donde se utiliza medicinalmente para contrarrestar el efecto de las mordeduras de serpientes venenosas (Ortega y Ortega, 1997, Castillo-Campos *et al.*, 2005). Considerada como una especie endémica y útil, la destrucción de su hábitat, el cambio climático, el urbanismo y su extracción continua entre otros factores, constituyen un riesgo para su supervivencia, sin embargo, se desconoce su diversidad genética, que es una característica de las especies que les permite responder o enfrentarse a los cambios en su entorno natural.

La diversidad genética es un componente básico para la biodiversidad, se define como las variaciones heredables que ocurren entre los individuos de una misma especie. Es fundamental su conocimiento para el mejoramiento genético y para la implementación de estrategias de conservación de especies que presentan bajos niveles de variación genética (Piñero *et al.*, 2008; Ruiz *et al.*, 2015; Watson *et al.*, 2016). El objetivo de implementar estrategias de conservación es preservar la biodiversidad, que en un principio solo se aplicaba a especies en peligro de extinción y ahora a especies endémicas (Hamrick *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2015). De acuerdo con Chung y Chung (2010), la diversidad genética ayuda a entender la variabilidad de cualquier especie que se quiera estudiar, pero la prioridad son las especies endémicas y en peligro de extinción.

En México se han hecho estudios de diversidad genética de plantas, animales, bacterias, hongos etc. y a su vez estos estudios han servido de base para implementar estrategias de conservación, manejo y el mantenimiento de la biodiversidad (Kim *et al*, 2006). En el caso del guaco (*Aristolochia asclepiadifolia*) no hay estudios de diversidad genética, sin embargo, al tratarse de una especie endémica y de importancia medicinal para las regiones del centro de Veracruz donde se distribuye, se enfrenta a problemas antropogénicos como el crecimiento demográfico, la modificación de su hábitat y el poco conocimiento sobre la importancia de esta planta por parte de las nuevas generaciones corre el riesgo de desaparecer (Ortega y Ortega, 1997; Gómez-Pompa *et al.*, 2010; Villaseñor, 2016).

Como lo menciona Caballero (2013)...“la utilización irresponsable de los recursos naturales provoca la desaparición de especies a un ritmo acelerado y cada vez el número de especies que requieren de la intervención humana, para asegurar su supervivencia es mayor”.

Al no haber un control sobre el manejo de especies endémicas, éstas pueden ser sobreexplotadas e incluso podrían llegar a extinguirse, por tal motivo es indispensable describir su diversidad genética. El propósito de este estudio es documentar los usos medicinales del guaco (*A. asclepiadifolia*) en el centro de Veracruz y estandarizar un protocolo de extracción de ADN para estudios posteriores de su diversidad genética.

2. ANTECEDENTES

Desde la prehistoria el ser humano ha buscado la manera de mejorar su calidad de vida, y para ello las plantas han sido buenas aliadas ya que proporcionan alimento, salud, techo, abrigo, armas etc. (Toledo *et al.*, 1995; Escofet *et al.*, 1997; Toledo *et al.*, 2003). Tras cubrir la primera necesidad que es la de alimentarse, se buscó en ellas una manera de tratar enfermedades, heridas o dolores y gracias a esta necesidad se ha descubierto que muchas especies vegetales tiene virtudes curativas. A lo largo de la historia las personas han experimentado con diversas especies y de acuerdo al ambiente que les rodea, desarrollado técnicas y formas para tratar sus enfermedades de manera adecuada (Toledo *et al.*, 1995; Escofet *et al.*, 1997; Toledo *et al.*, 2003).

2.1. El uso de las plantas medicinales en México

México es un país con una gran diversidad biológica y cultural (Toledo, 1982 y 1994.), que posee una medicina tradicional (MT) equiparable a la de China e India. Ha prevalecido hasta nuestros días y constituye un verdadero sistema de salud como se pone de manifiesto en la magna obra de la *Biblioteca de la medicina tradicional mexicana* conformada por 12 volúmenes y publicada en 1994 por el Instituto Nacional Indigenista. Las plantas, así como en las medicinas tradicionales china e indú, constituyen el recurso material más importante de la MT mexicana y su uso desde la época prehispánica ha quedado registrado en Códices y otras obras históricas (Argueta y Cano, 1994). El uso actual de las plantas medicinales de México se documenta en los tres volúmenes del *Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana*, y tres de la *Flora medicinal indígena de México* (Argueta y Cano, 1994) e investigaciones regionales como la *Flora medicinal de Veracruz I. Inventario etnobotánico* (Cano, 1997). Allí se enlistan alrededor de 920 especies medicinales.

2.2. La investigación etnobotánica y el estudio de las plantas medicinales

Actualmente la etnobotánica tiene gran peso debido a que se encarga de rescatar y evitar la pérdida del conocimiento tradicional de las comunidades nativas, esto contribuye a la conservación de la biodiversidad y el desarrollo de comunidades locales (Davis, 1991; Prance, 1991; Alexiades, 1996; Cunningham, 1996; Caniago y Siebert, 1998; Martín, 2001). A través del tiempo grandes autores han tratado de establecer el concepto de etnobotánica (Harshberger, 1896; Barrera, 1976; Toledo, 1992 y Caballero, 2001) y gracias a sus contribuciones hoy se comprende que en esencia la etnobotánica, estudia la relación de las sociedades humanas y del mundo vegetal. A su vez, evidencia cómo el ser humano ha generado conocimiento para aprovechar los recursos naturales, que van desde brindar refugio, fabricar armas, alimento, medicina, ropa, rituales entre los más importantes.

La palabra etnobotánica fue utilizada por primera vez por el botánico estadounidense John W. Harshberger (1896) donde la define como la disciplina que estudia la relación de las plantas con las culturas primitivas. Este concepto, limitado, ha evolucionado a lo largo de los años. La etnobotánica, de Acuerdo a Barrera (1976), es el “campo interdisciplinario que comprende el estudio e interpretación del conocimiento, significado cultural, manejo y usos tradicionales, de elementos de la flora”. Esto implica la transmisión a través del tiempo por un grupo humano, en un determinado contexto cultural. Y resume Barrera, al indicar que el objeto de la etnobotánica es el estudio de las “sabidurías botánicas tradicionales”. Hernández-Xolocotzi (1976), amplía este concepto, y define a la etnobotánica como el campo científico que estudia las interrelaciones que se establecen entre el hombre y las plantas a través del tiempo y en diferentes ambientes. Y estas interrelaciones están determinadas por dos factores; el medio con sus condiciones ecológicas y la cultura, y que estos factores, al estudiarlos a través del tiempo, cambian cuali y cuantitativamente.

Los estudios etnobotánicos en el país se han realizados tanto desde una perspectiva interpretativa o cualitativa; como positivista o cuantitativa. La mayoría de los documentos históricos que registran el uso de las plantas medicinales, no solo en el México antiguo, sino en otros países, se pueden incluir en la etnobotánica cualitativa por el rigor metodológico utilizado (Hurtado *et al.*, 2006; Gheno-Heredia *et al.*, 2011; Castro-Guzmán, 2014). Sin embargo, hay una fuerte tendencia de modificar las formas tradicionales de compilación de la información, desarrollando métodos que permiten al investigador describir y analizar cuantitativamente los patrones de uso de las plantas, lo que es de utilidad para el entendimiento de las complejas interacciones entre las poblaciones y su medio ambiente (Hurtado *et al.*, 2006; Gheno-Heredia *et al.*, 2011; Castro-Guzmán, 2014). Los trabajos cuantitativos según Phillips (1996), se pueden clasificar en tres categorías: consenso de informantes, asignación subjetiva y usos totalizados. La técnica usada en este trabajo pertenece a la primera categoría, en la cual la importancia relativa de cada uso es calculada directamente por el grado de consenso de la respuesta de los informantes.

Las técnicas cuantitativas de la etnobotánica, deben considerarse como complementarias a las tradicionales formas de investigación, ya que la descripción cualitativa del conocimiento popular sigue siendo válida y sumamente importante (Hurtado *et al.*, 2006; Gheno-Heredia *et al.*, 2011; Castro-Guzmán, 2014).

2.3. Las aristolochias (guacos) y su importancia en México

Con el nombre de guaco se conoce a un grupo de plantas medicinales del género *Aristolochia*. Existen registros de su uso medicinal en México desde épocas prehispánicas. En la obra Historia de las plantas de la nueva España (1571-1576) escrita por Francisco Hernández, se describen dos especies de guaco, Coayxtelotli y tomahuactlacopatli hierbas medicinales muy importantes, utilizadas con el fin de curar dolores, problemas estomacales y principalmente para combatir el veneno de serpientes y animales ponzoñosos, parte de estos conocimientos han

prevalecido con el pasar de los años y al mismo tiempo se han incluido nuevas afecciones que se pueden tratar con los guacos. Actualmente las publicaciones de Aguilar (*et al.*, 1994), Argueta y Cano (1994), Ortega y Ortega, (1997), describen el uso medicinal que se le da a los guacos y mencionan que la afección tratada más común es la mordedura de serpiente, ésto se debe a su posible actividad anticrotática (Tabla 1).

Tabla 1. Uso medicinal de las especies de guaco (*Aristolochia* L.)

Nombre científico	Nombre común o indígena	Lugar de uso	Mal que cura	Referencia
Posiblemente <i>Aristolochia pringlei</i> Rose	<i>tomahuactlacopatli</i> o <i>totomahuactlacopatli</i> o <i>tlacopatli</i>	Guerrero y Morelos	Calma los dolores y destierra los fríos de las fiebres; Fortalece el corazón y en dosis de dos dracmas alivia la hidropesía evacuando su causa	Hernández, 1959
Posiblemente <i>A. odoratissima</i> L.	cuaco, sombrerito y hediondilla <i>coayxtelotli</i> o <i>coaixtelolohtli</i>	Veracruz	Combate las mordeduras de víboras y oros animales venenosos; se usa como estimulante, diurético, estomáquico y febrífugo; las hojas se usan en cataplasma contra los bubones y para calmar los dolores ciáticos	
<i>Aristolochia schippii</i> Standl.	guaco de castillo	Zoque-popolucas Magallanes, Veracruz y en Belice	contra la mordedura de serpientes	Aguilar <i>et al.</i> , 1994.
<i>A. ovalifolia</i> Duch.	Guaco			
<i>A. pentandra</i> Jacq.	guaco, camotillo guaco, camotillo pop, gallito morado, yerba del manso	Tabasco y Yucatán	Aliviar cólicos, dolor de estómago, empacho; sola, hervida, diarrea; enfermedades renal-urinarias, dolores durante el embarazo contra mordeduras de víbora (anticrotático), para sanar heridas y el paño en la ca	Argueta y Cano, 1994.
<i>Aristolochia arborea</i> Linden	guaco de árbol	Catemaco, Veracruz	mordedura de serpiente venenosa, la fiebre producida por ella, calentura, y dolor estomacal	
<i>A. grandiflora</i> Sw.	guaco, pato, hediondilla	Catemaco, Veracruz	Mordedura de serpientes y reumas	Cano, 1997.
<i>A. impudica</i> J.F. Ortega	guaco, guaco de palo, sauco de montaña <i>kuy waku'</i>	Sierra de Santa Martha, Soteapan, Veracruz	diarrea, el "latido", la mordedura de serpiente y la tos	
		Santa Rosa Loma Larga, Hueyapan de Ocampo, Veracruz	los cólicos, el dolor de corazón, el "latido" de barriga y el mareo	
<i>A. maxima</i> Jacq.	Guaco	Ejidos de Berlín y Agustín Millán, Córdoba, Veracruz	Dolor estomacal	Aguilar <i>et al.</i> , 1994; Argueta y Cano 1994; Cano, 1997; Ortega y Ortega, 1997;
<i>A. asclepiadifolia</i> Brandegee	guaco, flor de patito, raíz de guaco	Centro de Veracruz	disentería, como alexitérico y principalmente como anticrotático	

2.3.1. las especies de *Aristolochia* L. de Veracruz y su estatus de vulnerabilidad

En el estudio taxonómico y de distribución de la familia Aristolochiaceae Juss. en el estado de Veracruz, Ortega (1985), además de describir botánicamente a la familia, también resalta el posible estatus de nueve especies de aristolochias encontradas en Veracruz. También describe que los taxa muestreados con excepción de *Aristolochia grandiflora* Swartz y *A. ovalifolia* Duch. están en peligro de desaparecer del Estado en su forma silvestre, si continúan las alteraciones de sus hábitats naturales. Siguiendo las categorías de vulnerabilidad propuestas por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y Recursos Naturales, las especies estudiadas se colocan de la siguiente manera.

Tabla 2. Estatus de vulnerabilidad de las especies de *Aristolochia* de Veracruz

Especie	Ex	E	V	I	R	C
<i>A. arbórea</i>		X				
<i>A. asclepiadifolia</i>			X			
<i>A. grandiflora</i>						X
<i>A. littoratis</i>					X	
<i>A. micrantha</i>		X				
<i>A. odoratissima</i>		X				
<i>A. ovalifolia</i>						X
<i>A. pentandra</i>		X				
<i>A. schipii</i>					x	

- Ex. Extinta
- E. Taxa en peligro de extinción y con probabilidades de sobrevivencia nulas si los factores causantes siguen operando (peligro)
- V. Taxa de los que se cree pueden entrar en la categoría E si los factores causantes siguen operando (Vulnerable)
- I. Taxa de los que se sabe muy poco (Indeterminada)

- R. poblaciones pequeñas que no están necesariamente en peligro por el momento (Rara)
- Común y abundante

En 1985 como lo describe Ortega, *A. asclepiadifolia* se encontraba en una situación de vulnerabilidad. En los últimos 34 años el crecimiento demográfico se ha incrementado, esto sugiere que el hábitat de *A. asclepiadifolia* está siendo consumido por el urbanismo. Aunado a esto, el poco conocimiento de las nuevas generaciones sobre el uso medicinal del guaco, lo ponen en riesgo, pues al no conocerla, es considerada maleza, por lo tanto, es algo negativo para los cultivos.

2.4. *Aristolochia asclepiadifolia* Brandegees

Pertenece a la familia Aristolochiaceae que es un miembro del orden Piperales. Generalmente son plantas trepadoras o raras veces arbustos pequeños, perennes, aromáticos, el tallo simple o ramificado. Esta familia incluye siete géneros y aproximadamente 625 especies. Los géneros de esta familia están subdivididos en 3 tribus: Sarumaeae, Bragantieae y Aristolochieae; a esta última pertenece el género *Aristolochia* único representante de la familia en el estado de Veracruz (Ortega y Ortega, 1997; Gómez-Pompa *et al.*, 2010; Rivera-Hernández y Samain, 2011). El género *Aristolochia* L. posee el mayor número de especies de la familia Aristolochiaceae, con alrededor de 500. *A. asclepiadifolia* tiene un conjunto de características que la distinguen de las demás especies pertenecientes al mismo género, entre ellas las hojas obovado-elípticas, subsésiles, con una base abrazadora, la siringe urceolada, el ginostemo con seis anteras en tres grupos en el interior del utrículo y el limbo del cáliz trilobado (Figura 1) (Ortega y Ortega, 1997; Gómez-Pompa *et al.*, 2010).

