

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
INSTITUTO TECNOLOGICO DE COSTA RICA
UNIVERSIDAD NACIONAL
UNIVERSIDAD ESTATAL A DISTANCIA
HERBARIO NACIONAL-MUSEO NACIONAL DE COSTA RICA
CONSEJO NACIONAL DE PRODUCCIÓN

Diversificación de sistemas agroforestales, mediante el fomento en asociaciones de agricultoras(es), de la producción de plantas con componentes bioactivos de la región Huetar Norte y Atlántica de Costa Rica con el aporte de las universidades estatales de Costa Rica.

**Informe final de proyecto de investigación con recursos del fondo del
Sistema 2007-FEES-CONARE
SAN JOSÉ COSTA RICA
ABRIL 2010**

Indice

Contenido	Páginas
Portada	1
Indice	2
Participantes	4
Abstract	6
Resumen ejecutivo	6
I. Introducción	7
Objetivo general	8
Objetivos específicos	8
II Metodología	8
Componente 1: Estudio biológico y agronómico.....	10
Componente 2 protocolos de micropropagación.....	12
Componente 3: Actividad biológica de compuestos bioactivos.....	13
Componente 4: Transformación y comercialización.....	14
Componente 5: Programa de capacitación y preparación de materiales.....	16
III Resultados y Discusión	16
Componente 1: Estudio biológico y agronómico.....	21
Manejo de raicilla.....	28
Manejo de zarzaparrilla.....	39
Manejo de cuculmeca.....	44
Manejo de hombre grande.....	49
Manejo de uña de gato.....	55
Extracción de ADN y caracterización genética.....	59
Estudio fitoquímico preliminar.....	65
Componente 2 protocolos de micropropagación.....	70
Componente 3: Actividad biológica de compuestos bioactivos.....	92
Componente 4: Transformación y comercialización.....	109
Componente 5: Programa de capacitación y preparación de materiales.....	113
Conclusiones	135
Bibliografía	136
Agradecimientos	141
ANEXOS	142

**Informe final de proyecto de investigación con recursos del fondo del
Sistema 2007-FEES-CONARE**

Nombre de la acción o proyecto: **Diversificación de sistemas agroforestales, mediante el fomento en asociaciones de agricultoras(es), de la producción de plantas con componentes bioactivos de la región Huetar Norte y Atlántica de Costa Rica con el aporte de las universidades estatales de Costa Rica.**

Nombre de la Comisión o equipo proponente: **PRONAPLAMED (PROGRAMA DE PRODUCTOS NATURALES Y PLANTAS MEDICINALES)** conformado por: **Comunidades rurales de agricultores de Zona Huetar Norte y Atlántica de Costa Rica, Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR) , Universidad Nacional (UNA) y Universidad de Costa Rica (UCR), Universidad Estatal a Distancia (UNED)**

Instituciones participantes: **Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), Universidad Nacional (UNA) y Universidad de Costa Rica (UCR), Universidad Estatal a Distancia (UNED)**

Responsables por institución (nombre completo, cargo, unidad donde labora, correo electrónico):

M.SC Cecilia Díaz. Escuela de Medicina, Universidad de Costa Rica.

M.Sc Elizabeth Arnáez. Escuela de Biología. Instituto Tecnológico de Costa Rica.

Ph.D Jorge Loaiza. Centro Regional Horquetas. Universidad Nacional.

M.Sc Fiorella Donato. Centro de Educación Ambiental. Universidad Estatal a Distancia.

Coordinador de la acción o proyecto:

M.Sc Elizabeth Arnáez. Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica.

Cuadro 1: Participantes del proyecto

Nombre	Escuela	Especialidad	Correo electrónico	Jornada (hrs/semana) y N° meses o años en el proyecto
MSc. Mildred García,	Profesora-investigadora. Escuela de Medicina, UCR	Bióloga-Fisiología humana-ensayos biológicos y de toxicidad	mildredg@cariari.ucr.ac.cr	Asignado por UCR
Ph.D.Cecilia Díaz,	Profesora e investigadora Escuela de Medicina y del Instituto Clodomiro Picado,UCR	Bióloga-Bioquímica-ensayos biológicos	cdiaz@cariari.ucr.ac.cr	Asignado por UCR
MSc. Jose Francisco Ciccio,	Profesor e investigador de la Escuela de Química de la Universidad de Costa Rica, UCR	Químico	jfciccio@cariari.ucr.ac.cr	Asignado por UCR
M.Sc Elizabeth Arnáez.	Profesora-Investigadora. Escuela de Biología. Centro de Investigación en Biotecnología. ITCR	Bióloga, botánica, anatomía vegetal, ecología	earnaez@itcr.ac.cr	8 horas/semana (3 años)
M.Sc. Ileana Moreira,	Profesora-Investigadora. Escuela de Biología. Centro de Investigación en Biotecnología. ITCR	Bióloga, botánica, anatomía vegetal, ecología	imoreira@itcr.ac.cr	8 horas/semana (3 años)
MSc. Silvana Alvarenga V,	Profesora-Investigadora. Escuela de Biología. Centro de Investigación en Biotecnología. ITCR	Bióloga, cultivo de tejidos en plantas y animales	salvarenga@itcr.ac.cr	10 horas/ semana (3 años)
Ing Monserrat Jarquín	Profesora y administrativa del Centro de Investigación	Ing. Biotecnóloga, cultivo de tejidos en	mjarquin@itcr.ac.cr	10 horas/semana/6 meses (sustituyendo incapacidad de MSc. Silvana Alvarenga)

	en Biotecnología. Escuela de Biología. ITCR	plantas		
MSc. Mairim Carmona	Profesora-Investigadora Escuela de Ciencias Sociales. ITCR	Socióloga	macarmona@itcr.ac.cr	4 horas/semana/3 años
MSc. Nancy Hidalgo Dittel	Profesora-Investigadora Escuela de Ingeniería Agrícola ITCR	Ing. Agrónom a	nhidalgo@itcr.ac.cr	10 horas/semana/2 años
Ing. Mario Zúñiga	Investigador Escuela de Ingeniería Agrícola ITCR	Ing. Agrícola	mzuniga@itcr.ac.cr	5 horas/semana/6 meses (como apoyo a las labores de la Ing. Nancy Hidalgo)
Ph.D Jorge Loaiza..	Investigador. Centro Regional Horquetas. UNA	Ing. Agrónomo	jloaiza@una.ac.cr.	Asignado por la UNA
M.Sc Fiorella Donato.	Centro de Educación Ambiental. UNED	Extensionista investigadora. Centro de Educación Ambiental, UNED	fdonato@uned.ac.cr	Dentro de las labores de la UNED
Ing. Juan Manuel Cordero	funcionario Consejo Nacional de Producción (CNP)	Ing. Economía Agrícola	jmcordero@racsa.co.cr	Dentro de las labores del CNP
Biólogo Alonso Quesada,	taxónomo Herbario Nacional del Museo Nacional	Biólogo, taxónomo	museohn@racsa.co.cr	Dentro de las labores de Herbario Nacional
Empresa privada	Q. Tomás Hidalgo	Químico, Empresa de Productos Naturales La Fuente	thomas261277@gmail.com	Dentro de las labores de su empresa (Visitas al campo, capacitación y apoyo en el trabajo de extracción y compra de materiales)

Duración de la acción o proyecto: Enero 2007-Diciembre 2009

RESPONSABLE DEL PROYECTO

Nombre: MSc. Elizabeth Arnáez S.

Cédula: 1-529-418

Firma: _____

DIRECTOR(A) DE LA ESCUELA RESPONSABLE

Nombre: Ing. Jaime Brenes

Cédula: 3-289-737

Firma: _____

Abstract

This study, through the use of scientific method allowed to asses the natural production conditions and the under agroecological handling conditions of some potential bioactive species (*Smilax sp*, *Uncaria sp*, *Quasia sp*, *Psychotria sp*), in different parts of the country. The information gathered will allow the use of these species in phytochemical studies in order to develop some products that will enable rural communities to improve their quality of life.

Resumen Ejecutivo

El conocer la diversidad florística del país es un trabajo de mediano a largo plazo que permite no solo identificar sino determinar el potencial bioactivo de muchas de ellas, lo cual es de vital importancia para la protección de la biodiversidad del país.

El objetivo del proyecto fue potenciar la producción económicamente rentable de plantas con componentes bioactivos para el área agronómica y de salud asociadas a sistemas agroforestales en la región Huetar Norte y Atlántica de Costa Rica.

Se trabajó con las siguientes especies: *Uncaria tomentosa* (uña de gato), *Quassia amara* (hombre grande), *Psychotria ipecacuanha* (raicilla), *Smilax vanilliodora* (zarzaparrilla) y *Smilax domingensis* (cuculmecca) . Plantas que poseen una gran importancia económica y que se deben implementar para fortalecer el desarrollo de programas agroforestales como alternativas para la protección del recurso biótico y como recurso económico que contribuya al mejoramiento de la calidad de vida de comunidades.

Se establecieron plantaciones con el fin de realizar prácticas de manejo adecuadas en las comunidades participantes de tal manera que se pudiera tener la materia prima para elaborar productos tales como tisanas y confites, entre otros. Se trabaja con grupos organizados ubicados en San Carlos y Guápiles, Costa Rica.

En el marco del proyecto se realizaron actividades tales como: talleres, cursos de capacitación, estudios biológicos, fitoquímicos y de cultivo de cada una de las especies.

Este proyecto permitió generar información científica de las especies con las que se trabajó, propició una base para el manejo integral de los estos recursos, obtener productos a partir de diferentes partes de la plantas y a la vez el manejo de recursos naturales no tradicionales realizado por las comunidades participantes.

Palabras clave: especies medicinales, *Uncaria tomentosa* (uña de gato), *Quassia amara* (hombre grande), *Psychotria ipecacuanha* (raicilla), *Smilax vanilliodora* (zarzaparrilla) y *Smilax domingensis* (cuculmecca), domesticación de especies medicinales.

I. Introducción

Las comunidades de la Región Huetar Norte y Atlántica de Costa Rica , están inmersas en un ambiente caracterizado por altas tasas de desempleo, subempleo de los factores de producción, migración de la población en búsqueda de mejores oportunidades, carencias en necesidades de consumo, falta de servicios básicos, falta de acceso a conocimiento, falta de acceso a maquinaria y equipo, inexistencia de canales de comercialización, dependencia del monocultivo del banano y otros, lo que conlleva a la presión sobre la base de recursos naturales.

Sin embargo, en estas comunidades están presentes asociaciones que han acompañado un proceso de capacitación y fomento a la producción de ciertas especies de plantas, con componentes bioactivos, que ha dado como consecuencia:

- Agricultoras (es) conocedoras (es) de ciertas especies de plantas medicinales : reconocen la planta y sus usos.
- Productoras (es) con conocimientos básicos sobre el cultivo y manejo en plantación y en el bosque.
- Comunidades reconocen y ubican el recurso vegetal en sus parcelas, remanentes de bosque y bosque primario.
- Productoras (es) con algunos conocimientos sobre la fenología de ciertas especies en la zona Atlántica de nuestro país: forma de crecimiento, época de floración y fructificación.
- Un buen número de las agricultoras (es) conocen la metodología de propagación vegetativa por estacas de varias plantas medicinales, y se cuenta con el establecimiento de plantaciones de varias especies de plantas.
- Productores (as) con conocimiento del proceso de climatización de material vegetal producido mediante micropropagación, su importancia y el manejo de éste en el campo.
- Agricultores (as) conocen el manejo de semilleros como alternativa de producción de material a gran escala.
- Productores (as) conscientes de la posibilidad de procesamiento con el fin de comercializarlo a mediano plazo

Aunado a esta situación de las comunidades agrícolas, diversos grupos de investigadores de las cuatro universidades participantes, han venido realizando investigaciones tendientes a estudiar los mecanismos de micropropagación y conocer los diferentes aspectos fenológicos y de manejo agronómico de ciertas especies de plantas medicinales.

En este proyecto de investigación se realizaron estudios sobre la distribución geográfica, fenológica, caracterización genética, propiedades fitoquímicas, propagación *in vitro*, ensayos de toxicidad y pruebas biológicas. Se trabajó cinco especies de plantas autóctonas: *Uncaria tomentosa* (uña de gato), *Psychotria ipecacuanha* (raicilla), *Smilax vanilliodora* (zarzaparrilla) y *Smilax*

domingensis (cuculmecha), *Quassia amara* (hombre grande); que dieron como resultado material elite para la siembra, cultivo y explotación de sistemas agroforestales.

Tomando en cuenta el panorama comercial que las plantas medicinales ofrecen y las características de las asociaciones involucradas en el proyecto, se pudo potenciar el papel de las comunidades conocedoras del recurso vegetal, a través de apoyo en materia de conocimiento y tecnología generada en las universidades involucradas en la propuesta. Las oportunidades pudieron ser aprovechadas por las agricultoras (es) los cuales se les ofreció conocimientos agronómicos básicos, el material de siembra, la maquinaria y equipo necesario para el procesamiento, la asesoría técnica para escoger los productos a procesar y los canales de comercialización adecuados para colocar el producto en los mercados.

El trabajo articulado de los diferentes actores que participan en este tipo de proyectos en conjunto fortaleció el modelo interuniversitario, agregando multidisciplinaridad, acción social, perspectiva de género y traslado de los resultados directamente a los(as) agricultores(as), a la empresa privada y a otras instituciones.

Objetivo general:

Potenciar la producción económicamente rentable de plantas con componentes bioactivos para el área agronómica y de salud asociadas a sistemas agroforestales en la región Huetar Norte y Atlántica de Costa Rica.

Objetivos específicos:

Desarrollar un paquete tecnológico con base en los conocimientos generados por el binomio: agricultores-universidades para la producción económicamente rentable de plantas con componentes bioactivos asociadas a sistemas agroforestales.

Lograr que los grupos organizados de El Millón y Esperanza Verde(Pococí, Provincia de Limón) y Cuestillas (Florenxia de San Carlos) y GEMA (San Isidro, Peñas Blancas), desarrollen la capacidad de autogestión de pequeñas y medianas empresas dedicadas a la producción, procesado y comercialización de plantas con componentes bioactivos.

II. Metodología

El trabajo se llevó a cabo de enero del 2007 a diciembre del 2009, con la participación de funcionarios de las cuatro universidades estatales (UCR-ITCR-UNA-UNED), el Consejo Nacional de Producción, Herbario Nacional de Costa Rica, miembros del Programa Nacional de productos naturales y Plantas Medicinales (PRONAPLAMED) y con el apoyo de la empresa privada.

Se trabajó con 5 especies con potencial bioactivo, a saber: *Uncaria tomentosa* (uña de gato), *Psychotria ipecacuanha* sp. (raicilla), *Smilax vanilliodora* (zarzaparrilla), *Smilax dominguensis* (cuculmecca) y *Quassia amara* (hombre grande).

Los grupos organizados con los que se trabajó fueron los siguientes (Fig.1):

1. Asociación de Mujeres Ecológica de Cuestillas (San Carlos)
2. Asociación de Mujeres de El Millón (Cariari- Guápiles)
3. Grupo GEMA (San Carlos)
4. Esperanza Verde (Cariari de Guápiles)
5. Finca Las Pailas (Las Colinas-Guápiles)
6. AMPALEC-EI Zota (Colinas- Guápiles)



Fig. 1: Representantes de las asociaciones que forman parte del proyecto.

El proyecto cubrió 5 componentes:

1. Estudio biológico y agronómico
2. Establecimiento de protocolos para la micropropagación de algunas especies (cuculmecca) y micropropagación de otras (uña de gato, zarzaparrilla e ipecacuana).
3. Actividad biológica de componentes bioactivos, ensayos de toxicidad y ecotoxicidad
4. Transformación y comercialización
5. Programa de capacitación, elaboración de materiales y divulgación.

Componente 1.

1. Estudio biológico y agronómico

Responsables: Elizabeth Arnáez (ITCR), Ileana Moreira (ITCR), Nancy Hidalgo (ITCR), Jorge Loaiza (UNA), Juan Manuel Cordero (CNP) y Alonso Quesada (Herbario Nacional)

Desde que se inició el proyecto se han realizado 2 giras al mes, una a la zona de San Carlos y otra a la de Guápiles, para conocer los lugares de siembra y el establecimiento de los terrenos en cada una de las comunidades (Fig. 2).



Figura 2: Localización de sitios para el cultivo de las plantas en cada comunidad

Durante el primer año se procedió a la localización de las especies en los bosques, relictos y zonas protegidas de las diferentes comunidades, así como en los bancos de germoplasma en los laboratorios de biotecnología de la UCR y el ITCR.

Además se determinó el potencial de el o los terrenos en cada comunidad que serán destinados al establecimiento de las áreas sembradas con una o varias de las especies de plantas medicinales que se van a trabajar en el proyecto, por medio de visitas y encuestas realizadas a cada uno de los grupos del proyecto.

Una vez definidos los terrenos de siembra con base en las condiciones de suelos, humedad, topografía, fertilidad, y grado de compactación; para el grupo del Millón, Zota (AMPALEC), Esperanza Verde, Las Pailas y de Cuestillas, se definió la necesidad de capacitación para las comunidades sobre manejo agronómico de las especies de plantas medicinales que se trabajarán en el proyecto. Además se determinaron las necesidades de materiales, infraestructura y herramientas en cada comunidad para el adecuado manejo de las especies, por tal motivo dependiendo de las verdaderas necesidades se les suministró aquellas herramientas que se consideren indispensables para el establecimiento y mantenimiento de las plantaciones.

En cada visita se entrenó a los (as) agricultores (as) sobre los métodos de siembra, preparación del terreno, y se realizó días de campo en cada zona acerca de técnicas de reproducción sexual y vegetativas entre ellas: acodos, injertos, estacas, fertilización, manejo de plagas y enfermedades, fertilización y manejo del suelo, entre otros. Toda la información recopilada se utilizó para hacer un plan de manejo agronómico de cada especie de planta medicinal; que incluya características del suelo, fertilización, manejo de plagas y enfermedades, distancias de siembra y adaptación.

Las comunidades de El Millón, Esperanza Verde y Las Pailas, ya contaban con una plantación de uña de gato, por lo que se empezaron a introducir plantas de esta especie en las otras comunidades.

Se compró plantas de raicilla y zarzaparrilla al laboratorio de cultivo de tejido de la sede del ITCR en San Carlos. Debido a que el crecimiento de estas plantas es muy lento no ha obtenido el total de las plantas contratadas para llevar al campo y se han tenido problemas con el proceso de climatización, por lo que queda pendiente completar el cultivo de estas plantas para inicios del 2010.

También se compraron plantas de ipecacuana del laboratorio de cultivo de tejidos de Centro de Investigaciones Agronómicas (UCR), una parte se entregó en diciembre del 2008, otra en diciembre del 2009, queda pendiente la última entrega en febrero del 2010, al igual que en el laboratorio de San Carlos, el crecimiento de estas plantas es muy lento.

Para la especie “hombre grande” en el año 2007 se sembraron más de 1000 plantas, se aumentó las poblaciones de este cultivo en el 2009.

También se han comprado a los agricultores del proyecto, plantas de zarzaparrilla, hombre grande y uña de gato, que las han logrado propagar vegetativamente por estacas o semilla, con una respuesta más rápida de crecimiento.

Se han sembrado plantas de hombre grande, uña de gato, zarzaparrilla, y raicilla entre las 6 comunidades, se le dio seguimiento al cultivo en cada uno de los sitios.

Con cuculmecha, el caso fue diferente porque no habían plantaciones establecidas, ni plantas en los laboratorios de cultivo de tejidos de las universidades. Después de localizar a los individuos en los bosque de las comunidades, se hicieron ensayos de reproducción por estacas pero la mortalidad fue muy alta, se realizaron ensayos por cultivo in vitro y ya se cuenta con un protocolo de micropropagación, falta el proceso de aclimatización para llevarlas al campo, esta labor se realizó en el laboratorio de cultivo de tejidos del CIB en el ITCR.

Se tiene un panorama general del comportamiento de las plantas en el campo. Con respecto al seguimiento fenológico de las plantas en el campo, éstas todavía no han representado sus características reproductivas. Se está en el proceso de

adaptación de las especies al campo para describir el comportamiento de las poblacionales y el crecimiento de los cultivos establecidos.

Se han realizado diferentes tipos de introducciones de plantas en el campo a saber: vivero, dentro del bosque y a cielo abierto, según la especie.

Se hicieron extractos con productos naturales para ser aplicados en los cultivos establecidos con el fin de que su manejo sea totalmente orgánico.

Algunas de las plantas en estudio fueron entregadas al Centro de Investigación en Biotecnología del ITCR, para realizar un estudio genético preliminar de las mismas.

Se entregó material vegetativo de zarzaparrilla, cuculmecha, raicilla y hombre grande, a la Escuela de Química de la Universidad Nacional quien realizó los estudios preliminares de los principales componentes químicos de estas especies.

Componente 2

Micropropagación y protocolos validados por especie

En los laboratorios de cultivo de tejidos del ITCR en San Carlos ya se tenían establecidos los protocolos de ipecacuana y zarzaparrilla y en el laboratorio de Cultivo de tejidos del CIA-Universidad de Costa Rica, ya se tenía el protocolo de raicilla, por lo que se les compró a ambos laboratorios el material para el establecimiento de las plantaciones en las diferentes comunidades.

En el caso de hombre grande la propagación ha sido por semilla, la reproducción por este medio es muy rápida y de esta forma se distribuyó a las comunidades.

En tres de la comunidades ya se tenían plantaciones de uña de gato, por lo que se procedió a distribuir a las otras comunidades plantas procedentes de semilla compradas a los agricultores.

La MSc. Silvana Alvarenga se encargó de la micropropagación de uña de gato y a partir del 2008 incluyó los ensayos con cuculmecha.

Componente 3

Actividad biológica de componentes bioactivos, ensayos de toxicidad y ecotoxicidad (Pruebas biológicas)

Responsables: Mildred García González; José Francisco Ciccio Alberti; Cecilia Díaz Oreiro (coordinadora por la UCR)

Se ha investigado sobre los protocolos de experimentación y se han adaptado procedimientos. Se realizaron pruebas biológicas de extractos acuosos y alcohólicos de *Uncaria tomentosa*

Con respecto a las pruebas biológicas, se realizaron las siguientes:

- a. actividad anti-oxidante in vitro
- b. actividad protectora contra el estrés oxidativo en órgano aislado (hígado de rata)
- c. actividad citotóxica directa sobre líneas celulares tumorales humanas
- d. actividad anti-inflamatoria en modelo de oreja de ratón
- e. actividad anti-tumoral in vivo en modelo de carcinoma hepatocelular en ratas
- f. determinación de alcaloides presentes en los extractos de *U. tomentosa*

El estudio de la actividad anti-oxidante in vitro de los extractos de *U. tomentosa* determinado por medio de la técnica de DPPH fue realizada por la estudiante de la Maestría en Ciencias Biomédicas (énfasis en Farmacología) Lizeth Meléndez Navas bajo la supervisión de la MSc. Gabriela Azofeifa Cordero y la Dra. Silvia Quesada Mora, del laboratorio de Bioquímica de la Escuela de Medicina.

Además se realizaron ensayos en extractos alcohólicos de la raíz de *Smilax vanilliodora*, la muestra fue secada y el señor Thomas Hidalgo de PRONAPLAMED preparó el extracto hidroalcohólico, que fue suministrado al grupo de investigación de la UCR.

Con respecto a las pruebas biológicas, se realizaron las siguientes:

- a. actividad anti-oxidante *in vitro*
- b. actividad citotóxica directa sobre líneas celulares tumorales humanas
- c. pruebas de toxicidad in vivo en ratones

Las actividades anti-oxidante y citotóxica fueron realizadas por una estudiante de intercambio de Hamburgo, Alemania, que trabajó bajo la supervisión de la MSc. Gabriela Azofeifa Cordero y la Dra. Silvia Quesada Mora. También participó en la realización de los experimentos la Sra. Lorena Torres, asistente de investigación del Laboratorio de Bioquímica de la Escuela de Medicina.

Para la actividad anti-oxidante del extracto hidroalcohólico de *S. vanilliodora*, se hicieron varios experimentos para determinar la IC50 del efecto antioxidante del extracto de *S. vanilliodora*. La IC50 corresponde a un valor de 196.0 µg/mL.

Por otro lado para los ensayos de la actividad citotóxica directa de los extractos de *U. tomentosa* sobre líneas celulares tumorales humanas., se utilizaron 3 líneas celulares, dos tumorales y la línea no-tumoral VERO. Se utilizaron las líneas de carcinoma de colon SW-620 y de estómago AGS.

Los ensayos sobre toxicidad *in vivo* del extracto hidroalcohólico de *S. vanilliodora*, se encuentran todavía en curso y están siendo realizados por la MSc. Mildred García González y su grupo de investigación. En este caso esta prueba es imprescindible ya que la toxicidad aguda de un extracto alcohólico de *Smilax vanilliodora* no se encuentra reportado en la literatura y debe descartarse un efecto tóxico directo en los animales antes de validar sus usos medicinales, por lo que requiere más tiempo para su validación.

Componente 4

Transformación y comercialización

Responsables: Todos los participantes del proyecto, coordinado por Ileana Moreira, Elizabeth Arnáez, Juan Manuel Cordero, Jorge Loaiza y Mairim Carmona

Se trabajó con los miembros de las comunidades para la selección del establecimiento del centro de acopio en cada zona, así como ver necesidades de infraestructura y materiales.

Se construyó un secador en la comunidad de Cuestillas (Asociación de Mujeres Ecológica de Cuestillas, San Carlos), con el fin de que tengan la infraestructura necesaria para el secado de las plantas medicinales cultivadas, para la posterior elaboración de productos.

Se realizaron contactos para futuros compradores de raicilla y de uña de gato.

También se han realizado gestiones para la ubicación de compradores de las diferentes especies o sus potenciales productos.

Componente 5

Programa de capacitación, elaboración de materiales y divulgación.

Responsables: Mairim Carmona, Fiorella Donato, Elizabeth Arnáez, Ileana Moreira. Todos los miembros del proyecto participaron como instructores según el tipo de capacitación.

Se realizaron diferentes actividades tales como: cursos, talleres, días de campo, encuentros, elaboración de banner y panfletos y presentación de resultados en diferentes eventos a nivel nacional e internacional. Cada semestre se contó con el apoyo de estudiantes de trabajo comunal de la Universidad de Costa Rica en las comunidades del proyecto.

Se cuenta con un archivo donde se encuentran los programas, materiales entregados, copia del certificado entregado y la lista de participantes, así como un banco de las fotos tomadas en las diferentes actividades (Fig. 3).



Fig. 3 Muestra de una de las capacitaciones a grupos organizados

III. Resultados y Discusión

Plan de trabajo por objetivos, metas, actividades, indicadores y responsables

En el Cuadro 2 se resumen los Objetivos, Metas, Actividades e Indicadores del proyecto, así como identifica a los responsables correspondientes.

Cuadro 2: Indicadores de gestión por objetivo

Objetivo	Meta	Indicadores de gestión	% Logro	Observaciones
Desarrollar un paquete tecnológico con base en los conocimientos generados por el binomio: agricultores-universidades para la producción económicamente rentable de plantas con componentes inactivas asociadas a sistemas agroforestales.	Planes de manejo agronómico por especie.	Poblaciones localizadas y georeferenciadas	100%	Las poblaciones están ubicadas en cada comunidad tanto en el campo como en las zonas boscosas
		Plantaciones agroforestales establecidas con al menos 5 especies de plantas medicinales desarrollándose y manejadas exitosamente por las agricultoras	100%	Se tienen cultivos de 4 especies (uña de gato, hombre grande, zarzaparrilla y raicilla), en el caso de cuculmeca se tiene solamente el protocolo de micropropagación debido a que es una especie sobre la que no se tenía información al respecto y a que su desarrollo es muy lento. Por lo que para el segundo año del proyecto se

				<p>decidió establecer plantaciones con 4 de las especies y dejar cuculmeca a nivel de laboratorio.</p>
		4* grupos entrenados en la siembra	100%	A todos los grupos se les entrenó en el cultivo de las especies por medio de visitas de campo cada mes y charlas.
		4* grupos aplicando los conocimientos	100%	Entre los grupos que se encuentran aplicando los conocimientos y demostrando la experiencia están: . 1.
		4* grupos demostrando la experiencia obtenida	100%	Asociación de Mujeres Ecológica de Cuestillas (San Carlos) 2. Asociación de Mujeres de El Millón (Cariari-Guápiles) 3. Grupo GEMA (San Carlos) 4. Esperanza Verde (Cariari de Guápiles) 5. Finca Las Pailas (Las Colinas-Guápiles) 6. AMPALEC-El Zota (Colinas-Guápiles)
	Protocolos	Protocolos de	100%	Se cuenta con los

	de micropropagación por especie.	reproducción <i>in vitro</i> para las cinco especie		protocolos de micropropagación de todas las especies.
	Actividad biológica de componentes bioactivos, ensayos de toxicidad y ecotoxicidad (Pruebas biológicas)	Resultados de las pruebas de toxicidad. Resultados de las pruebas biológicas efectuadas.	100% 100%	Se tiene los resultados de pruebas de toxicidad y biológicas de uña de gato y zarzaparrilla, que fueron las dos especies escogidas para este tipo de trabajos durante el proyecto por su potencial posible capacidad anticancerígena y autoinmune. Según los reportaba la literatura.
	Transformación y comercialización	2 Centros de acopio terminados y procesando material 2 empresas constituidas legalmente	100% 100%	Se ha continuado apoyando a los centros de acopio de los Grupos GEMA, El Millón y Esperanza Verde. Empresas que han continuado constituidas legalmente y se les ha apoyado en este campo son GEMA y Esperanza Verde. Sin embargo todas las Asociaciones participantes dentro del

		2 productos listos para el mercado	100%	<p>proyecto cuentan con la Asociación inscrita legalmente.</p> <p>Se tienen extractos de los uña de gato, hombre grande, para elaborar diferentes tipos de productos.</p> <p>En el caso de uña de gato se elaboran tisanas y confitería.</p> <p>Se logró la venta de hojas de uña de gato en grandes cantidades a la empresa La Fuente.</p>
Lograr que los grupos organizados del Millón y Esperanza Verde(Pococí, Provincia de Limón) y Cuestillas (Florencia de San Carlos) y GEMA (San Isidro, Peñas Blancas), desarrollen la capacidad de autogestión de pequeñas y medianas empresas dedicadas a la		Capacitaciones efectuadas a los grupos de las comunidades	100%	<p>Durante los tres años de estudio se realizaron visitas mensuales para dar seguimiento a los cultivos de plantas establecidos, elaboración de productos y otros.</p> <p>Además se realizaron talleres, días de campo, cursos, intercambios entre grupos. Se llevaron empresarios para el establecimiento</p>

producción, procesado y comercialización de plantas con componentes bioactivos.				de nexos y contactos.
---	--	--	--	-----------------------

*Cabe destacar que durante el proyecto se trabajó con más de 4 grupos organizados

Información sociológica de las comunidades

El cantón de Pococí ha tenido un alto crecimiento poblacional en comparación con otras regiones de Costa Rica, llegando a ser el cuarto cantón de más crecimiento en el país, con una tasa anual de 5,3% anual. Este crecimiento ha sido posible gracias a la disposición de espacio físico, a las condiciones agroecológicas del suelo y a la baja densidad de población (0,5 habitantes por hectárea)¹. Un ejemplo de este crecimiento poblacional es el asentamiento de El Millón en La Roxana.

La comunidad de El Millón está ubicada en la zona periférica bananera y se caracteriza por ser una región de producción agrícola en cultivos a pequeña escala como yuca, frijoles, arroz y plátano. Recientemente están incursionando en el cultivo de guanábana, pejibaye y establecimiento de ganadería. La Comunidad del Millón está conformada por un grupo de 40 a 45 familias, este dato es fluctuante, ya que por la situación socio económica de la zona la población es fluctuante.

Comunidad de Cuestilla, Florencia de San Carlos, Zona Huetar Norte (AFEC), grupo conformado por 8 mujeres, la mayoría de ellas jefas de hogar, que pretenden obtener ingresos adicionales para mejorar su nivel de vida.

¹ Censo Nacional de Población y Vivienda, 2000.

Resultados y discusión por componente:

Componente 1.

1. Estudio biológico y agronómico

Responsables: Jorge Loaiza (UNA), Elizabeth Arnáez (ITCR), Ileana Moreira (ITCR), Nancy Hidalgo (ITCR), Juan Manuel Cordero (CNP) y Alonso Quesada (Herbario Nacional)

En general se dispone del proceso de domesticación de la uña de gato en las comunidades de Guápiles (Alvarenga y col.; 2008). Adicionalmente, se introdujeron plantas en los grupos ubicados en San Carlos. Se sembraron plantas de hombre grande, zarzaparrilla, y raicilla entre las 6 comunidades, con esto se cumple con el objetivo establecido de contar con el establecimiento de cuatro especies.

Las plantas de ipecacuana y raicilla micropropagadas en el laboratorio de cultivo de tejidos del ITCR eran de las siguientes procedencias (información brindada por el Ing. Tomás Palma):

1. Ipecacuana: se seleccionaron inicialmente de CoopeSanJuan, La Gloria de Aguas Zarcas, del ecotipo llamado: " hoja blanca"
2. Zarzaparrilla, las primeras plantas para su micropropagación se seleccionaron de CoopeSanJuan y corresponden a la *Smilax vanilliodora*. Pero además se establecieron otras especies de la colección realizada en la zona de Limón.
3. En el caso de hombre grande las primeras plantas que se sembraron en la colección del ITCR en San Carlos proceden de Florencia, (con estas se iniciaron las siembras *in vitro*) pero luego se sembraron árboles que se trajeron del CATIE y procedentes de El Salvador, Honduras y Costa Rica.

En el cuadro 1 se muestra la cantidad de plantas distribuidas en las diferentes comunidades del proyecto.

Cuadro 1: Total de plantas entregadas a los agricultores

	Raicilla	Zarzaparrilla	Hombre grande	Uña de gato
AMEC (Cuestillas.San Carlos)	250	150	300	50
AMEC (casa de doña Josefa) (San Carlos)	10	10	10	10
GEMA (San Carlos)	0	0	100	50
El Millón	200	100	250	Ya tienen una plantación establecida
Esperanza Verde (Danilo Rangel) (Guápiles)	150	150	250	Ya tienen una plantación establecida
AMPALEC (Doña Nuria) (Guápiles)	190	150	250	50
Finca Las Pailas (Don Félix Rodríguez) (Guápiles)	550	338	150	Ya tiene establecida una plantación
EL Millón (Doña Gaudelia) (Guápiles)	100	50	0	0
Grupo de Mujeres de La Colinas (Guápiles) (si incorporaron recientemente al proyecto)	51	0	0	0
Total	1501	948	1310	160

Se entrenó a los miembros de las diferentes asociaciones para las estrategias agronómicas óptimas para la multiplicación de las especies plantadas.

En el caso de cuculmecha se hicieron ensayos por estacas pero la mortalidad fue muy alta y se marcó regeneración en el campo pero su crecimiento es muy lento, se realizaron ensayos para el establecimiento del cultivo *in vitro*, se probó una regeneración en el campo pero su crecimiento fue muy lento. Además se

realizaron ensayos por cultivo *in vitro* y ya se cuenta con un protocolo de micropropagación, falta el proceso de aclimatización, esta labor se realizó en el laboratorio de cultivo de tejidos del Centro de Investigación en Biotecnología en el ITCR.

Con respecto al seguimiento fenológico de las plantas en el campo, éstas todavía no han representado sus características reproductivas. Se está en el proceso de adaptación de las mismas para describir el comportamiento de las poblaciones y el crecimiento de los cultivos establecidos. Se tiene un panorama general del comportamiento de las plantas.

En la figura 1 se muestra material de laboratorio, invernadero y el llevado al campo



Figura 1: Crecimiento de plantas en laboratorio, invernadero y traslado a las comunidades

Se realizaron diferentes tipos de introducciones de plantas en el campo a saber: vivero, dentro del bosque y a cielo abierto, según la especie, con la finalidad de determinar las mejores condiciones de adaptación de las mismas. Además se consideraron aspectos como fertilidad de los suelos, no encharcamiento, con buen drenaje y suelos sueltos. Los sitios quedaron debidamente marcados, como se nota en la figura 2.



Figura 2 Muestra de cultivos

En el cuadro 2 y las figuras 3-5 se muestran georeferenciadas las zonas donde se encuentran los cultivos de las plantas cultivadas.

Cuadro 2. Comunidades y georeferencia de las plantas cultivadas.

