



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIRIQUÍ
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
ESCUELA DE QUÍMICA

TESIS DE PREGRADO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE LICENCIATURA
EN QUÍMICA

**ABUNDANCIA Y DIVERSIDAD DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN
LA DIETA DE TROPAS DE MONOS AULLADORES (*Alouatta palliata*) DE
CHORCHA, CHIRIQUÍ**

PRESENTADO POR
SHARON DAYAN CUBAS PITTÍ

CIP: 4-782-2072

ASESORA
MSc. VIELKA DE GUEVARA

COASESORES
MSc. JOSÉ ARAÚZ BAÚLES
Lic. NICOMEDES JARAMILLO

CHIRIQUÍ, PANAMA, REPÚBLICA DE PANAMÁ

2019

*Abundancia y Diversidad de Metabolitos Secundarios en la
Dieta de Tropas de Monos Aulladores (Alouatta palliata) de
Chorcha, Chiriquí*

Dedicatoria

A mi madre quien con su amor único me ha guiado y apoyado durante toda mi vida para poder lograr todas las metas que me he propuesto siendo esta una de las más importantes para mí.

A mi padre que, pese a la distancia, ha sabido darme su incesante aliento para seguir adelante y no desvanecer.

A mis hermanos por su apoyo incondicional durante los años de carrera y de vida.

A Dios, quien cada día me brinda las fortalezas para afrontar cada obstáculo y me ha guiado en el camino para permitirme culminar mi carrera universitaria.

Agradecimientos

En la vida muchas veces obviamos que los logros que obtenemos no solo son gracias a nuestra dedicación e intelecto sino también al esfuerzo que personas a nuestro alrededor invierten en búsqueda de la superación de nosotros como individuos.

Deseo agradecer profundamente con todo mi corazón a la Dra. Laura Patiño, quien fue un pilar importante para mí durante el desarrollo de mi trabajo de investigación. Quiero agradecerle por su apoyo, paciencia, cariño, conocimientos impartidos y sobre todo por seguir a mi lado pese a las circunstancias injustas que se le presentaron, llevo en mi corazón todo el esfuerzo y empeño que me dedicó, por eso, Gracias.

Quiero agradecer a mis profesores asesores por su incondicional apoyo y dedicación en el desarrollo de esta investigación. Gracias por sus consejos y conocimientos para ayudarme a mejorar.

Por otro lado, quiero agradecer a todos los que de una u otra forma colaboraron en gran medida a la realización de este trabajo:

Primeramente, gracias al Centro de Investigación de Productos Naturales y Biotecnología (CIPNABIOT) por abrirme las puertas y pertenecer como estudiante tesista, por poner a mi disposición sus instalaciones para realizar mis estudios de investigación de grado.

Gracias al Lic. Nicomedes Jaramillo, por su colaboración en los análisis de espectroscopía infrarrojo.

Gracias a la Dra. Alice Pérez del CIPRONA en Costa Rica, por colaborarnos en la realización de los espectros de RMN.

Gracias a la Dra. Laura Patiño, por su ayuda en los análisis de elucidación estructural.

Gracias al Dr. Ariel Rodríguez, por brindarme sus conocimientos en el área de biología que hasta la realización de este trabajo eran desconocidos para mí.

Gracias al amigo Jesús de Proyecto Primate por ser mi guía y acompañante, por su apoyo y paciencia durante los muestreos en la Meseta de Chorcha

Gracias al Lic. Edmund Quintero, por sus consejos, su apoyo en el laboratorio y su colaboración en las ilustraciones de portada de este trabajo.

A Lic. Giancarlo Santos, por su apoyo y amistad.

A José Arturo Cedeño, por su apoyo incondicional desde el primer día en que decidí optar por esta carrera, por ser mi más grande amigo de la vida y siempre tener confianza en mí.

A mis amigos y compañeros: Janitzel, Randy, Daniel, Francheska, Yarisel y Roger, por su amistad, apoyo, consejos y cariño hacia mí durante todos estos años de carrera universitaria, los llevo en mi corazón.

Finalmente quiero dar gracias a Dios por permitirme gozar y cumplir este logro tan importante junto a mi familia, amigos, compañeros y profesores.

<i>Contenido</i>	
<i>Índice de Contenido</i>	7
<i>Índice de Tablas</i>	10
<i>Índice de Figuras</i>	13
<i>Índice de Flujograma</i>	16
1. Generalidades de la Investigación e Introducción General	18
1.1. Generalidades de la Investigación	19
<i>Resumen</i>	20
<i>Objetivos</i>	21
<i>Justificación de Investigación</i>	22
<i>Planteamiento del problema</i>	24
<i>Hipótesis de la investigación</i>	25
1.2. Introducción General	26
1.2.1. Marco Referencial	27
<i>Factores que afectan la biodiversidad de una región</i>	28
1.2.2. Generalidades del primate en estudio	31
1.2.2.1. Mono aullador (<i>Alouatta palliata</i>)	31
1.2.2.2. Clasificación taxonómica	32
1.2.2.3. Distribución geográfica mundial	33
1.2.2.4. Hábitat	33
1.2.3. Consumo alimenticio del mono aullador	34
1.2.3.1. Alimentación (Dieta)	34
1.2.3.2. Especies arbóreas	35
<i>Espavé (<i>Anacardium excelsum</i>)</i>	36
<i>Caimito (<i>Chrysophyllum cainito</i>)</i>	39
<i>Corotú (<i>Enterolobium cyclocarpum</i>)</i>	41
<i>Capulín (<i>Trema micrantha</i>)</i>	43
<i>Guayacán rosado (<i>Tabebuia rosea</i>)</i>	45
<i>(<i>Virola elongata</i>)</i>	47

1.2.3.3. Efectos del hábitat, la abundancia de alimentos y la distribución en el comportamiento.....	49
1.2.3.4. Importancia: Papel que desempeña y su estudio ecológico.....	50
1.2.3.5. Compuestos secundarios en la dieta de Primates	52
2. Metodología	54
2.1. Área General de Estudio – Muestreo	55
2.2. Tratamiento de la Muestra Vegetal.....	65
2.3. Tamizaje Fitoquímico	68
2.4. Perfil Químico	74
Separación y Purificación	74
2.4.1. Obtención del perfil químico.....	75
Cromatografía de capa fina (TLC).....	75
2.4.2. Separación y Purificación de componente químicos	75
Cromatografía en tlc preparativa	75
Cromatografía en columna.....	76
Cromatografía de exclusión Sephadex.....	76
2.5. Actividad Antioxidante (Bioautografía).....	78
2.6. Elucidación Estructural.....	81
2.6.1. Espectroscopía de Infrarrojo (IR)	82
2.6.2. Resonancia Magnética Nuclear (RMN).....	83
3. Resultados y Discusión de Resultados.....	85
3.1. Resultados	86
3.1.1. Observación de las tropas de mono aullador (<i>Alouatta palliata</i>).....	87
3.1.2. Tamizaje Fitoquímico.....	89
3.1.3. Perfil Químico	94
3.1.4. Separación y purificación	94
3.1.5. Actividad Antioxidante (Bioautografía con DPPH)	104
3.1.6. Análisis de los Espectros IR.....	109
3.1.7. Análisis de los Espectros RMN	116
3.2. Discusión de los Resultados.....	119
3.2.1. Muestreo.	120
3.2.2. Tamizaje fitoquímico.....	122
3.2.3. Actividad antioxidante.....	127

3.2.4. Perfil químico cualitativo.....	132
3.2.5. Análisis de espectros infrarrojos (IR).....	137
3.2.6. Análisis de espectro RMN.....	143
Argumentación final	146
5. Recomendaciones	149
6. Referencias Bibliográficas	151
7. Anexos.....	158
7.1. Cronograma de Investigación	159
7.2. Cromatogramas de Espectros IR.....	161
7.3. Cromatogramas de Espectros RMN.....	182
7.4. Ilustraciones	192

Índice de Tablas

<i>Tabla 1. Clasificación taxonómica del mono aullador, primate en estudio</i>	32
<i>Tabla 2. Porcentaje de tiempo empleado de acuerdo a la especie vegetal consumida</i>	34
<i>Tabla 3. Porcentaje de tiempo comiendo frutos de acuerdo con la familia vegetal</i>	35
<i>Tabla 4. Clasificación taxonómica del Espavé</i>	37
<i>Tabla 5. Clasificación taxonómica del Caimito</i>	39
<i>Tabla 6. Clasificación taxonómica del Corotú</i>	41
<i>Tabla 7. Clasificación taxonómica del Capulín</i>	43
<i>Tabla 8. Clasificación taxonómica del Guayacán rosado</i>	45
<i>Tabla 9. Clasificación taxonómica del Virola</i>	47
<i>Tabla 10. Puntos de muestreo</i>	88
<i>Tabla 11. Descripción de tropas de A. p. palliata observados durante el estudio</i>	88
<i>Tabla 12. Pruebas para identificación de alcaloides</i>	90
<i>Tabla 13. Pruebas para identificación de flavonoides</i>	90
<i>Tabla 14. Pruebas para identificación de esteroides y Triterpenos</i>	91
<i>Tabla 15. Pruebas para identificación de glicósidos cardiotónicos</i>	91
<i>Tabla 16. Pruebas para identificación de saponinas</i>	91
<i>Tabla 17. Pruebas para identificación de taninos</i>	91
<i>Tabla 18. Pruebas para identificación de compuestos fenólicos</i>	92
<i>Tabla 19. Pruebas para identificación de gomas y mucilagos</i>	92
<i>Tabla 20. Pruebas para identificación de carbohidratos</i>	92
<i>Tabla 21. Resultados obtenidos del Tamizaje Fitoquímico</i>	93

Tabla 22. Códigos de las muestras recolectadas para el estudio	95
Tabla 23. Muestras con mejor perfil químico	96
Tabla 24. Resultados de la bioautografía para actividad antioxidante de las muestras de extractos crudos	108
Tabla 25. Resultados de la bioautografía para actividad antioxidante de las fracciones purificadas	108
Tabla 26. Valores de las señales en los espectros infrarrojos de <i>A. excelsum</i>	110
Tabla 27. Valores de las señales en los espectros infrarrojos de <i>C. cainito</i>	111
Tabla 28. Valores de las señales en los espectros infrarrojos de <i>E. cyclocarpum</i>	112
Tabla 29. Valores de las señales en los espectros infrarrojos de <i>T. rosea</i>	113
Tabla 30. Valores de las señales en los espectros infrarrojos de <i>T. micrantha</i>	114
Tabla 31. Valores de las señales en los espectros infrarrojos de <i>V. elongata</i>	115
Tabla 32. Valores del espectro (1H-RMN) de la hoja del corotú recolectada en época seca, muestra H ₄₅₆	117
Tabla 33. Valores del espectro (1H-RMN) de la hoja del corotú recolectada en época lluviosa, fracción FxM56	117
Tabla 34. Valores del Espectro (1H-RMN) del fruto espavé, muestra FT04	117
Tabla 35. Valores del Espectro (1H-RMN) de fruto espavé, fracción FxA	118
Tabla 36. Datos de RMN para correlaciones de la muestra del fruto del espavé, (FxA) ..	118
Tabla 37. Metabolitos secundarios evidenciados por medio del tamizaje químico de acuerdo la especie arbórea	124
Tabla 38. Tipo de flavonoide evidenciado por especie en el análisis fitoquímico	130
Tabla 39. Ejemplos de flavonoides y su eficacia antioxidante, de acuerdo a su estructura química	131
Tabla 40. Datos de las señales en espectro IR del <i>Anacardium excelsum</i> (fruto del espavé)	137

<i>Tabla 41. Datos de las señales en espectro IR del Chrysophyllum cainito (fruto del caimito)</i>	138
<i>Tabla 42. Datos de las señales en espectro IR del Enterolobium cyclocarpun (hoja del corotú)</i>	138
<i>Tabla 43. Datos de las señales en espectro IR del Tabebuia rosea (hoja del guayacán).</i>	139
<i>Tabla 44. Datos de las señales en espectro IR del Trema micrantha (hoja del capulín)</i> ...	139
<i>Tabla 45. Datos de las señales en espectro IR del Virola elongata (fruto)</i>	139
<i>Tabla 46. Señales características de grupos funcionales en el espectro infrarrojo</i>	140
<i>Tabla 47. Absorciones IR para grupos funcionales representativos</i>	141

Índice de Figuras

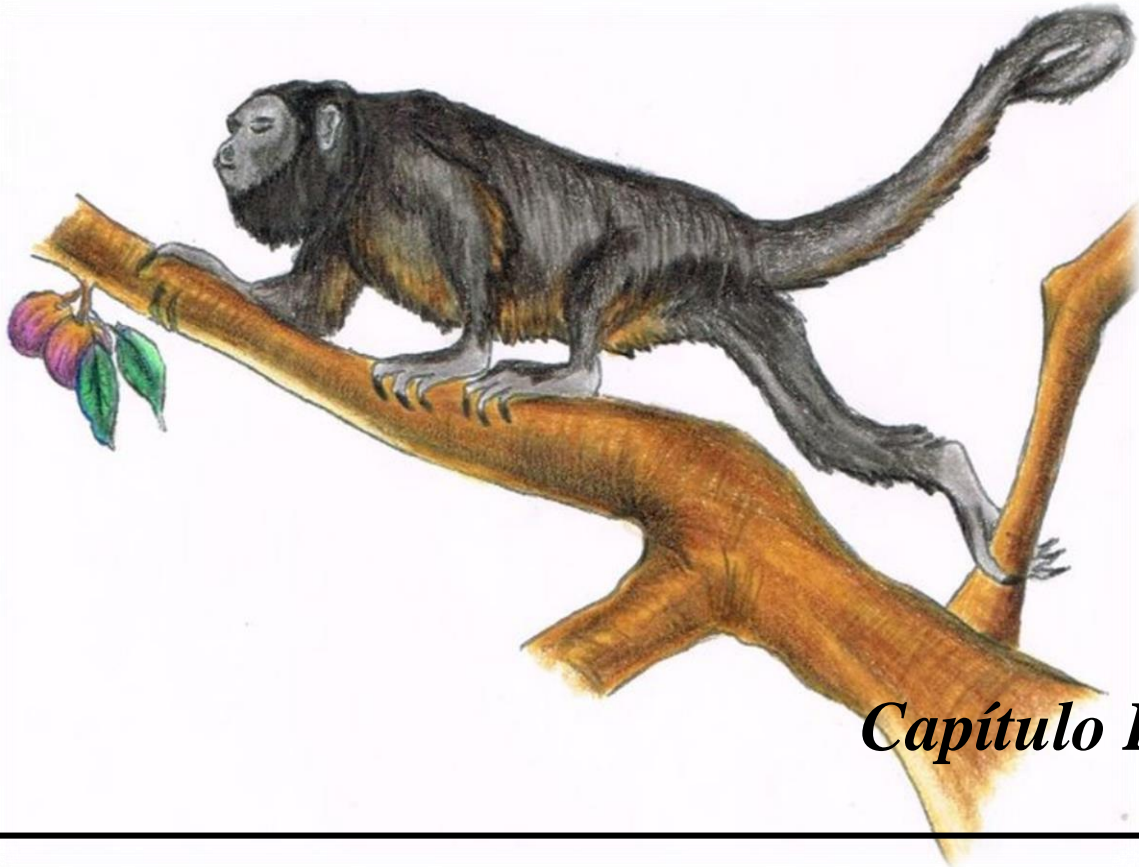
<i>Figura 1. Indicador de la IUCN para el estado de peligro del mono aullador (Alouatta palliata). Estado actual: Especie de menor preocupación (LC).....</i>	<i>24</i>
<i>Figura 2. Alouatta palliata observado en la parte baja de la meseta de Chorcha, Chiriquí....</i>	<i>32</i>
<i>Figura 3. Mona aulladora en la meseta de Chorcha, Chiriquí.....</i>	<i>33</i>
<i>Figura 4. Mono aullador adulto desplazándose del árbol del A. excelsum al de C. cainito....</i>	<i>36</i>
<i>Figura 5. Vista satelital de la meseta de Chorcha.....</i>	<i>57</i>
<i>Figura 6. Inicio del ascenso de la meseta de chorcha.....</i>	<i>57</i>
<i>Figura 6. Sectores y puntos de muestreo de área de estudio, Meseta de Chorcha.....</i>	<i>58</i>
<i>Figura 8. Fruto de caimito con evidencia de herbivoría.....</i>	<i>59</i>
<i>Figura 9. Rastros de las hojas de corotú dejados por las tropas durante su alimentación....</i>	<i>60</i>
<i>Figura 10. Toma de muestra vegetal.....</i>	<i>60</i>
<i>Figura 11. Toma de muestras vegetales.....</i>	<i>61</i>
<i>Figura 12. Anotación de punto de muestreo.....</i>	<i>62</i>
<i>Figura 13. Recomendaciones para muestreo por parte del Dr. Ariel Rodríguez.....</i>	<i>62</i>
<i>Figura 14. Guardado de muestras para prensar.....</i>	<i>63</i>
<i>Figura 15. Extractos etanólicos en dilución de 0.5/5.0 mL y 0.5/6.0 mL.....</i>	<i>66</i>
<i>Figura 16. Prueba para alcaloides. Patrones empelados cafeína, tryptamina y teobromina.....</i>	<i>69</i>
<i>Figura 17. Prueba de saponina. Ensayo de formación de espuma con patrón de saponina.....</i>	<i>69</i>
<i>Figura 18. Prueba de Salkowski para esteroides y triterpenos. Patrones empleados etinil estradiol, estradiol hemihidratado, ácido ursólico y β- sitosterol.....</i>	<i>70</i>
<i>Figura 19. Prueba de NaOH al 5% para flavonoides. Patrones empleados quercetina y hesperidina.....</i>	<i>70</i>
<i>Figura 20. Prueba de Legal para glúcidos cardiotónicos.....</i>	<i>71</i>
<i>Figura 21. Prueba de Cloruro férrico para compuestos fenólicos. Patrones empleados ácido gálico y ácido cafeico.....</i>	<i>71</i>
<i>Figura 22. Elución de placas.....</i>	<i>79</i>

<i>Figura 23. Infrarrojo SHIMADZU IR AFFINITY-1. Utilizado para análisis de las muestras.....</i>	<i>82</i>
<i>Figura 24. Preparación de muestras para análisis en RMN. Realizada por la Dra. Alice Pérez, CIPRONA-UCR.....</i>	<i>83</i>
<i>Figura 25. Equipo para análisis de resonancia magnética nuclear. BRUKER Ascend™ 600, CIPRONA-UCR.....</i>	<i>83</i>
<i>Figura 26. Placa de fase reversa eluida con metanol. La muestra señalada corresponde a la H₄₅₆ (hoja del Enterolobium cyclocarpum), se puede observar diversas fracciones lo que sugiere diversos compuestos químicos. Revelado de placa con vainillina.....</i>	<i>96</i>
<i>Figura 27. Placas en fase normal eluidas con una mezcla de acetato-hexano (7:3). La muestra señalada corresponde a la FT03 y FT04 (fruto del Anacardium excelsum), se logra observar cuatro fracciones que sugieren distintos compuestos químicos. De derecha a izquierda: Revelado de placa con vainilla y bajo luz UV (254 nm).....</i>	<i>97</i>
<i>Figura 28. Placa en fase normal eluida con una mezcla de hexano-acetato (8:2). La muestra señalada corresponde a la H06_{HO} (hoja de Trema micrantha). Revelado con vainillina.....</i>	<i>97</i>
<i>Figura 29. Fracciones obtenidas de separación en Sephadex de la Muestra H₄₅₆ (hoja de Enterolobium cyclocarpum). Las manchas señaladas son compuestos interés. Revelado bajo luz de 354nm.....</i>	<i>99</i>
<i>Figura 30. Fracciones separadas de la muestra H₄₅₆ (hoja de Enterolobium cyclocarpum). Para observar la eliminación de la clorofila (mancha en rojo) de la muestra.....</i>	<i>99</i>
<i>Figura 31. Fracciones obtenidas de separación en columna de sílica fase normal de la Muestra FT04 (fruto del Anacardium excelsum) eluida con una mezcla de acetato-hexano (8:2). Las manchas señaladas son los compuestos de interés. De arriba hacia abajo: Revelado bajo luz UV a 254nm y fluorescencia a 354nm respectivamente.....</i>	<i>100</i>
<i>Figura 32. Fracciones separadas de la muestra FT04 (fruto del Anacardium excelsum). De Izquierda a derecha: Revelado bajo luz UV 254 nm y Revelado con vainillina respectivamente.....</i>	<i>101</i>
<i>Figura 33. Placa de fase reversa de las fracciones separadas de la muestra FT04 (fruto del Anacardium excelsum) eluida en acetonitrilo como fase móvil. Revelado con vainillina.....</i>	<i>101</i>

<i>Figura 34. Fase reversa de las fracciones obtenidas de la TLC preparativa de la muestra FT04 (fruto del Anacardium excelsum). Fase móvil acetonitrilo al 100% y revelado con vainillina. Verificación de separación de fracciones.....</i>	<i>102</i>
<i>Figura 35. Elución de TLC preparativa en fase normal de la muestra H06HO (hoja de Trema micrantha en una mezcla de hexano - acetato (9:1) como fase móvil. Inyección de la Muestra fue de 120 mg.....</i>	<i>102</i>
<i>Figura 36. TLC preparativa eluida de la muestra H06HO. De derecha a izquierda: Placa observada sin revelador, Placa revelada con luz uv (254nm) y placa revelada en fluorescencia (366nm) respectivamente. Las muestras señaladas son el componente de interés.....</i>	<i>103</i>
<i>Figura 37. Placa de las dos bandas separadas de la TLC preparativa de la muestra H06HO (hoja de Trema micrantha). Revelado con vainillina.....</i>	<i>103</i>
<i>Figura 38. Revelado de placas eluidas en fase móvil de mezcla de Hexano-Acetato (8:2). Muestra de caimito, corotú y guayacán rosado (de izquierda a derecha).....</i>	<i>106</i>
<i>Figura 39. Revelado de placas eluidas en fase móvil de mezcla de Acetato-Hexano (7:3). Muestra de espavé y virola (de izquierda a derecha).....</i>	<i>107</i>
<i>Figura 40. Revelado de placas eluidas, muestras de fracciones separadas de corotú, capulín y espavé (de izquierda a derecha).....</i>	<i>107</i>
<i>Figura 41. Tropa de monos aulladores observados en la Meseta de Chorchá.....</i>	<i>122</i>
<i>Figura 42. Mecanismo de la capacidad captadora de radicales de los compuestos fenólicos.....</i>	<i>128</i>
<i>Figura 43. Estructura básica de flavonoide. De izquierda a derecha: flavonoide y chalcona.....</i>	<i>129</i>
<i>Figura 44. Estructura química básica: A) flavona, B) flavanona y C) antocianina (R1 y R2 pueden ser H o azúcares, R puede ser OH o H.....</i>	<i>130</i>
<i>Figura 45. Muestra H456 eluida en fase reversa con metanol como fase móvil. de izquierda a derecha revelado en luz UV 254 nm, 366 nm y con vainillina.....</i>	<i>135</i>
<i>Figura 46. Muestra FT03 y FT04 eluida en fase normal y acetato-hexano (7:3) como fase móvil. de izquierda a derecha revelado en luz UV 254 nm, 366 nm y con vainillina.....</i>	<i>136</i>
<i>Figura 47. Estructura química del compuesto obtenida de la muestra FxA, fruto del espavé.....</i>	<i>144</i>
<i>Figura 48. Estructura química de compuesto bioactivo de planta del género Anacardium.....</i>	<i>145</i>

Índice de Flujograma

<i>Flujograma 1. Muestreo – Recolección de la muestra vegetal.....</i>	<i>64</i>
<i>Flujograma 2. Tratamiento de muestras vegetal – Obtención de Extractos.....</i>	<i>67</i>
<i>Flujograma 3. Pruebas de tamizaje fitoquímico.....</i>	<i>72</i>
<i>Flujograma 4. Pruebas de tamizaje fitoquímico.....</i>	<i>73</i>
<i>Flujograma 5. Técnicas cromatográficas empleadas para separación y purificación de componentes químicos.....</i>	<i>77</i>
<i>Flujograma 6. Ensayo para presencia de actividad antioxidante.....</i>	<i>80</i>
<i>Flujograma 7. Técnicas de espectroscópicas empleadas para la elución estructural de fracciones purificadas y crudas.....</i>	<i>84</i>



Capítulo I

1. Generalidades de la Investigación e Introducción General

Parte I

1.1. Generalidades de la Investigación



En Chiriquí, la fauna enfrenta diversas amenazas, lo que hace necesario tomar acciones que ayuden a mitigar, restaurar y preservar nuestra diversidad biológica. En las tierras bajas de la provincia de Chiriquí se pueden encontrar tres especies de primates, el mono aullador (*Alouatta palliata*), mono cariblanco (*Cebus imitator*), mono tití chiricano (*Saimiri oerstedii*). Las poblaciones de estas especies se han visto amenazadas por actividades antropogénicas, afectando la estabilidad ecológica de la biodiversidad de la región. La ecología química, que es el estudio de los compuestos químicos de origen biológico implicados en las interacciones de organismos vivos, busca establecer cuál es la relación que existe entre las tropas de mono aullador (*A. palliata*) de Chorcha y los metabolitos secundarios identificados en las partes de las plantas al momento de consumirlas por estos, de modo que se pueda respaldar desde el punto de vista de la composición química, la importancia de la conservación de esas especies vegetales para la dieta de los primates, en los reductos boscosos. Se realizó observación focal siguiendo las tropas durante su actividad de alimentación, por período de 3 a 4 horas en las mañanas. Las especies arbóreas fueron recolectadas, etiquetadas y posteriormente identificadas por el herbario de la Universidad Autónoma de Chiriquí (UNACHI); un espécimen voucher de cada especie vegetal reposa en los archivos como referencia. En el estudio se identificaron metabolitos secundarios presentes en flor, hoja, raquis y fruto de seis especies arbóreas de las familias *Anacardiaceae*, *Sapotaceae*, *Cannabaceae*, *Myristicaceae*, *Fabaceae* y *Bignoniaceae*, un 70% eran ricas en flavonoides, esteroides y terpenos mayormente las más consumidas, sin embargo, se pudo identificar que las saponinas y taninos también forman parte de la composición química de las especies vegetales estudiadas. Por medio del estudio se pudo obtener un registro de los principales grupos químicos de metabolitos secundarios que contemplan la alimentación de (*A. palliata*) y de cómo estos componentes infieren beneficiosamente sobre la relación planta-primate. Se espera también que posteriormente se le puedan dar a las especies vegetales encontradas utilidades medicinales para empleo en los seres humanos. Se logró inferir sobre la situación actual de las tropas del mono aullador en la región, para poder rescatar de esta manera la discusión del problema de pérdida de biodiversidad en la provincia, y tomar los hilos de las soluciones que se deben dar a nivel de Estado para la conservación efectiva de la biodiversidad.

Objetivo General

- Evaluar la abundancia y diversidad de metabolitos secundarios en la dieta de tropas de monos aulladores (*Alouatta palliata*) de la región de Chorcha, Chiriquí.

Objetivos Específicos

- Identificar las especies arbóreas que comprenden la dieta de tropas de *A. palliata*.
- Obtener los extractos etanólicos de las diversas partes de las especies arbóreas que comprenden la dieta de tropas de *A. palliata*.
- Identificar la presencia de metabolitos secundarios en las fracciones mediante ensayo preliminar fitoquímico.
- Purificar las fracciones de interés de los extractos obtenidos haciendo uso de las técnicas cromatográficas.
- Elucidar y caracterizar los metabolitos secundarios predominantes de la dieta de tropas de *A. palliata*, mediante técnicas espectroscópicas como infrarrojo (IR) y resonancia magnética nuclear (RMN).

Nuestro país tiene una gran biodiversidad de especies vegetales que aún no han sido investigadas o bien no se conoce a totalidad los componentes particulares de cada una de ellas y los beneficios que estas otorgan al organismo que las consumen. De estas especies vegetales no estudiadas en muchos casos depende la sobrevivencia de diferentes especies del reino animal. En diversas ocasiones por acción del hombre estas son deforestadas de los hábitats de donde los animales tienen acceso a su alimento. El estudio de la vegetación boscosa de cada región ayuda a reconocer los recursos con los que se cuenta.

Los primates son especies que necesitan del bosque para sobrevivir, donde encuentran su principal fuente de alimento y hábitat para el desarrollo de sus poblaciones. Más de la mitad de especies de primates a nivel mundial enfrentan riesgo de extinción en las próximas décadas, debido a las amenazas a las que están sometidas. En 2010 se realizó un reporte, compilado por 85 expertos de alrededor del mundo, donde se reveló que cerca de la mitad de especies de primates están en peligro de extinción por la destrucción de los bosques tropicales, el comercio ilegal de especies silvestres y la caza comercial de carne de animales silvestres. Esta lista incluye a cinco especies de primates de Madagascar, seis de África, 11 de Asia y tres de América del Sur, los cuales necesitan de más acciones urgentes de conservación (**Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza - UICN, 2010**). Casi la mitad, el 48%, de las 634 especies de primates está clasificada como amenazada de extinción en la Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN. Las mayores amenazas son la destrucción del hábitat; particularmente por la quema y tala de bosques tropicales (que resulta en la liberación de alrededor del 16% de emisiones de gases de efecto invernadero globales que causan el cambio climático), la caza de primates para alimentación y el comercio ilegal de especies de vida silvestre. En estudios previos en países como Brasil, Colombia y México (**Sarukhán, 2009**), se ha identificado que aproximadamente existen alrededor de 60 plantas que son consumidas por estos primates, sin embargo, no se tiene información puntual de la composición química de todas, ya que se realizan mayormente estudios observacionales de comportamiento.

En Panamá solo existen reportes previos realizados en poblaciones de monos aulladores de la Isla de Barro Colorado (BCI) en las décadas del 70 y 80, por la Dra. Katherine Milton

(Milton, 1977) donde presenta datos del contenido de macronutrientes (proteína cruda total, grasa y carbohidratos no estructurales) de 19 especies de frutos colectados en un solo bosque en la Isla de Barro Colorado, región central de Panamá. En la provincia de Chiriquí, a través del Proyecto Primates Panamá se comenzó hace 2 años con estos estudios de Ecología Química (estudio de los compuestos químicos de origen biológico implicados en las interacciones de organismos vivos) en la dieta de poblaciones de monos aulladores que habitan la Península de Burica, distrito de Barú; siendo este presente estudio la continuación de esa investigación. Entre las principales familias de plantas que consumen se ha registrado que presentan metabolitos secundarios de interés químico, entre ellos están el grupo de los flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, saponinas, esteroides y terpenos. Es por ello por lo que es de suma importancia el estudio químico de las plantas que contemplan la dieta de las tropas de monos aulladores en nuestra provincia. Y ver de esta manera como beneficia al bienestar de esta especie. Este trabajo pretende fortalecer las bases para promover las investigaciones multidisciplinarias sobre todo en el ámbito de conservación y preservación de la biota de nuestro patrimonio natural por medio del análisis de los extractos etanólicos de las diversas especies vegetales obtenidas de la dieta del *A. palliata*, para así poder obtener un registro de los principales grupos químicos de metabolitos secundarios que contemplan la alimentación de estos primates y poder obtener un mayor conocimiento de cómo impacta y como se ve beneficiado el organismo de los mismos por estos componentes. Posteriormente, también poder obtener las utilidades medicinales que se le puedan dar a las especies vegetales encontradas para beneficio o empleo de los seres humanos.

Planteamiento del problema

Hace aproximadamente 60 años la población de monos aulladores fue diezmada considerablemente por una epidemia de fiebre amarilla ocurrida en el país. Se estima que murió un cuarto de la población. En algunos sitios tales como el valle del río Changuinola y gran parte de la vertiente del Caribe de Bocas del Toro las poblaciones todavía no se han recuperado. Se une a esta catástrofe la eliminación de grandes extensiones boscosas y la cacería furtiva e inescrupulosa que realizan algunas personas. El *Alouatta palliata* es considerado de acuerdo con la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN) en su revisión 2011 de la Lista Roja (**Centro de información ambiental de la cuenca - CIAC, 2005**), como una especie de "menor preocupación" (LC) (figura 1) sin embargo, según los datos de Panamá, se considera una especie con potencial de peligro crítico.

En resumen, los primates son unos de los principales mamíferos que deben ser estrictamente protegidos por las leyes nacionales existentes. Falta profundizar el conocimiento, la conciencia y la voluntad de las autoridades y de los ciudadanos para cumplir y hacer cumplir las leyes que protegen a estos primates. En Panamá se requieren más estudios de la especie y de su alimentación para poder determinar el estado de las poblaciones en diferentes regiones del país, así como delimitar de manera más específica el estado actual de su hábitat y la diversidad vegetal disponible en los bosques.

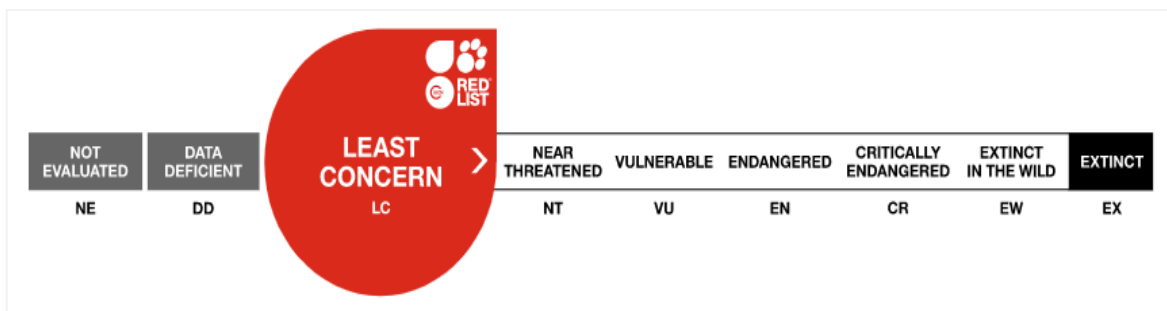


Figura 1. Indicador de la IUCN para el estado de peligro del mono aullador (*Alouatta palliata*).

Estado actual: Especie de menor preocupación (LC). Fuente: <https://www.iucnredlist.org/>

HIPÓTESIS

Los extractos obtenidos de las especies vegetales que forman parte de la dieta del *Alouatta palliata*, presentan un perfil químico diverso de metabolitos secundarios.

HIPÓTEISIS NULA

Los extractos obtenidos de las diversas plantas que abarcan la dieta del *Alouatta palliata*, no presentan un perfil químico diverso de metabolitos secundarios.

Parte II

1.2. Introducción General



1.2.1. MARCO REFERENCIAL

Panamá es un puente único de extrema importancia biológica. Es uno de los puntos más relevantes de la biodiversidad mundial y ocupa el cuarto lugar entre los 25 países más ricos en plantas en el mundo, con un 13.4% de especies endémicas. Las características geográficas del Istmo de Panamá son responsables de su diversa flora y fauna. Sin embargo, existe una gran diversidad de especies, aun sin investigar.

Nuestro país tiene una inigualable riqueza natural, dos grandes mares, miles de especies de fauna y flora objeto de múltiples estudios científicos. Panamá se constituye como uno de los puentes de vida y tránsito de especies de toda índole más importantes. **(Jaén, 2007)**.

Existen más de 2,000 especies de plantas en la Costa Atlántica solamente, con un total de más de 10,000 especies en el país, estas plantas son parte de la fundación de una cadena ecológica increíblemente diversa. Esta cadena también incluye miles de especies de insectos y aves, aproximadamente 975 especies entre la flora y fauna del país, unas 230 especies de mamíferos que incluyen, ballenas, manatíes, primates, conejos, jabalíes, venados, tapires, zarigüeyas, grandes felinos, roedores, murciélagos, armadillos, osos hormigueros, y por supuesto perezosos y un sin número de especies de anfibios (cientos) aún desconocidos, y reptiles (al menos 130 que viven solo en la ribera del canal), incluyendo cocodrilos, caimanes, lagartos, serpientes, lagartijas, tortugas terrestres y marinas. **(González, 2015)**.

Nuestro punto de partida para este estudio es la provincia de Chiriquí que posee una flora de ambientes tan disímiles como lo son los marinos, los de agua dulce y los terrestres. Dentro de esos ambientes identificamos especies que son endémicas y también especies de limitada distribución, algunas de ellas amenazadas. De acuerdo con **(Rodríguez, 2018)**, los recursos naturales de la provincia de Chiriquí están ligados a su historia geológica y orográfica, que incluyen ecosistemas marinos de aguas someras y profundas, los manglares extensos, y que, junto a las decenas de islas de diversos tamaños y condiciones ambientales, sumados al ecosistema marino costero, acogen una riqueza natural particular.

En la provincia se diferencian las tierras bajas desde el nivel del mar hasta los 600 metros, las tierras intermedias o estribaciones desde los 600 hasta los 1,200 metros y las tierras altas

que van desde los 1,200 metros hasta los 3,475 metros en la cima del Volcán Barú. (Rodríguez, 2018) señala que, desde las montañas, la red hidrográfica ha moldeado el terreno creando hábitats particulares para plantas y animales de tierra firme y también ha configurado la riqueza acuática y estuarina de Chiriquí.

En las tierras bajas de la provincia de Chiriquí se pueden encontrar tres especies de primates, como lo son el mono aullador (*Alouatta palliata*), mono cariblanco (*Cebus imitator*), mono tití (*S. oerstedii*); sin embargo, las poblaciones de estas especies se han visto amenazadas por diversos factores, principalmente por la pérdida de extensiones boscosas y la cacería furtiva que realizan habitantes de las regiones en las que los primates se encuentran, de esta manera se desmejora la diversidad alimenticia de las especies que viven en ella y a su vez hace efecto sobre la biodiversidad de la región. (Ruíz, 2008).

Factores que afectan la biodiversidad de una región

Según Sarukhán (2009), los factores directos que impactan y amenazan a las especies son las siguientes:

❖ Pérdida de hábitats

La pérdida y deterioro de los hábitats es la principal causa de pérdida de biodiversidad. Al transformar selvas, bosques, matorrales, pastizales, manglares, lagunas, y arrecifes en campos agrícolas, ganaderos, granjas camaroneras, presas, carreteras y zonas urbanas destruimos el hábitat de miles de especies. Muchas veces la transformación no es completa, pero existe deterioro de la composición, estructura o función de los ecosistemas que impacta a las especies y a los bienes y servicios que obtenemos de la naturaleza.

La pérdida de hábitat sucede por el “cambio de uso del suelo” de ecosistemas naturales (bosques, selvas, pastizales, etc.) a actividades agrícolas, ganaderos, industriales, turísticas, petroleras, mineras, etc., todas ellas contempladas en las evaluaciones de impacto ambiental.

❖ Especies invasoras

La introducción de especies no nativas (exóticas) que se convierten en invasoras (plagas) es una causa muy importante de pérdida de biodiversidad. Estas especies que provienen de sitios

lejanos de manera accidental o deliberada depredan a las especies nativas, compiten con ellas, transmiten enfermedades, modifican los hábitats causando problemas ambientales, económicos y sociales.

❖ **Sobreexplotación**

La sobreexplotación es la extracción de individuos de una población a una tasa mayor a la de su reproducción. Cuando esto sucede la población disminuye. Esta ha sido la historia de muchas de las especies que se han explotado por distintas razones: las ballenas, los peces, venados, cactus, orquídeas. Muchas de ellas ahora se encuentran en peligro de extinción. Algunas especies son más vulnerables que otras por sus características biológicas como: distribución restringida, abundancia baja, tasa alta de mortalidad, tasa reproductiva baja, alta congregación de la población, entre otras.

Las actividades de cacería, tala, pesca, comercio ilegal de especies con distintos fines, afectan a las especies al sobreexplotar sus poblaciones. Los compradores de organismos y productos ilegales son cómplices de la sobreexplotación.

❖ **Contaminación**

El aumento en la presencia de sustancias químicas en el ambiente como resultado de las actividades humanas tiene graves consecuencias para muchas especies. Las actividades industriales, agrícolas, ganaderas y urbanas contribuyen substancialmente a la contaminación de aire, agua y suelos. Por mucho tiempo la contaminación fue un problema de una escala espacial pequeña, sin embargo, actualmente la producción de contaminantes afecta a todo el planeta. Algunos contaminantes han debilitado la capa de ozono que protege a los seres vivos de las radiaciones ultravioletas del Sol, mientras que otros han provocado el calentamiento global. La contaminación del agua, del suelo y del aire afecta directamente a muchos organismos aun en lugares remotos.

❖ **Cambio climático**

Durante los pasados 100 años se ha documentado el aumento de la temperatura promedio de la atmósfera y de los océanos del planeta debido al incremento en la concentración de gases de efecto invernadero (Bióxido de carbono, metano, óxidos de nitrógeno, ozono, clorofluorocarbonados y vapor de agua) producidos por la quema de combustibles fósiles y

por la deforestación, una combinación de producción en exceso y reducida capacidad para capturar la contaminación.