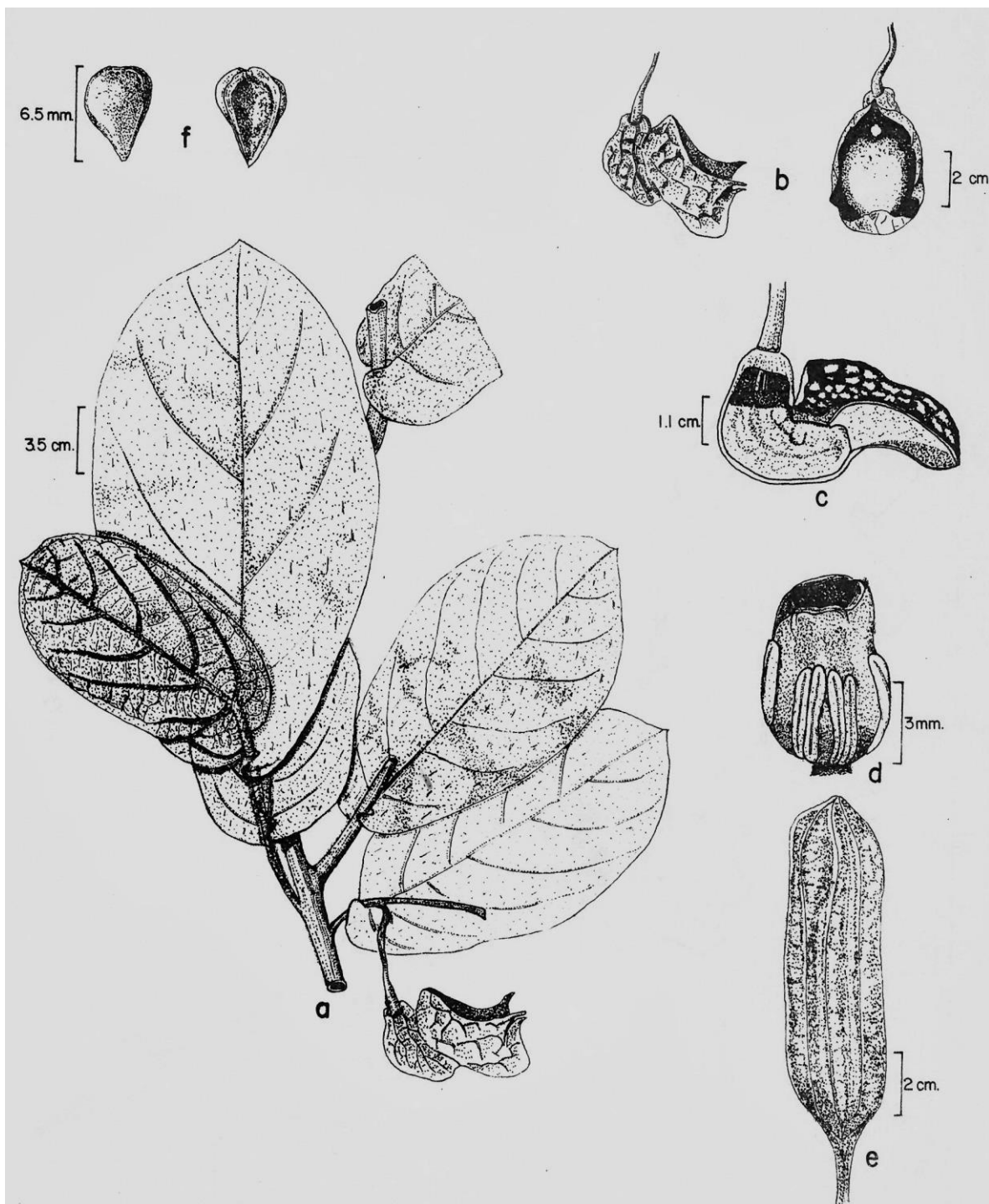


Figura 1. *A. asclepiadifolia*

a) rama con hojas y flor; b) flor (lateral y frontal); c) corte transversal de la flor (siringe y ginostemio); d) ginostemio; e) fruto; f) semillas

*Ilustración por Seatiel Guiochin, tomada de Ortega (1985)

El género *Aristolochia* se distribuye casi en todo el mundo principalmente en zonas tropicales, subtropicales y rara vez en zonas templadas. En el continente americano, desde la vertiente sur y oriental de los Estados Unidos, pasando por México, Antillas y América Central hasta Argentina en Sudamérica (Ortega y Ortega, 1997; Rivera-Hernández y Samain, 2011). En nuestro país se reportan 64 especies, de las cuales 13 se localizan en Veracruz incluidas tres endémicas de este Estado (*Aristolochia asclepiadifolia*, *A. impudica* J.F. Ortega y *A. veracruzana* J.F. Ortega) (Ortega y Ortega, 1997).

A. asclepiadifolia fue descrita por Townsend S. Brandegees de la Universidad de California-Berkeley de una recolecta hecha por el alemán Carlos Alberto Purpus, en Consoquitla, región de Totutla, Veracruz, generalmente se encuentra en forma de lianas perennes de tres a diez metros de largo, tallo ramificado, cilíndrico, rugoso, las ramas jóvenes pubescentes. Las hojas son simples, en forma de elipse o huevo invertido (obovadas), de seis a 24 centímetros (cm) de largo, 3.5 a 15.5 cm de ancho, débiles o semi duras pero flexibles; tanto la parte superior de la hoja (haz) como la inferior (envés) son pubescentes. Las flores se encuentran agrupadas en inflorescencias, cada flor sale de la axila o de la rama, son de color crema y púrpura, de 1.5 a 5.3 cm de largo, 1.5 a tres cm de ancho. Fruto cilíndrico, brillante de 2.5 a 7.5 cm de largo y 1.5 a 2.5 cm de diámetro; color verde claro. Semillas de 60 a 100 por fruto, aceitosas y brillantes (Ortega y Ortega, 1997; Gómez-Pompa *et al.*, 2010).

2.4.1. Fenología y ecología

La floración se presenta entre los meses de junio a enero; se encuentra en selva baja caducifolia, selva mediana perennifolia, raramente en encinar, con frecuencia en lugares húmedos, cañadas o sitios riparios y a menudo rupícola (Ortega y Ortega 1997; Gómez-Pompa *et al.*, 2010).

2.4.2. Distribución

La especie *A. asclepiadifolia* se distribuye en el centro de Veracruz en un rango de altitud de 100 a 1000 msnm, (Ortega y Ortega, 1997). Su distribución se restringe a la zona centro del estado de Veracruz (Figura 2). Con base en la información obtenida en la base de datos del Herbario XAL (Instituto de Ecología, A.C.), y la publicada por Ortega y Ortega (1997) y Gómez-Pompa *et al.*, (2010), esta especie se distribuye en los municipios de Emiliano Zapata, Teocelo, Paso de Ovejas, Puente Nacional, Totutla, Axocuapan, Actopan, Jalcomulco, Tlaltetela, Comapa y Tenampa.

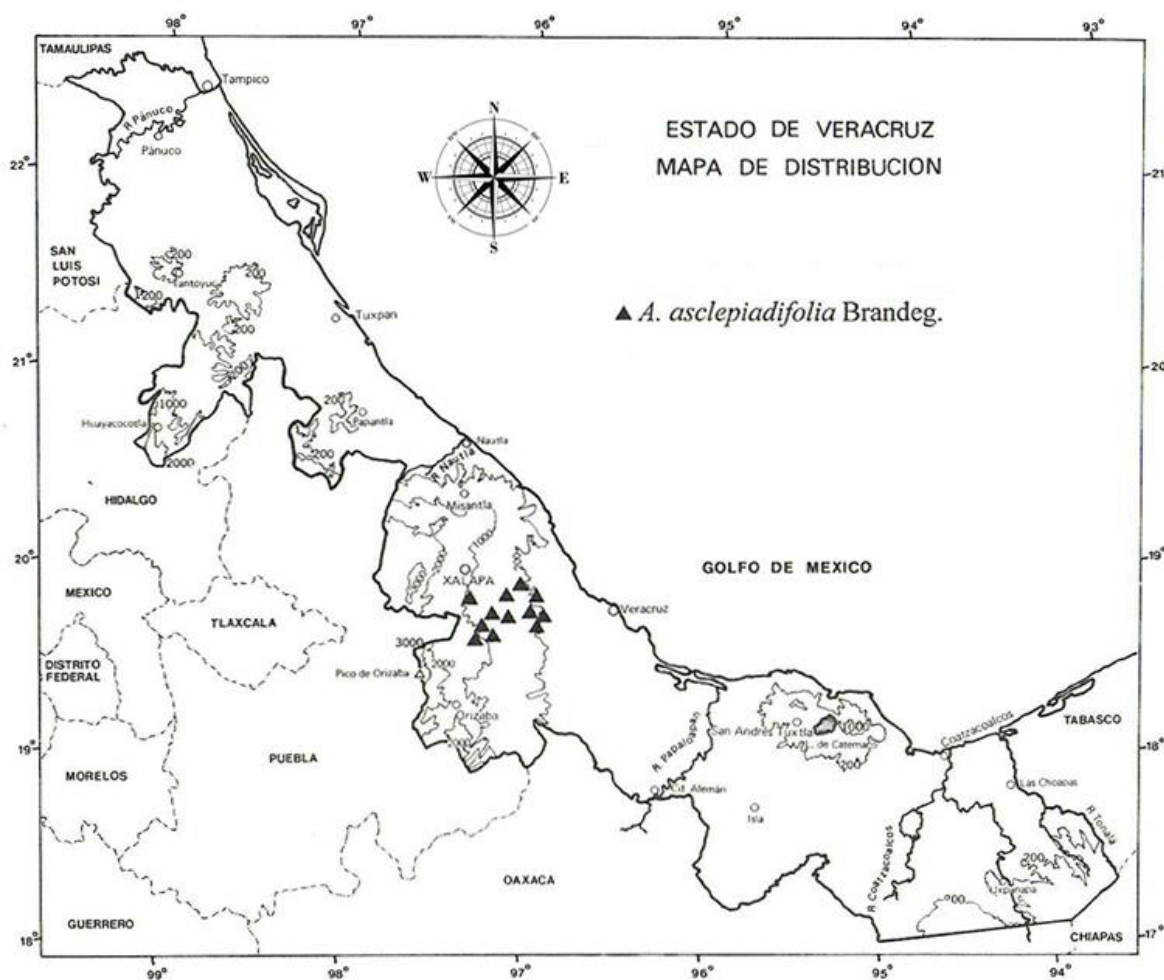


Figura 2. Distribución de *A. asclepiadifolia*

*Ilustración tomada de Ortega (1985)

2.4.3. Usos

A. asclepiadifolia se conoce como guaco, patito, raíz de guaco. Al poseer propiedades medicinales, las personas que conocen de sus usos la utilizan para combatir la desintería, dolores, dolores estomacales, diarrea y principalmente mordeduras de serpientes (Cano, 1997; Ortega y ortega, 1997; Gómez-Pompa *et al.*, 2010).

2.5. Diversidad genética

Cuando los biólogos dejaron de considerar a los organismos separados de los genotipos individuales conjuntando los principios de la evolución darwiniana con la genética mendeliana, empezaron a pensar en las poblaciones como un conjunto de genes a través del análisis de “las frecuencias de sus diferentes alelos”. Esto último viene a ser el principio de una nueva rama de la biología: la genética de poblaciones, resultado de la conjunción de las disciplinas anteriores. Una población, es un conjunto de organismos de la misma especie con capacidad de entrecruzarse y “comparten una localización en el espacio y en el tiempo”; por consiguiente, la totalidad de los alelos de todos los genes de los individuos que conforman a una población se conoce como reservorio génico (Curtis *et al.*, 2006).

Los cambios en la frecuencia de los alelos de un reservorio génico de una generación a la siguiente, desde el punto de vista de la genética de poblaciones, da cuenta de la evolución de un genotipo particular para tener éxito reproductivo (adecuación=fitness). En general “los progenitores engendran descendientes parecidos a sí mismos, sin embargo, para que ocurra evolución deben producirse variaciones entre los individuos”. Uno de los propósitos de la genética de poblaciones moderna es investigar la amplitud de esta variabilidad y de cómo estas variaciones se mantienen en los reservorios génicos. “El análisis a nivel molecular constituye un método más reciente para estimar la variabilidad”. A partir de 1985 con el desarrollo de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) fue posible estudiar la variabilidad a nivel del ADN y “la posterior secuenciación de los productos de amplificación de la PCR han permitido poner de manifiesto un amplio intervalo de variabilidad oculta” (Curtis *et al.*, 2006).

La diversidad o variabilidad genética se ha definido como “la habilidad genética para variar”, y en consecuencia es la “base del progreso genético” para que las especies respondan a los cambios en los ambientes y a la selección. Esta diversidad puede evidenciarse mediante marcadores moleculares y cuantificarse a partir de métodos

que resumen la información de forma más manejable (Aranguren-Méndez *et al.*, 2001; Piñero *et al.*, 2008; Ruiz *et al.*, 2015; Watson *et al.*, 2016).

Desde tiempos prehistóricos, el hombre ha seleccionado y mejorado a numerosas especies basándose en el fenotipo. “Las mejoras genéticas eran posibles gracias a la variabilidad génica, a la heredabilidad del carácter, a la eficiencia e intensidad de la selección aplicada, y al tiempo necesario para realizar un ciclo de selección”. Pero se desconocía el número y efecto de genes implicados en la expresión de un carácter, la localización de estos genes y su función biológica. Esta serie de características se conocen como marcadores morfológicos y han sido empleados en la taxonomía. No obstante, algunos *primers* pueden ser ambiguos porque las características morfológicas, que son su base, son influenciadas en gran medida por el ambiente donde se desarrollan, además de que, por lo general sólo se pueden identificar y medir en individuos completos o adultos, aunque no todos los caracteres fenotípicos son ambiguos. Muchos grupos de organismos están basados en caracteres más claros, precisos y estables (Claros-Díaz, 2010).

La diversidad genética es de fundamental importancia en la continuidad de una especie, ya que proporciona la adaptación necesaria ante las condiciones prevalecientes en el ambiente, tanto de tipo biótico como abiótico y, además, permite modificar la composición genética para hacer frente a los cambios que se generen en el hábitat. El primer estudio necesario para la supervivencia de una especie es el conocimiento del nivel de diversidad genética (Van Delden, 1992 citado por Ruíz, 2014; Chung y Chung, 2010).

La genética de poblaciones estudia los patrones y causas de la diversidad genética en las poblaciones, e incluye varios “conceptos que descomponen la variación genética en diferentes factores” (Piñero *et al.*, 2008). No obstante que la diversidad genética es considerada como sinónimo de la heterocigosidad (Goldstein y Schlotterer, 2001), una serie de estimados, resultado del análisis mediante diversos

programas genéticos permiten tener una descripción más detallada de dicha diversidad.

2.5.1. Métodos de estudio para la diversidad genética

Se ha descrito una cantidad muy importante de métodos en la literatura de la genética de poblaciones que sirven para estimar la estructura y la diversidad de las especies. Las distintas medidas de estructura genética están relacionadas entre sí, y se basan en analizar las diferencias en las frecuencias alélicas, de forma que las pruebas más sencillas solamente comparan estadísticamente estas últimas (Piñero *et al.*, 2008).

La estructura genética de una población viene determinada por su historia evolutiva y expresa la cantidad de diversidad genética que alberga y cómo se reparte dentro de la población. Para estudiarla, se analizan las frecuencias de alelos, que miden la variabilidad genética, y la frecuencia de genotipos, que expresan el modo en que la variabilidad genética se distribuye entre los individuos (Piñero *et al.*, 2008).

Otros estimadores como el estadístico F y sus análogos (F_{IS} , F_{IT} y F_{ST}), sirven para comparar la diferenciación genética entre poblaciones de diferentes especies, con base en la proporción de la variación genética dentro y entre poblaciones. Además, a partir de estos estimadores, se puede definir la importancia de la deriva génica y el flujo génico como número de migrantes por generación o Nm (Piñero *et al.*, 2008).

Existen métodos indirectos para estimar el flujo génico entre poblaciones, cuyo fundamento está en el análisis de la distribución espacial de sus alelos en las poblaciones, “de esta manera se hacen inferencias de los niveles o patrones de flujo génico en las poblaciones”. Uno de los métodos genéticos estimados y empleados con este fin, es el estadístico F_{ST} (coeficiente de endogamia dentro de las subpoblaciones en relación al total) cuando este parámetro “llega al equilibrio entre deriva génica y migración en el modelo de islas infinitas”. “De acuerdo con este

modelo, Wright encontró que una tasa de migración >1 en cada generación es suficiente para contrarrestar la diferenciación genética debida a deriva génica” (Piñero *et al.*, 2008).

Con las medidas de “distancia genética” entre pares de poblaciones, es posible hacer comparaciones entre poblaciones, variedades o subespecies, y especies. La más conocida de ellas “es la distancia genética de Nei, que refleja el número de sustituciones nucleotídicas en el ADN”. Adicionalmente, las distancias genéticas entre pares de poblaciones se pueden utilizar para “reconstruir las genealogías de poblaciones, ya sea mediante métodos de agrupamiento como el Unweighted Pair-Groups Method with Arithmetic Averages (UPGMA) o Neighbor-joining, o usar estas distancias en análisis de aislamiento por distancia, graficando las distancias genéticas pareadas como función de la distancia geográfica que separa a las poblaciones, bajo el supuesto de que las diferencias genéticas se incrementan con la distancia que las separa, con una transformación logarítmica y usualmente analizando la confiabilidad con una prueba de Mantel” (Piñero *et al.*, 2008).