Nombre de la planta	Sitio	Georeferencia	Propietario
Raicilla, hombre grande, uña de gato y zarzaparrilla	En bosque y en terreno detrás de la casa	N10°29' 59.5 W 083° 42' 35.2" 63 msnsm (zona boscosa) N10° 30' 0.04" W083° 42' 38.2"	Finca las Pailas (Guápiles)
Raicilla, hombre grande y zarzaparrilla	En terreno detrás de la casa En bosque	N 10´min 03.9 seg W 0.84 30 17.1" Presión ambiental 999.8 112 m.s.n.m N 10´min 22 39.9 seg W 0.84 30 45.6" 195 m.s.n.m.	Grupo Cuestillas (AMEC)
Raicilla, hombre grande, uña de gato y zarzaparrilla	Detrás del Laboratorio Bosque	N10°26' 52.6" W 083° 37' 21.0" N10°26' 37.4" W 083° 37' 22.5" 44msnm	Grupo El Millón
Hombre grande, uña de gato, raicilla y zarzaparrilla	Area de cultivo Bosque	N10°30' 22.2" W 083° 43' 17.8" N10°30' 23.8" W 083° 43' 09.6" 46 msnm	Grupo Esperanza Verde

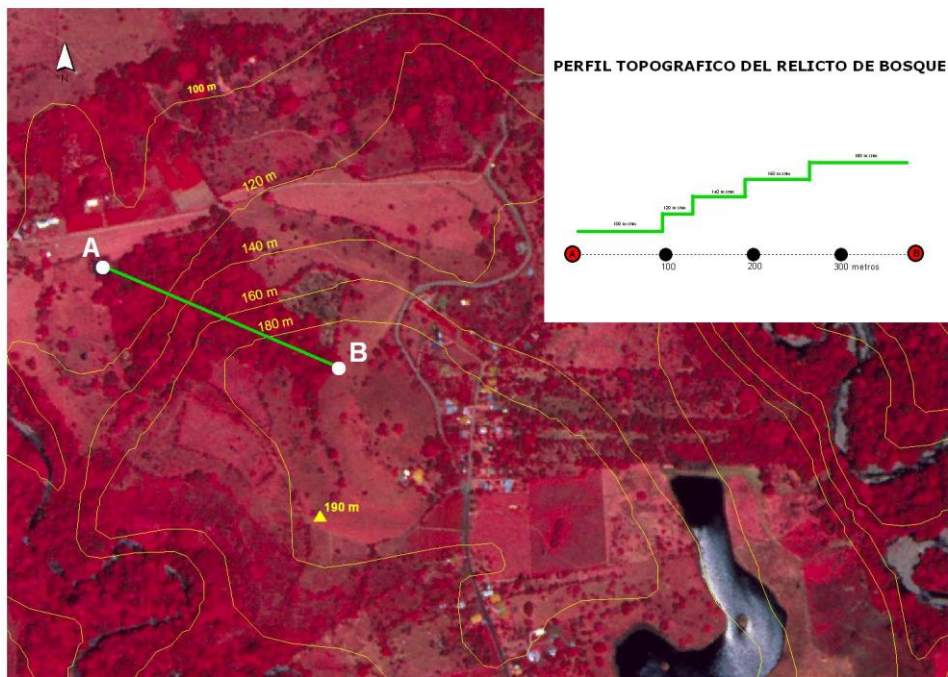


Fig.3: Puntos A-B muestran el área donde se tienen sembradas plantas medicinales en diferentes puntos del Grupo AMEC-San Carlos (Tomada de INEC-2008)

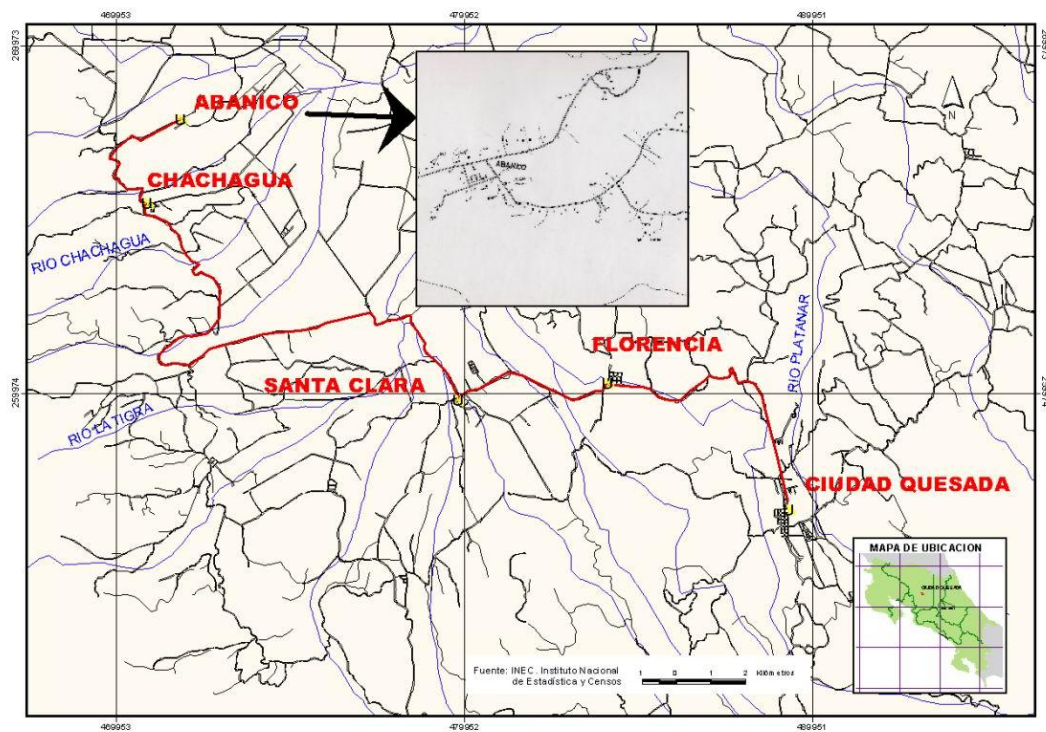


Figura 4: Panorámica de la comunidad del Abanico y Florencia donde se encuentran ubicado los grupo GEMA y AMEC respectivamente. (Tomada de INEC-2008)

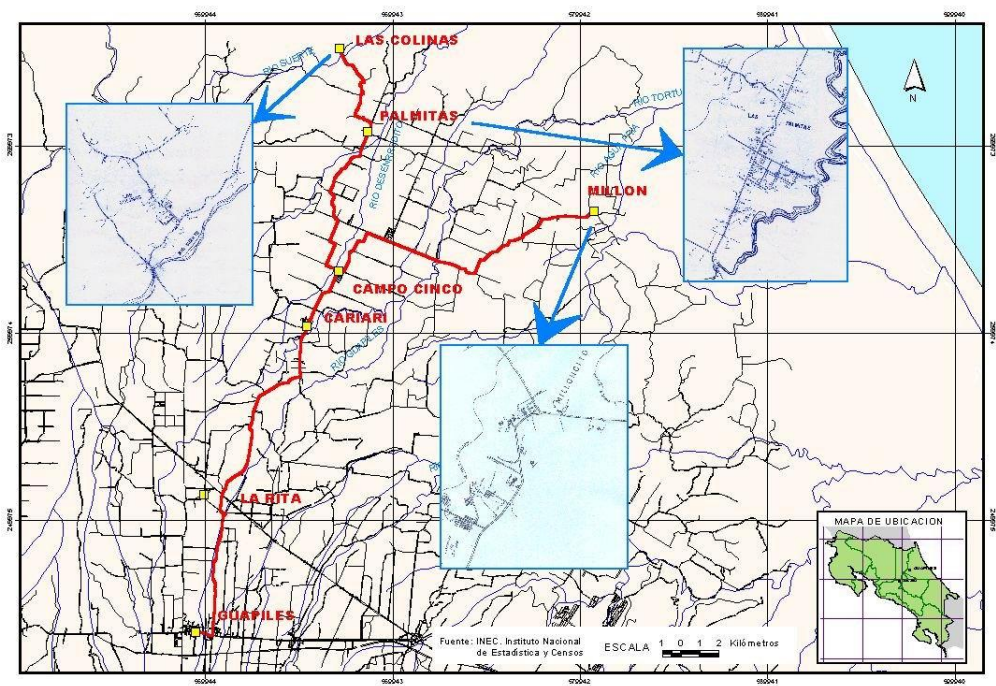


Figura 5: Panorámica de la ubicación de las comunidades de El Millón-Palmitas y Colinas de Guápiles. (Tomada de INEC-2008)

Manuales para el manejo de especies con potencial bioactivo

A continuación se presentan la información general y los planes de manejo de cada una de las especies en estudio

Manejo de raicilla

RAICILLA

(*Psychotria ipecacuanha*)

Familia: Rubiaceae

Nombres vulgares: Ipecacuana, anillada menor, bejuquillo, picahonda, poaja, raíz brasileña, raicilla.

Sinónimos: *Cephaelis ipecacuana*

El grave deterioro que han sufrido los productos no maderables de los bosques por la extracción indiscriminada de los mismos, generó una fuerte tendencia a buscar sistemas de reproducción y manejo que garantizaran su uso comercial, sin amenazar la riqueza de los bosques. El Instituto Tecnológico de Costa Rica, inició el desarrollo de métodos alternativos de propagación de especies medicinales nativas desde 1988 con una investigación sobre la micropropagación de ipecacuana (Hidalgo, 1988; Hidalgo, Herrera y Guevara, 1993). El protocolo desarrollado para la propagación clonal de la raicilla a partir de raíces fue sustituido por la propagación a partir de microestacas, método que se usa comercialmente en estos momentos (Hidalgo y Palma, 1993). De esta forma se desarrolló una vía alternativa de propagación masiva de materiales de importancia comercial sin amenazar las poblaciones presentes en los bosques.

Posteriormente se hicieron estudios de caracterización de ecotipos de raicilla con el fin de determinar los tipos con mayor potencial comercial (Hidalgo, Moreira y Soto, 1993; Hidalgo, 1996).

También se realizaron estudios sobre respuesta de raicilla a diferentes tipos de abonos (Hidalgo y Palma, 1996), fertilidad de suelos dedicados al cultivo (Hidalgo, 1996), estudios de enfermedades (Castro e Hidalgo, 1996; Castro, Hidalgo y Coto, 1996; Castro, Hidalgo y Bertsh, 1996), así como estudios de la nematofauna (Hidalgo 1996).

El uso de la biotecnología como un método de propagación masivo que ofrece materiales de calidad debe ser antecedido por procesos de selección de materiales, de modo que se pueda ofrecer materiales de alto potencial comercial a los productores (Palma e Hidalgo, 1994).

Aunque no se han realizado estudios para determinar el grado de amenaza sobre las plantas medicinales, se consideran en peligro de extinción aquellas que requieren de condiciones de bosque para sobrevivir y aquellas con poca plasticidad para ocupar diferentes hábitat. Dos especies consideradas como ejemplos son: la cuculmecha (*Smilax* sp.) y raicilla (*Psychotria ipecacuana*) (Palma, 1996).

Distribución

Es originaria de los bosques húmedos y cálidos de Brasil, Colombia, Perú y México (HIPERNATURAL, 2007). En Costa Rica la distribución de raicilla se limita a un área en la región Huetar Norte, en la frontera con Nicaragua. Esta planta se distribuye desde la planicie oriental de Nicaragua, a través de Costa Rica, Panamá y el Norte de Sudamérica, hasta Brasil (OCAMPO, 2007).

Descripción General

Es un pequeño arbusto de 30 a 50 cm de altura, posee raíces largas y anilladas, sus flores son blancas y pequeñas, crecen en una cabezuela terminal (HIPERNATURAL, 2007).

La ipecacuana es una planta herbácea perteneciente a la familia de la rubiáceas. No alcanza más de 40 cm. de altura, sus hojas opuestas son de hasta 7 cm. de largo, de color verde oscuro brillante en la cara superior y más claro en la inferior. Se cultiva principalmente en la selva tropical húmeda de Brasil, la India y Malasia, encontrándose otras variedades por toda Centroamérica.

El tallo es semi-leñoso, delgado, y retorcido, de 20-30 cm de largo. Las flores, hermafroditas, son pequeñas, y se encuentran en una inflorescencia terminal. El fruto es una baya pequeña y carnosa. El rizoma es tuberoso y posee una envoltura áspera, de 0,5-1,0 cm de grosor y de 15-17 cm de longitud. Una vez cosechado este pierde grosor y peso, pero no su característica anillada y torcida. La especie produce abundantes semillas, dispersadas por aves, y posee una alta capacidad de reproducción vegetativa. La raicilla no resiste la alta intensidad lumínica; por esta razón, *a priori*, se le considera fisiológicamente dentro de la categoría de planta esciófita. Para su crecimiento, requiere temperaturas cálidas, humedad relativa alta y concentraciones de materia orgánica adecuadas. Dichas características biológicas presentan ventajas para el manejo en condiciones de bosque (Ocampo, 2007).

Estado de domesticación de la raicilla

La raicilla es otro ejemplo de planta medicinal que inicialmente se aprovechó mediante extractivismo y luego se inició un proceso de domesticación y se estableció bajo cobertura boscosa debido a tres razones:

- a. Disminución de las poblaciones silvestres
- b. Problemas en la recolección silvestre
- c. Precios altos en los mercados internacionales

La utilización de la raicilla se menciona en la agricultura indígena. Posteriormente se promovió su industrialización en países desarrollados, lo que desató el extractivismo del recurso del sotobosque, provocando su desaparición de las áreas naturales. El proceso de domesticación y manejo se inició después en países como Nicaragua, Costa Rica y Panamá.

Usos

Es una planta conocida desde la antigüedad, sobre todo por sus virtudes eméticas, es decir, la facilidad que tiene para provocar el vómito.

Los principios activos de la raíz de ipecacuana son varios alcaloides que se encuentran en una proporción que varía entre el 2 y el 4%. Se sitúan en la zona cortical de la raíz y los principales son la emetina y la cefelina, que van acompañados de cantidades menores de otros alcaloides de menor importancia. En estudios realizados en cultivos de raicilla en la Zona Norte de Costa Rica en plantas de 2-3 años se encontró de un 1,7 a 2,3 por ciento de alcaloides totales, de estos la emetina representó entre el 60 y 70 por ciento del total (Ocampo, 1986).

La raíz de ipecacuana tiene propiedades expectorantes, eméticas y antiamebianas, debidas a la acción de sus alcaloides. Las propiedades expectorantes se manifiestan en dosis bajas por vía oral; en dosis superiores da lugar a fuertes vómitos, mayores cuanto mayor sea la dosis. Estos efectos se producen a través del centro del vómito gracias a una acción irritante sobre la mucosa gástrica y a una activación de la zona gatillo del área postrema del bulbo, aunque la contribución de este último mecanismo al efecto emético -en las dosis utilizadas para intoxicaciones agudas- no parece muy importante.

Entre los alcaloides de la ipecacuana, la cefelina es la que presenta propiedades eméticas más acentuadas. Como emético se emplea en forma de jarabe, que se debe administrar junto con mucha agua para distender las paredes del estómago y favorecer el vómito, que suele aparecer al cabo de unos 20 minutos. En cuanto a las propiedades amebicidas, estas se deben principalmente a la emetina (MOREIRA, 1997).. Su mecanismo de acción actúa impidiendo la multiplicación de determinados parásitos.

La ipecacuana se utilizaba antiguamente de forma doméstica, no sin problemas de efectos secundarios, por lo que se empezó a racionar su uso por parte de personal no especializado. En la actualidad existen jarabes y otros preparados que contienen raíz de ipeca; pero su empleo debe dejarse en manos de personas expertas, es decir, médicos y farmacéuticos. Tiene actividad antiviral. (www.erasalud.com/guias/plantas/i/ipecacuana.php)

Condiciones del sitio

Las experiencias de cultivo en otras zonas tropicales semejantes, muestran que las condiciones ambientales halladas en su área de origen, son fundamentales para obtener una materia prima de calidad en lo que se refiere a la concentración de los alcaloides. Esta condición ambiental y la intolerancia de las hojas de la raicilla a la luminosidad, hacen que su cultivo se realice bajo una cobertura arbórea u otro material que brinde la sombra necesaria. De hecho, el cultivo de raicilla fue concebido inicialmente debido al aumento en la demanda de la materia prima, sobre todo durante la Segunda Guerra Mundial, seguido por la disminución natural de la raicilla en el bosque, producto de la cosecha silvestre. En general las fincas incluidas en el proyecto presentan condiciones climáticas y de suelos apropiadas para la siembra de raicilla. Inclusive en algunos de los bosques se localizaron plantas de raicilla nativas (Ocampo, 2007).

La selección de los lugares de siembra de la raicilla que se entregó a cada productor(a) varió dependiendo de los objetivos que se tenían en la finca. El equipo del proyecto discutió con cada persona sobre la escogencia del lugar más adecuado dependiendo del objetivo que se perseguía. En todos los casos se recomendó la escogencia de zonas sombreadas. Algunas(os) sembraron el material en el bosque para logra el enriquecimiento de los bosques. En otros casos el material se colocó en viveros o en eras con el fin de sacar más material de siembra. En otros casos se sembró en eras para iniciar la plantación dentro del bosque o en una zona con sombra natural o con sarán. En todos los casos se le dio seguimiento a las plantas entregadas a cada finca una vez al mes.

En el proyecto se fomentó el enriquecimiento de bosques con el fin de recuperar la flora nativa y de modo que los bosques se conviertan en lugares donde las personas pueden guardar los materiales que en el futuro les pueden ofrecer alternativas de producción y de generación de ingresos. El solo hecho de enriquecer los bosques con estas plantas le garantiza a las personas un producto que a futuro puede ayudarles a mejorar sus ingresos.

Métodos de propagación vegetativa

La raicilla es una especie que se puede propagar por medio de semillas o por medios vegetativos. La propagación por semilla es poco usada por lo poco frecuente que es la floración en esta especie. Además, no solo se producen flores y frutos con poca frecuencia sino que además se producen muy pocas flores por planta. A lo sumo dos flores por planta y la mayoría de las plantas de una plantación no emiten flores a lo largo del año. Además las plantas producidas por semilla son muy lentas para crecer.

Es por ello que se ha recurrido al uso de la propagación vegetativa para lograr un mayor número de plantas en poco tiempo. Con la ventaja además de que por medio de este tipo de propagación se mantiene las características de las plantas de donde se toma el material de siembra.

La propagación vegetativa se puede hacer usando raíces o estacas, siendo este último el material que mejor responde. La propagación vegetativa se puede hacer en vivero o en laboratorio.

Cuando la propagación se hace en vivero, se pueden usar bolsas, bandejas o eras en el suelo. Es importante usar un sustrato o medio de crecimiento, que retenga humedad pero no en exceso. El sustrato puede ser una mezcla de tierra con abono orgánico, granza, fibra de coco y cualquier material que permita que la tierra esté suelta. La siembra en bandejas tiene la ventaja de que se pueden tener muchas plantas en poco espacio. Además es muy fácil transportarlas al lugar de siembra, llevando muchas plantas de una sola vez. Otra ventaja de las bandejas es la facilidad para sacar las plantas sin dañar la raíz a la hora de trasplantar.

El material que se usa para sembrar, son pedazos de tallo de una planta madre que tenga de 2 a 3 nudos. Se hace un agujero en el sustrato de siembra y se coloca la estaca, apretando con suavidad la base de la estaca para que quede de pie. Este método es muy utilizado en Costa Rica y tiene un menor costo que otros usados en otros países (Bahren, 2008).

En esta etapa es muy importante el riego en forma de gota fina para que se mantenga húmeda la parte aérea de la estaca. También es muy importante colocar las bolsas o las bandejas en una zona con sombra. El sol directo quema las estacas. No se deben aplicar abonos ni sustancias protectoras al material hasta que se note que han iniciado el proceso de enraizamiento, esto se nota porque las estacas se mantienen rectas sin doblarse.

Usando este método de propagación, el porcentaje de plantas que logran sobrevivir es variable y depende del cuidado que se les brinde en esta etapa. Cuando la siembra se hace directamente en el campo, sin usar bandejas ni bolsas, se puede perder hasta la mitad o más del material.

Cuando la propagación se hace en laboratorio y se el proceso es adecuado, los materiales que se producen llegan al campo libres de plagas y enfermedades. Además de una estaca se pueden sacar miles de plantas.

La desventaja de este método es el costo de cada planta, pues el trabajo en laboratorio se hace con materiales y equipo muy costoso. Además después de la propagación en laboratorio se requiere una etapa en vivero, que se conoce como climatización, que busca acondicionar las plantas antes de llevarlas al campo. Si esta etapa se hace correctamente, se logra que hasta un 95 % de las plantas que salen de laboratorio, lleguen al campo. En el caso de este proyecto, hubo algunos lotes de plantas que no recibieron un manejo adecuado en la etapa de vivero y al llegar en condiciones no óptimas al campo, se murieron en porcentajes variables. El cuidado en esta etapa es fundamental para no amenazar la sobrevivencia del material a la hora de llevarlo al campo.

El material que se produce en laboratorio sale libre de plagas y enfermedades, esto no significa que sea resistente a estas. Pero si en la etapa de climatización, no se tienen los cuidados necesarios, las plantas se pueden contaminar y llegar al campo enfermas y con plagas.

Es importante seleccionar los materiales en el vivero y no trasladar materiales contaminados, a la zona de siembra definitiva.

Una ventaja del material producido en laboratorio, es la rapidez con que producen rizoma esas plantas. Se ha determinado que estas plantas en seis meses tiene un desarrollo de rizoma igual que el rizoma que forman en un año las plantas propagadas por métodos tradicionales. Esto significa que el tiempo de cosecha se va a acortar cuando se usa material producido en laboratorio.

Un método alternativo de propagación fue el usado en el proyecto, que consiste en usar plantas producidas en laboratorio como plantas madre y a partir de ellas saca estacas que se usan para incrementar en vivero la cantidad de material para hacer la siembra definitiva en campo. Es decir, se entregó a cada productor(a) material proveniente de laboratorio, el que fue sembrado en viveros o directamente en el bosque y luego se procedió a sacar estacas de esas plantas para aumentar el número de plantas que se sembrarían en la siembra definitiva (Fig.1).



Figura 1. Cultivo de raicilla en el campo, bajo diferentes condiciones de siembra.

Este método permite partir de material de alta calidad y a la vez bajar los costos de producción al usar el método tradicional para la propagación masiva. Así los productores pueden continuar el proceso de aumento de plantas, sin depender del material de los laboratorios. El proyecto cubrió los costos de producción y transporte del material de los laboratorios a las zonas de siembra, pero si los

agricultores(as) deben pagar por estos materiales, los costos de producción se elevarían considerablemente. En el caso de Cariari, se puede reactivar un laboratorio que se encuentra en la zona para que ofrezca este tipo de materiales a los productores (as) a menor costo. A cada persona que recibió material se le indicó cuáles eran los cuidados que debía tener con el material.

Podas

En raicilla no se usa la práctica cultural de la poda, solamente se sacan estacas de las plantas cuando se quiere incrementar la cantidad de material de siembra. Para realizar esta labor es importante hacerlo cuando las plantas ya han logrado establecerse en el campo porque si se hace de forma muy temprana puede provocar la muerte de la planta. La corta de ramas de la planta provoca la salida de más ramas, lo que favorece la producción de material de siembra.

Distancias de siembra

La raicilla se siembra en eras, preferiblemente de 1,20 metros de ancho, si la distancia entre árboles dentro del bosque lo permite. Si la siembra es en vivero se recomienda usar eras anchas para hacer un mejor uso del terreno. La altura de las eras es un factor crítico en el caso de raicilla porque se busca favorecer el drenaje en la zona alrededor de la planta. La raicilla es una planta de zonas húmedas y calientes pero no tolera el encharcamiento. La distancia de siembra entre plantas debe ser como mínimo de 15 cm. Si las plantas se siembran muy juntas, se favorecen las enfermedades en la plantación. Cuando el desarrollo de las plantas es excesivo por la calidad de la tierra, de los abonos o las condiciones climáticas, es importante ampliar las distancias de siembra para reducir la presencia de enfermedades.

En cada finca se analizó el lugar que se escogió para realizar la siembra y se comentó con la persona que realizaría la siembra, sobre el mejor sistema en cada caso. En las visitas mensuales a cada finca se revisó el estado de las eras y las distancias de siembra usadas para sugerir mejoras.

Manejo del cultivo

La raicilla es una planta que necesita crecer bajo sombra, por eso su cultivo se ha realizado dentro de bosque o en viveros de sarán. La siembra en bosque tiene el inconveniente de que, cuando los precios están muy altos, hay una fuerte amenaza de robo de la cosecha.

Las experiencias de siembra en sarán se han iniciado y se tiene poca información sobre la cantidad de rizoma producido y las amenazas que puedan existir bajo este sistema.

Una de las empresas asociadas al proyecto inició la siembra bajo sarán y se espera que al mejorar el material de siembra, se tengan buenos resultados.

Estudiantes de trabajo comunal universitario (TCU-UCR), han colaborado con las comunidades del proyecto en la preparación del terreno y la siembra de las plantas.

Manejo orgánico

El proyecto ha recomendado el manejo orgánico de las siembras, entre otras razones por tratarse de siembras que se están haciendo dentro de bosques o cerca de las viviendas. La mayoría de las fincas tiene este tipo de manejo, por lo que no fue difícil lograr que se usara esta alternativa.

Plagas

Solo se tuvo problema de zompopas en una de las fincas, lo cual fue resuelto con métodos orgánicos. En las otras fincas no hubo problemas de plagas.

Enfermedades

La enfermedad más frecuente en la raicilla es conocida como “pelona” por la apariencia que toma la planta cuando se presente. Las plantas pierden todo su follaje. Es provocado por una mezcla de hongos y bacterias de suelo, que aprovechan un estado de estrés de la planta para atacarla. Entre más fuerte está la planta, es menos probable que se presente. Los agricultores suelen usar mezclas de agroquímicos para atacar la enfermedad, pero las medidas más apropiadas para el manejo de este tipo de enfermedad, es el establecimiento de condiciones favorables para que la planta crezca fuerte. Se debe trabajar la acidez del suelo mediante el uso de fórmulas a base de calcio y mejorar el estado nutricional de las plantas mediante el uso preventivo de abonos orgánicos.

En las siembras establecidas en el proyecto no se observaron problemas relacionados con esta enfermedad.

Cosecha

La raicilla es una planta con un ciclo de cultivo de cuatro a cinco años. Este ciclo se puede acortar si se usa material de siembra de muy alta calidad. No fue posible observar esta etapa en durante el desarrollo del proyecto.

Cabe destacar que en algunos sitios de Costa Rica, se ha empezado el cultivo de esta planta en zonas que habían estado por 5-6 años (Ocampo, 2007).

Bibliografía

Bahren, C. 2008. *Psychotria ipecacuanha*. Hierba Buena y Yervas Malas. Disponible en <http://hierbasmalas.blogspot.com/2008/10/psychotria-ipecaquanha.html>

Camargo de Assis, M & Fontes Viera, F. 1992. *Psychotria ipecacuanha*. Newsletter. Diciembre(2):1-14.

- Castro, O. ; Hidalgo, N. 1996. Pruebas de patogenicidad de pelona (*Botryodiplodia* sp. y *Fusarium* sp.) en raicilla. Ponencia X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. San José, Costa Rica.
- Castro, O. ; Hidalgo, N. Coto, B. 1996. Diagnóstico preliminar de enfermedades en raicilla. Ponencia X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. San José, Costa Rica.
- Castro, O ; Hidalgo, N. ; Bertsh, F. 1996. Combate de ojo de gallo (*Mycena citricolor*) en raicilla. Ponencia X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. San José, Costa Rica.
- Hidalgo, N. 1988. Cultivo in vitro de ipecacuana. Ponencia VII Congreso Internacional sobre Cultivo de células y tejidos vegetales. Amsterdam, Holanda.
- Hidalgo N., Herrera, J., Guevara, E. 1993. Cultivo in vitro de raicilla. Ponencia IX Congreso Agronómico Nacional. San José, Costa Rica.
- Hidalgo N., Palma, T. 1993. Propagación in vitro de la raicilla (*Psychotria ipecacuanha*). Ponencia IX Congreso Agronómico Nacional. San José, Costa Rica.
- Hidalgo N., Moreira, I., Soto, S. 1993. Caracterización y micropropagación de ecotipos de raicilla. Ponencia IX Congreso Agronómico Nacional. San José, Costa Rica.
- Hidalgo, N. 1996. Evaluación de ecotipos de raicilla. Ponencia X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. San José, Costa Rica.
- Hidalgo, N. ; Palma, T. 1996. Respuesta de raicilla. (*Psychotria ipecacuanha*) a diferentes tipos de abono. Ponencia X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. San José, Costa Rica.
- Hidalgo, N. 1996. Análisis de la fertilidad de suelos dedicados al cultivo de raicilla (*Psychotria ipecacuanha*). Ponencia X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. San José, Costa Rica.
- Hidalgo, N. 1996. Determinación de la nematofauna en raicilla. Ponencia X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. San José, Costa Rica.
- Moreira, I. 1997. Determinación de ecotipos de raicilla (*Psychotria ipecacuanha*). Tecnología en Marcha. 13(1):37-48.

- Ocampo, R. 1986. El cultivo de ipecacuana en Costa Rica. Programa Cooperativo UCR-IDA. En: Memoria "Seminario Cultivo y utilización de las plantas medicinales de Costa Rica. Colegio de Ingenieros Agrónomos, 17 pp.
- Ocampo, R. 2007. Ipecacuana. Un Producto no Maderable Cultivado Bajo el Bosque en Costa Rica. 1980-2000. *Agronomía Costarricense* 31(1): 113-119. ISSN:0377-9424 / 2007. www.mag.go.cr/rev_agr/v31n01_113.pdf.
- Ocampo, R. sf. Ipecacuana, *Psychotria ipecacuanha* (Brotero) Stokes: Un Producto no Maderable Cultivado Bajo el Bosque en Huetar Norte, Costa Rica. CIFOR. (3): 1-29.
- Palma, T. 1996. Biotecnología en la domesticación de plantas medicinales. Ponencia X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. San José, Costa Rica.
- Palma.T; Hidalgo, N. 1994. Biotecnología, elemento importante en la domesticación de plantas medicinales. In : Ocampo R. Domesticación de plantas medicinales de Centro América. [Actas 30 de mayo-3 de junio]. Serie Técnica. Informe Técnico N° 245. CATIE, Turrialba, Costa Rica. pp 50-66

www.erasalud.com/guias/plantas/i/ipecacuana.php

Manejo de zarzaparrilla

ZARZAPARRILLA

(*Smilax vanilliodora*)

Familia: Smilacaceae

Nombres vulgares: Zarzaparrilla, Saskecha, záskichá: en lengua bribri en Costa Rica, zarzaparrilla, salsa parrilla, zarza morisca, uva de perro, sarsaparilla, salsaparilla, nannari, mermasangre.

Sinónimos:

Existe una especie de *Smilax* muy similar a *vanilliodora* que es *S. chiriquenquensis* y *S. vanilliodora* son muy cercanas; se diferencian principalmente a nivel de su biología floral. Por la distribución geográfica, *S. chiriquensis* se localiza en el oeste de Panamá y el suroeste de Costa Rica, mientras que *S. vanilliodora* en el centro y oeste de Costa Rica (Rueda *et al.*, 2003). (Davidse *et al.* 1994).

Distribución

Se distribuye desde el sur de México hasta Panamá. En Costa Rica se encuentra en climas de húmedos hasta muy húmedos, en bosques lluviosos y de neblina (Zamora, 2006). En el INBio (www.inbio.ac.cr) se encuentran especímenes reportados tanto en la vertiente pacífica como atlántica de Costa Rica, en altitudes que van de 0 a 1600 msnm, tanto en bosques primarios y secundarios como en bosques alterados y en potreros.

En el caso de la zarzaparrilla, en 1987, se realizan trabajos de investigación en el Instituto Tecnológico de Costa Rica, con el fin de establecer métodos de propagación tradicional (Chavarría, 1987; Naranjo, 1987) y posteriormente se desarrolló un protocolo de micropropagación (Palma, 1995).

Estado de domesticación de la zarzaparrilla

La zarzaparrilla es una liana nativa de origen boscoso. Este recurso no maderable fue extraído desde el siglo XVI y ya en el siglo XVII era un recurso vegetal de exportación. Según CATIE (1992), mencionado por Palma (1996), el proceso de aprovechamiento irracional de esta y otras plantas medicinales pone en peligro los programas de domesticación de plantas medicinales, al producir erosión genética. La zarzaparrilla es una liana propia del bosque tropical húmedo, de amplio uso por los grupos nativos en América como depurativo de la sangre, que desde la época de la colonia se ha convertido en un recurso valioso para la economía. Desde 1676 se señala su importancia junto con otros productos cultivados en el Valle de Matina, según señala Palma (1996).

Descripción

La zarzaparrilla (*Smilax vanilliodora*) es una liana o bejuco trepador; tallos cuadrangulares o a veces semejando alados, glabros, con gruesas y pequeñas espinas curvas en la parte inferior y pocas en la parte de arriba; estípulas ausentes. Hojas simples, alternas, 6–24 × 2.5–12 cm, ovada, lanceolado-oblonga o lanceolado-ovada, ápice acuminado u obtuso, base redondeada, obtusa o algo cordada, con 5–9 nervios basales y las nervaduras reticuladas y algo prominentes; pecíolo de 0.9–4.5 cm de largo. Inflorescencias en umbelas, solitarias o racemosas; las masculinas solitarias, hasta 8 cm de largo, con el pedúnculo aplanado; las femeninas en umbelas racemosas, con el pedúnculo aplanado de 2.5–8 cm de largo. Flores masculinas con 6 tépalos, de 4–6(–8) mm de largo; flores femeninas con 6 tépalos, de 4–5 mm de largo. Se observan flores en marzo y frutos en abril (Zamora, 2006). Los frutos son bayas globosas que varían de tamaño entre los bejuco de la misma especie, de 0.9-1.2 cm de diámetro, rojos a negros al madurar (Ferrufino & Gómez, 2004); Zamora, 2006).

Usos

El rizoma de algunas especies se ha utilizado tradicionalmente en trozos pequeños para preparar una bebida caliente o té contra dolencias, como dolores estomacales, calambres, reumatismo, anemia, etc. o como afrodisíaco. El polvo hecho de las raíces secas de algunas especies es usado como sustituto de la gelatina o hervido con azúcar para hacer jalea (Zamora, 2006).

Se utiliza para la producción de bebidas no alcohólicas. Mejora el sistema inmunológico.

La infusión del rizoma de esta planta posee excelentes propiedades diuréticas y sudoríficas. Algunos añaden a estas virtudes una supuesta actividad hipolipemiente, es decir, la propiedad de rebajar las grasas del cuerpo (www.mtplantas.com).

La zarzaparrilla es una planta medicinal muy rica en minerales, tales como: aluminio, calcio, cromo, cobalto, hierro, magnesio, manganeso, potasio y zinc..

En estos principios activos de la zarzaparrilla, se basan sus beneficios y propiedades, regulando el peso de diferentes formas:

- Es depurativa: Ayuda a eliminar toxinas de la sangre, contribuyendo por lo tanto, a eliminar el exceso de grasa en sangre, como exceso de ácido úrico, etc.
- Es diurética: Actúa en forma directa sobre el riñón estimulando la eliminación del exceso de líquidos.

- Es antioxidante: Permitiendo la buena actividad celular y metabólica del organismo.
- Es antiinflamatoria: Evitando la producción de gases y mejorando la actividad gástrica e intestinal.

Además de estas propiedades terapéuticas especiales para adelgazar, la zarzaparrilla posee otras propiedades medicinales, que ayudan a tratar y controlar otra serie de enfermedades, tales como: arteroesclerosis, fibromas, glaucoma, cáncer, quistes, etc. (www.aperderpeso.com/propiedades-medicinales-de-la-zarzaparrilla).

Contraindicaciones

Como todo producto natural de uso medicinal se recomienda consumir en forma discontinua, parece que dosis altas pueden producir gastroenteritis, náuseas y vómitos. No se debe administrar a niños menores de 2 años, embarazadas ni mujeres amamantando. En personas mayores, comenzar con preparados livianos. No se recomienda el consumo de los frutos de la zarzaparrilla.

Condiciones del sitio

La zarzaparrilla es una planta que crece bajo condiciones de sombra en el bosque. Su cultivo se puede hacer en combinación con plantaciones forestales o con otras plantas de uso comercial dentro del bosque. El tipo de crecimiento vertical de esta planta permite que se siembre en combinación con plantas como la raicilla porque no establece ningún tipo de competencia. La zarzaparrilla requiere de árboles o arbustos que funcionen como tutores de los cuales se agarra para subir. Se le ubicó en los bosques de las fincas que contaban con uno. En las fincas sin bosque se recomendó su siembra al pie de árboles altos que pudieran permitirle escalar.

Métodos de propagación vegetativa

La zarzaparrilla se propaga en laboratorio y el material de siembra es de excelente calidad. El material producido en laboratorio pasan a la etapa de aclimatización, donde se tiene un 100% de sobrevivencia y a la vez ese material, al pasar al campo presenta un 98% de sobrevivencia (Palma, 1996).

La propagación en vivero se realiza en bolsas usando estacas. El clima húmedo, caliente y de poca luz son fundamentales para lograr el enraizamiento de las estacas. Algunos agricultores asociados al proyecto, lograron la propagación por este método y produjeron plantas de buena calidad, las cuales fueron distribuidas entre otros productores (as) por medio del proyecto.



Fig. 1 Plantas *in vitro*, en vivero y en campo de zarzaparrilla

También se contó con plantas recuperadas de un lugar, donde se había eliminado una zona boscosa. En este caso las plantas enteras fueron colocadas en bolsas con sustrato para su recuperación y posterior traslado a las zonas de siembra definitiva.

Podas

En esta especie no se usa la poda como práctica cultural del cultivo.

Distancias de siembra

Por el sistema de siembra que se recomienda, en la base de árboles, se recomienda sembrar hasta tres plantas por árbol. En cada finca se escogieron las zonas de siembra y en las visitas mensuales se revisó el estado de las plantas.

Manejo del cultivo

La zarzaparrilla es una planta trepadora de bosque, por lo que se debe sembrar en la base de árboles que le sirven de apoyo. Esto hace que se pueda manejar en asocio con especies forestales o frutales, entre otras.

Manejo orgánico

El proyecto ha recomendado el manejo orgánico de las plantas, entre otras razones por tratarse de siembras que se están haciendo dentro de bosques o cerca de las viviendas. La mayoría de las fincas tiene este tipo de manejo, por lo que no fue difícil lograr que se usara esta alternativa.

Plagas y enfermedades

No hubo problemas de plagas ni de enfermedades durante el desarrollo del proyecto.

Cosecha

Por el ciclo de vida de la zarzaparrilla no se llegó al momento de cosecha de las plantas sembradas en el proyecto.

Bibliografía

- Chavarría, J. 1987. Efecto del grado de inclinación y el número de nudos sobre el enraizamiento de estacas de zarzaparrilla (*Smilax* sp.). Practica de Especialidad. Departamento de Agronomía. Instituto Tecnológico de Costa Rica. 64 p.
- Davidse, G.; Sousa, M.; Chater, A. & Chiang-Cabrera, F. 1994. Flora mesoamericana. UNAM. México D.F., México. pp 20-23.
- Ferrufino, L & Gómez, J. 2004. Estudio Morfológico de *Smilax* L. (Smilacaceae) en Costa Rica, con implicaciones sistemáticas. LANKESTERIANA. Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica. 4(1): 5-36. Disponible en: [http://www.jardinbotanicolankester.org/lankesteriana/Lankesteriana%20vol.%204.%202004/Lankesteriana%204\(1\)/Numeroporsecciones/05%20Ferrufino%20&%20Gomez-Laurito.pdf](http://www.jardinbotanicolankester.org/lankesteriana/Lankesteriana%20vol.%204.%202004/Lankesteriana%204(1)/Numeroporsecciones/05%20Ferrufino%20&%20Gomez-Laurito.pdf)
- Naranjo, P. 1987. Efectos de la auxina sobre el enraizamiento y rebrote de estacas de zarzaparrilla (*Smilax* sp.). Practica de Especialidad. Departamento de Agronomía. Instituto Tecnológico de Costa Rica. 42 p.
- Palma, T. 1995. Estudio morfogénico de la zarzaparrilla (*Smilax* sp.). Informe final. Vicerrectoría de Investigación y Extensión. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Sede Regional San Carlos.
- Palma, T. 1996. Biotecnología en la domesticación de plantas medicinales. Ponencia X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. San José, Costa Rica.
- Rueda, R.; Masís, J.; Toval, N.; Camacho, M. & Villalobos, R. 2003. El género *Smilax* en Guatemala, Nicaragua y Costa Rica Una guía para la identificación en el campo. Proyecto SMILAX. CATIE. 48 p.
- Zamora, N. 2006. Smilacaceae. En: Flora Digital de la Selva. Organización para Estudios Tropicales. 3 p.

www.mtplantas.com

www.aperderpeso.com/propiedades-medicinales-de-la-zarzaparrilla

www.erasalud.com/guias/plantas/i/ipecacuana.php

Manejo de la cuculmeca

CUCULMECA

(*Smilax domingensis*)

Familia: Smilacaceae

Nombres vulgares: Cuculmeca roja, Cuculmeca morada, bejuco de membrillo, corona de Cristo, raíz de zarzaparrilla, espino de corona (Díaz *et al.*, 2004).