Las consecuencias son cambios radicales en la distribución de ecosistemas y especies, aumento en el nivel del mar, desaparición de glaciares y de grandes extensiones de corales, climas impredecibles y extremos como sequías y tormentas. El cambio climático afecta a todos los organismos del planeta, muchos de ellos ya están respondiendo a esta nueva dinámica a través de cambios en su distribución y sus migraciones. **(Sarukhán, 2009).**

Nuestro país protege cerca del 20% de su territorio y es firmante de acuerdos internacionales tales como la Convención sobre Diversidad Biológica (CDB) y Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES), así como varios convenios regionales, enfocados en fortalecer los objetivos de la conservación de la biodiversidad de Panamá.

Hay necesidad, sin embargo, de reforzar la protección de las tierras bajas muy húmedas, que son grandes zonas ecoflorísticas y bosques húmedos de manglar. Panamá comparte un número de especies amenazadas, centros de ámbitos de distribución restringidos de aves y de zonas con gran diversidad vegetal con sus países vecinos, particularmente Costa Rica **(World Conservation Monitoring Centre - WCMC, 2015).**

En la provincia de Chiriquí, la fauna se enfrenta a diversas amenazas, entre las arriba mencionadas, por lo que se hace necesario tomar acciones que ayuden a mitigar, restaurar y preservar nuestra diversidad biológica. En el caso particular de las poblaciones de primates, los estudios de Ecología Química, ligados al análisis de la composición química de las especies vegetales, tiene entre sus objetivos determinar si existe una relación directa entre los metabolitos secundarios presentes en las especies vegetales consumidas por ellos y la preferencia en el consumo; de modo que se pueda respaldar desde el punto de vista de la composición química, la importancia de la conservación de esas especies vegetales para la dieta de los primates, en los reductos boscosos y de esa forma ayudar a la protección de estos.

En este estudio se determinaron los metabolitos secundarios presentes en las plantas que son consumidas por las tropas de monos aulladores (*Alouatta palliata*) de zonas ubicadas en la región oriental de la provincia. La finalidad era poder evaluar la variedad vegetal de la dieta

de los *A. palliata* y en qué manera la misma aporta beneficios al organismo de los primates. Con la investigación se podrá obtener mayor registro de la situación actual de las tropas del mono aullador y de esta manera poder rescatar la discusión del problema de pérdida de biodiversidad en la provincia, y tomar los hilos de las soluciones que se deben dar a nivel de Estado para la conservación efectiva de la biodiversidad.

1.2.2. GENERALIDADES DEL PRIMATE EN ESTUDIO

1.2.2.1. Mono aullador (*Alouatta palliata*)

El mono aullador (*Alouatta palliata*), es un primate, relativamente grande y conspicuo, que habita los bosques de Panamá (Méndez, 2007). Su cuerpo mide aproximadamente medio metro de largo y la cola mide poco más de medio metro. Los adultos pesan entre dos libras y media y cuatro libras. Tienen las piernas, los brazos y la cola muy fuertes y de apariencia robusta. El macho es más grande y con barba más larga que la hembra.

Tienen el pelaje del cuerpo de color negro intenso, excepto la espalda que tiene un conspicuo manto de color amarillo-oro o rojizo (figura 2). Tienen la cara desnuda de color gris y con barba. Sus brazos y sus piernas son casi del mismo tamaño. Son de hocico saliente y orejas pequeñas, la cabeza, a diferencia del resto del cuerpo aparenta un pelaje bastante corto y la cola es larga y prensil, o sea puede sujetar ramas y cualquier tipo de objetos. En sus manos y pies posee cinco dedos alargados, con uñas similares a las humanas. (Méndez, 2007).

El mono aullador es el mamífero que emite los aullidos más fuertes y estentóreos en los bosques tropicales del continente americano. Sus aullidos pueden ser escuchados a varios kilómetros de distancia. Estos monos o primates son unos magníficos organismos que han desaparecido de extensas zonas de nuestro país (CIAC, 2005), por efecto de la tala indiscriminada de los bosques primarios, parches boscosos secundarios, bosques riberinos y por la cacería furtiva. Existen en Panamá, dos especies de monos aulladores: el *Alouatta coibensis* que habita en los bosques de la Islas de Coiba y Jicarón, en los reductos boscosos de la Península de Azuero, principalmente en el Parque Nacional Cerro Hoya y el *Alouatta palliata* del cual las poblaciones más representativas de esta especie en Panamá se localizan en: el Parque Internacional La Amistad, la Península de Burica, algunas islas del

Archipiélago del Golfo de Chiriquí, Cerro Batipa, la Isla de Barro Colorado, el Parque Nacional Soberanía, el Parque Nacional Chagres, el Parque Nacional Darién y probablemente en la mayor parte de los bosques de la vertiente del Caribe. (CIAC, 2005).



Figura 2. *Alouatta palliata* observado en la parte baja de la meseta de Chorcha, Chiriquí.

1.2.2.2. Clasificación taxonómica

La clasificación del primate en estudio se describe en la tabla 1, a continuación:

Tabla 1. Clasificación taxonómica del mono aullador, primate en estudio.

Nombre Científico	<i>Alouatta palliata</i>
Reino	Animalia
Phylum	Chordata
Subphylum	Vertebrata
Clase	Mammalia
Orden	Primates
Familia	Atelidae
Nombre Común	Mono negro, aullador, congo, concón, gungún.

1.2.2.3. Distribución geográfica mundial

Se distribuye desde los estados orientales de Veracruz, Oaxaca, Chiapas y Tabasco pasando por México y Honduras hasta el oeste de los Andes de Colombia, Ecuador y el norte de Perú. En Panamá es posible encontrar poblaciones fragmentadas dispersas o aisladas entre sí, de este primate a todo lo largo del Istmo. Tiene preferencia por los bosques húmedos primarios, de dosel alto, bosques semicaducifolios, bosques ribereños, zonas semipantanosas y manglares densos. No se adapta mucho, como otras especies del mismo género, a áreas de vegetación intervenida, ni a parches de bosque aislados. Se puede encontrar desde el nivel del mar hasta los 2,500 metros de altura.

1.2.2.4. Hábitat

En Panamá viven principalmente asociados a los bosques primarios de dosel alto. Son considerados los usuarios por excelencia del dosel, o sea, la parte más alta de los árboles, donde encuentran los brotes, flores, frutos y las hojas tiernas que necesitan en su dieta (figura 3). Descansan o reposan sobre ramas de árboles robustos y sombreados.

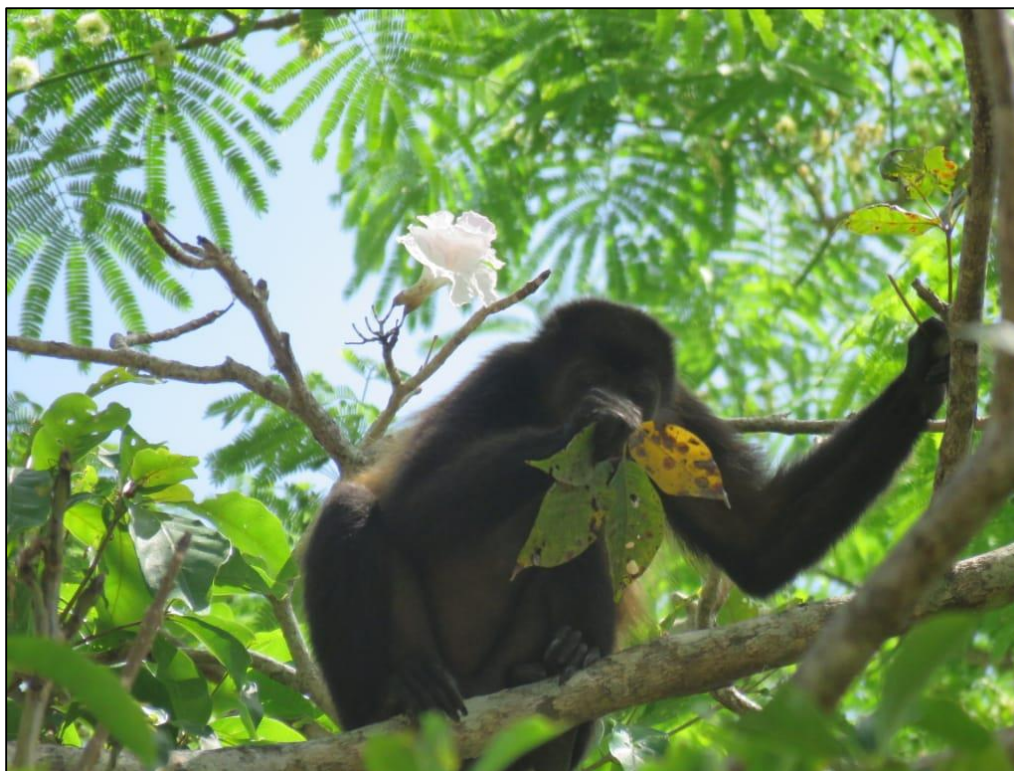


Figura 3. Mona aulladora en la meseta de Chorcha, Chiriquí.

1.2.3. CONSUMO ALIMENTICO DEL MONO AULLADOR

1.2.3.1. Alimentación (Dieta)

En estudios realizados por (Díaz & Rangel, 2015) se logró examinar las dietas de los monos aulladores para describir exhaustivamente sus recursos alimenticios y la diversidad de su dieta. Analizando los efectos de la pluviosidad, tamaño grupal y tamaño del bosque en que viven los grupos y cómo influye sobre la variación en su dieta. Los monos aulladores consumen casi todas las partes vegetales presentes en sus hábitats. Sin embargo, el tiempo dedicado al consumo de diferentes tipos de alimentos varía entre especies y poblaciones, de tal manera que la conducta alimenticia de los monos aulladores puede ser altamente folívora o frugívora. Los monos aulladores usan como recurso alimenticio al menos 1,165 especies de plantas, pertenecientes a 479 géneros y a 111 familias.

Cabe destacar que la mayor parte de su dieta se constituye de hojas, en especial las nuevas, ya que son más suaves y poseen niveles más altos de proteína que las maduras (Díaz & Rangel, 2015). También consumen grandes cantidades de frutos y en menor proporción brotes y flores. Para encontrar mayor cantidad y calidad de los elementos de su dieta, se la pasa gran parte de su vida en la parte más alta de los árboles. Para comer se sienta y alcanza su alimento estirando sus extremidades anteriores, o se cuelga de la cola y de sus patas posteriores. También emplean sus molares superiores ya que tienen crestas filosas, especiales para rajar y triturar su comida.

De acuerdo con un estudio llevado a cabo en México en 2010, se documentó que la dieta se compone porcentualmente de 48,2% de hojas, 42,1% de frutos y 17,9% flores. (Thomas, 2010). Según el estudio, el porcentaje de tiempo empleado de acuerdo con la especie vegetal (tabla 2) y el tiempo comiendo frutos de acuerdo a la familia son los presentados en las siguientes tablas.

Tabla 2. Porcentaje de tiempo empleado de acuerdo a la especie vegetal consumida.

Especie	Familia	Porcentaje
<i>Ficus yaponensis</i>	Moraceae	20,95%
<i>Ficus insípida</i>	Moraceae	14,89%
<i>Brosimum alicastrum</i>	Moraceae	6,08%

<i>Platypodium elegans</i>	Fabaceae	5,65%
<i>Inga fagifolia</i>	Fabaceae	3,86%
<i>Poulsenia armata</i>	Moraceae	3,63%
<i>Spondias mombin</i>	Anacardiaceae	2,63%
<i>Cecropia insignis</i>	Moraceae	2,24%
<i>Hyeronima laxiflora</i>	Euphorbiaceae	1,99%
<i>Lacmellea panamensis</i>	Apocynaceae	0,67%

Tabla 3. Porcentaje de tiempo comiendo frutos de acuerdo con la familia vegetal.

Familia	Porcentaje
<i>Moraceae</i>	47,79%
<i>Leguminosae</i>	9,5%
<i>Anacardiaceae</i>	2,62%
<i>Euphorbiaceae</i>	1,99%
<i>Apocynaceae</i>	1,67%

En estos resultados se observó que existen ciertas familias de plantas a las cuales los monos aulladores dedican gran parte de su consumo, y en muchos casos, a ciertas partes específicas de esas plantas, por lo que resulta interesante determinar si existe un grupo de metabolitos secundarios asociados directamente a esa selectividad y palatabilidad, así como los posibles beneficios que los primates reciben al consumirlas.

1.2.3.2. Especies arbóreas

Como se mencionó previamente los monos aulladores usan como recurso alimenticio al menos 1,165 especies de plantas, (Díaz & Rangel, 2015). Se alimentan principalmente de hojas, pero pueden consumir también ciertos frutos, flores y tallos (Vallejo & Boada, 2018). Para alimentarse de las diferentes especies arbóreas se desplazan entre una y otra (figura 4) para consumirlas. Entre las familias de especies arbóreas más consumidas están: *Anacardiaceae*, *Moraceae*, *Fabaceae* entre otras. Sin embargo, en el estudio se registró que

las familias de especies arbóreas consumidas fueron: *Anacardiaceae*, *Bignoniaceae*, *Cannabaceae*, *Fabaceae*, *Myristicaceae* y *Sapotaceae*. Cabe destacar que en la zona de muestreo se observaron otras especies arbóreas que han sido registradas de consumo alimenticio por aulladores *A. palliata*, pero durante el tiempo de muestreo solo se lograron identificar las seis familias ya mencionadas. A continuación, se describirán las especies arbóreas identificadas consumidas por los monos aulladores (*A. palliata*) establecidos en la Meseta de Chorcha, Chiriquí.



Figura 4. Mono aullador adulto desplazándose del árbol del *A. excelsum* al de *C. caimito*.

Espavé (Anacardium excelsum)

Es un árbol de 10 a 25 m de alto. Copa umbelada y con follaje lustroso. Tronco con raíces tabulares pequeñas en la base. Corteza exterior gris y fisurada, a veces exfoliante en láminas pequeñas. El desprendimiento de cualquier parte de la planta produce el flujo de un exudado lechoso. Hojas simples y alternas, con el haz verde oscuro y el envés marrón castaño y brillante, de 6 a 14 cm de largo y de 3 a 5 cm de ancho, elípticas, con ápice acuminado, bordes enteros y base obtusa. Pecíolos de 0.8 a 2 cm de largo y acanalados en la parte superior. Flores cremas o amarillentas en fascículos axilares. Frutos en bayas globosas, de 4 a 7 cm de

largo, verdes, tornándose rojo púrpuras o negros al madurar. Semillas con una cicatriz longitudinal. (Pérez, 2008). Su clasificación taxonómica se describe en la tabla 4.

Tabla 4. Clasificación taxonómica del Espavé.

<u>Taxonomía</u>	
Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Orden:	<i>Sapindales</i>
Familia:	<i>Anacardiaceae</i>
Género:	<i>Anacardium</i>
Especie:	<i>A. excelsum L.</i>

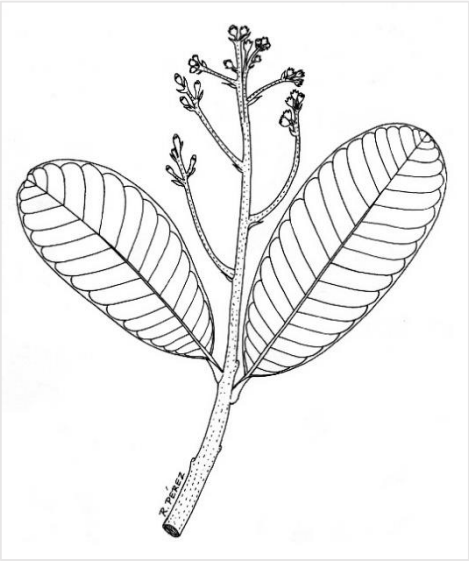


Ilustración (Pérez, 1831), fuente: <http://ctfs.si.edu/>

- **Datos ecológicos:** La especie crece a bajas elevaciones, en lugares secos o húmedos de todo el país. Común y fácil de observar en fincas a orillas de los ríos en áreas secas del Pacífico. Florece y fructifica de julio a marzo. Las flores son visitadas por abejas y otros insectos. Las semillas son dispersadas por animales (Pérez, 2008).
- **Distribución:** Se distribuye desde Guatemala, por toda América Central, hasta Colombia, Venezuela, Ecuador y Las Guyanas. En Panamá, se encuentra en todas las provincias, siendo ligeramente más abundante en la vertiente del Pacífico (Carrasquilla, 2008).
- **Usos:** El pedúnculo carnoso es comestible, tiene un sabor dulce, pero ligeramente ácido. Las semillas tostadas en el fuego son comestibles, pero crudas resultan tóxicas, debido a que contienen un aceite tóxico volátil, llamado cardol. Este aceite se utiliza para la fabricación de plásticos, resinas, insecticidas, entre otros. Posee una madera de buena calidad, que es utilizada para hacer bateas, monturas, canoas, pilones, cajas, mangos de herramientas, utensilios de cocina, para maletas, vigas de casas rurales.

Aunque se pueden hacer muebles rústicos de sala y camas, no se recomienda porque el contacto prolongado con la madera puede causar irritación de la piel en personas sensibles. Esta madera se trabaja fácilmente y es durable, pero debido a su color variable y a que es difícil conseguir un acabado uniforme, no es muy útil para exteriores y muebles finos. La corteza macerada se usa para atontar los peces y facilitar su captura. Las semillas machacadas se emplean para matar ratones **(Carrasquilla, 2008)**.

Caimito (Chrysophyllum cainito)

Es un árbol de 20 a 40 m de alto de tronco recto y cilíndrico. Algunos de los árboles de edad muy avanzada ocasionalmente tienen el tronco hueco y raíces superficiales y extendidas en la base. Corteza exterior gris o negra, laminar, corteza interior roja o rosada y con líneas o bandas verticales blancas. El desprendimiento de ramas o heridas en el tronco producen un exudado resinoso y aromático, el cual se torna rojo o negro con el transcurrir del tiempo. Hojas simples y alternas, agrupadas en los extremos terminales de las ramitas, de 10 a 35 cm de largo y de 4 a 12 cm de ancho, obovadas, con ápice redondeado, emarginado o agudo. Pecíolos de 0.5 a 2 cm de largo, aplanados en la parte superior y pulvinados en la base. Flores verdes o amarillentas. Frutos en nueces arriñonadas, de 2 a 3.5 cm de largo, (Pérez, 2008). A continuación, se detalla su clasificación taxonómica en la tabla 5.

Tabla 5. Clasificación taxonómica del Caimito.

<u>Taxonomía</u>	
Reino:	<i>Plantae</i>
Subreino:	<i>Tracheobionta</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase:	<i>Dilleniidae</i>
Orden:	<i>Ericales</i>
Familia:	<i>Sapotaceae</i>
Subfamilia:	<i>Chrysophylloideae</i>
Género:	<i>Chrysophyllum</i>
Especie:	<i>C. cainito</i> L.

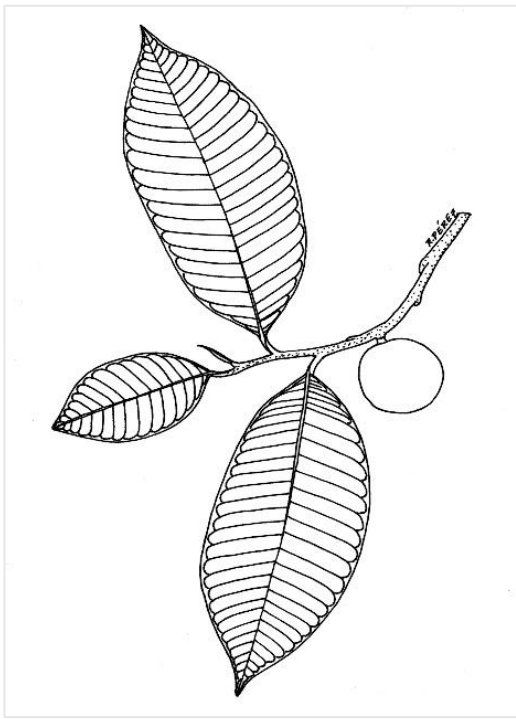


Ilustración (Pérez, 1831), fuente: <http://ctfs.si.edu/>

- Datos ecológicos: La especie crece a bajas y medianas elevaciones, en bosques secos, húmedos o muy húmedos de todo el país. Común en bosques ribereños a lo largo del curso de los ríos y los riachuelos, se adapta muy bien a suelos aluviales bien drenados. Deja caer parcialmente sus hojas durante la estación seca, pero las repone a inicios de la estación lluviosa. Antes de caer las hojas se tornan amarillas en la copa del árbol. Florece y fructifica de febrero a mayo. Algunas especies como los *A. p. palliata* se alimentan de los pedúnculos maduros de los frutos y ayudan en la dispersión de las semillas (**Pérez, 2008**).
- Distribución: El área de origen del caimito es de las Antillas, con la llegada de los europeos esta especie se introdujo al resto del continente americano, de manera que actualmente se encuentra naturalizado en altitudes medias y bajas desde el suroeste de México hasta Panamá.
- Usos: La madera es empleada en construcciones locales, postes, muebles y mangos de herramientas. La pulpa de los frutos maduros es comestible y muy dulce. El árbol se utiliza con fines ornamentales en parques y avenidas.

Corotú (Enterolobium cyclocarpum)

Árbol de 20 a 35 m de alto. Tronco con raíces tablares pequeñas en la base, las cuales se continúan con largas raíces superficiales que pueden alcanzar una longitud igual al diámetro de la copa. El tronco y las ramas a veces pueden presentar manchas anaranjadas ocasionadas por líquenes. Corteza exterior gris y con lenticelas de color marrón o rojizas. Hojas bipinnadas y alternas, pinnas con 15 a 30 pares de folíolos pequeños, de 8 a 15 mm de largo y de 2 a 4 mm de ancho, oblongos y asimétricos, con ápice agudo. Pecíolos de 3 a 5 cm de largo y pulvinados en la base, con una glándula en la parte media superior. Raquis con glándulas entre el par de pinnas terminales. Flores blancas y agrupadas en cabezuelas globulares. Frutos de 15 a 38 cm de largo y en forma de una ‘oreja humana’, se tornan marrón rojizo o negros al madurar. La parte interior del fruto es esponjosa y se encuentra impregnada de un líquido gomoso y pegajoso. (Pérez, 2008). Descripción taxonómica en la tabla 6.

Tabla 6. Clasificación taxonómica del Corotú.

<u>Taxonomía</u>	
Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Fanerógama Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Orden:	<i>Fabales</i>
Familia:	<i>Fabaceae (leguminosa)</i>
Subfamilia:	<i>Mimosoideae</i>
Tribu:	<i>Ingeae</i>
Género:	<i>Enterolobium</i>
Especie:	<i>Enterolobium cyclocarpum</i>




Ilustración (Pérez, 1831), fuente: <http://ctfs.si.edu/>

- Datos ecológicos: La especie crece a bajas elevaciones, en bosques y lugares secos o húmedos de las provincias de Bocas del Toro, Chiriquí, Coclé, Herrera, Los Santos y Panamá. Común en sabanas y pastizales en áreas secas de las provincias de Herrera y Los Santos. Deja caer totalmente sus hojas durante la estación seca, pero las repone a inicios de la estación lluviosa. Florece y fructifica de marzo a mayo. Las flores son visitadas por abejas, mariposas y otros insectos. **(Pérez, 2008).**
- Distribución: Originaria de América tropical. Se extiende desde el oeste y sur de México a través de Centroamérica hasta el norte de Sudamérica (Venezuela y Brasil). También se le encuentra en Jamaica, Cuba, Trinidad y Guyana. En Panamá se pueden encontrar en Bocas del Toro, Chiriquí, Coclé, Herrera, Los Santos y Panamá.
- Usos: La madera es empleada en la elaboración de tableros decorativos, carpintería de interiores, ebanistería, cajas, postes de cercas, leña, pulpa de papel y en la fabricación de botes. El fruto es comestible para el ganado. Las semillas se tuestan para separarlas fácilmente del tegumento leñoso que las cubre, constituyendo así un excelente y sabroso alimento humano. El fruto verde contiene saponinas y se utilizaba en el pasado como sustituto del jabón. El tronco del árbol exuda un líquido gomoso que se emplea como un remedio para la bronquitis **(Pérez, 2008).**

Capulín (*Trema micrantha*)

Es un árbol de 5 a 20 m de altura y de 5 a 50 cm de diámetro. Tronco con ramas largas y pubescentes en los extremos terminales. Corteza exterior verde o amarillenta. Hojas simples y alternas, de 5 a 15 cm de largo y de 2 a 5 cm de ancho, lanceoladas, con ápice acuminado, bordes serrados y base desigual o cordada. Láminas foliares ásperas al tacto. Estípulas deciduas. Pecíolos de 0.5 a 1.5 cm de largo, pubescentes. La especie es monoica. Flores blancas y pequeñas. Frutos en drupas globosas de 0.3 a 0.4 cm de largo y con restos de los estigmas de la flor en la punta, verdes, tornándose rojos o anaranjados al madurar (Pérez, 2008). Se describe su clasificación taxonómica en la tabla 7.

Tabla 7. Clasificación taxonómica del Capulín.

<u>Taxonomía</u>	
Reino:	<i>Plantae</i>
Subreino:	<i>Tracheobionta</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase:	<i>Rosidae</i>
Orden:	<i>Rosales</i>
<u>Familia:</u>	<u><i>Cannabaceae</i></u>
<u>Género:</u>	<u><i>Trema</i></u>
<u>Especie:</u>	<i>T. micranthum</i>

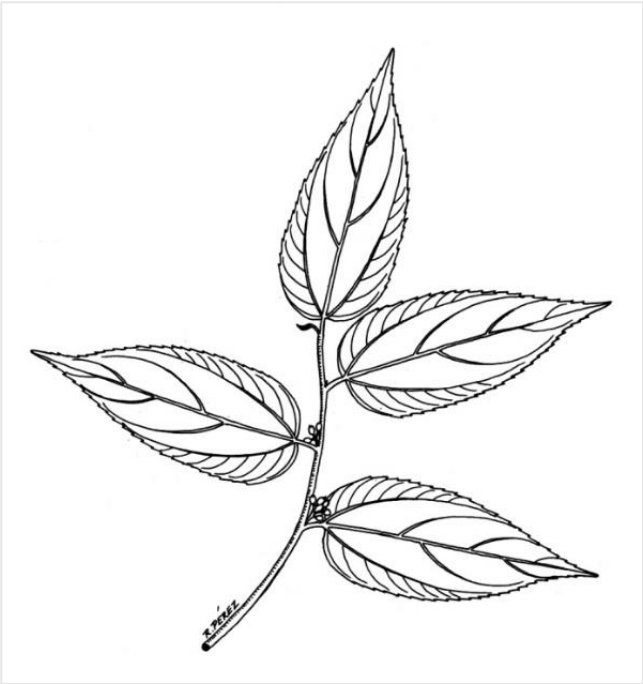


Ilustración (Pérez, 1831), fuente: <http://ctfs.si.edu/>

- **Datos ecológicos:** La especie crece a bajas y medianas elevaciones, en climas húmedos o muy húmedos. Común y ampliamente distribuida en Panamá. Crece en bosques secundarios y áreas perturbadas. Florece y fructifica durante todo el año, principalmente de abril a julio. Las flores son visitadas por insectos. Las semillas son

dispersadas por animales, principalmente aves que se alimentan de los frutos maduros (Pérez, 2008).

- Usos: Madera empleada para leña y en la fabricación de cajones, revestimiento de interiores, tableros, aglomerados y pulpa para papel. La corteza se utiliza para extraer fibras empleadas como cuerdas para amarrar. Un cocimiento de las semillas y las hojas se utiliza para combatir las erupciones de la piel. El follaje es empleado como forraje para el ganado. (Pérez, 2008).

Guayacán rosado (Tabebuia rosea)

Es un árbol de 10 a 30 m de altura y de 20 a 80 cm de diámetro. Copa umbelada o ligeramente redondeada. Tronco con raíces tablares pequeñas en la base. En plantas juveniles el tronco se ramifica en 2 ó 3 ramas principales y ascendentes. Corteza exterior grisácea y con fisuras verticales. Hojas digitadas y opuestas, con 3 a 5 folíolos de tamaños diferentes, los basales siempre son más pequeños, el de mayor tamaño es el central. Folíolos de 3 a 16 cm de largo y de 3 a 8 cm de ancho, obovados o lanceolado-elípticos, con ápice acuminado, bordes enteros y base obtusa. Pecíolos de 8 a 12 cm de largo y pulvinados en la base. Flores blancas o rosadas y en forma de campana. Frutos en cápsulas tubulares y cilíndricas de 20 a 40 cm de largo, verdes, tornándose negros y dehiscentes al madurar. Semillas aladas (**Pérez, 2008**). A continuación, se da la descripción taxonómica en la tabla 8.

Tabla 8. Clasificación taxonómica del Guayacán rosado.

<u>Taxonomía</u>	
Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Orden:	<i>Lamiales</i>
Familia:	<i>Bignoniaceae</i>
Tribu:	<i>Tecomeae</i>
Género:	<i>Tabebuia</i>
Especie:	<i>Tabebuia rosea</i>

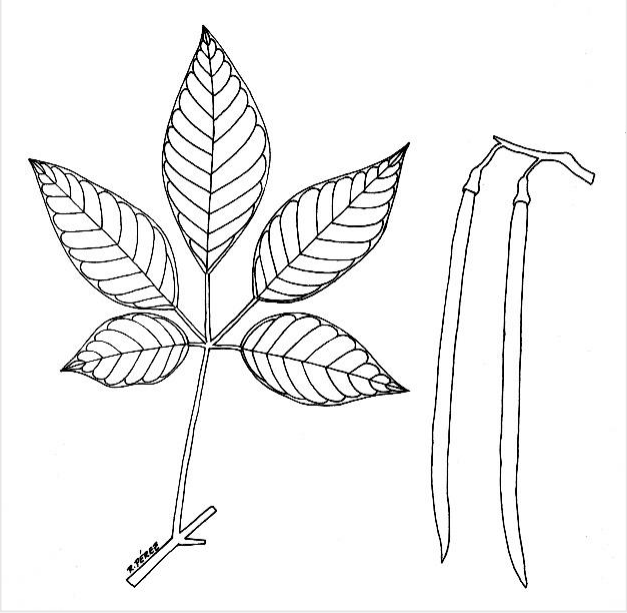


Ilustración (Pérez, 1831), fuente: <http://ctfs.si.edu/>

- **Datos ecológicos:** La especie crece a bajas y medianas elevaciones, en climas secos, húmedos o muy húmedos. Común y ampliamente distribuido en Panamá. Se adapta a una gran variedad de suelos y climas, incluso puede soportar inundaciones

temporales. Los árboles adultos de roble florecen de manera sincronizada durante la estación seca, alrededor de febrero y marzo. Durante la época de floración los árboles de roble dejan caer sus hojas y la copa se torna blanca o rosada por el color de las flores. Las flores son visitadas por abejas, mariposas y colibríes. Las semillas son dispersadas por el viento **(Pérez, 2008)**.

- Usos: Madera de muy buena calidad, empleada para fabricar muebles finos, pisos, gabinetes, ebanistería, chapas decorativas, artesanías, ruedas de carretas, cajas, embalajes, culatas para armas de fuego y botes. La corteza y las hojas se utilizan en la medicina tradicional. Es un árbol ornamental que ha sido plantado en casi todos los parques y avenidas de Panamá. **(Pérez, 2008)**.

(Virola elongata)

El tronco mide entre 7,5 y 23 m de altura, aunque a veces alcanza hasta los 30 m; es cilíndrico y tiene un diámetro promedio de 43 cm; la corteza es liza marrón y gris con resina en interior que se torna roja al contacto con el aire. El fruto es elipsoide o subglobular, de 11 a 20 mm de longitud por 10 a 15 mm de diámetro, en racimos hasta de 40. Se detalla su clasificación taxonómica en la tabla 9.

Tabla 9. Clasificación taxonómica del *Virola*.

<u>Taxonomía</u>	
Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Orden:	<i>Magnoliales</i>
Familia:	<i>Myristicaceae</i>
Género:	<i>Virola</i>
Especie:	<i>Virola elongata</i>




Ilustración (Pérez, 1831), fuente: <http://ctfs.si.edu/>

- **Datos ecológicos:** La especie crece a bajas y medianas elevaciones, en climas húmedos o muy húmedos. Común y ampliamente distribuida en bosques de Panamá. Florece y fructifica de junio a febrero. Las flores son visitadas por abejas y otros insectos. Las semillas son dispersadas por animales, principalmente por monos, tucanes y pavas que se alimentan del arilo (Pérez, 2008).
- **Distribución:** Se localizan en Panamá, Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú, Surinam, Guyana, Guyana, Venezuela, Brasil.

- Usos: Es activo contra las infecciones de *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*. La resina desempeña un papel importante en la medicina tradicional como fungicida y se extiende sobre las áreas infectadas de la piel para curar la tiña y otras infecciones causadas por hongos. También, una infusión de la corteza macerada es usada por los Waorani, (pueblo amerindio que habita al noroccidente de la amazonia y al oriente de Ecuador) para aliviar el dolor de estómago. En regiones colonizadas el fuste es aprovechado como madera comercial.

1.2.3.3. Efectos del hábitat, la abundancia de alimentos y la distribución en el comportamiento.

La abundancia, distribución y diversidad de los recursos alimentarios actúan como factores limitantes en los parámetros de la población de primates, influyen a su vez en el comportamiento de los mismos. Los bosques varían en términos de su grado de estacionalidad (estacionalidad de flores y frutos) y abundancia de alimentos, que dictan los recursos alimentarios disponible durante todo el año, específicamente para los primates **(Vega, 2008)**.

La producción es una función de la lluvia durante ciertos períodos, conocidos como estaciones húmedas y secas, y de clima **(Smythe, 1970)**. Si bien la producción de nuevas hojas puede ocurrir más de una vez al año, la floración y fructificación generalmente ocurren solo una vez, lo que hace que estos recursos sean efímeros. Durante estaciones cuando no hay flores o frutas disponibles, los herbívoros deben obtener sus recursos alimentarios de hojas, tallos, raíces y corteza. En general, las hojas son el recurso más común durante todo el año para primates folívoros y siempre están disponibles en bosque tropical en diferentes estados de senescencia **(Lambert, 2007)**. Sin embargo, las defensas fitoquímicas y los nutrientes están presentes en combinaciones y concentraciones variables para disuadir la herbivoría. **(Milton, 2008)**, lo que afecta la elección de alimentos y, a su vez, afecta los patrones de comportamiento, como movilización, vocalización, socialización y copulación **(Chivers, 1991)**.

La dieta, junto con los parámetros morfológicos, dicta cómo y cuándo los animales deben de realizar sus patrones de conducta, si los recursos alimenticios se dispersan en cualquier momento es decir estacionalmente o espacialmente (densidad boscosa/ abundancia) o en caso de que ocurra ambos, los animales que dependen de ese recurso deben hacer concesiones para adquirir y procesar sus alimentos. Por lo general, los primates ajustan sus rutinas diarias de acuerdo con sus requisitos y la disponibilidad de alimentos **(Sussman et al, 2011)**. Sin embargo, para algunas poblaciones de aulladores negros, no demuestran dicha compensación en gasto en actividad en tiempos de abundancia y consumo de frutas **(Horwich et al., 1993)**, ya que se encontró que la locomoción en el comportamiento aumentó significativamente y el

comportamiento social disminuyó durante la temporada cuando los aulladores comieron más fruta (**Pavelka y Knopff, 2004**).

La selección de plantas específicas para alimentarse también depende mucho del número de alimentos, es decir, especies arbóreas y la densidad y abundancia de las mismas en un área. La diversidad de especies, densidad y la abundancia afecta la selección de alimentos por herbívoros al limitar la variedad o el número de especies que por proporcionan abundantes y variados recursos.

En términos de diversidad, la cantidad de recursos diferentes disponibles influye directamente en lo que un animal come. Las áreas con alta diversidad no limitan la selección de alimentos en las poblaciones animales, porque hay muchas especies diferentes para elegir y se ha demostrado que estas áreas son muy beneficiosas para las poblaciones en este caso de primates (**Arroyo-Rodríguez y Días, 2010**). Por el contrario, las áreas con baja diversidad ofrecen menos especies para elegir, que es importante para los animales que comen muchas hojas, especialmente porque demasiado de un tipo puede conducir a sobrecarga tóxica o mala absorción de nutrientes debido a las defensas químicas y mecánicas que se encuentran en el follaje general de las plantas (**Watson & Zakri, 2005**). Una densidad baja de árboles alimenticios puede conducir a una menor producción (biomasa) de alimentos disponibles para herbívoros porque no tienen suficiente espacio o nutrientes para crecer adecuadamente (**Mbora & Meikle, 2004**). Una baja densidad de árboles alimenticios puede plantear problemas para animales que dependen de ellos, como en un mayor gasto de energía (tiempo de viaje) con poca recompensa en términos de cantidad de comida disponible. Es evidente que los primates están influenciados por la calidad del hábitat, medida en términos de diversidad y abundancia, pero es notorio que otros factores pueden también mediar los efectos de hábitat en la elección de alimentos.

1.2.3.4. Importancia: Papel que desempeña y su estudio ecológico.

Todos los primates tienen una importancia particular. Por ser animales emparentados a la especie humana son valiosos los datos biológicos que de ellos se recopile, para obtener un patrón de comparación de los efectos de enfermedades y otros hechos con la especie humana.

Por otra parte, el mono aullador también presenta importancia ecológica debido a que este primate es un elemento clave para la regeneración de los bosques, ya que son dispersores de semillas de una gran diversidad de plantas (**Milton, 2008**), que son básicas para mantener la dinámica y sucesión de los bosques, también son animales que juegan un papel muy importante en la cadena alimenticia en los bosques neotropicales ya que son especies presas de aves rapaces, de felinos y otros carnívoros depredadores (**Ruíz, 2008**).

Existen pocos estudios limitados acerca de los efectos sobre la ecología conductual de los primates. En paisajes forestales alterados, la probabilidad de que estas especies de animales se extingan localmente aumenta con la disminución del tamaño de los reductos boscosos a medida que disminuye la abundancia de alimentos y la diversidad de los árboles (**Arroyo-Rodríguez y Días, 2010**).

Sussman et al., (2011) explicó que investigadores interesados en la ecología de la fragmentación del hábitat estudian el tamaño de los fragmentos, el aislamiento, la diversidad y abundancia de especies con sus posibles efectos sobre las poblaciones de primates para comprender las respuestas de los primates a la creciente incidencia de pérdida y degradación del hábitat debido a la actividad humana. Los modelos de investigación de fragmentación tienen demostrado ser útil en estudios sobre los efectos de hábitats de baja diversidad sobre poblaciones de primates, particularmente aquellos primates que se alimentan principalmente de hojas. Además, los investigadores han encontrado que las propiedades intrínsecas de los alimentos que comen los primates pueden afectar las características de la población, como en su biomasa (alimento) (**Waterman et al., 1988; Fashing et al., 2007**) y en su comportamiento (**Nowak, 2008**).

En este estudio, se analizaron las características del hábitat y las propiedades fitoquímicas de alimentos para examinar sus posibles influencias en el comportamiento y las características de la población de mono aulladores (*Alouatta palliata*) observados en la meseta de Chorcha en David, Chiriquí.

1.2.3.5. Compuestos secundarios en la dieta de Primates

Las plantas proporcionan alimento a la mayoría de las especies de primates, en muchos casos su único alimento. Se puede comer cada parte de la planta, pero las hojas constituyen el granel de alimentos vegetales para primates. La supervivencia evolutiva de las plantas se debe principalmente a sus propias estrategias defensivas las cuales presentan un número considerable de compuestos químicos, es por ello que debería ser evidente que los compuestos secundarios de plantas son de gran importancia para comprender las interacciones entre primates y plantas (**Glander, 1982**).