2.5.1.1. Marcadores moleculares

Los marcadores moleculares corresponden casi a cualquier gen cuya expresión permite un efecto cuantificable u observable (fenotípico). Estos marcadores pueden evaluarse desde los primeros días del desarrollo de un organismo, empleando todo el individuo o parte de él. Existen dos tipos de marcadores moleculares: los bioquímicos y los de ADN. Los marcadores bioquímicos incluyen a las proteínas, las isoenzimas o aloenzimas, y se consideran la primera generación de marcadores moleculares; para su identificación se emplea la técnica de electroforesis, sin embargo, su desventaja es que no son capaces de detectar suficiente polimorfismo entre variedades o especies próximas, en cambio los marcadores de ADN corresponden a la nueva generación de marcadores moleculares y solucionaron el problema que tienen las isoenzimas (Claros-Díaz, 2010).

Los marcadores moleculares se basan en la técnica de reacción en cadena de polimerasa (PCR), una técnica que permite la ampliación de regiones específicas

del ADN dependiendo de los cebadores (*primers*) usados. La reacción se lleva a cabo en termocicladores y en un tubo de reacción que contiene el ADN a amplificar, al cual se le adiciona una solución amortiguadora, la enzima ADN polimerasa, cloruro de magnesio y los *primers* y un conjunto de desoxinucleótidos (Rentarías, 2007). Existen varios tipos de marcadores de ADN como son los RFLP (Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción), RAPD (Fragmentos polimórficos amplificados al azar), AFLP (Polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados), SSR (Secuencia Simple Repetida ó microsatélites), microarrays (microarreglos), ISSR (secuencias repetidas intersimples), Secuencias de ADN de cloroplasto, etc. (Hao *et al.*, 2006; An *et al.*, 2015; Knox *et al.*, 2016).

2.5.1.2. Marcadores repetición de secuencia Inter simples (ISSR)

Nos permiten obtener los niveles de variación en las regiones microsatélite abundantes en todo el genoma de la planta (An *et al.*, 2015). Este tipo de cebadores han demostrado ser más informativos y productivos que la amplificación aleatoria de marcadores de ADN polimórfico (RAPD) y revelan niveles más altos de polimorfismo. Cuestan menos y son más fáciles de usar que el polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados (AFLP) y no requieren un conocimiento previo de las secuencias flanqueantes, como las repeticiones de secuencias simples (cortas) (SSR) (An *et al.*, 2015; Knox *et al.*, 2016). La variación alélica en los ISSRs consiste de la presencia o ausencia de los productos amplificados (Rentarías, 2007; Knox *et al.*, 2016). Estos *primers* han sido utilizados en especies cultivadas, pero recientemente se han utilizado en estudios de diversidad genética y estructura poblacional de especies endémicas o silvestres (Knox *et al.*, 2016). Además, el enfoque ISSR no necesita ADN altamente purificado, técnica experimentada y gasto significativo en comparación con AFLP (polimorfismo de longitud de fragmento amplificado). Por lo tanto, estos cebadores se usan ampliamente para revelar la variación genética de las plantas (Hao *et al.*, 2006).

3. JUSTIFICACIÓN

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2019), las mordeduras de serpientes son un problema de salud pública desatendido en muchos países tropicales y subtropicales. Cada año se producen unas 5.4 millones de estos casos, que causan entre 1.8 y 2.7 millones de envenenamientos y entre 81,410 y 137,880 muertes, incluidas amputaciones y otras discapacidades permanentes. La mayoría de los casos se presentan en África, Asia y Latinoamérica. En Asia se registran anualmente hasta 2 millones de personas envenenadas por mordeduras de serpientes, mientras que en África se calcula que cada año de 435,000 a 580,000 ocurrencias que necesitan tratamiento.

En México, la Secretaría de Salud registró para el 2016 un total de 4,095 casos por mordeduras de serpientes. Las entidades donde más casos se registraron fueron Veracruz, con 434 personas; Oaxaca, con 432; San Luis Potosí, con 355; Puebla, con 307 y Guerrero, con 303 casos (Secretaría de Salud, 2016). El Grupo Mexicano para el Estudio de la Medicina Intensiva (GMEMI), menciona que cuatro de cada diez accidentes por mordedura de serpiente se suscitan en el ámbito laboral agrícola (Herrera-Hernández y Cano, 2019).

Una de las especies utilizadas como contra veneno en casos de mordedura de serpientes en nuestro país, es *A. asclepiadifolia*. La importancia para su conservación radica en que es una planta endémica, y su distribución se encuentra muy restringida. Solo se localiza en 11 municipios de la zona centro del estado de Veracruz, en los cuales presenta presiones antropogénicas que la ponen en riesgo. Además, el uso medicinal del guaco (*Aristolochia* L.) como anticrotálico ha sido reportado desde la época prehispánica hasta el presente (Hernández, 1959).

La última recolecta que se tiene registrada hasta la fecha de acuerdo con material depositado en el herbario XAL, fue realizada en el 2005 en el Rancho Santa Rosa, municipio de Atoyac, por Acevedo R. y se desconoce su importancia, así como su

presencia, abundancia y diversidad genética lo que aseguraría su sobrevivencia. Por ello, fue prioritario que en el presente trabajo se realizara una exploración de los sitios donde han sido recolectadas. De acuerdo con los registros aportados por el Herbario XAL.

Debido a que, en la búsqueda bibliográfica realizada en esta investigación no se detectaron estudios etnobotánicos sobre *A. asclepiadifolia*, en el presente trabajo se tomaron en cuenta los usos medicinales prehispánicos y se documentaron los actuales que le dan a la especie en cinco localidades del centro de Veracruz.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Qué uso medicinal se le da *Aristolochia asclepiadifolia* (guaco) en cinco de los 11 municipios del centro de Veracruz donde se distribuye esta especie?

¿Cuál sería el método de extracción ADN adecuado para *A. asclepiadifolia* (guaco), el cual pueda servir como base para estudios posteriores de diversidad genética?

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Documentar el uso medicinal del guaco (*Aristolochia asclepiadifolia*) en la zona centro del estado de Veracruz y estandarizar un método adecuado para las bases para el estudio de su diversidad genética.

5.2. Objetivos específicos

5.2.1. Registrar su uso medicinal en los sitios de estudio con enfoque etnobotánico cualitativo y cuantitativo.

5.2.2. Estandarizar un protocolo adecuado para la especie a través de la evaluación de dos métodos para la extracción de ADN y realizar una propuesta metodológica para su estudio de diversidad genética

6. MÉTODO

6.1. Selección de los sitios de recolecta y localidades del estudio etnobotánico

Los sitios de recolecta de ejemplares de herbario, el trabajo etnobotánico y la muestras para el análisis genético se eligieron de acuerdo con la distribución geográfica citada por Ortega y Ortega (1997) e información del Herbario XAL. Debido a que está registrada en numerosas localidades solo se seleccionaron aquellas donde se verificó su presencia actual, y de acuerdo con ello se consideraron las siguientes cinco localidades para realizar el estudio.

Monte Blanco, Municipio de Teocelo, Veracruz, situada entre las coordenadas 19° 22' 42.5" norte (N) -96° 56' 02.9" oeste (O), a una altitud de 980 metros sobre el nivel del mar (msnm). El tipo de vegetación presente es bosque mesófilo de montaña. (Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, 2009).

Plan del Río, Municipio de Emiliano Zapata, Veracruz, ubicada entre las coordenadas 19° 24' 05" N -96° 39' 03" O, a una altitud de 304 msnm. El tipo de vegetación presente es bosque tropical caducifolio. (Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, 2009).

Paso de la Milpa, Municipio de Actopan, Ver., está situada entre las coordenadas 19° 25' 41" N -96° 36' 45" O, a una altitud de 217 msnm. El tipo de vegetación presente es bosque tropical caducifolio. (Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, 2009).

La Ceiba, Municipio de Puente Nacional, Veracruz, se encuentra entre las coordenadas 19° 15' 10" N -96° 34' 43" O, a una altitud de 291 msnm. El tipo de vegetación presente es bosque tropical caducifolio. (Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, 2009).

Acazónica, Municipio de Paso de Ovejas, Ver. se sitúa entre las coordenadas 19° 14' 02" N -96° 34' 28" O, a una altitud de 304 msnm. El tipo de vegetación presente es bosque tropical caducifolio. (Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, 2009).

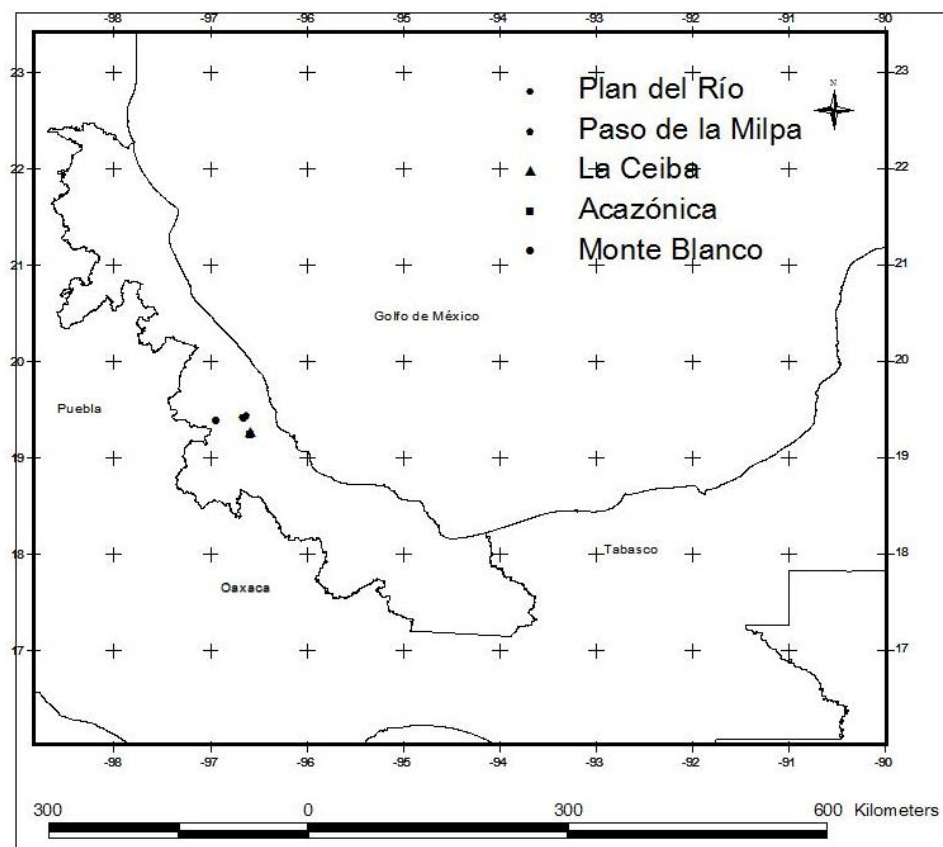


Figura 3. Sitios de recolecta y localidades del estudio etnobotánico

*Elaborado en Arc view 3.5 por Herrera-Hernández, 2019

6.2. Investigación etnobotánica cualitativa

6.2.1. Recolecta de ejemplares de herbario

De cada población de *A. asclepiadifolia* y de cada uno de los cinco sitios donde está registrada, se recolectaron tres ejemplares de herbario con el fin de identificar la especie y respaldar este estudio. La recolecta se llevó acabo de acuerdo con las especificaciones para su herborización propuestas por Sánchez-González y González (2007), Los ejemplares fueron depositados en los Herbario del CITRO, del Instituto de Ecología, A.C (XAL) y de la Facultad de Biología (XALU).

6.2.2 Registro del uso medicinal

La etnobotánica cualitativa se realizó a través de entrevistas abiertas y semi-estructuradas, y se utilizó como base una ficha (Anexo 1) para registrar la información de los usos de la especie de estudio (Hurtado *et al.*, 2006; Gheno-Heredia *et al.*, 2011; Castro-Guzmán, 2014) se seleccionó al azar a 20 personas (sin importar el género) en cada sitio de estudio, ello sumó un total de 100 entrevistados, cuyas edades oscilan entre los 30 y 80 años (Alexiades, 1996), Esta ficha incluye información sobre el nombre local, usos medicinales, partes utilizadas, forma de preparación, vía de administración, dosis y tratamiento, así como otras observaciones. En esta etapa se obtuvo información cualitativa y descriptiva de las especies y sus usos medicinales.

6.3. Investigación etnobotánica cuantitativa

Para la investigación etnobotánica cuantitativa se determinaron dos índices: el nivel de uso significativo (UST) (TRAMIL, 1995) y el nivel de Fidelidad (FL) según Friedman *et al.*, (1986) que incluye al Rango de prioridad (ROP):

6.3.1. Índice de nivel de uso significativo (UST)

Para calcular el valor de UST para cada afección y verificar su aceptación cultural, se utilizó la metodología que expresa que los usos medicinales citados con una frecuencia superior o igual al 20%, por las personas encuestadas, pueden considerarse significativos desde el punto de vista de su aceptación cultural y, por lo tanto, merecen su evaluación y validación científica (Bermúdez *et al.*, 2018). El UST se calculó dividiendo el número de citaciones de uso para cada afección, entre el número de informantes encuestados, a través de la siguiente ecuación:

$$UST = UE * 100 / Nis$$

Dónde: UE = número de citaciones para cada afección y Nis = número de informantes encuestados.

6.3.2. Índice de Friedman y colaboradores (1986)

$$FL = Ip / Iu * 100\% \text{ y } ROP = FL * RLP$$

Se calculan los valores de uso de las especies derivados del cálculo del nivel de fidelidad (FL) que es la razón del número de informantes, quienes reportaron el mismo uso medicinal para una especie dada (I_p) y el número total de informantes entrevistados que mencionaron la planta para algún uso (I_u), se considera también el nivel de popularidad relativa (RPL) es un numero entre cero y uno el cual se obtiene a partir de la división del número total de informantes que mencionaron el uso medicinal de la planta para un mismo padecimiento, entre el total de informantes encuestados (Hurtado *et al.*, 2006; Gheno-Heredia *et al.*, 2011; Castro-Guzmán, 2014).

Una vez terminada la parte etnobotánica se procedió con los experimentos de la estandarización del protocolo de Extracción de ADN.

6.4 Métodos de extracción de ADN

6.4.1. Recolecta de muestras

Se tomaron tres hojas jóvenes de cada individuo, se limpiaron con solución jabonosa al 5%, se enjuagaron con agua destilada y se limpiaron con un paño humedecido con alcohol 70%, seguido de agua destilada por último se retiró el exceso de humedad con papel. Las hojas se cortaron en cuartitos de 1cm² y se guardaron con gel de sílice en bolsas herméticamente cerradas hasta su uso estudio en el laboratorio (Galván-Hernández *et al.*, 2015).

6.4.2. Extracción ADN

Para este proceso, se utilizaron 20 ejemplares de *A. asclepiadifolia* por cada sitio de estudio, en total fueron 100 muestras para para ser trabajadas en el laboratorio; a todas se les aisló el ADN genómico, utilizando dos métodos diferentes de extracción.

6.4.2.1. Método Qiagen

Se utilizó y aplicó el protocolo con algunas modificaciones del kit de extracción de ADN de plantas. Se pesaron de 25 a 45 mg de muestra sin nervaduras (Figueira *et al.*, 1992 y 1994) y se pulverizaron un mortero de porcelana. El material molido se colocó en un tubo, se le agregaron 400 µl de buffer AP1 y cuatro µl de RNasa, se agitó y mezcló, posteriormente la muestra se incubó por 90 minutos a 65°C. Después del período de incubación al tubo se agregaron 130 µl de Buffer AP2, se enfrió durante cinco minutos en hielo picado y después se centrifugó durante cinco minutos a 14000 rpm. El sobrenadante se conservó y el precipitado se desechó.