Sinónimos:

1. Distribución

Se distribuye desde México hasta Panamá y las Antillas. En Costa Rica se encuentra en la Vertiente Caribe, en las cordilleras de Guanacaste, Tilarán, Central y la parte sureste de la Cordillera de Talamanca, y la región de Península de Osa-Golfito; 0-1800 msnm (ZAMORA, 2006).

El género *Smilax* cuenta con unas 350 especies distribuidas en todo el mundo, principalmente en los trópicos (Gentry 1993). En América Central hay unas 14 especies (Huft, 1994). Se encuentra en bosques húmedos, montanos y premontanos (Ferrufino & Gómez, 2004).

2. Descripción General

Son lianas de tallos glabros y cilíndricos, con espinas recurvadas en la parte basal y ausentes hacia el ápice. Las hojas son simples y alternas. Presenta inflorescencias en umbelas, solitarias, con 10-15 flores blancas y amarillentas. Frutos son bayas, 7–10 mm de diámetro, rojas, moradas o negras cuando maduras. (Zamora, 2006).

El rizoma presenta un engrosamiento tuberoso, rojo o morado; escamas coriáceas, persistentes y raíces cilíndricas. Es una especie muy variable y de

distribución amplia (Ferrufino & Gómez, 2004; Rueda *et al.*, 2003). Se han observado flores en mayo y junio; frutos en junio (Zamora, 2006).

Usos

El rizoma se usa como depurativo, diurético, antianémico, vigorizador, sudorífico, antirreumático, antihemorrágico, antihepático y para otras enfermedades de la piel. En algunos países es usado para hacer canastas (Ferrufino & Gómez, 2004). Tanto las zarzaparrillas como las cuculmecas se han utilizado para el tratamiento de enfermedades venéreas, su uso se ha indicado para la medicación de diversas afecciones de la piel, como psoriasis, eczemas, costra láctea, verrugas, furúnculos y otras erupciones acompañadas de prurito intenso (Villalobos *et al.* 1998).

En algunos sitios se usa para el tratamiento de mordeduras de serpiente, para restaurar la virilidad y aliviar males asociados a la menopausia femenina. En el campo industrial se usa como vehículo o coadyuvante en preparaciones farmacéuticas y bebidas no alcohólicas (*rootbeer*), como saborizante y edulcorante y en la síntesis parcial de cortisona y otros esteroides (Rueda *et al.*, 2003).

Condiciones de sitio

Se puede reproducir por medio de semillas sexuales, las cuales no presentan dormancia, necesitan luz para germinar y muestran un lento desarrollo de las plantas producidas. En forma natural, algunas especies tienen la capacidad de producir raíces aéreas en los nudos de los tallos, cuando estos entran en contacto con el suelo. Valverde y Ocampo (1998).

Aunque se requiere de más investigación las cuculmecas pueden reproducirse a partir de trozos de rizoma que contengan yemas latentes en sus tejidos jóvenes y las zarzaparrillas, por secciones de raíz (Valverde & Ocampo, 1998). En Costa Rica, han realizado investigaciones para la reproducción de algunas especies del género por medio de yemas axilares en diferentes medios (Palma & Hidalgo, 1995).

Esta planta crece en zonas boscosas, es una liana cuya parte de los tallos se extienden también por el suelo formando estolones (Figura 1). Se tomaron estacas a partir de estos estolones, sin embargo la formación de raíces y el crecimiento de la planta es muy lento.



Fig. 1 Plantas de cuculmecha en el campo

Sin embargo se logró un buen desarrollo de raíces y de la parte aérea de la planta propagándola por medio de los rizomas, material del cual se logró tomar brotes vegetativos y multiplicarlos mediante la técnica de micropropagación *in vitro*. (Fig.2)



Fig. 2 Plantas de cuculmecha creciendo en invernadero, formadas a partir de propagación vegetativa por medio de rizomas.

En el campo se observa muchas regeneración alrededor de las plantas madre.

Bibliografía

Davidse, G.; Sousa, M.; Chater, A. & Chiang-Cabrera, F. 1994. Flora mesoamericana. UNAM. México D.F., México. pp 20-23.

Díaz, R.; J. Ciccío y R. Ocampo. 2004. Domesticación de recursos naturales nativos en condiciones agroecológicas en el trópico húmedo en el Caribe de Costa Rica. *In*: Canuto, J.C. & J.A. Costabeber Editores. Agroecología Conquistando a Soberanía Alimentar. Brasil. pp. 193-212.

- Ferrufino, L & Gómez, J. 2004. Estudio Morfológico de *Smilax* L. (Smilacaceae) en Costa Rica, con implicaciones sistemáticas. LANKESTERIANA. Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica. 4(1): 5-36. Disponible en: [http://www.jardinbotanicolankester.org/lankesteriana/Lankesteriana%20vol.%204.%202004/Lankesteriana%204\(1\)/Numeroporsecciones/05%20Ferrufino%20&%20Gomez-Laurito.pdf](http://www.jardinbotanicolankester.org/lankesteriana/Lankesteriana%20vol.%204.%202004/Lankesteriana%204(1)/Numeroporsecciones/05%20Ferrufino%20&%20Gomez-Laurito.pdf)
- Palma, T. & Hidalgo, N. 1995. Biotecnología: elemento importante en la domesticación de plantas medicinales. En Ocampo, R. (ed). Domesticación de plantas medicinales en Centroamérica. Actas de la reunión Técnica Centroamericana, 30 mayo - 3 junio 1994. CATIE-CYTED-OPS/OMS-OEA. pp:99-107.
- Rueda, R.; Masís, J.; Toval, N.; Camacho, M. & Villalobos, R. 2003. El género *Smilax* en Guatemala, Nicaragua y Costa Rica Una guía para la identificación en el campo. Proyecto SMILAX. CATIE. 48 p.
- Valverde, R. & Ocampo, R. 1998. Reproducción vegetativa de *Smilax* sp. En Robles-Valle, G.; Villalobos-Soto, R. (eds.). Plantas medicinales del género *Smilax* en Centroamérica. Actas de la reunión, Turrialba, CR, 22-25 set.1997. Serie Técnica. Reuniones Técnicas (2): 103-112.
- Villalobos, R.; Ocampo, R.; Dalle, S. & Robles, G. 1998. Historia y etnobotánica de *Smilax* sp. En Robles-Valle, G.; Villalobos-Soto, R. (eds.). Plantas medicinales del género *Smilax* en Centroamérica. Actas de la reunión, Turrialba, CR, 22-25 set.1997. Serie Técnica. Reuniones Técnicas (2): 61-80.
- Zamora, N. 2006. Smilacaceae. En: Flora Digital de la Selva. Organización para Estudios Tropicales. 3 p.

Manejo del hombre grande

(*Quassia amara*)

Familia: Simaroubaceae

Nombres vulgares: Cuasia, creceto morado, contra cruceto, crucete, guavito amargo, puesilde y hombre grande, amargo, bitter ash, bitterholz, bitterwood, bois amer, bois de quassia, crucete, quassia, cuassia, fliegenholz, guabo, hombre grande, jamaica bark, kashshing, maraubá, marupá, palo muneco, pau amarelo, quassia amarga, quassiawood, ruda, simaruba, simarubabaum, quassiahholz, quassia de cayenne, quassie, quina, simaba, Suriname wood

Sinónimos: *Quassia alatifolia*, *Q. officinalis*, *Q. amargo*, *Simaroube officinale*

Distribución

Se cree que el origen de hombre grande va desde el Sur de México hasta el Norte de Brasil y las Indias Occidentales. La mayor parte de los sitios donde se ubica, corresponde a bosques húmedos o muy húmedos y una cantidad mucho menor a zonas de bosque seco, en zonas bajas. Se encuentra distribuida a una altitud máxima de hasta unos 500 msnm. Es probable que un factor de altitud relacionado con la temperatura límite su distribución (Díaz *et al.*, 2004, Taylor, 2005; Villalobos, 1996).

Descripción General

El hombre grande es un arbusto o arbolito de 4-6 m de altura, sus hojas son imparipinnadas, alternas con el raquis alado. Las flores son muy vistosas, en racimos, con 5 pétalos lanceolados de color rojo o anaranjado, de 2 a 5 cm de largo. Los frutos son drupas que al madurar se vuelven de color negro (Díaz *et al.*, 2004, Ocampo y Villalobos, 1994).

La floración de *Q. amara* sucede entre los meses de octubre y abril, los frutos maduran 2 meses después. El punto máximo de maduración de los frutos que ocurre a finales del mes de febrero e inicios de marzo. La semilla, en su período de maduración pasa por diferentes coloraciones, iniciando con un color rojizo, luego se tornan verdes hasta alcanzar un color negro. (Díaz *et al.*, 2004).

Usos

Se utiliza mucho en Europa desde el siglo XVIII como febrífugo, aperitivo, diurético, contra el paludismo, dispepsia (digestión lenta o difícil) y anorexia. En infusión o macerado se emplea como tónico amargo estimulante del apetito. Se considera eficaz para combatir la fiebre, los cálculos del hígado y riñones y contra la debilidad de tejidos en órganos digestivos. Se emplea también en casos de diarrea, malestar del estómago, insomnio y malaria, como enema (lavativa) consigue eliminar parásitos intestinales que se localizan donde no llega el efecto de los medicamentos tomados por vía oral. (Díaz, *et al.*, 2004; Ocampo y Villalobos, 1994).

Su principio activo más importante, aislado en 1835 es la quassina, constituye al menos el 60% de los quassionides de su madera. Este aumenta la secreción de las glándulas salivales, hígado y riñones, la actividad de las mucosas y facilita las secreciones normales; excita las fibras musculares del tubo digestivo, aparato uropoyético y canal excretor de la bilis; aunque cristalizada puede ser muy tóxica (Ocampo y Villalobos, 1994).

Métodos de propagación

En algunos estudios realizados se ha visto que el enraizamiento de las estacas de material juvenil no es viable y en estacas leñosas los rendimientos son muy bajos o desarrollan pocos sistemas radiculares, por lo que son poco prácticos para la producción en gran escala (Díaz *et al.*, 2004). Por medio de acodo aéreo, también presentan un rendimiento bajo en material juvenil (10%), la sobrevivencia al establecimiento directo en el campo han dado resultados negativos (hasta 50% de mortalidad). Con el establecimiento en bancal o era, la mortalidad ha sido de 10% (Díaz *et al.*, 2004). Ocampo & Díaz (2006) consideran que la propagación de la especie puede ser sexual (semillas) o asexual (acodos, estacas, pseudoestacas), de ambas formas se obtiene una reproducción exitosa.

Las semillas son recalcitrantes, no deben ser almacenadas por más de 1-2 meses. Se recomienda sembrarlas en sustratos arenosos y no tanto en suelos arcillosos (Cordero *et al.*, 2003 Ocampo y Díaz, 2006). Cuando se transportan semillas, este debe ser en un sitio ventilado y fresco. Se recomienda que en el despulpado se de un adecuado manejo de las semillas; puede realizarse manualmente, frotando las semillas entre las manos, hasta que la pulpa amarillenta se desprenda totalmente, la germinación se obtiene a los 5 días (Díaz *et al.*, 2006).

El control de la humedad es un factor importante en la fase de vivero, hay que proveer un buen drenaje en las eras y mantener riego diario. Con unas eras o bolsas que le permitan un adecuado desarrollo del sistema radicular de las plantas. Se recomienda una distancia de 10 x 15 cm; para una densidad de 35 plantas por m², que puede variar de acuerdo con el tiempo en que se van a mantener las plantas en vivero (no menos de 8 meses). Las semillas se colocan

superficialmente, parcialmente cubiertas con residuos de aserrío de madera (Díaz *et al.*, 2006).

El porcentaje de germinación es muy alto, en la figura 1 se muestra la vigorosidad de las plantas obtenidas a partir de semilla sexual en la Zona Atlántica de Costa Rica.



Fig. 1 Plantas de hombre grande a partir de semilla sexual cultivadas en Finca las Pailas (Colinas-Guápiles)

Manejo del cultivo, distancia de siembra, podas y cosecha

Para un adecuado manejo del cultivo es importante tener la zona limpia de competencia ya sea por nutrientes o por luminosidad. En un estudio realizado en el Caribe de Costa Rica con plantas de hombre grande en un cacaotal, se han obtenido incrementos en altura total de 20 cm/ind/año hasta 60 cm/ind/año en los 2 primeros años de la plantación.

Se recomienda tener plantaciones con un distanciamientos de 1,2 x 1,2 m., para lograr una producción estimada de 5.5 T.M (Díaz *et al.*, 2004). Un aspecto importante de tomar en cuenta en el manejo de la biomasa aprovechable de *Q. amara* tiene que ver con su capacidad de rebrote. Esta cualidad está determinada por la edad de la planta, lo cual se refleja en el grosor del tallo de donde se originan los rebrotes y con el grado de iluminación a la que se encuentre la planta (Díaz *et al.*, 2004).

Para lograr el adecuado crecimiento de rebrote ya sea en poblaciones naturales o plantación hay que tomar en cuenta los siguientes aspectos, según Díaz *et al.* (2004):

a) *Altura de corte de cosecha*: el primer corte para cosecha se realiza entre 30- 50 cm de altura a partir de la superficie del suelo. Esto garantiza un número adecuado de rebrotes productivos para la próxima cosecha, sin poner en riesgo la especie

b) *Diámetro de cosecha*: la cosecha óptima se realiza cuando los tallos cuentan entre 2-2.5 cm. de diámetro, lo que permite un adecuado crecimiento para la próxima cosecha

c) *Tipo de corte*: el corte se realiza en forma transversal-inclinado, sin provocar daños en el tallo remanente, esta medida evita el exceso de humedad en el corte, disminuyendo el riesgo de infección

d) *Poda de rebrote*: resultados de evaluaciones preliminares muestran que la poda de los rebrotes de menor desarrollo tiene un efecto positivo sobre el crecimiento de los rebrotes productivos, sin embargo se ha observado un efecto de autoeliminación en forma natural.

e) *Mantenimiento de la sombra*: para lograr tasas adecuadas de crecimiento de rebrotes la sombra debe manejarse adecuadamente, alta luminosidad inhibe el crecimiento al igual que el exceso de sombra. En una primera evaluación de rebrotes de plantas de 5 años, con una altura de corte de 0,30 m y un diámetro en la base entre 2,0-3,0 cm. Durante el primer año de crecimiento, los resultados señalan incrementos de 1,7-2,2 m en altura y 0,9-1,7 cm en diámetro.

En la figura 2 se muestran cultivos de hombre grande dentro de zonas boscosas, como cercas vivas y asociadas con otras especies tanto en la Zona Atlántica como Norte de Costa Rica



Fig. 2 Plantas de hombre grande creciendo dentro del bosque, en forma individual, en asocio con otras especies y como cerca viva (Guápiles y San Carlos).

Manejo orgánico

Aún no se tienen resultados sobre el manejo orgánico.

Plagas y enfermedades

Se han detectado insectos cortadores en los primeros estados de las plantas, sin alcanzar un ataque crítico, se ha detectado antracnosis causado por el hongo *Colletotrichum sp.* La humedad, el mal manejo de las malezas o por el mal drenaje del suelo y la alta densidad de siembra, son factores que propician la aparición de esta enfermedad (Díaz *et al.*, 2004).

Bibliografía

Díaz, R.; J. Cicció y R. Ocampo. 2004. Domesticación de recursos naturales nativos en condiciones agroecológicas en el trópico húmedo en el Caribe de

- Costa Rica. En: Canuto, J.C. & J.A. Costabeber Editores. Agroecología Conquistando a Soberanía Alimentar. Brasil. pp. 193-212.
- Díaz, R.; Hernández, L.; Ocampo, R. y Ciccío, JF. 2006. Domesticación y fitoquímica de *Quassia amara* (Simaroubaceae) en el trópico húmedo de Costa Rica. Lankesteriana. 6(2): 49-64.
- Ocampo, R. & R. Villalobos. 1994. *Quassia amara* L. ex Blom. En: ETNOBOTANICA. (4). Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).
- Ocampo, R. & Díaz, R. 2006. Cultivo, conservación e industrialización del hombre grande (*Quassia amara*). 1^{era} edición. Bougainvillea S.A. San José, Costa Rica. p 39.
- Taylor, L. 2005. The Healing Power of Rainforest Herbs: A Guide to Understanding and Using Herbal Medicinals. Square One Publishers. 535 p.
- Top Tropicals. 2009. "*Quassia amara*". <http://topropicals.com/cgi-bin/garden_catalog/cat.cgi> (12 marzo, 2008).
- Villalobos, R. 1996. Caracterización de la distribución de una planta medicinal (*Quassia amara*) como base para su manejo técnico. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). X Congreso Nacional Agronómico. pp 17-22.
- Cordero, J.; Boshier, D.H.; Barrantes, A.; Beer, J.; Chamberlain, J.; Detlefsen G.; Finegan, B.; Galloway, G.; Gómez, M.; Gordon, J.; Hands, M.; Hellin, J.; Hughes, C.; Ibrahim, M.; Kass, D.; Leakley, R.; Mesén, F.; Montero, M.; Rivas, C.; Somarriba, E.; Stewart, J.; Pennington, T. 2003. Simaroubaceae *Quassia amara* L. En: Árboles de Centroamérica: un manual para extensionistas. Oxford Forestry Institute-CATIE. Turrialba, Costa Rica. pp 829-832.

Manejo de uña de gato

UÑA DE GATO
(*Uncaria tomentosa*)

Familia: Rubiaceae

Nombres vulgares: Abreojos, aznallo, detienebuey, peine de asno, quiebrarados, uña de gato (Bolivia, Colombia, Ecuador, Panamá, Perú), Rangaya (Panamá), Garabato, Garabato amarillo, Garabato colorado, Garra gavián, Jipotatsa, Kug kukjaqui, micho-mentis, paotati-mosha, samento, toroñ, tsachik, uncuha, unganangi (Perú). Deixa (Brazil), Cat's Claw (English). Hank's clay, paraguayano and uña de gavián, unganangui, tambor huasca, garabato casha, ancayacu, ancajsillo (Perú).

Sinónimos: *Nauclea aculeata* Kunth; *Nauclea tomentosa* Willd. ex Roem. & Schult.; *Ourouparia tomentosa* (Willd. ex Roem. & Scult.) K. Schum.; *Uncaria surinamensis* Miq.; *Uncaria tomentosa* var. *dioica* Bremek.

Distribución

Se encuentra desde Guatemala y Belice, a través de Centroamérica hasta Colombia, Ecuador, Venezuela, Perú y Brasil. En Costa Rica, esta planta es común en la zona del Caribe, en las regiones como: San Carlos, Bribri y Talamanca (Alvarenga *et al.*, 2008).

Crece en los bosques tropicales húmedos de América Latina. En el Perú es muy abundante en la zona de Selva Central entre los 150 a 800 metros sobre el nivel del mar (Obregón, 1994).

Descripción General

Es una liana leñosa con espinas curvadas de 15 a 20 milímetros de longitud y de 2 a 6 milímetros de ancho en la base. Las hojas son opuestas y presentan estípulas interpeciolares liguladas de 8 a 14 milímetros de largo redondeadas a obtusas (Keplinger *et al.*, 1998; Alvarenga *et al.*, 2008).

En estudios fenológicos realizados en Costa Rica se determinó que la floración se presentó en junio y la fructificación un mes después. La floración dura aproximadamente un mes (setiembre). En algunos años de baja precipitación, la floración puede presentarse en julio. Se ha observado que los insectos son los principales agentes de polinización, aún cuando el viento también puede tener

cierta influencia. Después de la polinización el desarrollo de los frutos hasta el estado de madurez dura 6 a 8 semanas. El ciclo de producción de semillas para ambas especies es anual. Debe recalcar que la uña de gato es una especie perennifolia, es decir presenta hojas durante todo el año. La uña de gato florea por primera vez aproximadamente a los 3 años, generalmente en poca cantidad y sin haber fructificación posterior .

Usos

Se le atribuyen propiedades diuréticas y antiinflamatorias sobre los órganos urinarios, se utiliza en la cistitis, infecciones urinarias, cálculos renales (puede disolverlos), arenillas, edemas (retención de líquido en los tejidos) y afecciones prostáticas. Las hojas y flores aplicadas localmente tienen propiedades antisépticas y astringentes. Se utiliza en enjuagues y gargarismos contra la amigdalitis (anginas) y en compresas como cicatrizante en caso de heridas tórpidas (de difícil curación) y úlceras de la piel (Aquino, *et al* 1991; HIPERNATURAL, 2007).

Uncaria tomentosa es usada ampliamente en la medicina tradicional peruana como antiinflamatorio, contraceptivo, para el tratamiento de artritis, gastritis, diurética y cáncer; lo cual ha motivado una importante comercialización de la especie en ese país con una extracción de alrededor de 1200 toneladas mensuales de la Selva Central (Blumental, 1995; Alvarenga *et al.*, 2002).

Métodos de propagación

Los frutos al ser de un tamaño tan pequeño se transportan con todas sus ramitas en sacos preferiblemente de tela, por ser muy pequeños, cuando los frutos estén secos se abren y las semillas son liberadas. Deben estar en un lugar bajo sombra , fresco y libre de vientos fuertes para que las semillas no se dispersen. Estas semillas se pueden almacenar hasta por un período de 5 a 6 meses, antes de sembrarlas.

Después de hecho el almácigo, se procede a repicar las plantas unos 80 días después de germinadas, para ser llevadas al campo unos 3 meses después, entre los meses de octubre y noviembre.

La reproducción de material vegetal, se dio a través de cultivo *in Vitro*, y de la recolección de plántulas germinadas alrededor de plantas madre, producidas de semillas asperjadas por el viento; las cuales, una vez arrancadas con buen adobe, fueron embolsadas y colocadas bajo sarán, y con riego periódico, por un periodo de dos meses. Posteriormente, las plantas, fueron llevadas al campo para su siembra en las plantaciones definidas.

Además, se evaluó diferentes métodos de propagación vegetativa, a saber:

Por estacas, de una longitud de 50 cms, y de ramas leñosas. Las cuales fueron enterradas 10 cms en forma inclinada, sobre una cama de terreno suelto y con buen drenaje. Este método no dio buenos resultados.

Mediante acodos, el cual consistió en elegir aquellas ramas terminales, sobre las cuales, en el antepenúltimo nudo, se realizó el corte de las hojas y además una incisión alrededor del tallo, para inducir el enraizamiento. Se asperjó dicha parte con una solución del regulador de crecimiento orgánico, comercial (Humigro, Acido Naftalenacético 0,4 WP) distribuido en Costa Rica por Agro Zamorano); en su dosis recomendada. Posteriormente, se cubrió dicha área con lombricompost, envuelto en papel aluminio. Pasados 45 días, los acodos estaban enraizados, los cuales fueron cortados y puestos en bolsas de polietileno para el desarrollo normal de las plantas en invernadero. Un mes después, las plantas estaban listas para ser trasplantadas al campo. Este método ofreció el mejor porcentaje de enraizamiento (80-90%). (Alvarenga, *et al*, 2002; Alvarenga *et al*, 2008)

Manejo del cultivo, distancia de siembra, manejo orgánico y podas

El plan de manejo para los materiales producidos *in Vitro*, así como para las siembras que se establecieron, consistió primero, en definir una distancia de siembra de 4X3 m realizando luego una rodaja de 1 m de diámetro y un hoyo de 50 cm de profundidad por 20 cm de diámetro. Al fondo del mismo se depositó 1 kg de compost, para luego depositar la planta de uña de gato. Se realizaron chapias, a las rodajas cada dos meses, y se realizaron fertilizaciones con compost (1 kg/planta) cada 3 meses.

El control de insectos y hongos que atacaron el follaje se realizó mediante aspersiones foliares con extractos hidroalcohólicos de pimienta negra (*piper nigrum*), clavo de olor (*Zyzygium* sp), madero negro (*Gliricidia sepium*), Gavilán (*Pentaclethra macroloba*), Higuierilla (*Ricinus comunis.*); a razón de 3 onzas por bomba de 16 litros, utilizados preventivamente, y no realizando mas de 3 aplicaciones por producto a manera preventiva (Alvarenga *et al*, 2008).

La planta de uña de gato tiende a expandirse sobre arbustos (Fig.1) y el mismo pasto, con una gran capacidad de competencia. La extracción de material vegetal (hojas) para la elaboración de extractos y tés, se realiza de ramas adultas, sobre las cuales se encuentran hojas de color rojizo a verde oscuro. Una vez realizada la corta de las hojas la planta presenta una alta capacidad de rebrote



Fig. 1 Plantación de uña de gato en la Zona Atlántica de Costa Rica, El Millón-Guápiles.

Plagas y enfermedades

Las plantas de uña de gato son afectadas por un cortador el cual provoca algunos daños de menor significancia a las hojas. No se han detectado daño alguno por hongos o bacterias. Esta planta presenta un alto potencial de resistencia a plagas y enfermedades y una gran capacidad de competencia y adaptación.

Bibliografía

- Alvarenga, S.; Arnáez, E; Moreira I.; Alan E.; Peraza, J.; Romero, E.; Vargas, W.; Loaiza, J.; Barrios, M. 2008. Domesticación de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) en Costa Rica. *En: Manejo Integrado de Recursos Bióticos. Estudios de Casos.* Oliver, R.; Tabaoda, M. y A.E. Granejo. (Compiladores). AGT Editor, S.A. Mexico D.F, Mexico. Pp: 135-146
- Alvarenga, S.; Alán, E.; Peraza, J. 2002. Informe final. Estudio de la Biología, la reproducción vegetativa y cultivo in vitro de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) Fundación Neotrópica-ITCR. Cartago, Costa Rica. 89pp.
- Aquino, R., De Feo, V., De Simone, F., Pizza, C., Conti, C. & Cirino, G. 1991. Plant metabolites, new compounds and antiinflammatory activity of *Uncaria tomentosa*. *Journal of Natural Products.* 54 (2): 453-459
- Blumenthal, M. 1995. Uña de gato (Cat's claw). Rainforest herb gets scientific and industry attention. *Herbal update, Uña de gato (Cat's claw).* Whole foods magazine. October 1995. P. 62, 64, 66, 78. <http://www1.shore.net/~jm/claw2.html>
- Keplinger, K., Laus, G., Wuem, M., Dierich, M.P. & Teppner, H. 1998. *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. Ethnomedicinal use and new pharmacological, toxicological and botanical results. *Journal of Ethnopharmacology* 64: 23-34.

OBREGON V., L.E. 1994. Uña de gato: Género *Uncaria*. Estudios botánicos, químicos y farmacológicos de *Uncaria tomentosa* y *Uncaria guianensis*. Instituto de Fitoterapia Americano. Lima, Perú 162 p.

Extracción de ADN y caracterización genética preliminar de especies de plantas medicinales mediante RAPDs.

Bach. Erick Hernández
Centro de Investigación en Biotecnología
CIB, ITCR.

Palabras clave: Extracción ADN, RAPDs, *Psychotria*, *Quassia*, *Smilax*, *Uncaria*, Índice de Jaccard.

Introducción

La biodiversidad de nuestro país es una fuente inimaginable de recursos biológicos y medicinales; y por lo tanto económicos. Una de las mejores estrategias para favorecer y apoyar la conservación de esta biodiversidad es conocerla más a fondo para justificar, desde diferentes puntos de vista, lo valiosa que es.

Dentro de esta biodiversidad hay especies de plantas que a lo largo de los años han sido utilizadas como plantas medicinales, sin embargo, la mayoría de ellas ha sido utilizada por nuestros antepasados de forma empírica y sin ningún estudio previo de sus efectos o de la dosificación apropiada. Algunos ejemplos de ellas son la raicilla, hombre grande, zarzaparrilla, uña de gato, etc. Por esta razón es que es importante realizar estudios globales de estas especies que incluyan análisis de campo y de laboratorio.

Una de las áreas científicas que aportan información de las especies medicinales es la biología molecular en la cual se analizan las moléculas de ácido desoxirribonucleico (ADN) mediante diferentes técnicas, entre ellas amplificación mediante PCR, RAPDs, microsatélites, etc. (Andersson, 2002; Muellner *et al.* 2003; Fu *et al.* 2005). La capacidad de obtener ADN puro de alto peso molecular y a partir de pequeñas cantidades de tejido depende en gran parte del protocolo utilizado para su extracción, y es especialmente útil para innumerables aplicaciones para la caracterización y clasificación de diferentes especies (Sambrook *et al.* 1989).

En este trabajo se realiza una caracterización preliminar de especies medicinales mediante la técnica de RAPDs.

Materiales y Métodos

Las muestras se colectaron de diferentes regiones del país, de invernaderos y algunas de ellas se reprodujeron en laboratorio mediante cultivo de tejidos vegetales *in vitro*. Se analizaron dos muestras de cada una de las siguientes especies: *Psychotria ipecacuanha*, *Quassia amara*, *Smilax sp.* y *Uncaria tomentosa*.

Una vez obtenidas las muestras se realizó la estandarización del protocolo de extracción del ADN basado en CTAB mediante el protocolo propuesto por Lodhi y colaboradores (1994) (Anexo 1). Las extracciones de ADN se realizaron a partir de 200 mg de tejido vegetal joven. Las muestras de ADN obtenidas se resuspendieron en 100 µL de tampón TE (10 mM Tris HCL pH 8.0, 1 mM EDTA) y se refrigeraron a 4°C.

Posteriormente se analizaron mediante una electroforesis en un gel de agarosa al 1 % con bromuro de etidio, a 80 V por una hora. Adicionalmente, se cuantificaron a una absorbancia de 260 nm para confirmar la calidad y pureza del ADN.

El análisis genético de las muestras de ADN se realizó mediante la técnica de RAPDs. Se utilizaron 9 imprimadores: A-04, A-05, A-07, A-08, A-10, A-11, A-12, A-16 y A-17. El perfil de amplificación utilizado fue de un ciclo inicial de 95 °C por 5 min; seguido de 45 ciclos de 95 °C durante 1 min, 36 °C por 1 min, 72 °C por 2 min; y un ciclo final de 72 °C por 3 min. Los productos de PCR se separaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 1,0 %, por 90 min a 75 V (para los imprimadores A-04, A-05, A-07 y A-08) y en geles de poliacrilamida al 12 %, por 90 min a 80 V (para los imprimadores restantes: A-10, A-11, A-12, A-16 y A-17).

A los resultados obtenidos se les realizó un análisis multivariado (Análisis de Conglomerados) y se calculó el Índice de Jaccard para obtener el grado de similitud entre las muestras y obtener así las distancias genéticas entre las especies analizadas. Se utilizó el programa estadístico InfoStat.

Resultados

Los productos de PCR generados con el imprimador A-07 se muestran en la siguiente figura en donde se observa la banda o bandas correspondientes para las muestras analizadas (Fig. 1).

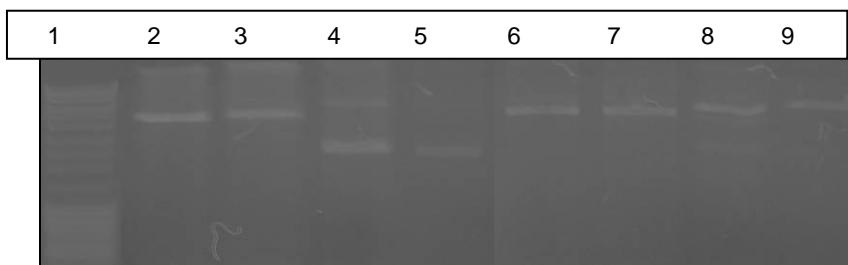


Figura 1. Electroforesis de productos de PCR generados con el imprimador A-07. Electroforesis en gel de agarosa al 1,0 %; tinción con bromuro de etidio. Carriles: 1: Marcador peso molecular 50pb; 2-3: muestras de ADN de *Quassia*; 4-5: muestras de ADN de *Smilax*; 6-7: muestras de ADN de *Uncaria* y 8-9: muestras de ADN de *Psychotria*.

Los imprimadores A-04, A-05, A-08 y A-10 se evaluaron con diferentes perfiles de amplificación, sin embargo los resultados de las electroforesis mostraron que dichos imprimadores no generaron un patrón de bandas en las muestras.

Mientras que para los imprimadores A-11, A-12, A-16 y A-17 si se obtuvieron bandas para las muestras analizadas y se presentan en la figura 2.

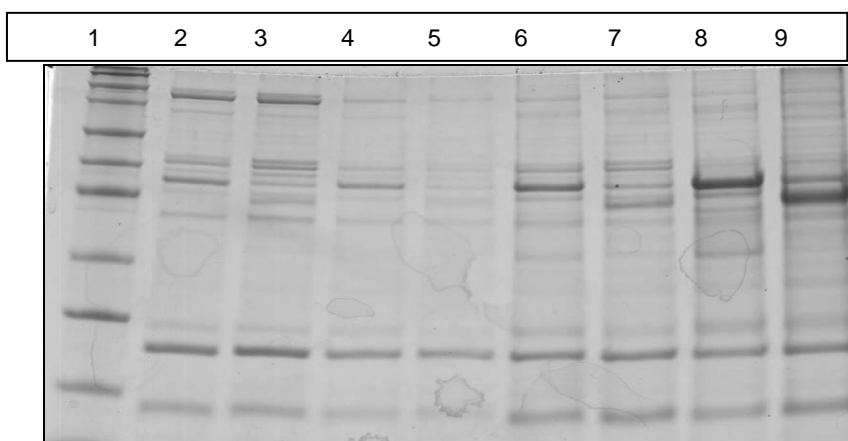


Figura 2. Electroforesis de mezcla de productos de PCR generados con los imprimadores A-11, A-12, A-16 y A-17. Electroforesis en gel de poliacrilamida al 12%; tinción con nitrato de plata. Carriles: 1: Marcador peso molecular 50pb; 2-3: muestras de ADN de *Smilax*; 4-5: muestras de ADN de *Quassia*; 6-7: muestras de ADN de *Psychotria* y 8-9: muestras de ADN de *Uncaria*.

Los datos obtenidos a partir de las electroforesis se analizaron por conglomerados mediante el programa InfoStat. Se calculó el índice de Jaccard (encadenamiento promedio) para estimar las similitudes entre las muestras analizadas. Posteriormente se realizó una matriz de distancias genéticas entre ellas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Matriz de distancias genéticas de las muestras analizadas, calculadas a partir del Índice de Jaccard (1-S).

**Distancias Genéticas
Encadenamiento Promedio
Jaccard (1-abs(S))**

	<i>Uncaria</i>	<i>Psychotria</i>	<i>Quassia</i>	<i>Smilax</i>
<i>Uncaria</i>	0,00			
<i>Psychotria</i>	0,21	0,00		
<i>Quassia</i>	0,57	0,45	0,00	
<i>Smilax</i>	0,86	0,82	0,67	0,00

Discusión:

Para la obtención de ADN de buena calidad fue fundamental procesar las muestras lo más pronto posible y con nitrógeno líquido. Esto requirió trabajar con tejidos jóvenes, material fresco y realizar la extracción apenas se tenía el material en el laboratorio.

Con respecto a los resultados de la amplificación con el imprimador A-07, este permitió la obtención de tres bandas tenues de diferente peso molecular para las muestras analizadas. Las bandas fueron resueltas satisfactoriamente mediante geles de agarosa al 1% como se muestra en la figura 1.

Con respecto a los imprimadores A-11, A-12, A-16 y A-17 las bandas presentaron pesos similares, por lo que la resolución con geles de agarosa al 1% no fue favorable. Debido a esto se realizó la electroforesis en geles de poliacrilamida al 12%, lo que permitió separar apropiadamente las bandas e incluso permitió posteriormente realizar una electroforesis con los productos de PCR de los diferentes imprimadores mezclados. (Fig.2).

Con los imprimadores A-04, A-05, A-08 y A-10 no se obtuvieron bandas como productos de la amplificación. Esto es en muchos casos esperable ya que los RAPDs, son amplificaciones al azar de fragmentos de ADN polimórficos, y a veces es difícil que los imprimadores utilizados amplifiquen apropiadamente. Incluso es una técnica sensible que depende de muchas condiciones para poder repetirse dentro y entre laboratorios, lo cual representa una desventaja. Por otro lado, el hecho de que para algunas especies de plantas, como las analizadas en este

trabajo, no haya mucha literatura de análisis genético-moleculares dificulta más los análisis (Andersson, 2002; Muellner *et al.* 2003; Fu *et al.* 2005).

A partir de los datos generados por los cinco imprimadores (A-07, A-11, A-12, A-16 y A-17) se analizó la presencia de bandas en las muestras. Esto permitió calcular el índice de Jaccard para estimar, preliminarmente, el grado de similitud entre las especies estudiadas. Posteriormente, se realizó un dendrograma de las distancias genéticas entre las muestras analizadas (Fig. 3). Se debe mencionar que éste es un estudio preliminar por el hecho de que se analizaron dos muestras por especie, lo cual es poco para estimar fehacientemente el grado de similitud entre diferentes especies. Por lo que una recomendación para seguir caracterizando estas especies es la incorporación de un mayor número de muestras en el estudio y un mayor número de marcadores moleculares.