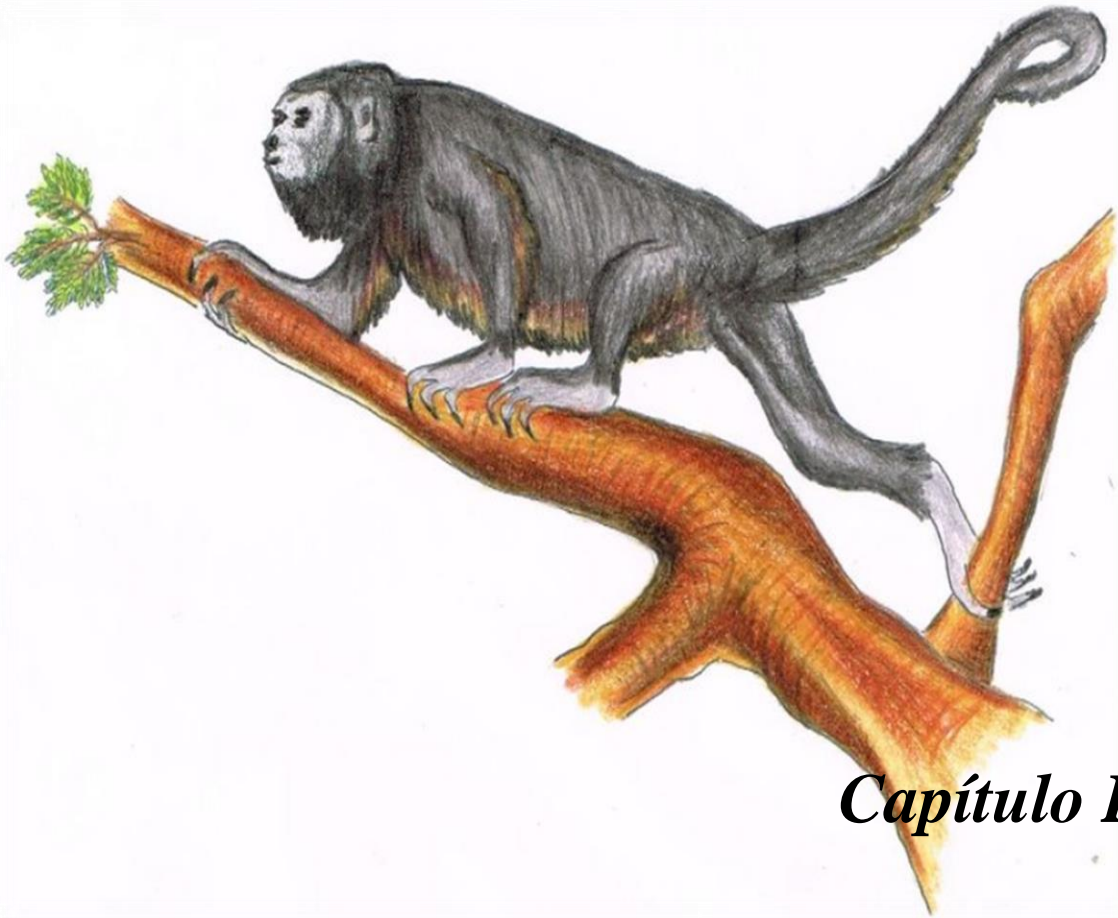
La composición de la dieta y la selección de alimentos (por parte de la planta y especie) son elementos importantes en estudios ecológicos de primates. En los estudios ecológicos de los primates deberían verse las plantas como organismos complejos con defensas químicas y no simplemente como alimentos para saciar el hambre de los primates ya que, las diversas partes de las plantas ingeridas por primates son más que convenientes paquetes de nutrientes. Algunas plantas tienen la capacidad para cambiar sus defensas químicas en respuesta al ataque de herbívoros (**Carroll y Hoffman, 1980**). El tiempo de respuesta varía de minutos a varios años. Por lo tanto, la alimentación se convierte en un problema para los primates herbívoros ya que deben ir adaptándose a los cambios en obtención de su alimento. Por lo que para comprender la supervivencia y la adaptación de los primates se debe poner más énfasis en la interacción que existe entre primates y plantas.

Los listados de las especies de plantas que come un primate en particular pueden ser útiles para comparar diferentes especies o la misma especie en diferentes hábitats, pero tales listas no son útiles para dar mayor información acerca de si los componentes químicos benefician o afectan al primate. Además, en los estudios descriptivos también se debería ahondar en determinar la composición química tanto de nutrientes como de compuestos secundarios de las plantas que consumen estos primates.

Schaller, (1963) fue probablemente el primero en considerar que las propiedades de las plantas pueden afectar la elección alimentaria de los primates. Informó que los gorilas (*gorila gorila*) prefirieron 29 tipos de plantas entre un gran número disponible para ellos en su hábitat, pero no ofrecieron ninguna explicación de por qué deberían mostrar esta selectividad. Señaló que muchas de las plantas alimenticias eran amargas o de otra manera desagradable

para gusto humano, pero no sabía si los gorilas experimentaron sensaciones similares. Por otro lado, **(Glander, 1978)**, informó que los monos aulladores (*Alouatta palliata*) en Costa Rica no se alimentaban por igual en todas las especies de árboles disponibles, fueron extremadamente selectivo entre especies arbóreas. Los aulladores evitaron hojas maduras de la mayoría de las especies de árboles comunes, comieron hojas maduras de solo ciertos árboles, nunca comieron hojas maduras de otros individuos de la misma especie, aunque fueron inmediatamente adyacentes, ingirieron solo hojas nuevas y comieron solo el pecíolo o pulvinus, pero cayeron sin tocar la hoja. En ciertas especies arbóreas fueron preferidas las hojas nuevas, frutas y flores a hojas maduras, e ingirieron el pedicelo de las frutas de *Anacardium excelsum*, pero nunca ingirieron las frutas.

Es muy notable que existe una selectividad de acuerdo al gusto en la palatabilidad en el consumo de alimentos por parte de los primates que mediante los estudios químicos se puede dar enfoque de cómo influye la composición química de las especies vegetales en la preferencia alimenticia.



Capítulo II

2. Metodología

Parte I

2.1. Área General de Estudio – Muestreo



Las muestras se recolectaron en la Meseta de Chorcha, lugar situado entre los distritos de David, Gualaca y San Lorenzo. Las muestras se recolectaron a medida que se observó su consumo por las tropas de *Alouatta palliata*, en la misma se procuró contener hojas, tallos y flores en buen estado. Este material fue prensado y se colocó una etiqueta identificativa para su posterior análisis taxonómico en el herbario de la Universidad Autónoma de Chiriquí.

La Meseta de Chorcha, es una semiplanicie de origen volcánico, localizada en la región centro sur de la provincia de Chiriquí, en la línea limítrofe entre los distritos de Gualaca, David y San Lorenzo, en la llanura costera del Pacífico. Su elevación oscila entre los 400 y 494 metros sobre el nivel del mar. Muy próximo a ella, se emplaza la reserva forestal de Cerro Barro Blanco, con unos 550 metros de altitud. Chorcha presenta un aspecto semicircular (figura 5), con una superficie total de once kilómetros cuadrados y está constituida básicamente por rocas basalto-andesíticas (roca ígnea extrusiva, formada por la consolidación de la lava al aflorar a la superficie desde las entrañas de la tierra). (**Dirección de planificación del municipio de David, 2017**).

El área de estudio abarcó las coordenadas geográficas en Chorcha de una latitud $8,462^{\circ}$ y longitud: $-82,159^{\circ}$ y una elevación promedio de 226 metros. La topografía en una distancia de 2.0 km (que comprende todo el ascenso de la meseta) tiene variaciones muy grandes de altitud, con un cambio máximo de altitud de 402 metros y una altitud promedio sobre el nivel del mar de 226 metros. Dentro del cual, el área de estudio está cubierta de árboles (55 %), pradera (12 %) y de agua (33 %). (**Weather spark, 1980-2016**).

Se pudo observar que la zona de estudio presenta mucha variedad en la vegetación desde el comienzo (figura 6) y a medida que se va ascendiendo es notable la diversidad de paisajes, flora y fauna (figura 7). A pesar de ello no se han realizado estudios ecoflorísticos de la región.



Figura 5. Vista satelital de la meseta de Chorcha.



Figura 6. Inicio del ascenso de la meseta de Chorcha.



Figura 7. Sectores y puntos de muestreo de área de estudio en la Meseta de Chorcha.

En cada gira de muestreo se procedió como se muestra en el flujograma 1. El material vegetal que se recolectó fue de acuerdo con el que, en el día del muestreo, se observó que era consumido por las tropas de *Alouatta palliata*. Luego de la observación, en la cual se debe evidenciar el consumo de alimento o rastros de herbivoría (marcas de dientes, rumiante) ver figuras 8 y 9, se procedió a recolectar el material vegetal mediante un muestreo aleatorio (figuras 10 y 11), siguiendo el método de (Altman, 1974).



Figura 8. Fruto de caimito con evidencia de herbivoría.



Figura 9. Rastros de las hojas de corotú dejados por las tropas durante su alimentación.



Figura 10. Toma de muestra vegetal.



Figura 11. Toma de muestras vegetales.

Se tomó en cuenta que el material vegetal de muestra debía ser fresco y en buen estado. Además, se registraron las coordenadas de los puntos de muestreo (figura 12) también se anotaron características del punto de muestreo como lo fueron tamaño de tropas y como se evidenciaron la presencia de las tropas en el punto, es decir si fue por localización focal, rastro de herbivoría o vocalización del grupo de primates. La descripción de las tropas de aulladores se logró por medio de las características que estos individuos presentan, las mismas fueron explicadas por el Dr. Ariel Rodríguez (biólogo) (figura 13).

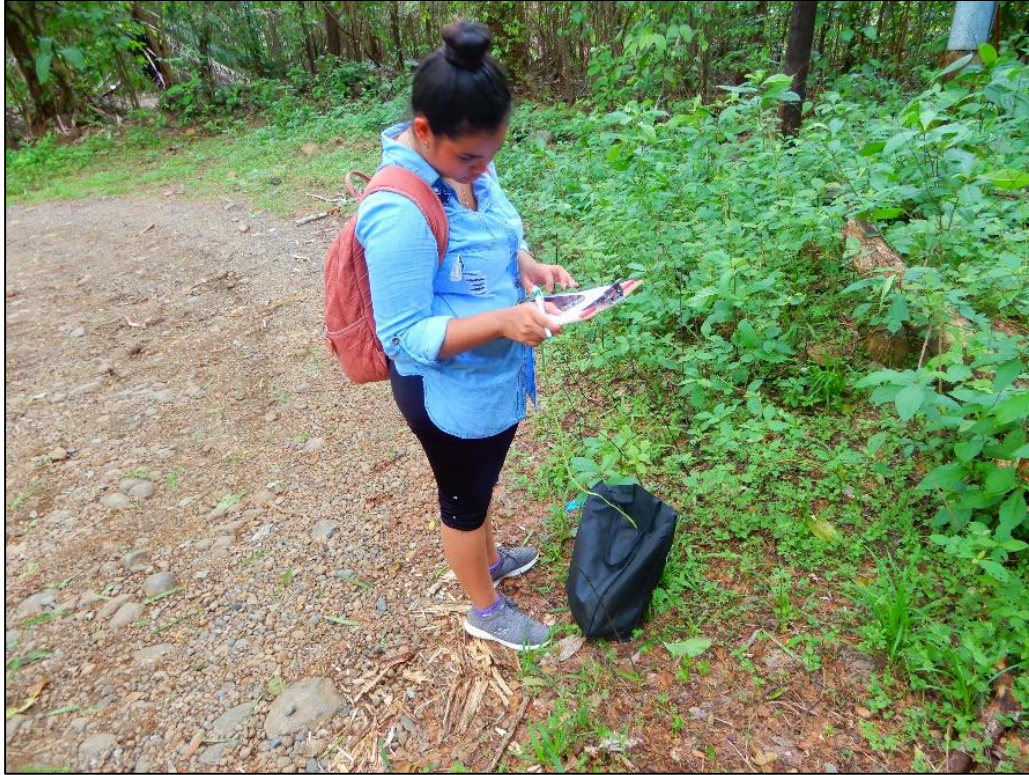


Figura 12. Anotación de punto de muestreo.

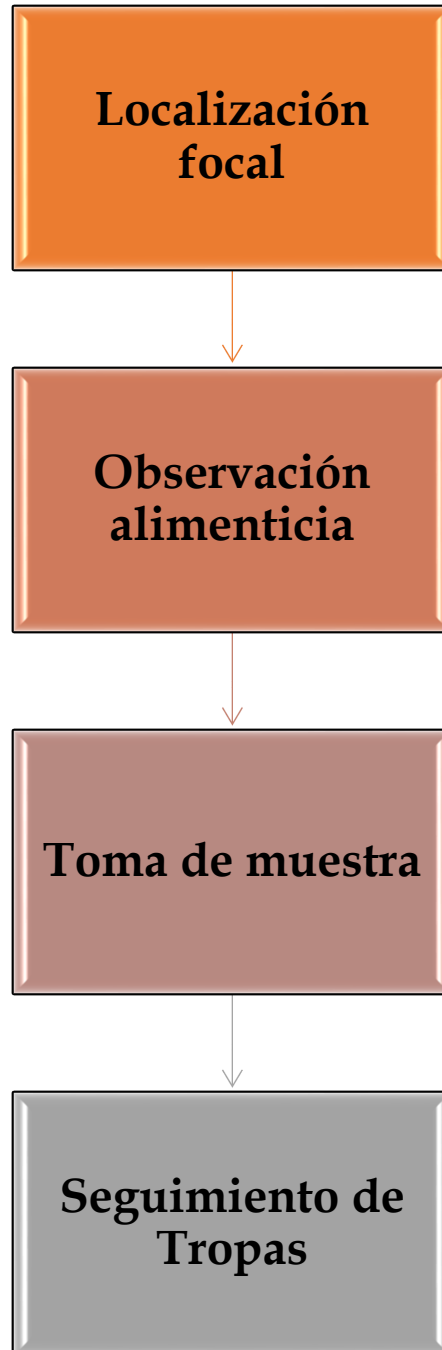


Figura 13. Recomendaciones para muestreo por parte del Dr. Ariel Rodríguez.

Se recolectaron muestras para los análisis a realizar en el laboratorio y a su vez también muestras con parte de hoja, tallo, fruto y flor de la planta para su identificación taxonómica por el Herbario de la UNACHI. En el sitio de muestreo las muestras recolectadas se guardaron en papel periódico para posteriormente prensarlas (figura 14).



Figura 14. Guardado de muestras para prensar.



Flujograma 1. Muestreo – Recolección de la muestra vegetal.

Parte II

2.2. Tratamiento de la Muestra Vegetal



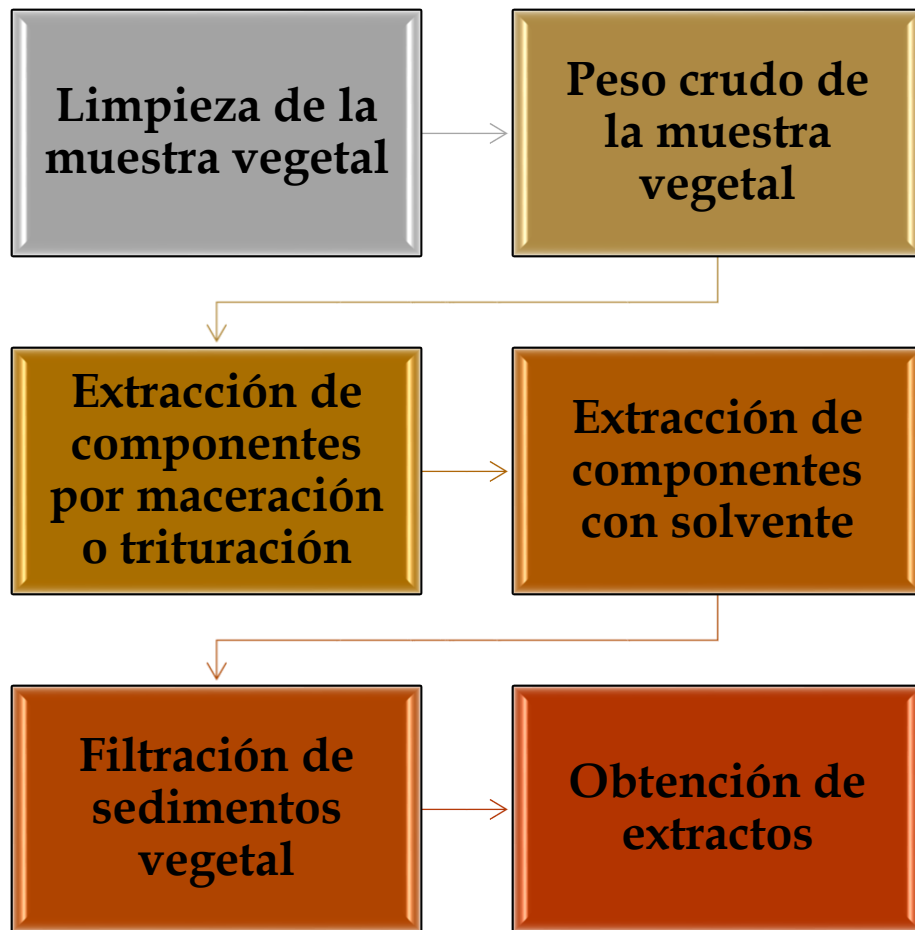
Tratamiento de Material Vegetal

En el flujograma 2 se presenta la secuencia para el tratamiento de las muestras para llegar a la obtención de los extractos que se emplearon en los análisis posteriores.

El material vegetal recolectado se limpió y secó para tomar la masa total fresca de cada una de las muestras. Luego, se procedió a separar cada una de las partes de la planta recolectada, es decir, se separaron los frutos, flores, hojas y raquis. En el caso de hojas grandes se separó el raquis de la misma. Posteriormente, se trocearon cada una de las partes según lo necesario. En algunos casos se empleó la maceración y la trituración. Cada una de las muestras se colocaron en recipientes de vidrio con solvente hasta su cobertura total. La extracción de los componentes se realizó en medio etanólico por un período de 24 horas en un agitador análogo Thomas Scientific. Transcurrido el tiempo de extracción se filtraron cada una de las muestras y se concentraron empleando el rotavapor R-215 BUCHI para obtener así la masa de material crudo de cada una de las muestras. Finalmente, se diluyeron las muestras empleando el mismo solvente para obtener los extractos (figura 15).



Figura 15. Extractos etanólicos en dilución de 0.5/5.0 mL y 0.5/6.0 mL.



Flujograma 2. Tratamiento de muestra vegetal – Obtención de Extractos.

Parte III

2.3. Tamizaje Fitoquímico



2.3.1. FITOQUÍMICA

Con los extractos diluidos de las muestras se llevó a cabo las reacciones químicas para tamizaje fitoquímico para evidenciar la presencia de metabolitos secundarios, ver los flujogramas 3 y 4. Cada uno de los ensayos fue realizado con los patrones correspondientes para un mejor análisis de los resultados. (Prashant et al, 2011). En cada una de las pruebas se empleó 1.0 mL de la muestra a ensayar con 3 gotas del reactivo correspondiente, en el caso de la prueba de saponina se emplearon 10.0 mL del reactivo que en ese caso era agua. Las figuras de la 16 a la 21 muestran el ensayo realizado y el o los patrones que fueron empleados respectivamente.

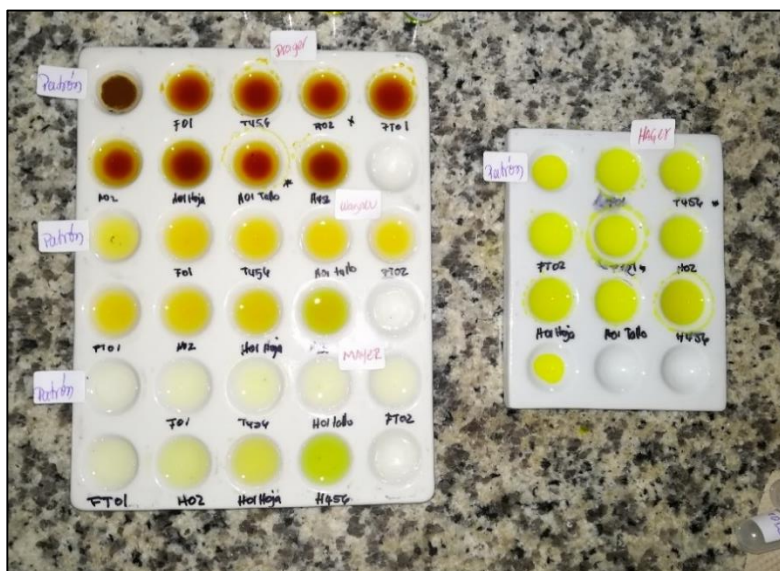


Figura 16. Prueba para alcaloides. Patrones empelados: cafeína, triptamina y teobromina.



Figura 17. Prueba de saponina. Ensayo de formación de espuma con patrón de saponina.

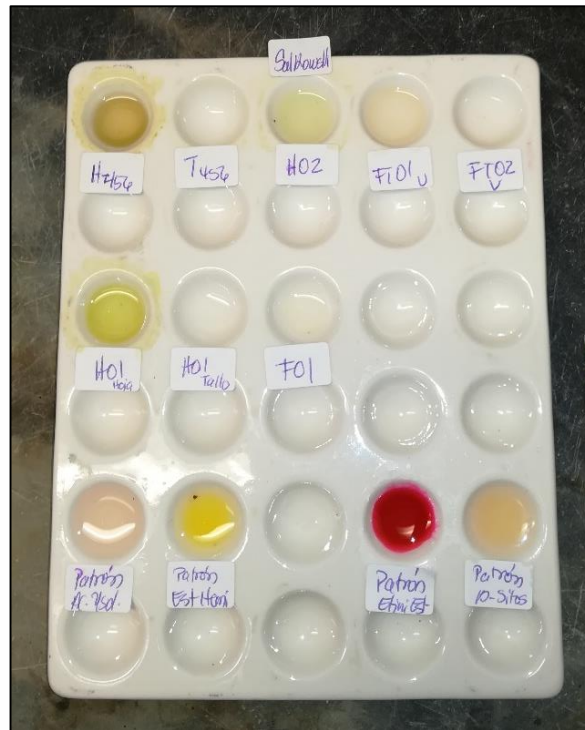


Figura 18. Prueba de Salkowski para esteroides y triterpenos. Patrones empleados etinil estradiol, estradiol hemihidratado, ácido ursólico y β - sitosterol.



Figura 19. Prueba de NaOH al 5% para flavonoides. Patrones empleados quercetina y hesperidina.



Figura 20. Prueba de Legal para glúcidos cardiotónicos.

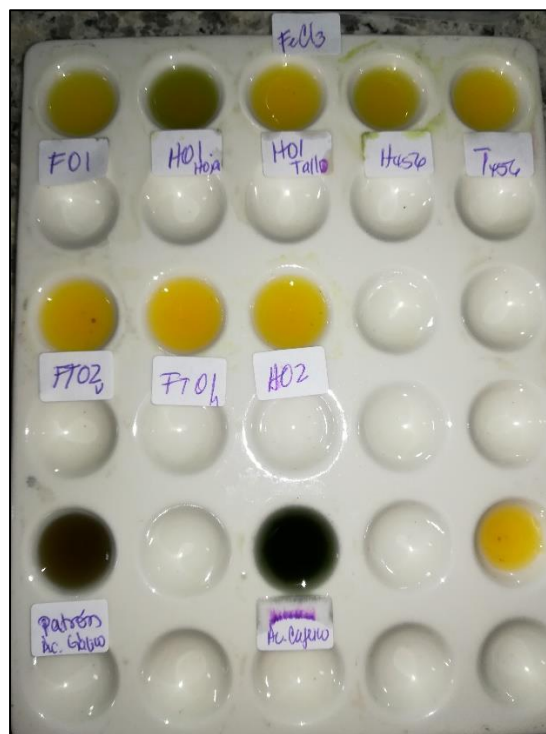
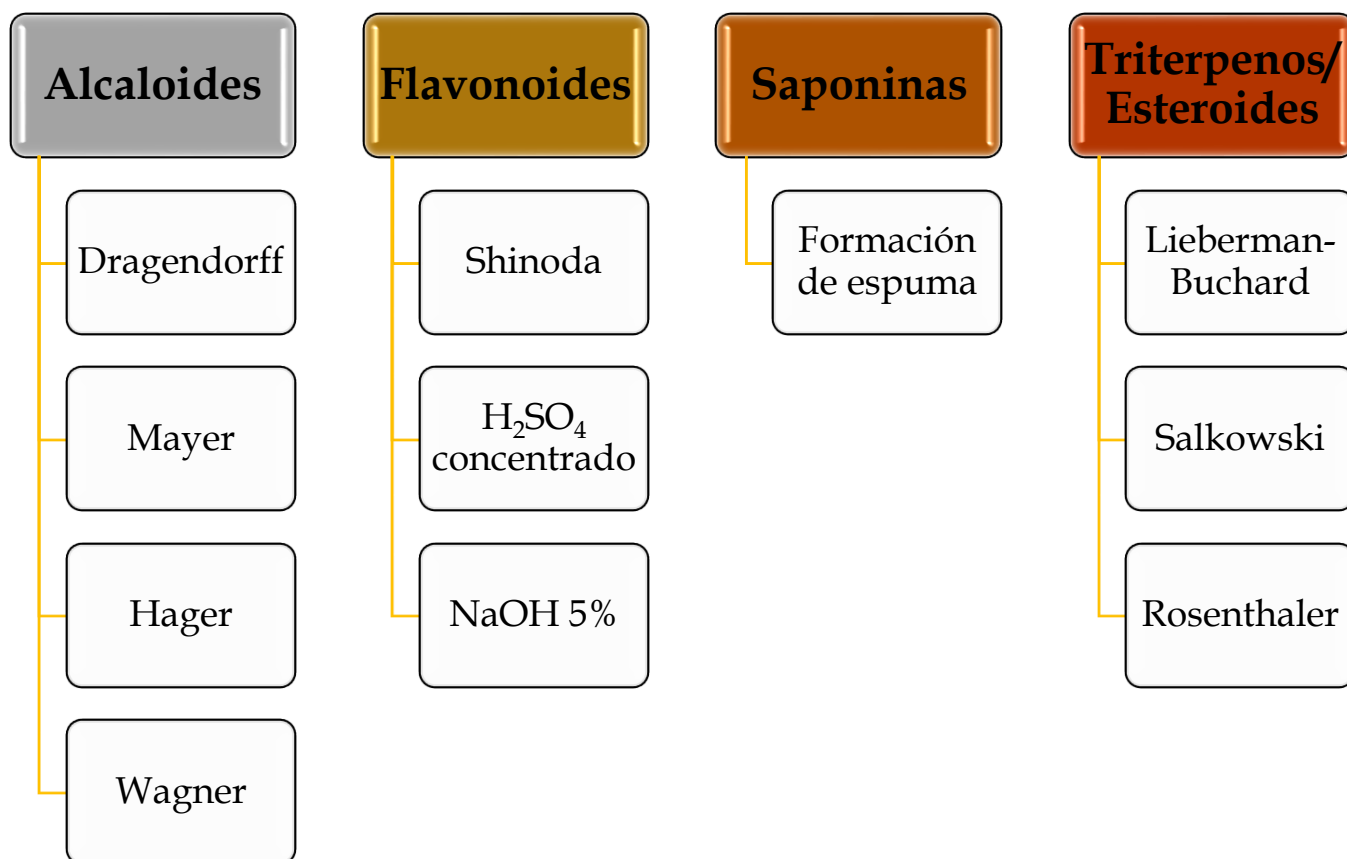
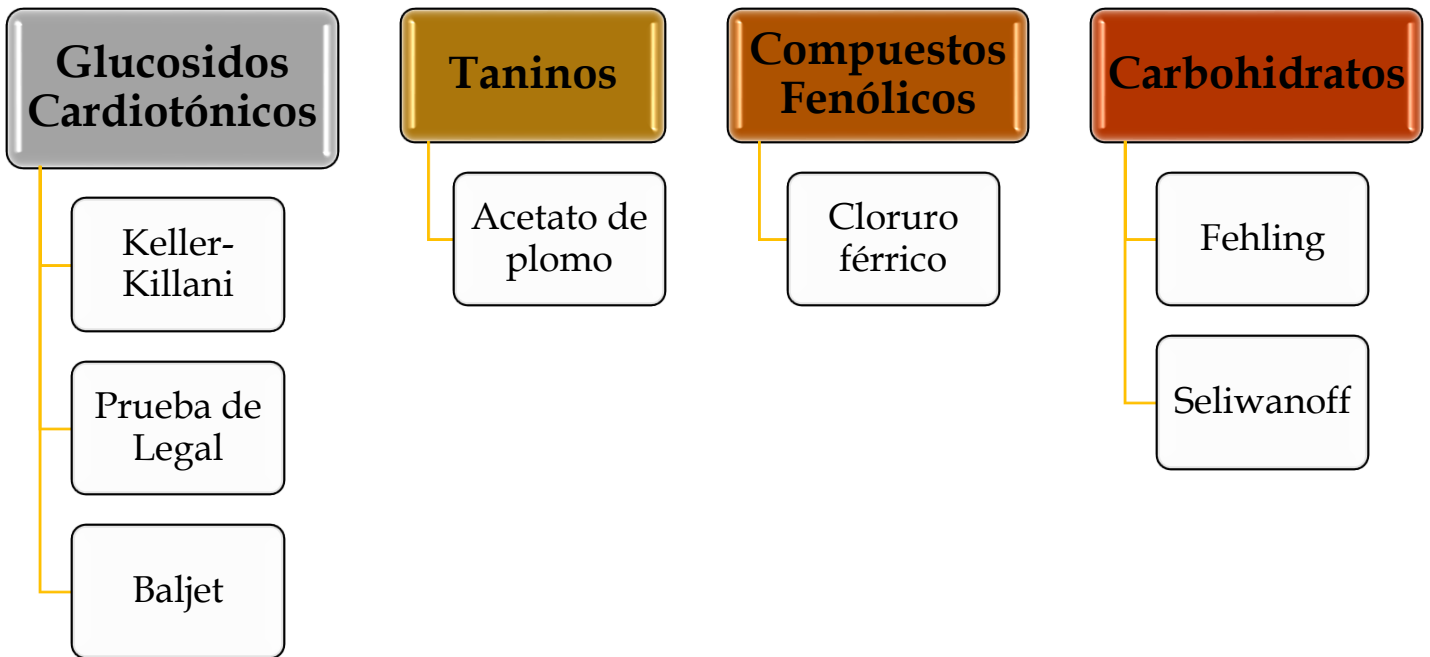


Figura 21. Prueba de Cloruro férrico para compuestos fenólicos. Patrones empleados ácido gálico y ácido cafeico.



Flujograma 3. Pruebas de tamizaje fitoquímico.



Flujograma 4. Pruebas de tamizaje fitoquímica.

Parte IV

2.4. Perfil Químico

Separación y Purificación



Abundancia y Diversidad de Metabolitos Secundarios en la Dieta de Tropas de Monos Aulladores (*Alouatta palliata*) de Chorcha, Chiriquí.

2.4.1. Obtención del perfil químico

Para la obtención del perfil químico de las muestras vegetales se empleó la cromatografía en capa fina (TLC).

CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA (TLC)

En las cromatografías de capa fina se utilizaron placas de sílica gel 60 UV254 de 20 x 20 cm con 0.20 mm de espesor de marca Macherey-Nagel. Como fase móvil se emplearon solventes o mezclas de solventes que permitan la separación adecuada de los componentes de interés, que en este caso las mezclas fueron de acetato-hexano (7:3) y hexano-acetato (8:2). Se utilizó placas de fase reversa de Selectrasorb™ Bulk Sorbents empleando como fase móvil en este caso acetonitrilo y metanol. Como agentes reveladores se empleó la lámpara UV de longitud de onda a 254 y 366 nm, y el revelador de vainillina. Luego del revelado de las placas se secaron y se observó cuales muestras presentan compuestos de interés para proceder a su purificación.

Separación y Purificación

2.4.2. Separación y Purificación de componente químicos

Para la separación y purificación de los componentes químicos de las muestras vegetales se emplearon varias técnicas de cromatografía, como se muestra en el flujograma 6.

CROMATOGRAFÍA EN TLC PREPARATIVA

Se empleó placas de sílica gel 60 UV254 de 20 x 20 cm con 0.20 mm de espesor de marca Macherey-Nagel, la inyección de la muestra fue de 100 mg y la fase móvil empleada fue Acetato-Hexano (7:3). Una sección de la placa se destinó para ser revelada con vainillina y así poder observar mejor el recorrido de la separación de la muestra. Tras localizar la fracción de interés con ayuda de una espátula pequeña se raspó la sección y el polvillo de sílica

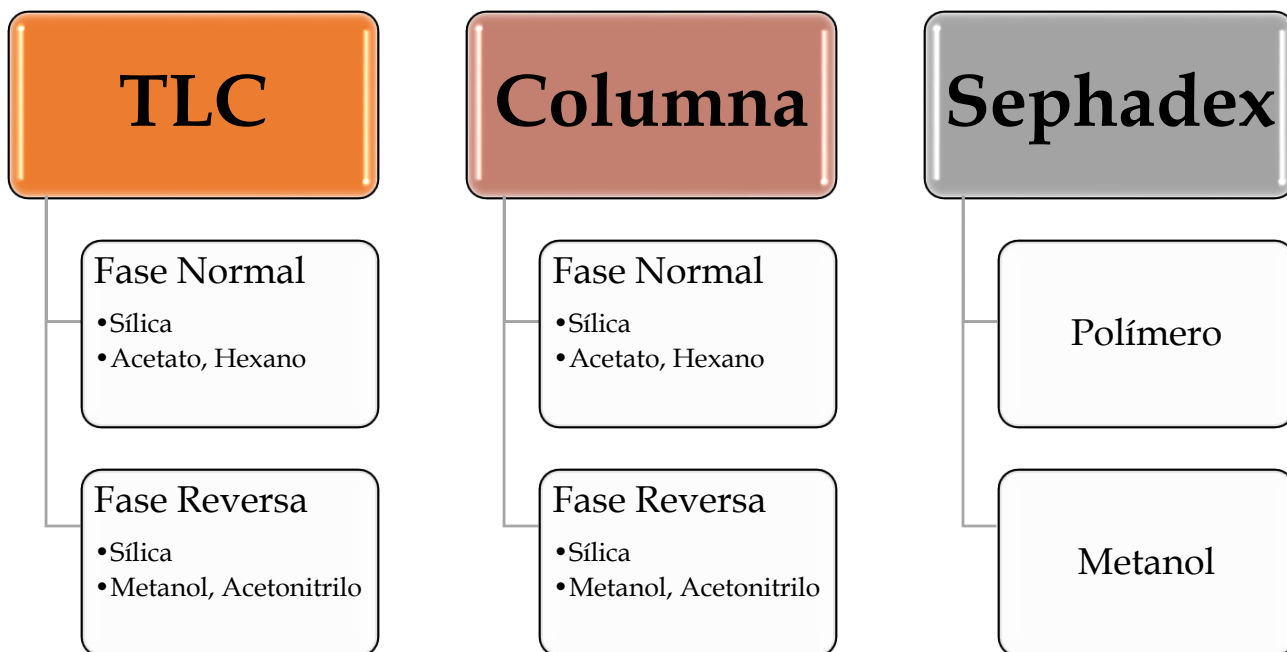
obtenido se agregó en un matraz Erlenmeyer añadiéndole solvente para extraer el compuesto de la sílica.

CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA

Las cromatografías en columna se realizaron de manera similar inyectando la muestra con ayuda de una pipeta Pasteur (con una masa pesada), eluyendo la fase móvil con ayuda de la bomba al vacío, recolectando las muestras en tubos de ensayos y finalmente realizando una TLC para evidenciar la separación del componente de interés. La cromatografía en columna se realizó en fase normal con sílica gel de columna 230-400 mesh, con una inyección de aproximadamente de 3.0 gramos en forma de pastilla y empleando como fase móvil la mezcla de acetato-hexano en gradientes de: (1:1), (6:4), (7:3) y 100% de acetato. También se llevó a cabo por fase reversa utilizando la sílica de Selectrasorb™ Bulk Sorbents, la muestra de inyección fue de 100 mg y la fase móvil utilizada fue acetonitrilo al 100%.

CROMATOGRAFÍA DE EXCLUSIÓN SEPHADEX

En esta cromatografía de columna se empleó el polímero Sephadex LH20 y se empleó como fase móvil el metanol. Se inyectaron aproximadamente 800 mg de muestra con ayuda de una pipeta Pasteur, se recolectaron las fracciones en tubos de ensayo y posteriormente se realizó una TLC para observar la separación del compuesto de interés. Tras identificar las fracciones con el compuesto de interés se realizó una TLC para corroborar la separación e identificar impurezas remanentes para su posterior eliminación.



Flujograma 6. Técnicas cromatográficas empleadas para separación y purificación de componentes químicos.

Parte V

2.5. Actividad Antioxidante (Bioautografía)



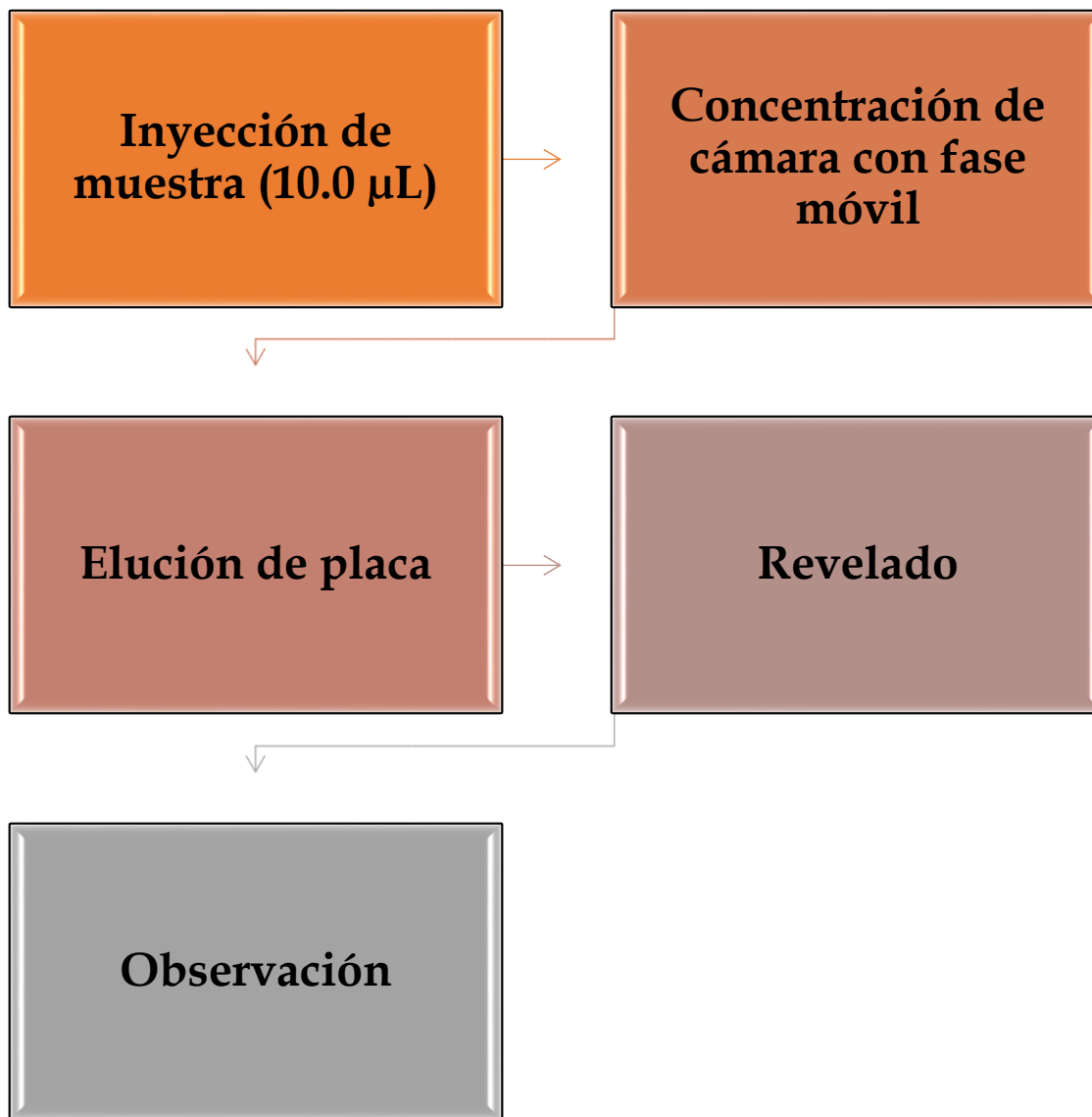
BIOAUTOGRAFÍA CON DPPH (2,2-DIFENIL-1-PICRIL-HIDRAZILO), (PABÓN ET AL, 2013).

Para la determinación de la actividad antioxidante se utilizó TLC (thin layer chromatography) como se muestra en el flujograma 5, se tomaron 10.0 μ L de cada una de las muestras y se sembraron en una placa de sílica en fase normal (figura 22). Se empleó como fase móvil la mezcla de acetato de etilo-hexano (7:3) y hexano-acetato de etilo (8:2). Las placas eluidas y secas se revelaron por aspersion con disolución al 0,2% del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH) preparado en metanol. Las placas se expusieron durante 30 minutos a luz blanca y se tomaron como resultados positivos aquellos que pasados los 30 minutos revelaron puntos amarillos en un fondo violeta al utilizar DPPH.

Las muestras en las placas de sílica se eluyeron en fase móviles diferentes las muestras de caimito, corotú y guayacán rosado se eluyenron en Hexano-Acetato de etilo (8:2); mientras que las muestras de espavé, capulín y virola en una mezcla de Acetato de etilo-Hexano (7:3). También se eluyeron en esta fase móvil fracciones separadas de las plantas de corotú, espavé y guayacán rosado.



Figura 22. Elución de placas.



Flujograma 5. Ensayo para presencia de actividad antioxidante.