El sobrenadante fue transferido a un tubo QIAshredder (púrpura con filtro), se centrifugó por dos minutos a 14000 rpm, posteriormente se desecharon los sólidos retenidos en el filtro y se conservó el líquido filtrado. A este último se le agregaron

675 µl de Buffer AP3E y fue transferido a una columna DNeasy (blanca con filtro) y centrifugado durante un minuto a 7800 rpm, la solución recolectada se desechó, y se repitió este paso con el material retenido en el filtro. Se adicionaron 500 µl de Buffer AW a la columna DNeasy y se centrifugó por un minuto a 7800 rpm. Se desechó la solución conservando los sólidos retenidos en el filtro, nuevamente se agregaron 500 µl de Buffer AW a la columna DNeasy, se centrifugó durante dos minutos a 14000 rpm, se descartó la solución recolectada y se conservó el material sólido del filtro (Hernández, 2010; Castro-Guzmán *et al.*, 2015; Herrera-Hernández, 2017).

Se colocó la columna DNeasy con el filtro (y el material sólido) sobre un tubo recolector, se agregaron 80 µl de agua bidestilada y se incubó a cinco minutos a temperatura ambiente. Se centrifugó un minuto a 7800 rpm, se desechó el filtro y se conservó el tubo con el líquido que contiene el ADN concentrado, esta solución concentrada de ADN se guardó a 4°C (Hernández, 2010; Castro-Guzmán *et al.*, 2015; Herrera-Hernández, 2017).

6.4.2.2. Método Bromuro de cetil-trimetil amonio (CTAB)

La muestra fue macerada y re-suspendida en buffer CTAB 1500 µl (tris-HCl 20 mM pH 8,25; EDTA 25 mM; NaCl 25 mM; PVP 1%; SDS 1 %). La suspensión se incubó con cuatro µl de Beta mercaptoetanol durante dos horas a 65 °C. posteriormente se dejó enfriar en baños de hielo hasta alcanzar la temperatura ambiente se le adicionan 500 µl de cloroformo-isoamílico (24:1) se agita y se centrifuga a 6 000 rpm por 8 min. Se obtiene 1 ml del sobrenadante, se transfiere a un tubo limpio y se agrega 1ml de cloroformo-isomílico (24:1) se centrifuga nuevamente a 6000 rpm durante 8 min. Se transfieren 900 µl del sobrenadante a un tubo limpio, adicionando el 70 % de alcohol isopropílico se deja incubar durante 1 hora a -20 °C. se centrifuga a 12000 rpm durante 11 min, se decanta el sobrenadante y posteriormente se hacen dos lavados con etanol absoluto (99%), centrifugando a 12000 rpm durante 11 min decantando el sobrenadante y conservando el pelt. Por último, se evaporan restos de alcohol en estufa a 55 °C, una vez eliminados los rastros de etanol se adicionan

50 µl de agua bidestilada estéril y se guarda la muestra a -20 °C (Galván-Hernández *et al.*, 2015).

La concentración de ADN extraído por los diferentes métodos se estimó espectrofotométricamente mediante su absorbancia a 260 nm (Galván-Hernández, 2015). La pureza de la muestra se examinó mediante la relación de las absorbancias a 260 nm y 280 nm y por electroforesis en gel de agarosa (0,8 % en tampón TBE (tris-borato 0,045 M; EDTA 0,001 M) que contenía bromuro de etidio (0,5 mg/mL) y utilizando un transiluminador UV (Hernández, 2010; Castro-Guzmán *et al.*, 2015; Galván-Hernández *et al.*, 2015; Herrera-Hernández, 2017).

.

7. RESULTADOS Y DISCUSION

7.1. Usos medicinales del guaco en las zonas de estudio

7.1.1. Monte Blanco, Mpio. Teocelo, Veracruz

De las personas entrevistadas 17 reconocieron la planta con nombre local, uso medicinal, su forma de preparación dosis y tratamiento empleados; tres de los entrevistados no la reconocieron, aunque si sabían que crecía en las Barrancas de Monte Blanco (Tabla 3).

Tabla 3. Uso medicinal del guaco (*A. asclepiadifolia*) en Monte Blanco

Problemas de salud	Partes usadas	Forma de preparación	Dosis y tratamiento	Observaciones
Mordedura de serpiente	Tallo	Cinco trozos de aproximadamente 2.5 cm del tallo maduro, una semilla seca de crucetillo (<i>Randia monantha</i> Benth) y un trozo de 3 a 5 cm de contraveneno, en este caso se usa contrayerba (<i>Dorstenia contrajerva</i> L.). Se coloca todo en un litro de aguardiente “del más fuerte”	Después de la mordedura, tomarse un trago del “vino”, aprox. unos 60 mililitros.	Después de tomar el “vino” se debe acudir al hospital más cercano. Esto no es un antídoto, pero ayuda a retardar el efecto del veneno, no se recomienda usar mucho, pues daña los riñones
Cansancio	Tallo	se cortan cinco trozos de tallo maduro aprox. 2.5cm y se colocan en un litro de aguardiente	Una cucharada sopera (aprox. 5 ml) cada semana	No se recomienda tomar todos los días.
Dolor de estomago			Una cucharada sopera	Cada vez que haya dolor
Prevención de cáncer	Hojas	Se hierven cinco hojas en un litro de agua	Se toma como agua de tiempo un vaso (aprox. 250 ml) diario	----- -----

El análisis de las entrevistas realizadas en Monte Blanco, demostró que del 100% de los entrevistados, el 70% reconoció al guaco (*A. asclepiadifolia*) como una especie medicinal, el 15% no lo conoce y el 15% si lo reconoce, pero ignora los usos medicinales (Figura 4. grafico a).

Del 70%, el 36% mencionó que lo utilizan contra mordedura de serpiente, el 28% para los dolores estomacales, el 28% para el cansancio y el 8% que previene el cáncer (Figura 4. grafico b); del 70% de los entrevistados que conocen la utilidad medicinal del guaco, el 100% utiliza el tallo y solo 8% las hojas (aquí da una suma de 108% porque un informante utiliza las hojas para aliviar una afección y el tallo para otra); el 64% heredó este saber de sus abuelos, el 34% aprendió de sus amigos/vecinos y el ningún informante aprendió esto de sus papás (Figura 4. grafico c); el 36% afirma que transmite este conocimiento a sus hijos, 22% a sus vecinos y el 42% no lo comunica con nadie (Figura 4. grafico d).

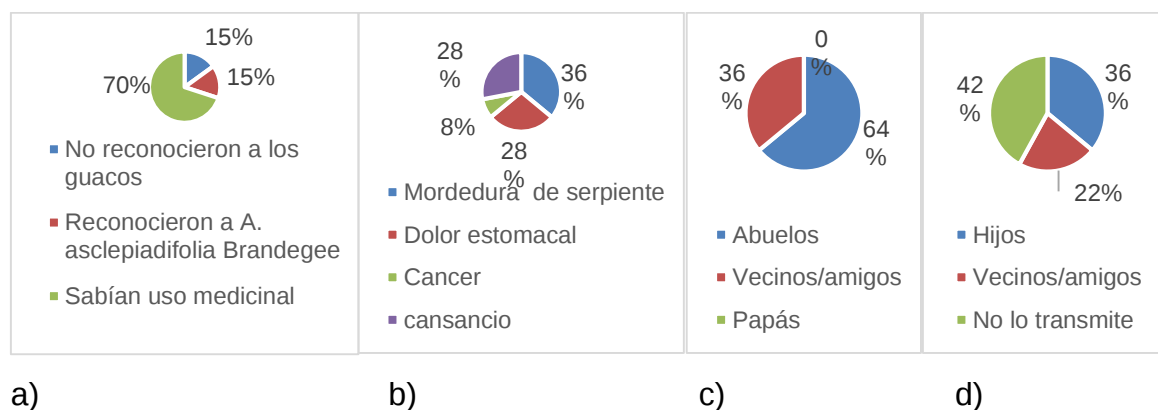


Figura 4 Análisis de entrevistas Monte Blanco. a) conocimiento acerca de *A. asclepiadifolia* Brandegees; b) afecciones tratadas; c) origen del conocimiento; d) transmisión del conocimiento.

7.1.2. Plan del Rio, Mpio. Emiliano Zapata, Veracruz

De las personas entrevistadas 12 reconocieron su nombre, uso medicinal, forma de preparación, dosis y tratamiento empleados; seis si la conocían, pero ignoraban su uso medicinal y dos no la conocían. Se mencionó que su escasez se debe a que es considerada como maleza (Tabla 4).

Tabla 4. Uso medicinal del guaco (*A. asclepiadifolia*) en Plan del Río

Problemas de salud	Partes usadas	Forma de preparación	Dosis y tratamiento	Observaciones
Mordedura de serpiente	Tallo	Cinco trozos de aprox. 5 cm del tallo maduro, cinco semillas secas de crucetillo (<i>Randia monantha</i> Benth). Se colocan los ingredientes en un litro de aguardiente.	Después de la mordedura, tomar unos 100 mililitros del “vino” solo una aplicación	Después de tomar el “vino” se debe acudir al hospital más cercano. Esto no es un antídoto, pero ayuda a retardar el efecto del veneno.
Cansancio		Cinco trozos de 6 cm aproximadamente de tallo maduro, se colocan en cinco litros de aguardiente.	Tomar 50 ml tomar una vez, no se recomienda hacerlo todos los días	Después de la jornada laboral se toma un poco para relajarse. Cabe aclarar que también lo utilizan como saborizante para el aguardiente.
Diarrea Dolor estomacal			Una cucharada, solo una aplicación	No se recomienda tomar seguido

El análisis de las entrevistas realizadas en Plan del Río, demostró que del 100% de los entrevistados, el 60% reconoció al guaco (*A. asclepiadifolia*) como una especie medicinal, el 10% no lo conoce y el 30% si lo reconoce, pero ignora los usos medicinales (Figura 5. grafico a)

Del 60%, el 50% mencionó que lo utilizan contra mordedura de serpiente, el 41% para los dolores estomacales, el 41% para el cansancio, el 9% para dolores musculares y el 16% como antidiarreico (la suma de los porcentajes supera el 100% debido a que los entrevistados mencionaron más de una afección tratable con guaco) (Figura 5. grafico b); del 60% de los entrevistados que conocen la utilidad medicinal del guaco, el 100% utiliza el tallo; el 33% heredó este saber de sus abuelos, el 42% aprendió de sus amigos y vecinos y el 25% de sus papás (Figura 5. grafico c); el 8% afirma que transmite este conocimiento a sus hijos, 34% a sus vecinos/amigos y el 58% no lo comunica con nadie (Figura 5. grafico d).

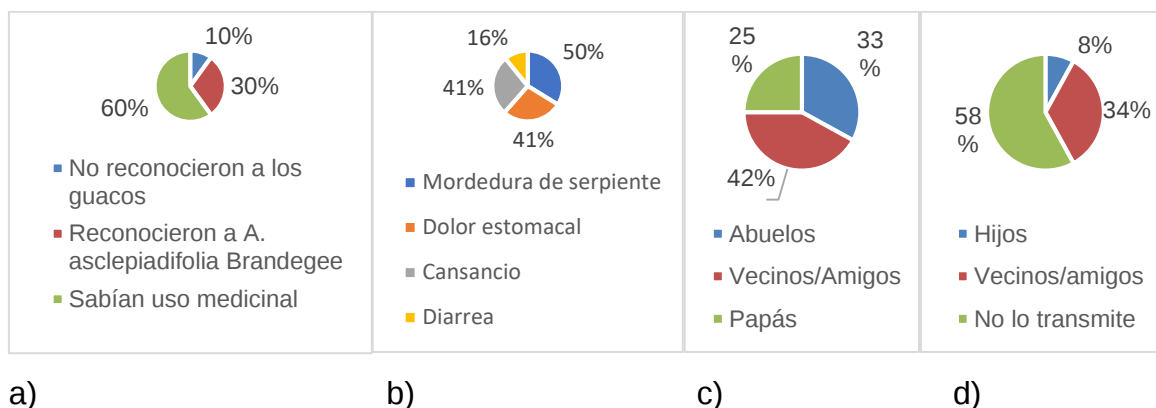


Figura 5. Análisis de entrevistas Plan del Río. a) conocimiento acerca de *A. asclepiadifolia* Brandegees; b) afecciones tratadas; c) origen del conocimiento; d) transmisión del conocimiento.

7.1.3. Acazónica, Mpio. de Paso de Ovejas, Veracruz

De los pobladores entrevistados, diez reconocieron el guaco, el uso, la forma de preparación y empleo, y mencionaron que crece cerca de los ríos y barrancas, el resto de los entrevistados no reconoció la planta. (Tabla 5).

Tabla 5. Uso medicinal del guaco (*A. asclepiadifolia*) en Acazónica

Problemas de salud	Partes usadas	Forma de preparación	Dosis y tratamiento	Observaciones
Mordedura de serpiente	Tallo	Cinco trozos de 10 cm aprox. de tallo maduro, tres semillas secas de crucetillo (<i>Randia monantha</i> Beth). Se coloca todo en un litro de aguardiente "del más fuerte"	Después de la mordedura, tomarse un "buche" del preparado aprox. unos 100 mililitros Solo una aplicación	Después de tomar el preparado se debe acudir al hospital más cercano. Esto no es un antídoto, pero ayuda a retrasar el efecto del veneno.
Diarrea		Cinco trozos de aprox. 10 cm de tallo colocados en un litro de aguardiente	Una copita de aprox. diez ml Una sola toma	-----
Dolor estomacal			Una cucharada Solo tomar en caso de dolor	----

El análisis de las entrevistas realizadas en Acazónica, demostró que del 100% de los entrevistados, el 50% reconoció al guaco (*A. asclepiadifolia*) como una especie medicinal y el 50% no lo conoce (Figura 6. grafico a).

Del 50%, el 60% mencionó que lo utilizan contra mordedura de serpiente, el 40% para los dolores estomacales y el 20% como antidiarreico (Figura 6. grafico b); del 70% de los entrevistados que conocen la utilidad medicinal del guaco, el 100% utiliza el tallo; el 60% heredó este saber de sus abuelos, el 40% aprendió de sus amigos/vecinos y ninguno aprendió de sus papás (Figura 6. grafico c); el 40% afirma que transmite este conocimiento a sus hijos y el 60% no lo comunica con nadie (Figura 6. grafico d).

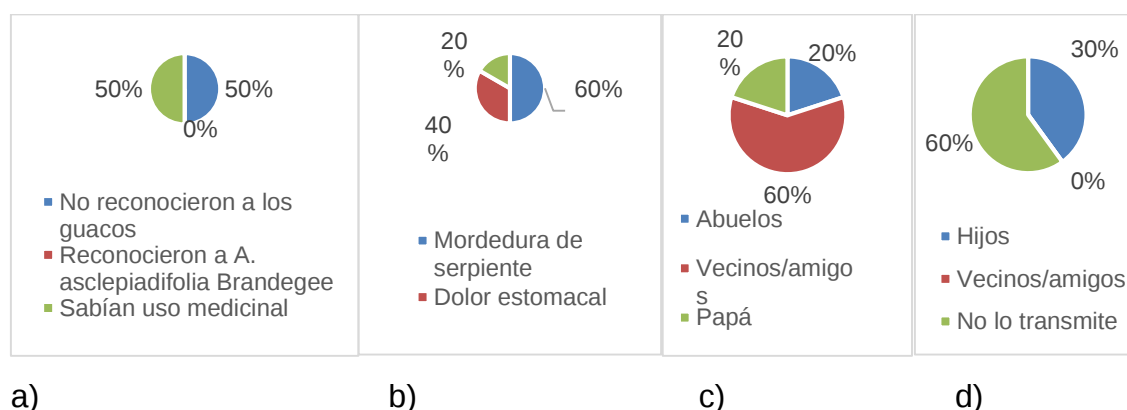


Figura 6. Análisis de entrevistas Acazónica. a) conocimiento acerca de *A. asclepiadifolia* Brandegei; b) afecciones tratadas; c) origen del conocimiento; d) transmisión del conocimiento.

7.1.4. Paso de la Milpa, Mpio. Actopan, Veracruz

De las personas entrevistadas diez reconocieron su uso para el tratamiento de diversas enfermedades, tres si la conocían, pero ignoraban su uso y siete no la reconocieron (Tabla 6).