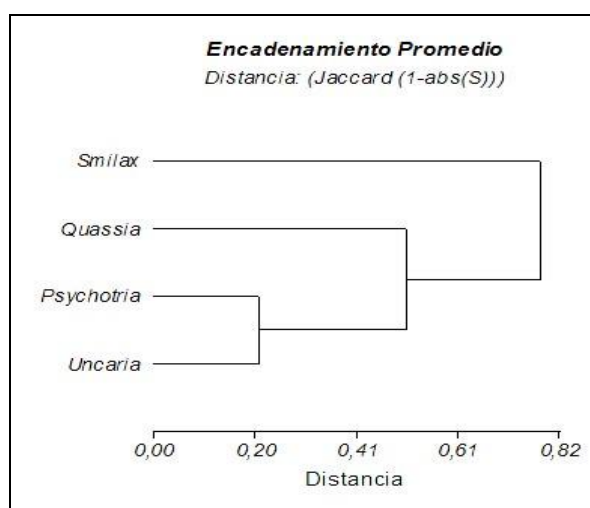


Figura 3. Dendrograma de las distancias genéticas de las especies analizadas, calculadas mediante el índice de Jaccard (1-S) .

Estos análisis preliminares permiten establecer avances en la caracterización genética de plantas medicinales de nuestro interés y podrían ser evaluados al aplicarlos a otras especies medicinales.

Bibliografía:

- Andersson, L. 2002. Relationships and generic circumscriptions in the Psychotria complex (Rubiaceae, Psychotrieae). *Syst. Geogr. Plants* 72, 167-202
- Fu, C.; Kong, H.; Qiu, Y.; Cameron, K. 2005. Molecular phylogeny of the East Asian–North American disjunct *Smilax* Sect. *Nemexia* (Smilacaceae). *Int. J. Plant Sci.* 166: 301-309.

Lodhi, M.A.; Ye, G-N.; Weeden, N.F.; Reisch, B.I. 1994. A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars and *Vitis* species. *Plant Molecular Biology Reporter* 12: 6-13.

Muellner, A.; Samuel, R.; Johnson, S.; Cheek, M.; Pennington, T.; Chase, M. 2003. Molecular phylogenetics of Meliaceae (Sapindales) based on nuclear and plastid DNA sequences. *American J. of Botany* 90: 471-480

Sambrook, J; Fritsch, E. F; Maniatis, T. 1989. Molecular cloning. A laboratory manual . 2nd. Ed. Cold Spring Harbor Laboratory. New York Book.

Anexo 1: Protocolo de Extracción de ADN basado en CTAB
(Lodhi *et al.* 1994)

- En un tubo de 1.5 mL se colocan aproximadamente 50-100 mg de tejido vegetal
- Se agregan 250 µL de buffer de extracción (Tris HCl 100 mM pH 8.0, NaCl 1.4 M, EDTA 20 mM, CTAB 2%, PVP 2%, Mercaptoetanol 0.2%). Se macera el tejido.
- Se agregan 500 µL del mismo buffer de extracción y se incuba a 65^oC por 25 min.
- Se deja enfriar el tubo a temperatura ambiente y se agregan 750 µL de cloroformo octanol (24:1) y se mezcla 20 veces.
- Se centrifuga a 6 000 rpm por 15 min
- Se extraen aproximadamente 400 µL del sobrenadante se agregan en otro tubo de 1.5 mL.
- Se agregan 0.5 Vol. De NaCl 5M (200 µL) y 2 Vol. de etanol absoluto frío (800 µL).
- Se agita el tubo y se incuba a -15 por una hora.
- Se centrifuga a 10 000 rpm por 10 min.
- Se descarta el sobrenadante, tratando de evitar el desprendimiento del pellet.
- Se agregan 750 µL de etanol al 70%. Se descarta el etanol y se seca el pellet a 37^oC por 30-60 min.
- Se resuspende el pellet en 100 µL Buffer TE (10 mM Tris HCL pH 8.0, 1 mM EDTA)
- Se almacena el ADN, preferiblemente a -15^oC.

Estudio fitoquímico preliminar

Informe de los macerados realizados al Instituto Tecnológico de Costa Rica

Realizado en: Laboratorio de Fotoquímica

Ubicación: Escuela de Química, Universidad Nacional-

Responsable: Gerardo Rodríguez R.

Plantas maceradas: Cuculmea, Hombre grande, uña de gato y zarzaparrilla

Tamaño de las muestras: Entre 1kg y 5 kg.

Muestras aportadas por: Dr. Jorge Loaiza Cardenas

Tratamiento de las muestras:

- Las muestras de las diferentes plantas fueron cortadas en trozos de 1 cm y secadas por 48 horas en un horno de circulación forzada a una temperatura de 40 °C.
- Las muestras secas, se molieron en un molino de cuchillas, el cual contenía un tamiz de 1 mm.
- Las muestras secas y molidas se maceraron en repetidas ocasiones en recipientes de vidrio de color ámbar, empleando etanol al 97% como disolvente.
- Los macerados se concentraron hasta obtener un aspecto siruposo en evaporador rotatorio a presión reducida y a una temperatura máxima de 40°C.
- A las muestras así concentradas, se les determino el contenido total de sólidos totales, el cual fue en promedio del 15%.
- Finalmente, a estas muestras se les realizó una corrida en cromatografía de alta eficiencia (HPLC), para determinar que tan complejos son los macerados. Las condiciones de la cromatografía fueron las siguientes:

Relleno de columna: C₁₈, octadecilsilano (ODS)

Características de columna: 4.6 x 250 mm

Tamaño de partícula de la columna: 5µm

Temperatura del análisis por HPLC: Ambiente

Detección: UV-280nm

Duración del análisis: 50 minutos

Condiciones del análisis: Se empleo el gradiente metanol agua, el cual se muestra a continuación:



Figura 1. Gradiente del análisis por HPLC de los diferentes macerados. Tiempo cero, 100% agua, 50 minutos, 100% metanol.

	Time	Module	Action	Value
1	0.01	Pumps	B.Conc	0
2	15.00	Pumps	B.Conc	37.5
3	20.00	Pumps	B.Conc	37.5
4	30.00	Pumps	B.Conc	40
5	35.00	Pumps	B.Conc	40
6	40.00	Pumps	B.Conc	100
7	45.00	Pumps	B.Conc	100
8	50.00	Pumps	B.Conc	0
9	50.00	Controller	Stop	
10	0.00			

Figura 2. Gradiente de metanol-agua, empleado en el análisis de los macerados, empleando la técnica de HPLC. En donde B es la concentración de metanol y A no mostrada, la de agua.

Los cromatogramas obtenidos de los diferentes macerados se muestran a continuación:

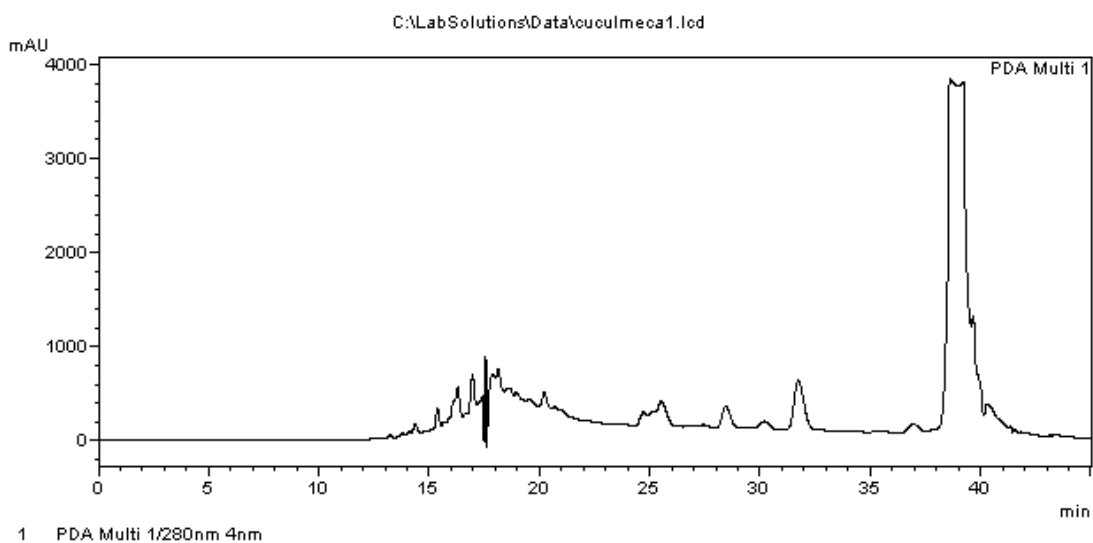


Figura 3. Cromatograma de HPLC del macerado de cuculmecha con detección UV-280nm.

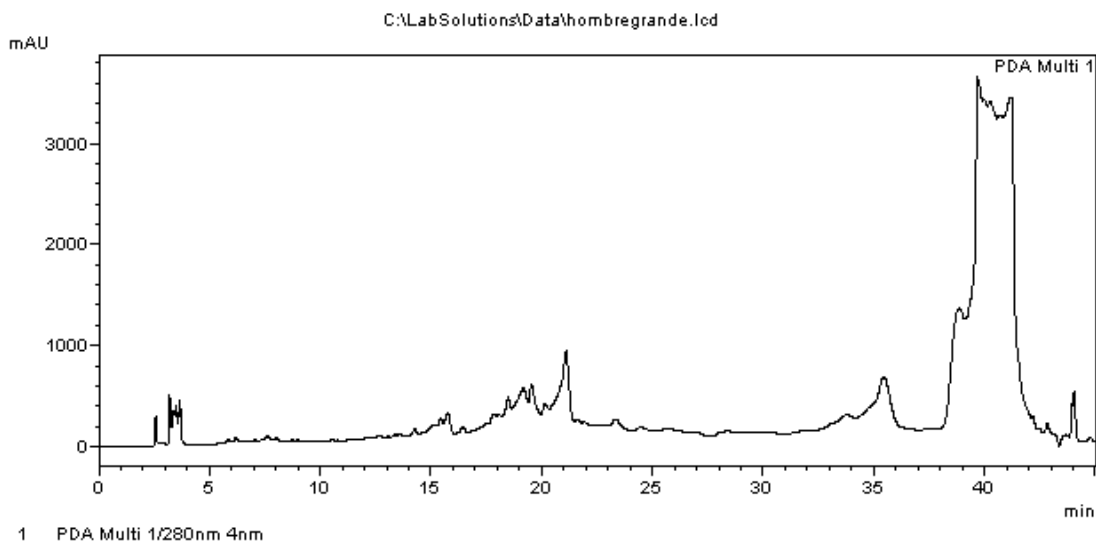


Figura 4. Cromatograma de HPLC del macerado de hombregrande con detección UV-280nm.

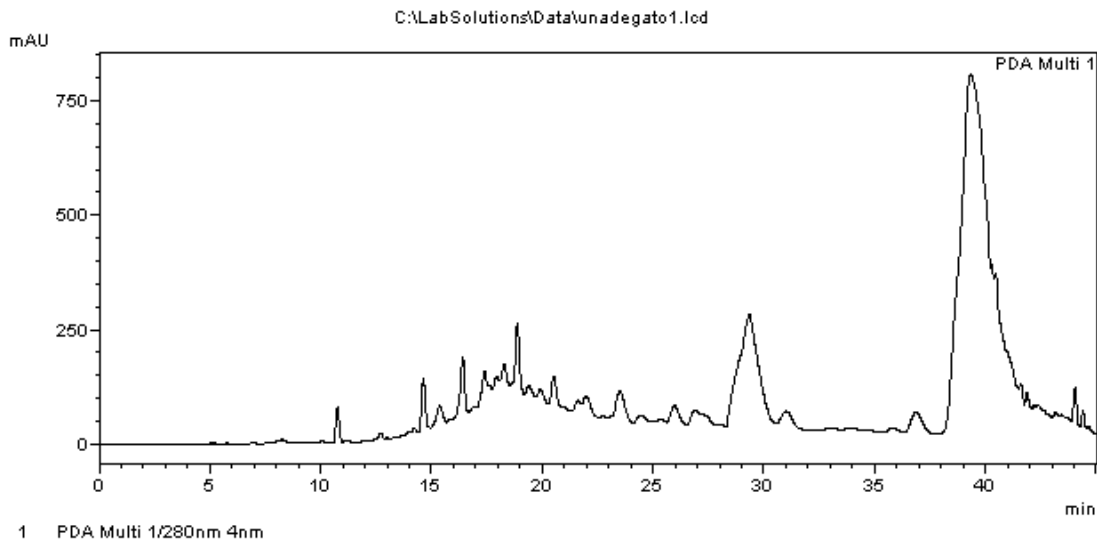


Figura 5. Cromatograma de HPLC del macerado de uña de gato con detección UV-280nm.

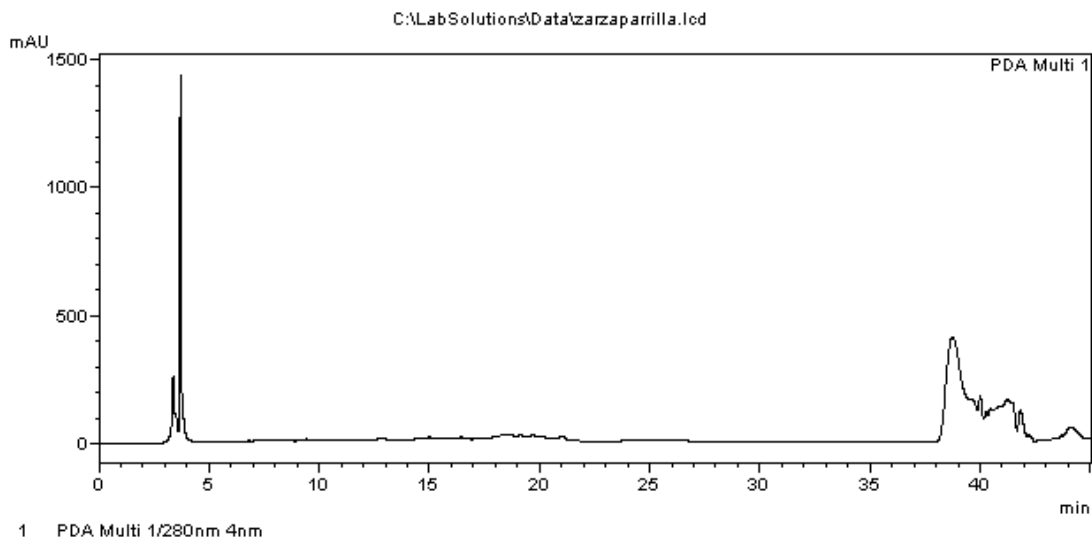


Figura 6. Cromatograma de HPLC del macerado de zarzaparrilla con detección UV-280nm.

La identificación de los picos en cada cromatograma es imposible se no se cuenta con patrones de los metabolitos secundarios presentes en cada planta. La obtención de los metabolitos puede ser por compra directa a algún proveedor como el caso de la “quassina” en hombre grade y en otras casos por el aislamiento e identificación de su fuente natural. Este último procedimiento es

costoso, se requiere de pericia y toma mucho tiempo si no se cuenta con el equipo apropiado.

Con respecto a los cromatogramas, todos ellos se corrieron bajo las mismas condiciones que quizás NO sean las más apropiadas para alguno de los macerados. Para mejorar los cromatogramas se requiere probar diferentes gradientes hasta obtener el idóneo en cada caso, sin embargo esto tampoco culmina necesariamente con la separación de los metabolitos secundarios presentes.

Componente 2

Protocolos de establecimiento y micropropagación validados para dos especies

En el CIB (centro de Investigación en Biotecnología) de la Escuela de Biología del ITCR, bajo la responsabilidad de la M.Sc Silvana Alvarenga, se trabajó el cultivo *in vitro* de las siguientes especies: *Uncaria tomentosa* (uña de gato), *Psychotria ipecacuana*, *Smilax vanilliodora* (zarzaparrilla) y, *Smilax dominguisis (cuculmeca)*. En el caso de *Quassia amara* (hombre grande), la propagación se realizó por semilla, por este medio es muy rápida.

Los protocolos de ipecacuana y zarzaparrilla ya se tenían establecidos en el laboratorio de cultivo de tejidos del ITCR en San Carlos.

El trabajo realizo por especie fue el siguiente:

- *Uncaria tomentosa*

Se realizó la introducción, el cultivo *in vitro* de semillas, micropropagación, callogénesis y aclimatación.

- *Psychotria ipecacuana*

Se micropropagó el material donado por el Lab de Cultivo de Tejidos de San Carlos, empleando el protocolo establecido por Palma y col (1996). Se introdujo material de plantas madre (cormos) del invernadero del CIB, modificando el protocolo de Palma y col(1996). Además se realizaron cultivos en medio líquido con el sistema de inmersión Temporal Automatizado (RITA) y se aclimataron vitro plantas en el inveradero del CIB.

- *Smilax vanilliodora*

Se micropropagó el material, empleando el protocolo establecido por Palma y col (1996). Se establecieron *in vitro* microestacas en el CIB. Se obtuvo vitroplantas libres de contaminación bacteriana con el cultivo de meristemos en el CIB. Se logró el enraizamiento y aclimatación de material propagado en el CIB.

- *Smilax dominguisis (cuculmeca)*.

Se estableció el protocolo de establecimiento y micropropagación en el CIB, ya que no hay literatura que reporte de protocolos en esta especie.

I. Micropropagación de Uncaria tomentosa

El Centro de Investigación en Biotecnología (CIB) de la Escuela de Biología cuenta con un banco de germoplasma de *U. tomentosa in vitro* y con plantas madre en el invernadero. Además se dispone de los protocolos de establecimiento *in vitro*, micropropagación y aclimatación (Alvarenga y col, 2002).

METODOLOGIA

Introducción de explantes

Se tomaron brotes de las plantas madre que se encuentran en el invernadero. Estas plantas fueron tratadas semanalmente con una solución de Agri-mycín:Benomil (6:6g/l). Además se les adicionó 3 ml/L (3:3mg/ml) de BAP (Bencil Amino Purina), rociado sobre las plantas con una bomba de aspersión, con el objetivo de inducir la formación de brotes.

Los explantes se llevaron al laboratorio. Se eliminaron las hojas de los brotes y se procedió a lavarlos con agua y jabón. Se probaron los siguientes tratamientos de desinfección:

Tratamiento I.

Los explantes se pusieron en agitación durante 30 minutos en una solución de Agri-mycín:Benomil (1:1). Los explantes se colocaron en hipoclorito de sodio en una concentración de 2.45 % i.a, durante 10 minutos. Se hicieron tres lavados con agua estéril en la cámara de flujo laminar y se procedió a introducir una estaca por frasco

Tratamiento II.

Los explantes se pusieron en agitación durante 30 minutos en una solución de Agri-mycín:Benomil (1:1). Posteriormente se colocaron en hipoclorito de sodio en una concentración de 4.2% i.a durante 10 minutos. Se hicieron tres lavados con agua estéril en la cámara de flujo laminar y se procedió a introducir una estaca por frasco

Tratamiento III.

Los explantes se colocaron en agitación por 5 minutos en jabón enzimático. Posteriormente se pusieron en agitación en una solución con 3g/L de durante 30 minutos en una solución de Agri-mycín 3g/L de Ferbán y 6g/L de Benomil. Después se hicieron tres lavados con agua destilada. Los explantes se colocaron en Cloruro de mercurio al 0,2%, por 10 minutos. Se hicieron tres lavados con agua estéril en la cámara de flujo laminar y se procedió a introducir una estaca por frasco

Germinación in Vitro

Por otra parte, se recibieron frutos de *Uncaria tomentosa* procedentes de Guápiles (Las Colinas), con el fin de realizar una introducción de semillas, ya que las vitroplantas presentes en el laboratorio habían pasado por múltiples ciclos de subcultivo y presentaban contaminación con bacteria endógena. Se contó con la limitante de que los frutos ingresaron abiertos al laboratorio, y únicamente se contaba con un protocolo de desinfección de frutos cerrados para la introducción de las semillas. Se procedió a realizar ensayos de desinfección de semillas; para ello, se aislaron manualmente las semillas y se colocaron en seis sacos elaborados con servilleta de tela; cada uno de esos sacos siguió un protocolo de desinfección diferente (Cuadro No.1).

Cuadro No.1: Protocolos empleados en el ensayo de desinfección de semillas de *Uncaria tomentosa*

Código	Tratamiento de desinfección
S-A1 9/9	Inmersión en. Agri-mycín y Benlate (5 g/L de cada uno) durante 30 minutos. Ácido láctico 10% v/v durante 15 minutos y finalmente Hipoclorito de Sodio 1,8% i.a.durante 10min
S-A2 9/9	Inmersión en. Agri-mycín y Benlate (5 g/L de cada uno) durante 30 minutos. Ácido láctico 10% v/v durante 15 minutos y finalmente Hipoclorito de Sodio 3,0% i.a.durante 10min
S-A3 9/9	Inmersión en. Agri-mycín y Benlate (5 g/L de cada uno) durante 30 minutos. Ácido láctico 10% v/v durante 15 minutos y finalmente Hipoclorito de Sodio 5,4% i.a.durante 10min
S-B1 9/9	Inmersión en. y Benlate (5 g/L de cada uno) durante 30 minutos. Kilol 50% v/v durante 10 minutos e Hipoclorito de Sodio 1,8% i.a.durante 10min
S-B2 9/9	Inmersión en. Agri-mycín y Benlate (5 g/L de cada uno) durante 30 minutos. Kilol 50% v/v durante 10 minutos y finalmente Hipoclorito de Sodio 3,0% i.a.durante 10min
S-B3 9/9	Inmersión en. Agri-mycín y Benlate (5 g/L de cada uno) durante 30 minutos. Kilol 50% v/v durante 10 minutos y finalmente Hipoclorito de Sodio 5,4% i.a.durante 10min

CIB, Instituto Tecnológico de Costa Rica

Se sembraron de 4 a 6 semillas por frasco, en medio con sales y vitaminas M&S (1962), sin reguladores de crecimiento, 30g/L de sacarosa, gelificado con Phytigel con pH ajustado a 5,7. Se realizaron evaluaciones todas las semanas del material introducido.

Una vez germinadas las semillas y cuando estas alcanzaron un tamaño cercano a los 3cm se transfirieron a medio M&S (1962) complementado con 1mg/L Acido Giberélico (AG₃) y 2mg/L de Pantotenato de Calcio, 30g/L de sacarosa, gelificado con Phytigel y con pH ajustado a 5,7.

Micropropagación

Se tomaron plantas *in vitro* y se procedió a eliminar las hojas y cortar estacas de aproximadamente dos nudos. Se introdujo una estaca por frasco. Se utilizó un medio con las sales y vitaminas de Murashige & Skoog (M & S) (1962) complementado con los con 3 mg/L BAP, 400 mg/L de Caseína Hidrolizada, 30g de sacarosa, y 8g/L de agar (Alvarenga *et al.*; 2002). Una vez que las plantas alcanzan un buen tamaño, se pasan a un medio de enraizamiento con las sales y vitaminas de M & S (1962) complementado con 2mg/l de AIB, 10g de sacarosa y 8g/L de agar.

Cultivo en sistema de Inmersión Temporal Automatizado (RITA)

Se cultivaron micro estacas de vitroplantas, con uno y dos nudos dos en RITA® conteniendo 250ml de medio de cultivo, con las sales y vitaminas M & S (1962) complementado con los con 3 mg/L BAP, 400 mg/L de Caseína Hidrolizada, 30g de sacarosa. Se suplió al sistema con aire durante un minuto cada tres horas. .

Cultivo de meristemos

El cultivo de meristemos se presentó como una opción para limpiar el material que se tenía en la cámara de crecimiento y que presentaba una bacteria endógena, como consecuencia de los múltiples subcultivos. Los meristemos fueron aislados de yemas apicales y axilares de vitroplantas. Se utilizó un medio con las sales y vitaminas de Murashige & Skoog (M & S) (1962) complementado con 1 mg/L BAP, 400 mg/L de Caseína Hidrolizada, 30g de sacarosa, y 1,8g/L de Phytigel.

Inducción de Callo

Se probaron dos tratamientos:

Tratamiento I

Se utilizó un medio con las sales y vitaminas de M & S (1962) complementado con 2mg/l de AIB y 10g de sacarosa (Alvarenga y col.; 2002)

Tratamiento II

Se empleó el protocolo de Trejo-Tapia y colaboradores (2005), un medio con las sales y vitaminas de M & S (1962) complementado con 2mg/l de 2-4D, 2mg/l de Cinetina, 20g/L de sacarosa y 1,8g/L de Phytigel.

Las hojas seccionadas en la multiplicación se utilizaron para la inducción de callo. Se colocaron 4 hojas por frasco Cada tratamiento con 15 repeticiones. ***Uncaria tomentosa* (uña de gato)**

Enraizamiento

Una vez que las plantas presentaban un tamaño y desarrollo foliar adecuado, se trasladaron a medio de cultivo de enraizamiento, 50% de sales M&S (1962) complementado con 2mg/L de Acido Indol Butírico (AIB), 10g/L de sacarosa y gelificado con Phytigel, y un pH de 5,7.

Aclimatación

Cuando las plantas presentaban rizogénesis abundante, con raíz visiblemente funcional y en buenas condiciones, se procedió a retirar el plástico protector y trasladar las plantas al invernadero donde permanecerán una semana antes de su aclimatación. Posteriormente se lavaron cuidadosamente las raíces de las vitroplantas con abundante agua, sin que el agua tuviera contacto con el tejido foliar de las plantas. Seguidamente, se sumergieron las raíces durante 30 segundos en una solución con 3mg/L de AIB. Se sembraron en tierra mezclada con granza de arroz y desinfectada con una solución de Vitavax 5g/L. Una vez sembradas, se aplicó Kilol 5ml/L a la tierra de las plantas recién sembradas.

Las plantas en aclimatación se mantuvieron en cámara húmeda durante mes y medio o dos meses, dependiendo de las condiciones ambientales del lugar donde se esté aclimatando el material y del avance que presenten las mismas, específicamente en cuanto a crecimiento y endurecimiento de las hojas. Las plantas en aclimatación se regaron de día por medio, teniendo cuidado de no mojar las hojas. Además, las plantas en aclimatación se regaron dos veces con

medio de cultivo M & S (1962) líquido con 2mg/L de AIB, el primer riego se efectuó a la semana de realizada la aclimatación y el segundo a los 15 días posteriores.

RESULTADOS

Introducción de explantes

A pesar de que las plantas en el invernadero fueron tratadas con Agri-mycín y Benomil y aunque se hicieron dos tipos de desinfección con diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio para los brotes extraídos los resultados fueron negativos ya que todos los explantes presentaron hongos y bacterias y ninguno sobrevivió en los dos primeros tratamientos. En el tercer tratamiento se con el empleo de 0,2% de cloruro de mercurio, se obtuvo una alta tasa de mortalidad (45%), los explantes sufrieron oxidación y luego murieron, el 50% se contaminó con bacterias y hongos, y solo el 5% sobrevivió. Sin embargo, las Vitro plantas establecidas se micropropagaron y se obtuvo un buen stock para todos los ensayos. .

Germinación in vitro

En relación a la introducción de semillas *in vitro* se obtuvieron los resultados mostrados en el Cuadro No. 2.

Cuadro No. 2: Evaluación de contaminación en los diferentes tratamientos de introducción de semillas de *Uncaria tomentosa*

Tratamiento	Contaminación	
	Hongo	Bacteria
SA1 9/9	50%	0%
SA2 9/9	13%	0%
SA3 9/9	0%	0%
SB1 9/9	43%	25%
SB2 9/9	5,0%	0%
SB3 9/9	8,33%	0%

CIB, Instituto Tecnológico de Costa Rica

Según los resultados mostrados en el cuadro anterior, los dos mejores tratamientos fueron el SA3 9/9 y el SB2 9/9, debido a los datos de contaminación evaluados. Sin embargo, se determinó que la contaminación presente en el tratamiento SB3 9/9 se relacionaba con el medio de cultivo o errores de manipulación (no provenía de las semillas propiamente), por lo cual, se decidió realizar nuevamente los tratamientos SA3 y SB3.

Cuadro No. 3: Evaluación de contaminación en los tratamientos de introducción de semillas de *Uncaria tomentosa*

Tratamiento	Contaminación		Germinación
	Bacteria	Hongo	
SA3 16/10	0%	0%	90,67%
SB3 16/10	2,85%	0%	2,86%

CIB, Instituto Tecnológico de Costa Rica

Con base en los datos obtenidos se puede deducir, que el tratamiento más efectivo de los realizados, fue el SA3 que consistió en la, inmersión en Agri-mycín y Benlate (5 g/L de cada uno) durante 30 minutos, ácido láctico 10% v/v durante 15 minutos y finalmente Hipoclorito de Sodio 5,4% i.a.durante 10min. Con este tratamiento no se presentó contaminación y el porcentaje de germinación fue de 90,67% (evaluado en frascos que presentan germinación del total de frascos sembrados) un alto porcentaje para ese fin. La mayoría de las plantas obtenidas de la germinación se mostraron saludables, fuertes, y con buenas características (Fig 1).

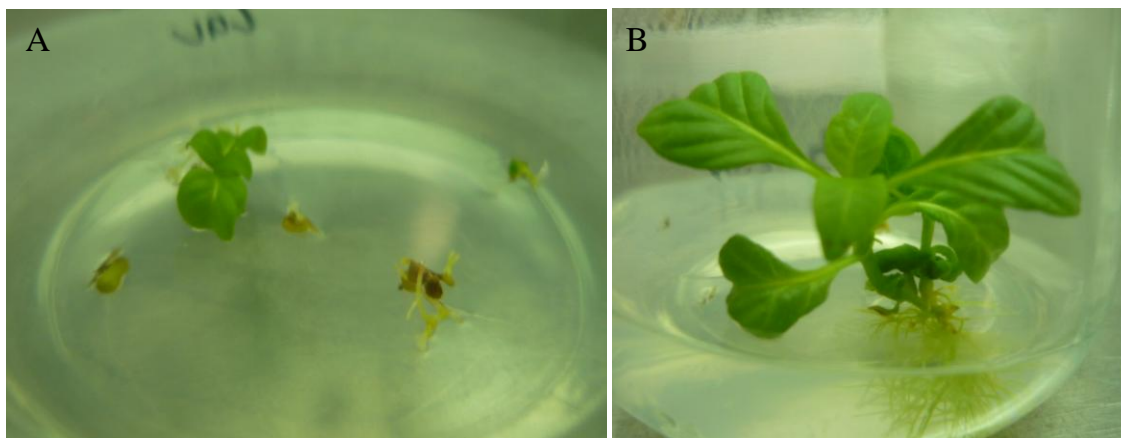


Fig.1. A. Semilla de *U. tomentosa* germinada en condiciones *in vitro*. B. Planta de *U. tomentosa* proveniente de germinación de semillas *in vitro*.

Micropropagación

Con respecto a la multiplicación *in vitro* se obtuvieron excelentes resultados empleando el medio de cultivo con sales y vitaminas M&S (1962) complementado con 3mg/L de BA, 30 g/L de sacarosa y gelificado con agar (8g/L) con pH 5,7. Las plantas se mostraron vigorosas, verdes y en buenas condiciones. Es importante mencionar, que el uso de agar como gelificante es trascendental para evitar la hiperhidricidad de las plantas (fig. 2). , que se ha presentado cuando las mismas son multiplicadas en medio con Phytigel.

Cuando se está llevando a cabo la micropropagación de las plantas de *U. tomentosa* en la cámara de flujo laminar, es recomendable trabajar rápidamente, debido a que las plantas tienen a desecarse, especialmente el tejido foliar. Se determinó que después de muchos ciclos de subcultivo, se da la aparición de una bacteria endógena que puede ser controlada con el cultivo de meristemos.

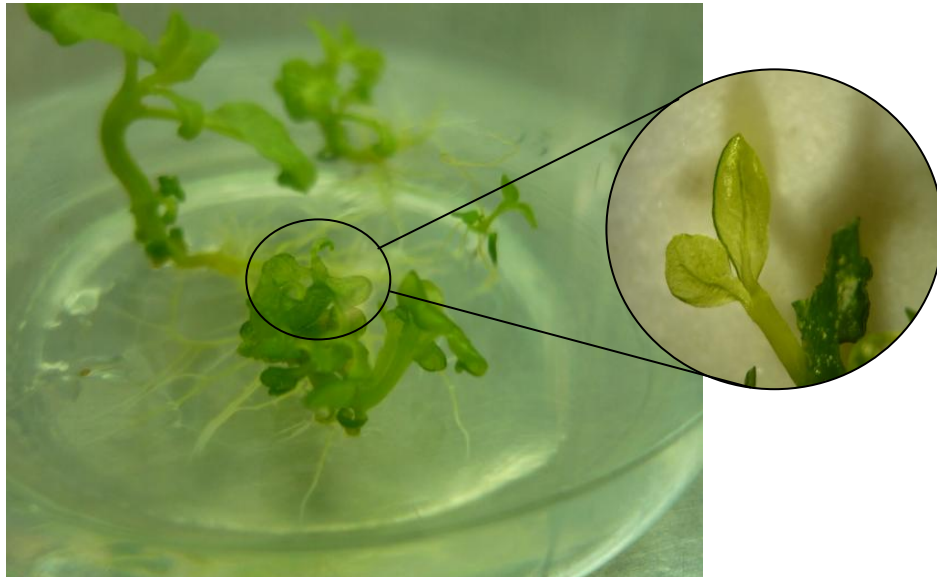


Fig 2. Plantas provenientes de semillas con vitrificación. Acercamiento mediante vista al estereoscopio de hoja vitrificada de *U. tomentosa*

Cultivo en sistemas de inmersión temporal (RITA)

Las vitroplantas cultivadas en RITA, tuvieron un buen crecimiento y se mostraron sanas y vigorosas, por lo que se recomienda como método de cultivo en la etapa final del cultivo *in vitro*, con el fin de obtener una mayor porcentaje de éxito en la aclimatación

Cultivo de meristemos

El 80% de los meristemos produjeron brotes laterales y plantas, se dispone del cultivo de meristemos para obtener plantas libres de bacterias y otros patógenos.

Inducción de Callo

Los callos que se obtuvieron en la primera inducción, con el tratamiento I, fueron trasplantados a las seis semanas y mostraron una coloración café y una textura friable

Enraizamiento

Como se mencionó anteriormente, el medio de cultivo para el enraizamiento de *Uncaria tomentosa* contiene AIB, que puede inducir un efecto callogénico. Se encontró que cuando las hojas entraban en contacto con el medio de cultivo de enraizamiento se presentaba la formación de callo en las mismas, lo cual, en este caso, es un efecto indeseado. Debido a la morfología de *U. tomentosa*, se

recomienda cortar las hojas inferiores de las plantas antes de ponerlas a enraizar, con el fin de que evitar la respuesta callogénica mencionada.

Se encontró una respuesta rizogénica favorable con el medio de cultivo empleado, obteniendo raíces verdes, funcionales y aptas para la etapa de aclimatación de las plantas en condiciones de invernadero (Fig. 3).

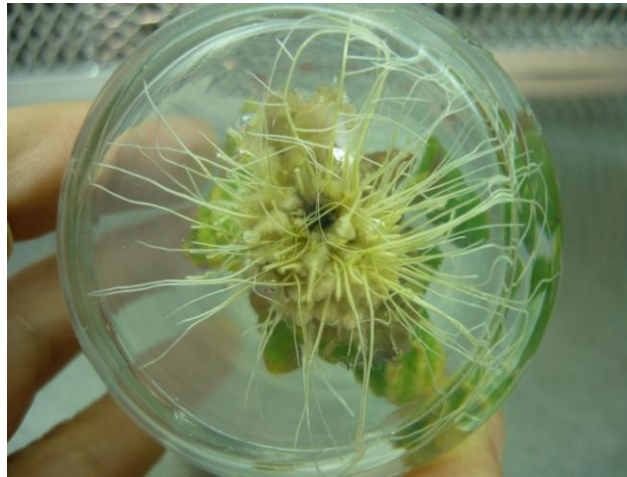


Fig. 3. Vitro planta de *U. tomentosa* enraizada

Aclimatación

Se realizaron varias aclimataciones, obteniendo un porcentaje de éxito promedio un 85%, lo cual es favorable, tomando en cuenta que las condiciones naturales aptas para el crecimiento de *Uncaria tomentosa* se encuentran en regiones húmedas como por ejemplo Guápiles y las aclimatación de las vitroplantas mencionadas se llevó a cabo en la región de Cartago. Es importante controlar el hongo blanco que se presenta mayoritariamente en las dos primeras semanas después de aclimatadas las plantas, de no ser así, las plantas se pudren y mueren como consecuencia del ataque del hongo que a su vez es producido por la humedad que requieren las plantas para aclimatarse correctamente a las condiciones de invernadero.

Algunas plantas presentaron estrés, probablemente por las variaciones en el clima de la región, sin embargo las plantas se adaptaron y brotaron rápidamente (Fig. 4).



Fig 4.. Plantas de *Uncaria tomentosa* aclimatadas

- ***Psychotria ipecacuana***

METODOLOGIA

Micropropagación

Se recibieron vitroplantas del laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Sede de San Carlos sin ninguna indicación o datos sobre el número de subcultivos de las vitroplantas.

Se micropropagaron siguiendo el protocolo de Palma (1996), en un medio de cultivo con las sales y vitaminas de M & S (1962) complementado con 0.1 mg/l de ANA, 3 mg/l de BA, 30g de sacarosa y 8g/L de agar.

Posteriormente se procedió a multiplicar las plantas mediante una subdivisión de las mismas y no tanto mediante la segmentación de ellas en micro estacas.

Cultivo en Sistemas de Inmersión Temporal Automatizado (RITA)

Una vez que se tuvo suficiente material in Vitro, se sub cultivaron en medio líquido en recipientes de inmersión temporal automatizada RITA®.

Las RITA® fueron desinfectadas mediante un lavado cuidadoso con agua y jabón y además, se dejaron reposando durante dos horas en una solución al 25% de Hipoclorito de Sodio comercial. Se lavaron, se secaron y se esterilizaron con 250ml de medio de cultivo líquido con las sales y vitaminas M & S (1962) complementado con 0.1 mg/l de ANA, 3 mg/l de BA, 30g de sacarosa y sin gelificante, el pH se ajustó a 5,7.

Se realizaron dos ensayos en RITA®. El primero consistió en la siembra de estacas con diferente número de nudos. Se cultivaron 50 micro estacas de vitroplantas por tratamiento: con uno a dos nudos (Tratamiento 1), de dos a tres nudos (tratamiento 2) y de cuatro a cinco nudos Tratamiento 3. El tiempo de inmersión fue de tres minutos cada cuatro horas.

Se determinó el coeficiente de multiplicación (número de brotes finales / número de brotes iniciales), se observaron otras características de las vitroplantas como coloración y vigorosidad.

Posteriormente, se estableció el segundo ensayo de cultivo de microestacas de *Psychotria ipecacuana* en RITAs®, para evaluar el efecto de la cantidad de microestacas sembradas en cada RITA®, se emplearon los tratamientos que se muestran en el Cuadro No.2.