Parte VI

2.6. Elucidación Estructural



Para la elucidación estructural se empleó la Espectroscopía de Infrarrojo (IR) y la Resonancia Magnética Nuclear (RMN), en las cuales se analizaron extractos crudos y fracciones purificadas (flujograma 7). Las muestras de extractos crudos y fracciones purificadas fueron secadas con nitrógeno previamente al análisis en ambos casos. Para el análisis en infrarrojo las muestras no requirieron de preparación con otros componentes o solventes. En el análisis de RMN las muestras secas fueron redisueltas en cloroformo deuterado (CDCl_3) para los estudios posteriores.

2.6.1. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO (IR)

El análisis se llevó a cabo siguiendo el protocolo establecido por el Centro de Investigación de Productos Naturales y Biotecnología (CIPNABIOT), se empleó el infrarrojo SHIMADZU IR AFFINITY – 1 (figura 23), operado por el Lic. Nicomedes Jaramillo.



Figura 23. Infrarrojo SHIMADZU IR AFFINITY-1. Utilizado para análisis de las muestras.

2.6.2. RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

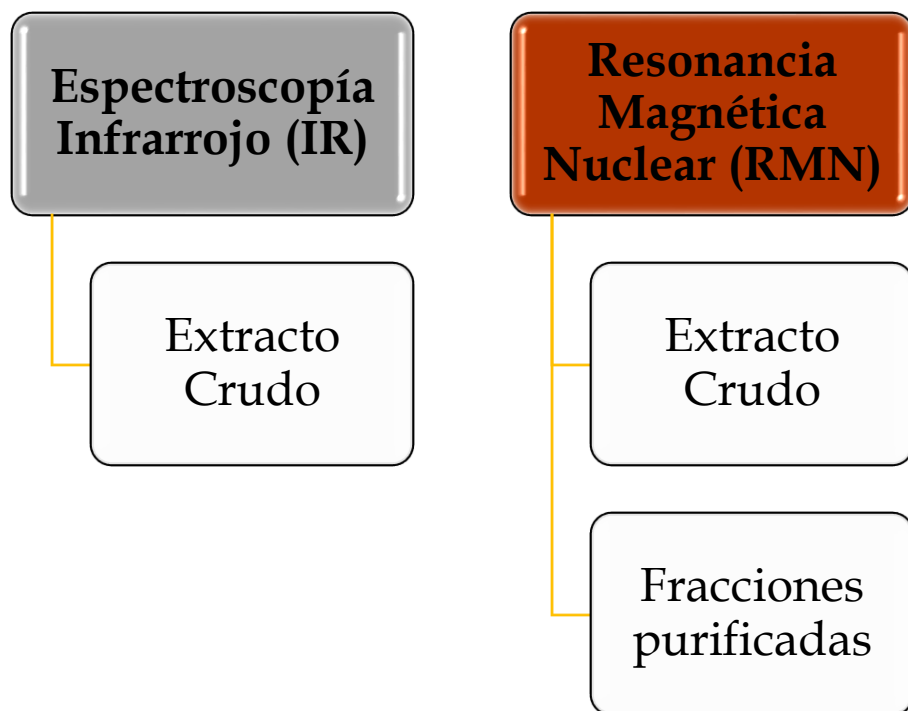
El análisis se llevó a cabo siguiendo el protocolo establecido por el Centro de Investigaciones en Productos Naturales (CIPRONA), ubicado en la Universidad de Costa Rica. Las muestras fueron disueltas en cloroformo deuterado (CDCl_3), ver figura 24 y se empleó el RMN BRUKER Ascend™ 600 (figura 25) operado por la Dra. Alice Pérez.



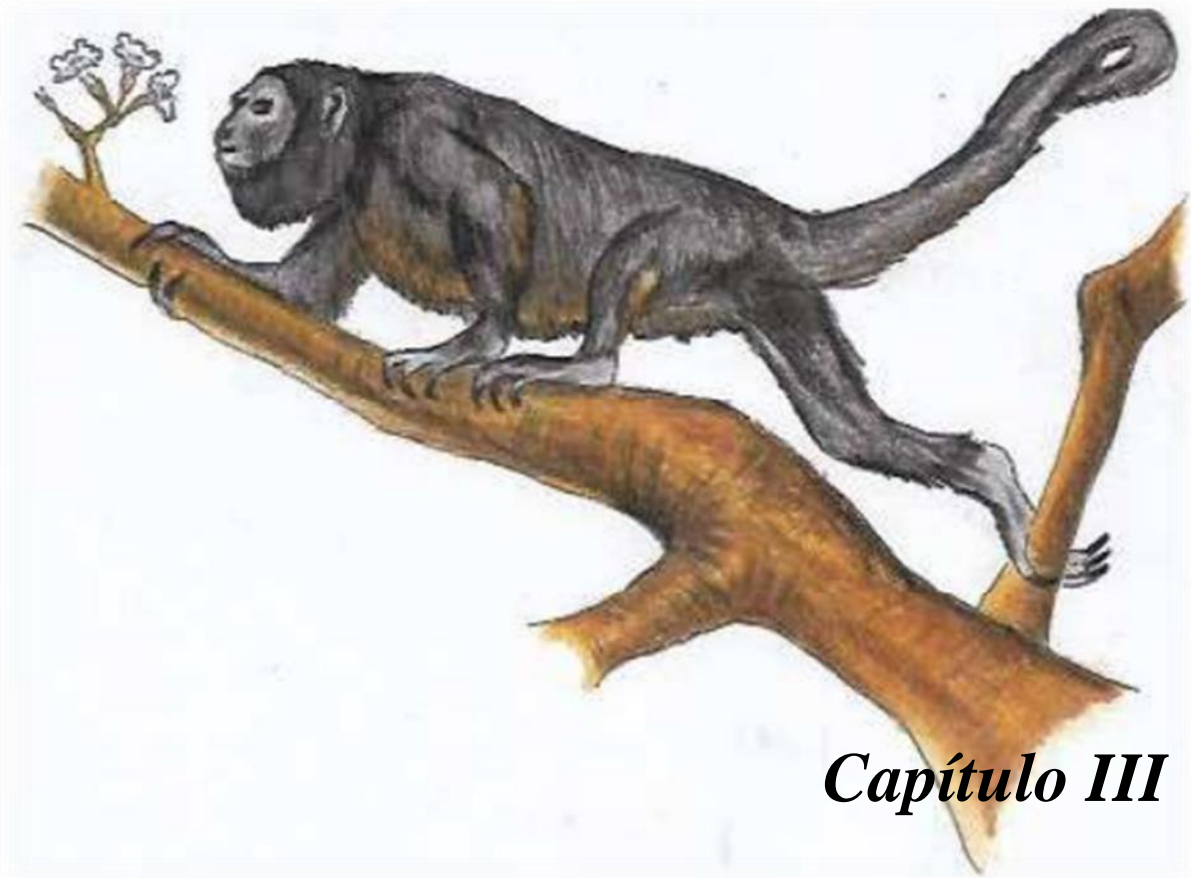
Figura 24. Preparación de muestras para análisis en RMN. Realizada por la Dra. Alice Pérez, CIPRONA-UCR.



Figura 25. Equipo para análisis de resonancia magnética nuclear. BRUKER Ascend™ 600, CIPRONA-UCR.



Flujograma 7. Técnicas de espectroscópicas empleadas para la elución estructural de fracciones purificadas y crudas.

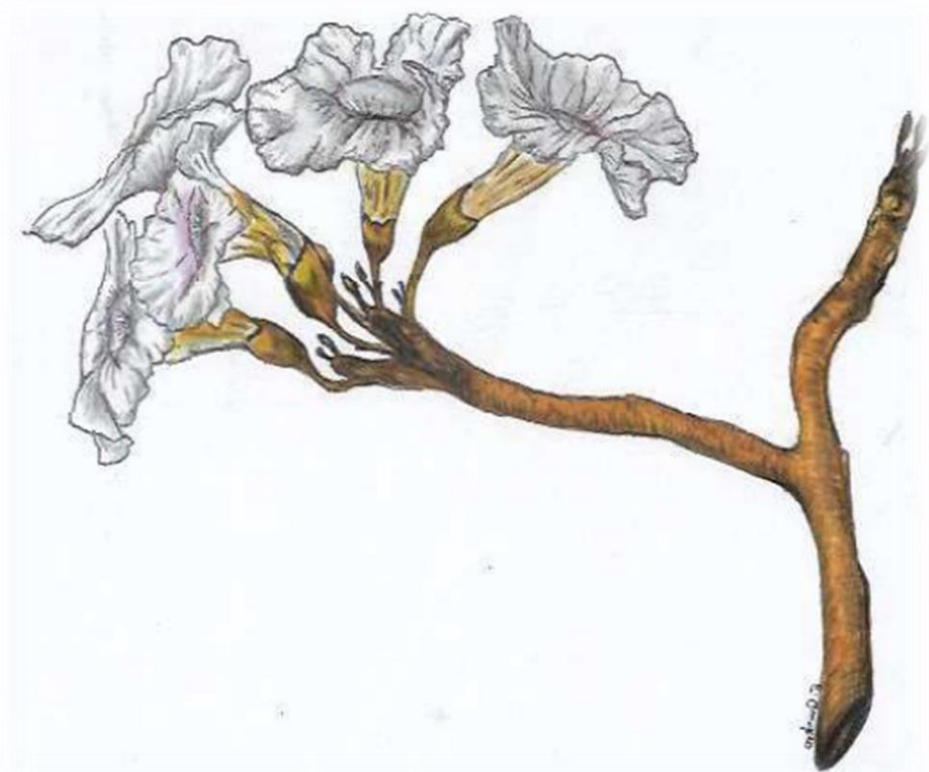


Capítulo III

3. Resultados y Discusión de Resultados

Parte I

3.1. Resultados



Parte A

*3.1.1. Observación de las tropas de mono aullador (*Alouatta palliata*)*



Puntos de muestreo

Durante los muestreos realizados en los meses de febrero a septiembre del presente año se localizaron 8 puntos de muestreo en los cuales se pudo observar tropas de aulladores (*A. palliata*) durante su alimentación como también rastros de herbivoría de los mismos. Los datos obtenidos se describen a continuación en las siguientes tablas 10 y 11.

Tabla 10. Puntos de muestreo.

No.	Nombre	Coordenadas geográficas (Lat., Long.)
1	Quebrada las vueltas	8.408164, -82.221624
2	Quebradas las vueltas	8.409585, -82.221620
3	Chincheta	8.408666, -82.22162
4	S/E	8.414597, -82.216804
5	Mirador	8.43035, -82.232524
6	S/E	8.412062, -82.220427
7	S/E	8.415163, -82.216526
8	Entrada principal	8.404926, -82.224352

Nota: (S/E) sugiere que no se especificaba el nombre del lugar o que no se contaba con una referencia adecuada.

Tabla 11. Descripción de tropas de A. palliata observados durante el estudio.

Punto de muestreo	Tropa	Observación
1-2	12 individuos (juveniles, hembras y macho)	Por rastro de herbivoría, vocalización y localización focal
3	No se observó	Por rastro de herbivoría
4	No se observó	Por rastro de herbivoría
5	12 individuos (juveniles, 1 hembra y 2 machos)	Por rastro de herbivoría y localización focal
6	3 individuos (juvenil, hembra y macho)	Por rastro de herbivoría y localización focal
7	No se observó	Por rastro de herbivoría y vocalización
8	4 individuos	Por rastro de herbivoría y localización focal
9*	15 individuos (juveniles y hembra)	Localización focal

*En este punto, no se realizó recolección de muestra.

Parte B

3.1.2. Tamizaje Fitoquímico



Abundancia y Diversidad de Metabolitos Secundarios en la Dieta de Tropas de Monos Aulladores (*Alouatta palliata*) de Chorcha, Chiriquí.

Tamizaje Fitoquímico

Los ensayos fitoquímicos constituyen una forma confiable de realizar un análisis cualitativo de los extractos, ya que dan información preliminar acerca de su composición química. (Castillo, 2017) explica que cuando se investigan muchos extractos de plantas, el tamizaje fitoquímico da una ventaja, ya que permite descartar todas aquellas especies que no presentan ningún compuesto químico de interés. Estos ensayos se llevan a cabo por medio de reacciones cualitativas, es decir, donde se da un cambio de coloración. Las cuales son reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo.

Las pruebas de tamizaje empleadas se detallan en las tablas de la 12 a la 20 a continuación:

Identificación de alcaloides

Tabla 12. Pruebas para identificación de alcaloides.

Nombre de la prueba	Reactivo	Resultado positivo
Dragendorff	$\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$, HCl, KI y H_2O destilada	Precipitado negruzco
Wagner	I_2 , KI y H_2O destilada	Precipitado chocolate-rojizo
Hager	Ácido pícrico	Precipitado chocolate-amarillo
Mayer	HgCl_2 , KI y H_2O destilada	Precipitado amarillo-blancuzco

Identificación de flavonoides

Tabla 13. Pruebas para identificación de flavonoides.

Nombre de la prueba	Reactivo	Resultado positivo
Shinoda	Mg (s) y HCl concentrado	Coloración magenta
Ácido sulfúrico	H_2SO_4 concentrado	Antocianinas: coloración naranja-amarillo Flavononas: coloración naranja-rojiza
Hidróxido sodio	NaOH 5%	Antocianinas: coloración azul-violeta Flavononas: coloración amarillo-naranja Flavonas: coloración amarilla

Identificación de esteroides y Triterpenos

Tabla 14. Pruebas para identificación de esteroides y triterpenos.

Nombre de la prueba	Reactivo	Resultado positivo
Liebermann-Buchard	Anhídrido acético y H ₂ SO ₄ concentrado	Cambio de coloración de rojo-azul-verde
Salkowski	H ₂ SO ₄ concentrado	Coloración amarillo-dorado
Rosenthaler	Arsenito de potasio y H ₂ SO ₄ concentrado	Coloración violeta en la interfase

Identificación de glicósidos cardiotónicos

Tabla 15. Pruebas para identificación de glicósidos cardiotónicos.

Nombre de la prueba	Reactivo	Resultado positivo
Keller-Killani	HOAc glacial, FeCl ₃ y H ₂ SO ₄ concentrado	Coloración chocolate-rojiza en interfase
Legal	Nitroprusiato de sodio y NaOH al 10%	Coloración de rosado intenso a rojo sangre
Baljet	Ácido pícrico, metanol y NaOH	Coloración rojo vino

Identificación de saponinas

Tabla 16. Pruebas para identificación de saponinas.

Nombre de la prueba	Reactivo	Resultado positivo
Formación de espuma	Agua	Formación 1-2 cm de espuma, duración > 30 s

Identificación de taninos

Tabla 17. Pruebas para identificación de taninos.

Nombre de la prueba	Reactivo	Resultado positivo
Acetato de plomo	Pb(OAc) ₂ 10%	Precipitado blanco

Identificación de compuestos fenólicos

Tabla 18. Pruebas para identificación de compuestos fenólicos.

Nombre de la prueba	Reactivo	Resultado positivo
Cloruro férrico	FeCl ₃ al 5%	Coloración violeta a negro

Identificación de gomas y mucílagos

Tabla 19. Pruebas para identificación de gomas y mucílagos.

Nombre de la prueba	Reactivo	Resultado positivo
Gelatina-sal	Gelatina 1%-sal 10%	Precipitado blancuzco o turbiedad

Identificación de carbohidratos

Tabla 20. Pruebas para identificación de carbohidratos.

Nombre de la prueba	Reactivo	Resultado positivo
Fehling	Sulfato de cobre, tartrato de sodio y potasio, NaOH, HCl y H ₂ O destilada	Precipitado rojo, azúcar reductores

Las pruebas de tamizaje fitoquímico se aplicaron a los extractos obtenidos de las diversas partes de las plantas analizadas que fueron las hojas, raquis, flor y fruto del *A. excelsum*, *C. cainito*, *E. cyclocarpum*, *T. rosea*, *T. micrantha* y *V. elongata*. Como se muestra en la tabla 21, se realizaron ocho pruebas químicas en donde se señaló con el signo (+) al resultado positivo leve, con el signo (++) el positivo moderado y con el signo (+++) el positivo abundante; con el signo (-) fueron los resultados negativos al ensayo aplicado y con (no) al ensayo que no fue realizado.

Tabla 21. Resultados obtenidos del Tamizaje Fitoquímico.

Muestra Vegetal	<i>Anacardium excelsum</i>				<i>Chrysophyllum cainito</i>			<i>Enterolobium cyclocarpum</i>		<i>Tabebuia rosea</i>		<i>Trema micrantha</i>			<i>Virola elongata</i>
	Hoja	Raqui	Flor	Fruto	Hoja	Raqui	Fruto	Hoja	Raqui	Hoja	Raqui	Hoja	Raqui	Flor	fruto
Tipo de Prueba															
Alcaloides															
Dragendorff	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wagner	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++
Hager	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mayer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++
Flavonoides															
Ácido sulfúrico	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++
NaOH 5%	++	+	+	+++	+	++	+	++	+	++	+	+	+	+	+
Shinoda	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicósidos Cardiotónicos															
Prueba de Legal	+	-	+	++	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Baljet	++	+	++	-	-	-	-	-	+	-	-	no	no	no	no
Keller Killani	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Esteroides / Triterpenos															
Liebermann-Buchard	-	-	-	++	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Salkowski	++	-	+	++	+	+	+	+	-	+	+	++	+++	+++	++
Rosenthaler	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saponinas															
Formación de Espuma	+	-	-	+	+	-	+	+	++	-	-	+	++	++	++
Taninos y Compuestos Fenólicos															
Cloruro Férrico 5%	++	-	+	+++	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Acetato de plomo	++	-	+	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gomas y mucílagos															
Gelatina -sal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Carbohidratos															
Fehling	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Abundancia y Diversidad de Metabolitos Secundarios en la Dieta de Tropas de Monos Aulladores (*Alouatta palliata*) de Chorcha, Chiriquí.

Parte C

3.1.3. Perfil Químico

3.1.4. Separación y purificación



Las muestras trabajadas en el estudio no presentaban ningún tipo de información con respecto a su composición química, por lo que se desconocía como se podía lograr la separación adecuada de sus componentes. Es por ello que a cada una de las muestras recolectadas (tabla 22) se le realizaron eluciones con diversas mezclas de solventes que abarcaban rangos de polaridad baja, media y alta. Obteniéndose así que del grupo diverso de muestras ensayadas (24 en total) solo cuatro pertenecientes a tres especies arbóreas (ver tabla 23), fueron en las que se lograron apreciar en TLC no solo una separación notoria de sus componentes si no también evidencia de compuestos químicos diversos, ver las figuras 26 a 28.

Tabla 22. Códigos de las muestras recolectadas para el estudio.

Nombre de la especie arbórea	Código de muestra	Parte del árbol	Estación de año
<i>Anacardium excelsum</i>	H01 _{HO}	Hoja	Verano
	H01 _{RA}	Raquis	
	F01	Flor	
	FT03	Fruto verde	
	FT04	Fruto maduro	
	FT05	Pedúnculo	
<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	H ₄₅₆	Hoja	Verano
	T ₄₅₆	Raquis	Invierno
	H04 _{HO}	Hoja	
	H04 _{RA}	Raquis	
	F02	Flor	
	H07 _{HO}	Hoja	
	H07 _{RA}	Raquis	
<i>Chysophyllum cainito</i>	H02	Hoja	Verano
	FT01	Fruto maduro	
	FT02	Fruto verde	
	H03	Raquis	
<i>Trema micrantha</i>	H06 _{HO}	Hoja	Invierno
	H06 _{RA}	Raquis	
	F03	Flor	
<i>Tabebuia rosea</i>	H05 _{HO}	Hoja	Verano
	H05 _{RA}	Raquis	

<i>Virola elongata</i>	FT06 _{CAS}	Cáscara del fruto maduro	Invierno
	FT07 _{PUL}	Pulpa del fruto maduro	

Tabla 23. Muestras con mejor perfil químico.

Nombre de la especie arbórea	Parte de Interés	Código de Muestra	Códigos de Fracciones purificadas
<i>Anacardium excelsum</i>	Fruto	FT04	FxA - FxB1 - FxB2 - FxE
<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	Hoja	H ₄₅₆	Fx 2-9 – Fx 11-19
		H04 _{HO}	Fx M23 – Fx M56
<i>Trema micrantha</i>	Hoja	H06 _{HO}	FxV – FxAM

Nota: Los códigos que se le colocaron a las fracciones purificadas representan la sección del plaqueo del cual fueron obtenidos.



Figura 26. Placa de fase reversa eluida con metanol. La muestra señalada corresponde a la H₄₅₆ (hoja del *Enterolobium cyclocarpum*), se puede observar diversas fracciones lo que sugiere diversos compuestos químicos. Revelado de placa con vainillina.

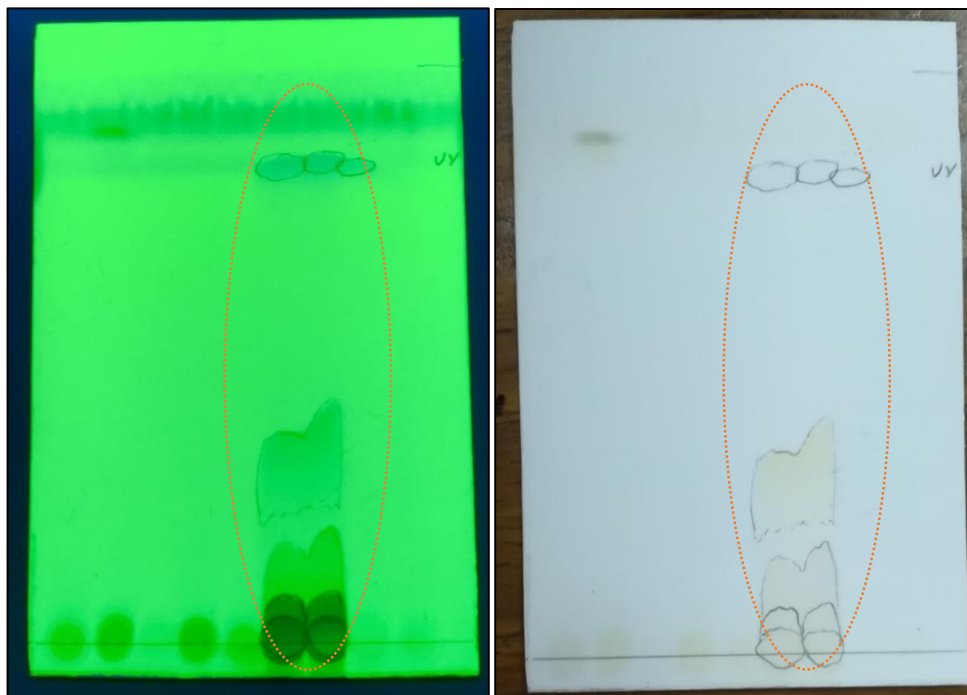


Figura 27. Placas en fase normal eluidas con una mezcla de acetato-hexano (7:3). La muestra señalada corresponde a la FT03 y FT04 (fruto del *Anacardium excelsum*), se logra observar cuatro fracciones que sugieren distintos compuestos químicos. De derecha a izquierda: Revelado de placa con vainilla y bajo luz UV (254 nm).

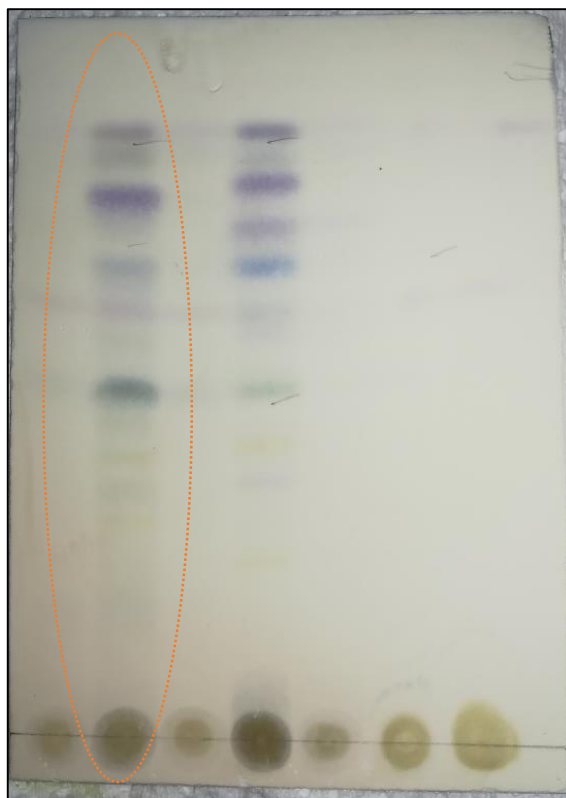


Figura 28. Placa en fase normal eluida con una mezcla de hexano-acetato (8:2). La muestra señalada corresponde a la H06_{HO} (hoja de *Trema micrantha*). Revelado con vainillina.

Separación y Purificación

Tras obtener los perfiles químicos de las muestras se procedió a su separación y purificación de acuerdo al comportamiento observado por las mismas en las placas de TLC. En la muestra H₄₅₆ que corresponde a la hoja del corotú (*Enterolobium cyclocarpum*) se logró la separación de dos compuestos de interés (figura 29) por medio de la utilización de la cromatografía de exclusión Sephadex; en las fracciones separadas se encontraron rastros de clorofila las cuales fueron removidas empleando cloroformo (figura 30). Es de esta manera que se obtuvieron las fracciones purificadas: Fx 2-9 y Fx 11-19. Del mismo modo se trabajó con la muestra H04HO, obteniéndose las fracciones purificadas: FxM23 y FxM56.

En el caso de la muestra FT04 correspondiente al fruto del espavé (*Anacardium excelsum*) la separación fue llevada a cabo por cromatografía en columna en sílica de fase normal empleando como fase móvil una mezcla de acetato-hexano (8:2). Luego de obtener las placas de las fracciones separadas, se descartaron aquellas que no contenían evidencia de compuesto químico (figura 31). De esta se pudieron separar cinco fracciones de interés (figura 32), de las cuales cuatro de ellas se semi-purificaron a través de una cromatografía en columna de fase reversa empleando como fase móvil acetonitrilo al 100% (figura 33), y posteriormente, se les realizó una TLC preparativa en los mismos medios para así obtener las fracciones totalmente separadas y purificadas (figura 34). De esta especie arbórea se obtuvieron las fracciones purificadas: FxA, FxB1, FxB2, FxE.

Por último, la muestra H06_{HO} correspondiente a las hojas del capulín (*Trema micrantha*) se realizó una separación empleando una cromatografía en capa fina preparativa de fase normal (figura 35) eluida en una mezcla de hexano-acetato (9:1) como fase móvil. De esta se obtuvieron dos fracciones de interés (figura 36), que fueron las fracciones: FxV y FxAM, con las cuales se realizó una TLC para confirmar su separación, sin embargo, como se puede ver en la figura 37 la separación no fue muy efectiva.

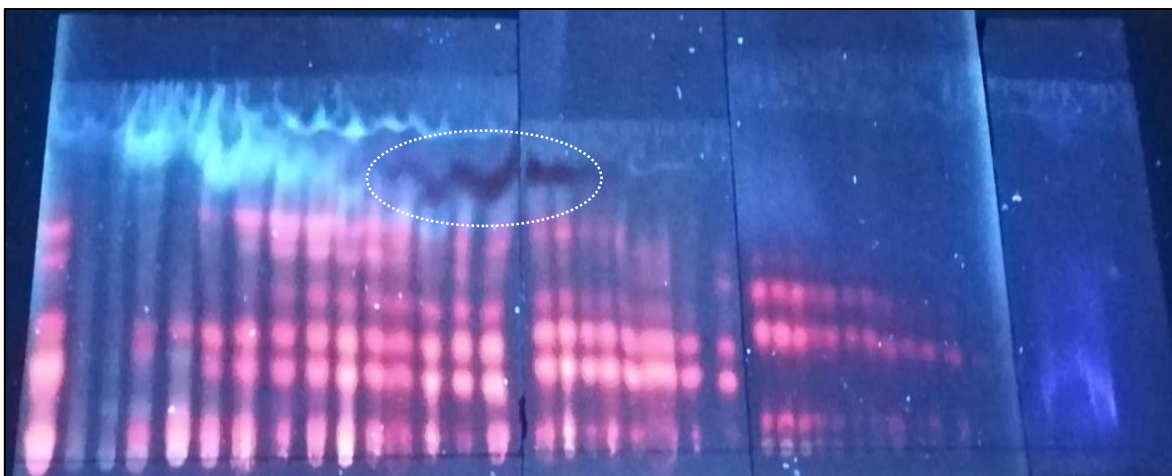


Figura 29. Fracciones obtenidas de la separación en Sephadex de la Muestra H₄₅₆ (hoja de *Enterolobium cyclocarpum*). Las manchas señaladas son compuestos interés. Revelado bajo luz de 354nm.



Figura 30. Fracciones separadas de la muestra H₄₅₆ (hoja de *Enterolobium cyclocarpum*). Para observar la eliminación de la clorofila (mancha en rojo) de la muestra.

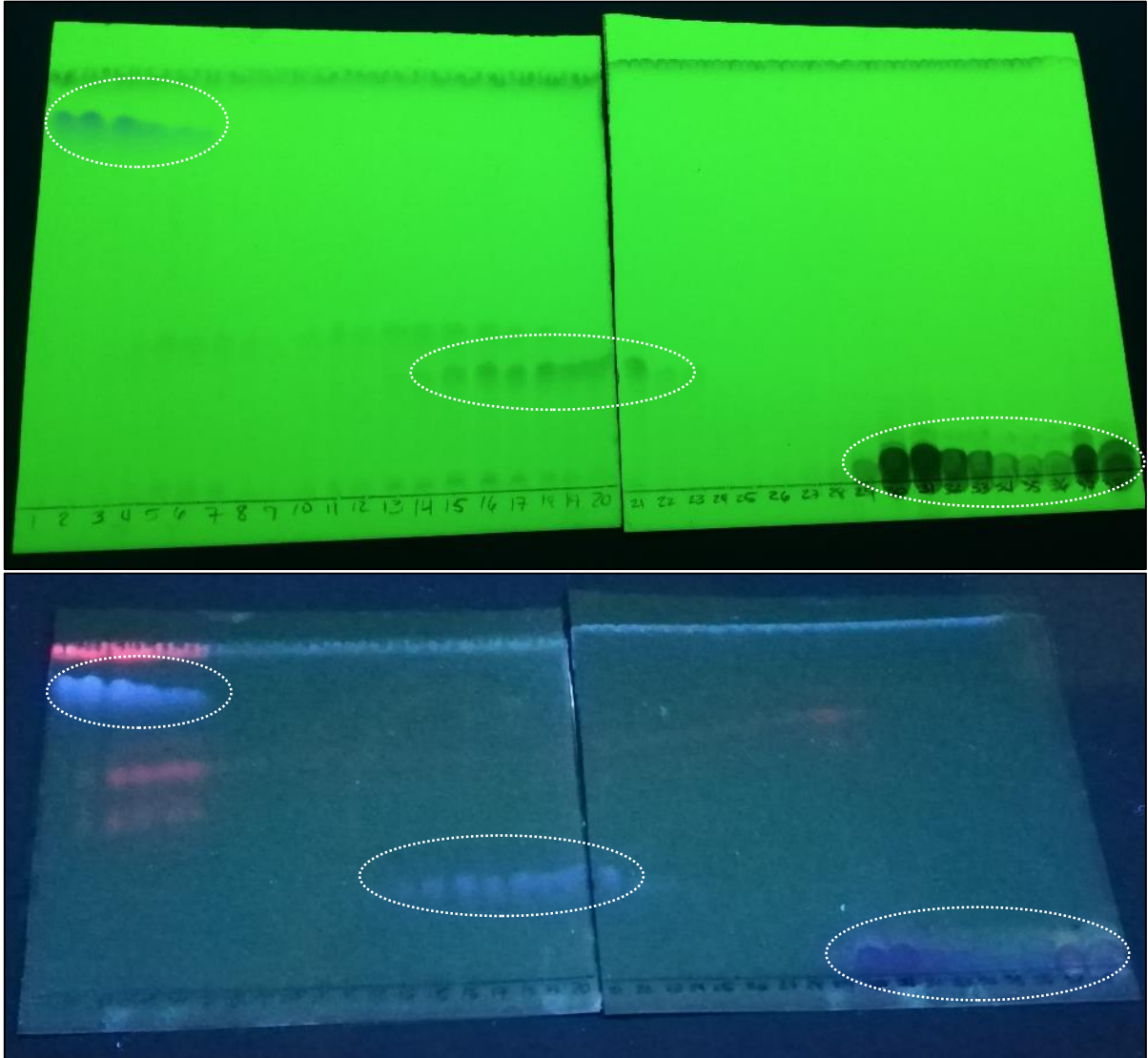


Figura 31. Fracciones obtenidas de separación en columna de sílica fase normal de la Muestra FT04 (fruto del *Anacardium excelsum*) eluida con una mezcla de acetato-hexano (8:2). Las manchas señaladas son los compuestos de interés. De arriba hacia abajo: Revelado bajo luz UV a 254nm y fluorescencia a 354nm respectivamente.

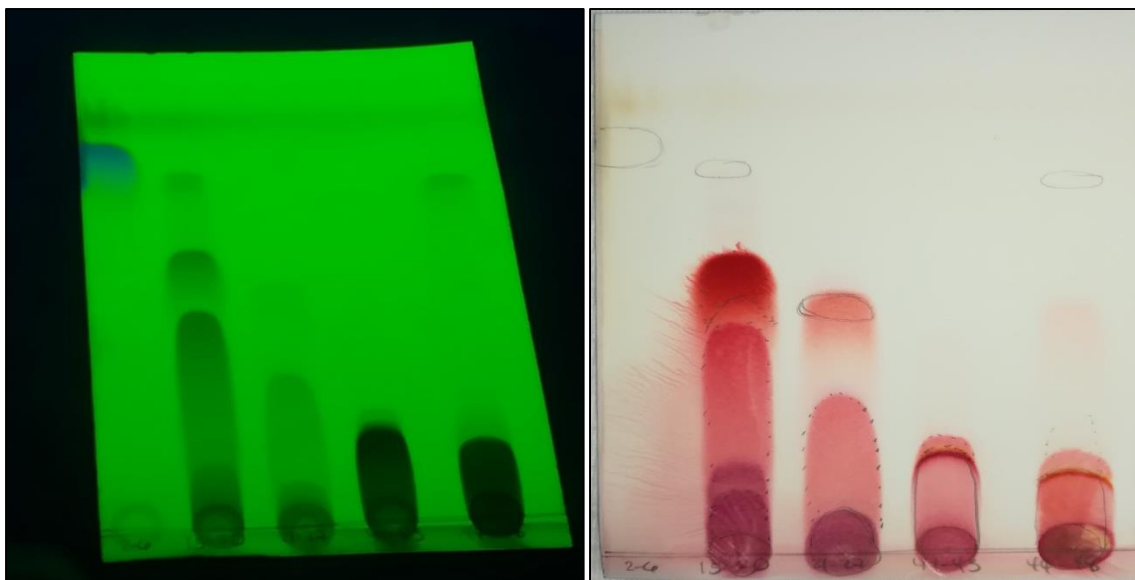


Figura 32. Fracciones separadas de la muestra FT04 (fruto del *Anacardium excelsum*). De Izquierda a derecha: Revelado bajo luz UV 254 nm y Revelado con vainillina respectivamente.



Figura 33. Placa de fase reversa de las fracciones separadas de la muestra FT04 (fruto del *Anacardium excelsum*) eluida en acetonitrilo como fase móvil. Revelado con vainillina.

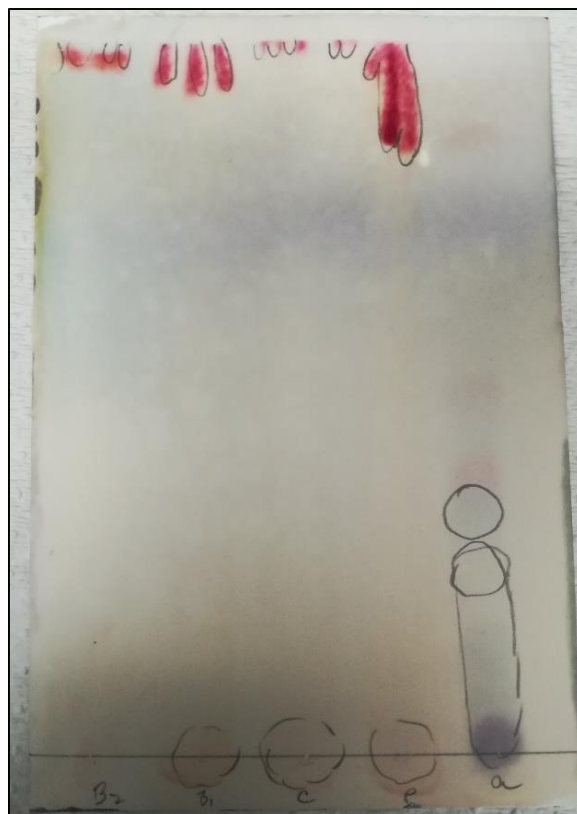


Figura 34. Fase reversa de las fracciones obtenidas de la TLC preparativa de la muestra FT04 (fruto del Anacardium excelsum). Fase móvil acetonitrilo al 100% y revelado con vainillina. Verificación de separación de fracciones.



Figura 35. Elución de TLC preparativa en fase normal de la muestra H06H0 (hoja de Trema micrantha en una mezcla de hexano - acetato (9:1) como fase móvil. Inyección de la Muestra fue de 120 mg.

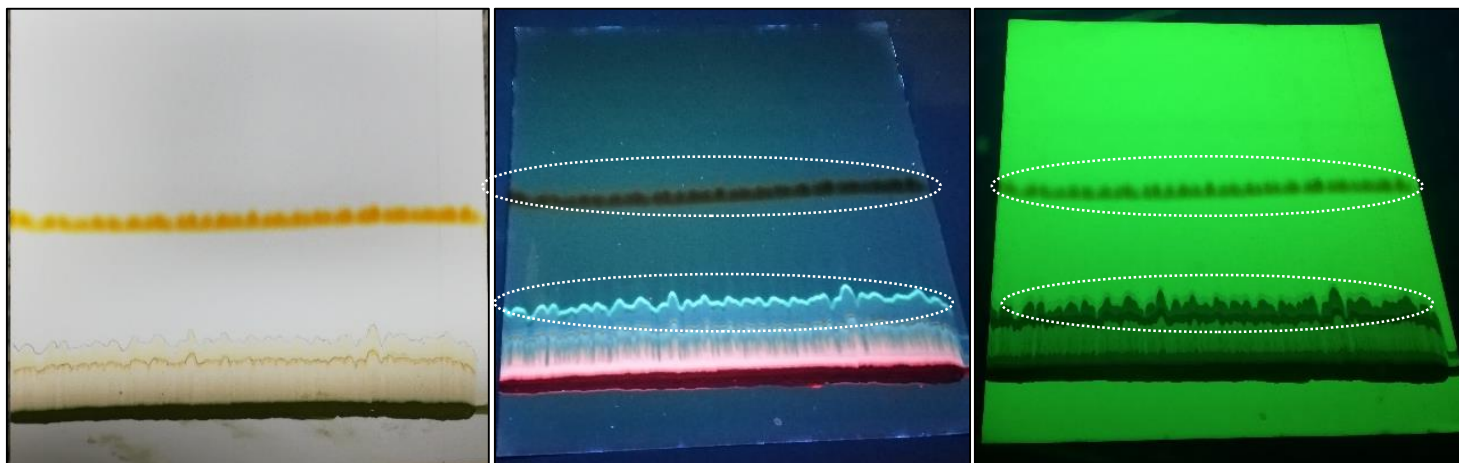


Figura 36. TLC preparativa eluida de la muestra H06_{HO}. De derecha a izquierda: Placa observada sin revelador, Placa revelada con luz uv (254nm) y placa revelada en fluorescencia (366nm) respectivamente. Las muestras señaladas son el componente de interés.

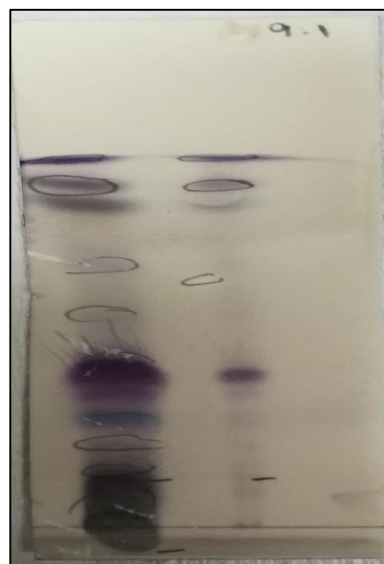


Figura 37. Placa de las dos bandas separadas de la TLC preparativa de la muestra H06_{HO} (hoja de *Trema micrantha*). Revelado con vainillina.