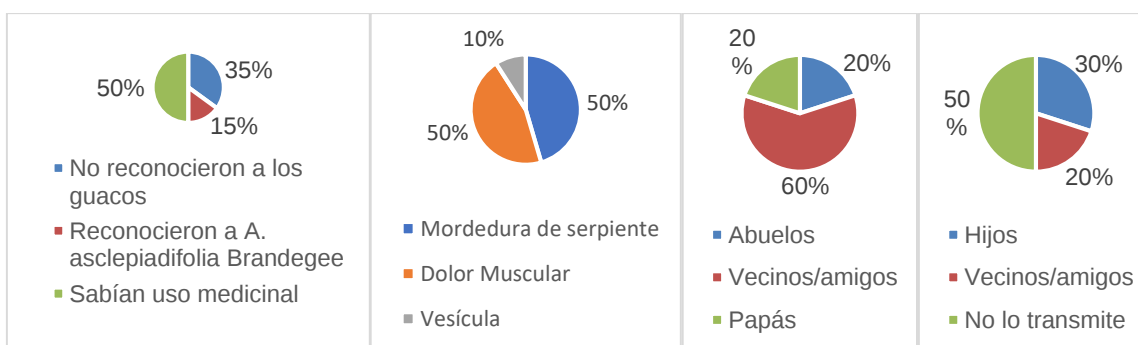
Tabla 6. Uso medicinal del guaco (*A. asclepiadifolia*) en Paso de la Milpa

Problemas de salud	Partes usadas	Preparación	Dosis y tratamiento	Observaciones
Mordedura de serpiente	Tallo	Un trozo de aprox. 5 cm de tallo maduro, seis semillas secas de crucetillo (<i>Randia monantha</i> Benth). Se coloca todo en un litro	Después de la mordedura, tomarse un trago de aprox. unos mililitros 100 ml y trasladarse al	No se considera como antídoto, pero ayuda a retardar el efecto del veneno, tampoco se recomienda su empleo en grandes dosis porque

		de aguardiente “del más fuerte”	hospital más cercano.	causa daños al organismo.
Dolor	Tallo	20 trocitos de aprox. 2.5 cm de un tallo maduro, cinco semillas secas de crucetillo (<i>Randia monantha</i> Benth). Se coloca todo en un litro de aguardiente.	Tomar de una a dos cucharadas.	Solo debe tomarse dos o tres veces por mes porque puede causar daños al organismo.
Vesícula	Hojas	Se hierven seis hojas en un litro de agua	Tomar diez mililitros	Tomar tres veces al día, cada tercer día.

El análisis de las entrevistas realizadas en Paso de la Milpa, demostró que del 100% de los entrevistados, el 50% reconoció al guaco (*A. asclepiadifolia*) como una especie medicinal, el 35% no lo conoce y el 15 % lo reconoció, pero no sabe acerca de su uso medicinal (Figura 7. grafico a).

Del 50%, el 50% mencionó que lo utilizan contra mordedura de serpiente, el 50% para los dolores musculares y el 10% para la vesícula (Figura 7. grafico b); del 50% de los entrevistados que conocen la utilidad medicinal del guaco, el 70% utiliza el tallo y el 30% utiliza las hojas; el 20% heredó este saber de sus abuelos, el 60% aprendió de sus amigos/vecinos y el 20 de sus papás (Figura 7. grafico c); el 30% afirma que transmite este conocimiento a sus hijos, el 20% con vecinos/amigos y el 50% no lo comunica con nadie (Figura 7. grafico d).



Del 45%, el 11% mencionó que lo utilizan contra mordedura de serpiente, el 44% para los dolores estomacales y el 56% para tratar dolores musculares (Figura 8. grafico b); del 45% de los entrevistados que conocen la utilidad medicinal del guaco, el 100% utiliza el tallo y 11% las hojas; el 44% heredó este saber de sus abuelos, el 44% aprendió de sus amigos/vecinos y el 11% de sus papás (Figura 8. grafico c); el 44% afirma que transmite este conocimiento a sus hijos, el 23% amigos/vecinos y el 33% no lo comunica con nadie (Figura 8. grafico d).

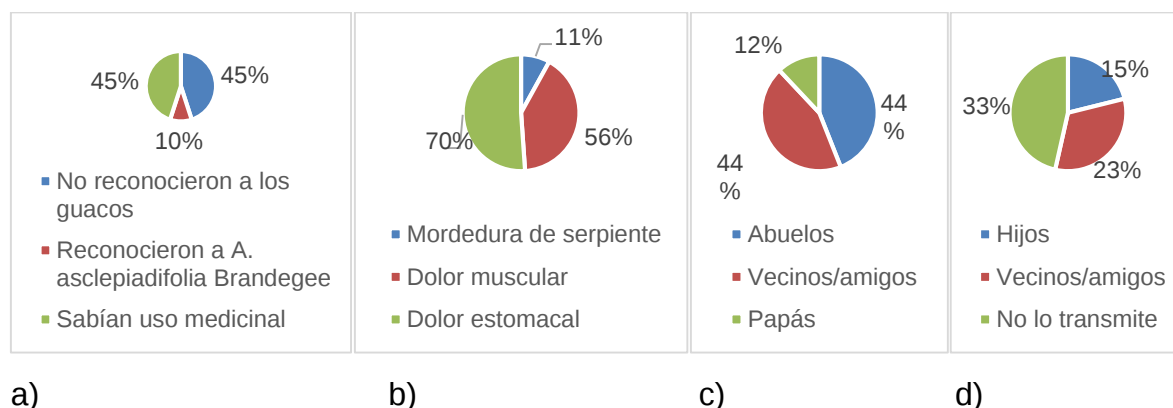
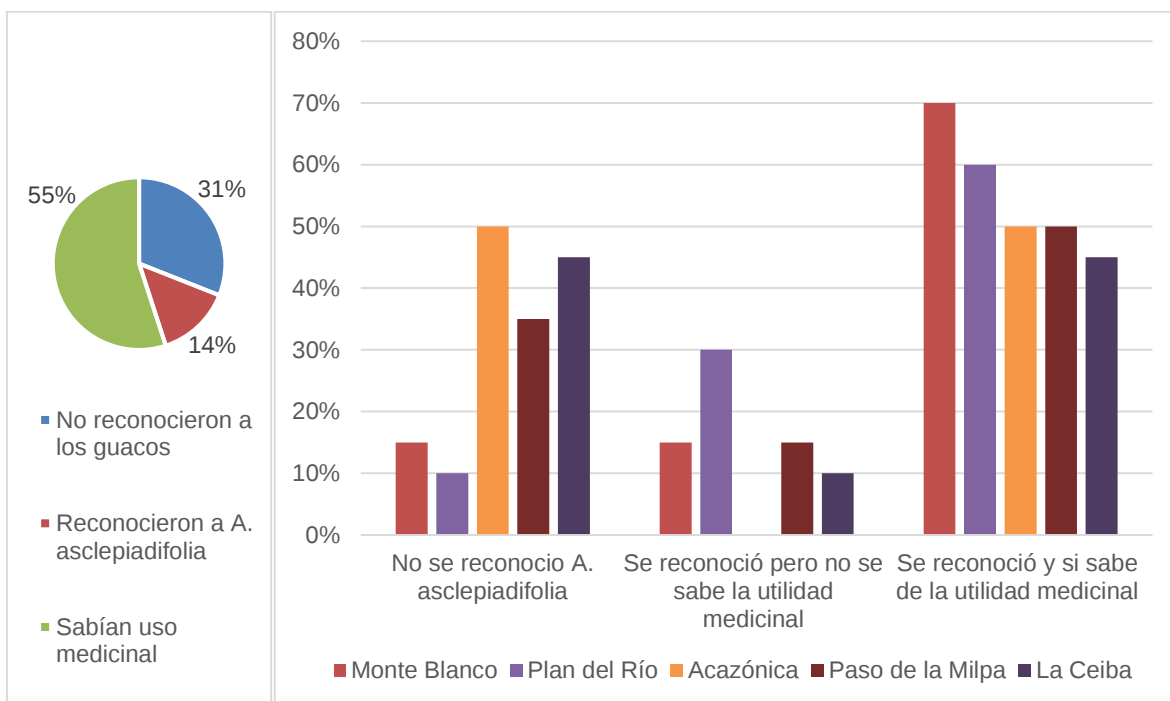


Figura 8. Análisis de entrevistas La ceiba. a) conocimiento acerca de *A. asclepiadifolia* Brandegees; b) afecciones tratadas; c) origen del conocimiento; d) transmisión del conocimiento.

7.2. Análisis general sobre el saber uso medicinal del guaco

El análisis general de todas las localidades entrevistadas demostró que del 100% de los entrevistados, el 55% reconoció al guaco (*Aristolochia asclepiadifolia*) como una especie medicinal, el 31% no lo conoce y el 14% si lo reconoce, pero ignora los usos medicinales (Figura 9 gráfico a).



a) b)
Figura 9. Conocimiento de la población sobre el uso medicinal de *A. asclepiadifolia*. a) General. b) Comparación entre en las cinco localidades

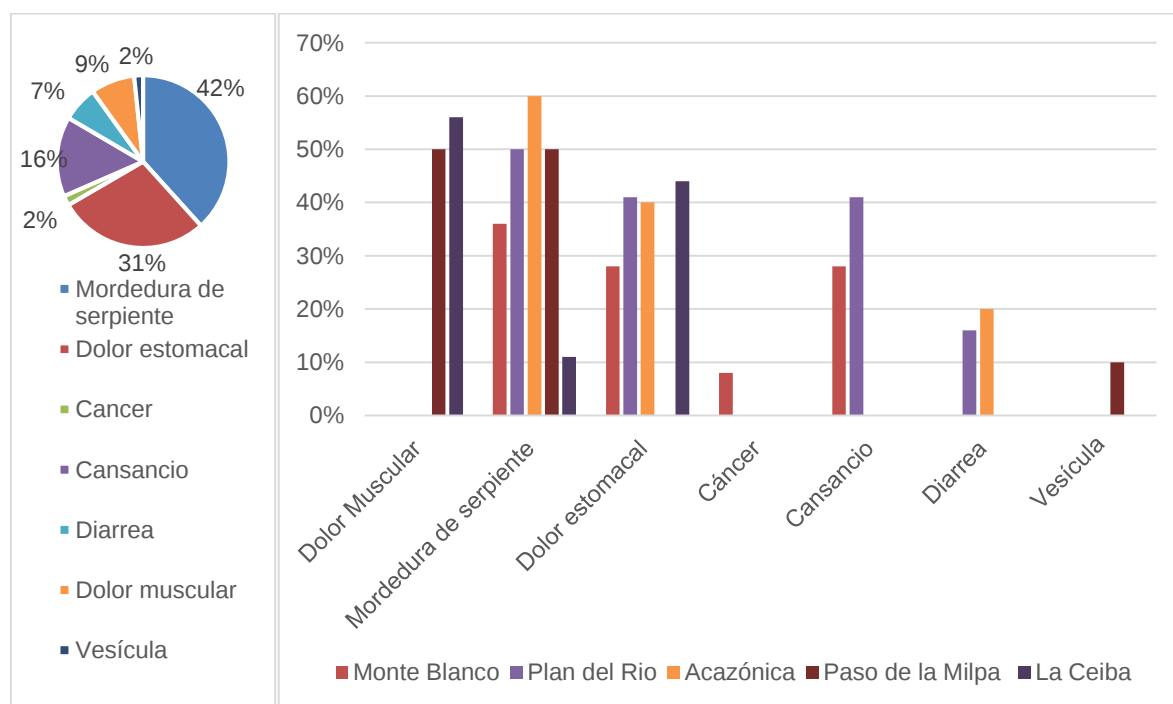
En la figura 9 (grafico b) se muestra la comparación del conocimiento en tres categorías, la primera se enfoca en el porcentaje de entrevistados que desconocen al guaco, la segunda sí reconoce *A. asclepiadifolia*, aunque desconozcan su uso medicinal y la última categoría muestra el promedio porcentual de los participantes que la reconocieron y mencionaron la utilidad medicinal.

Comparando las localidades en la primera categoría podemos apreciar que Acazónica es la localidad con el mayor porcentaje (50%) de personas entrevistadas que desconocen al guaco, seguida La Ceiba (45%) y Paso de la Milpa (35%), estos tres sitios en comparación con Plan del Río (10%) y Monte Blanco (15%) poseen un menor conocimiento acerca de la especie (Figura 9 grafico b).

La segunda categoría muestra el porcentaje de entrevistados que conocen al guaco, pero desconocen su utilidad medicinal, esta categoría nos ayuda a inferir que el

conocimiento sobre el uso medicinal aún no se ha perdido del todo, demuestra que cierto porcentaje de personas ha convivido con esta planta, pero no recurren a ella para aliviar sus enfermedades (Figura 9 grafico b).

La última categoría nos ayuda a comprender que los sitios de estudio todavía utilizan al guaco como planta medicina y al mismo tiempo nos muestra que en las localidades de Monte Blanco (70%) y Plan del Río (60%) hay más personas que saben de su utilidad, por otro lado, en Acazónica (50%), Paso de la Milpa (50%) y La Ceiba (45%) presentaron un índice bastante similar, esto no quiere decir que en estas localidades se esté perdiendo el conocimiento, pero demuestra que en Monte Blanco y en Plan del Río poseen mayor conocimiento de la utilidad medicinal de esta especie (Figura 9 grafico b).



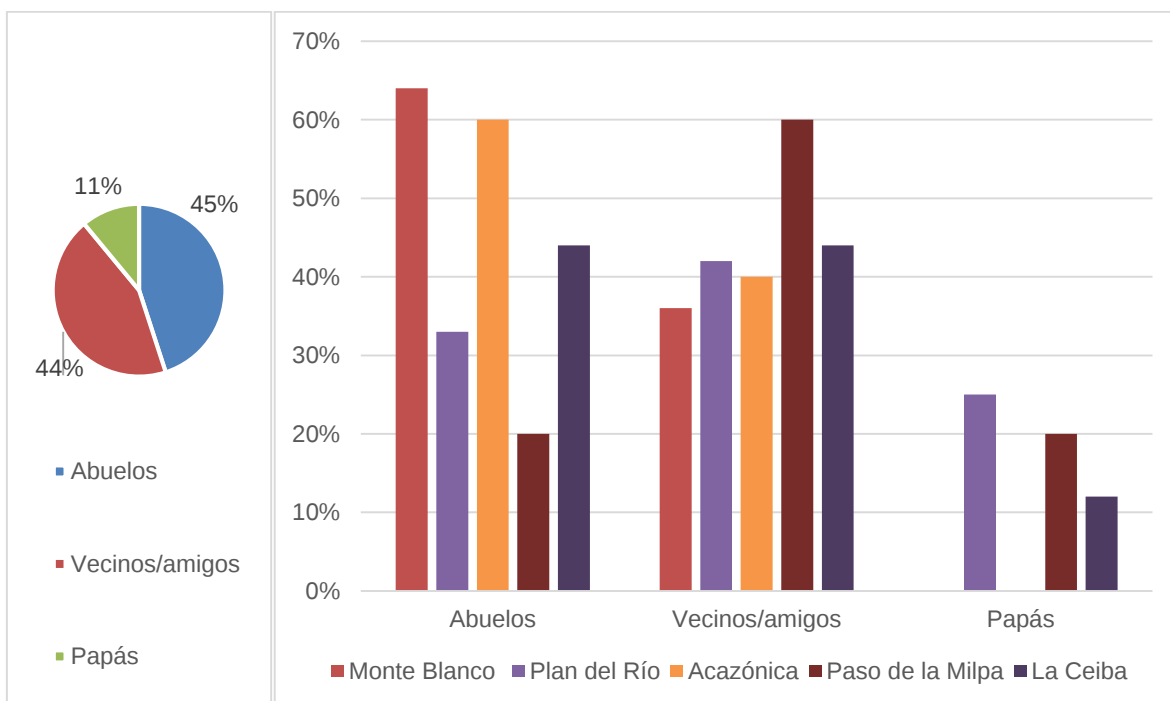
a) Generales. b) Comparación entre las cinco localidades

Figura 10. Afecciones tratadas por población con *A. asclepiadifolia*.