Cuadro No.4: Tratamientos en RITA empleando 30, 40 o 50 explantes de *P. ipecacuana*

Tratamiento	Número de microestacas por RITA
1	30
2	40
3	50

CIB, Instituto Tecnológico de Costa Rica

Se determinó el coeficiente de multiplicación así como promedios de longitud, número promedio de nudos y de brotes generados por tratamiento, se observaron otras características de las vitroplantas como coloración y vigorosidad.

Aclimatación

Cuando las plantas mostraban un desarrollo foliar abundante, alto grado de brotación y aparición de raíces incipientes, se procedió a trasladarlas al invernadero para ser aclimatadas 8 días después.

El proceso de aclimatación se llevó a cabo retirando por completo el medio de cultivo de las raíces de las plantas, posteriormente se sumergió la zona radical en una solución de AIB (3mg/L) y se sembraron las plantas en macetas plásticas o vasos térmicos con tierra desinfectada con una solución de Vitavax (5g/L) y mezclada con granza de arroz. Las plantas se colocaron en cámara húmeda. Después de aproximadamente 4 meses de aclimatadas, las plantas fueron trasladadas a bolsas plásticas, con el fin de que la planta creciera y se desarrollara de mejor manera.

RESULTADOS

Micropropagación

Las vitroplantas micropropagadas mostraron un buen crecimiento y vigorosidad, posteriormente, al subcultivarse en forma repetida, se observaron síntomas de envejecimiento.

Con respecto a la multiplicación *in vitro* de *Ipecacuana*, se determinó experimentalmente, que la mejor manera de multiplicar las plantas es mediante la subdivisión de ramas laterales de las plantas madre. Se observó que cuando las plantas se multiplicaban mediante el aislamiento de micro estacas, éstas

mostraban características poco deseables, como debilitamiento de las hojas, clorosis y necrosis en algunas regiones. En contraparte, las plantas multiplicadas por medio de segmentación de la planta madre, mostraron crecimiento vigoroso y apropiado para el pase a la etapa de aclimatación en invernadero (Fig. 5).



Fig 5. Vitroplantas de *P. ipecacuana* multiplicadas por medio de la segmentación de plantas madre.

Cultivo en Sistemas de Inmersión Temporal Automatizado (RITA)

Respecto al primer ensayo que consistió en el cultivo de RITA con explantes con diferente número de nudos, a la cuarta semana de cultivo se obtuvieron los siguientes resultados:

Tratamiento 1: 16 plantas de un nudo, 26 plantas con tres nudos y 47 plantas con cuatro nudos. Se produjeron un total de 282 nudos. En la Fig.6, se muestra el crecimiento de los explantes de 1 a 2 nudos, en sistema de inmersión temporal automatizado (RITA®). plantas muy vigorosas de color verde oscuro hojas brillantes.

Los tratamientos 1, 2 y 3 cultivados en RITA®, regeneraron plantas vigorosas verdes, de un color verde brillante oscuro.



Fig.6.. Vitroplantas obtenidas en RITA a partir de explantes de 1 a 2 nudos (ensayo I, tratamientos 1 y 2).

Tratamiento 2. La RITA en la que se sembraron explantes de 2 a 3 nudos se contaminó con hongo y bacteria por lo que las vitroplantas se sacaron para aclimatar. En este tratamiento se obtuvo en promedio plantas de 3 a 4 nudos.

Tratamiento 3. Ritas con explantes de 4 a 5 nudos (Fig.7), se obtuvieron los siguientes resultados: 8 plantas de 6 nudos, 23 plantas de 5 nudos y 15 plantas de 4 nudos para un total de 229 nudos.

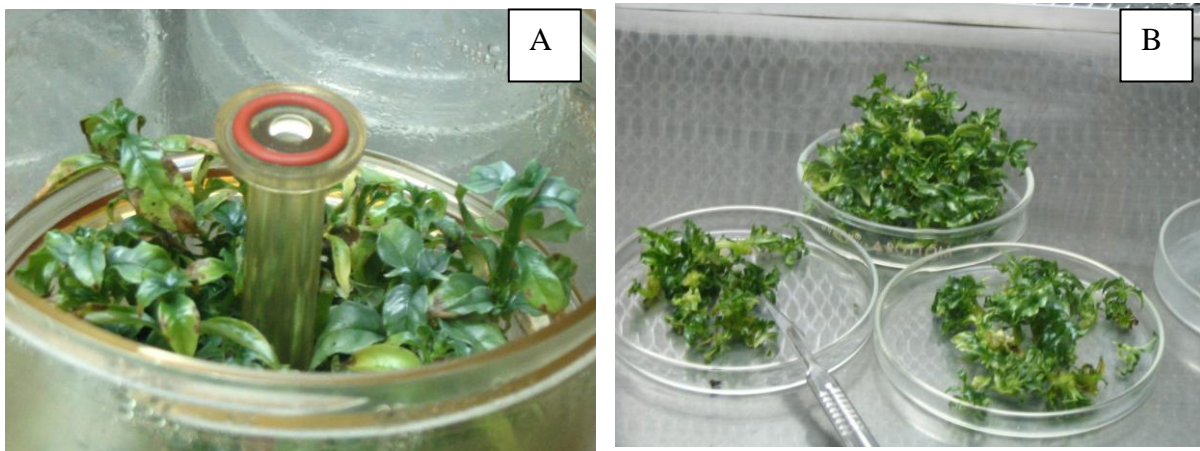


Fig.7. A. Vitro plantas de explantes con 4 a 5 nudos. B. Plantas regeneradas en RITA a las cuatro semanas de cultivo, se observan con muy buen crecimiento y vigorosidad. Las hojas presentan un color verde intenso brillante.

El tratamiento que mostró el mayor coeficiente de multiplicación 3,76, fue el 1, ya que con un promedio de 1,5 nudos se obtuvieron 282 nudos , en tanto que con el tratamiento 3, se produjeron 229 nudos, correspondiente a un coeficiente de multiplicación de 1,02, obtenido colocando el triple de nudos iniciales, por lo que se debe considerar el tratamiento 1, que consistió en el cultivo de microestacas

con uno a dos nudos efectivo como paso previo para la aclimatación de plantas. Las plantas tuvieron muy buen desarrollo y lucían muy vigorosas.

La evaluación se des del segundo ensayo, que consistía en evaluar el cultivo de diferente número de explantes por RITA (30, 40 y 50), se realizó a los 4 meses de la siembra. Se determinó la longitud de las plantas, cantidad de nudos y brotes de cada una de las plántulas sembradas por tratamiento, los resultados se resumen en el Cuadro No.5.

Cuadro No.5: Evaluación de la longitud, número de nudos y brotes de las plantas de *P. ipecacuana* sembradas en RITAs®

Tratamiento	Número de explantes/RITA	Longitud promedio	Promedio de nudos	Promedio de brotes
1	30	1,745	1,219	6,454
2	40	1,475	1,425	3,550
3	50	2,328	1,060	9,120

CIB, Instituto Tecnológico de Costa Rica

Es importante mencionar que algunas de las plántulas obtenidas del cultivo en RITA® presentaron albinismo (Fig.8), es decir sus hojas se mostraban con coloración blanca, relacionado con la falta de producción de clorofila en las mismas. Este resultado se presentó en los tres tratamientos realizados, podría deberse a que no se conoce el número de sub cultivos realizados, ya que fue enviado por el laboratorio de cultivo de tejidos de la sede de San Carlos.



Fig. 7. Plantas de *P. ipecacuana* cultivadas en Reactores de Inmersión Temporal Automatizada RITA®

Según los resultados obtenidos (Cuadro No.5), el mayor número de brotes (9,12) y la mayor longitud promedio de las plántulas se obtuvo con el cultivo de 50 microestacas por RITA, en tanto que el número de nudos promedio se alcanzó con el cultivo de 40 micro estacas por recipiente. Por lo que se recomienda la implementación del tratamiento 3, en la ipecacuana, en vitroplantas con uno o

dos subcultivos, ya que el sistema de inmersión temporal fue un método de micropropagación muy efectivo en esta especie. Además el empleo de SIT (sistemas de Inmersión temporal) ofrece ventajas para la micropropagación masiva, pues baja costos por automatización y por no emplear gelificantes.

Aclimatación

En cuanto a la aclimatación de las plantas de *Ipecacuana* (Fig. 8), se obtuvo un porcentaje de éxito de un 88,57%, sin embargo éste dependerá del mantenimiento de las condiciones ambientales necesarias para la aclimatación de esta planta, tal como la humedad, lo cual conlleva al tratamiento químico de posibles hongos que podrían aparecer en la tierra o en las mismas plantas como consecuencia a la humedad mantenida en las cámaras de aclimatación.



Fig.8. Plantas de *P. ipecacuana* procedentes de multiplicación *in vitro*, 5 meses después de su aclimatación.

- **Establecimiento *in vitro*, Micropropagación Enraizamiento y Aclimatación de *Smilax vanilliodora* (zarzaparrilla)**

METODOLOGIA

Micropropagación

Se empleó material del laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Sede de San Carlos de donde se trajeron dos vitroplantas una sin contaminación y la otra mostraba la presencia de una bacteria endógena.

Se procedió a seccionar el material madre de *Smilax sp* (zarzaparrilla) en explantes de aproximadamente 5 cm con un nudo. Seguidamente se cultivaron siguiendo el protocolo de Palma (1996) en un medio con las sales y vitaminas de M & S (1962) complementado con 1 mg/L de ANA y 3 mg/L de BA Además de 30 g/L de sacarosa y 2 g/L de Phytigel.

Establecimiento *in vitro*

Se realizó una introducción de material en el Laboratorio del CIB, a partir de cormos brotados en el invernadero, de acuerdo al protocolo desarrollado por Palma y colaboradores 1995, con las siguientes variaciones:

Tratamiento previo

- Durante un mes se le aplicó al material en invernadero fungicida y bactericida para disminuir la carga de fitopatógenos.
- El día anterior a la introducción se le aplicó el fungicida orgánico Kilol® en una concentración de 5 mL⁻¹.

Desinfección:

1. Se lavaron los brotes seleccionados cuidadosamente con agua y jabón, con ayuda de un cepillo suave.
2. Se sumergieron los explantes en una solución de Benomy® (1gL⁻¹), Cupravit® (1gL⁻¹) y Trimetoprima Sulfametoxazol (antibiótico para bacterias gram negativas) 5ml L⁻¹, durante 30 minutos.
3. Se lavaron con agua destilada
4. Se colocaron en una solución de hipoclorito de calcio al 10% m/v en cámara de flujo laminar durante 15 minutos
5. Se lavaron con agua destilada estéril tres veces se procedió a sembrar micro estacas de un nudo en un medio de cultivo con las sales y vitaminas de M & S (1962) complementado con 1 mg/L de ANA y 3 mg/L de BA. Además de 30 g/L de sacarosa y 2 g/L de Phytigel.

Cultivo de meristemos

Se aislaron cultivaron meristemos en un medio de cultivo con las sales y vitaminas de M & S (1962) complementado con 30 g/L de sacarosa y 2 g/L de Phytigel. Con la finalidad de limpiar el material contaminado.

Enraizamiento y Aclimatación

Cuando las plantas alcanzaron un tamaño adecuado, mostrando desarrollo de las láminas foliares, (aproximadamente en un lapso de 2 meses y medio después de su multiplicación), se transfirieron a medio de enraizamiento con sales M&S (1962) al 50%, complementado con 1mg/L de AIB, 30g/L de sacarosa y gelificado con Phytigel.

Posteriormente, las vitroplantas se trasladaron al invernadero, donde permanecieron 12 días antes de su aclimatación.

Para el proceso de aclimatación, se sumergieron las raíces de las plantas en una solución de 2mg/l de AIB durante 30 segundos, luego se sembraron las plantas en

macetas pequeñas con tierra preparada con granza de arroz y desinfectada con una solución de Vitavax 5g/L. Las plantas en aclimatación se colocaron en cámara húmeda con el fin de mantener las condiciones adecuada para su sobrevivencia.

RESULTADOS

Micropropagación

Se obtuvieron 36 explantes como resultado de la división de las dos plántulas de *Smilax sp* (zarzaparrilla) 24 contaminadas con una bacteria endógena (Figs. 9 y 10) resultaron sanas sin ningún tipo de contaminación (Fig. 9).

Todas las plántulas que resultaron afectadas por la bacteria se obtuvieron de la misma planta madre por lo que se infiere que la contaminación se debió al material de partida. Estas no se han desechado aún para que cuando presenten un tamaño adecuado tratar de limpiarlas por medio de técnicas como el cultivo de meristemos, o aclimatarlas.



Figura 9. Bacteria endógena presente en diferentes explantes de *Smilax sp* (zarzaparrilla)

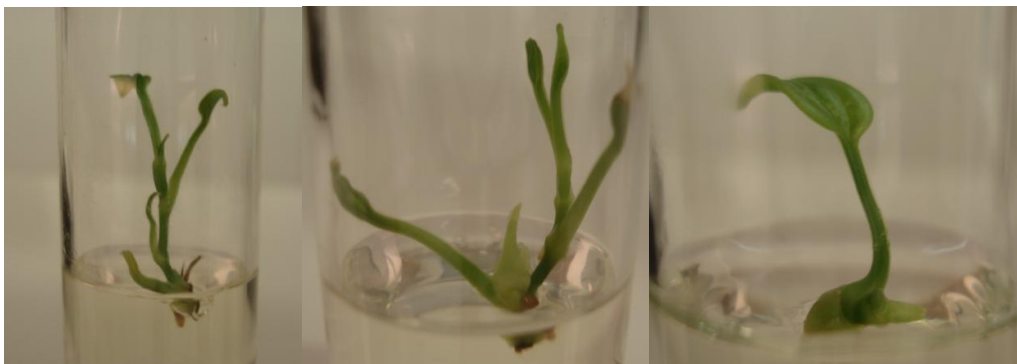


Figura 10. Plántulas *in vitro* de *Smilax sp* (zarzaparrilla) libres de contaminación

Un mes después de la primera siembra del material, se determinó que aunque las plantas lograron desarrollar adecuadamente una gran cantidad de brotes, el sistema radical y la elongación de los mismos se mantuvieron latentes. Cuando las plantas se subdividieron nuevamente y se colocaron en el medio que contenía 0,5 mg/L de AG₃ presentaron un desarrollo normal después de una

semana de evaluación. Como resultado de las divisiones de aquellas plantas con mayor cantidad de explantes como la que se muestra en la figura 11, se logró ampliar el número de plantas de 24 plantas enfermas con bacteria endógena, a 60 que posteriormente con la ayuda de técnicas especiales como la siembra de meristemos se puede lograr el saneamiento del material, mientras que de las plántulas que no presentaban ningún tipo de contaminación se lograron obtener solamente 11 plántulas debido al tamaño más pequeño que presentaban los explantes.



Figura 11. Plántula *in vitro* de zarzaparrilla que fue subdividida para obtención de brotes

Establecimiento *in vitro*

En el cuadro 6 se muestran los resultados de la introducción *in vitro* de Zarzaparrilla.

Cuadro No.6: Resultados de Introducción *in vitro* de *Smilax vanilliodora* (zarzaparrilla)

	Sobrevivencia (%)
Explantes iniciales	
Contaminados por hongo	6.25
Contaminados por bacteria	31.25
Contaminados por hongo y bacteria	37.5
Sobrevivientes	31.25

Fuente: Datos experimentales. CIB 2008

Con el empleo de esta metodología se logró obtener un 31,25% de sobrevivencia, lo que se considera aceptable. A pesar de la contaminación, los explantes presentaban buena apariencia (color verde), lo cual es indicativo que soportaron exitosamente el proceso de desinfección.

Cultivo de meristemos

Con el cultivo de meristemos se logró la regeneración de vitro plantas libres de patógenos (fig.13)

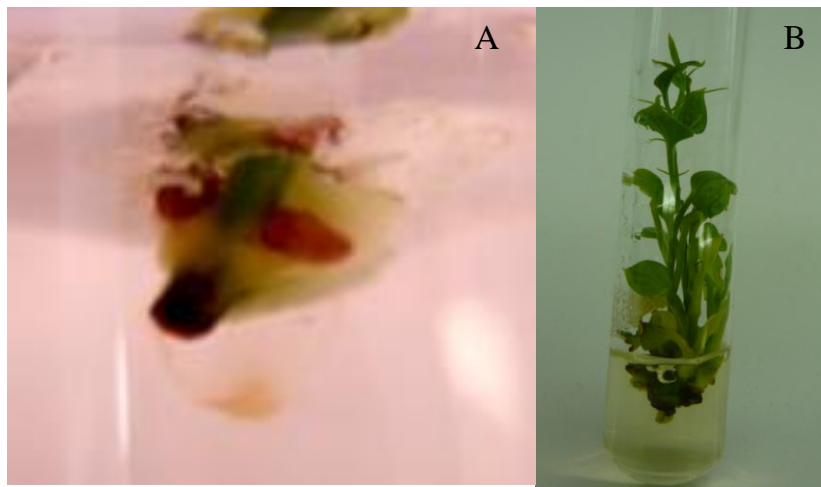


Fig 12. A. *Smilax* contaminado con bacteria endógena. B. Planta de *Smilax* libre de contaminación procedente de cultivo de meristemos.

Enraizamiento y Aclimatación

Con respecto a la aclimatación de las vitroplantas de *Smilax*, se obtuvo un porcentaje de éxito de un 18,91%. Esto puede deberse a la rápida proliferación de un hongo con motivo de la humedad que dichas plantas requieren para poder aclimatarse correctamente. Las plantas sobrevivientes a la aclimatación presentaron hojas fuertes, bien desarrolladas y en excelentes condiciones, fueron retiradas de la cámara húmeda a los 2 meses después de su aclimatación (Fig.13).



Fig. 13. Plantas de *Smilax* procedentes de multiplicación *in vitro*, a 3 meses de aclimatadas

3. **Establecimiento *in vitro* y micropropagación de *Smilax* dominguensis (cuculmecha).**

METODOLOGIA

Material en invernadero

Se colectaron rizomas de cuculmecha de ...?: y se trasladaron al invernadero del CIB, se trataron aplicando semanalmente fertilizante granulado y foliar de manera intercalada, agregándole al foliar 2 mg/L de citocinina (BAP), para estimular la brotación.

Establecimiento in Vitro

Ensayo I.

Se cortaron estacas pequeñas a partir de los brotes de cuculmecha tratados en el invernadero del CIB. Se lavaron con agua y jabón. Posteriormente, se colocaron en solución de Ferbán y Agri-mycín (4g /L de cada uno) por un periodo de una hora.

Luego se sumergieron en colocaron en una solución de cloruro de mercurio (0.15%) por un periodo de 15 minutos.

Por último, se realizaron 3 lavados con agua destilada y se preparó el material para colocarlo en el medio de cultivo con las sales y vitaminas de Murashige y Skoog (M&S) (1962), con 30g/L de sacarosa y 3.1g de Phytigel.

Debido a la producción de fenoles y otros productos de oxidación se realizaron varios ensayos: lavado de explantes con una mezcla de ácido ascórbico y ácido cítrico (100mg/100ml), frecuentes subcultivos, además se probaron diferentes compuestos en el medio de cultivo como son el carbón activado o se colocaron en condiciones de oscuridad.

Ensayo II.

Se cortaron estacas pequeñas de cuculmecha brotadas. Se lavaron con agua y jabón. Posteriormente, se colocaron en solución de 1g/L de Benomil, 5 ml/L de Trimetroprima Sulfametaxol y 1g/L de Cupravit, por un periodo de treinta minutos. Se lavaron con agua destilada y luego se colocaron en Hipoclorito de Calcio 10% m/v por un periodo de 15 minutos. Por último, se realizaron 3 lavados con agua destilada y se preparó el material para colocarlo en el medio con las sales y vitaminas M & S (1962) sin reguladores y otro tratamiento se cultivó en un medio M & S (1962) complementado con 1mg /L de BA. Posteriormente se agregó 250mg/L de Carbón activado al medio de cultivo y se subcultivaron los explantes sobrevivientes.

RESULTADOS

Establecimiento in Vitro

Ensayo I.

De la primera introducción sobrevivió el 28,57% de los brotes. Un 25%, se necrosaron y murieron, producto de severas oxidaciones. El resto de los explantes sufrieron contaminación por hongos (10,71%) y bacterias (35,7%).

Ensayo II.

En la segunda introducción, se obtuvo un porcentaje mayor de sobrevivencia (32.20 %) (Fig.14.A). Sin embargo, en el ensayo I se presentó un porcentaje menor de oxidación, aspecto importante para la sobrevivencia de los explantes. Por lo que se decidió incluir un antioxidante (250mg/L de carbón activado) al protocolo del ensayo II, ya que el porcentaje de contaminación de este ensayo fue menor que el I.

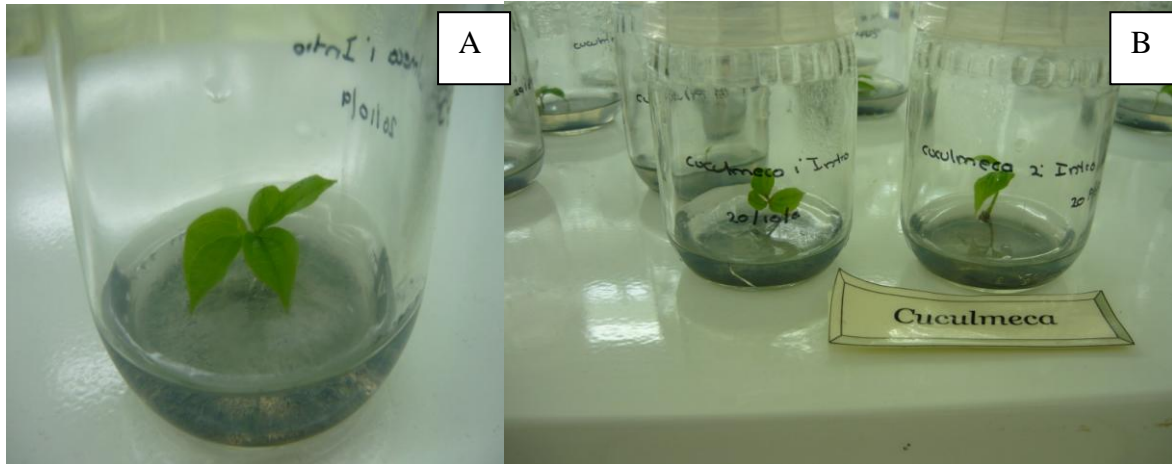


Figura. 14. A. Cuculmeca establecida in Vitro. B. En etapa de multiplicación.

En esta especie se observó un crecimiento muy lento, los explantes parecían estar necrosados o muertos y posteriormente, a veces en lapsos de hasta tres meses, producían brotes verdes y vigorosos en medio de cultivo con las sales M& S (1962) con o sin reguladores de crecimiento. Por otra parte, la luz difusa promovió la brotación y el crecimiento de las vitroplantas (Fig. 14.B)

Micropropagación

Se obtuvo un 62,16% de éxito en la limpieza y brotación de meristemos. Las vitroplantas regeneradas vitroplantas fueron muy vigorosas, aptas para su multiplicación *in vitro* y posterior aclimatación (fig.14B). Es importante destacar que no existen publicaciones de protocolos de establecimiento y micropropagación en esta especie.

Bibliografía

Alvarenga, S.; Alán, E.; Peraza, J. 2002. Informe final. Estudio de la Biología, la reproducción vegetativa y cultivo *in vitro* de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) Fundación Neotrópica-ITCR. Cartago, Costa Rica. 89pp.

Alvarenga, S.; Alán, E.; Arnáez, E.; Moreira, I.; Vargas, W.; Romero, E.; Loaiza, J.; Barrios, M. 2005. Informe final de proyecto. Plan para la promoción del conocimiento y el aprovechamiento de la *Uncaria tomentosa* (uña de gato) en dos

comunidades de la región atlántica de de Costa Rica (Plan Piloto). ITCR-UNA. Financiado por Fundecooperación. ITCR-UNA. Cartago, Costa Rica.

Palma, T. 1996. Biotecnología en la domesticación de Plantas Medicinales. **EN:** Resúmenes del X Congreso Nacional Agronómico. San José, Costa Rica. P:31-34.

Trejo-Tapia, G.; Cerda-García-Rojas, C.; Rodríguez-Monroy, M.; Ramos-Valdivia, A. C. 2005. Monoterpednoid Oxindole Alkaloid Production by *Uncaria tomentosa* (Will) D. C. Cell Suspension Cultures in Stirred Tank Bioreactor. *Biotechnol. Prog.* 21:786-792.

OTRAS ACTIVIDADES NO INCLUIDAS EN EL PROYECTO

- Adquisición de Biorreactor en el CIB. ITCR.

El Programa de Plantas Medicinales del ITCR, y el Programa Nacional de Plantas Medicinales (PRONAPLAMED) están trabajando en documentar y conocer especies con potencial medicinal y que contengan otros componentes bioactivos de interés comercial.

Algunas de estas especies han sido clasificadas como malezas, sin embargo, tienen un gran valor potencial como plantas medicinales, como es el caso de *Uncaria tomentosa*.

En los últimos años, investigadores del Centro de Investigación en Biotecnología (CIB), en el marco de los Programas mencionados han desarrollaron los protocolos de micropropagación, inducción de callo y establecimiento de células en suspensión de la uña de gato (Alvarenga *et al.*; 2002). Como resultado de estos proyectos se dispone de los protocolos mencionados, se conoce sobre la fenología de la especie en la región Atlántica de Costa Rica, además se cuenta con los protocolos de cromatografía de alta resolución (HPLC) para la determinación y cuantificación de 4 alcaloides, así como el establecimiento y validación de los de cuatro sistemas de isoenzimas que han aportado información de la estructura genética de esta especie en el país y de la diversidad genética que se presenta en la región de Guápiles en la que se realizó el estudio. Por otra parte, se ha generado mucha experiencia en la domesticación de la especie y adicionalmente en la industrialización y comercialización por parte asociaciones de mujeres y campesinos de la región Atlántica (Alvarenga *et al.*; 2005; Alvarenga *et al.*; 2008).

Por lo anterior se determinó, en el marco de los Programas de Plantas Medicinales que *Uncaria tomentosa* era la especie productora de metabolitos secundarios de uso medicinal más factible de escalamiento del erlenmeyer al biorreactor.

En el año 2007, la M. Sc Alvarenga asistió al curso de capacitación: “Aspectos Teórico Prácticos del Cultivo de Células en Biorreactores. Que se efectuó del 7 al

12 de agosto en el Centro de Desarrollo de Productos Bióticos., en Morelos, Mexico.

Se solicitó a la Vicerrectoría de Investigación y Extensión del ITCR, la compra de un biorreactor y una centrífuga refrigerada, equipo indispensable para el cultivo de células a mediana y gran escala, esta solicitud nació a raíz del trabajo que en los dos últimos años se ha realizado en el marco del proyecto del CENIBiot, con el interés de que el CIB posea un biorreactor para el escalamiento del cultivo de células de plantas medicinales de interés comercial. Hace algunos meses se aprobó la compra del biorreactor.

Para apoyar el desarrollo de esta actividad de investigación, se presentó al Ministerio de Relaciones Exteriores el proyecto de Cooperación técnica: **“Aplicación de la biotecnología para el aumento de la competitividad del sector agroindustrial de Costa Rica”**, en el marco del **Programa Mexicano de Cooperación para el Desarrollo**, presentado como parte de las actividades de capacitación del CENIBiot, participan varios proyectos específicos de la Universidad de Costa Rica y del Instituto Tecnológico en este último se presentó el proyecto: **“Cultivo de células vegetales de la “uña de gato” (*Uncaria tomentosa*), para la bioprospección de metabolitos secundarios de interés farmacológico, agrícola e industrial”**. Estos dos últimos se desarrollan en el marco del proyecto CENIBiot. Tienen como finalidad el escalamiento a nivel industrial de metabolitos secundarios, con este propósito se iniciará el proyecto: **Obtención a escala comercial de un extracto hidroalcohólico de Uña de Gato (*Uncaria tomentosa*) con concentraciones conocidas de alcaloides** (CENIBiot-VitroPlant-ITCR-UCR).

En el 2009, se recibió asesoría técnica y capacitación del Dr. Rodríguez-Monroy en el CEPROBI, México y en el CIB del ITCR.

Componente 3

Actividad biológica de componentes bioactivos, ensayos de toxicidad y ecotoxicidad (Pruebas biológicas)

Número de proyecto en la Vicerrectoría de Investigación de la UCR: 422-A7-147

Participantes por la UCR:

MSc. Mildred García González
MSc. José Francisco Ciccio Alberti
Dra. Cecilia Díaz Oreiro (coordinadora por la UCR)

Objetivos específicos correspondientes a la Universidad de Costa Rica:

Esta actividad consistió en determinar las propiedades biológicas de componentes bioactivos presentes en una muestra de las 5 plantas medicinales estudiadas en este proyecto y realizar ensayos de toxicidad y pruebas biológicas

Actividades realizadas:

Debido a que el interés principal de los investigadores del grupo de la UCR está centrado en la capacidad de compuestos naturales de tener actividad preventiva o tóxica directa sobre tumores, se seleccionaron dos de las 5 plantas del proyecto: *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y *Smilax vanilliodora* (zarzaparrilla). La primera porque ya es una planta con capacidad antitumoral bastante establecida y estudiada, pero que sin embargo no cuenta con estudios de validación en lo que refiere a la planta que crece en Costa Rica. La segunda planta se seleccionó porque, aunque es una planta con usos medicinales conocidos, no existen estudios publicados sobre la posible actividad citotóxica sobre células tumorales, lo cual la hace un candidato interesante para la realización de estudios básicos.

Las otras plantas seleccionadas en este estudio tienen actividades medicinales muy poco relacionadas con la actividad anti-tumoral, por lo que se dejaron fuera del estudio biológico realizado en la UCR.

Actividades biológicas de extractos acuoso y alcohólico de *Uncaria tomentosa*

Los investigadores del ITCR recolectaron las muestras de la planta (Vaucher No. Alonso Quesada 2433, 254451 del Herbario del Museo Nacional de Costa Rica), la cual está ubicada en la comunidad de Millón en la zona de Cariari de Guápiles, Provincia de Limón. Las muestras obtenidas son de 4 partes de la planta: hojas, ramas, madera de raíz y corteza de raíz. Básicamente se utilizaron 3 partes, ya

que la muestra de ramas fue muy pequeña por lo que no se pudo utilizar en la mayoría de los experimentos.

Las plantas se secaron y se prepararon dos extractos diferentes, uno hidroalcohólico y otro acuoso, en los laboratorios del CIPRONA bajo la supervisión del MSc. José Francisco Ciccío. Estos extractos se secaron en rotavapor o se liofilizaron, de acuerdo a sus características químicas.

Con respecto a las pruebas biológicas, se realizaron las siguientes:

1. actividad anti-oxidante in vitro
2. actividad protectora contra el estrés oxidativo en órgano aislado (hígado de rata)
3. actividad citotóxica directa sobre líneas celulares tumorales humanas
4. actividad anti-inflamatoria en modelo de oreja de ratón
5. actividad anti-tumoral in vivo en modelo de carcinoma hepatocelular en ratas
6. determinación de alcaloides presentes en los extractos de *U. tomentosa*

Los principales resultados se encuentran a continuación:

Actividad anti-oxidante in vitro de los extractos de *U. tomentosa* determinado por medio de la técnica de DPPH

Esta parte del estudio fue realizada por la estudiante de la Maestría en Ciencias Biomédicas (énfasis en Farmacología) Lizeth Meléndez Navas bajo la supervisión de la MSc. Gabriela Azofeifa Cordero y la Dra. Silvia Quesada Mora, del laboratorio de Bioquímica de la Escuela de Medicina.

Todos los extractos presentaron una actividad antioxidante significativa que concuerda con la actividad protectora contra el estrés oxidativo obtenida en el experimento en hígado de rata (ver más adelante).

Actividad anti-oxidante de los extractos de *U. tomentosa* en hígado de rata (prueba de protección contra el estrés oxidativo inducido químicamente)

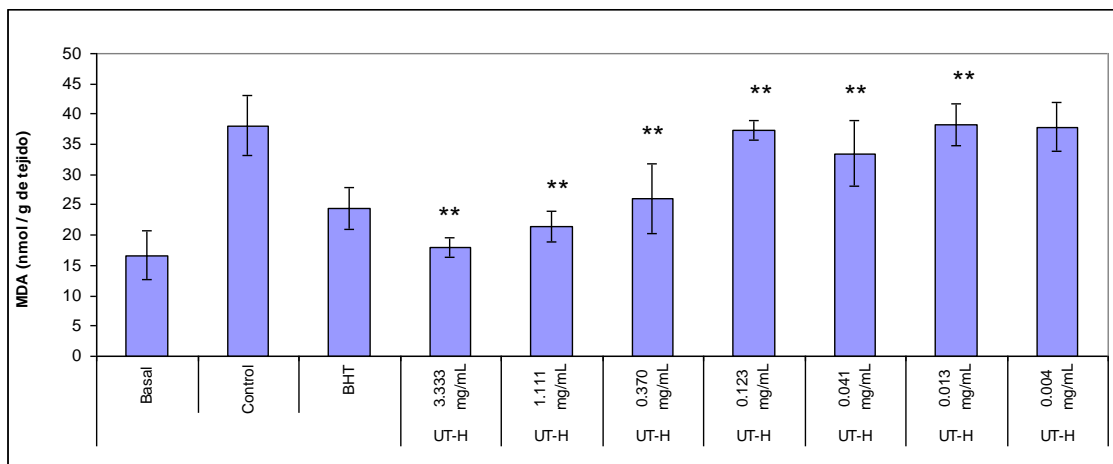


Fig 1. Efecto protector al estrés oxidativo del extracto alcohólico de madera de raíz de *U. tomentosa*. $p < 0.001$.

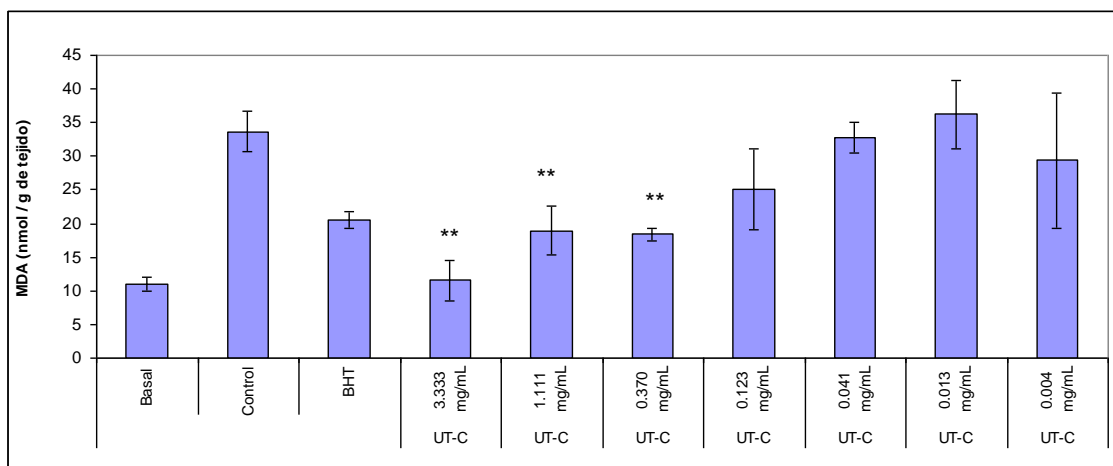


Fig 2. Efecto protector al estrés oxidativo del extracto alcohólico de corteza de raíz de *U. tomentosa*. $p < 0.001$.

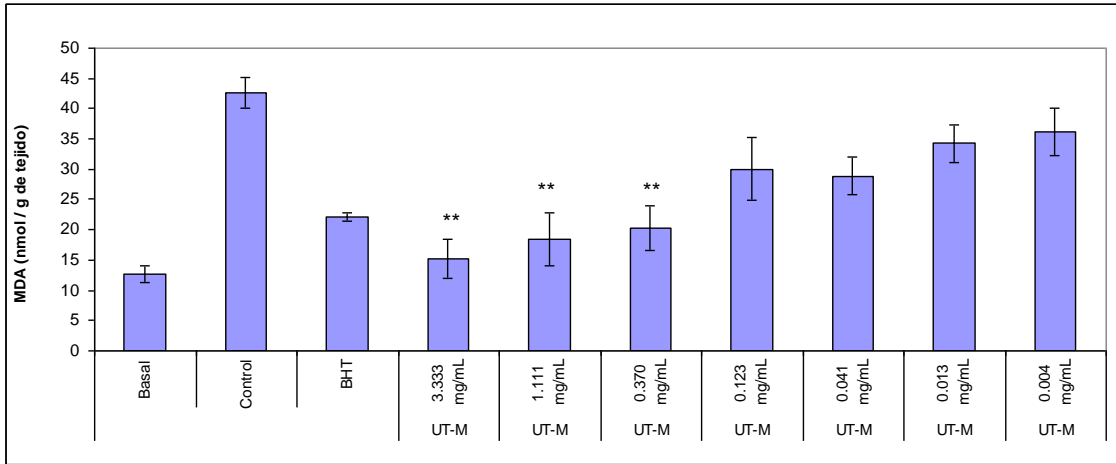


Fig 3. Efecto protector al estrés oxidativo del extracto alcohólico de las hojas de *U. tomentosa*. $p < 0.001$.

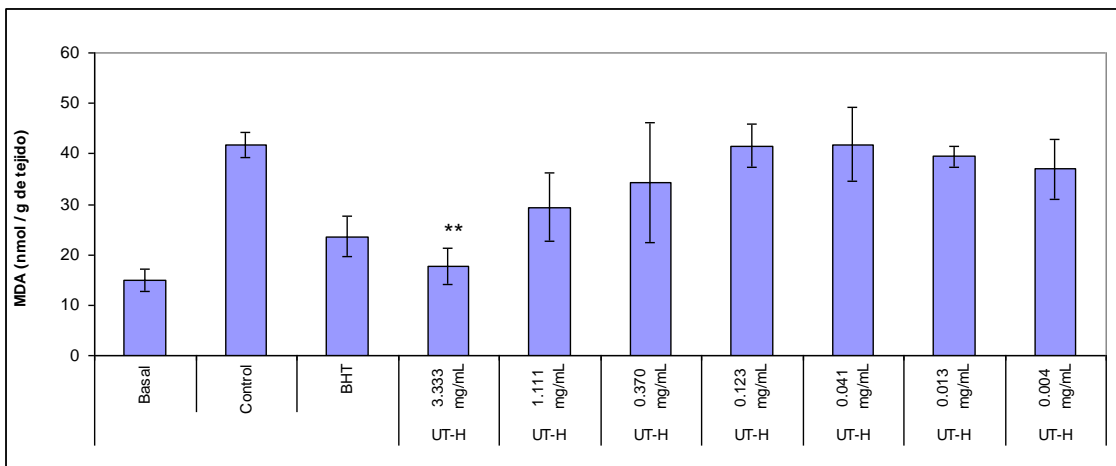


Fig 4. Efecto protector al estrés oxidativo del extracto acuoso de madera de raíz de *U. tomentosa*. $p < 0.001$.