Parte D

3.1.5. Actividad Antioxidante (Bioautografía con DPPH)



El ensayo de bioautografía para actividad antioxidante empleando el revelador de DPPH fue realizado para evidenciar si existe actividad antioxidante en los extractos de las diferentes partes de las especies arbóreas estudiadas. Se utilizó cromatografía de capa fina (TLC) y se tomaron como resultados positivos aquellos puntos amarillos en un fondo violeta tras revelar las placas utilizando DPPH, **(Rashid et al, 2010)**.

El radical 2,2-difenil-1- picrilhidrazilo (DPPH) es un radical libre muy popular usado en la evaluación de la actividad antioxidante. Por medio de una separación cromatográfica se obtiene una consecuente determinación de la actividad antirradicalaria y se puede evaluar la contribución antioxidante de los diferentes componentes en los extractos **(Muñoz et al, 2012)**.

Las muestras en las placas de sílica se eluyeron en fase móviles diferentes, las muestras de caimito, corotú y guayacán rosado se eluyeron en hexano-acetato (8:2), de las cuales se obtuvo un resultado positivo para las muestras en las tres placas (ver figura 38). Por otro lado, las muestras de espavé, capulín y virola se eluyeron en una mezcla de acetato-hexano (7:3) en la que se evidenció un resultado positivo (ver figura 39).

En la tabla 24 se muestran los resultados obtenidos del ensayo para las muestras de los extractos crudos de las diferentes partes del *A. excelsum*, *C. cainito*, *E. cyclocarpum*, *T. rosea*, *T. micrantha* y *V. elongata* analizadas. Seguidamente en la tabla 25 se presentan los resultados observados para las muestras de las fracciones purificadas de las especies de *A. excelsum*, *T. rosea* y *E. cyclocarpum* (de estación seca y lluviosa).

Se eluyeron en una mezcla de acetato-hexano (7:3) como fase móvil las fracciones separadas de las plantas del *A. excelsum*, *E. cyclocarpum* y *T. micrantha* (ver figura 40). De la especie arbórea de *Anacardium excelsum* se ensayaron las cuatro fracciones de interés que se obtuvieron por medio de la separación y purificación. Estas fueron las fracciones: FxA, FxB1, FxB2, FxE. También fueron ensayadas las fracciones purificadas (FxAM y FxV) de la especie del *Trema micrantha*. Por último, se les aplicó el ensayo a las fracciones purificadas del *Enterolobium cyclocarpum* de época de verano (Fx 2-9 y Fx 11-19) y de época de invierno (FxM23 y FxM56) como se puede observar en la tabla 25.

Los resultados positivos de actividad antioxidante es posible ya que el método se basa en que el radical (DPPH) tiene un electrón desapareado y en esa forma es de color azul-violeta, que se decolora hacia un amarillo pálido por la reacción de la presencia de una sustancia antioxidante (Aldana & Guayasamín, 2014).

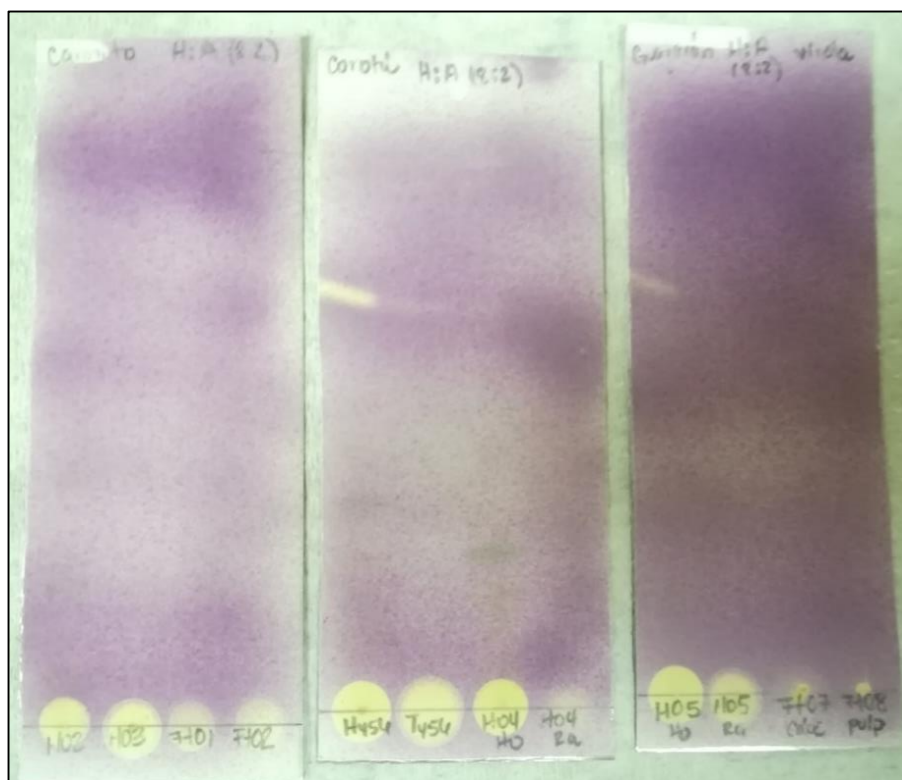


Figura 38. Revelado de placas eluidas en fase móvil de mezcla de Hexano-Acetato (8:2). Muestra de caimito, corotú y guayacán rosado (de izquierda a derecha).



Figura 39. Revelado de placas eluidas en fase móvil de mezcla de Acetato-Hexano (7:3). Muestra de espavé y virola (de izquierda a derecha).

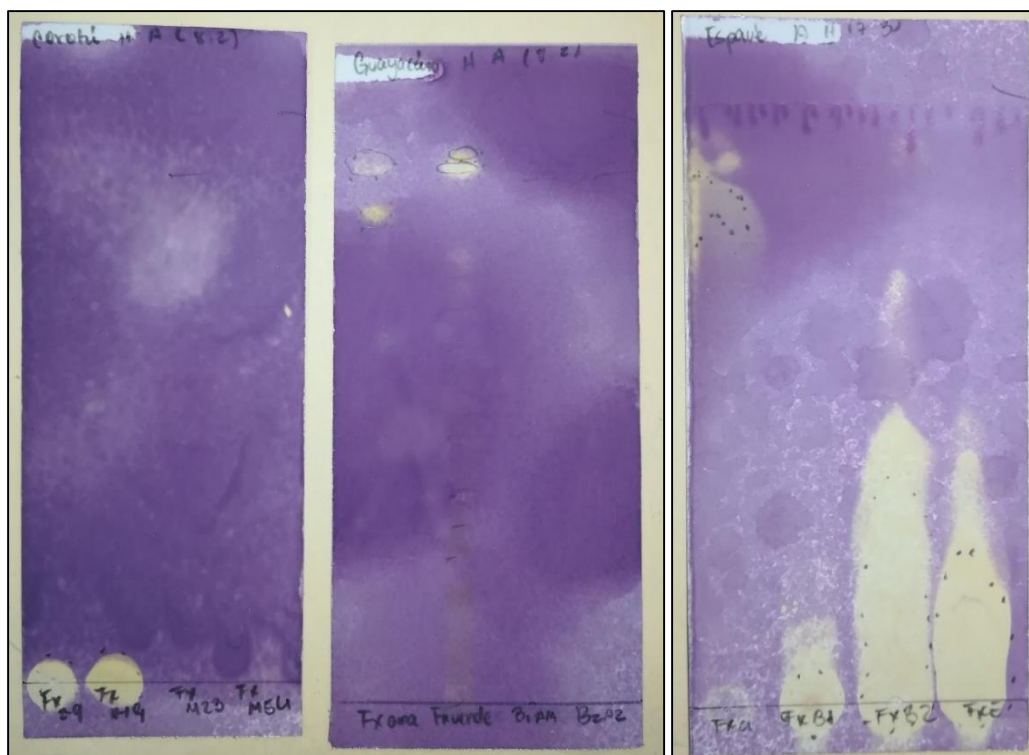


Figura 40. Revelado de placas eluidas, muestras de fracciones separadas de corotú, capulín y espavé (de izquierda a derecha).

Tabla 24. Resultados de la bioautografía para actividad antioxidante de las muestras de extractos crudos.

Actividad Antioxidante																
Extractos crudos																
<i>Anacardium excelsum</i>				<i>Chrysophyllum cainito</i>			<i>Enterolobium cyclocarpum</i>				<i>Tabebuia rosea</i>		<i>Trema micrantha</i>			<i>Virola elongata</i>
Hoja	Raqui	Flor	Fruto	Hoja	Raqui	Fruto	Hoja		Raqui		Hoja	Raqui	Hoja	Raqui	Flor	fruto
							Verano	Invierno	Verano	Invierno						
+++	++	++	+++	++	++	+	+++	+++	+++	+	+++	+	+	+	-	+

Tabla 25. Resultados de la bioautografía para actividad antioxidante de las fracciones purificadas.

Actividad Antioxidante									
Fracciones purificadas									
<i>Anacardium excelsum</i>				<i>Trema micrantha</i>		<i>Enterolobium cyclocarpum</i>			
FxA	FxB1	FxB2	FxE	FxAM	FxV	Verano		Invierno	
						Fx 2-9	Fx 11-19	FxM23	FxM56
+	+++	+++	+++	+	+	+++	+++	-	-

Parte E

3.1.6. Análisis de los Espectros IR



En el estudio espectroscópico infrarrojo (IR) se analizaron todas las muestras recolectadas. El análisis de los espectros se llevó a cabo determinando el número de señales y la frecuencia (cm⁻¹) que presentaba cada una de las especies arbóreas, para así poder definir el grupo funcional correspondiente a las señales encontradas. Los valores de las señales de los espectros IR se registraron de acuerdo a la especie arbórea como se mencionó previamente, contemplando cada una de las partes de la especie en estudio. Los resultados se presentan en las siguientes tablas.

Espavé (*Anacardium excelsum*)

Tabla 26. Valores de las señales en los espectros infrarrojos de *A. excelsum*.

Parte de especie arbórea	Hoja		Raquis		Flor		Fruto verde		Fruto seco	
Nombre científico especie arbórea	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)
<i>Espavé (Anacardium excelsum)</i>	1	665.44	1	819.75	1	707.88	1	761.88	1	763.81
	2	765.74	2	860.25	2	815.89	2	815.89	2	819.75
	3	829.39	3	902.69	3	862.18	3	867.97	3	875.68
	4	860.25	4	927.76	4	929.69	4	1035.77	4	1037.7
	5	927.76	5	1016.49	5	970.19	5	1066.64	5	1076.28
	6	1014.56	6	1058.92	6	1055.06	6	1205.51	6	1203.58
	7	1041.56	7	1242.16	7	1211.3	7	1323.17	7	1321.24
	8	1058.92	8	1508.33	8	1244.09	8	1450.47	8	1448.54
	9	1205.51	9	1541.12	9	1315.45	9	1516.05	9	1498.69
	10	1226.73	10	1556.55	10	1454.33	10	1533.41	10	1533.41
	11	1305.81	11	1649.14	11	1508.33	11	1548.84	11	1548.84
	12	1354.03	12	1697.36	12	1539.2	12	1608.63	12	1608.63
	13	1417.68	13	2850.79	13	1556.55	13	1708.93	13	1693.5
	14	1454.33	14	2918.3	14	1610.56	14	2713.84	14	1708.93
	15	1508.33	15	3334.92	15	1649.14	15	2854.65	15	1724.36
	16	1539.2			16	1699.29	16	2924.09	16	2713.84
	17	1556.55			17	2852.72	17	3292.49	17	2899.01
	18	1608.63			18	2922.16			18	2926.01

	19	1651.07			19	3361.93			19	2974.23
	20	1695.43			20	3736.12			20	3292.49
	21	2611.62								
	22	2858.51								
	23	2922.16								
	24	3309.85								

Nota: se marcó con el color amarillo las señales similares entre cada parte de la planta.

Caimito (*Chrysophyllum cainito*)

Tabla 27. Valores de las señales en los espectros infrarrojos de *C. cainito*.

Parte de especie arbórea	Hoja		Raquis		Fruto maduro		Fruto verde	
	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)
<i>Caimito (Chrysophyllum cainito)</i>	1	721.38	1	648.08	1	775.38	1	651.94
	2	877.61	2	767.67	2	819.75	2	775.38
	3	979.84	3	813.96	3	875.68	3	817.82
	4	1041.56	4	877.61	4	902.69	4	875.68
	5	1247.94	5	1028.06	5	979.84	5	979.84
	6	1369.46	6	1097.5	6	1028.06	6	1028.06
	7	1454.33	7	1147.65	7	1076.28	7	1145.72
	8	1514.12	8	1201.65	8	1174.65	8	1246.02
	9	1546.91	9	1247.94	9	1246.02	9	1317.38
	10	1616.35	10	1363.67	10	1315.45	10	1367.53
	11	1651.07	11	1450.47	11	1365.6	11	1454.33
	12	1699.29	12	1514.12	12	1456.26	12	1514.12
	13	1732.08	13	1533.41	13	1539.2	13	1539.2
	14	2854.65	14	1550.77	14	1649.14	14	1645.28
	15	2924.09	15	1610.56	15	1732.08	15	1732.08
	16	3331.07	16	1730.15	16	2854.65	16	2872.01

			17	1780.3	17	2924.09	17	2939.52
			18	2854.65	18	3396.64	18	3365.78
			19	2927.94	20	3736.12	19	3741.9
			20	3338.78				

Nota: se marcó con el color amarillo las señales similares entre cada parte de la planta.

Corotú (*Enterolobium cyclocarpum*)

Tabla 28. Valores de las señales en los espectros infrarrojos de *E. cyclocarpum*.

Parte de especie arbórea	Estación Seca				Estación Lluviosa			
	Hoja		Raquis		Hoja		Raquis	
Nombre científico especie arbórea	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)
<i>Corotú (Enterolobium cyclocarpum)</i>	1	665.44	1	881.47	1	669.3	1	669.3
	2	829.39	2	1031.92	2	813.96	2	1068.56
	3	894.97	3	1166.93	3	1053.13	3	1381.03
	4	1031.92	4	1265.3	4	1201.65	4	1450.47
	5	1070.49	5	1340.53	5	1307.74	5	1629.85
	6	1199.72	6	1377.17	6	1357.89	6	1726.29
	7	1246.02	7	1456.26	7	1444.68	7	2848.86
	8	1313.52	8	1514.12	8	1500.62	8	2916.37
	9	1371.39	9	1645.28	9	1608.63	9	3371.57
	10	1454.33	10	1705.07	10	1645.28		
	11	1514.12	11	1737.86	11	1726.29		
	12	1618.28	12	2854.65	12	2850.79		
	13	1645.28	13	2924.09	13	2918.3		
	14	1699.29	14	3394.72	14	2966.52		
	15	1737.86	15	3741.9	15	3342.64		
	16	2727.35						
	17	2854.65						

	18	2924.09					
	19	2954.95					
	20	3388.93					
	21	3741.9					

Nota: se marcó con el color amarillo las señales similares entre cada parte de la planta.

Guayacán rosado (*Tabebuia rosea*)

Tabla 29. Valores de las señales en los espectros infrarrojos de *T. rosea*.

Parte de especie arbórea	Hoja		Raquis	
Nombre científico especie arbórea	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)
<i>Guayacán rosado (Tabebuia rosea)</i>	1	646.15	1	644.22
	2	815.89	2	767.67
	3	858.32	3	815.89
	4	918.12	4	912.33
	5	1035.77	5	1047.35
	6	1159.22	6	1157.29
	7	1261.45	7	1238.3
	8	1359.82	8	1379.1
	9	1444.68	9	1442.75
	10	1602.85	10	1602.85
	11	1624.06	11	1685.79
	12	1685.79	12	2927.94
	13	2924.09	13	2962.66
	14	3323.35	14	3327.21

Nota: se marcó con el color amarillo las señales similares entre cada parte de la planta

Capulín (*Trema micrantha*)

Tabla 30. Valores de las señales en los espectros infrarrojos de *T. micrantha*.

Parte de especie arbórea	Hoja		Raquis		Flor	
Nombre científico especie arbórea	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)
<i>Capulín (Trema micrantha)</i>	1	715.59	1	758.02	1	667.37
	2	837.11	2	873.75	2	759.95
	3	894.97	3	921.97	3	875.68
	4	995.27	4	1043.49	4	1045.42
	5	1043.49	5	1246.02	5	1220.94
	6	1074.35	6	1373.32	6	1375.25
	7	1165	7	1510.26	7	1454.33
	8	1242.16	8	1575.84	8	1485.19
	9	1375.25	9	1610.56	9	1575.84
	10	1446.61	10	1649.14	10	1618.28
	11	1510.26	11	1710.86	11	1633.71
	12	1577.77	12	2854.65	12	1701.22
	13	1618.28	13	2922.16	13	2850.79
	14	1651.07	14	3286.7	14	2920.23
	15	1712.79			15	3294.42
	16	1734.01				
	17	2729.27				
	18	2852.72				
	19	2922.16				
	20	2958.8				
	21	3356.14				

Nota: se marcó con el color amarillo las señales similares entre cada parte de la planta.

(*Virola elongata*)

Tabla 31. Valores de las señales en los espectros infrarrojos de *V. elongata*.

Parte de especie arbórea	Cáscara fruto maduro		Pulpa fruto maduro	
Nombre científico especie arbórea	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)
<i>Virola elongata</i>	1	669.3	1	646.15
	2	775.38	2	777.31
	3	815.89	3	817.82
	4	879.54	4	877.61
	5	1045.42	5	923.9
	6	1080.14	6	1045.42
	7	1263.37	7	1253.73
	8	1379.1	8	1408.04
	9	1450.47	9	1608.63
	10	1608.63	10	1708.93
	11	1643.35	11	1724.36
	12	1724.36	12	2900.94
	13	2926.01	13	2970.38
	14	2970.38	14	3305.99
	15	3346.5		

Nota: se marcó con el color amarillo las señales similares entre cada parte de la planta

Todos los cromatogramas de los espectros IR pueden verse en el Anexo II.

Parte F

3.1.7. Análisis de los Espectros RMN



Espectros (¹H-RMN) de muestra cruda y fracciones purificadas

Para los análisis en resonancia magnética nuclear (RMN) se realizaron tanto en muestras crudas como las fracciones purificadas. En este caso las muestras crudas analizadas fueron la H₄₅₆, que son las hojas del corotú en época seca y la FT04 que es el fruto del espavé; en cuanto a las muestras que se obtuvieron mejor purificación fueron la FxA de fruto del espavé y FxM56 de corotú en época lluviosa. El análisis de los espectros se llevó a cabo determinando el desplazamiento químico (ppm) y la interacción (H⁺) que presentaba cada una de las especies arbóreas, como se muestra en las tablas 32 a 35.

Corotú (Enterolobium cyclocarpum)

Tabla 32. Valores del espectro (¹H-RMN) de la hoja del corotú recolectada en época seca, muestra H₄₅₆.

No.	Desplazamiento químico (ppm)	Integración (H ⁺)
1	1.00	3.08
2	1.70	2.11
3	2.40	2.14
4	2.60	1.23
5	2.80	0.93
6	4.10	0.99
7	4.20	2.52
8	5.40	2.38
9	7.50	1.05
10	7.70	1.00

Tabla 33. Valores del espectro (¹H-RMN) de la hoja del corotú recolectada en época lluviosa, fracción FxM56.

No.	Desplazamiento químico (ppm)	Integración (H ⁺)
1	2.30	0.87
2	3.70	2.27
3	3.90	0.73
4	5.40	1.35
5	6.20	1.38
6	6.40	2.23
7	6.70	1.33
8	6.90	1.00

Espavé (Anacardium excelsum)

Tabla 34. Valores del Espectro (¹H-RMN) del fruto espavé, muestra FT04.

No.	Desplazamiento químico (ppm)	Integración (H ⁺)
1	1.60	3.21
2	2.30	0.85
3	3.00	1.99
4	5.30	2.35

5	6.80	0.96
6	6.90	1.00
7	7.30	0.97

Tabla 35. Valores del Espectro (^1H -RMN) de fruto espavé, fracción FxA.

No.	Desplazamiento químico (ppm)	Integración (H^+)
1	1.60	3.21
2	2.30	0.85
3	3.00	1.99
4	5.30	2.35
5	6.80	0.96
6	6.90	1.00
7	7.30	0.97

Espectro (^{13}C -RMN) y HMBC de muestra FxA, fruto del espavé

De la muestra FxA que corresponde a una fracción purificada del fruto del espavé se le realizó ensayos adicionales como el ^{13}C -RMN y bidimensional HMBC con el fin de poder proponer una posible estructura química del posible metabolito aislado. La tabla de correlación se presenta en la tabla 36 a continuación.

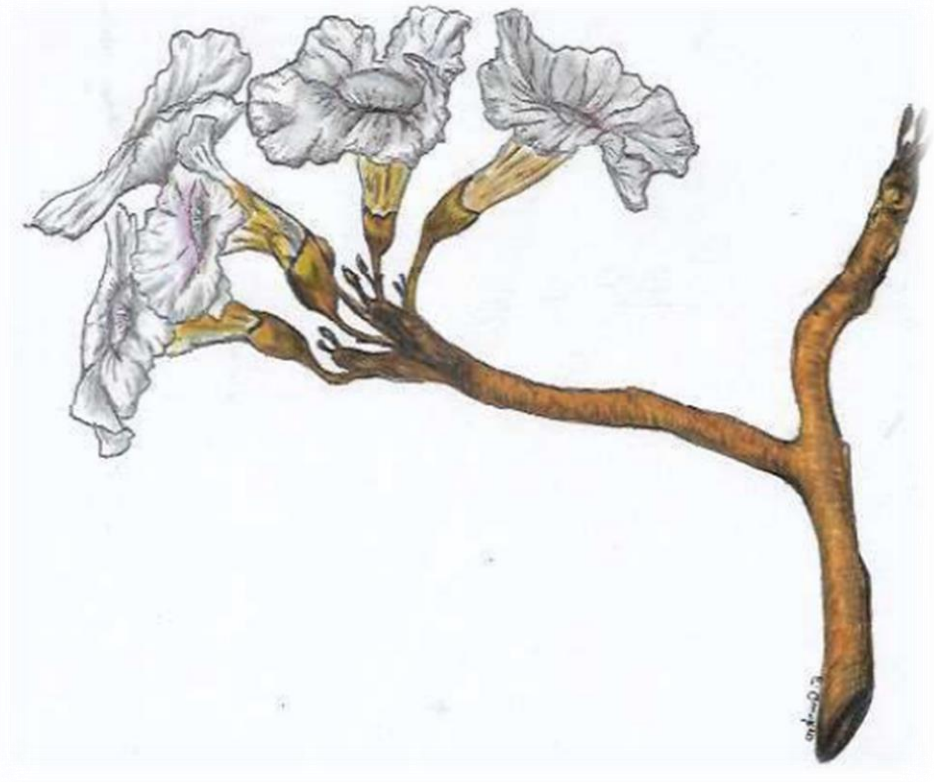
Tabla 36. Datos de RMN para correlaciones de la muestra del fruto del espavé, (FxA).

^1H -RMN	^{13}C -RMN	Tipo	HMBC
0.89, 3H	13.9	CH3	29.7, 31.9
2.31, 2H, m	27.2	CH2	36.4 (vw)
1.31	29.7	CH2	129.9
1.60, 2H, m	31.9	CH2	29.7, 36.4, 147.1 (w)
1.60, 2H, m*	32.2	CH2	29.7, 36.4, 147.1 (w)
2,96 2H, dda	36.4	CH2	29.7, 32.2, 110.6, 122.3, 147.1
cuat	110.6	Csp2	NC
6.85, 1H, d	115.6	CH-Csp2	110.6, 122.3, 163.3 (w)
6.76, 1H, d	122.3	CH-Csp2	36.4, 110.6, 115.6, 147.1 (w), 163.3 (w)
5.34, 2H, dd	129.8	CH-Csp2	27.2, 29.7 (vw), 32.2
7.33, 1H, t	134.2	Csp2	110.6, 147.1, 163.3
cuat	147.1	Csp2 ox o unido a C=C	NC
cuat	163.3	C=O	NC
cuat	173.7	C=O	NC

Nota: NC: no correlaciona, w: weak (señal débil) y ox: oxigenado.

Parte II

3.2. Discusión de los Resultados



3.2.1. Muestreo.

Rubio (1963), pionero principal de la geografía panameña, describe que el relieve panameño tiene una disposición geográfica en tierras bajas, medias y altas, en donde la mayor parte de las tierras del Istmo (un 87%) son bajas, y se consideran "tierra caliente". Un 10% son "tierras templadas", y sólo una pequeña parte (un 3%) son las tierras altas denominada "tierra fría". Según (**Rubio, 1963**), las partes emergidas del Istmo de Panamá, se clasifican en:

- Las tierras bajas o calientes, inferiores a los 700 metros de altura.
- Las tierras de mediana altitud o templadas, cuya altitud oscila entre los 700 y 1,500 metros de altura.
- Las tierras altas o tierras frías, las que tienen más de 1,500 metros de latitud.

La meseta de Chorcha (se encuentra dentro de la clasificación de tierras bajas de Chiriquí) fue el lugar en el cual se llevó a cabo el estudio durante los meses comprendidos desde febrero a agosto del presente año. En este se reportaron 8 puntos de muestreo (tabla 10), cada punto se localizó por medio de la ayuda del GPS del dispositivo móvil con el fin de que a medida que se realizaban los muestreos posteriores se logrará ubicar la zona o punto en donde se había muestreado previamente y así poder observar tanto si las tropas de los *A. palliata* reiteraban el lugar como también poder recolectar muestras vegetales en caso de faltar para su análisis o identificación.

En la zona de muestreo se pudo evidenciar que presenta una gran biodiversidad tanto en la flora como en la fauna. Esto puede ser gracias a que en tierras bajas poseen bosques húmedos o muy húmedos tropicales. De acuerdo con (**Ibáñez, 2008**), los bosques tropicales de tierras bajas se caracterizan por una alta diversidad florística y a pesar de su aparente homogeneidad, presentan una gran variación en su composición de especies de árboles entre unos lugares y otros ya sea que estén lejanos o cercanos entre sí, por lo que contribuye a la diversidad de la zona. Estos bosques húmedos o muy húmedos son mayormente siempre verdes, aunque algunas especies pueden perder las hojas en la época seca. Presentan un dosel continuo y denso de una altura media de 2030 metros, y árboles emergentes de 4050 metros.

A pesar de la importancia de la diversidad biológica, los bosques de tierras bajas ya comienzan a dar señales de deterioro y degradación. La pérdida de cobertura boscosa ocasiona la fragmentación del bosque esta a su vez provoca el aislamiento de poblaciones de especies silvestres a remanentes boscosos. Consecuentemente se da un proceso de degeneración genética, especialmente en especies de fauna mayor, que en última instancia puede provocar la extinción de estas especies (**Ramírez, 2003**).

En el estudio realizado por (**Ramírez, 2003**) explica que el bosque húmedo tropical se encuentra presente tanto en la vertiente atlántica como pacífica del país, específicamente en las provincias de Panamá, Colón, Coclé, Darién, Chiriquí, Veraguas, Bocas del Toro y Los Santos. Señala que las áreas abruptas como las pendientes fuertes deberían estar reservadas para uso forestal o utilizarse juiciosamente para cultivos arbóreos permanentes, sin embargo, se emplean para fines como la ganadería extensiva y la agricultura migratoria.

Es por ello que por medio del estudio de esta zona se puede sentar las bases para que se tomen en consideración como una zona de alto potencial de conservación.

Durante el muestreo también se evidenciaron como eran conformadas las tropas de los *A. palliata*, como se describe en la tabla 11, en su mayoría se presenciaron tropas promedias en un rango de 12 a 15 individuos y siempre fueron observadas en zonas altas de los árboles. (**Emmons & Feer, 1999; Colin et al, 2005**) indican que pueden formar tropas de 2 a 45 individuos; comúnmente entre 14 individuos, los grupos son territoriales y están formados por uno o más machos adultos, varias hembras adultas y sus crías. Los machos y hembras jóvenes se dispersan del grupo antes de llegar a la edad adulta y viven solitarios hasta que pueden unirse a un grupo reproductor debido a la muerte de los individuos adultos o por enfrentamientos. Los aulladores habitan en bosques húmedos tropicales a bosques deciduos temporales (**Vallejo & Boda, 2018**) usan el estrato alto del bosque (figura 41) y pueden sobrevivir en pequeños fragmentos de bosque, aunque que no es lo ideal. La población de monos aulladores en áreas bien conservadas puede ser bastante grande (**Emmons & Feer, 1999**).



Figura 41. Tropa de mono aulladores observados en la Meseta de Chorcha.

3.2.2. Tamizaje fitoquímico.

El reconocimiento de metabolitos secundarios presentes en una planta se realiza por medio de pruebas fitoquímicas preliminares, las cuales son pruebas químicas de caracterización consistente en una reacción química que produce alteración rápida en la estructura molecular de un compuesto, por ejemplo, la modificación de un grupo funcional, la apertura de un sistema anular, la formación de un aducto o un complejo, lo cual da por resultado una

manifestación sensible como el cambio de un color, la formación de un precipitado o el desprendimiento de un gas, dándonos indicios de la presencia o ausencia de un metabolito secundario en particular **(Valencia et al, 2008)** .

Se analizaron los metabolitos secundarios que presentan las especies arbóreas que conforman parte de la dieta alimenticia de las tropas de monos aulladores (*A. palliata*), para poder determinar si existe una correlación o patrón con los beneficios que el metabolito puede brindarle al primate durante el proceso de alimentación. Se pudo evidenciar que algunos componentes químicos están asociados a su preferencia dietética que es notoria por los metabolitos secundarios que se lograron evidenciar. Los metabolitos secundarios son aquellos compuestos orgánicos sintetizados por el organismo que no tienen un rol directo en el crecimiento o reproducción del mismo. A diferencia de lo que sucede con los metabolitos primarios, la ausencia de algún metabolito secundario no le impide la supervivencia, pero se podrá ver ~~se~~ afectado por ella y algunas veces de manera grave **(Zeiger, 2006)**. Para identificar cuáles son los componentes químicos presentes se llevó a cabo un tamizaje fitoquímico. El tamizaje es una de las etapas iniciales de la investigación en química orgánica, ya que permite determinar cualitativamente los principales grupos constituyentes presentes en una planta y, a partir de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés **(Sharapin, 2000)**.

A las muestras se le llevaron a cabo ocho pruebas (tabla 21) correspondientes a los metabolitos secundarios principales. Para el tamizaje fitoquímico se emplearon los extractos obtenidos de la extracción líquido con etanol como solvente. En los resultados presentados se emplearon los signos: (+) indica levemente positivo, (++) moderadamente positivo, (+++) altamente positivo, (-) que indica que el resultado fue negativo y (no) que indica que la prueba no fue realizada; todo con respecto a las observaciones cualitativas evidenciadas. Del análisis preliminar fitoquímico se determinaron metabolitos secundarios presentes en flor, hoja, raquis y fruto de seis especies arbóreas. En su mayoría se observó la presencia de flavonoides, esteroides y terpenos principalmente, no obstante, también se evidenció la presencia de metabolitos como saponinas, glucósidos, taninos y compuestos fenólicos. Es destacable que en todos los árboles de las familias en estudio se dio la presencia positiva de flavonoides. En la especie del *Anacardium excelsum* y *Enterolobium cyclocarpum* se evidenció presencia de

glucósidos cardiotónicos. Esteroides y terpenos dieron positivo en la familia del *Anacardium excelsum*, *Chrysophyllum cainito*, *Tabebuia rósea* y *Enterolobium cyclocarpum*. En menor o mayor medida (ver tabla 12) se evidenció la presencia de saponinas en cada una de las familias de las especies arbóreas estudiadas. Solamente en el *Anacardium excelsum* se logró observar la presencia de taninos y compuestos fenólicos como también solamente se evidenció presencia de alcaloides en *Trema micrantha* y *Virola elongata*. En ninguna de las especies se logró obtener un resultado positivo con respecto a la presencia de gomas, mucílagos y carbohidratos. Los metabolitos secundarios encontradas presentes por cada especie en estudio se muestra en la tabla 37, a continuación.

Tabla 37. Metabolitos secundarios evidenciados por medio del tamizaje químico de acuerdo a la especie arbórea.

Especie arbórea	Familia	Metabolito Secundario
<i>Anacardium excelsum</i>	<i>Anacardiaceae</i>	Flavonoides, glicósidos cardiotónicos, esteroides, saponinas, taninos y compuestos fenólicos
<i>Chrysophyllum cainito</i>	<i>Sapotaceae</i>	Flavonoides, esteroides y saponinas
<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	<i>Fabaceae</i>	Flavonoides, glicósidos cardiotónicos, esteroides y saponinas
<i>Tabebuia rósea</i>	<i>Bignoniaceae</i>	Flavonoides y esteroides
<i>Trema micrantha</i>	<i>Cannabaceae</i>	Flavonoides, alcaloides, esteroides y saponinas
<i>Virola elongata</i>	<i>Myristicaceae</i>	Flavonoides, alcaloides, esteroides y saponinas

Alcaloides

Las pruebas realizadas fueron cuatro Dragendorff, Hager, Wagner y Mayer. La mayoría de alcaloides son sustancias con carácter básico, contienen nitrógeno heterocíclico, son obtenidas de plantas superiores y tienen actividades fisiológicas muy marcadas explica (Barreto, 2009). Los alcaloides son clasificados de acuerdo a la naturaleza de la estructura nitrogenada que poseen. Por ejemplo, pirrolidinos, piperidinos, quinoleíños, isoquinoleíños,

indólicos, entre otros, según la complejidad estructural de algunos de ellos, origina subdivisiones variadas.

Dadas sus características de basicidad, la extracción de alcaloides se lleva a cabo en medio ácido por formación de la sal, alcalinización y extracción con un solvente orgánico. Existen reacciones de reconocimiento con reactivos de precipitación y reactivos para el revelado de cromatogramas que permiten la confirmación de la presencia o ausencia de los alcaloides sustenta **(Barreto, 2009)**. Entre ellos se destaca la utilización de la prueba de Dragendorff como la más general para su determinación cualitativa. **(Fattorusso, 2008)** explica que los alcaloides son aquellos metabolitos secundarios de las plantas, sintetizados a partir de aminoácidos, que tienen en común su hidrosolubilidad a pH ácido y su solubilidad en solventes orgánicos a pH alcalino. Lo que puede explicar por qué no se logró evidenciar la presencia de este metabolito ya que las condiciones de extracción de los extractos no fueron las adecuadas para poder obtener este componente.

Esteroides/Triterpenos

Los terpenos, o terpenoides, constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios. La ruta biosintética de estos compuestos da lugar tanto a metabolitos primarios como secundarios de gran importancia para el crecimiento y supervivencia de las plantas. Suelen ser insolubles en agua y derivan todos ellos de la unión de unidades de isopreno (5 átomos de C), explica **(Girbes, 2008)**. Las pruebas para este metabolito secundario fueron Lieberman-Buchard, Salkowski y Rosenthaler.

Flavonoides

Se ensayaron tres pruebas las cuales fueron Shinoda, ácido sulfúrico concentrado e hidróxido de sodio al 5%. Los flavonoides son compuestos químicos del tipo C₆C₃C₆ (dos anillos aromáticos unidos por una cadena de tres carbonos) que se encuentran ampliamente distribuidas en los vegetales. La biosíntesis se lleva a cabo por dos rutas: Del ácido shikímico y de la acetilcoenzima A, vía malonilCoA (biosíntesis mixta), indica **(Osorio, 2015)**. En los flavonoides existe diversidad en cuanto a los sustituyentes del esqueleto carbonado especialmente en la cadena de tres carbonos lo que permite la clasificación en antocianinas, flavonas, flavanona, flavonoles, chalconas, flavononas, isoflavonas, entre otros. Se pudo

evidenciar la presencia de diversos flavonoides como las antocianinas, flavanonas y flavonas de acuerdo al tipo de coloración que presentaban en el resultado cualitativo, esto se debió a que de acuerdo al pH que presentan los extractos se puede evidenciar colores distintos. **(Dudley, 2014)** explica que estos compuestos en la reacción se dan como indicadores ácido-base que a pH ácido presentan coloraciones rojas, naranjas, violetas y moradas; mientras que a pH alcalino presentan coloraciones azules o verdes.

Glicósidos Cardiotónicos

Balbuena (2013), explica que los glicósidos cardiotónicos están constituidos por una porción esteroidal con grupos metilo en C-10 y C-13, un anillo de lactona α , β -insaturada de 4 carbonos y una porción glicosídica. Siempre tienen sustituyentes hidroxilo en C-3 y C-14. Se pueden dividir en dos grandes familias: cardenólidos butanólidos y cardenólidos bufadienólidos. Para la identificación de compuestos cardiotónicos se da debido a que la porción esteroidal de los cardiotónicos es reconocida con el reactivo de empleado, mientras que el anillo lactónico reacciona con compuestos aromáticos nitrados generando, con previa ruptura de la lactona y por sustitución electrófila aromática, compuestos coloreados mayormente se observa coloración rosa a rojo de color de la sangre sustenta **(Balbuena, 2013)**.

Saponinas

Son glicósidos cuya aglicona consiste en un núcleo esteroidal o triterpénico; esta característica estructural les confiere un carácter anfótero que les permite actuar como tensioactivos. Aprovechando esta propiedad, las dos pruebas más empleadas en la detección de saponinas son la de hemólisis y la de formación de espuma (Carvajal et al, 2009). En este caso se empleó la prueba de formación de espuma que consiste en agitar vigorosamente la muestra en un tubo de ensayo y observar la espuma formada. Ésta debe ser estable por lo menos 30 minutos para poder establecer la presencia de saponinas.

Taninos

Son principios activos de naturaleza polifenólica, ampliamente difundidos en el reino vegetal. Se dividen en dos grupos: gálicos o hidrolizables y condensados o catéquicos. Son

compuestos solubles en agua, alcohol y acetona y poco solubles o prácticamente insolubles en éter y cloroformo (**Fahmi, 2012**).

3.2.3. Actividad antioxidante.

Según **Vanegas et al (2019)**, el estrés oxidativo surge en sistemas biológicos después de una prolongada exposición a oxidantes, o a una disminución de la capacidad antioxidante del sistema o ambas. Está frecuentemente asociado con la generación de radicales libres como las especies reactivas oxigenadas (EROs), las cuales están fuertemente implicadas en la patología de enfermedades como el cáncer, enfermedades cardíacas, arterosclerosis; enfermedades cerebrales y el envejecimiento prematuro, entre otras. Cuando un exceso de radicales libres se forma, puede causar la inhibición de enzimas como la superóxido dismutasa, catalasas y peroxidasas. Esto genera efectos letales en las células por la oxidación de lípidos, proteínas, ADN y enzimas; ocasionando reacciones en cadena que perpetúan la producción de más radicales libres y aumenta el daño de tejidos. Sin embargo, los compuestos antioxidantes tienen la capacidad de inhibir o interrumpir las reacciones de transformación que causan daños a las mencionadas biomoléculas.

Los antioxidantes naturales provenientes de plantas han sido frecuentemente usados en diferentes campos de la industria farmacéutica como preservantes en alimentos y en medicina. Muchos de estos compuestos como la quercetina, α -tocoferol y el β -caroteno, entre otros, son antioxidantes naturales, que presentan una actividad comparable con antioxidantes sintéticos de mayor uso que pese a sus propiedades antioxidantes presentan la desventaja de ser tóxicos (**Vanegas et al, 2019**).

La actividad antioxidante es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa de tal manera que un antioxidante actúa, principalmente, gracias a su capacidad para reaccionar con radicales libres y por lo tanto recibe el nombre de antioxidante terminador de cadena (**Londoño, 2011**).

Para el análisis de la actividad antioxidante se emplearon aproximadamente 10 μ L de cada extracto y se realizó la bioautografía con DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazilo) (**Pabón et al, 2013**) revelando las placas por aspersion con una disolución al 0,2 % del radical 2,2-difenil-

1-pricrilhidrazilo (DPPH) en metanol (ver figuras 38 a 40). Para evidenciar si existe actividad antioxidante en el extracto de la especie arbórea se utilizó TLC en la cual se tomaron como resultados positivos aquellos puntos amarillos en un fondo violeta al utilizar DPPH, (**Rashid et al, 2010**).

El DPPH es empleado usualmente como sustrato para evaluar la actividad antioxidante de compuestos que se presume pueden tener capacidad captadora de radicales libres. El método está basado en la reducción de la absorbancia de la solución en metanol de DPPH• en la presencia de un antioxidante donador de hidrógeno (**Ocampo et al, 2014**). Los compuestos fenólicos pueden actuar como donadores de hidrógeno o de electrones en reacciones de este tipo, ya que el radical fenoxilo generado es menos reactivo y se estabiliza por resonancia con los electrones π del anillo aromático la donación del hidrógeno permite la generación de la forma no radicalaria DPPH-H (figura 42).