Del 55%, el 42% mencionó que lo utilizan contra mordedura de serpiente, el 31% para los dolores estomacales, el 16% para el cansancio, el 9% para dolores musculares, el 7% como antidiarréico, el 2% que previene el cáncer y el 2% para la vesícula (Figura 10 grafico a).

En la figura 10 (grafico b) se muestra la comparación las afecciones tratadas con guaco para las cinco localidades, en la gráfica se puede observar que afección presente en todos los sitios de estudio es la mordedura de serpiente muy de cerca el dolor estomacal, afección que es trata en cuatro de las cinco localidades.

Esto nos indica la importancia que tiene atender las mordeduras de serpientes con el uso de plantas medicinales locales, en sitios que no para estas localidades, así como en muchos lugares de Centro América y Sudamérica. A nivel mundial se han realizado estudios de plantas que contrarrestan el efecto anticrotático. Vázquez (2012) determinó la acción antiofídica de 11 especies vegetales que no habían sido reportadas como anticrotáticas (*Dieffenbachia parlatoei* Linden & André, *Philodendron heleniae* Croat, *Aristolochia cordiflora* Mutis ex Kunth, entre otras). Veloza (2016) hace un estudio etnográfico para documentar la percepción social acerca de los accidentes ofídicos además de estudiar e indagar acerca de las técnicas y efectividad del tratamiento contra este padecimiento. Nuñez y colaboradores (2004) probaron extractos generados a partir de plantas recolectadas en Antioquia que poseen actividad anticrotática y se demostró su efectividad (la letalidad, el control de la inflamación el control de la mionecrosis, etc.).

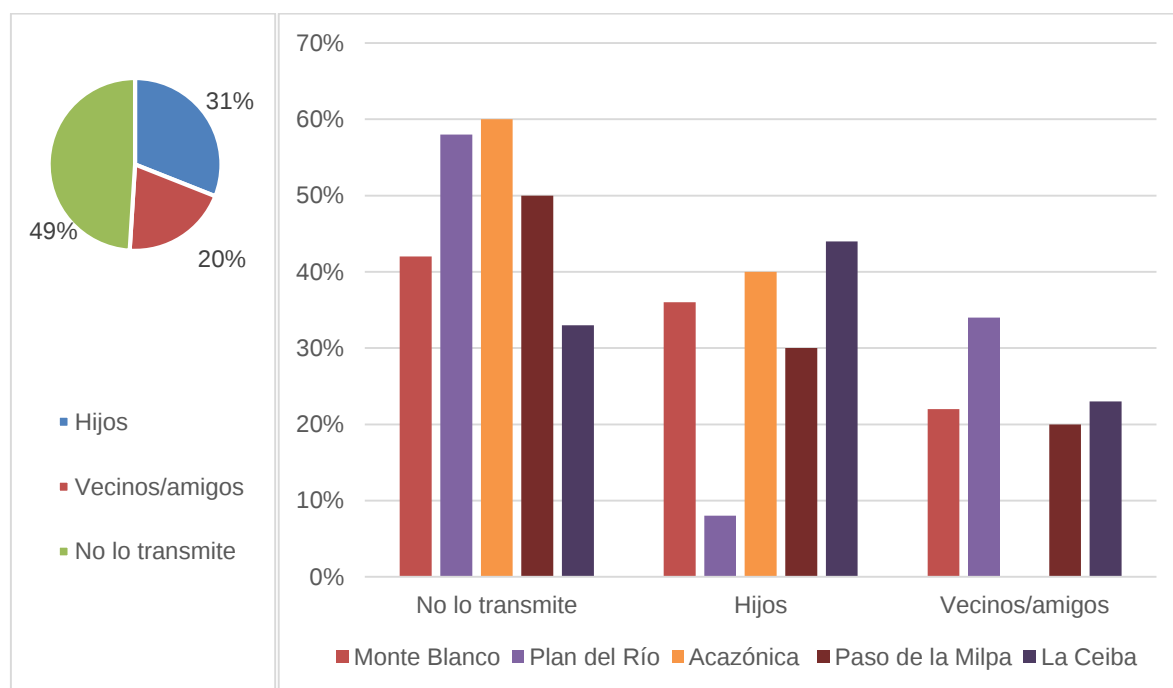


a) b)
Figura 11. Origen del conocimiento sobre la utilidad del guaco. a) General.
 b) Comparación entre las cinco localidades

Del 55% de los entrevistados que conocen la utilidad medicinal del guaco, el 100% utiliza el tallo y solo 9% las hojas (la suma de los porcentajes supera el 100 % debido a que algunos entrevistados conocían más de una afección tratable con diferente parte de la planta); el 45% heredó este saber de sus abuelos, el 44% aprendió de sus amigos y vecinos y el 11% de sus papás (Figura 6).

En la figura 11 (grafico b) se muestra la comparación de tres categorías para las cinco localidades estudiadas, la primera categoría se refiere a que el conocimiento adquirido por parte de los entrevistados vine por parte de sus abuelos, las segunda por parte de vecinos/amigos y la tercera categoría se refiere al conocimiento otorgado por sus papás. De acuerdo con el resultado de las entrevistas la transmisión del conocimiento sobre el uso medicinal del guaco en los sitios de estudio fue a través de los abuelos, aunque en este estudio las entrevistas fueron al azar sin importar edad y genero gracias a la primera y segunda categoría

podemos inferir que los informantes de edad avanzada son poseedores del conocimiento sobre el uso de las plantas coincidiendo con Yates y Ramírez-Sosa (2004).



a)

b)

Figura 12. Transmisión de conocimientos sobre el uso medicinal del guaco.

a) General. b) Comparación entre las cinco localidades

El 31% afirma que transmite este conocimiento a sus hijos, 20% a sus vecinos y el 49% no lo comunica con nadie (Figura 12 grafico a).

En la figura 12 (grafico b) se muestra la comparación acerca de la transmisión del conocimiento en la primera categoría muestra el porcentaje de las localidades que no transmiten el conocimiento, la segunda describe que el conocimiento está siendo transferido a los hijos y la última que se lo transmiten a vecinos/amigos. Como se muestra en la Figura 12 (grafico b) cuatro de las cinco localidades muestran niveles porcentuales elevados para la categoría uno, coincidiendo con Levy y Aguirre (1999) y Huerta (2002) es preocupante confirmar que el conocimiento no se está transmitiendo a las nuevas generaciones y corre el riesgo de perderse como

consecuencia del reemplazo de las plantas medicinales por los fármacos sintéticos, la erosión cultural y la occidentalización de los grupos étnicos.

A continuación, se muestra en la tabla 8 donde se recopilan todos los usos medicinales del guaco, así como tratamientos, dosificaciones y modo de preparación.

Tabla 8. Afecciones tratadas con el guaco y forma de uso

Problemas de salud	Partes usadas	Preparación	Dosificación y tratamiento	Observaciones
Mordedura de serpiente	Tallo	Se cortan cinco trozos de bejuco maduro, de aprox. 2.5cm, una semilla de crucetillo (fruto seco <i>Randia monantha</i> Benth) y un fragmento de aproximadamente tres a cinco cm de camote de contrayerba (<i>Dorstenia contrajerva</i> L.), que funciona como contraveneno y se coloca en un litro de aguardiente "del más fuerte".	Después de ocurrida la mordedura, tomarse un trago del "vino" aprox. unos 60 mililitros Dosis única	Se debe acudir de inmediato al hospital. Esto no es un antídoto, pero ayuda a retrasar el efecto del veneno, no se recomienda usar mucho, pues daña los riñones
Cansancio	Tallo	se cortan cinco trozos de bejuco maduro aprox. 2.5 cm y se colocan en un litro de aguardiente	20 ml aprox.	No se recomienda tomar todos los días.
Dolor de estómago			Una cucharada (5 ml aprox.) en caso de dolor	-----
Prevención de cáncer	Hojas	Se hierven cinco hojas en un litro de agua	Se toma como agua de tiempo un vaso diario	-----
Vesícula	Hojas	Se hierven seis hojas en un litro de agua	Tomar diez mililitros Tres veces al día, cada tercer día	-----

Dolor	Tallo	se cortan 50 cm de bejuco en trozos de aprox. 2.5cm, cinco semillas de crucetillo (fruto seco <i>Randia monantha</i> Benth) y se colocan en un litro de aguardiente	Tomar de una a dos cucharadas Tomar dos o tres veces por mes.	tomar de mas es malo
Diarrea	Tallo	se cortan cinco trozos de bejuco maduro aprox. seis cm y se colocan en cinco litros de aguardiente	Una copita de aprox. diez ml. Dosis única	-----

Con referencia a la preparación del antídoto a partir del guaco, en México hay diferentes formas de hacerlo, por ejemplo, los curanderos de Aguascalientes lo utilizan como extracto alcohólico (García-Regalado, 1995), por el contrario, los curanderos amuzgos de Guerrero maceran y hierven partes de la planta para prepararlo (Robinson y López, 1999).

La forma de administración del antídoto en los sitios muestreados es por vía oral, ya que ésta es una de las formas más comunes de suministrar gran parte de los remedios herbolarios (García-Regalado, 1995; Garrido, 1997; Robinson y López, 1999; Lans *et al.*, 2001). La misma forma de aplicación es para todas las demás afecciones registradas.

Un problema observado en los sitios muestreados es la escasa presencia de la especie estudiada, motivada por presiones antropogénicas derivadas del crecimiento demográfico y la apertura de áreas agrícolas, acciones que han provocado que poco a poco vaya desapareciendo la vegetación original y en consecuencia el hábitat donde crece el guaco. Ello también ha contribuido a que el conocimiento sobre la flora local útil de esos sitios también se vea afectado, aunado a que actualmente como ya ha sido previamente mencionado, tampoco se van transmitiendo esos saberes de generación en generación. De aquí que sea necesario plantear estrategias para evitar o atenuar la pérdida de diversidad biológica y cultural, como podrían ser el establecimiento de jardines botánicos o

exclusivamente de plantas medicinales, la creación de áreas protegidas o de corredores biológicos. Lo anterior posibilitará la circulación de las especies entre estas zonas y de esta manera atenuar la pérdida de la biodiversidad (Akçakaya *et al.*, 1999; Vandermeer y Perfecto, 2007).

7.4. Estudio etnobotánico cuantitativo

Para este trabajo se determinaron dos índices: el nivel de uso significativo (UST) (TRAMIL, 1995) y el nivel de Fidelidad (FL) según Friedman *et al.*, (1986) que incluye al Rango de prioridad (ROP) (Tabla 9).

Tabla 9. Índices cuantitativos

Afección	Nivel de uso significativo (UST)	Nivel de fidelidad (FL)	Nivel de popularidad Relativa(RLP)	Rango de prioridad (ROP)
Dolor muscular	5	18.18	0.18	3.27
Mordedura de serpiente	23	41.81	0.41	17.14
Dolor estomacal	17	30.90	0.30	9.27
Cáncer	1	1.81	0.01	0.01
Cansancio	9	16.36	0.16	2.61
Diarrea	4	7.27	0.07	0.50
Vesícula	1	1.81	0.01	0.01

Se registraron siete afecciones tratadas con *A. asclepiadifolia* Brandegees, en relación al Nivel de uso significativo, la mordedura de serpiente es la afección mayor tratada con un 23 % coincidiendo con Toscano (2006), Zambrano *et al.*, (2015) Bermúdez y colaboradores (2018) ya que en sus trabajos presentan niveles que van de 20% en adelante, esto indica una aceptación cultural por parte de los pobladores.

De acuerdo a los resultados de las entrevistas aplicadas a las cinco localidades se obtuvo el nivel de Fidelidad en un rango de 1 a 41. La afección mordedura de serpiente tuvo el FL más alto (41.81), le sigue el dolor estomacal con FL de 30.90, después dolor muscular con 18.18.

Con base en los resultados de las encuestas se obtuvieron índices de fidelidad y nivel de popularidad bajos, en comparación con otros estudios como el Gheno-Heredia y colaboradores (2011) y Hurtado *et al.*, (2006) donde el valor más alto de FL es igual a 100; en el caso de esta investigación el FL más alto fue de 30. Esto se debe a que en el estudio de Ixhuatlancillo, Veracruz se trabajó con parteras y médicos tradicionales y en Copándaro de Galena, Michoacán, los informantes fueron sólo personas recomendadas por tener un fuerte conocimiento en el uso de plantas medicinales, a diferencia del presente estudio en el que se encuestó a un total de 100 personas de cinco localidades y fueron elegidos al azar.

Posteriormente a los análisis etnobotánicos se hicieron varias pruebas de dos métodos de extracción tratando de obtener un protocolo estandarizado para la especie.

7.5 Extracción ADN

Se evaluaron dos métodos para la extracción de ADN en *Aristolochia asclepiadifolia*, con el fin de obtenerlo con pureza óptima y de buena calidad y cantidad para ser utilizado en trabajos posteriores. El producto comercial DNeasy Plant Mini Kit se comparó con un método de CTAB. En la tabla 2 se observan los diferentes protocolos con sus respectivas modificaciones y resultados, en el anexo 2 se pueden apreciar los geles de agarosa, mostrando la integridad de ADN de los respectivos protocolos.

Tabla 10. Comparación de protocolos de extracción ADN

Clave	Método de extracción	Tiempo (Hrs)	Material vegetal (mg)	Nitrógeno	Concentración (ng/µl)	Pureza
A	DNeasy	3	40	Si	0	0.97
B	DNeasy	3	40	No	0	0.80

C	CTAB 2% sin PVP, SDS, ácido ascórbico	5	40	Si	3	0.50
D	CTAB 2% con PVP / sin SDS, ácido ascórbico	5	100	Si	2	0.99
F	CTAB 3% sin PVP, SDS, ácido ascórbico	5	100	Si	0	1.03
G	CTAB 3% con PVP / sin SDS, ácido ascórbico	5	100	Si	4	1.04
H	CTAB 2% con PVP ácido ascórbico	19	100	No	7	2.5
I	CTAB 2% con PVP, SDS y ácido ascórbico	19	100	No	3	1.01
J	CTAB 2% con PVP y SDS sin ácido ascórbico	5	100	No	57	1.4

Como se puede observar en la tabla 9 que el método del CTAB J fue el más adecuado para la extracción de ADN, en el anexo 2 se muestran los geles de agarosa que comprueban los ensayos realizados para los métodos descritos, dando como resultado una cantidad y pureza óptimas para una reacción en cadena de polimerasa (PCR).

Hoy en día con los avances en las técnicas de biología molecular se ha visto la necesidad de crear métodos de extracción de ADN más simples, eficientes y baratos, sin embargo, variaciones en la eficiencia de la lisis y la pureza del ADN pueden afectar los resultados de técnicas moleculares como la PCR. Todas las técnicas para amplificación de ADN necesitan un método de extracción de ADN genómico lo más estandarizado posible con el que se obtenga un ADN puro, no degradado, libre de ARN, de buena cantidad y calidad (Galván-Hernández, 2015)

El método del CTAB que se propone aquí para ser aplicado en estudio genéticos ofrece ventajas sobre el método de Qiagen, probado para *Theobroma cacao* L. y *Jatropha curcas* L. plantas cuya extracción de ADN de buena cantidad y calidad es difícil de obtener (Hernández 2010; Castro-Guzmán *et al.*, 2015;). La principal desventaja del CTAB es la cantidad de pasos que lleva para el proceso, lo que implica mayor manipulación y e inversión de muchas horas de trabajo, lo que resulta tedioso cuando se analiza un gran número de muestras. La mayoría de los autores recomendarían la utilización de nitrógeno como sucede en todos los métodos de extracción que se podrían mencionar aplicar, incluso para otras especies de otros reinos, pero en este trabajo se realizaron pruebas sin emplear. nitrógeno dando como resultado que la extracción se puede hacer sin el gasto extra del nitrógeno; al mismo tiempo se concluye que el método del CTAB sin la utilización de nitrógeno es mejor para *Aristolochia* que el método Qiagen.

La diversidad genética es una herramienta que nos ayuda a conocer, describir y estudiar las variaciones alélicas que pueden existir en los seres vivo, estas dichas variaciones nos ayudan a comprender si una especie tiene un buen flujo génico, y con base a ello se pude puntualizar el estatus de la misma. Existen diversos tipos de técnicas para conocer la diversidad genética, en este estudio se pretendía explorar la diversidad genética con marcadores ISSR, ya que presentan niveles altos de polimorfismo (Hao *et al.*, 2006; Galván-Hernández, 2015).