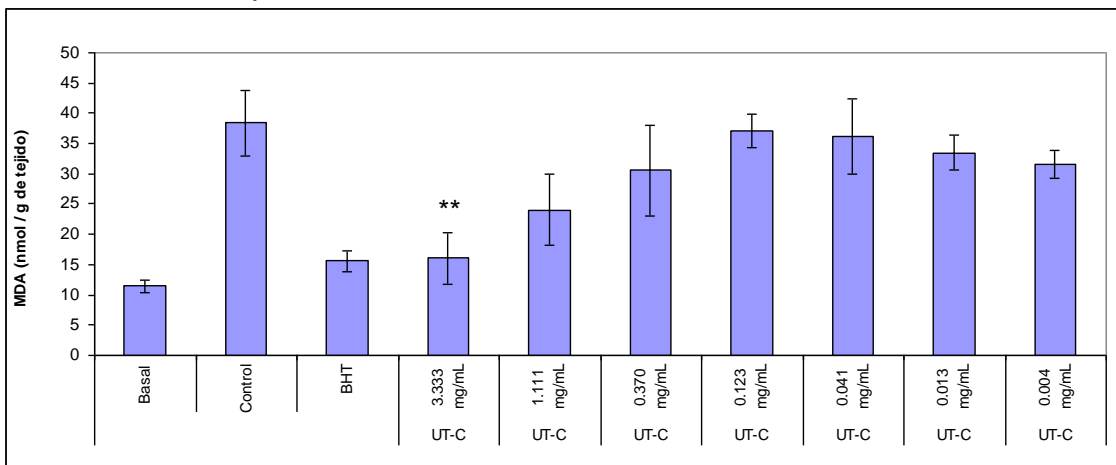


Fig 5. Efecto protector al estrés oxidativo del extracto acuoso de corteza de raíz de *U. tomentosa*. $p < 0.001$.

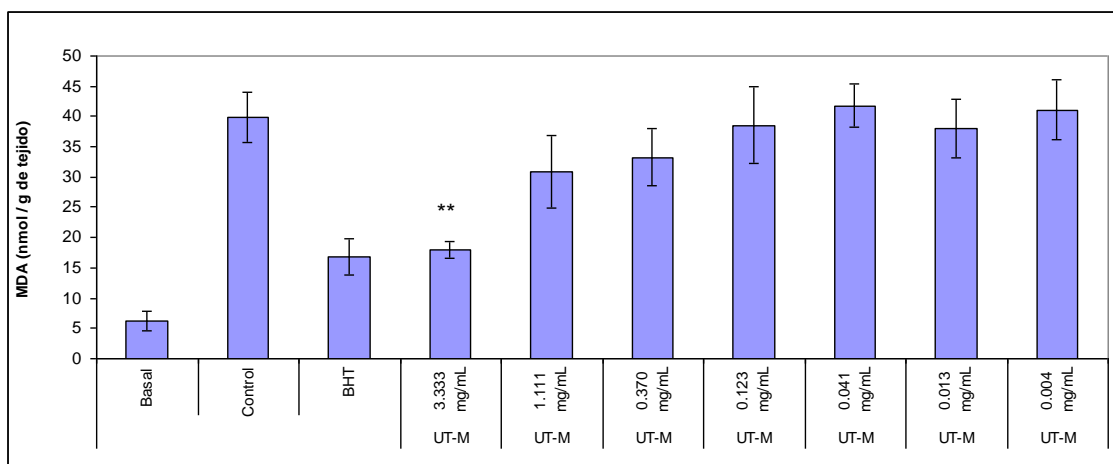


Fig 6. Efecto protector al estrés oxidativo del extracto acuoso de las hojas de *U. tomentosa*. $p < 0.001$.

Esta parte del estudio fue realizada por la estudiante de la Maestría en Ciencias Biomédicas (énfasis en Farmacología) Lizeth Meléndez Navas bajo la supervisión de la MSc. Gabriela Azofeifa Cordero y la Dra. Silvia Quesada Mora.

Conclusiones sobre el efecto anti-oxidante y protector contra el estrés oxidativo de los extractos de *U. tomentosa*.

Los extractos alcohólicos tienen un efecto anti-oxidante mayor que los extractos acuosos de *U. tomentosa*. En el caso de los extractos alcohólicos, el que parece tener un mayor efecto es el proveniente de la madera de la raíz, que a concentraciones tan bajas como 0.013 $\mu\text{g/mL}$ tiene un efecto significativo con una $p < 0.001$. Por otra parte los extractos alcohólicos de la corteza de la raíz y de las hojas tienen un efecto anti-oxidante muy similar, significativo estadísticamente hasta una concentración de 0.370 $\mu\text{g/mL}$.

Los extractos acuosos tienen un efecto mucho menor, ya que solamente se pudo observar protección contra el estrés oxidativo a la concentración más alta utilizada, de 3.33 $\mu\text{g/mL}$.

Actividad citotóxica directa de los extractos de *U. tomentosa* sobre líneas celulares tumorales humanas.

A continuación se presenta un cuadro con las dosis letales 50% de los extractos acuoso e hidroalcohólico de *U. tomentosa* sobre diferentes líneas celulares tumorales humanas.

Cuadro 1. Citotoxicidad de extractos de *U. tomentosa* sobre líneas celulares.

Línea celular	Extracto alcohólico Hojas ($\mu\text{g/mL}$)	Extracto alcohólico Corteza raíz ($\mu\text{g/mL}$)	Extracto alcohólico Madera raíz ($\mu\text{g/mL}$)	Extracto acuoso Hojas ($\mu\text{g/mL}$)	Extracto acuoso Corteza raíz ($\mu\text{g/mL}$)	Extracto acuoso Madera raíz ($\mu\text{g/mL}$)
K562 (leucemia)	958.8 \pm 93.8	497.1 \pm 71.5	1036.3 \pm 130.9	772.2 \pm 38.3	>1500	939.9 \pm 80.3
HepG2 (hígado)	490.6 \pm 110.6	226.7 \pm 12.9	717.0 \pm 63.5	732.5 \pm 266.8	>1500	>1500
H460 (pulmón)	600.2 \pm 183.2	278.1 \pm 56.8	833.7 \pm 98.4	350.9 \pm 70.7	648.1 \pm 112.6	>1500
Hep3B (hígado)	331.3 \pm 25.3	152.2 \pm 7.3	682.4 \pm 193.3	180.1 \pm 13.0	355.9 \pm 52.5	>1500
Vero (epitelial, normal)	>1500	797.5 \pm 123.6	>1500	>1500	>1500	>1500
CRL1718 (neuro)	>1500	>1500	>1500	>1500	>1500	>1500
SW620 (colon)	285.4 \pm 36.6	200.0 \pm 38.3	811.1 \pm 115.0	262.8 \pm 25.7	>1500	695.1 \pm 273.4
MCF7 (mama)	508.0 \pm 2.0	281.6 \pm 31.1	753.9 \pm 166.4	512.0 \pm 173.0	>1500	>1500
AGS (estómago)	405.1 \pm 45.3	189.6 \pm 18.9	608.9 \pm 133.6	355.8 \pm 43.1	>1500	642.5 \pm 95.3

*Esta tabla es el resultado de por lo menos 3 experimentos independientes en cada línea celular por cada extracto y a continuación se presentan las gráficas de algunos de estos experimentos representativos.

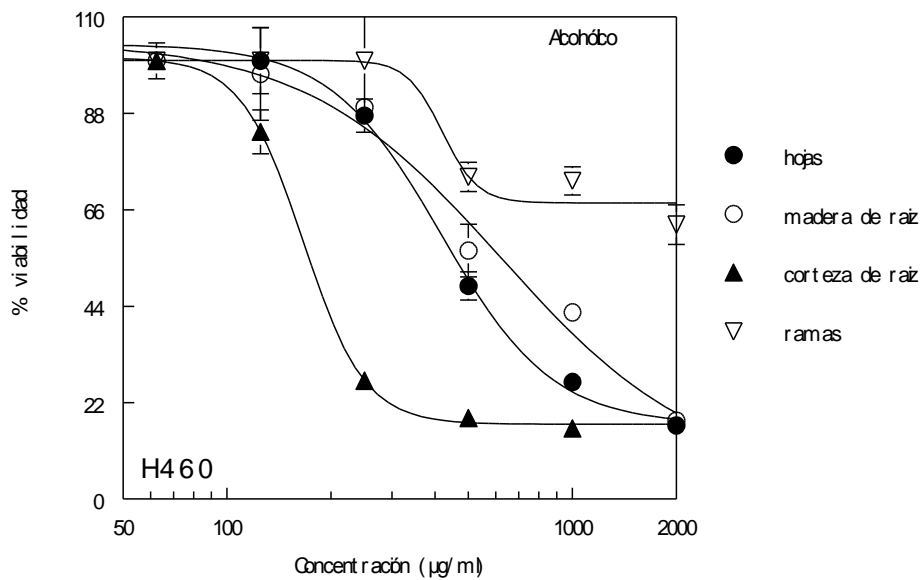


Fig. 7. Efecto citotóxico de extracto alcohólico de *U. tomentosa* sobre células tumorales de pulmón (48 hr de tratamiento).

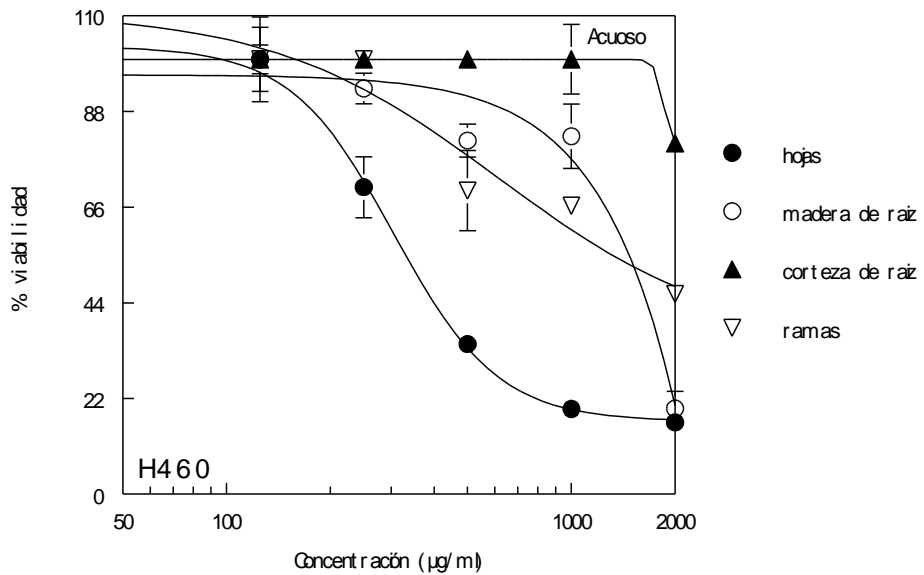


Fig. 8. Efecto citotóxico de extracto acuoso de *U. tomentosa* sobre células tumorales de pulmón (48 hr de tratamiento).

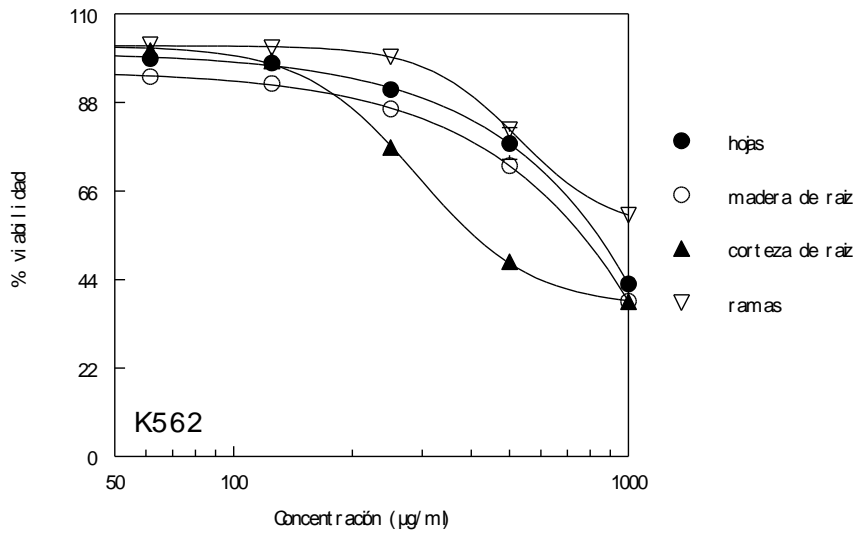


Fig. 9. Efecto citotóxico de extracto alcohólico de *U. tomentosa* sobre células leucémicas (48 hr de tratamiento).

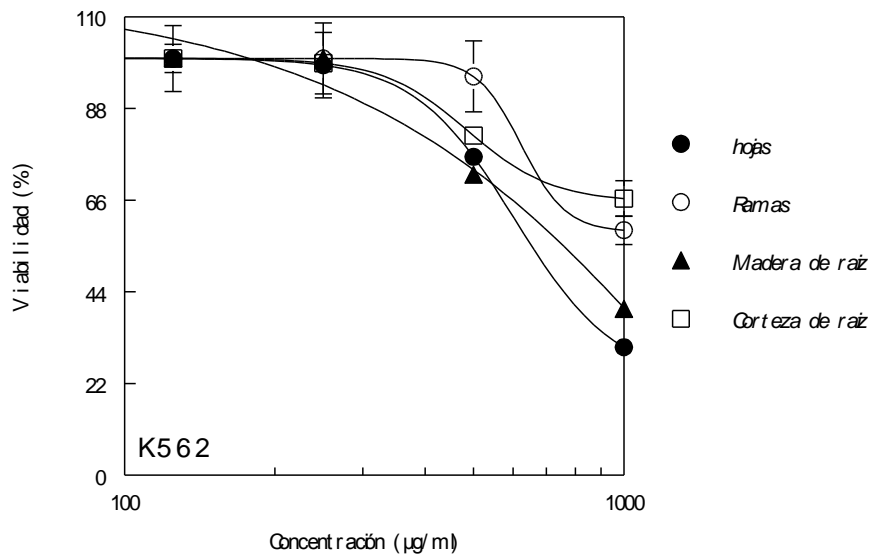


Fig. 10. Efecto citotóxico de extracto acuoso de *U. tomentosa* sobre células leucémicas (48 hr de tratamiento).

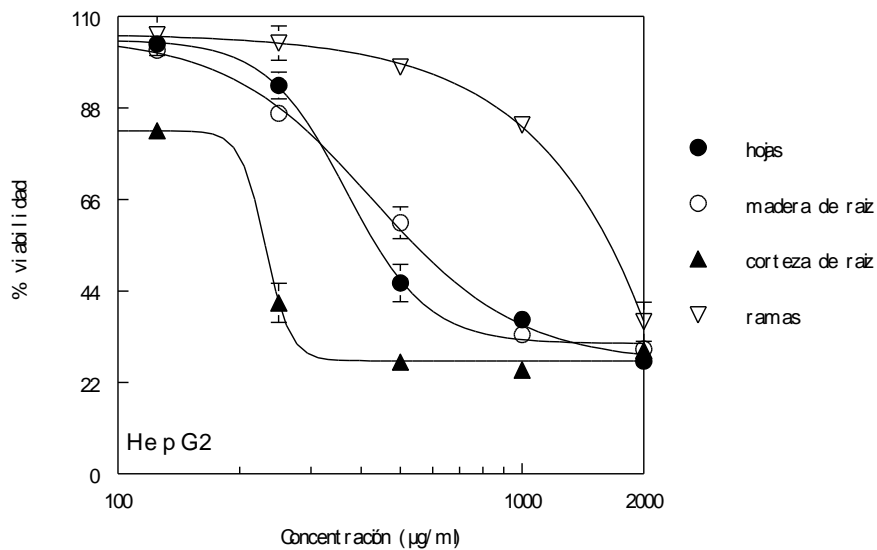


Fig. 11. Efecto citotóxico de extracto alcohólico de *U. tomentosa* sobre células de carcinoma hepático (48 hr de tratamiento).

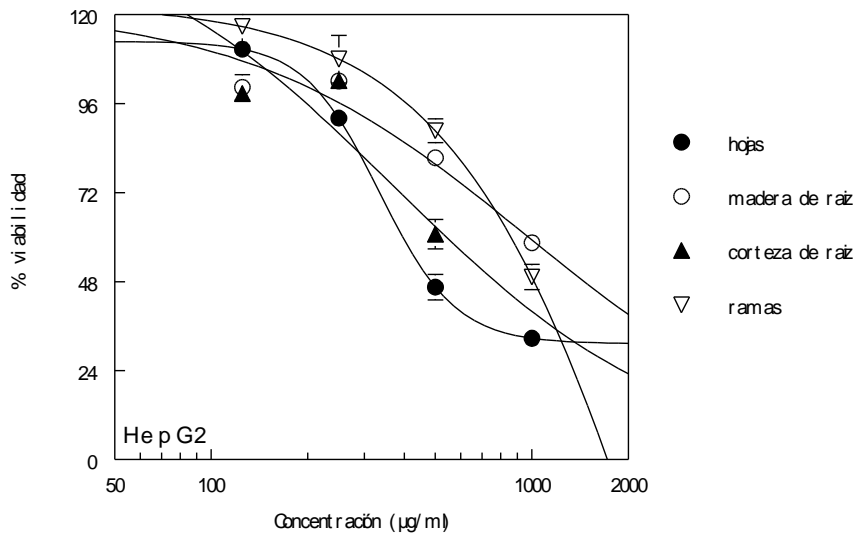


Fig. 12. Efecto citotóxico de extracto acuoso de *U. tomentosa* sobre células de carcinoma hepático (48 hr de tratamiento).

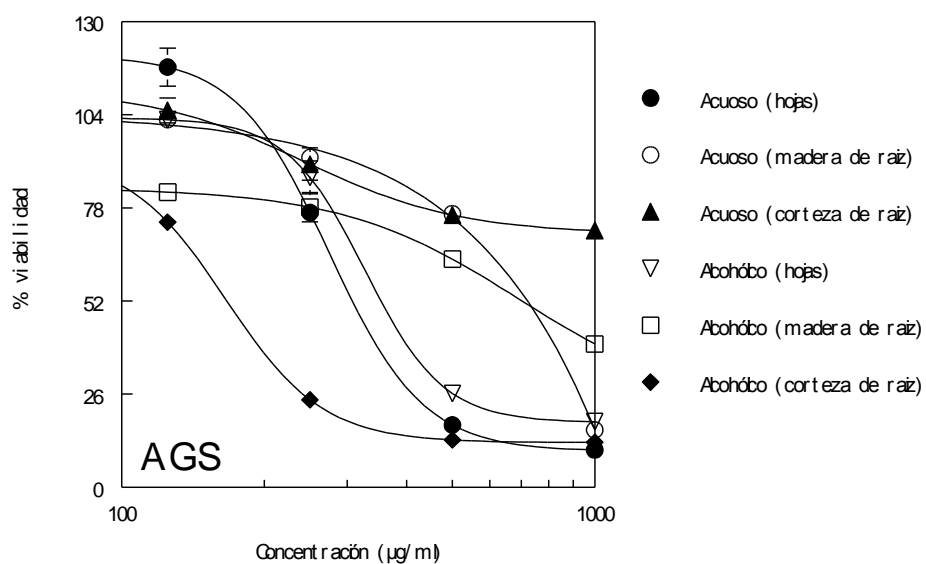


Fig. 13. Efecto citotóxico de los extractos acuoso y alcohólico de *U. tomentosa* sobre células de carcinoma gástrico (48 hr de tratamiento).

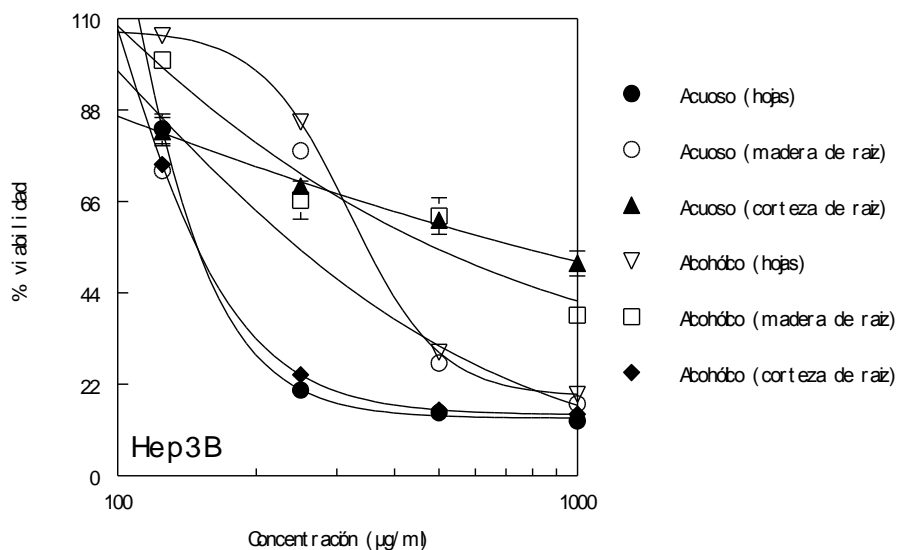


Fig. 14. Efecto citotóxico de los extractos acuoso y alcohólico de *U. tomentosa* sobre células de carcinoma hepático (48 hr de tratamiento).

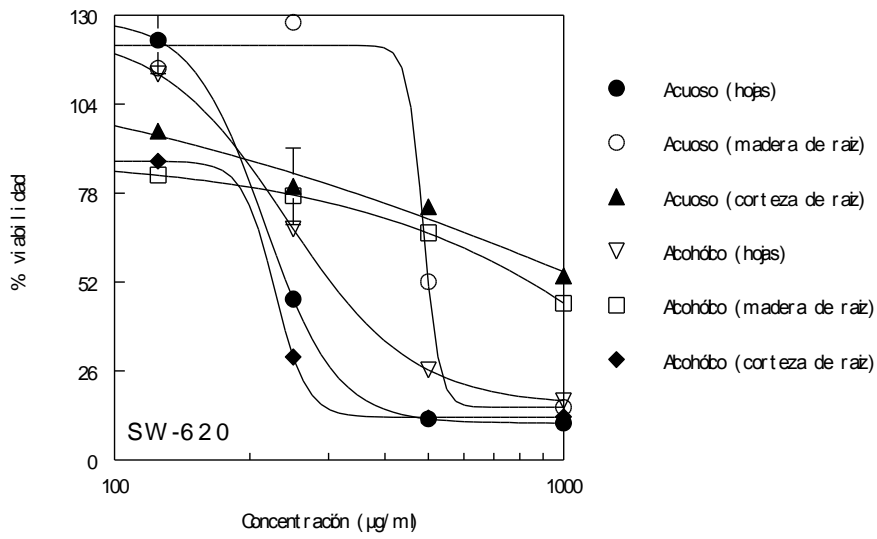


Fig. 15. Efecto citotóxico de los extractos acuoso y alcohólico de *U. tomentosa* sobre células de carcinoma de colon (48 hr de tratamiento).

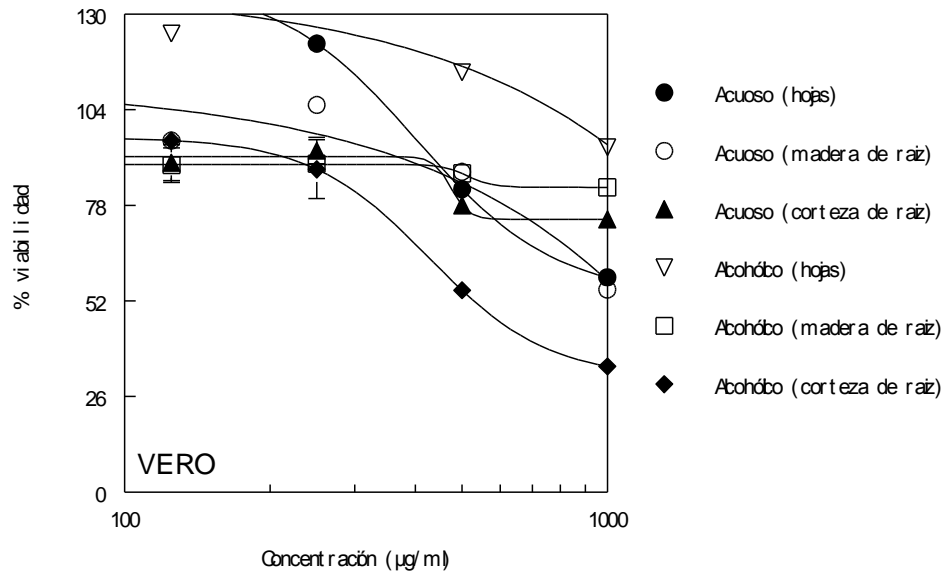


Fig. 16. Efecto citotóxico de los extractos acuoso y alcohólico de *U. tomentosa* sobre células epiteliales normales VERO (48 hr de tratamiento).

Esta parte del estudio fue realizada por la Dra. Cecilia Díaz Oreiro.

Conclusiones sobre el efecto citotóxico de los extractos de *U. tomentosa* sobre células tumorales

1. Se observa claramente que las células tumorales son más susceptibles a los extractos que las células normales VERO. La excepción son las células de neuroblastoma que resultaron sumamente resistentes al tratamiento con la planta.
2. El mayor efecto observado se obtuvo con el extracto alcohólico de la corteza de la raíz y el extracto acuoso de las hojas, por lo que una de las principales conclusiones del trabajo es que podría no hay validación del efecto del extracto acuoso de la raíz, que es la droga vegetal que se usa con fines medicinales. Por consiguiente, si se usa la corteza de la raíz, tiene más validez utilizar un extracto alcohólico. Por otra parte, en lo que respecta a la conservación de la planta, la sugerencia es que se sustituya el uso de la raíz por las hojas, ya que el extracto acuoso de las hojas resultó bastante efectivos sobre las células tumorales.
3. Algunas líneas como las de tumores de hígado (Hep3B) y estómago (AGS) son muy susceptibles al efecto de esta planta, en lo que respecta a los extractos acuosos de las hojas y alcohólicos de la corteza de raíz. Otro tumor que podría ser susceptible es el de colon. Esto nos indica que esta planta tiene un alto potencial contra tumores del sistema gastrointestinal, pero no así para la línea de leucemia mieloide crónica o para otros tumores sólidos.

4. Actividad anti-inflamatoria de los extractos de *U. tomentosa* en modelo de oreja de ratón.

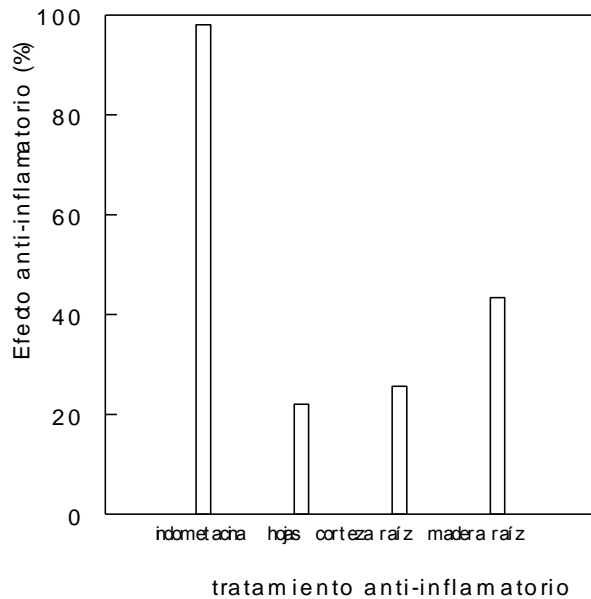


Fig 17. Efecto anti-inflamatorio de los extractos acuosos de *U. tomentosa*. Se utilizó indometacina como control positivo.

Conclusiones sobre el efecto anti-inflamatorio de los extractos de *U. tomentosa* sobre el modelo de edema en oreja de ratón

Aunque los experimentos se encuentran todavía en curso, se muestra aquí un experimento preliminar en el que puede observarse que los extractos acuosos de tres partes de la planta (hojas, madera y corteza de raíz) inducen un efecto anti-inflamatorio en este modelo animal.

Esta parte del estudio fue realizada por el estudiante de la Maestría en Ciencias Biomédicas (énfasis en Fisiología Celular) Ernesto Vargas Méndez con la colaboración de la estudiante de Biología, Carolina Ortiz Cordero.

Actividad anti-tumoral in vivo en modelo de carcinoma hepatocelular en ratas Wistar

En esta parte del estudio se realizó la estandarización del modelo tumoral en rata pero todavía no se cuenta con los resultados del efecto de los extractos de *U. tomentosa*, los cuales están en curso. Estos modelos animales llevan varios meses para desarrollarse, ya que consisten en la inducción química de la

formación de tumores primarios en hígado de ratas. Posteriormente se realizan cortes de tejido, los cuales son procesados para la determinación de marcadores tumorales específicos de proliferación celular y apoptosis y otros marcadores como ciertos receptores de factores de crecimiento que pueden estar sobreexpresados o genes supresores de tumores que pueden estar inhibidos. Esto se realiza por medio de técnicas inmunohistoquímicas. En el caso del modelo de hígado es todavía más complejo que otros modelos tumorales ya que la inducción química se complementa con una hepatectomía parcial que estimula la proliferación y desarrollo de las lesiones pre-neoplásicas y el desarrollo posterior de adenomas y carcinomas en el hígado.

Esta parte del estudio está siendo realizada por el estudiante de la Maestría en Ciencias Biomédicas (énfasis en Fisiología Celular) Ernesto Vargas Méndez.

Determinación de alcaloides presentes en los extractos de *U. tomentosa*

La otra parte en la que se está trabajando con estos extractos es la identificación de alcaloides con actividades biológicas en las diferentes muestras, ya que son posiblemente estos compuestos los responsables de la actividad anti-tumoral de los extractos. Esto se está haciendo por medio de la técnica de cromatografía de capa fina. Para esto se cuenta con patrones comerciales para los alcaloides de *U. tomentosa*: mitrafilina, isomitrafilina, uncarina C (pteropodina) y uncarina E (isopteropodina). Los patrones se encuentran estandarizados y se está realizando la identificación de los alcaloides en los extractos alcohólicos de las 3 diferentes partes de la planta. La idea sería confirmar la presencia de los alcaloides pentacíclicos en la raíz pero también en las hojas, para ver si realmente tiene validez el uso medicinal de esta parte de la planta. También sería importante detectar la presencia de los alcaloides en los extractos acuosos, que es realmente la forma en que esta planta se utiliza con fines medicinales, ya que el uso tradicional es de una decocción de la raíz. Posteriormente se hará la cuantificación de los diferentes alcaloides por medio de la técnica de HPLC, utilizando los mismos estándares comerciales.

La importancia de este estudio estaría en la validación del uso tradicional de la planta que crece en Costa Rica, ya que todos los estudios encontrados en la literatura son de la planta que crece en Perú y como es bien conocido en el entorno científico del tema, las plantas que crecen en diferentes partes del mundo presentan, muchas veces, grandes variaciones en la presencia de metabolitos secundarios, como podrían ser estos alcaloides. Además podrían existir quimiotipos de *U. tomentosa*, con diferente composición química en sus metabolitos secundarios. Por otra parte, la presencia de alcaloides tetracíclicos con actividades antagonistas de los alcaloides pentacíclicos, también se han reportado en la planta que crece en Perú, lo cual complica aún más el estudio de los componentes bioactivos de esta planta.

Otros resultados tangibles:

1. Tesis de Maestría en Farmacología (Posgrado en Ciencias Biomédicas, UCR) de la estudiante salvadoreña becaria del DAAD Lizeth Meléndez Navas, la cual será presentada en enero del 2010.
2. Parte de la tesis de Maestría en Fisiología Celular (Posgrado en Ciencias Biomédicas, UCR) del estudiante Ernesto Vargas Méndez, la cual será presentada en junio del 2010.
3. Pasantía del estudiante Ernesto Vargas Méndez a finales del 2007 en el Laboratorio de Farmacia de la Universidad de San Paulo, Brasil, financiada por la Red de Macrouiversidades de América Latina y el Caribe y el Sistema de Estudios de Posgrado de la UCR. En este caso la pasantía consistió en una capacitación en los procesos para desarrollar el modelo animal de cáncer de hígado.
4. Pasantía del estudiante Ernesto Vargas Méndez en julio del 2009 en el Departamento de Inmunología del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM, México. En este caso la pasantía consistió en la capacitación para el desarrollo de técnicas in vivo para el estudio de los procesos inflamatorios y de quimiotaxis. Esta pasantía fue financiada como parte de un proyecto de ANUIES-CSUCA otorgado a la Dra. Cecilia Díaz Oreiro a inicios del 2009.

Actividades biológicas de extracto alcohólico de la raíz de *Smilax vanilliodora*

Los investigadores del ITCR recolectaron la muestra de la planta (Vaucher No. Alonso Quesada 2757, CR258166, del Herbario del Museo Nacional de Costa Rica).

La muestra fue secada y el señor Thomas Hidalgo de PRONAPLAMED preparó el extracto hidroalcohólico, que fue suministrado al grupo de investigación de la UCR.

En este caso, los resultados son preliminares ya que el extracto se obtuvo este año y no hubo mucho tiempo para trabajar con él debido principalmente al hecho de que debía secarse primero en rotavapor y luego en liofilizador. En esos momentos no teníamos disponible un liofilizador funcionando apropiadamente, por lo que el período en que se trabajó con el extracto fue limitado. Por esta razón quedan pendientes varias actividades biológicas que deben realizarse, tanto in vitro como in vivo.

Con respecto a las pruebas biológicas, se realizaron las siguientes:

- d. actividad anti-oxidante in vitro
- e. actividad citotóxica directa sobre líneas celulares tumorales humanas
- f. pruebas de toxicidad in vivo en ratones

Las actividades anti-oxidante y citotóxica fueron realizadas por una estudiante de intercambio de Hamburgo, Alemania, que trabajó bajo la supervisión de la MSc. Gabriela Azofeifa Cordero y la Dra. Silvia Quesada Mora. También participó en la realización de los experimentos la Sra. Lorena Torres, asistente de investigación del Laboratorio de Bioquímica de la Escuela de Medicina.

Actividad anti-oxidante in del extracto hidroalcohólico de *S. vanilliodora*.

Se hicieron varios experimentos para determinar la IC₅₀ del efecto antioxidante del extracto de *S. vanilliodora*. La IC₅₀ corresponde a un valor de 196.0 µg/mL.

Actividad citotóxica directa de los extractos de *U. tomentosa* sobre líneas celulares tumorales humanas.

Se utilizaron 3 líneas celulares, dos tumorales y la línea no-tumoral VERO. Se utilizaron las líneas de carcinoma de colon SW-620 y de estómago AGS. Las LD₅₀ para estas células fueron: 116.6 µg/mL para las VERO, 74.1 µg/mL para las SW-620 y 128.8 µg/mL para las AGS, es decir que las células de colon fueron más susceptibles al efecto del extracto que las células de estómago y las células no-tumorales VERO.

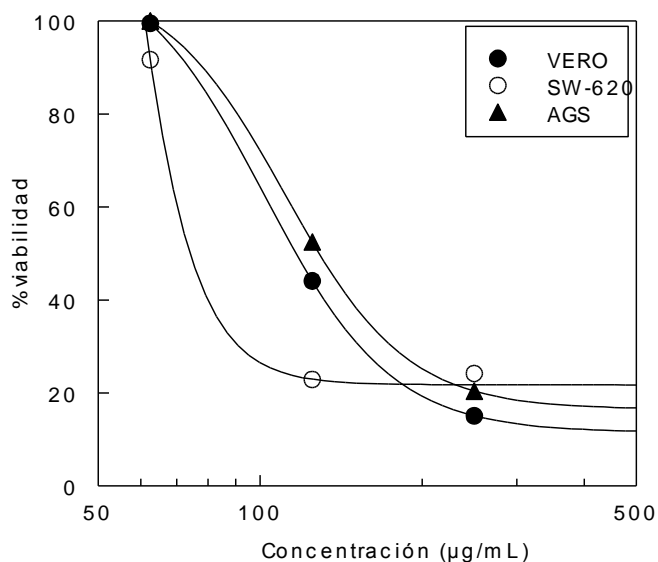


Fig 18. Efecto citotóxico directo del extracto hidroalcohólico de *S. vanilliodora* sobre 3 líneas celulares (48 horas de tratamiento).

Toxicidad in vivo del extracto hidroalcohólico de *S. vanilliodora*.

Esta parte del estudio se encuentra todavía en curso y está siendo realizada por la MSc. Mildred García González y su grupo de investigación. En este caso esta prueba es imprescindible ya que la toxicidad aguda de un extracto alcohólico de *Smilax vanilliodora* no se encuentra reportado en la literatura y debe descartarse un efecto tóxico directo en los animales antes de validar sus usos medicinales.

Otros resultados tangibles:

Paralelamente se desarrolló un estudio que fue publicado en el 2008 y que forma parte de las actividades de investigación desarrolladas por el grupo de trabajo de la UCR en el contexto de este proyecto, sobre actividades farmacológicas de extractos acuosos de diferentes plantas del género *Smilax* (**García-González, Mildred; Díaz, Cecilia y Villalobos, Róger. Estudio toxicológico y farmacológico de los extractos hidroalcohólicos de algunas especies de *Smilax* de Centroamérica. Revista de Farmacoterapia 2008; 8 (1) 49-57).**

Componente 4

Transformación y comercialización

Responsables: Todos los participantes del proyecto, coordinado por Ileana Moreira, Elizabeth Arnáez, Juan Manuel Cordero, Jorge Loaiza y Mairim Carmona

Se realizaron trabajos con los miembros de las comunidades para la selección del establecimiento del centro de acopio en cada zona, se revisó las necesidades de infraestructura y materiales.

Con los miembros de las comunidades se iniciaron trabajos para la selección del establecimiento del centro de acopio en cada zona, así como determinar necesidades de infraestructura y materiales.