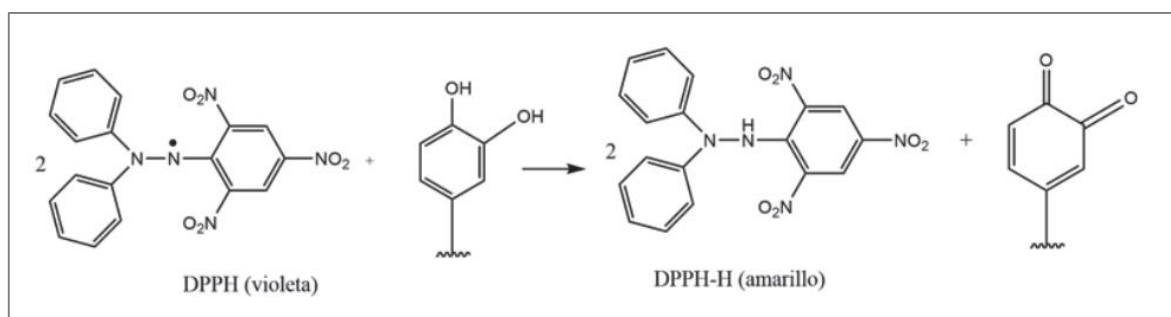


Figura 42. Mecanismo de la capacidad captadora de radicales de los compuestos fenólicos.
Fuente: (Ocampo et al, 2014)

Todos los extractos estudiados demostraron actividad antioxidante. Es evidente que las especies arbóreas con mayor presencia de flavonoides fueron las que presentaron mejores resultados con respecto a la actividad antioxidante.

Flavonoides

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales, le confieren colores amarillos, naranja, rojo, violeta y azul a muchas flores, hojas y frutos; con el fin de proteger a la planta frente a los rayos solares dañinos y también filtran algunas radiaciones para que con ayuda de la clorofila puedan ser útiles en el proceso de la fotosíntesis (**Cevallos, 2018**).

La estructura química de estos compuestos consta de dos anillos aromáticos (bencénicos), unidos a través de una cadena de tres carbonos que puede encontrarse como un anillo central heterocíclico (γ -pironas) que es el más común, o también con la cadena de tres carbonos abierta (Chalcona), C₆C₃C₆ (Martínez et al, 2002) (ver figura 44).

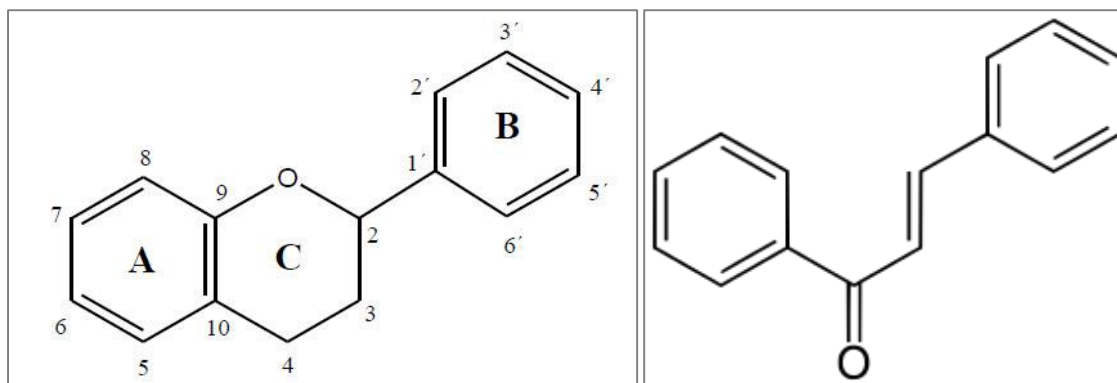


Figura 43. Estructura básica de flavonoide. De izquierda a derecha: flavonoide y chalcona.
Fuente: <https://www.researchgate.net/> y <https://es.wikipedia.org/>

La actividad antioxidante en los flavonoides se encuentra determinada por cinco características: 1) la presencia de sustituyentes con capacidad donadora de electrones, 2) la capacidad para deslocalizar el radical resultante, 3) potencial de quelación de metales de transición, 4) la accesibilidad del antioxidante al lugar de acción, definido por el carácter lipofílico o hidrofílico y 5) la interacción de los radicales con otras moléculas antioxidantes (Rivas & García, 2002). Además, como contienen un número variable de grupos hidroxilo que les confiere la propiedad de quelación de hierro y otros metales de transición. (Trease & Evans, 2009), explican que, gracias a esto tienen un papel importante en la protección frente al daño oxidativo, influyendo positivamente en la mejora de algunas patologías tales como la cardiopatía isquémica, la aterosclerosis o el cáncer.

Durante el análisis fitoquímico de los extractos se evidenció la presencia de diversos tipos de flavonoides, ya que dieron resultado positivo para antocianinas, flavonas, flavanonas (tabla 38). En la figura 44 se presenta la estructura química de los flavonoides: antocianinas, flavonas, flavanonas.

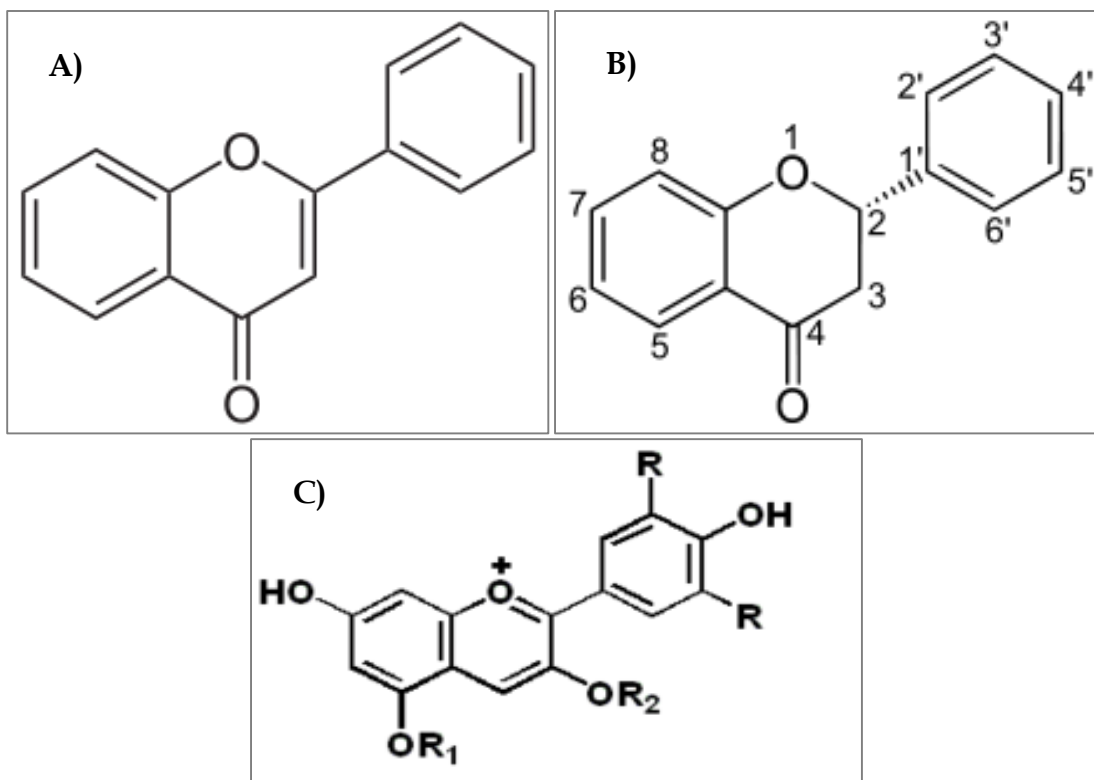


Figura 44. Estructura química básica: A) flavona, B) flavanona y C) antocianina (R₁ y R₂ pueden ser H o azúcares, R puede ser OH o H. Fuentes: <https://www.ecured.cu/> y <https://es.wikipedia.org/>

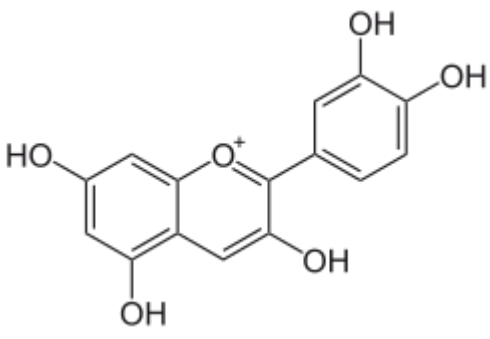
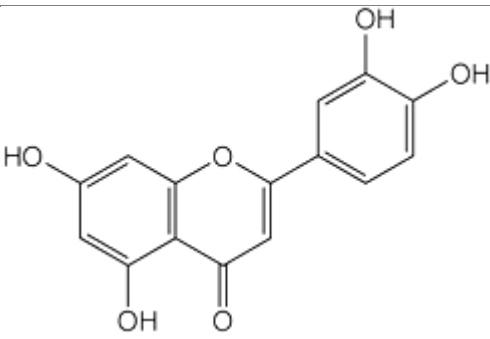
Tabla 38. Tipo de flavonoide evidenciado por especie en el análisis fitoquímico.

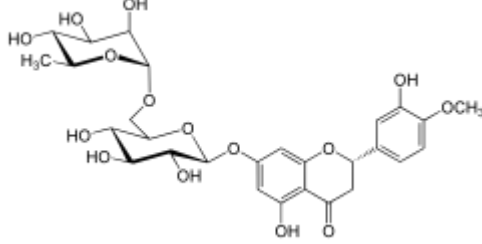
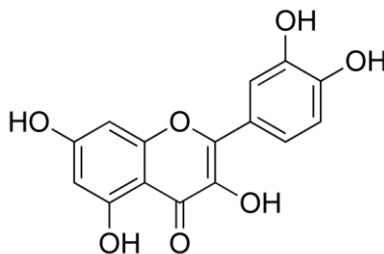
Especie arbórea	Parte de la planta	Flavonoide
<i>Anacardium excelsum</i>	Hoja , raquis , flor y fruto	Flavanona
<i>Chrysophylum cainito</i>	Hoja, raquis y fruto	Flavona
<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	Hoja, raquis y flor	Flavona
<i>Tabebuia rosea</i>	Hoja y raquis	Flavanona
<i>Trema micrantha</i>	Hoja, raquis y flor	Flavona
<i>Virola elongata</i>	Fruto	Flavanona

La estructura básica de los flavonoides permite gran variedad de reacciones de sustitución y variaciones en el anillo C. La capacidad antioxidante de estos va a depender de las propiedades redox de los grupos hidroxilos sustituyentes y de la relación estructural entre las diferentes partes de la estructura química.

La eficacia de los flavonoides como antioxidantes puede ser delimitada estructuralmente por medio de tres criterios principales que van a determinar la función antioxidante: la primera es la presencia de la estructura catecol u orto-hidroxi en el anillo B, la segunda es la presencia de un doble enlace en la posición 2,3 y por último la presencia de grupos hidroxilo en la posición 3 y 5 (**Martínez et al, 2002**). Como se puede observar en la tabla 39, la cianidina presenta dos de las tres características al igual que luteolina, mientras que la quercetina que es uno de los flavonoides más comunes presenta las tres características.

Tabla 39. Ejemplos de flavonoides y su eficacia antioxidante, de acuerdo a su estructura química.

Tipo	Descripción	Ejemplo	Estructura química
Antocianina	Tiene un grupo -OH unido en posición 3, pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C. También posee la forma catecol en el anillo B.	Cianidina	
Flavona	Presenta la forma catecol en el anillo B. Poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C, como también la insaturación en la posición 2-3.	Luteolina	

Flavanona	Posee un grupo carbonilo en la posición 4 del anillo C, tiene un grupo –OH en la posición 5.	Hesperidina	
Flavonol	Tiene un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo –OH en posición 3 y en la posición 5. Presenta una insaturación en la posición 2-3, y la forma catecol en el anillo B.	Quercetina	

Fuentes de imágenes de las estructuras químicas: <https://uniiquim.iquimica.unam.mx/> y <https://es.wikipedia.org/>

Se puede deducir que gracias a que la composición química de la dieta de los *A. p. palliata* que viven en la meseta de Chorchá en Chiriquí, es rica en la presencia de flavonoides, primordialmente, y que estos a su vez presentan propiedades antioxidantes le pueden estar brindando a su organismo múltiples beneficios para su prolongación de vida. Ya que unas de las características de estas tropas en relación a otras se ve saludables y con una alta reproductividad.

La relación que existe entre lo que están consumiendo y cómo puede o no mejorar su calidad de vida en relación a sus rutinas de locomoción, reproducción y socialización, está muy entrelazada. Por lo que va muy estrictamente acorde al hábitat en que se encuentran estas especies de primates y sobre todo de la variedad vegetal que posea para su alimentación.

3.2.4. Perfil químico cualitativo.

Para determinar el perfil químico cualitativo se empleó la técnica de cromatografía en capa fina (TLC). La cromatografía en capa fina consiste en la separación de los componentes de una mezcla a través de la migración diferencial sobre una capa fina de adsorbente, retenida

sobre una superficie plana. En esta técnica, una solución de la muestra que va a ser analizada se aplica por medio de un tubo capilar sobre la superficie de un adsorbente inerte (sílica, alúmina, etc.) distribuido uniformemente sobre una placa de vidrio o de aluminio. La placa se coloca verticalmente dentro de una cámara previamente saturada con el vapor del eluyente adecuado, de tal forma que la parte inferior de la placa que contiene la muestra entre en contacto con la fase móvil. El eluyente va a migrar por capilaridad en la placa cromatográfica, separado por migración diferencial los diversos componentes de la mezcla a ser estudiada. Después de que ha ocurrido, se evapora el eluyente y la placa se analiza utilizando luz UV o luz visible, o aplicando reactivos que dan como resultado reacciones de coloración con las sustancias contenidas en la mezcla analizada (Morales, 2011). El gran desarrollo de esta técnica se debe a las múltiples ventajas que ella ofrece, entre las cuales podemos citar: su fácil comprensión y rápida ejecución, la versatilidad, su reproducibilidad y el bajo costo.

En este estudio no se conocía de primera mano cómo estaba conformada la composición química de las especies vegetales, en términos de saber si eran abundantes en un determinado metabolito secundario, por lo que se procedió a realizar la extracción empleando un solvente que fuese factible en su capacidad de extracción, no tan tóxico y que pudiera representar la manera natural como estos componentes pueden llegar a ser adquiridos por el primate. Es por ello que se empleó como solvente el alcohol etílico absoluto. Era de esperarse que tanto en los resultados del análisis fitoquímico como en el de cromatografía de capa fina ciertos metabolitos no pudieran ser evidenciados u observados en forma adecuada, debido a que posiblemente eran pocos solubles en el solvente empleado o se requería de reactivos distintos a los utilizados para su debida determinación.

Para conocer cuál sería la mezcla de solventes adecuada para la separación de los componentes químicos presentes en las especies arbóreas identificadas, se ensayaron diversas corridas cromatográficas en rangos de polaridad alta, intermedia y baja; y así poder definir dos factores: 1) cantidad de fracciones que corresponden a compuestos químicos presentes y 2) la mezcla de solventes más adecuada para la separación de estos posibles compuestos químicos.

Estos ensayos se realizaron en fase normal empleando como fase móvil una mezcla de acetato-hexano (7:3), hexano-acetato (7:3) y éter-cloroformo-acetona (3:1:1). También se

realizaron en fase reversa empleando metanol y acetonitrilo como fase móvil. En todos los casos como reveladores se empleó luz UV (254 -366 nm) y el reactivo de vainillina (se preparó en etanol, H₂SO₄ concentrado).

Tras la elución de la placa lo que se esperaba, era la observación de algún punto de coloración correspondiente a algún metabolito secundario. Por ejemplo, los flavonoides a luz UV de 366 nm pueden presentar fluorescencia de colores rojiza, celeste, naranja, blanca o verdes mientras que a luz UV 254 nm pueden ser de color celestes, negros u oscuros. Los alcaloides a longitudes de 366 nm presenta fluorescencia de color amarillo y a 254 nm color azul (**Platero & Pacheco, 2009**). Por otra parte, alguno quizás no puede visualizarse a luz UV y pueden observarse luego de la aspersion con reactivo revelador se podrán ver zonas de colores morados o violáceos, rosa, naranjas, rojizos, azules, amarillos y negros que pueden ser correspondiente a un determinado metabolito de acuerdo al reactivo que se emplee. En el caso de la vainillina se puede revelar esteroides (negro, rosa), terpenoides (violáceos), saponinas (azules, verdes-celestes o amarilla). De las primeras placas que se realizaron solo se obtuvo un perfil adecuado en fase reversa empleando como fase móvil metanol, la muestra de *E. cyclocarpum* H₄₅₆. Se observaron la separación de varias bandas de colores distintos en luz UV 254 nm que posteriormente se tornaron con el revelador en tonos violáceos, verdes oscuros y amarillo; en luz de 366 nm se observaron puntos fluorescentes de color celeste. (ver figura 45).

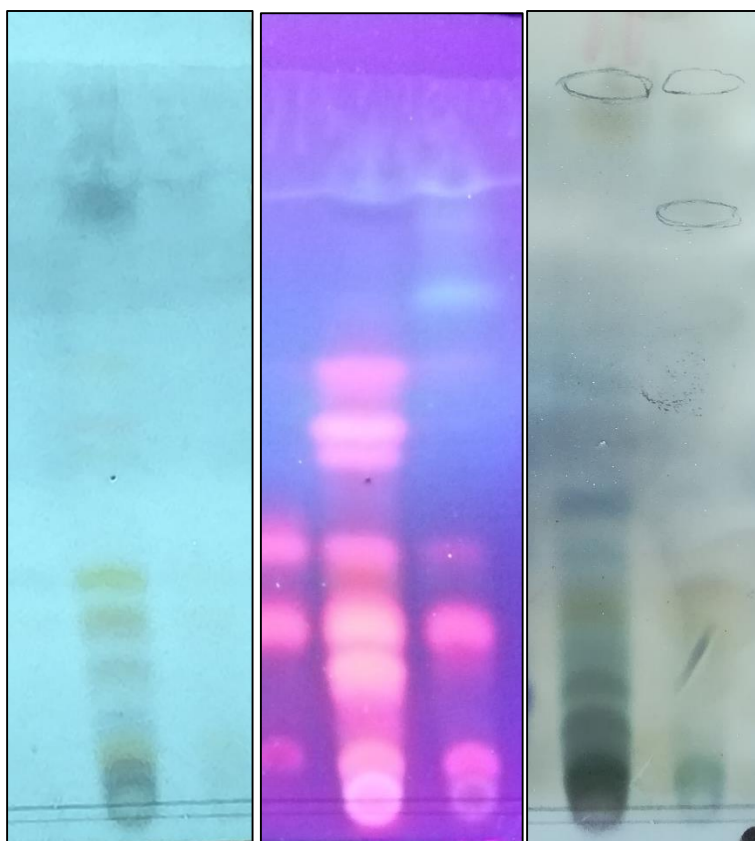


Figura 45. Muestra H₄₅₆ eluida en fase reversa con metanol como fase móvil. de izquierda a derecha revelado en luz UV 254 nm, 366 nm y con vainillina.

Teniendo el perfil químico se realizó la separación por cromatografía de exclusión Sephadex, obteniéndose así las fracciones presentadas en la sección de resultados. De las placas realizadas posteriores se obtuvo un perfil llamativo de la muestra FT03 y FT04 del fruto del *A. excelsum*, la cual arrojaban resultados similares (figura 46) pese a ser fruto verde y seco estos se juntaron y se hizo una sola muestra. Se pudieron observar bandas azules y oscuras en luz UV 254 nm que posteriormente en luz de 366 nm presentaban fluorescencia, además que al ser revelada con vainillina presentaba bandas de colores rosa, naranjas y rojas. Esta se eluyó en fase normal con una mezcla de acetato-hexano (7:3).

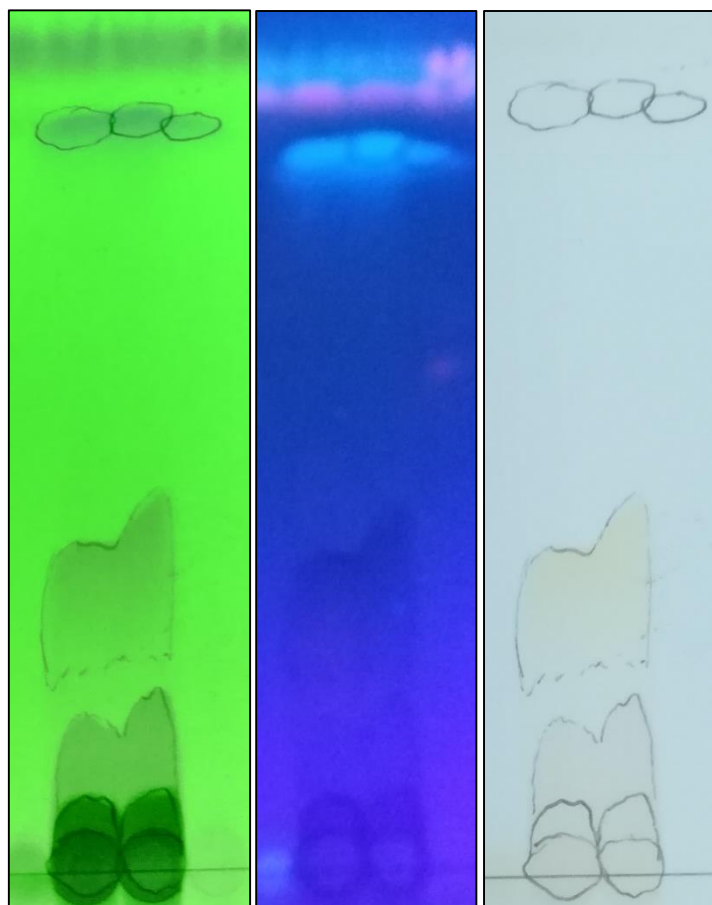


Figura 46. Muestra FT03 y FT04 eluida en fase normal y acetato-hexano (7:3) como fase móvil. de izquierda a derecha revelado en luz UV 254 nm, 366 nm y con vainillina.

Con esta muestra se ensayaron otras proporciones de fase móvil ya que los componentes se observaban muy juntos unos de otros, para poder identificarlos. De esta se separaron las fracciones presentadas en la sección de resultados, siendo la fracción FxA de gran interés, se le llevaron a cabo algunos análisis espectrales como se explicará más adelante. Las bandas observadas pueden sugerir la presencia tanto de flavonoides, esteroides, terpenoides, saponina, taninos y glicósidos cardiotónicos. Sin embargo, no podemos inferir que se trata concretamente de unos de ellos en específico ya que se requiere de un análisis un poco más a fondo para deducir de cual compuesto se trata, es por ello que en la investigación fitoquímica se utilizan métodos de separación, fundamentalmente cromatográficas, y métodos de elucidación estructural, principalmente espectroscópicos, con el fin de caracterizar los metabolitos que se hayan presentes.

3.2.5. Análisis de espectros infrarrojos (IR).

La espectroscopía infrarrojo es sumamente útil para determinaciones cualitativas de compuestos orgánicos y para deducir estructuras moleculares a partir de sus grupos funcionales tanto de compuestos orgánicos como inorgánicos. Cada tipo de enlace absorbe radiación infrarroja a una frecuencia distinta, lo que permite determinar qué tipo de grupos funcionales posee la molécula en estudio. Los espectrofotómetros de infrarrojo trabajan en el infrarrojo medio y hacen un barrido desde los 4000 cm^{-1} hasta los 400 cm^{-1} . La mayoría de los materiales orgánicos e inorgánicos demuestran absorción y el espectro es originado principalmente por el alargamiento vibracional y flexión dentro de la molécula. El espectro infrarrojo es una de las propiedades más características de un compuesto ya que no existen dos espectros iguales para dos compuestos diferentes, es como una huella dactilar (Savin, 2010).

En la sección de resultados se presentaron los valores obtenidos de los espectros IR de todos los extractos de las muestras, se organizaron las tablas por especie arbórea en la cual se colocaron los valores dados para cada parte de la planta. Se evidenció que los espectros de cada parte de la planta eran muy similares entre sí. Se resaltaron en verde para dar la correlación de las señales por especie, y en amarillo se resaltó las señales que coincidían en cada una de las partes de la especie arbórea por lo que se evidencia que existe probablemente una composición química similar en toda la planta.

Los metabolitos secundarios presentan estructuras químicas con diferentes grupos funcionales específicos por lo que es de esta manera es que se puede determinar el posible metabolito que está presente en la muestra en la tabla 40 se muestra las señales correspondientes a los diversos grupos funcionales evidenciados en la muestra de *Anacardium excelsum*, especie arbórea con la que se logró obtener mayor purificación y estudio. Del mismo modo, de la tabla 41 a la 46 se muestra las correlaciones de señales para las demás especies arbóreas.

Los resultados de los espectros infrarrojos confirman la información arrojada por el análisis fitoquímico, los espectros sugieren la presencia de metabolitos como esteroides y

terpenoides, las señales para flavonoides no se logran apreciar muy marcadas, pero puede deberse a que se traten de extractos crudos donde presentan diversas interferencias. Pero es evidente la presencia de grupos funcionales asociados a un metabolito secundario en concreto como se muestra en la tabla 40. por lo que deben realizarse análisis específicos posteriores para poder esclarecer los datos obtenidos que este caso fue el análisis por resonancia magnética nuclear.

Tabla 40. Datos de las señales en espectro IR del *Anacardium excelsum* (fruto del espavé).

No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	Grupo funcional
1	763.81	(C-H) aril, orto
2	819.75	(C-H) alqueno
3	875.68	(C-H) alqueno
4	1037.7	(C-C)
5	1076.28	(C-O) alcohol
6	1203.58	(C-C)
7	1321.24	(C-O) alcohol de ácido carboxílico
8	1448.54	(O-H) ácido carboxílico
9	1498.69	(C=C) aril
10	1533.41	(C=C) alquil
11	1548.84	(C=C) alquil
12	1608.63	(C=O) carbonilo
13	1724.36	(C=O) ácido carboxílico
14	2899.01	(C-H) alquil
15	2926.01	(C-H) alquil
16	2974.23	(C-H) alquil
17	3292.49	(-OH)

Tabla 41. Datos de las señales en espectro IR del *Chrysophyllum cainito* (fruto de caimito).

No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	Grupo funcional
1	775.38	(C-H) aril, orto
2	819.75	(C-H) alqueno
3	875.68	(C-H) alqueno
4	979.84	(C-H) alqueno
5	1028.06	(C-O) alcohol
6	1246.02	(C-C)

7	1315.45	(C-O) alcohol de ácido carboxílico
8	1456.26	(O-H) ácido carboxílico
9	1539.2	(C=C) alquil
10	1649.14	(C=O) carbonilo
11	1732.08	(C=O) ácido carboxílico
12	3396.64	(-OH)

Tabla 43. Datos de las señales en espectro IR del *Enterolobium cyclocarpum* (hoja de corotú).

No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	Grupo funcional
1	665.44	(C-H) alquil
2	829.39	(C-H) alqueno
3	894.97	(C-H) alqueno
4	1031.92	(C-O) alcohol
5	1199.72	(C-C) cetonas
6	1371.39	(C-O) alcohol de ácido carboxílico
7	1454.33	(O-H) ácido carboxílico
8	1514.12	(C=C) alquil
9	1645.28	(C=O) carbonilo
10	1699.29	(C=C) alqueno
11	1737.86	(C=O) ácido carboxílico
12	2854.65	(C-H) alcano
13	3388.93	(-OH)

Tabla 44. Datos de las señales en espectro IR del *Tabebuia rosea* (hoja de guayacán rosado).

No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	Grupo funcional
1	646.15	(C-H) alquil
2	815.89	(C-H) alqueno
3	918.12	(C-H) alqueno
4	1159.22	(C-C) cetonas
5	1602.85	(C=C) alqueno
6	1685.79	(C=O) carbonilo
7	2924.09	(C-H) alquil
8	3323.35	(-OH)

Tabla 45. Datos de las señales en espectro IR del *Trema micrantha* (hoja de capulín).

No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	Grupo funcional
1	715.59	(C-H) aril
2	837.11	(C-H) alqueno sustituido
3	894.97	(C-H) alqueno
4	1043.49	(C-O) alcohol
5	1242.16	(C-O) alcohol
6	1375.25	(C-C) cetonas
7	1577.77	(C=C) aril
8	1618.28	(C=C) alqueno
9	1651.07	(C=O) carbonilo
10	1712.79	(C=O) ácido carboxílico
11	2852.72	(C-H) alquil
12	3356.14	(-OH)

Tabla 46. Datos de las señales en espectro IR del *Virola elongata* (fruto).

No. Señal	Frecuencia (cm ⁻¹)	Grupo funcional
1	669.3	(C-H) aril
2	775.38	(C-H) aril, orto
3	815.89	(C-H) alqueno sustituido
4	879.54	(C-H) alqueno
5	1045.42	(C-O) alcohol
6	1263.37	(C-O) alcohol
7	1608.63	(C=O) carbonilo
8	1724.36	(C=O) ácido carboxílico
9	2970.38	(C-H) alquil
10	3346.5	(-OH)

Cada absorción observable en el espectro corresponde a una vibración determinada de algún enlace dentro de la molécula. **Conley, (1979)**, explica que a la hora de identificar los grupos funcionales con la espectroscopia IR se considera el espectro de IR dividido en varias zonas tal y como se muestra a continuación:

- De 4000 a 2900 cm⁻¹: Tensión de C-H, O-H y N-H

- De 2500 a 2000 cm^{-1} : Tensión de triples enlaces y dobles enlaces acumulados.
- De 2000 a 1500 cm^{-1} : Tensión de C=O, C=N y C=C.
- De 1500 a 600 cm^{-1} : Zona de la huella dactilar (Flexión de enlaces CH, CO, CN, CC, entre otras)

De acuerdo con dicha división se pueden identificar diversos grupos funcionales como se indica en la siguiente tabla 47.

Tabla 47. Señales características de grupos funcionales en el espectro infrarrojo.

Grupo Funcional	Número de onda (cm^{-1})	Grupo Funcional	Número de onda (cm^{-1})
OH (enlace de hidrógeno)	3100-3200	-C \equiv C-	2300-2100
OH (sin enlace de hidrógeno)	3600	-C \equiv N	~ 2250
Cetonas	1725-1700	-N=C=O	~ 2270
Aldehídos	1740-1720	-N=C=S	~ 2150
Aldehídos y cetonas α,β-insaturados	1715-1660	C=C=C	~ 1950
Ciclopentanonas	1750-1740	NH	3500-3300
Ciclobutanonas	1780-1760	C=N-	1690-1480
Ácidos carboxílicos	1725-1700	NO ₂	1650-1500 1400-1250
Esteres	1750-1735	S=O	1070-1010
Esteres α,β-insaturados	1750-1715	sulfonas	1350-1300 1150-1100
δ-Lactonas	1750-1735	Sulfonamidas y sulfonatos	1370-1300 1180-1140
γ-lactonas	1780-1760	C-F	1400-1000
Amidas	1690-1630	C-Cl	780-580
-COCl	1815-1785	C-Br	800-560
Anhídridos	1850-1740 ⁽²⁾	C-I	600-500

Fuente de tabla: <https://www.ugr.es/~quiorred/espec/ir.htm>

Bibliográficamente se pueden encontrar diversas tablas para el análisis no solo de las señales de espectro IR sino también para el análisis de espectros RMN por lo que es aconsejable emplear varias fuentes literarias ya que unas pueden brindar información más específica que otras. En la tabla 48 se muestra otras señales características de grupos químicos.

Tabla 48. Absorciones IR para grupos funcionales representativos.

Grupo funcional	Banda ^a	Número de onda (cm ⁻¹)
Alcanos	C-H t	2950-2800
	CH ₂ d	~1465
	CH ₃ d	~1375
	CH ₂ d (4 ó más)	~720
Alquenos	=CH t	3100-3010
	C=C t (aislado)	1690-1630
	C=C t (conjugado)	1640-1610
	C-H d (en el plano)	1430-1290
	C-H d (monosustituído)	~990 y ~910
	C-H d (disustituído - E)	~970
	C-H d (disustituído - 1,1)	~890
	C-H d (disustituído - Z)	~700
Alquinos	C-H t (acetilénico)	~3300
	CC t (triple enlace)	~2150
	C-H d (acetilénico)	650-600
Aromáticos	C-H t	3020-3000
	C=C t	~1600 y ~1475
	C-H d (mono)	770-730 y 715-685
	C-H d (orto)	770-735
	C-H d (meta)	~880 y ~780 y ~690
	C-H d (para)	850-800
Alcoholes	O-H t	~3650 o 3400-3300
	C-O t	1260-1000
Éteres	C-O-C t (dialquil)	1300-1000
	C-O-C t (diaril)	~1250 y ~1120
Aldehídos	C-H t (aldehído)	~2850 y ~2750
	C=O t	~1725
Cetonas	C=O t	~1715
	C-C t	1300-1100
Ácidos carboxílicos	O-H t	3400-2400
	C=O t	1730-1700
	C-O t	1320-1210
	O-H d	1440-1400
Ésteres	C=O t	1750-1735
	C-C(O)-C t (acetatos)	1260-1230
	C-C(O)-C st (el resto)	1210-1160
Cloruros de ácidos	C=O t	1810-1775
	C-Cl st	730-550
Anhídridos	C=O t	1830-1800 y 1775-1740
	C-O t	1300-900
Aminas	N-H t	3500-3300

	N-H d	1640-1500
	C-N t (alquil)	1200-1025
	C-N t (aril)	1360-1250
	N-H d	~800
Amidas	N-H t	3500-3180
	C=O t	1680-1630
	N-H d	1640-1550
	N-H d (1°)	1570-1515
Haluros de alquilo	C-F t	1400-1000
	C-Cl t	785-540
	C-Br t	650-510
	C-I t	600-485
Nitrilos	C,N t (triple enlace)	~2250
Isocianatos	-N=C=O t	~2270
Isotiocianatos	-N=C=S t	~2125
Iminas	R ₂ C=N-R t	1690-1640
Grupos nitro	-NO ₂ (alifáico)	1600-1530 y 1390-1300
	-NO ₂ (aromático)	1550-1490 y 1355-1315
Mercaptanos	S-H t	~2550
Sulfóxidos	S=O t	~1050
Sulfonas	S=O t	~1300 y ~1150
Sulfonatos	S=O t	~1350 y ~11750
	S-O t	1000-750
Fosfinas	P-H t	2320-2270
	PH d	1090-810
Óxidos de fosfina	P=O t	1210-1140

Fuente de tabla: https://www.ugr.es/~quiorred/lab/tablas_espec/ir.htm

3.2.6. Análisis de espectro RMN.

El método se basa en la absorción de energía por cambio del spin nuclear de átomos sometidos a un campo magnético externo. El análisis del espectro RMN ofrece evidencias bastantes explícitas sobre características de los núcleos que conforman una molécula dada, los desplazamientos químicos de las señales de RMN de ¹H dan información acerca de la naturaleza de hidrogenos (alifáticos, aromáticos, oleofínicos, geminales y/o unidos a heteroátomos, etc) y de carbonos (doble enlace, aromáticos, carbonílicos, oxigenados, etc). Por la integración de las señales y el acoplamiento espín-espín (multiplicidad de la señal y magnitud de la constante de acoplamiento) que se observa en el espectro de protones, se deduce el número de hidrógenos y el modo de distribución en la molécula, mientras que el

número de señales presentes en el espectro de carbono indica el número de carbonos presente en la estructura.

De esta manera entonces que tras obtener los espectros de RMN de las muestras es que se pudo analizar qué tipo de hidrógenos y carbonos presenta la muestra en estudio. Adicionalmente para complementar el análisis se pueden realizar espectros bidimensionales para poder elucidar la estructura química, en este caso se pudo llevar a cabo los espectros bidimensionales HMBC (heteronuclear multiple bond correlation), en donde se obtienen las señales que entregan información acerca de la relación existente entre los núcleos de ^{13}C y ^1H que se encuentran a una distancia de 2 a 3 enlaces, y en casos especiales hasta 4 enlaces (Zamorano et al. 2017). Tras el análisis de las correlaciones que se presenta en la tabla 27 en la sección de resultados se obtuvo que los valores presentados proponen la estructura química que se muestra en la figura 47.

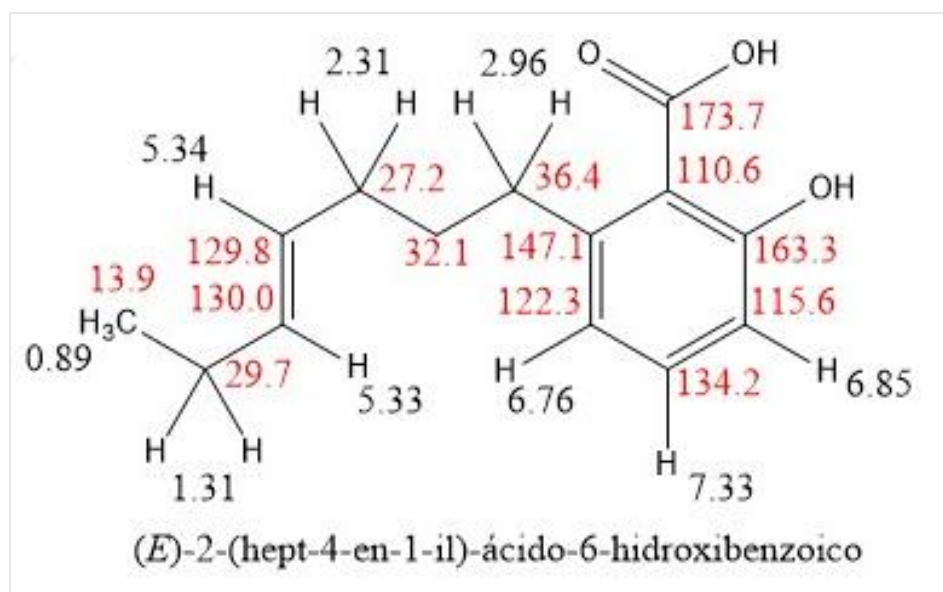


Figura 47. Estructura química del compuesto obtenida de la muestra FxA, fruto del espavé.

En estudios recientes realizados de las plantas del género *Anacardium* para investigar sobre su composición química, nutricionales y aplicaciones biotecnológicas (Salehi et al, 2019), se ha descubierto que estas poseen un gran valor nutricional y que fitoquímicamente hay evidencia de flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, aceites esenciales, entre otros compuestos presentes que conllevan a tener en cuenta a las plantas de este género como

proezas en la industria debido a sus potenciales aplicaciones. En el estudio realizado por parte del grupo de científicos, obtuvieron que las plantas del género *Anacardium* presentaron especialmente actividad antioxidante y antibacteriana lo que indica que presenta un potencial como preservante alimentario y puede llegar a sustituir compuestos químicos sintetizados que son empleados hoy en día. Dentro de los compuestos obtenidos que presentaban actividad biológica se encuentra el ácido salicílico 6[8-(Z), 11-(Z), 14-pentadecatrienyl] (figura 48), el cual fue el compuesto bioactivo principal presentado gran potencial antibacteriana y antioxidante en la planta *Anacardium* estudiada.

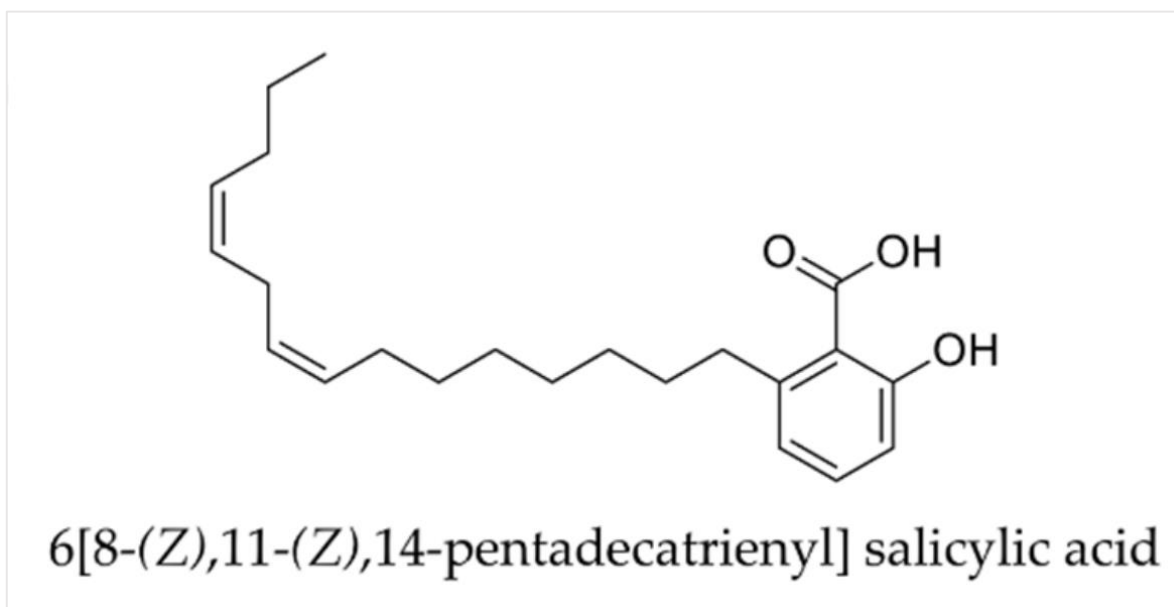


Figura 48. Estructura química de compuesto bioactivo de planta del género *Anacardium*.