Existen cebadores ISSR que han sido utilizados para comparar a otras aristolochias y determinar la similitud génica entre especies, diseñar los primers específicos para una especie, es lo ideal, pero se necesita ahorrar tiempo y dinero, así que también resulta eficaz partir con primers ya diseñados, aunque sean para especies diferentes pero que pertenezcan al mismo género (Chacón, 2009)

8. CONCLUSIÓN

- El guaco (*Aristolochia asclepiadifolia*) es una planta de gran importancia utilitaria para las localidades estudiadas, ello se demuestra con el registro de siete afecciones tratadas con esta especie, entre ellas su empleo contra el cáncer y afecciones de la vesícula, las cuales constituyen dos nuevos aportes para el conocimiento sobre su uso medicinal.
- —
- Los análisis etnobotánicos cuali y cuantitativo, demostraron que la afección de mayor aceptación cultural y de mayor prioridad tratada con el uso del guaco es la que ocurre por mordedura de serpientes.
-
- Se estandarizó un método adecuado para la extracción de ADN, considerando que CTAB con PVP y con SDS sin la necesidad de utilizar nitrógeno, este protocolo se recomienda utilizar para trabajos posteriores, sirve como base .
- .

9. RECOMENDACIONES

En el estudio etnobotánico cualitativo se registró que el guaco se ocupa para el tratamiento de diversas afecciones, entre ellas el cáncer, sin embargo, su empleo y dosis administrada, se deben considerar con cautela debido a que se ha reportado para otras especies del género *Aristolochia* que el ácido aristolóquico en cantidades excesivas puede ser contraproducente para la salud. Por lo tanto, se sugiere realizar estudios fitoquímicos y farmacológicos para saber cuál sería la cantidad adecuada que debe ser administrada para que no cause daño al organismo.

Actualmente el hábitat del guaco se ve amenazado por diversos factores, entre ellos la apertura de nuevos espacios para la agricultura y asentamientos poblacionales; también contribuye a ello su extracción continua y el hecho de que las nuevas generaciones al parecer no muestran interés en conocer su uso y propiedades medicinales. Si se toman en cuenta estas consideraciones, esta especie endémica puede estar en grave riesgo de desaparecer, por tal motivo, se recomienda impartir talleres donde se dé a conocer la importancia que tiene como planta medicinal para atender problemas de salud en la población y sobre todo, tratar de reducir el impacto que tiene su extracción, ya sea conservando los hábitats donde crece y/o propagándola.

Gracias a los múltiples ensayos con las respectivas modificaciones de los dos métodos de extracción se logró obtener un método específico para la especie. se recomienda continuar con los estudios de diversidad genética, partiendo del protocolo estandarizado en este estudio, el cual servirá como base para los estudios de diversidad genética.

10. BIBLIOGRAFÍA

Aguilar, A. A., Argueta, A. y Cano, L. (1994). Flora Medicinal Indígena de México. Instituto Nacional Indigenista. Primera edición. México, DF.

Akçakaya, H. R., Burgman, M.A. y Ginzburg L.R. (1999). *Applied Population Ecology: Principles and Computer Exercises Using RAMAS EcoLab 2.0*. 2a ed., Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Alexiades, M. N. (1996). Selected guidelines for ethnobotanical research: a field manual. The New York Botanical Garden. New York, NY, USA. 306 p.

An, D., Bykova, N. V. y Debnath S. C. (2015). EST-PCR, EST-SSR and ISSR markers to identify a set of wild cranberries and evaluate their relationships. Canadian Science Publishing. Canadian Journal of Plant Science, 95(6):1155-1165.

Aranguren-Méndez, J. A., Jordana, J. (2001). Utilización de marcadores de ADN (microsatélites) en poblaciones de animales domésticos en peligro de extinción. Programa de conservación de especies. Universidad Autónoma de Barcelona

Argueta, V. A. y Cano, A. L. M. (1994). Atlas de las plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Instituto Nacional Indigenista. Primera edición. México, DF

Barrera, A. (1976). La etnobotánica en Barrera, A. (1979). La etnobotánica: tres puntos de vista y una perspectiva. Universidad autónoma de Chapingo. Programa Nacional de Etnobotánica.

Bermúdez, S. A., Bravo, S. L. R., 4, Abreu, N. R. y Kanga E. F. (2018). Uso tradicional de las plantas medicinales por la población del municipio de Santa Clara, Cuba. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research, 6 (5), 374-385, 2018 ISSN 0719-4250.

Caballero, A. R. (2013). Genética de la conservación. Science Studies Journal,. University of Valencia. DOI: 10.7203/metode.78.2452

Caballero, J. y Cortés, L. (2001). "Percepción, uso y manejo tradicional de los recursos vegetales en México". En Rendón, B., Rebollar S., Caballero, J. y Martínez Alfaro, M.A. (coords.) Plantas, cultura y sociedad. Estudio sobre la relación entre seres humanos y plantas en los albores del siglo XXI. Ciudad de México: Universidad Autónoma Metropolitana (UAM). Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP).

Castillo-Campos, G., Medina, A. M. E., Dávila, A. P. D. y Zavala, H. J. A. (2005). Contribución al conocimiento del endemismo de la flora vascular en Veracruz, México. Instituto de Ecología A.C., Pátzcuaro, México. Acta Botánica Mexicana, No. 73, pp. 19 - 57

Caniago, S y Siebert, S. (1998). Medicinal plants ecology, knowledge and conservation in Kalimantan, Indonesia. Econ. Bot. 52: 229-250.

Cano, A. L. M. 1997. Flora Medicinal de Veracruz I. Inventario Etnobotánico. Universidad Veracruzana. Primera edición. Xalapa, Ver.

Castro-Guzmán, S. (2014) Estudio de la flora medicinal Tének de San Francisco, municipio de Chontla, Veracruz. Tesis de Maestría. Centro de Investigaciones Tropicales, Universidad Veracruzana, Xalapa, Ver. 188 pp.

Castro-Guzmán, S., Ogata, N., Cano L. M. y Sánchez, O. (2015). Variabilidad del gen nuclear g3pdh en *Jatropha curcas* L. Polibotánica No. 40, pp. 99-107. Doi: 10.18387

Chacon, p. F. M. (2009). Desarrollo de marcadores moleculares específicos para diferentes grupos de Sebacinales (Basidiomycota) micorrizicos en ericáceas a partir

del análisis de secuencias de ADN ribosomal Tesis previa a la obtención del título de: bioquímico farmacéutico. Escuela de bioquímica y farmacia universidad técnica particular de loja

Chung, M. Y. y Chung, M. G. (2010). Population Genetic Diversity and Structure in *Goodyera rosulacea* (Orchidaceae), Endemic in Korea, and Implications for Conservation. *Annales Botanici Fennici*, 47(6):460-470.

Claros-Díaz, G. (2010). Marcadores moleculares: qué son, cómo se obtienen y para qué valen. <http://www.encuentros.uma.es/encuentros49/marcadores.html>.

Cunningham A (1996). Professional ethics and ethnobotanical research. En Alexiades M (Ed.) *Selected Guidelines for Ethnobotanical Research: a Field Manual*. New York Botanical Garden. Nueva York, EEUU. pp. 19-51.

Curtis, H., Barnes, N. S., Schnek A, Y G. Flores. (2006). *Biología*. 6a. Ed. en español. Editorial Panamericana.

Davis W (1991). Toward a new synthesis in ethnobotany. En Ríos M, Perdensen H (Eds.) *Las Plantas y el Hombre. Memorias del Primer Simposio Ecuatoriano de Etnobotánica y Botánica Económica*. ABYA-YALA. Quito, Ecuador. pp. 339-357.

Escofet, A., Espejel, J., Fermán, j., Gómez-Morin, L. y Torres-Moye R.G. (1997). El impacto de la actividad antropogénica recae en las costas. Centro de investigación Científica en Educación Superior de Ensenada, UABC. In: *La Jornada Ecológica*. México. Pp 23-25

Friedman, J., Waniv, Z., Dafni, A. y Palewich, D. (1986). A preliminary classification of healing potential of medicinal plants, based on a rational analysis of an ethnopharmacological field survey among Bedouins in the Negev Desert, Israel. *J. Ethnopharmacol.* 16: 275-287.

Figueira. A., Janick. J. y Goldsbrough. P. (1992) Genome size and DNA polymorphism in *Theobroma cacao*. J. Amer. Soc. Hort. SCI. 117 (4): 673-677. 1992

Figueira. A., Janick. J., Levy. M. y Goldsbrough. P. (1994) Reexamining the classification of *Theobroma cacao* L. Using molecular markers. J. Amer. Soc. Hort. SCI 119 (5):1073-1082. 1994.

Galván-Hernández, D. M., Lozada-García, J. A., Flores-Estévez, N., Galindo-González, J. y Vázquez-Torres S. M. (2015) Variation and Genetic Structure in *Platanus mexicana* (Platanaceae) along Riparian Altitudinal Gradient. International Journal of Molecular Sciences ISSN 1422-0067. Doi:10.3390/ijms16012066

García-Regalado G. (1995). *Plantas Medicinales de Uso Tradicional en Aguascalientes*. Cuadernos de Trabajo, Agricultura y Recursos Naturales No. 19. Gobierno del Estado de Aguascalientes, Aguascalientes.

Garrido A. (1997). Etnografía y análisis del uso de plantas medicinales de ocho comunidades mestizas del municipio de Catemaco, Veracruz. Tesis de Licenciatura, Facultad de Biología, Universidad Veracruzana, Xalapa.

Gheno-Heredia, Y. A., Nava-Bernal, G., Martínez-Campos, Á. R. y Sánchez-Vera, E. (2011). Las plantas medicinales de la organización de parteras y médicos indígenas tradicionales de Ixhuatlancillo, Veracruz, México y su significancia cultural. Polibotánica, 31, 199-251.

Goldstein y Schlotterer (2001). Microsatellites evolution and applications. Oxford University Press.

Gómez-Pompa, A., Krömer, T. y Castro-Cortés, R. (Coord.) (2010). Atlas de la Flora de Veracruz. Un patrimonio natural en peligro. Comisión del Estado de Veracruz

para la Conmemoración de la Independencia Nacional y la Revolución Mexicana, Gobierno del Estado de Veracruz, Universidad Veracruzana. Pp 25-42.

Hamrick, J.L., Godt, M.J.W. y Gonzales, E. (2006). Conservation of genetic diversity in old-growth forest communities of the southeastern United States. *Applied Vegetation Science* 9: 51-57.

Harshberger, J.W. (1896) The propose of ethnobotany. *Bot. Gaz.* 21(3): 146-154

Hao, B., Li W., Linchun, M., Li, Y., Rui, Z., Mingxia, T. y Weikai B. (2006). A Study of Conservation Genetics in *Cupressus chengiana*, an Endangered Endemic of China, Using ISSR Markers. *Biochemical Genetics*, Vol. 44. DOI: 10.1007/s10528-006-9011-8

Hernández, F. (1959). Historia de las plantas de la Nueva España. Obras completas. Universidad Nacional Autónoma de México. Imprenta universitaria. Tomo I, II y III <http://www.ibiologia.unam.mx/plantasnuevaespana/>

Hernández, F. Y. (2010). Origen y etnobotánica de las poblaciones del *Theobroma cacao* L. subespecie cacao en la región del Totonacapan. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Veracruzana. México.

Hernández-Xolocotzi, E. (1976). El concepto de etnobotánica. En Barrera, A. 1979. La etnobotánica: tres puntos de vista y una perspectiva, Universidad autónoma de Chapingo. Programa Nacional de Etnobotánica.

Herrera-Hernández, A.O. (2017). Diversidad genética de *Theobroma cacao* L. de cinco estados de la república mexicana. Tesis de Licenciatura en Biología. Instituto Tecnológico de la cuenca del Papaloapan. México.

Herrera-Hernández, A.O. y Cano L. M. (2019) Plantas vs veneno. La ciencia y el Hombre. Universidad Veracruzana. Vol. 32 No 2: 26-31

Huerta C. 2002. La herbolaria: mito o realidad. www.conabio.gob.mx/institucion/conabio_espa%F1ol/doctos/huerta.htm

Hurtado R., N. E., C. Rodr%F3guez J. y A. Aguilar C. (2006). Estudio cualitativo y cuantitativo de la flora medicinal del municipio de Cop%F1ndaro de Galeana, Michoac%F1n, M%F3xico. Polibot%F1nica 106(22):21-50.

Knox, J. S., Bezold K., Cabe, P.R., Williams, S. y Simurda M. C. (2016). Genetic Diversity and Population Structure of the Endemic Disjunct Species, *Helenium virginicum* (Asteraceae). The American Midland Naturalist, 175(2):242-260.

Kim, K.S., Cano-R%F3os, P. y Sappington, T.W. (2006). Using Genetic Markers and Population Assignment Techniques to Infer Origin of Boll Weevils (Coleoptera: Curculionidae) Unexpectedly Captured Near an Eradication Zone in Mexico. Environmental Entomology, 35(4):813-826.

Lans C., Harper T., Georges, K. y Bridgewater, E. (2001). Medicinal and ethnoveterinary remedies of hunters in Trinidad. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 1:10. www.biomedcentral.com/1472-6882/1/10

Levy S. y Aguirre J.R. (1999). Conceptualizaci%F3n etnobot%F1nica: experiencia de un estudio en la Lacandona. *Revista de Geograf%F3a Agr%F3cola* 29:83-114.

Mart%F3n, G. J. (2001). *Etnobot%F1nica: Manual de m%F3todos*. Primera edici%F3n. Nordan-Comunidad. Montevideo, Uruguay. 240 pp.

Núñez, V., Otero, R., Barona, J., Fonnegra, R., Jiménez, S. y Osorio R. G. (2004). Inhibition of the Toxic Effects of *Lachesis muta*, *Crotalus durissus cumanensis* and *Micrurus mipartitus* Snake Venoms by Plant Extracts. *Pharmaceutical Biology*, Vol. 42, No. 1, pp. 49–54.

Ocegueda, s., Moreno, E. y Koleff, P. (2005). Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica. *CONABIO. Biodiversitas* 62: 12-15.

Organización Mundial de Salud (OMS 2019). <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/snakebite-envenoming>

Ortega, J.F. (1985). Estudio taxonómico y de distribución de la familia *Aristolochiaceae* Juss., en el estado de Veracruz. Universidad Veracruzana. Facultad de biología. Xalapa Veracruz, México.

Ortega, J.F. y Ortega, R.V. (1997). *Aristolochiaceae*. Flora de Veracruz fascículo 99. Instituto de Ecología, A. C. Xalapa, Veracruz, México.

Palacios-Wassenaar, O., Castillo-Campos, G., Vázquez-Torres, S. M. y Amor-Rodríguez, S. (2014). Flora vascular de la selva mediana subcaducifolia del centro de Veracruz, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* No. 85 : 125-142. DOI: 10.7550/rmb.34663

Phillips, O. L. (1996). Some quantitative methods for analyzing ethnobotanical knowledge. Selected guidelines for ethnobotanical research. A field manual. Alexiades M. (Ed). The New York, Missouri Botanical Garden. Pp. 172-197

Piñero, D., Barahona, A., Eguiarte, L., Rocha, O. A. y Salas, L. R. (2008). La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México, en *Capital natural de México*, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO, México.

Prance G (1991). What is the ethnobotany today? J. Ethnopharmacol. 32: 209-216.

Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos (2009). Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Recuperado de:

http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/30/30004.pdf

http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/30/30126.pdf

http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/30/30134.pdf

http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/30/30065.pdf

http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/30/30164.pdf

Rentería, M.A. (2007). Breve revisión de los marcadores moleculares. En Ecología Molecular. Secretaría de medio ambiente y recursos naturales. Instituto nacional de ecología. UNAM Comisión Nacional para el Conocimiento y el uso de la biodiversidad.