Se construyó un secador en la comunidad de Cuestillas (Asociación de Mujeres Ecológica de Cuestillas (San Carlos), con el fin de que tengan la infraestructura necesaria para el secado de las plantas medicinales cultivadas, para la posterior elaboración de productos (Fig. 1).



Fig. 1 Construcción de secadores solares

Se han establecido reuniones con diferentes empresarios interesados en comprar materia prima o productos. Estos empresarios han visitado las asociaciones del proyecto durante las giras programadas (Fig. 2).

Se tienen ubicados algunos compradores de plantas de ipecauana, para esto se han mantenido reuniones con diferentes empresas como Agroproteg y Gruposerfin, empresas indúes, francesas y alemanas, entre otros. También se han realizando gestiones para la ubicación de compradores de las diferentes especies o sus potenciales productos.



Fig. 2: Visita de empresarios

De las raíces de uña de gato se sacan extractos para la elaboración de confites y para la venta del extracto alcohólico (Fig. 3)



Fig. 3: Extracción de raíces laterales de uña de gato para la elaboración de extractos

Se ha logrado vender hojas de uña de gato en grandes cantidades al laboratorio La Fuente- Costa Rica (Fig 4).



Fig. 4 Poda de hojas para la venta a laboratorios de productos naturales.

Además de la venta de productos a nivel local, se aprovecha la realización de eventos como ferias del agricultor, ferias científicas y otras para la presentación y venta de los productos elaborados (Fig. 5).



Fig. 4: Exposición y venta de productos en diferentes eventos

Componente 5

Programa de capacitación y preparación de materiales:

Responsables: Mairim Carmona, Fiorella Donato, Elizabeth Arnáez, Ileana Moreira. Todos los miembros del proyecto participaron.

1. La primera actividad fue una reunión con las diferentes agrupaciones del proyecto donde se les presentó el proyecto de investigación y se comentó sobre la participación de cada organización, en donde el objetivo final será la “Transformación y comercialización”, para alcanzar productos tales como:

- a. Obtención de productos de calidad y en suficiente cantidad. Esto es, las comunidades venderán moliendas
- b. Gestionar la formación de empresas productivas en las comunidades

Con ese propósito se realizaron las siguientes actividades:

- Visitas de campo: conocer grupos, condiciones socio-económicas y ambientales
- Talleres: diagnóstico de necesidades de capacitación
- Taller sobre tema de relaciones humanas y comunicación asertiva
- Encuesta general por grupo
- Elaboración de instrumento para recolección de información socio-económica

El diagnóstico de necesidades de capacitación se llevó a cabo un taller en San Carlos el 23 de marzo y el 13 de abril del 2007 con los grupos de Guápiles (Fig. 1).

Algunos de los productos fueron:

Necesidades de Capacitación detectadas

Esperanza Verde y El Millón, detalladas a continuación en orden de prioridad:

- Manejo de especies/ Finca Integral
- Emprendedurismo y organización empresarial
- Turismo Rural
- Elaboración de proyectos para articular apoyos institucionales y logros organizativos

Necesidades de Capacitación Detectadas

SAN CARLOS

- Preparación a nivel académico: inglés, computación

- Procesamiento de productos (cremas, jabones, champús)
- Alianza con otros grupos organizados
- Mercadeo
- Relaciones humanas y autoestima personal
- Motivación y fortalecimiento organizativo
- Gestión de financiamiento y recursos de trabajo



Fig 1. Taller sobre necesidades de capacitación, grupos de San Carlos y Guápiles respectivamente. 2007

2. II Taller sobre relaciones interpersonales; brindado por la psicóloga Catalina Espinoza del CEDA-ITCR (responsables Mairim Carmona, Ileana Moreira y Elizabeth Arnáez).

Realizado el 19 de octubre del 2007 en la sede del ITCR-San Carlos, dirigido a los grupos organizados de la zona (Fig. 2).

Con ello se inició la capacitación con un TALLER RELACIONES HUMANAS, cuyo objetivo fue:

- Proporcionar conocimientos y habilidades mínimas para mejorar las relaciones interpersonales por medio de temáticas como Comunicación Asertiva y Respeto Mutuo.



Fig. 2: Taller sobre relaciones humanas

Comentarios Generales:

Los grupos en las dos zonas de trabajo, cuentan con niveles de organización y experiencia en el manejo y aprovechamiento de los recursos con componentes bioactivos, muy diferentes.

En el Atlántico se cuenta con infraestructura, conocimientos y experiencia en la actividad, no obstante, se observan condiciones sociales y organizativas que dificultan su desarrollo, aspectos que deben ser estudiados y profundizados como actividades del proyecto para el próximo año, con el propósito de constituir empresas productivas comunitarias.

En San Carlos, la organización y aprovechamiento de los recursos de interés para el proyecto están en una etapa incipiente. No obstante, cabe destacar que se observan condiciones sociales y organizativas positivas y ventajosas. Aspectos que también deben ser estudiados para facilitar la formación de empresas productivas comunitarias.

3. También se desarrollaron días de campo, en los cuales se entrenaban a los agricultores sobre: técnicas de propagación vegetativa y manejo de los cultivos.



Fig.3 Días de campo

4. Se realizó una visita a la Finca La Esperanza del señor Anselmo Rodríguez en Paracito de Moravia, el jueves 24 de julio. Asistieron las mujeres de la Asociación AMEC-San Carlos, como se nota en la siguiente figura, como una finca modelo (Fig. 4).



Fig 4:. Visita a Finca La Esperanza de Anselmo Rodríguez

5. Estudiantes de trabajo comunal universitario (TCU-UCR), han colaborado con las comunidades del proyecto en la preparación del terreno siembra de plantas de hombre grande, raicilla y zarzaparrilla y capacitaciones sobre el uso de plantas medicinales, higiene, etc, en las comunidades de El Millón, El Zota, Cuestillas y GEMA., con la coordinación de la MSc. Mildred García (UCR) (Figs. 5 y 6).



Fig. 5: Trabajo de campo realizado por estudiante del TCU-UCR



Fig. 6: Capacitaciones a grupos, realizadas por estudiantes de TCU-UCR

6. Se elaboraron panfletos y banners para ser distribuidos y presentados en diferentes eventos científicos. Además se le entregó a cada comunidad un banner con el nombre del proyecto el cual se ubicó en las principales plantaciones del proyecto (ver archivos adjuntos).

7. Se llevó a cabo un taller de capacitación sobre Herborización (Figs. 7 y 8). Realizado el viernes 21 de noviembre del 2008 en la Sede del ITCR en San Carlos, a las mujeres del grupo AMEC y GEMA. Fue impartido por el biólogo Alonso Quesada del Herbario Nacional (ver programa en el anexo adjunto). Para el 20 de febrero del 2009 se realizó el mismo taller en las comunidades de Guápiles. Este aspecto es importante porque cada comunidad debe tener un herbario de las plantas con las que trabajan, además deben conocer los requisitos establecidos por el Herbario Nacional de Costa Rica acerca de las técnicas de colecta, toma de datos y envío de información para la confección de los “vaucher” respectivos, como lo solicita el Ministerio de Salud y Tránsito.



Fig.7: Taller sobre elaboración de herbarios, San Carlos. 2008



Fig.8 Taller de herborización en la Zona Atlántica de Costa Rica. 2009

8. Se hizo un banner con información del proyecto, el cual fue expuesto en la semana de biotecnología de la Escuela de Biología en el ITCR, Cartago, del 17 al 21 de setiembre del 2007.

9. Se presentó un banner del proyecto en el III Encuentro de investigadores , realizado del 5 al 6 de noviembre del 2008 en la Sede Central del ITCR en Cartago, además se brindó una conferencia de las actividades del proyecto, impartida por la Dra. Ana Cecilia Díaz y la MSc. Elizabeth Arnáez.

10. Presentación de una ponencia sobre el proyecto en el XI Congreso de la Sociedad Mesoamericana para la Biología y Conservación, del 26 al 30 de noviembre del 2007 en Cuernavaca. México.

11. Presentación del proyecto en el taller sobre Recursos Bióticos realizado el martes 11 de noviembre, en la Universidad de El Salvador en San Salvador, dentro del marco del XII Congreso de la Sociedad Mesoamericana para la Biología y Conservación, El Salvador, del 10 al 14 de noviembre del 2008.

12. Participación en Feria de la UCR, del 2 al 5 de abril del 2009

13. Presentación del proyecto en el programa Universidad y Sociedad de Radio Universidad en agosto del 2007.

14. Se realizó un curso sobre confitería, dado por las mujeres de la Asociación del Millón-Guápiles a las mujeres del grupo AMEC- San Carlos, esta actividad se llevó a cabo el martes 11 de diciembre del 2007 en la comunidad del Millón- Guápiles.

15. Se llevó a cabo un Taller sobre emprendedurismo, “GENERANDO HERRAMIENTAS PARA EL DESARROLLO DE LA PEQUEÑA EMPRESA”, ofrecida por el Lic. Ronald Brenes de la Escuela de Administración de Empresas del ITCR, el viernes 5 de junio del 2009 en San Carlos y el 19 de junio de este año, en Colinas de Guápiles (Figs. 9 y 10).



Fig.9 Taller sobre emprendedurismo en San Carlos



Fig. 10 Taller sobre emprendedurismo en Guápiles

16. Del 18 al 20 de noviembre Encuentro de los grupos en San Pablo de León Cortés, denominado “Intercambio para la articulación de iniciativas entre comunidades rurales de Costa Rica” (Figs. 11 y 12) (Ver programa adjunto)



Fig 11: Participantes en el Intercambio de grupos del proyecto.



Fig. 12: Presentación de resultados de los participantes en el intercambio de grupos del proyecto

Resultados del encuentro:

Características de cada organización:

Asociación Proyectos Alternativos para el Desarrollo Social (PROAL) HoloSalud (San Marcos de León Cortés; sitio donde se realizó el intercambio)

- Fundada el 16 de agosto de 1995
- Protección al ambiente
- Defensa del agua como derecho humano y público
- Producción: respeto de la madre Tierra

Calidad de Vida

- Producción
- Salud
- Naturaleza

Holo-Salud

- Terapia floral
- Baño vapor
- Masajes
- Re-educación para la convivencia y la hermandad

Fortalezas y Debilidades

- Compañerismo
- Unión
- Apoyo de organizaciones nacionales e internacionales
- Autoestima personal y grupal
- Instalaciones
- Alegría- convivir
- Visión: Holística + SALUD
- Conocimiento: - Tradicional
 - Técnico → * INA
 - * CUNA: masajes
 - * FUNDES: aromaterapia, esencias florales
 - * Productost: champú, tinturas, ungüentos

Holo-Salud

Debilidades

- Plan mercadeo
- Lugar-sede (relativo) oportunidad
- Promoción o publicidad
- Alianzas estratégicas: - Universidades
- Turismo
- Infraestructura – edificio
- Equipo de trabajo + maquinaria
- Jardín p.m. + Invernadero
- Secador
- Licencias del Ministerio de Salud

Asociación de Mujeres Naturalistas de Las Colinas (Guápiles)

- Se fundó el 24 de octubre del 2002 con cédula jurídica y personería, son 10 socias
- Elaboramos diferentes clases de champú, ungüentos, cremas, desinfectante y jabón líquido
- Fortaleza: - Cuentan con un laboratorio
 - Donaciones en equipo por el IMAS, Fundecooperación
 - Capacitaciones de diferentes instituciones
 - Perseverancia del grupo
 - Materia prima con plantas medicinales
 - Contamos con mercadeo por medio de ASIREA etiquetado

Debilidades

- Mucha competencia de marcas de champú
- Falta de publicidad del producto
- Desmotivación de algunas compañeras de parte de los maridos
- Plantas que se pierden por el mal tiempo o se las roban
- Caminos en mal estado y falta de transporte para sacar el producto
- Hemos salido adelante con el apoyo que nos están brindando el ITCR, laboratorio ambiental
- Más capacitaciones en biología, ASIREA y otros.

Asociación de mujeres Asentamiento El Millón para el desarrollo social y agrícola (AMANDES) (Guápiles)

- La asociación se fundó el 12 de mayo de 1999 como un proyecto de plantas medicinales variadas y con la ayuda de OMG e instituciones no gubernamentales
- Desde hace 5 años reciben el apoyo del TEC, UNA, UCR y otros
- Se dedican a la elaboración de confitería y extractos a partir de la materia prima de la planta *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y a la plantación de raicilla, hombre grande y zarzaparrilla

Fortalezas

- Cuentan con excelente material humano
- Deseos de superación
- Responsabilidad
- Apoyo de la universidades
- Tienen terreno, instalaciones y material de trabajo
- Apoyo de la comunidad y de nuestra familia

Debilidades

- Mucha falta de recursos económicos
- Falta de suficiente mercado para nuestros productos
- Problemas de adaptación y reproducción de las plantas
- Problemas con algunas materias primas en el transporte y obtención

Qué hacemos para salir adelante?

- Mantener la unión y colaboración del grupo
- Ser constantes
- Amar lo que hacen y tener mucha fe en ellas mismas
- Trabajar en equipo y sobre todo agradeciendo el apoyo de los muchachos (as) del TEC

Asociación Esperanza Verde (Colinas-Guápiles)

- Se fundó en el 2000
- Elaboran productos con plantas medicinales, en el caso de la asociación con uña de gato : melcochas, popis, confites y té
- Gracias al ITCR y a FundeCooperación que los han apoyado
- Reciben apoyo de ASIREA en las ventas
- Se trabaja en la ampliación del mercado
- Se está dando más información

- Fortalezas: - Cuentan con un laboratorio
 - Con la materia prima
 - Tenemos la mano de obra
 - Hay personal capacitado para el trabajo
- Debilidades: - Falta de mercado
 - Más divulgación del producto
 - Más apoyo en la presentación del producto
 - Más ferias para presentar el producto

Jóvenes Unidos Desarrollando Oportunidades (JUDO) (Colinas-EI Zota-Guápiles)

- Fundado el 15 de agosto del 2009
- Están desarrollando proyectos en pro de la comunidad y del grupo
- Hacen lombricompost
- Creación de un centro de acopio
- Cultivo de raicilla

- Fortalezas: - Jóvenes con disposición de trabajar
 - Tener el apoyo de de personas con experiencia que han hecho contacto con instituciones

- Debilidades: - Escases de recursos económicos
 - Poco tiempo
- Trabajar de forma organizada, de modo que puedan generar recursos para sustentar proyectos que surgen

AMPALEC (Colinas-EI Zota-Guápiles)

- Misión: Uso racional de los recursos no maderables del bosque tropical
- Proyectos: - Cultivo de plantas nativas
 - Artesanías en mimbre
 - Cultivo de tejidos vegetales
 - Agroecoturismo científico
 - Agricultura orgánica

BIOFETILIZER- Finca Las pailas (Colinas-Guápiles)

- Nació en 1997 cuando se descubrió un yacimiento de turba en mi finca
- En un inicio se vendió materia prima
- En el 2004 comenzaron el proceso de darle valor agregado y el proceso de inscripción del producto
- Fortaleza: Contar con una materia prima de excelente calidad
- Debilidad: Desconocimiento del producto

Grupo Ecológico de Mujeres del Abanico (GEMA) (El Abanico-San Carlos)

- Se fundó en 1995
- Se dedican a la siembra de plantas medicinales
- Para salir adelante han perseverado, manteniéndose más unidas a pesar de muchos obstáculos que se han presentado en el camino
- Fortalezas: - Capacitaciones
 - Secadores solares
 - Nuestra unión
 - Contar con nuestra siembra
 - Planta de proceso
 - Permiso del Ministerio de Salud
- Debilidades: - No contar con el registro del producto
 - No contar con un secador apto para el invierno
 - No tener transporte
 - No tener más mercados
 - Bajos recursos económicos

Asociación de Mujeres Naturalistas de Las Colinas (Guápiles)

Necesidades

- Necesitamos una computadora
- Agrandar el laboratorio
- Una refrigeradora para guardar la materia prima para la crema, papaya, zanahoria, pepino, extracto de plantas, una romana, pirex
- Materia prima
- Financiamiento

Estrategias

- Seguir comercializando el producto mejorando cada día y una buena presentación y calidad del mismo

Coordinación

- Uniendo conocimientos, compartiendo ideas, ayudándose e intercambiando productos

Asociación Proyectos Alternativos para el Desarrollo Social (PROAL) HoloSalud (San Marcos de Tarrazú)

Necesidades

- Mesa industrial
- Licuadora industrial
- Marmita 25L y otros
- Mejora el equipo, cocina, mobiliario, paños, sábanas, etc.
- Apoyo económico para salir a capacitarnos
- Mejorar el invernadero, camas de siembra y material de siembra
- Envases para los productos elaborados

Estrategias

- Solicitar apoyo de otros grupos con sus experiencias (permisos sanitarios, certificación)
- Presentar proyectos a entidades gubernamentales y no gubernamentales
- Alianzas con universidades
- Trabajar para seguir conservando la hermandad que hemos logrado hasta ahora

Coordinación

- Capacitaciones
- Intercambios
- Secado, jabones, siembra medicinales, hortalizas
- Disposición para compartir con los grupos interesados en lo que hacemos

Asociación de mujeres Asentamiento El Millón para el desarrollo social y agrícola (AMANDES) (El Millón-Guápiles)

Necesidades

- Reparación de la secadora
- Ampliación de las instalaciones
- Gestionar permisos y códigos
- Más capacitaciones
- Invernadero
- Más seguridad social

Estrategias

- Realizar otras actividades
- Gestionar ayudas con instituciones

- Promocionar más nuestros productos
- Hacer productos más innovadores
- Producir más y mejor cantidad de productos
- Buscar apoyo en la búsqueda de opciones de mercadeo

Coordinación

- Coordinar redes entre grupos
- Compartir las diferentes experiencias y conocimientos para mantener la comunicación
- Capacitaciones entre grupos

Jóvenes Unidos Desarrollando Oportunidades (JUDO) (El Zota-Colinas-Guápiles)

Necesidades

- Falta de un medio económico que responder a las necesidades del grupo
- En algunos proyectos la estructura que tenemos no es la mejor para trabajar
- Necesitan ser apoyados por instituciones para tener una mejor orientación en los proyectos y así trabajar con una mejor expectativa
- Necesitan lograr una alianza entre grupos para organizarse turísticamente

Estrategias para salir adelante

- Organizarse para generar recursos propios
- Tratar de solucionar de una forma u otra cualquier problema
- Buscar el apoyo de instituciones que respalden y brinden las capacitaciones necesarias para el desarrollo del grupo

Coordinación entre grupos

- Intercambiar experiencias entre grupos de diferentes comunidades
- Recomendar unos a otros de los servicios que cada grupo pueda brindarles
- La unión constante de los grupos que buscan diferentes o los mismos ideales

AMPALEC (El Zota-Colinas-Guápiles)

- Necesidades: - Definir o determinar el producto turístico de nuestra comunidad y los mecanismos de comercialización del mismo
- Capacitación
- Estrategia: Trabajar unidos como comunidad y aprovechar todo el apoyo que les puedan brindar
- Cómo ayudarnos: Crear mecanismos de comunicación para compartir experiencias y apoyarse inclusive en mercadeo

BIOFETILIZER (Colinas-Guápiles)

Necesidades

- Que las universidades conozcan la importancia de nuestro producto y las ventajas que tiene y que nos puedan ayudar a conocer
- Que las universidades puedan observar el proceso de producción para ver como mejorarlo

Estrategias

- Que entre todos los grupos del país se unan para comprar un carro que recorra todo el país y que en lugares céntricos hayan lugares donde se vendan los productos de las MIPYMES

-

Grupo Ecológico de Mujeres del Abanico (GEMA)

- Necesidades: - Registro de productos
 - Secador apto para el invierno
 - Un medio de transporte
 - Contar con un invernadero y un laboratorio
 - Equipo y utensilios
 - Capacitación
- Estrategias para salir adelante: - Ser perseverante
 - Solicitar ayuda a diferentes instituciones

Entre los grupos se podría coordinar para ayudarse realizando convivios e intercambiando ideas

17. Visitas de posibles compradores a las comunidades.

18. Participación en el Simposio sobre Conservación y Manejo de Recursos Vegetales en América Latina. 3,4 de diciembre 2009. UCR, Costa Rica, con una charla magistral sobre Avances en el estudio de plantas medicinales en Costa Rica y un banner titulado Manejo y conservación de plantas con componentes bioactivos.

19. Participación con la ponencia: "Manejo de sistemas agroforestales usando plantas con potencial bioactivo" en V International Congress of Ethnobotany ICEB 2009, San Carlos Bariloche 21 al 24 de Setiembre,2009. Argentina.

20. En los archivos contamos con los diferentes materiales generados en el proyecto.

21. Se cuenta además con fotografías y presentaciones en power point de las diferentes actividades realizadas

Cumplimiento del plan de difusión

1. La M. Sc Alvarenga asistió al curso de capacitación: “Aspectos Teórico Prácticos del Cultivo de Células en Biorreactores. Que se efectuó del 7 al 12 de agosto del 2007 en el Centro de Desarrollo de Productos Bióticos., en Morelos, Mexico.

2. Se presentó al Ministerio de Relaciones Exteriores el proyecto de Cooperación técnica: “Aplicación de la biotecnología para el aumento de la competitividad del sector agroindustrial de Costa Rica”, en el marco del Programa Mexicano de Cooperación para el Desarrollo, presentado como parte de las actividades de capacitación del CENIBiot, participan varios proyectos específicos de la Universidad de Costa Rica y del Instituto Tecnológico en este último se presentó el proyecto: “Cultivo de células vegetales de la “uña de gato” (*Uncaria tomentosa*), para la bioprospección de metabolitos secundarios de interés farmacológico, agrícola e industrial”. Estos dos últimos se desarrollan en el marco del proyecto CENIBiot. Tienen como finalidad el escalamiento a nivel industrial de metabolitos secundarios, con este propósito se iniciará el proyecto: Obtención a escala comercial de un extracto hidroalcohólico de Uña de Gato (*Uncaria tomentosa*) con concentraciones conocidas de alcaloides (CENIBiot-VitroPlant-ITCR-UCR), bajo la coordinación de la MSc. Silvana Alvarenga.

3. Asesoría técnica y capacitación del Dr. Rodríguez-Monroy en el CEPROBI, Mexico y en el CIB del ITCR, en el 2009, sobre el uso de biorreactores.

4. Tesis de Maestría en Farmacología (Posgrado en Ciencias Biomédicas, UCR) de la estudiante salvadoreña becaria del DAAD Lizeth Meléndez Navas, la cual será presentada en enero del 2010, bajo la supervisión de la Dra. Cecilia Díaz. Trabajó el objetivo relacionado con la actividad anti-oxidante *in vitro* de los extractos de *U. tomentosa* determinado por medio de la técnica de DPPH, este estudio fue realizado por la estudiante de la Maestría en Ciencias Biomédicas (énfasis en Farmacología) Lizeth Meléndez Navas bajo la supervisión de la MSc. Gabriela Azofeifa Cordero y la Dra. Silvia Quesada Mora, del laboratorio de Bioquímica de la Escuela de Medicina.

5. Tesis de Maestría en Fisiología Celular (Posgrado en Ciencias Biomédicas, UCR) del estudiante Ernesto Vargas Méndez, bajo la supervisión de la Dra. Cecilia Díaz. Este estudiante de la Maestría trabajó con la colaboración de la estudiante de Biología, Carolina Ortiz Cordero, quienes están realizando experimentos con el efecto anti-inflamatorio de los extractos de *U. tomentosa* sobre el modelo de edema en oreja de ratón y actividad anti-tumoral *in vivo* en modelo de carcinoma hepatocelular en ratas Wistar la cual será presentada en junio del 2010.

6. Pasantía del estudiante Ernesto Vargas Méndez a finales del 2007 en el Laboratorio de Farmacia de la Universidad de San Paulo, Brasil, financiada por la Red de Macrouiversidades de América Latina y el Caribe y el Sistema de Estudios de Posgrado de la UCR. En este caso la pasantía consistió en una capacitación en los procesos para desarrollar el modelo animal de cáncer de hígado, bajo la supervisión de la Dra. Cecilia Díaz.

7. Pasantía del estudiante Ernesto Vargas Méndez en julio del 2009 en el Departamento de Inmunología del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM, México. En este caso la pasantía consistió en la capacitación para el desarrollo de técnicas in vivo para el estudio de los procesos inflamatorios y de quimiotaxis. Esta pasantía fue financiada como parte de un proyecto de ANUIES-CSUCA otorgado a la Dra. Cecilia Díaz Oreiro a inicios del 2009.

8. Las actividades anti-oxidante y citotóxica fueron realizadas por una estudiante de intercambio de Hamburgo, Alemania, que trabajó bajo la supervisión de la MSc. Gabriela Azofeifa Cordero y la Dra. Silvia Quesada Mora. También participó en la realización de los experimentos la Sra. Lorena Torres, asistente de investigación del Laboratorio de Bioquímica de la Escuela de Medicina, bajo la supervisión de la Dra. Cecilia Díaz.

9. García-González, Mildred; Díaz, Cecilia y Villalobos, Róger. Estudio toxicológico y farmacológico de los extractos hidroalcohólicos de algunas especies de *Smilax* de Centroamérica. Revista de Farmacoterapia 2008; 8 (1) 49-57. Paralelamente se desarrolló este estudio que fue publicado en el 2008 y que formó parte de las actividades de investigación desarrolladas por el grupo de trabajo de la UCR en el contexto de este proyecto, sobre actividades farmacológicas de extractos acuosos de diferentes plantas del género *Smilax*.

10. Arnáez, E. *et al.* 2007. Diversificación de sistemas agroforestales, mediante el fomento en asociaciones de agricultoras(es), de la producción de plantas con componentes bioactivos de la región Huetar Norte y Atlántica de Costa Rica con el aporte de las universidades estatales de Costa Rica. Banner expuesto en la semana de biotecnología de la Escuela de Biología en el ITCR, Cartago, del 17 al 21 de setiembre del 2007.

11. Arnáez, E. *et al.* 2007. Diversificación de sistemas agroforestales, mediante el fomento en asociaciones de agricultoras(es), de la producción de plantas con componentes bioactivos de la región Huetar Norte y Atlántica de Costa Rica con el aporte de las universidades estatales de Costa Rica. Se presentó un banner del proyecto en el III Encuentro de investigadores, realizado del 5 al 6 de noviembre del 2008 en la Sede Central del ITCR en Cartago. Además dentro de la misma actividad, se brindó una conferencia de las actividades del proyecto, impartida por la Dra. Ana Cecilia Díaz y la MSc. Elizabeth Arnáez.

12. Arnáez, E. *et al.* 2007. Diversificación de sistemas agroforestales, mediante el fomento en asociaciones de agricultoras(es), de la producción de plantas con componentes bioactivos de la región Huetar Norte y Atlántica de Costa Rica con el aporte de las universidades estatales de Costa Rica, *En: Memoria del XI Congreso de la Sociedad Mesoamericana para la Biología y Conservación*, del 26 al 30 de noviembre del 2007 en Cuernavaca. México.

13. Participación como ponentes en el proyecto en el XI Congreso de la Sociedad Mesoamericana para la Biología y Conservación, del 26 al 30 de noviembre del 2007 en Cuernavaca. México, a cargo de las MSc. Elizabeth Arnáez y MSc. Ileana Moreira.

14. Presentación del proyecto en el taller sobre Recursos Bióticos realizado el martes 11 de noviembre, en la Universidad de El Salvador en San Salvador, dentro del marco del XII Congreso de la Sociedad Mesoamericana para la Biología y Conservación, El Salvador, del 10 al 14 de noviembre del 2008.

15. Arnáez, E. *et al.* 2007. Diversificación de sistemas agroforestales, mediante el fomento en asociaciones de agricultoras(es), de la producción de plantas con componentes bioactivos de la región Huetar Norte y Atlántica de Costa Rica con el aporte de las universidades estatales de Costa Rica, con un banner y materiales de apoyo en la Feria de Investigación de la UCR, del 2 al 5 de abril del 2009.

16. Presentación del proyecto en el programa Universidad y Sociedad de Radio Universidad en agosto del 2007.

17. Participación en el Simposio sobre Conservación y Manejo de Recursos Vegetales en América Latina. 3,4 de diciembre 2009. UCR, Costa Rica, con una charla magistral sobre Avances en el estudio de plantas medicinales en Costa Rica.

18. Arnáez, E & Moreira, I. 2009. Manejo y conservación de plantas con componentes bioactivos, *En: Memoria del Simposio sobre Conservación y Manejo de Recursos Vegetales en América Latina*. 3,4 de diciembre 2009. UCR, Costa Rica

19. Participación con la ponencia en V International Congress of Ethnobotany ICEB 2009, San Carlos Bariloche 21 al 24 de Setiembre,2009. Argentina. A cargo de MSc. Elizabeth Arnáez y MSc. Ileana Moreira.

20. Arnáez, E. & Moreira, I. 2009. "Manejo de sistemas agroforestales usando plantas con potencial bioactivo" *En: Memoria V International Congress of Ethnobotany ICEB 2009*, San Carlos Bariloche 21 al 24 de Setiembre,2009. Argentina.

21. Se elaboraron panfletos y banners para ser distribuidos y presentados en diferentes eventos científicos. Además se le entregó a cada comunidad un banner con el nombre del proyecto el cual se ubicó en las principales plantaciones del proyecto.

22. Se contó con el apoyo de estudiantes asistentes y estudiantes de trabajo comunal universitario, quienes participaron en diferentes objetivos del proyecto.

23. Se están elaborando publicaciones científicas en donde se presentarán los resultados generales y la metodología empleada en este proyecto como un modelo de trabajo con especies con potencial bioactivo, también se harán artículos de los principales resultados de cada componente del proyecto. Además se espera publicar a modo de manual técnico la información obtenida en cada una de las especies estudiadas.

Conclusiones y recomendaciones

- Las comunidades locales son las encargadas de velar por la conservación de la biodiversidad, y demuestran la capacidad de adquirir los conocimientos para manejar debidamente dichos recursos vegetales, de tal manera que se aprovechen al máximo sus potencialidades.

- El estudio de plantas con potencial bioactivo, deberá ser abordado integralmente, considerando la identificación de los diferentes materiales recolectados, la propagación de los mismos, la adaptación, establecimiento en campo bajo técnicas de manejo adecuadas, y la caracterización fitoquímica y finalmente el uso de aquellas partes de la planta que concentren mayoritariamente los componentes bioactivos de interés comercial.

-Las universidades presentan las condiciones en infraestructura, de equipos, personal capacitado para acompañar a las comunidades en la conservación y manejo de los recursos naturales, de tal manera que esta sea una opción para el desarrollo integral de las mismas y mejorar las condiciones de vida de sus familias.

Bibliografía

Alvarenga, S.; Alán, E.; Arnáez, E.; Moreira, I.; Vargas, W.; Romero, E.; Loaiza, J.; Barrios, M. 2005. Informe final de proyecto. Plan para la promoción del conocimiento y el aprovechamiento de la *Uncaria tomentosa* (uña de gato) en dos comunidades de la región atlántica de de Costa Rica (Plan Piloto). ITCR-UNA. Financiado por Fundecooperación. ITCR-UNA. Cartago, Costa Rica.

Alvarenga, S.; Alán, E.; Peraza, J. 2002. Informe final. Estudio de la Biología, la reproducción vegetativa y cultivo *in vitro* de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) Fundación Neotrópica-ITCR. Cartago, Costa Rica. 89pp.

Alvarenga, S.; Alán, E.; Peraza, J. 2002. Informe final. Estudio de la Biología, la reproducción vegetativa y cultivo *in vitro* de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) Fundación Neotrópica-ITCR. Cartago, Costa Rica. 89pp.

Alvarenga, S.; Arnáez, E.; Moreira I.; Alan E.; Peraza, J.; Romero, E.; Vargas, W.; Loaiza, J.; Barrios, M. 2008. Domesticación de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) en Costa Rica. *En: Manejo Integrado de Recursos Bióticos. Estudios de Casos.* Oliver, R.; Tabaoda, M. y A.E. Granejo. (Compiladores). AGT Editor, S.A. Mexico D.F, Mexico. Pp: 135-146

Andersson, L. 2002. Relationships and generic circumscriptions in the *Psychotria* complex (Rubiaceae, Psychotrieae). *Syst. Geogr. Plants* 72, 167-202

Aquino, R., De Feo, V., De Simone, F., Pizza, C., Conti, C. & Cirino, G. 1991. Plant metabolites, new compounds and antiinflammatory activity of *Uncaria tomentosa*. *Journal of Natural Products*. 54 (2): 453-459

Bahren, C. 2008. *Psychotria ipecacuanha*. Hierba Buena y Yervas Malas. Disponible en <http://hierbasmalas.blogspot.com/2008/10/psychotria-ipecacuanha.html>

Blumenthal, M. 1995. Uña de gato (Cat's claw). Rainforest herb gets scientific and industry attention. Herbal update, Uña de gato (Cat's claw). Whole foods magazine. October 1995. P. 62, 64, 66, 78. <http://www1.shore.net/~jm/claw2.html>

Camargo de Assis, M & Fontes Viera, F. 1992. *Psychotria ipecacuanha*. Newsletter. Diciembre(2):1-14.

Castro, O ; Hidalgo,N. ; Bertsh, F. 1996. Combate de ojo de gallo (*Mycena citricolor*) en raicilla. Ponencia X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. San José, Costa Rica.

Castro, O. ; Hidalgo, N. 1996. Pruebas de patogenicidad de pelona (*Botryodiplodia* sp. y *Fusarium* sp.) en raicilla. Ponencia X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. San José, Costa Rica.

Castro, O. ; Hidalgo, N. Coto,B. 1996. Diagnóstico preliminar de enfermedades en raicilla. Ponencia X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. San José, Costa Rica.

Chavarría, J. 1987. Efecto del grado de inclinación y el número de nudos sobre el enraizamiento de estacas de zarzaparrilla (*Smilax* sp.). Práctica de Especialidad. Departamento de Agronomía. Instituto Tecnológico de Costa Rica. 64 p.

Cordero, J.; Boshier, D.H.; Barrance, A.; Beer, J.; Chamberlain, J.; Detlefsen G.; Finegan, B.; Galloway, G.; Gómez, M.; Gordon, J.; Hands, M.; Hellin, J.; Hughes, C.; Ibrahim, M.; Kass, D.; Leakley, R.; Mesén, F.; Montero, M.; Rivas, C.; Somarriba, E.; Stewart, J.; Pennington, T. 2003. Simaroubaceae *Quassia amara* L. En: Árboles de Centroamérica: un manual para extensionistas. Oxford Forestry Institute-CATIE. Turrialba, Costa Rica. pp 829-832.

Davidse, G.; Sousa, M.; Chater, A. & Chiang-Cabrera, F. 1994. Flora mesoamericana. UNAM. México D.F., México. pp 20-23.

Davidse, G.; Sousa, M.; Chater, A. & Chiang-Cabrera, F. 1994. Flora mesoamericana. UNAM. México D.F., México. pp 20-23.

Díaz, R.; Hernández, L.; Ocampo, R. y Ciccío, JF. 2006. Domesticación y fitoquímica de *Quassia amara* (Simaroubaceae) en el trópico húmedo de Costa Rica. Lankesteriana. 6(2): 49-64.

Díaz, R.; J. Ciccío y R. Ocampo. 2004. Domesticación de recursos naturales nativos en condiciones agroecológicas en el trópico húmedo en el Caribe de Costa Rica. In: Canuto, J.C. & J.A. Costabeber Editores. Agroecología Conquistando a Soberanía Alimentar. Brasil. pp. 193-212.

Díaz, R.; J. Ciccío y R. Ocampo. 2004. Domesticación de recursos naturales nativos en condiciones agroecológicas en el trópico húmedo en el Caribe de Costa Rica. En: Canuto, J.C. & J.A. Costabeber Editores. Agroecología Conquistando a Soberanía Alimentar. Brasil. pp. 193-212.

Ferrufino, L & Gómez, J. 2004. Estudio Morfológico de *Smilax* L. (Smilacaceae) en Costa Rica, con implicaciones sistemáticas. LANKESTERIANA. Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica. 4(1): 5-36. Disponible en: [http://www.jardinbotanicolankester.org/lankesteriana/Lankesteriana%20vol.%204.%202004/Lankesteriana%204\(1\)/Numeroporsecciones/05%20Ferrufino%20%20Gomez-Laurito.pdf](http://www.jardinbotanicolankester.org/lankesteriana/Lankesteriana%20vol.%204.%202004/Lankesteriana%204(1)/Numeroporsecciones/05%20Ferrufino%20%20Gomez-Laurito.pdf)

Ferrufino, L & Gómez, J. 2004. Estudio Morfológico de *Smilax* L. (Smilacaceae) en Costa Rica, con implicaciones sistemáticas. LANKESTERIANA. Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica. 4(1): 5-36. Disponible en: [http://www.jardinbotanicolankester.org/lankesteriana/Lankesteriana%20vol.%204.%202004/Lankesteriana%204\(1\)/Numeroporsecciones/05%20Ferrufino%20%20Gomez-Laurito.pdf](http://www.jardinbotanicolankester.org/lankesteriana/Lankesteriana%20vol.%204.%202004/Lankesteriana%204(1)/Numeroporsecciones/05%20Ferrufino%20%20Gomez-Laurito.pdf)

Fu, C.; Kong, H.; Qiu, Y.; Cameron, K. 2005. Molecular phylogeny of the East Asian–North American disjunct *Smilax* Sect. *Nemexia* (Smilacaceae). *Int. J. Plant Sci.* 166: 301-309.

Hidalgo N., Herrera, J., Guevara, E. 1993. Cultivo *in vitro* de raicilla. Ponencia IX Congreso Agronómico Nacional. San José, Costa Rica.