La estructura propuesta en nuestro estudio, se observa que presenta similitudes estructurales con respecto al compuesto químico de la figura 47. Cabe resaltar que la parte de planta estudiada por (Salehi et al, 2019) trataba del fruto lo que también coincide con nuestra investigación tratándose de ambos casos de frutos de las plantas de *Anacardium*, en donde químicamente también concuerdan y presentan actividad antioxidante evidente.

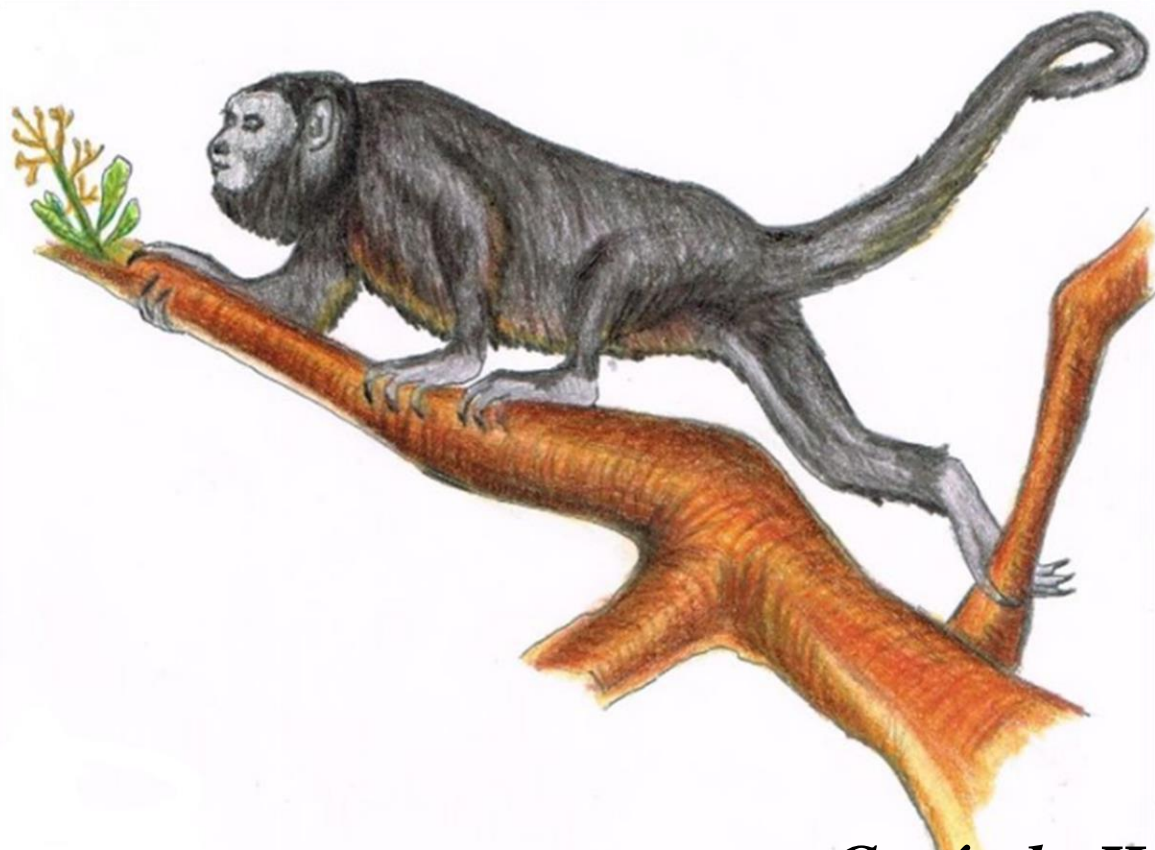
El mono aullador (*Alouatta palliata*) depende de las condiciones de su hábitat para su sobrevivencia como todo ser vivo, lo que incluye la disponibilidad de alimento. De su alimentación obtienen nutrientes y de ellos los compuestos químicos que en su metabolismo desempeña papeles fundamentales.

Es indudable que los metabolitos secundarios que constituyen la dieta del mono aullador aportan beneficios alimenticios principalmente en función de protección, por tanto podemos inferir en que la necesidad de preservación de los recursos naturales no solo influye en la conservación de un hábitat para una fauna en peligro sino también se desperdicia el valor nutricional, potencial químico y sustentabilidad que puedan poseer o estar presente en nuestra flora nacional que puede trascender en beneficios para el ser humano.

Es muy evidente que existe una selectividad de acuerdo al gusto en la palatabilidad en el consumo de alimentos por parte de los primates que mediante los estudios químicos se puede dar un enfoque de cómo influye la composición química de las especies vegetales en la preferencia alimenticia. Debido a que optaron por seleccionar especies arbóreas que presentan flavonoides, terpenos y esteroides primordialmente, se puede observar que escogen aquellas especies que presentan sabores dulces o no tan amargos, esto se conoce debido al tipo de metabolitos que tienen presente observados por medio de los análisis llevados a cabo.

Podemos ahora dar un enfoque desde punto de vista químico de la necesidad que presenta el conservar los reductos de bosque en los cuales se presentan organismos que desempeñan funciones vitales para el desarrollo y prolongación de un ecosistema.

En el caso de los *A. palliata* se encargan de la dispersión de semillas lo que conlleva a una reforestación involuntaria pero beneficiosa tanto para ellos en su hábitat como para los demás organismos presentes. Esta investigación pretende dar a conocer importancia de la conservación y protección de la biodiversidad en este caso forestal para así poder extender la vida de las tropas de *A. palliata* localizados en la meseta de Chiriquí, Panamá.



Capítulo IV

4. Conclusiones

Conclusiones de la investigación

- + Se lograron identificar las especies arbóreas observadas que comprende la dieta del *A. palliata* por medio del Herbario de la Universidad Autónoma de Chiriquí. Registrándose seis familias que fueron: *Anacardiaceae*, *Bignoniaceae*, *Cannabaceae*, *Fabaceae*, *Myristicaceae* y *Sapotaceae*.
- + Por medio del análisis fitoquímico se pudo establecer de manera general cuales eran los metabolitos secundarios presentes en los extractos etanólicos de las especies arbóreas estudiadas. Determinándose la presencia de flavonoides, esteroide, terpenoides, compuestos fenólicos, saponinas y glicósidos cardiotónicos.
- + Se pudo comprobar cualitativamente la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de las especies arbóreas. Observándose que todas las muestras de extractos etanólicos presentaban propiedades antioxidantes.
- + A través de los estudios espectroscópicos infrarrojos se pudo corroborar que la composición química en la dieta de los *A. palliata* comprende esteroides, terpenoides y flavonoides.
- + Los análisis de los espectros de RMN permitieron proponer la estructura química probable del compuesto químico presente en el fruto del espavé, con lo cual se puede delimitar que presentan propiedades bioactivas importantes.
- + Se delimitó la importancia de la conservación y preservación de los reductos de bosques con potencial ecológico para la sobrevivencia de especies en posible vía de peligro de extinción.
- + Este trabajo espera poder fortalecer las bases para promover las investigaciones multidisciplinarias sobre todo en el ámbito de conservación y preservación de la biota de nuestro patrimonio natural mediante el empleo de estudios químicos.

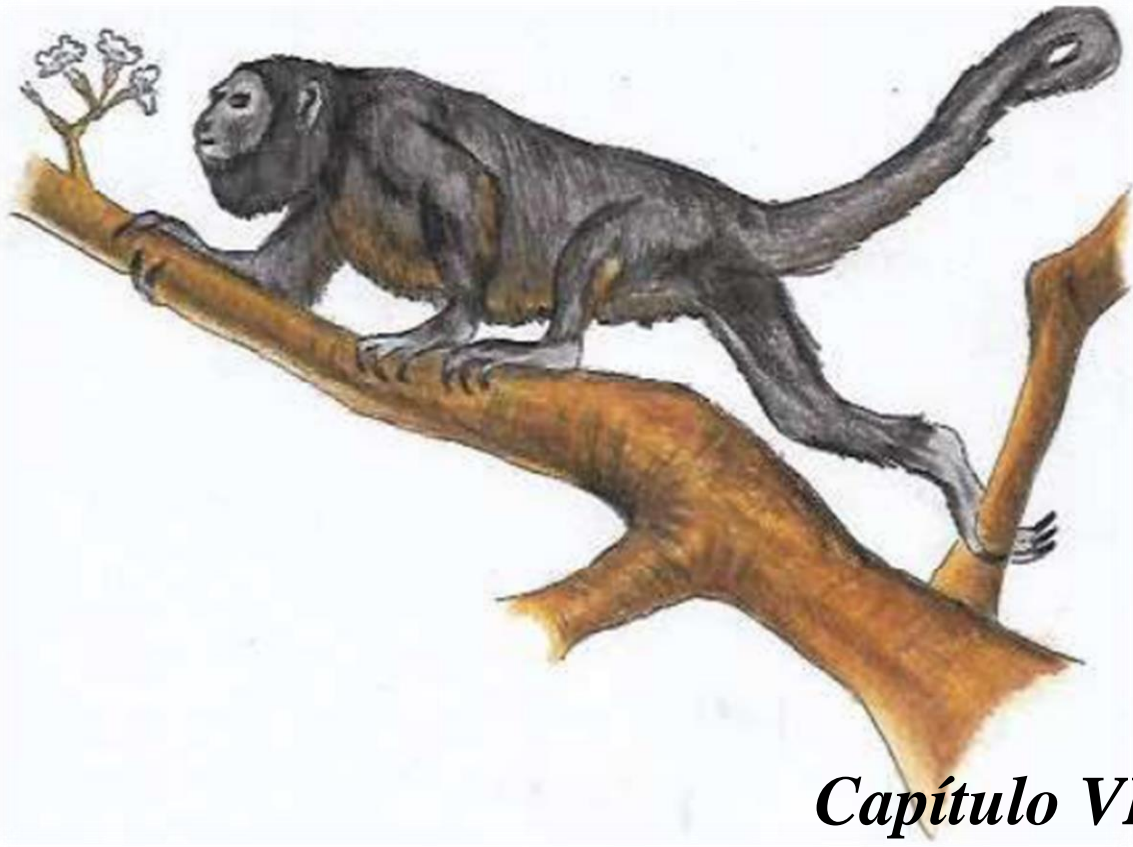


Capítulo V

5. Recomendaciones

Los estudios en el área de Ecología Química son relativamente nuevos en nuestro país, por lo que requieren de mejoramiento en futuras investigaciones. Dentro de las recomendaciones que se pueden resaltar están:

- ✧ Llevar acabo muestreos constantes y con mayor tiempo de ejecución. Para abarcar todo el itinerario de alimentación del individuo en estudio y poder obtener una mayor información con respecto a su conducta y cómo influye el tipo de alimento que consume.
- ✧ En las muestras purificadas para análisis estructurales se debe procurar la eliminación total de agua, ya que el rastro de este tiene inconveniente en el análisis dificultando la determinación del estudio.
- ✧ Dentro de lo posible es aconsejable obtener muestras lo más purificadas posibles para así poder obtener mejores resultados en la elucidación estructuras de los componentes químicos de interés.
- ✧ Realizar posteriormente de obtener el análisis fitoquímico preliminar de los metabolitos secundarios principales, el análisis de subcategorías de metabolitos secundarios para dar un registro más amplio de la composición química de especie vegetal en estudio.
- ✧ Llevar a cabo estudios cuantitativos específicos para poder proyectar la cantidad probable (metabolito secundario) que puede estar siendo ingerida por el primate.
- ✧ Hacer estudio metabólico de cómo es captado por el organismo del primate los aportes nutricionales por parte de metabolitos primarios y secundarios.
- ✧ Crear un registro ecoflorístico de la región.



Capítulo VI

6. Referencias Bibliográficas

Referencias Bibliográficas

- Aldana, C. & Guayasamín, L. (2014). Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos (alcohólicos y acuoso) de las hojas de *Ficus citrifolia* y caracterización química de los polifenoles (Tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador.
- Altman, J. (1974). Observational Study of Behavior: Sampling methods. *Behaviour*, 49: 227-267.
- Arroyo-Rodríguez V, Dias P. 2010. Effects of habitat fragmentation and disturbance on howler monkeys: a review. *American Journal of Primatology* 72(1):1-16.
- Balbuena, M. (2013). Glicósidos cardiotónicos [Scribd]. Recuperado de <https://es.scribd.com/doc/153487485/glicosidos-cardiotonicos>
- Barreto, J. (2009). Alcaloides. [Scribd]. Recuperado de <https://es.scribd.com/doc/22290457/alcaloides>
- Carrasquilla L. (2008). Árboles y arbustos de Panamá. Panamá: Editora Novo Art.
- Carroll, C. & Hoffman, C. (1980). Chemical feeding deterrent mobilized in response to insect herbivory and counter adaptation by *Epilachm tredecimnotuta*. *Science* 209: 414-416.
- Carvajal, L., Hata, Y., Sierra, N. & Rueda, D. (2009). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de Cupatá (*Strychnos schultesiana krukoff*). *Revista colombiana forestal*, 12:161-170.
- Castillo, G., Zavala, D. & Carrillo, M. (2017). Análisis Fitoquímico: Una Herramienta Para Develar El Potencial Biológico Y Farmacológico De Las Plantas [Revista Tlatemoani]. Recuperado de <http://www.eumed.net/rev/tlatemoani/24/analisis-fitoquimico.html>
- Centro de información ambiental de la cuenca (CIAC). (2005). Mono aullador [División de ambiente del Canal de Panamá]. Recuperado de: <http://www.cich.org/publicaciones/09/AlouattaPalliata.pdf>
- Cevallos, J. (2018). Identificación de metabolitos secundarios de *Eichhornia crassipes* (Jacinto de Agua) del Rio Chira, Sullana (Tesis de Pregrado). Universidad de San Pedro, Perú.
- Chivers, D. (1991). General perspectives. Primate responses to environmental change. London: Chapman and Hall. p 5-37.
- Colin, G., Wilaon, D. & Reeder, M. (2005). *Mammal Species of the World* (3ª edition). Baltimore: Johns Hopkins University Press. p. 155.
- Conley, R. (1979). *Espectroscopia Infrarroja*, Alhambra.
- Díaz, L. & Rangel, F. (2015). Especies y subespecies de primates no humanos en Panamá. Fundación pro-conservación primates panameños. Recuperado de <http://fcprimatespanama.weebly.com/diversidad-de-primates-de-panamaacute.html>
- Abundancia y Diversidad de Metabolitos Secundarios en la Dieta de Tropas de Monos Aulladores (*Alouatta palliata*) de Chorcha, Chiriquí.

Dirección del Municipio de David. (2017). Plan de desarrollo municipal del distrito de David 2017-2030. Recuperado de <https://david.municipios.gob.pa/3/adjuntos/Art%209.2%20Pol%C3%ADticas%20Institucionales%20Parte%201-1539281549.pdf>

Dudley, M. (2014). Determinación de flavonoides. Guía práctica de farmacognosia y fitoquímica. Universidad de los Ángeles de Chimbote.

Emmons, L. & Feer, F. (1999). Mamíferos de los bosques húmedos de América Tropical, una guía de campo. Santa Cruz de la Sierra: Editorial FAN.

Fahmi, T. (2012). Estudio de la actividad sobre el sistema nervioso central de especies vegetales procedentes de la flora egipcia (Tesis doctoral). Universidad Complutense de Madrid, España.

Fashing, P., Dierenfeld, E. & Mowry, C. (2007). Influence of plant and soil chemistry on food selection, ranging patterns, and biomass of *Colobus guereza* in Kakamenga Forest, Kenya. *International Journal of Primatology* 28(3):673-703.

Fattorusso E. (2008). Modern alkaloids. Structure, isolation, synthesis and biology. Estados Unidos: Wiley-VCH.

Ganzhorn, J. (1989). Primate species separation in relation to secondary plant chemicals. *Human Evolution*, 4(2): 125-132.

Girbes, P. (2008). Terpenos, aceites esenciales [Wordpress]. Recuperado de <https://tenshinoakuma.wordpress.com/2008/10/09/terpenos-aceites-esenciales/>

Glander, K. (1982). The impact of plant secondary compounds on primate feeding behavior. *Yearbook Physical Anthropology*, 25: 1-18.

Glander, K. (1978a). Drinking from arboreal water sources by mantled howling monkeys (*Alouatta palliata* Gray). *Folia Primatol* 29:206–217

Glander, K.(1978b). Howling monkey feeding behaviour and plant secondary compounds: a study of strategies. In: Montgomery GG (ed) *Ecology of arboreal folivores*. Smithsonian Institution, Washington, DC.

González, M. (2015, 22 de mayo). La importancia de la biodiversidad para el desarrollo sostenible de Panamá. Periódico. Econoticias.com, el periódico verde. Recuperado de <https://www.ecoticias.com/eco-america/122956/La-importancia-de-la-biodiversidad-para-el-desarrollo-sostenible-de-Panamá>

Horwich, R., Koontz, F., Saqul, E., Saqul, H. & Glander, K. (1993). A reintroduction program for the conservation of the black howler monkey in Belize. *Endangered Species Update* 10:1-6

Ibañez, A. (2008). Estado de Conservación de los ecosistemas insulares y costeros del Golfo de Chiriquí [Biota Panamá]. Recuperado de <https://biota.wordpress.com/2008/09/28/estado-de-conservacion-de-los-ecosistemas-insulares-y-costeros-del-golfo-de-chiriqui/>

Jaén, H. (2007, 9 de octubre). Perfil Nacional de la Biodiversidad de Panamá. Burica Press. Recuperado de <https://burica.wordpress.com/2007/10/09/perfil-nacional-de-la-biodiversidad-de-panama/>

Lambert JE. 2007. Primate nutritional ecology: feeding biology and diet at ecological and evolutionary scales. New York: Oxford University Press. p 482-495

Londoño, J. (2011). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. Grupo de Investigación en Ingeniería de Alimentos – GRIAL. Corp. Universidad Lasallista. Recuperado de <http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/133/3/9.%20129-162.pdf>

Martínez, Flórez, Gonzáles, Gallego, Culbras, & Tuñón. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición hospitalaria*, 271-276.

Mbora, D. & Meikle, D. (2004). Forest fragmentation and the distribution, abundance, and conservation of the Tana river red colobus (*Procolobus rufomitratus*). *Biological Conservation* 118:67-77.

Méndez, P. (2007, 10 de agosto). El mono congo aullador de Panamá. Biota panamá. Recuperado de <https://biota.wordpress.com/2007/08/10/el-mono-congo-aullador-de-panama/>

Milton, K. (2008). Macronutrient patterns of 19 species of Panamanian fruits from Barro Colorado island, Neotropical primates 15(1).

Milton, K. (1977). The Foraging Strategy of the Howler Monkey in the Tropical Forest of Barro Colorado Island, Panama, Ph.D. dissertation, New York University, New York.

Monedero, J. (2015). Identificación y caracterización de flavonoides por espectrometría de masas en melazas residuales de un ingenio azucarero (Tesis de Pregrado). Universidad ICESI, Santiago de Cali.

Morales, C. (2011). Caracterización fitoquímica y evaluación biológica de *Solamun hartwegii* (nombre común lavaplatos) (Tesis de pregrado). Universidad de San Carlos, Guatemala.

Muñoz, K., Cortes, N., Pujol, A., Osorio, E., Calderón, J. & Londoño, J. (2012). Determinación de la actividad antioxidante en ingredientes herbales para alimentos utilizando nuevos métodos de análisis químico, *Revista Scientia Agropecuaria* 2:133-137.

Nowak, K. (2008). Frequent water drinking by Zanzibar red Colobus (*Procolobus kirkii*) in a mangrove forest refuge. *American Journal of Primatology* 70:1081-1092.

Ocampo, D., Valverde, C., Colmenares, A. & Isaza, J. (2014). Fenoles totales y actividad antioxidante en hojas de dos especies colombianas del género *Meriania* (*melastomataceae*). Revista colombiana de química 43(2): 41-46.

Ojeda, Á., Obispo, N., Gil, J. & Matute, I. (2015). Perfil cualitativo de metabolitos secundarios en la fracción comestible de especies leñosas seleccionadas por vacunos en un bosque semicaducifolio. Pastos y Forrajes vol.38 (1).

Osorio, C. (2015). Metabolitos secundarios [Scribd]. Recuperado de <https://es.scribd.com/document/137122672/Metabolitos-secundarios-1>

Pabón, L., Vanegas, J., Rendón, M., Santos, R. & Hernández, P. (2013). Actividad antioxidante y antibacteriana de extractos de hojas de cuatro especies agroforestales de la Orinoquía colombiana. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 18(1) 57-70

Pavelka, M. & Knopff, K. (2004). Diet and activity in black howler monkeys (*Alouatta pigra*) in southern Belize: does degree of frugivory influence activity level? Primates 45(2):105-111.

Pérez, R. (2008). Árboles de los Bosques del Canal de Panamá. Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales. Panamá: Impresora BOSKI, S.A.

Platero, D. & Pacheco, K. (2009). Estudio de adulteración y/o falsificación en productos elaborados a partir de *Trigonella foenum-graecum* L. (*fenogreco*), *Turnera ulmifolia* (*damiana*), *Linum usitatissimum* L. (*lino*), *Hamelia patens* (*chichipince*), *Coutarea hexandra* (*quina*) comercializados en el mercado municipal de Soyapango (Tesis de pregrado). Universidad de El Salvador.

Prashant, T. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review. Internationale Pharmaceutica Scientia, Vol. 1, 98-106.

Ramírez, C. (2003). Estado de la diversidad biológica de los árboles y bosques en Panamá [FAO]. Recuperado de <http://www.fao.org/3/j0604s/j0604s00.htm#TopOfPage>

Rashid, A., Qureshi, Z., Raza, S., William, J. & Arshad, M. (2010). Quantitative determination of antioxidant potential of *Artemisia persica*. Analele Universității din București. 19(1):23-30.

Rubio, A. (1963). Pequeño atlas geográfico de Panamá [BINAL]. Recuperado de <http://binal.ac.pa/binal/component/content/article/82-ofrecemos/94-panama-y-sus-contrastes>

Rodríguez, A. (2018, 10 de mayo). Introducción General Recursos de Chiriquí. Café Científico: “La Biodiversidad de la Provincia, reto del Desarrollo Sostenible”. Recuperado de <https://www.senacyt.gob.pa/bilogos-empresarios-y-ambientalistas-analizan-los-desafos-de-la-biodiversidad-y-el-desarrollo-sostenible-en-la-provincia-de-chiriqui/>

Ruíz, P. (2008). Ecología de la herbivoría. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 14(1): 51-63

Salehi, B., Gültekin-Özgülven, M., Kirkin, C., Bezerra, M., Pereira, J., Bezerra, C., Gonçalves da Silva, T., Melo, H., Benabdallah, A., Armstrong, L., Selamoglu, Z. Mustafa, S., Yousaf, Z., Sharifi-Rad, J., Mahmoud, A., Hari Prasad, D., Martorell M., Kumar, A., Martins, N. & Cho, W. (2019). Anacardium Plants: Chemical, Nutritional Composition and Biotechnological Applications. *Biomolecules*, 9 (465); doi:10.3390/biom9090465

Sarukhán, J. (2009). México los retos de la biodiversidad. Comisión Nacional para el Uso y Conocimiento de la Biodiversidad (Conabio). México, México, D.F.

Savin, A. (2010). Espectroscopía Infrarroja. Recuperado de: <https://www.quimicaorganica.org/blog-usuarios-quimica-organica/924-espectroscopia-de-infrarrojo.html>

Schaller, G. (1963). *The Mountain Gorilla*. Chicago: University of Chicago Press.

Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos*. Convenio Andrés Bello. Colombia: Cooperación Iberoamericana, CYTED.

Smythe, N. (1970). Relationships between fruiting seasons and seed dispersal methods in a Neotropical forest. *American Naturalist* 104:25-35.

Sussman, R. & Garber, P. (2011). Cooperation, collective action, and competition in primate social interactions. In, Campbell, C., Fuentes, A., MacKinnon, K., Bearder, S. & Stumpf, R. *Primates in perspective*, Oxford University Press 2: 587-599.

Thomas, D. (2010). Familia Atelidae. *Historia Natural de los Primates Colombianos* (2 edición). Universidad Nacional de Colombia.

Trease, & Evans. (2009). *Pharmacognosy* 16th edition. Saunders Elsevier.

UICN. (2010, 18 de febrero). UICN revela lista de los primates más amenazados. Recuperado de <https://www.iucn.org/es/content/uicn-revela-lista-de-los-primates-m%C3%A1s-amenazados>

Vallejo, A. & Boada C. (2018). *Alouatta palliata*, Mamíferos del Ecuador. Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Recuperado de <https://bioweb.bio/faunaweb/mammaliaweb/FichaEspecie/Alouatta%20palliata>

Valencia, A, Martínez, A., Jimenez, N., Mesa, M. & Galeano, E. (2008). *Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y fitoquímica*, departamento de farmacia. Universidad de Antioquia, Medellín.

Vanegas, A., Gaviria, C., Cardona, F., Vega, J., Trujillo, S. & Rojano, B. (2019). Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de algunas especies del género *Calophyllum*. *Revista cubana de plantas medicinales* 14(2).

Watson, R. & Zakri, A. (2005). *Ecosystems and human well-being- biodiversity synthesis*. Washington, DC: Island Press.

Vega, S. (2008). Efectos de la transformación del hábitat en la conducta y niveles de estrés de *Alouatta palliata mexicana* (Tesis doctoral). Universidad de Barcelona, España.

Waterman, P., Ross, J., Bennett, J. & Davies, A. (1988). A comparison of the floristics and leaf chemistry of the tree flora in two Malaysian rain forests and the influence of leaf chemistry on populations of colobine monkeys in the Old World. *Biological Journal of the Linnaean Society* 34:1-32.

Weather spark. (1980-2016). El clima promedio de la meseta de Chorcha, Panamá. Recuperado de <https://es.weatherspark.com/y/16681/Clima-promedio-en-Plan-de-Chorcha-Panam%C3%A1-durante-todo-el-a%C3%B1o>

World Conservation Monitoring Centre (WCMC). (2015). Recuperado de www.wcmc.org.uk

Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology: Secondary Metabolites and Plant Defense*. Sinauer Associates, Inc.

Zamorano, S., Camus, J. & Zavala, M. (2017). Estudio espectroscópico RMN bidimensional de bases de schiff derivadas de la 4-aminoantipirina. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 83(2): 249-259.



Capítulo VII

7. Anexos

Anexo I

7.1. Cronograma de Investigación



Tabla 26. Cronograma de actividades.

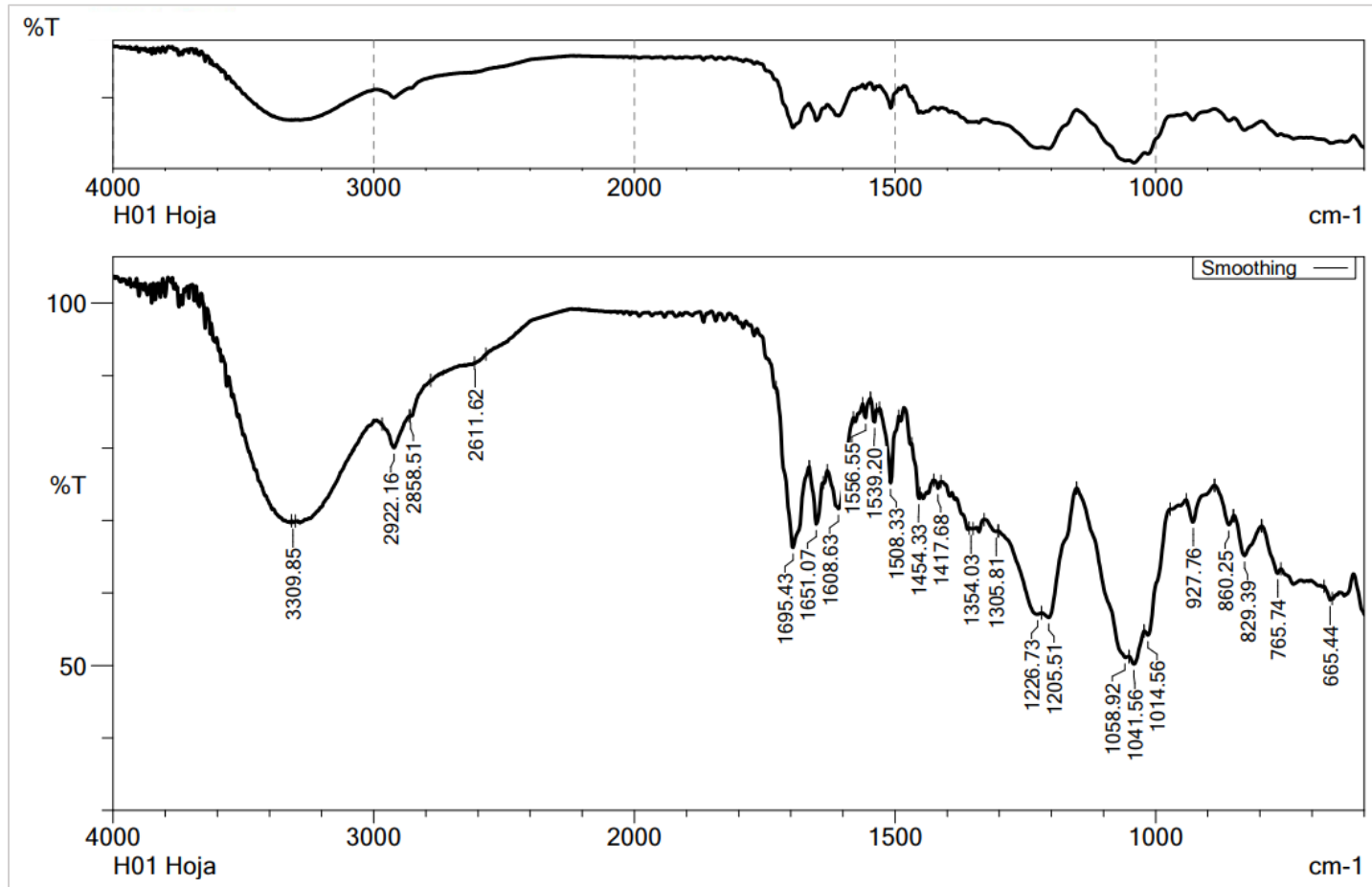
N°	Actividades	Año 2019											
		E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
	<i>Meses</i>												
1	Revisión bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
2	Redacción de anteproyecto		X	X	X	X							
3	Entrega de anteproyecto					X							
4	Muestreo		X	X	X	X	X	X	X				
5	Tratamiento de las muestras		X	X	X	X	X	X	X				
6	Identificación de componentes químicos		X	X	X	X	X	X	X				
7	Purificación de fracción de interés			X	X	X	X	X	X				
8	Determinación de actividad antioxidante								X				
9	Análisis espectroscópicos IR)									X	X		
10	Análisis espectroscópicos (RMN)				X				X				
11	Análisis e interpretación de resultados								X	X	X	X	
12	Redacción de tesis								X	X	X	X	
13	Presentación de resultados											X	
14	Corrección de tesis											X	X
15	Entrega tesis											X	X
16	Sustentación de tesis												X

Anexos II

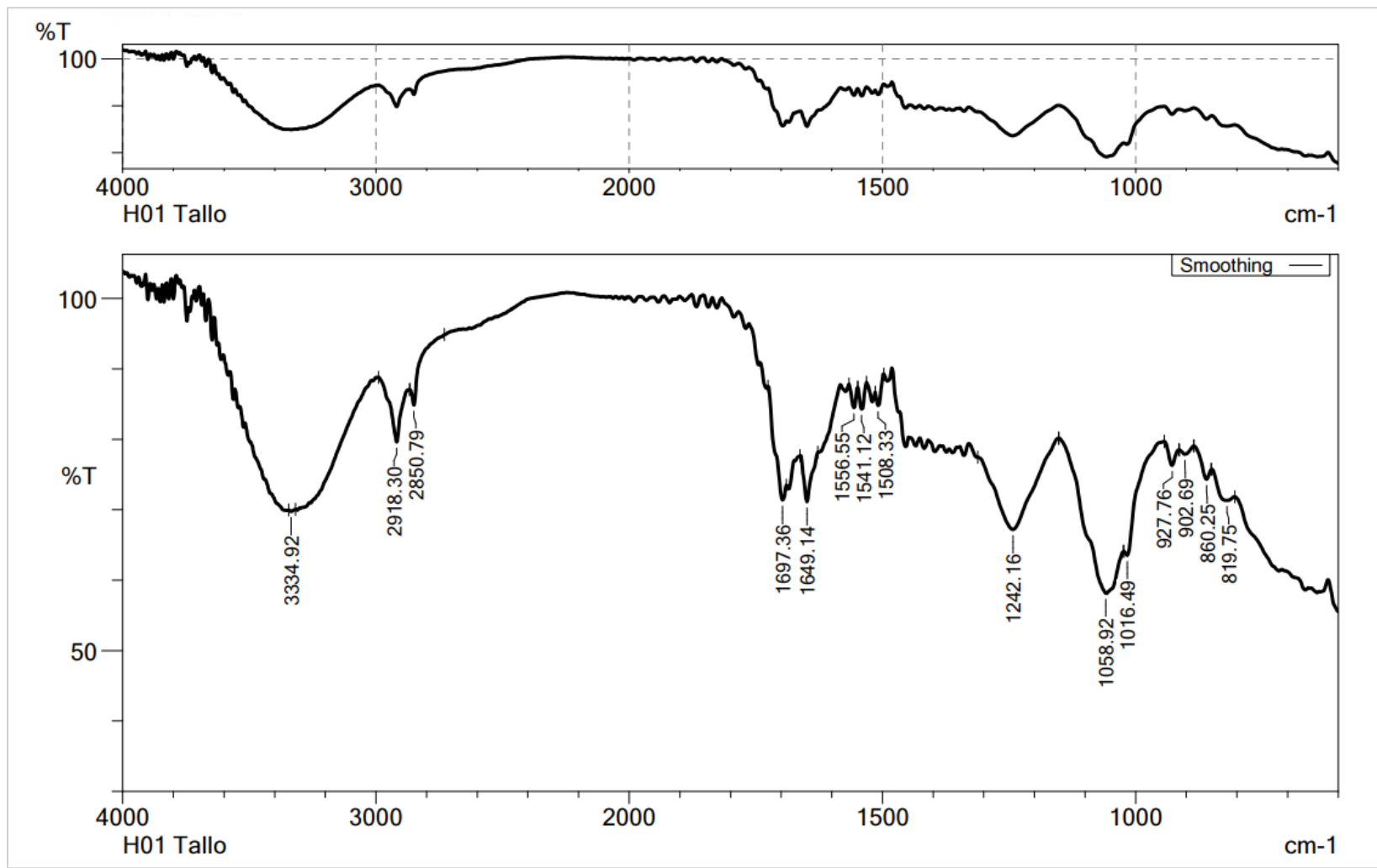
7.2. Cromatogramas de Espectros IR



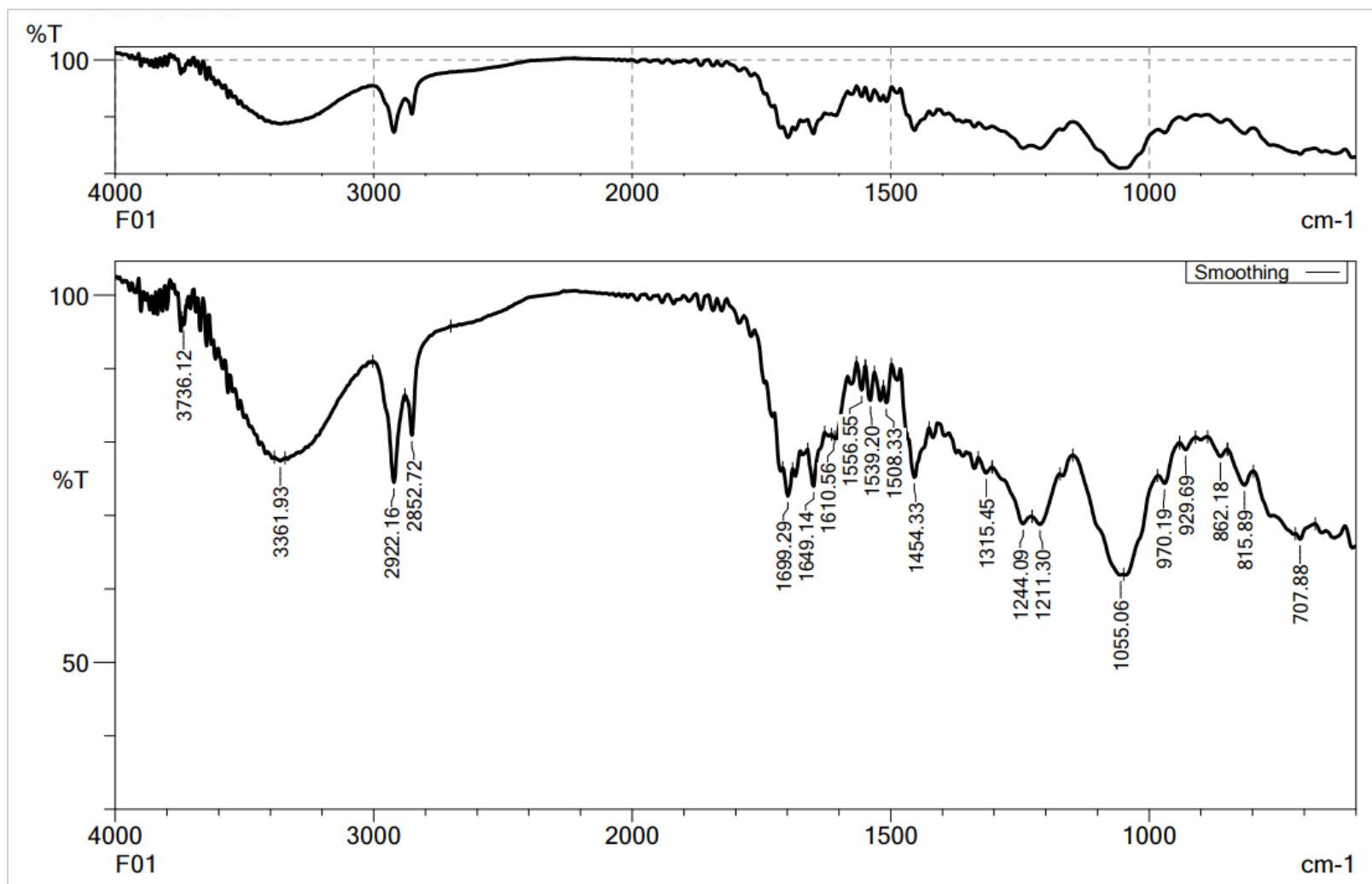
Espavé (Anacardium excelsum)



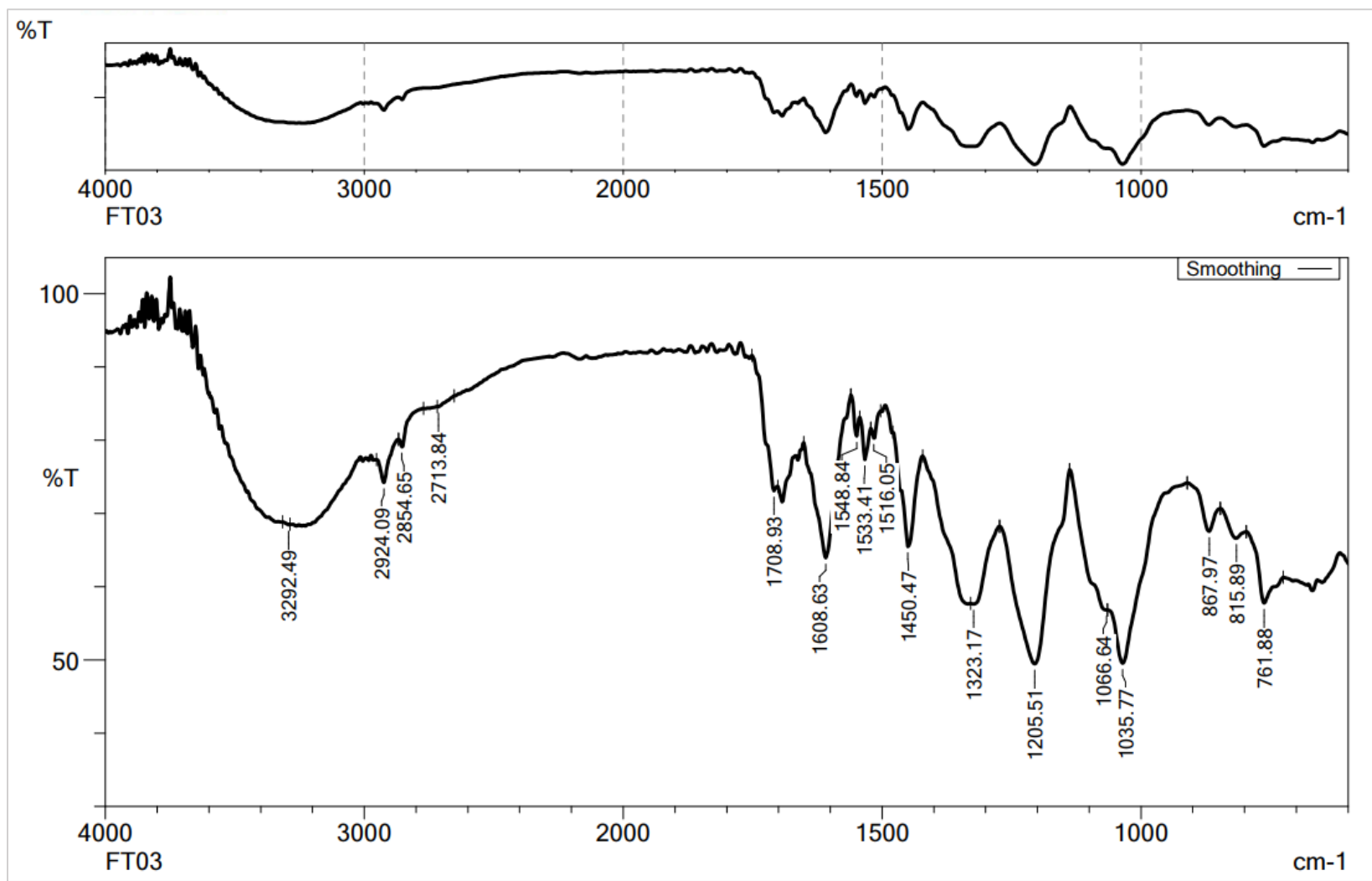
Cromatograma 1. Hoja del Espavé (Anacardium excelsum)



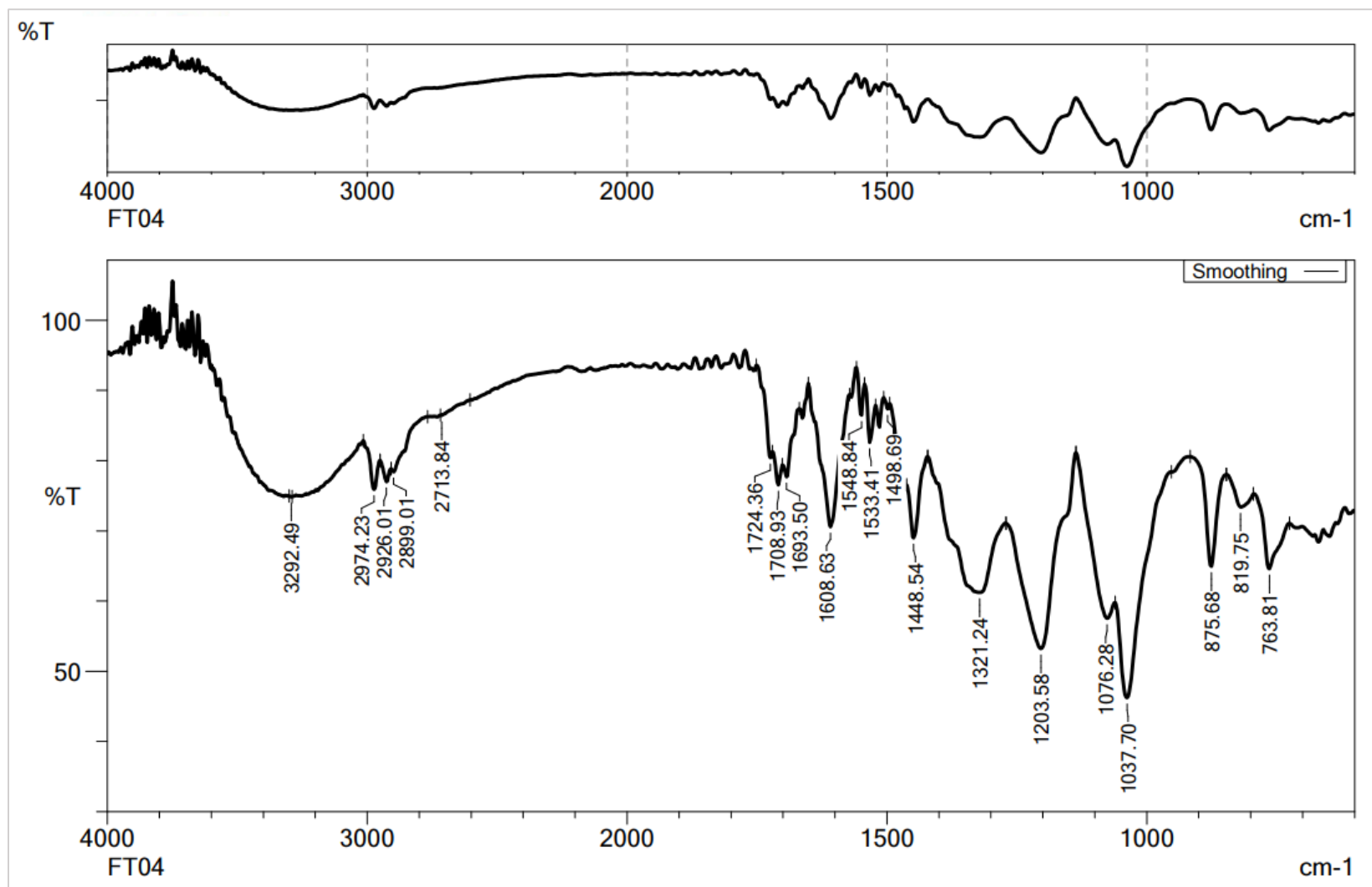
Cromatograma 2. Raqui del Espavé (*Anacardium excelsum*).