Rivera-Hernández, J.E. y Samain, M.S. (2011). Where has *Aristolochia tricaudata* (ARISTOLOCHIACEAE) gone? New record of a critically endangered species in Oaxaca, Mexico. Revista Mexicana de Biodiversidad 82: 281-285

Robinson G.G. y López C.B. 1999. *Patrones del Uso de Plantas Medicinales entre los Amuzgos del Estado de Guerrero, México*. Instituto Lingüístico de Verano, México. www.sil.org/mexico/amuzga/querrero/A006e-PlantasMedicinales-aAMU.pdf

Ruiz E, X. (2014). Diversidad Genética de cacao *Theobroma cacao* L. con marcadores moleculares microsatélites. Tesis de maestría Universidad Nacional De Colombia Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Posgrados Palmira, Colombia.

Ruiz E, X., Almanza-Pinzón, M., Morillo-Coronado, Y., Ana Cruz Morillo-Coronado, A., González, A., Caicedo-Arana, A. y Muñoz-Flores, J. (2015). Comparación Genética de tres fuentes del cacao *Theobroma cacao* L., mediante el uso de marcadores microsatelites. Artículo de investigación científica. Biotecnología en el sector Agropecuario y el Sector Agroindustrial Vol. 13 No. 1. 10-13

Sánchez-González, A. y González (L.M. 2007). Técnicas de recolecta y herborización de plantas. En: Contreras, R. A., Goyenechea, I., Cuevas, C. C. e Iturbe, U. (eds.). La Sistemática, base del conocimiento de la biodiversidad. Ciencia al Día 5. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. pp. 177-193. ISBN 970-769-099-2.

Secretaría de salud (2016) Casos nuevos de Mordedura por serpiente (X20) por fuente de notificación SUIVE/DGE/ Estados Unidos Mexicanos.

Toledo, V. M. (1982) Biological diversification in the tropics. Columbia University press

Toledo, V. M. (1992). What is ethnoecology? Origins, scope and implications of a rising discipline. *Etnoecológica* 1: 5-21.

Toledo, V.M. (1994) La diversidad biológica de México. Nuevos retos para la investigación en los noventas. *Ciencias* 34:43-57

Toledo, V. M., Batis, A., Becerra, A., Martínez, E. y Ramos, C. (1995). La selva útil: Etnobotánica cuantitativa de los grupos indígenas del trópico húmedo de México. *Interciencia* 20(4):177- 187

Toledo, V. M., Ortiz, B., Cortés, L., Moguel, P. y Ordóñez, M. J. (2003). The multiple uses of tropical forests by indigenous peoples in México: a case of adaptive management. *Conservation Ecology* 7(3): www.consecol.org/vol7/iss3/art9.

TRAMIL. (1995). Investigación científica y uso popular de plantas medicinales del Caribe (Edición 7). Ed. Germósen-Robineau, Santo Domingo, República Dominicana: Universidad de Antioquia, 696 pp.

Toscano, G. J. Y. (2006). Uso tradicional de plantas medicinales en la vereda San Isidro, municipio de San José de Pare-boyacá: un estudio preliminar usando técnicas cuantitativas. Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja, Boyacá, Colombia.

Vázquez, E. J. (2012). Neutralización del veneno de *Bothrops asper* con plantas de la familia Zingiberaceae utilizadas en la etnobotánica del accidente ofídico en el oriente antioqueño. Trabajo de investigación presentado para optar al título de Magister en Ciencias Farmacéuticas. Posgrado en Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias Facultad de Química Farmacéutica Universidad de Antioquia

Veloza, R. F. (2016). Estudio etnográfico del tratamiento del accidente ofídico en el municipio de San Luis, departamento de Antioquia, percepciones y creencias de la comunidad. Trabajo para optar al título de ecólogo. Facultad de estudios ambientales y Rurales. Carrera de ecología Bogotá.

Vandermeer, J. y Perfecto, I. (2007). The agricultural matrix and a future paradigm for conservation. *Conservation Biology* 21:274-277.

Villaseñor, J. L. (2016) Checklist of the native vascular plants of Mexico. Universidad Nacional Autónoma de México. Distrito Federal, México. Revista Mexicana de Biodiversidad, vol. 87, núm. 3, pp. 559-902.

Wang, H., Wang, H., Xiao, Y., Wang, X., Sun, L., Shi, J., Lin, A., Feng, J., y Wu, Y. (2015). Low Genetic Diversity and Moderate Inbreeding Risk of an Insular Endemic Pit Viper (*Gloydus shedaoensis*): Implication for Conservation. *Journal of Herpetology*, Vol. 49, No. 2, 190–199

Watson, L. C., Stewart, D. J. y Kretzer, A. M. (2016). Genetic Diversity and Population Structure of the Threatened Giant Arapaima in Southwestern Guyana: Implications for Their Conservation. *Copeia* 104, No. 4, 864–872

Yates S. y Ramírez-Sosa C.R. 2004. Ethnobotanical knowledge of *Brosimum alicastrum* Sw. (Moraceae) among urban and rural El Salvadorian adolescents. *Economic Botany* **58**:72-77.

Zambrano, L. F., Buenaño M.P., Mancera, N. J. y Jiménez, E. (2015) Estudio etnobotánico de plantas medicinales utilizadas por los habitantes del área rural de la Parroquia San Carlos, Quevedo, Ecuador. *Rev Univ. salud*;17(1): 97-111

11. ANEXOS

Anexo 1. Ficha de registro

Datos del entrevistado

Nombre: _____ Sexo: _____ Edad: _____

Lugar (localidad-municipio-estado-país): _____

Ocupación: _____ identidad Cultural: _____

Además del español domina otro idioma: _____ ¿Cuál? _____

¿Conoce usted esta planta?

¿Cuál es su nombre?

¿Usted la usa?

¿Para que la usa?

¿Qué partes usa?

¿Tiene uso medicinal? ¿Cuál?

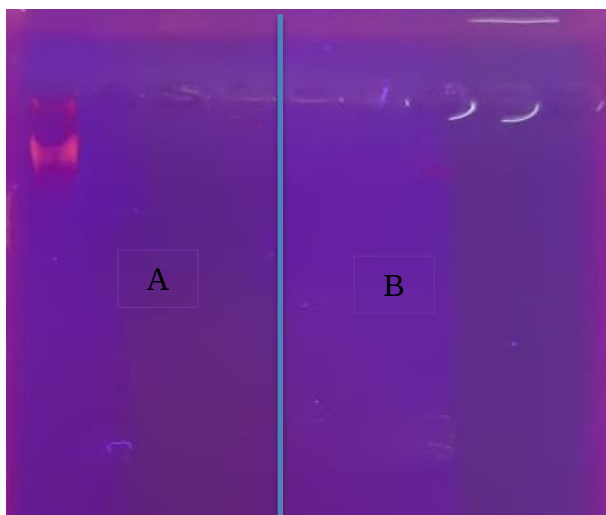
¿Cómo la usa? (Formas de uso, Tratamiento, cantidades)

¿Cómo aprendió todo esto?

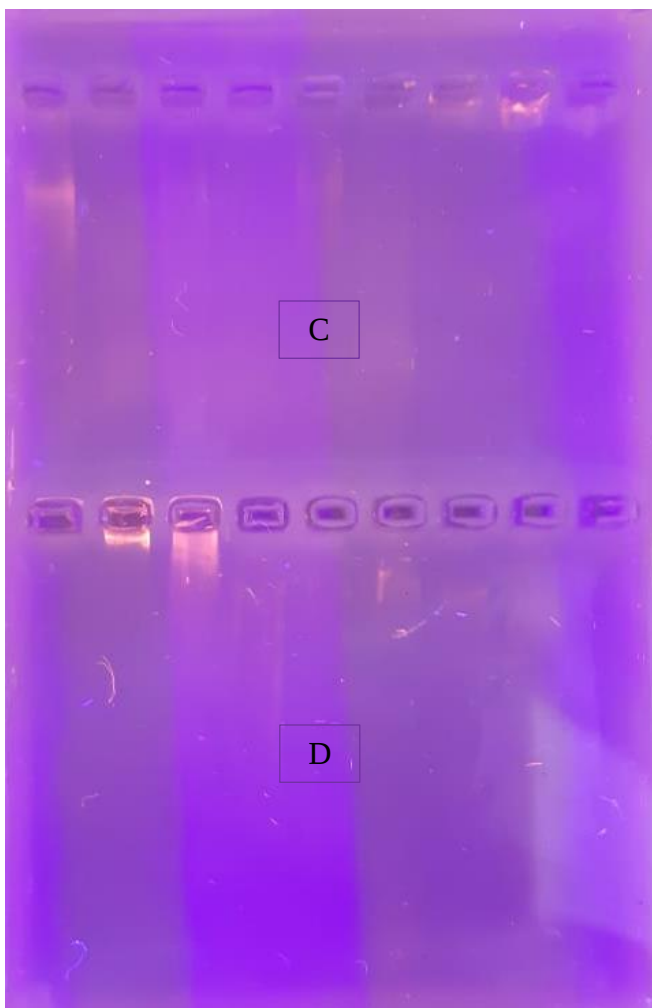
¿Está transmitiendo estos conocimientos a alguien?



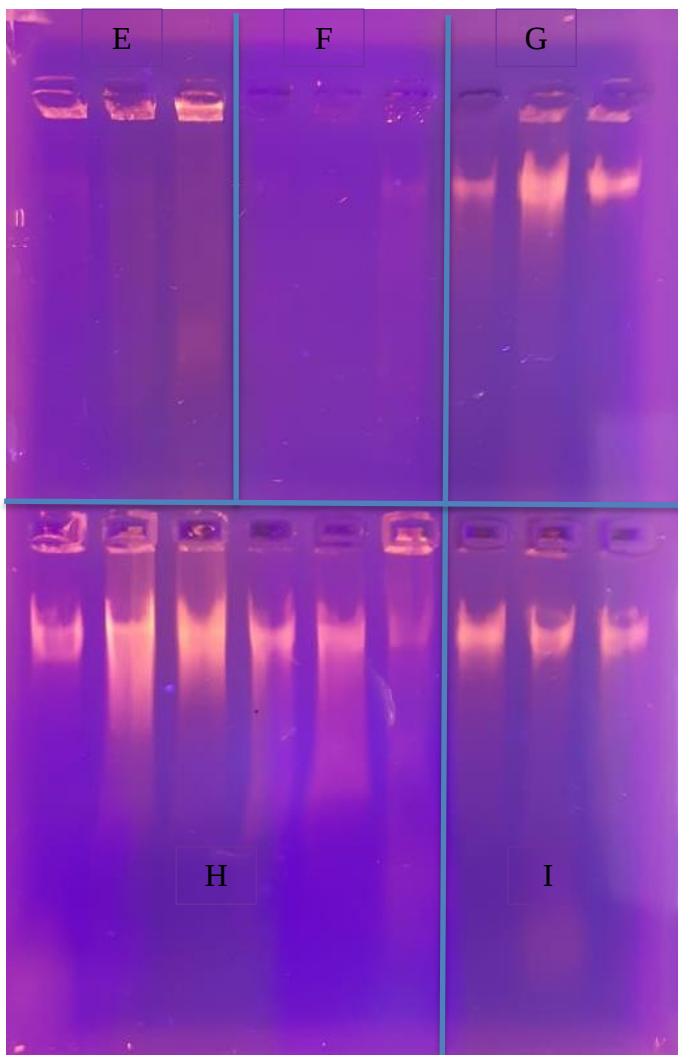
Anexo 2. Imágenes de geles de agarosa



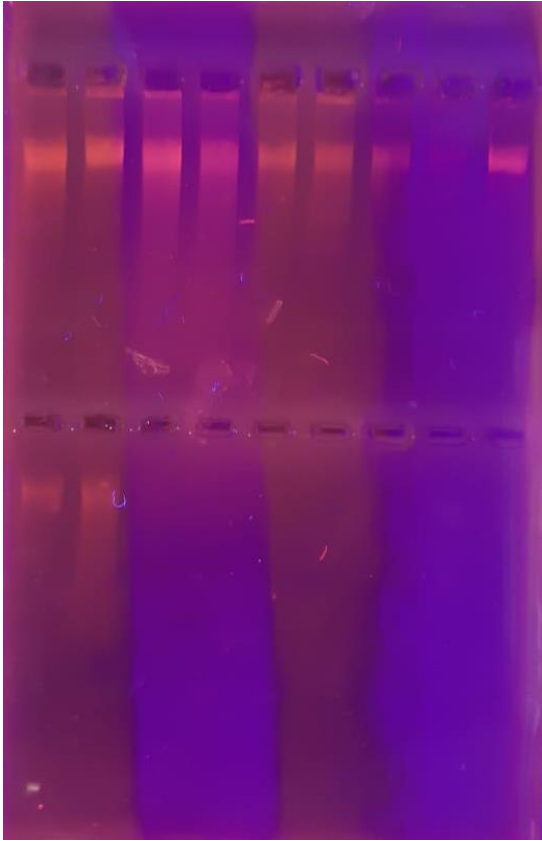
Protocolo Qiagen A y B



Protocolo CTAB C y D



Protocolo CTAB E, F, G, H e I



Protocolo CTAB J

ALFREDO OCTAVIANO HERRERA HERNÁNDEZ



DATOS PERSONALES.

Dirección: Calle Oaxaca, col. Progreso Mcuiltepetl, Xalapa, Veracruz.

E-Mail: alfredo_uv@hotmail.com

Teléfono y/o celular: 2288304116

OBJETIVOS.

- ❖ Incorporarme al campo laboral para desarrollar un perfil profesional y poner en práctica mis estudios en la facultad, así como adquirir nuevos conocimientos.

FORMACIÓN ACADÉMICA.

- Posgrado:** Centro de Investigaciones Tropicales, Universidad Veracruzana. Maestría en Ecología Tropical (2017-2019)
- Universidad:** Instituto Tecnológico de la Cuenca del Papaloapan. San Bartolo, San Juan Bautista Tuxtepec, Oax.
- Bachillerato:** Colegio de Estudios Científicos y Tecnológicos del Estado de Oaxaca. San Pedro Siniyuvi, Putla, Oax.
- Secundaria:** Escuela Secundaria Técnica No. 57. San Bartolo, San Juan Bautista Tuxtepec, Oax.
- Primaria:** Escuela Primaria 5 de mayo. Ejido Ignacio Zaragoza, San Juan Bautista Tuxtepec, Oax.

EXPERIENCIA PROFESIONAL

- ❖ 2010-2016. Laboré en un negocio particular de producción agrícola y pecuaria.
- ❖ 2006–2009: Laboré en un negocio particular de repartidor de refrescos.

APTITUDES PROFESIONALES.

- ❖ Expositor del Posgrado en Ecología Tropical en el marco de la feria de posgrados 2017.
- ❖ Por su participación en el Concurso de Cartel Científico con el trabajo “Diversidad genética de guaco (*Aristolochia asclepiadifolia* Brandegeee) planta medicinal endémica de Veracruz del Foro Plantas Epífitas “Diversidad, ecología y conservación” celebrado el 22 de mayo de 2018.
- ❖ Ganador del Segundo Lugar en el Concurso de Cartel Científico en la categoría de Nivel Maestría con el trabajo “Diversidad genética de guaco (*Aristolochia asclepiadifolia* Brandegeee) planta medicinal endémica de Veracruz del Foro Plantas Epífitas “Diversidad, ecología y conservación” celebrado el 22 de mayo de 2018.
- ❖ Participación como ponente en el XI congreso mexicano de etnobiología con el trabajo titulado “Importancia medicinal del guaco en Veracruz, México”, en la modalidad de Ponencia Oral Libre. Morelia, Michoacán del 11 al 15 de junio de 2018
- ❖ Participación como ponente en el XII congreso Latinoamericano de botánica con el trabajo titulado “El uso medicinal del guaco en cinco municipios del centro del estado de Veracruz, México”.

HABILIDADES.

- ❖ **Habilidades Personales:** Trabajo en equipo, Disponibilidad, Adaptabilidad, Planificación y Organización, Liderazgo, Trabajo bajo presión, Compromiso, Toma de decisiones, Dinámico y con pensamiento estratégico.
- ❖ **Habilidades en Informática:** Manejo de Software (Paquetería Office: Word, Excel, Power Point).
- ❖ **Actitudes:** Amabilidad, Puntualidad, Optimista, Perseverante, Sensibilidad Social.

❖ **Valores:** Responsabilidad, Solidaridad, Respeto, Honestidad, Lealtad, Ética, Humildad, Iniciativa, Participación y Tolerancia.