- Hidalgo N., Moreira, I., Soto, S. 1993. Caracterización y micropropagación de ecotipos de raicilla. Ponencia IX Congreso Agronómico Nacional. San José, Costa Rica.
- Hidalgo N., Palma, T. 1993. Propagación in vitro de la raicilla (*Psychotria ipecacuanha*). Ponencia IX Congreso Agronómico Nacional. San José, Costa Rica.
- Hidalgo, N. 1988. Cultivo in vitro de ipecacuana. Ponencia VII Congreso Internacional sobre Cultivo de células y tejidos vegetales. Amsterdam, Holanda.
- Hidalgo, N. 1996. Análisis de la fertilidad de suelos dedicados al cultivo de raicilla (*Psychotria ipecacuanha*). Ponencia X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. San José, Costa Rica.
- Hidalgo, N. 1996. Determinación de la nematofauna en raicilla. Ponencia X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. San José, Costa Rica.
- Hidalgo, N. 1996. Evaluación de ecotipos de raicilla. Ponencia X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. San José, Costa Rica.
- Hidalgo, N. ; Palma, T. 1996. Respuesta de raicilla. (*Psychotria ipecacuanha*) a diferentes tipos de abono. Ponencia X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. San José, Costa Rica.
- Keplinger, K., Laus, G., Wuem, M., Dierich, M.P. & Teppner, H. 1998. *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. Ethnomedicinal use and new pharmacological, toxicological and botanical results. *Journal of Ethnopharmacology* 64: 23-34.
- Lodhi, M.A.; Ye, G-N.; Weeden, N.F.; Reisch, B.I. 1994. A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars and *Vitis* species. *Plant Molecular Biology Reporter* 12: 6-13.
- Moreira, I. 1997. Determinación de ecotipos de raicilla (*Psychotria ipecacuanha*). *Tecnología en Marcha*. 13(1):37-48.
- Muellner, A.; Samuel, R.; Johnson, S.; Cheek, M.; Pennington, T.; Chase, M. 2003. Molecular phylogenetics of Meliaceae (Sapindales) based on nuclear and plastid DNA sequences. *American J. of Botany* 90: 471-480
- Naranjo, P. 1987. Efectos de la auxina sobre el enraizamiento y rebrote de estacas de zarzaparrilla (*Smilax* sp.). *Practica de Especialidad*. Departamento de Agronomía. Instituto Tecnológico de Costa Rica. 42 p.
- OBREGON V., L.E. 1994. Uña de gato: Género *Uncaria*. Estudios botánicos, químicos y farmacológicos de *Uncaria tomentosa* y *Uncaria guianensis*. Instituto de Fitoterapia Americano. Lima, Perú 162 p.
- Ocampo, R. & Díaz, R. 2006. Cultivo, conservación e industrialización del hombre grande (*Quassia amara*). 1^{era} edición. Bougainvillea S.A. San José, Costa Rica. p 39.

Ocampo, R. & R. Villalobos. 1994. *Quassia amara* L. ex Blom. En: ETNOBOTANICA. (4). Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).

Ocampo, R. 1986. El cultivo de ipecacuana en Costa Rica. Programa Cooperativo UCR-IDA. En: Memoria "Seminario Cultivo y utilización de las plantas medicinales de Costa Rica. Colegio de Ingenieros Agrónomos, 17 pp.

Ocampo, R. 2007. Ipecacuana. Un Producto no Maderable Cultivado Bajo el Bosque en Costa Rica. 1980-2000. Agronomía Costarricense 31(1): 113-119. ISSN:0377-9424 / 2007. www.mag.go.cr/rev_agr/v31n01_113.pdf.

Ocampo, R. sf. Ipecacuana, *Psychotria ipecacuanha* (Brotero) Stokes: Un Producto no Maderable Cultivado Bajo el Bosque en Huetar Norte, Costa Rica. CIFOR. (3): 1-29.

Palma, T. 1995. Estudio morfogénico de la zarzaparrilla (*Smilax* sp.). Informe final. Vicerrectoría de Investigación y Extensión. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Sede Regional San Carlos.

Palma, T. & Hidalgo, N. 1995. Biotecnología: elemento importante en la domesticación de plantas medicinales. En Ocampo, R. (ed). Domesticación de plantas medicinales en Centroamérica. Actas de la reunión Técnica Centroamericana, 30 mayo - 3 junio 1994. CATIE-CYTED-OPS/OMS-OEA. pp:99-107.

Palma, T. 1996. Biotecnología en la domesticación de Plantas Medicinales. **EN:** Resúmenes del X Congreso Nacional Agronómico. San José, Costa Rica. P:31-34.

Palma, T. 1996. Biotecnología en la domesticación de plantas medicinales. Ponencia X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. San José, Costa Rica.

Palma, T. 1996. Biotecnología en la domesticación de plantas medicinales. Ponencia X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. San José, Costa Rica.

Palma, T.; Hidalgo, N. 1994. Biotecnología, elemento importante en la domesticación de plantas medicinales. In : Ocampo R. Domesticación de plantas medicinales de Centro América. [Actas 30 de mayo-3 de junio]. Serie Técnica. Informe Técnico N° 245. CATIE, Turrialba, Costa Rica. pp 50-66

Rueda, R.; Masís, J.; Toval, N.; Camacho, M. & Villalobos, R. 2003. El género *Smilax* en Guatemala, Nicaragua y Costa Rica Una guía para la identificación en el campo. Proyecto SMILAX. CATIE. 48 p.

Rueda, R.; Masís, J.; Toval, N.; Camacho, M. & Villalobos, R. 2003. El género *Smilax* en Guatemala, Nicaragua y Costa Rica Una guía para la identificación en el campo. Proyecto SMILAX. CATIE. 48 p.

Sambrook, J; Fritsch, E. F; Maniatis, T. 1989. Molecular cloning. A laboratory manual . 2nd. Ed. Cold Spring Harbor Laboratory. New York Book.

Taylor, L. 2005. The Healing Power of Rainforest Herbs: A Guide to Understanding and Using Herbal Medicinals. Square One Publishers. 535 p.

Top Tropicals. 2009. "*Quassia amara*". <http://toptropicals.com/cgi-bin/garden_catalog/cat.cgi> (12 marzo, 2008).

Trejo-Tapia, G.; Cerda-García-Rojas, C.; Rodríguez-Monroy, M.; Ramos-Valdivia, A. C. 2005. Monoterpednoid Oxindole Alkaloid Production by *Uncaria tomentosa* (Will) D. C. Cell Suspension Cultures in Stirred Tank Bioreactor. *Biotechnol. Prog.* 21:786-792.

Valverde, R. & Ocampo, R. 1998. Reproducción vegetativa de *Smilax* sp. *En* Robles-Valle, G.; Villalobos-Soto, R. (eds.). Plantas medicinales del género *Smilax* en Centroamérica. Actas de la reunión, Turrialba, CR, 22-25 set.1997. Serie Técnica. Reuniones Técnicas (2): 103-112.

Villalobos, R. 1996. Caracterización de la distribución de una planta medicinal (*Quassia amara*) como base para su manejo técnico. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). X Congreso Nacional Agronómico. pp 17-22.

Villalobos, R.; Ocampo, R.; Dalle, S. & Robles, G. 1998. Historia y etnobotánica de *Smilax* sp. *En* Robles-Valle, G.; Villalobos-Soto, R. (eds.). Plantas medicinales del género *Smilax* en Centroamérica. Actas de la reunión, Turrialba, CR, 22-25 set.1997. Serie Técnica. Reuniones Técnicas (2): 61-80.

www.aperderpeso.com/propiedades-medicinales-de-la-zarzaparrilla

www.erasalud.com/guias/plantas/i/ipecacuana.php

www.erasalud.com/guias/plantas/i/ipecacuana.php

www.mtplantas.com

Zamora, N. 2006. Smilacaceae. *En*: Flora Digital de la Selva. Organización para Estudios Tropicales. 3 p.

Zamora, N. 2006. Smilacaceae. *En*: Flora Digital de la Selva. Organización para Estudios Tropicales. 3 p.

Agradecimientos

Se agradece al CONARE por el apoyo financiero del proyecto por medio de los fondos FEES, a las Vicerrectoría de Investigación y Extensión de cada Universidad y a las Escuelas que forman parte del proyecto por el apoyo brindado.

Se agradece el apoyo brindado al químico Tomás Hidalgo de laboratorios La Fuente, al MBA. Ronald Brenes de la Escuela de Administración de Empresas del ITCR, a la MSc. Catalina Espinoza del CEDA-ITCR y a las estudiantes asistentes de la Escuela de Biología del ITCR: Milena González, Karla Salas y Laura Sánchez.

ANEXOS

Informes científicos de las actividades realizadas en el 2007

ENCUESTA GRUPOS DE ORGANIZADOS DE LA ZONA ATLÁNTICA

La presente encuesta pretende recopilar datos necesarios para la participación en el proyecto: ***Diversificación de sistemas agroforestales, mediante el fomento en asociaciones de agricultoras(es) de la producción de plantas con componentes bioactivos de la Región Huetar Norte y Atlántica, con el aporte de las universidades estatales de Costa Rica.***

Les agradecemos nos brinden la información solicitada con la mayor precisión posible para así poder definir de mejor manera las actividades a realizar en conjunto.

DATOS GENERALES:

1. Nombre de la Asociación:

2. Fecha de Constitución:

(adjuntar copia del acta constitutiva)

3. Número de la personería jurídica:

4. Número de personas activas en la asociación:

5. Dirección o localidad:

6. Teléfonos:

7. ¿Por qué la asociación está interesada de participar en un proyecto como el de producción y aprovechamiento de los usos de las plantas medicinales?

8. ¿Con cuánta área puede disponer para la siembra de las plantas medicinales que propone el proyecto?

PROGRAMA CURSO INICIAL-SONDEO DE NECESIDADES

PROGRAMA I TALLER

PROYECTO: Diversificación de sistemas agroforestales, mediante el fomento en asociaciones de agricultoras(es), de la producción de plantas con componentes bioactivos de la Región Huetar Norte y Atlántica, con el aporte de las universidades estatales de Costa Rica.

DIRIGIDO A: Grupos de Mujeres organizadas de la Región Huetar Norte, Costa Rica

LUGAR: Aula de EcoTec, Sede ITCR-Santa Clara, San Carlos

HORARIO: 8:30 am a 11:30 am
23 de marzo del 2007.

HORARIO	ACTIVIDADES	RESPONSABLE
8:30 a 8:40	Bienvenida	Fiorella
8:40 a 9:05	Dinámica de presentación	Mairim
9:10 a 9:30	Exposición del proyecto	Elizabeth e Ileana
9:30 a 9:45	REFRIGERIO	
9:45 a 10:20	Priorización de actividades de actividades de capacitación	Mairim y Fiorella
10:30 a 11:00	Propuestas de capacitación sobre emprendedurismo	Mairim
11:00 a 11:30	Intercambio de experiencias, expectativas y acuerdos	Mairim y Fiorella
11:30 a 11:45	Conclusiones y clausura	Elizabeth, Ileana, Mairim y Fiorella

PROGRAMA CURSO RECURSOS HUMANOS

**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA
CENTRO DE DESARROLLO ACADÉMICO**

Taller Participativo
Relaciones Interpersonales

Catalina Espinoza Ortiz

Octubre 2007

Propuesta de Curso

Descripción del Taller:

El taller “Relaciones Interpersonales” se centrará en dos puntos principales:

- Comunicación Asertiva
- Respeto mutuo

Objetivos del Curso:

Objetivo General

Proporcionar conocimientos y habilidades mínimas para mejorar las relaciones interpersonales por medio de temáticas como Comunicación Asertiva y Respeto Mutuo a las mujeres que conforman GEMA y AMEC en San Carlos.

Objetivos Específicos:

- 1. Definir el concepto de Relaciones Interpersonales.**
- 2. Facilitar un espacio que potencie la comunicación asertiva entre las personas participantes del curso.**
- 3. Propiciar el sentido de tolerancia para desarrollar relaciones interpersonales de respeto.**
- 4. Cronograma:**

	Nombre de la Actividad	Objetivos Específicos	Contenidos	Hora
1	Bienvenida	- Brindar a los y las participantes información básica sobre la Naturaleza del curso participativo, sus normas y el uso de las instalaciones y demás recursos disponibles.		8: 30-8:45
2	Primera Unidad: Comunicación Asertiva	- Facilitar un espacio que potencie la comunicación asertiva entre los y las profesoras de la carrera de Ingeniería en Biotecnología del Instituto Tecnológico de Costa Rica	Comunicación humana. Comunicación Asertiva.	8:45-10:30
4	Segunda Unidad: Respeto Mutuo	- Propiciar un espacio para la reflexión de la importancia de la tolerancia como profesores universitarios de una institución pública e internacionalmente reconocida. - Integrar la unidad anterior.	Definición de respeto. Definición de Tolerancia.	10:30-11:00
6	Actividad en Grupos:	- Propiciar un espacio para la síntesis y reflexión del	Integración de todas las temáticas anteriores	11:00-11:45

	sociodramas	conocimiento adquirido anteriormente.		
7	Conclusiones y Cierre			11:45-12:00
El refrigerio se brindará de 9:15 a 9:35 am				

Materiales:

- Papel periódico y de construcción.
- hojas blancas
- masking
- marcadores: por lo menos 3 de pizarra y 10 de diferentes colores para papel.
- video beam / computadora
- fotocopias
- Stickers para escribir el nombre
- refrigerios
- Personas con deseos de pasar un buen rato

Primera Unidad: Comunicación Asertiva

La asertividad es reconocida como la actitud positiva que asume el ser humano al expresarse con otra persona, de tal manera que pueda ser capaz de comunicarse con otros sin indisponerlos o sin sufrir un rechazo.

En términos generales, es un conjunto de principios y valores que conforman un modelo de vida personal con el cual es posible lograr el éxito en la comunicación humana. De allí que la persona adquiere y asume la habilidad de transmitir y recibir un mensaje en una forma honesta, directa y oportuna, sin dañar los sentimientos de las demás personas.

La presente unidad tiene como finalidad brindar una herramienta para trabajar en la sensibilización sobre aspectos relacionados con la forma de comunicarnos desde nuestra identidad con las demás personas.

Objetivo General:

Facilitar un espacio que potencie la comunicación asertiva.

Objetivos Específicos:

Sensibilizar sobre:

- la importancia del lenguaje en la comunicación
- la importancia de la comunicación asertiva
- formas alternativas para la resolución de conflictos

Segunda Unidad: Respeto Mutuo

Las personas que ven a los demás como individuos, en lugar de ponerles etiquetas de acuerdo con el grupo al cual pertenecen, demuestran respeto mutuo. (Algunas personas utilizan la palabra tolerancia para expresar la misma idea.)

El respeto mutuo significa estar dispuestos a aceptar las diferencias de las otras personas (incluso si se ven diferentes, si practican otra religión o si provienen de una tierra diferente). También significa tratar a las demás personas de la misma manera en la que se desearía ser tratado.

¿Esto significa que deben tolerarse todas las formas de comportamiento? ¡De ninguna manera! Los comportamientos que faltan el respeto o lastiman a los demás, como ser grosero o ser intimidante, o las conductas que van contra las reglas sociales, como mentir o robar, no deben tolerarse. El respeto tiene que ver con aceptar a las personas por lo que son, por la mejor parte de sí mismos (no con aceptar las malas conductas).

Por lo tanto, esta segunda unidad temática, tratará de integrar la unidad anterior resaltando el valor de la Tolerancia hacia las diferencias, pretendiendo de esta manera posibilitar una visión más integral sobre las relaciones humanas y

propiciando así relaciones menos agresivas y más abiertas a la negociación; que a su vez, propiciarán un ambiente más constructivo y facilitador de las tareas a realizar.

Objetivo General:

Propiciar un espacio para la reflexión de la importancia de la tolerancia.

Objetivos Específicos:

- Sensibilizar ante las diferencias.
- Marcar la diferencia entre Tolerancia y Permisividad.

PROGRAMA DEL TALLER SOBRE HERBORIZACIÓN

Fecha: Viernes 21 de noviembre 2008 (el mismo programa fue realizado con los grupos de Guápiles en el 2009)

Lugar: Aula de Ecotec, Sede del ITCR, San Carlos

Hora: 8 am-12 md

Ofrecido a las participantes de los grupos GEMA y AMEC

Impartido por el biólogo, taxónomo Alonso Quesada, Herbario Nacional del Museo Nacional de Costa Rica

Cronograma de actividades:





1. Motivación a cargo de Elizabeth Arnáez y Mairim Carmona
2. Presentación de participantes
3. Presentación del video sobre el Museo Nacional
4. Charla de cómo se hace un herbario, nota de apuntes de material de colecta, etc.
5. Colecta de plantas en el campo
6. Forma de secar y pegar las muestras en cartulina
7. Características de la tarjeta de referencia
8. Elaboración del herbario por comunidad
9. Conclusiones
10. Aplicación de encuesta socio-económica

A cada asociación se le brindó los materiales básicos para elaborar su propio herbario: ampos, archiveros plásticos, cartulina, tarjetas, goma, tijeras, etc.

PROGRAMA CURSO EMPRENDEDURISMO

Ver presentación en archivo adjunto

PROGRAMA DE INTERCAMBIO ENTRE COMUNIDADES

   	
<i>Intercambio para la articulación de iniciativas entre comunidades rurales</i>	
Participantes:	Organizaciones sociales: PROAL-HOLOSALUD-Llano Bonito León Cortés, Asociación de El Millón de Guápiles, Asociación de Mujeres de las Colinas, Esperanza y Zota, Grupo GEMA de Peñas Blancas de San Ramón y Asociación de Mujeres Ecológicas Carlos, Ejecutore-as de proyectos ITCR relacionados con proyectos de VIE-FEES-CRI
Facilitadore-as	Osvaldo Durán Castro, Mairim Carmona Pineda, Elizabeth Arnáez, Ileana Moreira y Na
¿Qué llevar?	Cada persona debe llevar sus objetos personales, ropa y zapatos para caminar, sombrilla, abrigo y paño.
Objetivos del taller	Resultados esperados (proceso de integración entre proyectos)
Promover el aprendizaje entre procesos sociales y proyectos ejecutados en comunidades rurales de Costa Rica.	1. Se vinculan iniciativas de la zona de Los Santos, zona Atlántica y Zona de la Zona con uso, procesamiento y aplicación de conocimientos de plantas medicinales de turismo rural comunitario. 2. Personas de las comunidades participantes elevan sus capacidades organizacionales de sus iniciativas en proceso.
Fomentar la cooperación entre investigación y proyección social del TEC con comunidades rurales.	3. Se articulan capacidades institucionales y mejora el impacto social del ITCR en las comunidades participantes. 4. Se detectan al menos 3 opciones de articulación entre comunidades
Lugar, fecha y hora	El encuentro se realizará en la sede de la Asociación Proyectos alternativos en Llano Bonito de León Cortés. Miércoles 18 a viernes 20 de noviembre 2009. Tiempo completo.
Coordinación del evento:	Equipo Facilitador: TEC-PROAL. Esta coordinación para todos los aspectos se realizará entre facilitadore-as del TEC y el equipo PROAL-Holosalud.
¿Cómo llegar a PROAL?	Ruta A. San José, Cartago y seguir la interamericana sur, desvío a la derecha en El Empalme, Km 5 Marcos de Tarrazú, San Pablo de León Cortés, (a 1km del centro a la izquierda) San Isidro, Llano Bonito. Ruta B. San José-Aserrí, Tarbaca, a la izquierda hacia Frailes, en el cementerio de San Cristóbal a la izquierda San Isidro, Llano Bonito: PROAL.

Proceso de implementación del taller.

Tiempo	Actividad-temas	Responsable	¿Cómo hacerlo?
6 a.m.	Miércoles 18 de noviembre. Traslado de participantes a sede PROAL y actividad de bienvenida (incluye almuerzo). Registro de participantes.	EF	Todos los aspectos logísticos serán atendidos por equipo Holosalud: alimentación, hospedaje, servicios, uso de in
2 p.m.	Charla sobre plantas medicinales.	Mildred García Especialista UCR- PRONAPLAMED	Se brindará una charla sobre "Plantas medicinales".
4 p.m.	Presentación de participantes. Primer intercambio.		Se ejecuta dinámica de presentación de cada persona y expectativas
7 p.m.	Cena y cierre.	EF.	
6 a.m.	Jueves 19 de noviembre. Día de trabajo de campo.	EF.	Traslado a la casa-finca de una de las integrantes de PP El equipo de cada comunidad realiza una presentación utilizando insumos y materiales a conveniencia. Explicar actividades, comunidades o público meta de su trabajo o asunto pertinente.
12 m.	Almuerzo.	EF.	
2 p.m.	Actividad recreativa: opción 1: película. Opción 2: paseo a "La Loma" (si no llueve)		Se proyectará una película para reforzar la autoestima individual y colectiva. Si no llueve se hará una caminata.
5 p.m.	Regreso a sede PROAL.		
6 p.m.	Cierre técnico del evento.	EF	1. Se facilita un intercambio de valoraciones personales. 2. Se establecen posibles opciones de seguimiento (a las comunidades).
7 p.m.	Cena y actividad cultural		Equipo PROAL-Holosalud organiza.
6 a.m.	Viernes 20 de noviembre.		Desayuno y regreso de participantes a sus regiones.

Evaluación del taller

Intercambio para la articulación de iniciativas

entre comunidades rurales de Costa Rica-TEC

Estimado-a amigo-a:

Los siguientes criterios nos permitirán valorar nuestro desempeño individual y colectivo durante el taller. Por favor, califique de 1 (mínimo) a 5 (máximo) cada uno de ellos. Su opinión es indispensable para mejorar en encuentros futuros. Muchas gracias.

Se cumplieron los objetivos del encuentro	
Las actividades ejecutadas fueron adecuadas para cumplir con los objetivos	
Los temas compartidos permitieron conocer mejor nuestra propia realidad	
La información y aprendizaje le ayudarán a mejorar su trabajo en las comunidades	
Las técnicas aplicadas (exposiciones, trabajo en grupo, plenaria, etc) fueron adecuadas, pertinentes, creativas y flexibles	
Califique el desempeño del equipo de facilitadores de taller	
Los recursos materiales para el evento fueron los adecuados	
Se sintió cómodo-a, respetado-a y disfrutó del encuentro	
Califique su aporte hacia el colectivo (sea justamente autocrítico-a)	
Califique la alimentación	
Califique el lugar del encuentro	

Escriba cualquier comentario y sugerencias, que nos ayuden a mejorar eventos futuros.

MUESTRA DE TÍTULO ENTREGADOS EN LAS DIFERENTES ACTIVIDADES



Las universidades estatales de Costa Rica

Otorgan el Presente Certificado de Participación

A: _____

Por haber cumplido con los requisitos
establecidos en el:

Intercambio para la articulación de iniciativas entre comunidades rurales de Costa Rica

Organizado como parte de los proyectos relacionados con plantas medicinales y turismo.

VIE-FEES-CRI

Realizado en San Pablo de León Cortés, Costa Rica del 18 al 20 de noviembre del 2009.

Duración: 24 horas

MSc. Ileana Moreira González
Vicerrectora de Investigación y Extensión
Instituto Tecnológico de Costa Rica

Minutas de reuniones

Cabe destacar que se mantuvo una comunicación periódica entre los profesionales participantes del proyecto por medios telefónicos, electrónicos, durante las giras y en las reuniones de PRONAPLAMED.

Minuta 2-06

Fecha: 30 de noviembre del 2006

Lugar: CETT-ITCR, Zapote

Hora: 9 am

Presentes:

1. Presentación de los presentes
2. Exposición del MSc Tomás Palma:

El Ing. Palma realiza una presentación de los avances obtenidos con zarzaparrilla, cuculmeca, ipecacuana y hombre grande. Además hace entrega de la información en CD y un informe impreso.

Dentro de los aspectos expuestas se destaca lo siguiente:

-Cuculmeca: se reproduce por rizomas, en San Carlos se trabajó con dos especies: *Smilax panamensis* y *S. domingensis*. Comenta que Nelly Vásquez y María Elena Aguilar están trabajando con estas especies en el CATIE, además cita a Wendy Salazar como Administradora de CoopeSan Juan.

-Zarzaparrilla: *Smilax regelli* (hoja más grande), *S. vanillodora* (hoja más pequeña) y *S. panamensis*, se extrae la raíz, es una planta con espinas.

Menciona que el Ing. Sergio Torres en el ITCR de San Carlos trabaja con *S. vanillodora*, con micropropagación convencional, inmersión continua y otras técnicas. Crece bien en el campo, a los 2 años se obtiene buena raíz. Falta más investigación en embriogénesis somática. En medio líquidos se acelera el proceso de crecimiento y se obtuvieron buenos resultados.

Menciona que salió una publicación sobre caracterización molecular en Tecnología en Marcha 2005, 18(3)-3-11. La venta de plantas cuestan aproximadamente \$1.

-*Psychotria ipecacuanha*: a los 6-7 meses de estar en el campo se puede extraer el rizoma. La propagación por rizomas no dan buenos resultados. Se propaga por microestacas, con una preaclimatación en frascos.

La técnica de irradiación magnética permite un mejor aprovechamiento del agua y la absorción de minerales. Hay detectados 4 ecotipos (tecnología en marcha 18(1): 48-56. 2005.

-*Quassia amara*: hombre grande, crece más o menos hasta los 500 msnm en forma natural, en la Sede del ITCR en San Carlos hay una colección. Tiene mucho fenos por lo que se oxida muy rápido. Propagarla por estaca es muy factible, también por microestacas, acodos y con semillas.

3. El Ing. Jorge Loaiza encargado del trabajo de campo con las especies propone el siguiente esquema:

Especie Total plantas	#plantas/ha	Producción microprop	Compra en vivero	Extracción compra	Parte planta	Cantidad requerida	Tipo de análisis	parte de planta	Cantidad estimada /mes/año
Uña de gato A250	250	ITCR, Cartago							
Raicilla 5000	1000	ITCR, San Carlos							
Zarzaparrilla 5000	500	ITCR San Carlos							
Cuculmecca 2500	500	CATIE							
Hombre grande 2500	500	ITCR CATIE							

El precio aproximado de plantas es de \$1 listas para aclimatar y sembrar.

Comunidades en estudio: El millón (Roxana de Guápiles)
Esperanza Verde (Colinas- Guápiles)
Cuestillas (Florencia)
Gema (Abanico- Peñas Blancas)

El Ing. Jorge Loaiza menciona que hará el plan de manejo agronómico de cada especie y su establecimiento en el campo, esto estará muy ligado con la capacitación de las comunidades.

El grupo plantea las siguientes necesidades:

- Definir fechas de reuniones y giras
- Determinar el potencial de las plantaciones y su establecimiento en cada comunidad, cuáles especies y dónde se sembrará cada una
- Definir necesidades de capacitación de las comunidades
- Definir distribución del presupuesto y necesidades de aumento del mismo en algunos rubros
- Definir con las personas encargadas de micropropagar las especies, la obtención de las mismas (Silvana, Sergio Torres, CATIE).

- f. Hacer visitar a los sitios donde estén las especies cultivadas (como CoopeSan Juan en el caso de raicilla)

Se cierra la sesión a las 12 md.

Minuta 3- 08-3-2007

Reunión extraordinaria:

Lugar: Sala de reuniones de maestría, Escuela de Medicina UCR

Hora: 3 pm

Presentes: Mairim Carmona (ITCR) , Sonia Lagos, Silvana Alvarenga (ITCR), Juan Manuel Cordero (CNP), Alonso Quesada (Herbario Nacional), Francisco Ciccio (UCR), Mildred García (UCR) (quien preside), Fiorella Donato (UCR), Andrés Cordero (LISAN), Henry Marín (Himalaya) , Cecilia Díaz (UCR), Elizabeth Arnáez (ITCR) (secretaria)

Punto único exposición de Silvana Alvarenga y Mildred García.

1. La MSc. Silvana Alvarenga ex'pone sobre los resultados obtenidos en el proyecto de investigación.....
2. La MSc Midred García expondrá sobre Smilax y Hombre grande en una próxima reunión

Se cierra la sesión a las 4:30 pm

Comunicado

Estimados (as) compañeros (as)

Les deseo un feliz año nuevo lleno de éxitos, salud y prosperidad.

El jueves 14 de febrero nos vamos a reunir a las 2 pm en la sala de sesiones de la maestría de la Escuela de Medicina de la UCR, donde Cecilia Díaz.

La agenda será:

1. presentación de Ing. Nancy Hidalgo
2. Informe de lo realizado en el 2007 e inicios del 2008. Problemas enfrentados
3. revisión de las tareas de cada uno, distribución y coordinación de los trabajos a realizar este año 2008
4. Discusión de ideas y Plan de trabajo del Proyecto Piloto a presentarse en el marco del CENIBiot

Los esperamos, Saludos, Eli

Minuta 6 de marzo del 2008

Lugar: Sala de reuniones de Maestría de Medicina, UCR.

Hora: 1:15 pm

Presentes: Jorge Loaiza, Alonso Quesada, Ileana Moreira, Cecilia Díaz, Mairim Carmona, Silvana Alvarenga, Mildred García, Juan Manuel Cordero, Elizabeth Arnáez

Ausente: Fiorella Donato (Justificada)

Presentación de la Ing. Nancy Hidalgo, como nueva participante del proyecto. Nancy es Ing. Agrónoma, trabaja en la Escuela de Ingeniería Agrícola del ITCR, Cartago. Tiene amplia experiencia como extensionista agrícola, en el trabajo de plantas medicinales en el laboratorio y en el campo, fue una de las pioneras de trabajar con raicilla. En el proyecto trabajará en forma coordinada con Elizabeth, Ileana y Jorge, en el establecimiento de los cultivos y las actividades colectivas del grupo.

Avances, problemas enfrentados y actividades para el 2008:
Estado de cada una de las especies:

Hombre grande: Hasta la fecha se han sembrado 1000 plantas entre los diferentes grupos del proyecto. Don Félix preparará 1000 plantas más y Sergio Torres también ofrecerá.

Se tienen plantas sembradas dentro del bosque de Ana Lía y el Millón, el resto de las plantas están sembradas dentro de sistemas agroforestales en el Millón, Cuestillas, El Zota, Esperanza Verde, GEMA y Don Félix. Con ayuda de los estudiantes del TCU, se tiene una mapa de las plantas cultivadas en el bosque de Ana Lía y El Millón, falta por hacer la distribución en los demás sitios

Uña de gato: Se cuenta con las plantaciones establecidas en El Millón, Don Félix y Esperanza Verde. Falta cultivar en GEMA, El Zota, y Cuestillas. Silvana proveerá material para estos sitios. Estas plantas proceden de la planta madre ubicada en El Millón. Greivin está aclimatando 150 plantas provenientes de semillas.

Ipecacuana: Sergio Torres está aclimatando 500 plantas provenientes de cultivo in vitro, estará sacando más plantas al vivero para poder distribuir en las comunidades, ya Tomás Palma brindó la información sobre la procedencia de estas plantas. Por otro lado al Ing, Roberto Valverde del CIA- UCR, se le comprarán 1000 plantas. Se tendrá cuidado en la distribución de las plantas según procedencias. Los cultivos se harán apenas empiece el invierno, ya se tienen ubicados los sitios en las diferentes comunidades.

Zarzaparrilla: Se tienen 250 plantas aclimatadas en buenas condiciones provenientes de cultivo in vitro, del LAB. De biotecnología del ITCR en San Carlos, se estarán sacando más plantas al vivero para poder distribuir en las comunidades, ya Tomás Palma brindó la información sobre la procedencia de estas plantas. Los cultivos se harán apenas empiece el invierno, ya se tienen ubicados los sitios en las diferentes comunidades.

Cuculmecha: Danilo Rangel tenía plantas procedentes del bosque en estacas, pero solamente sobrevivieron 5. El CATIE, ya no tiene plantas en el laboratorio. Silvana Alvarenga tendrá a su cargo la propagación de esta especie en el laboratorio para después llevarlas al campo, se espera que este año se tenga listo material. Esta es la única especie que se encuentra apenas con los ensayos a nivel de laboratorio. Silvana ya cuenta con material base para empezar los ensayos, sin embargo se comenta que es muy poco, por lo que en una de las giras se le traerá más material del bosque de Esperanza Verde.

Ileana y Elizabeth cuentan al grupo acerca de diferentes empresarios interesados en que los diferentes grupos tengan cultivos especialmente de raicilla. Han llevado a los empresarios a las diferentes comunidades para que sean ellos los encargados directos de las futuras ventas de productos.

Se comenta que se necesita habilitar el molino del Millón, porque las cuchillas no están funcionando bien.

El grupo comenta acerca de la necesidad de pedir más equipo al FEES. Cecilia comenta que funcionarias de la Escuela de Tecnología de Alimentos de la UCR están interesadas en dar una capacitación a las comunidades, se comenta al respecto y se concluye que por el momento no es necesario porque las diferentes organizaciones han recibido diferentes capacitaciones sobre manipulación y preparación de alimentos. Una vez que se avance más en el proyecto y se determinen las necesidades reales se acudirá a estas profesionales. Se comenta que falta tener escrito el establecimiento de manuales de los procesos y su seguimiento. Se debe planear un taller en este sentido para que tengan una guía de trabajo.

En una de las giras se sacará una cita en CENASA de San Carlos y otra de Guápiles, para ver los requisitos y trámites a seguir para los permisos de funcionamiento. Mildred comenta que ella puede ayudar junto con los estudiantes del TCU, ha seguir los procedimientos y requisitos del Ministerio de Salud. Al respecto se comenta además que se debe contar con una marca y un logo en cada comunidad, ya Danilo y el Millón lo tienen, faltan los demás grupos, Silvana cuenta con la información respectiva, dará una copia de la misma. Cada grupo con ayuda de los investigadores del proyecto deben establecer los productos que quieren obtener ya sea materia prima, tes o confitería, así como la presentación de los productos; una vez establecido esto se harán los trámites ante el Ministerio de Salud. Se comenta que se podría solicitar a una estudiante de diseño del TEC, el

diseño de la marca y presentación de los productos en las diferentes comunidades.

Jorge Loaiza pregunta que cómo van los análisis de los extractos de uña de gato, al respecto Cecilia comenta que ha hecho ensayos biológicos pero que faltan los fitoquímicos, sin embargo ya tiene los patrones, Jorge comenta que se comenta acerca de la importancia e impacto positivo de los estudiantes del TCU en las diferentes comunidades. Mildred invita a los investigadores a la presentación de los resultados de dichos trabajos el 28 de marzo en Medicina en la UCR, se comenta que ese mismo día hay gira a Guápiles, así que todos los investigadores podrán asistir a esta actividad.

Se está cumpliendo con el cronograma propuesto hasta la fecha.

Minuta de reunión sobre capacitación en plantas medicinales

Presentes: Ileana Moreira, Elizabeth Arnaéz y Sonia Lagos

Día: 25 de setiembre del 2008

Hora: 10.30 am a 1 pm

PROGRAMA DE CAPACITACIÓN

En el proyecto hay 2 grupos metas:

- 1- Clase media: (Cuestillas, Gema)
- 2- Clase más marginal (El Millón, las Colinas)

Prioridades en lo que respecta a los problemas de salud:

- a- Problemas respiratorios:
- b- Problemas digestivos:
- c- Problemas dermatológicos:

Pasos:

Identificación de las plantas que hay en su entorno y que son usadas para algunas afecciones y que las comunidades conozcan.

I PARTE (2 HORAS)

- 1- Introducción y presentación de los organizadores
- 2- Objetivos del taller
- 3- Recorrido por el jardín botánico (caso de Sn Carlos)

4- Presentación de los participantes (llevando plantas para explicar sus usos)

II PARTE (1 HORA)

5- Introducción anatómica (Aparato respiratorio, Aparato Digestivo y dermatológico)

(1 día cada tema a cargo de un médico), reconocimiento de sintomatología, proceso infeccioso y curativo

6- Reconocimiento de plantas y las partes que son usadas para cada problema (se subdivide de acuerdo a la sintomatología y se le dan las recomendaciones para cada cosa y las contraindicaciones) . Aquí se necesita de la presencia permanente de un taxónomo.

7- Plantas tóxicas (Ej: *Jatropha curca*, dosis que se emplea y parte que se usa. Otras: *Petiveria sp*; *Chenopodium sp*) .

8- Demostración del modo de uso: debemos contar con una cocina para que lo vean como se produce, el estimado de las dosis, la cocción.

Logística:

- Disponibilidad de Sonia: marzo, Abril y la primera de junio,
Buscar la lista de especies medicinales que usan para los casos de problemas respiratorios, digestivos y dermatológicos.

- Redactar los objetivos
- Materiales a ocupar
- Visita de Alonso, previa para la recolección de las plantas y montar el herbario.

7 y 14 de noviembre 2007 para la capacitación sobre la confección de herbario y taxonomía.

Fechas de Talleres en plantas medicinales

20 (SC) y 27 (Millón) Marzo

10 y 24 Abril

5 y 12 Junio

Se cierra la sesión 1 pm.

Minuta reunión 2 diciembre 2008.

Proyecto: Diversificación de sistemas agroforestales, mediante el fomento en asociaciones de agricultoras(es), de la producción de plantas con componentes bioactivos de la región Huetar Norte y Atlántica de Costa Rica con el aporte de las universidades estatales de Costa Rica.

Lugar: Sala de reuniones de maestría, Escuela de Medicina UCR.

Hora: 1:30- 4 pm

Presentes: Ileana Moreira, Cecilia Díaz, Nancy Hidalgo, Jose Francisco Ciccio, Silvana Alvarenga, Monserrat Jarquín, Mairim Carmona, Elizabeth Arnáez.

Asuntos por discutir:

1. Cada investigados da un informe de lo realizado durante el 2008, se revisa además el informe de avance elaborado, para ser enviado al CONARE.
2. La Ing. Monserrat Jarquín sustituyó a Silvana Alvarenga durante su incapacidad el II semestre del 2008. La Ing Jarquín presenta un informe de lo realizado durante ese período y da el inform respectivo para ser incorporado en el informe anual para el CONARE.
3. Se comenta sobre la necesidad de elaborar un túnel para aclimatación de plantas en el invernadero del ITCR en Cartago, Elizabeth realizará las gestiones respectivas.
4. El crecimiento de las plantas en el laboratorio es muy lento, así que se recomendará a los agricultores que propaguen vegetativamente las plantas de raicilla, ya que se ha visto que esta técnica es mucho más rápida.
5. Se han introducido plantas de hombre grande, raicilla y zarzaparrilla en el bosque de Ana Lía en San Carlos.
6. Se acuerda darle muestras de zarzaparrilla y uña de gato a Alonso, para que las tenga en el Herbario Nacional y les haga el "voucher" respectivo. Elizabeth e Ileana le llevarán muestras.
7. Se comenta sobre la importancia de solicitar una ampliación del proyecto al FEES por un año más y a la vez ir pensando en otro proyecto más.
8. Se le consultará a Tomás Hidalgo sobre el extracto que hizo de uña de gato.
9. Silvana se dedicará durante el 2009 a la micropropagación , aclimatación y reproducción de cuculmecha.
10. Cecilia, Ciccio y Mildred se encargarán de completar la información e investigación en zarzaparrilla y uña de gato, para eso Elizabeth e Ileana les traerán más material para los extractos y realizar: estudios fitoquímicos, biológicos y de toxicidad, de estas dos especies.
11. Con base en los informes que cada uno realizó, Elizabeth se encargará de completar el documento y enviar el II informe de avance al CONARE.