Cromatograma 3. Flor del Espavé (*Anacardium excelsum*).

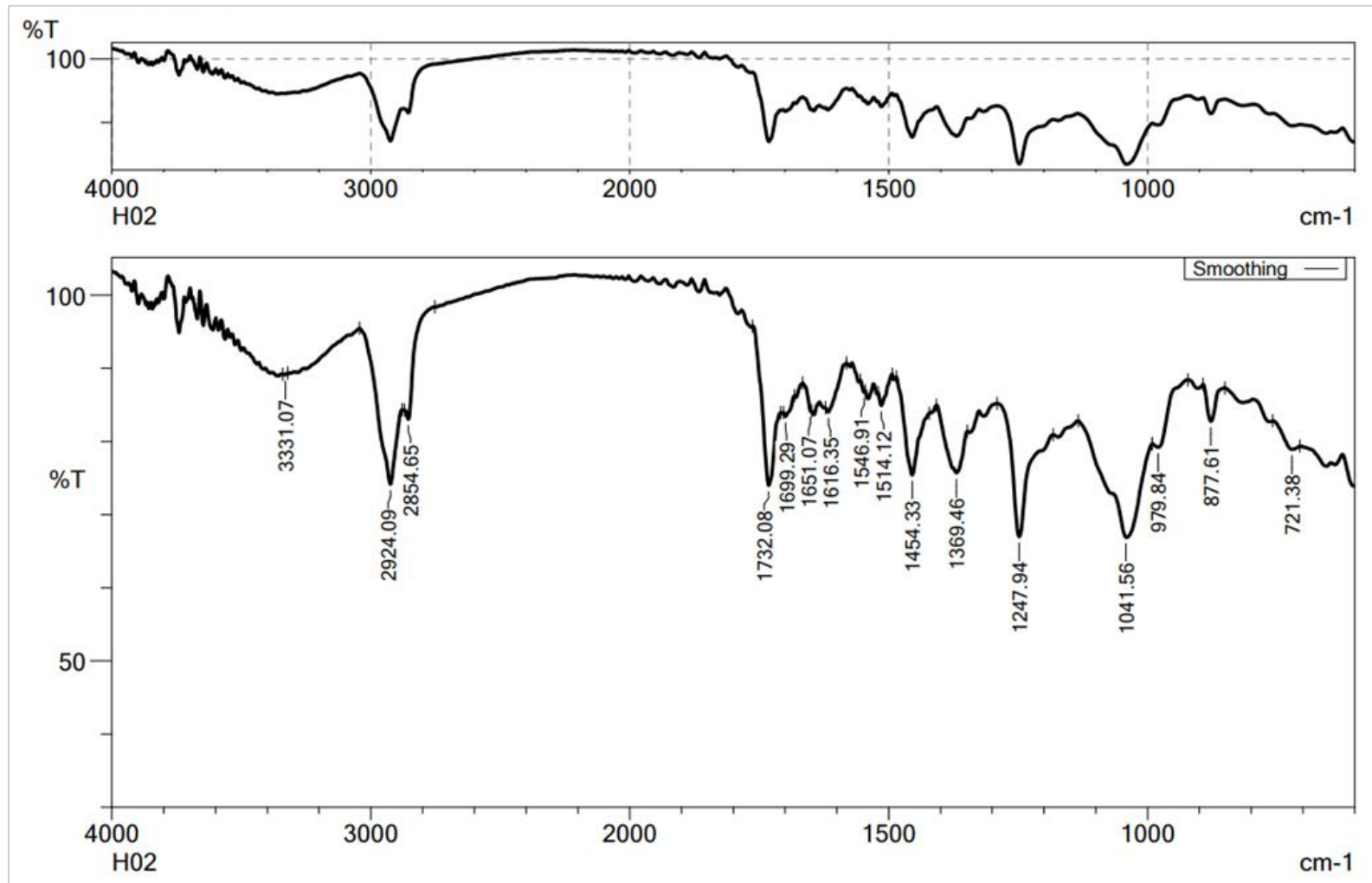


Cromatograma 4. Fruto verde del Espavé (*Anacardium excelsum*).

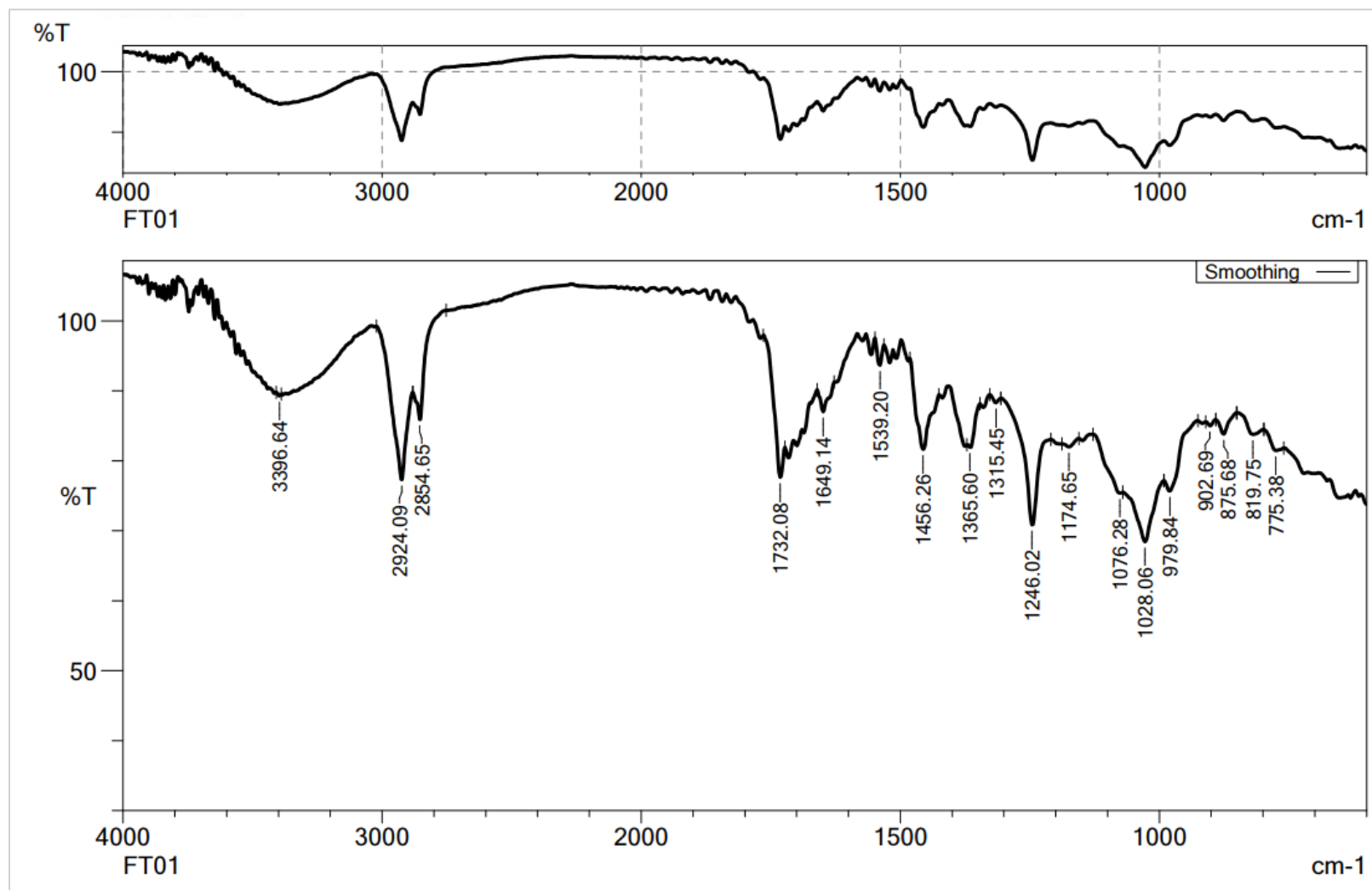


Cromatograma 5. Fruto del Espavé (*Anacardium excelsum*) seco.

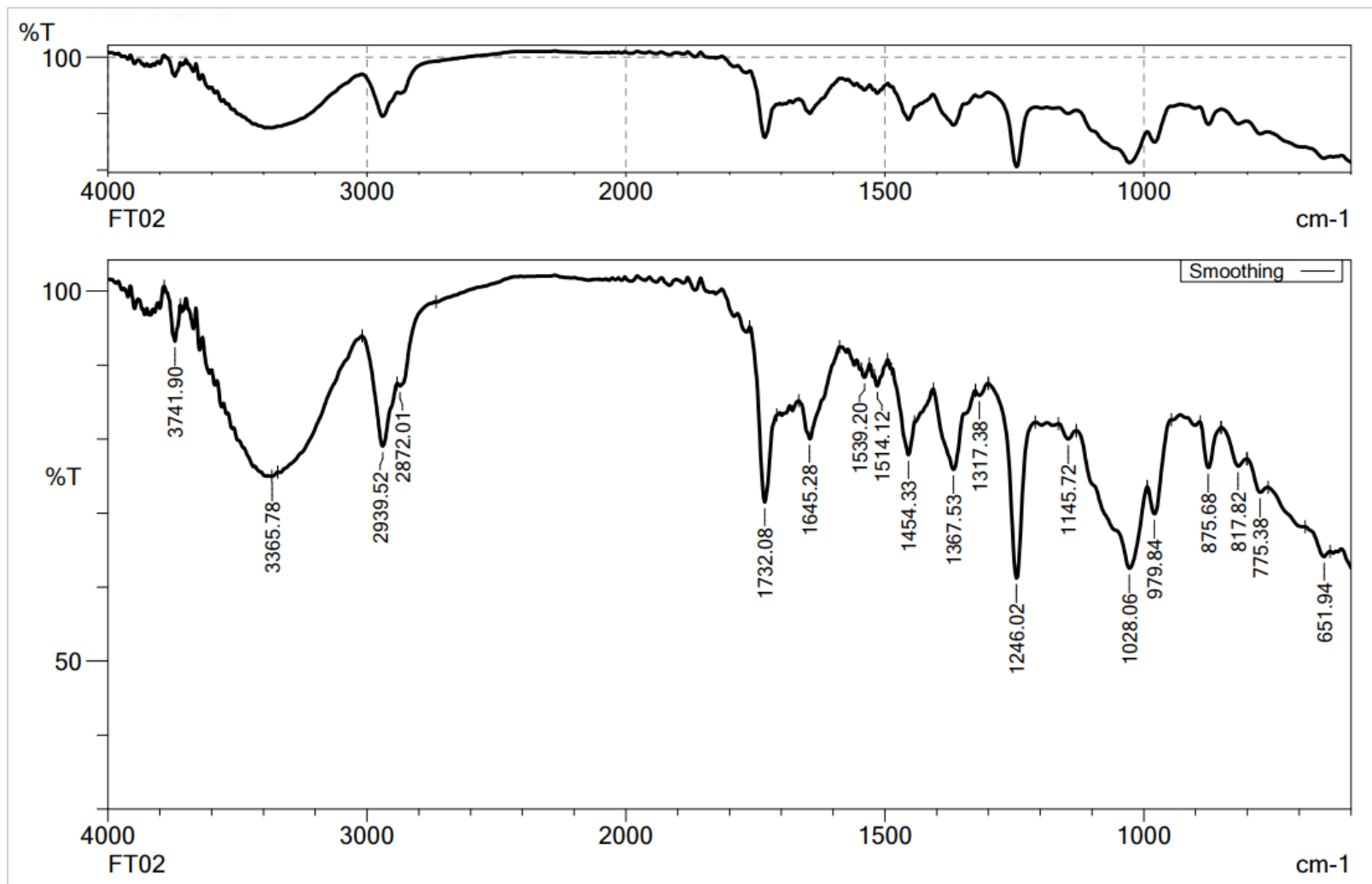
Caimito (Chrysophyllum cainito)



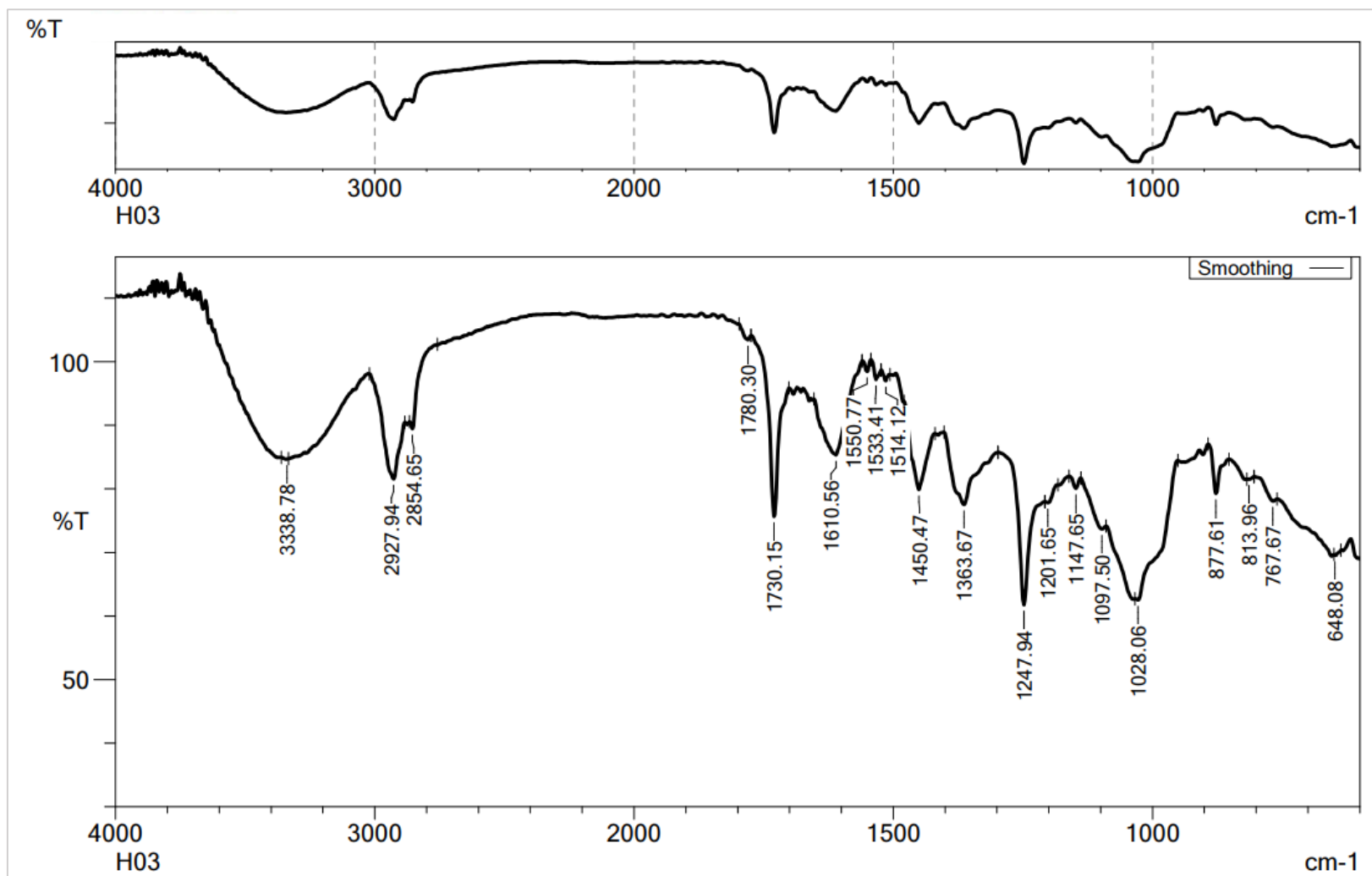
Cromatograma 6. Hoja de Caimito (*Chrysophyllum cainito*).



Cromatograma 7. Fruto maduro del Caimito (*Chrysophyllum cainito*).

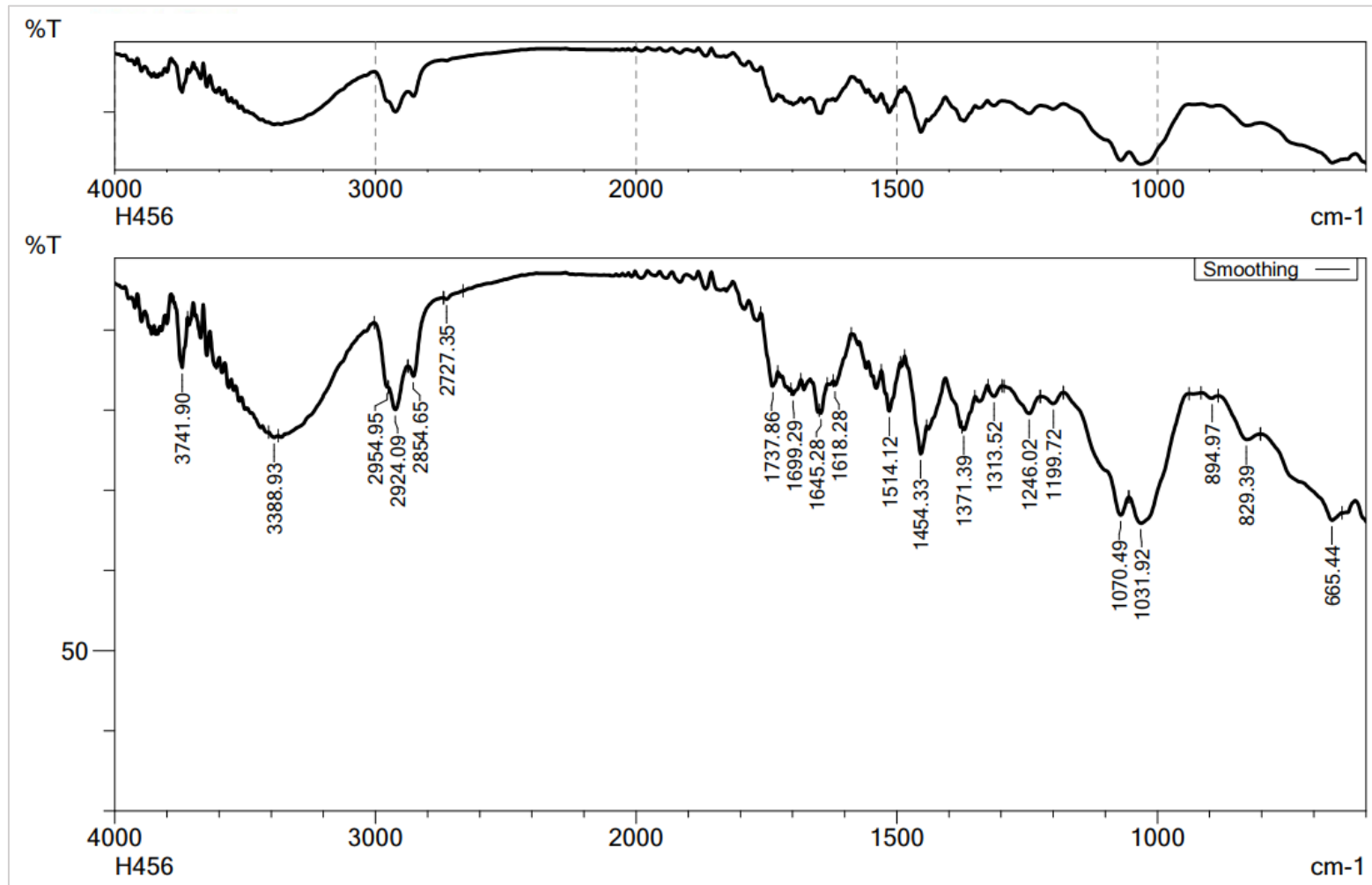


Cromatograma 8. Fruto verde del Caimito (*Chrysophyllum cainito*).

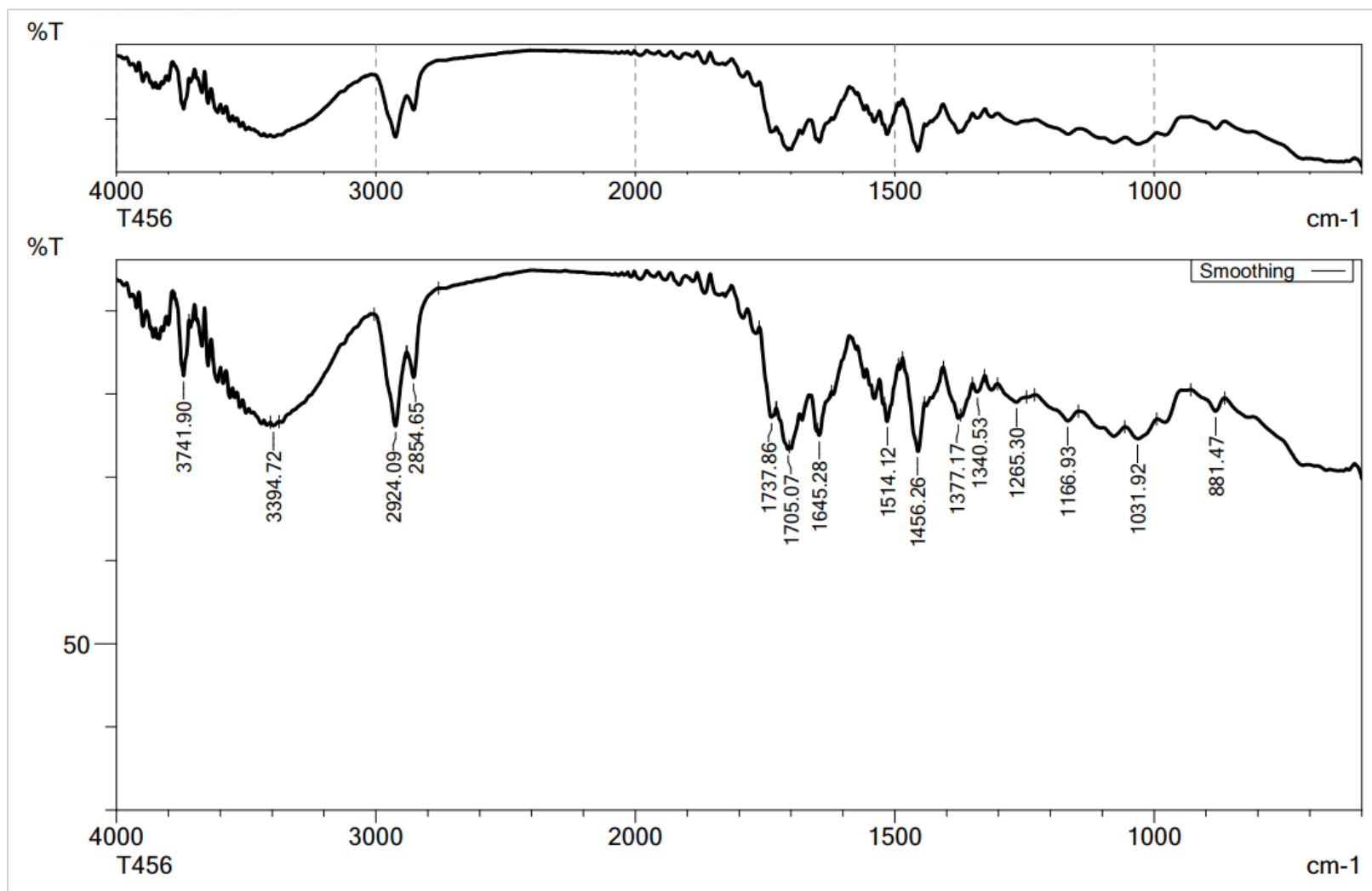


Cromatograma 9. Raqui del Caimito (*Chrysophyllum cainito*).

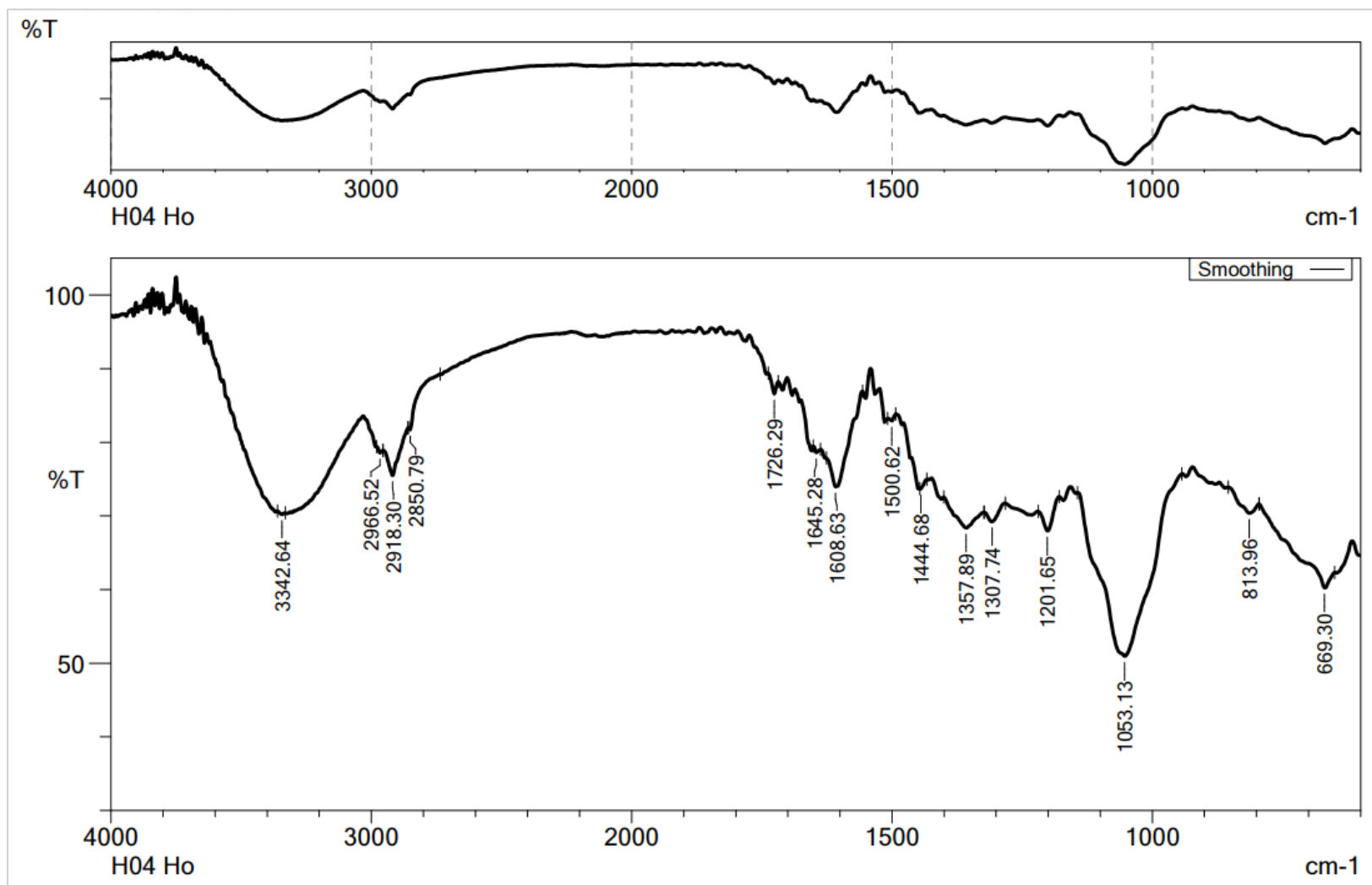
Corotú (Enterolobium cyclocarpum)



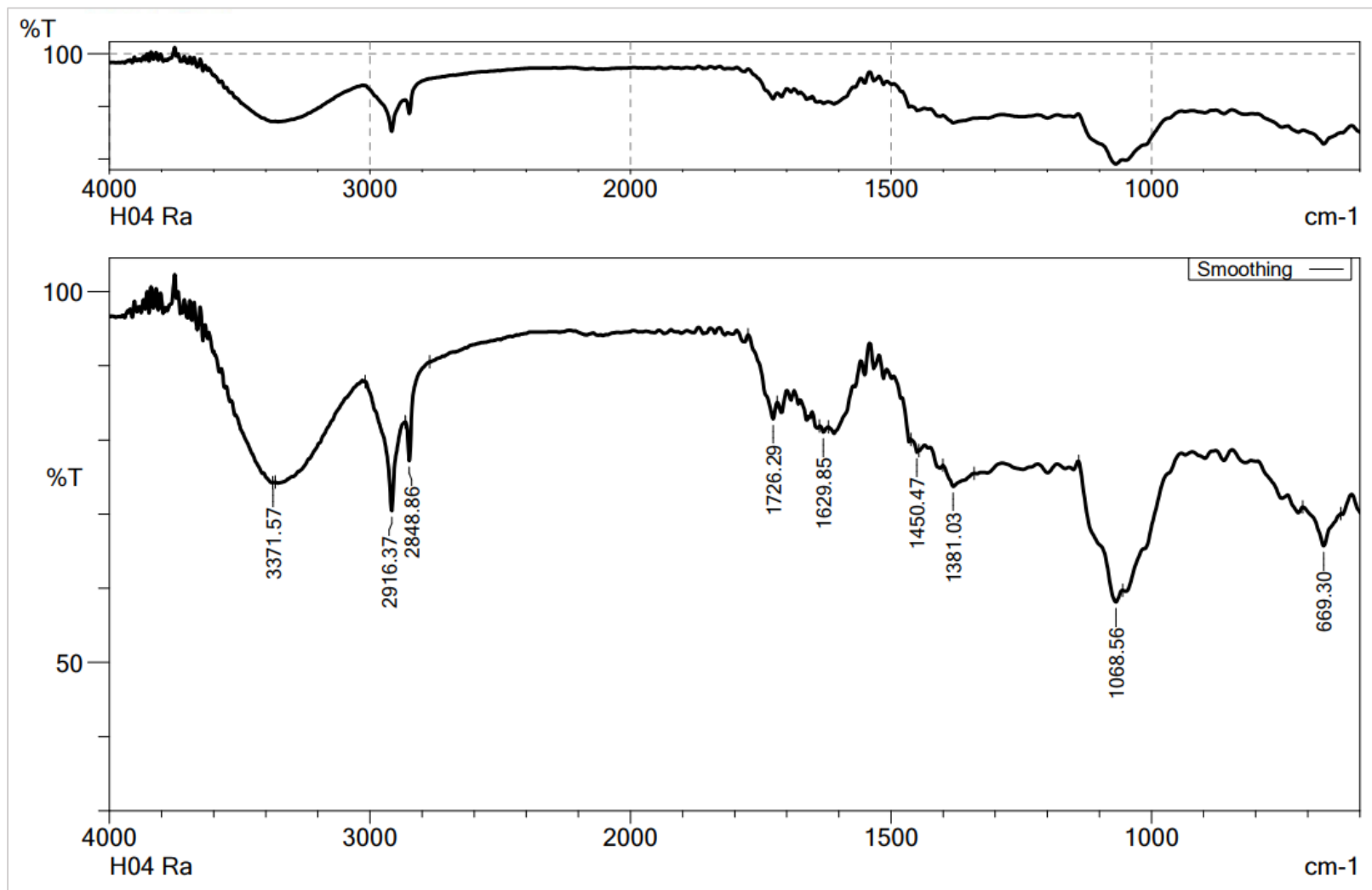
Cromatograma 10. Hoja del Corotú (*Enterolobium cyclocarpum*) recolectada en estación seca.



Cromatograma 11. Raquí del Corotú (*Enterolobium cyclocarpum*) recolectado en estación seca.

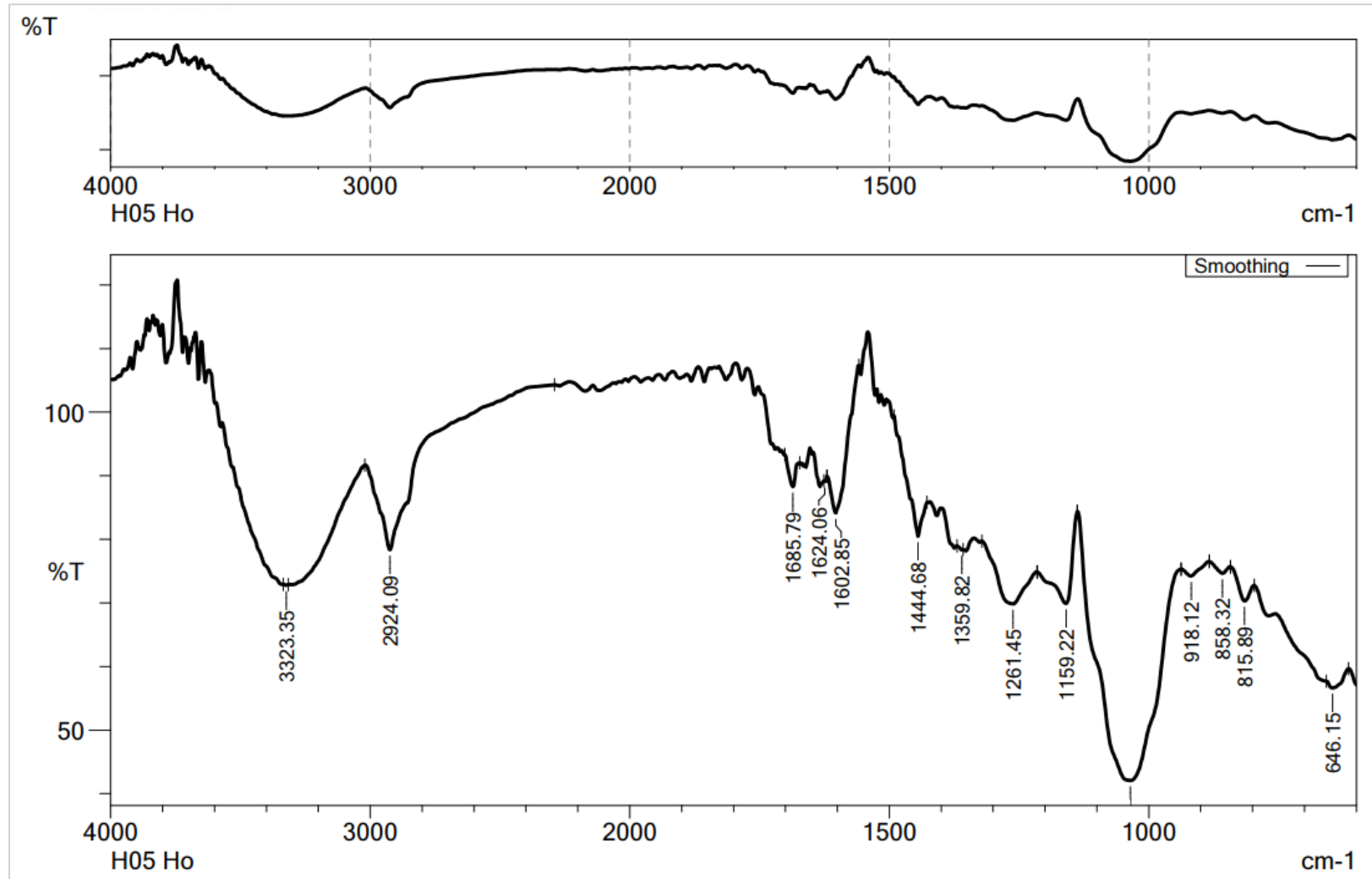


Cromatograma 12. Hoja del Corotú (*Enterolobium cyclocarpum*) recolectada en estación lluviosa.

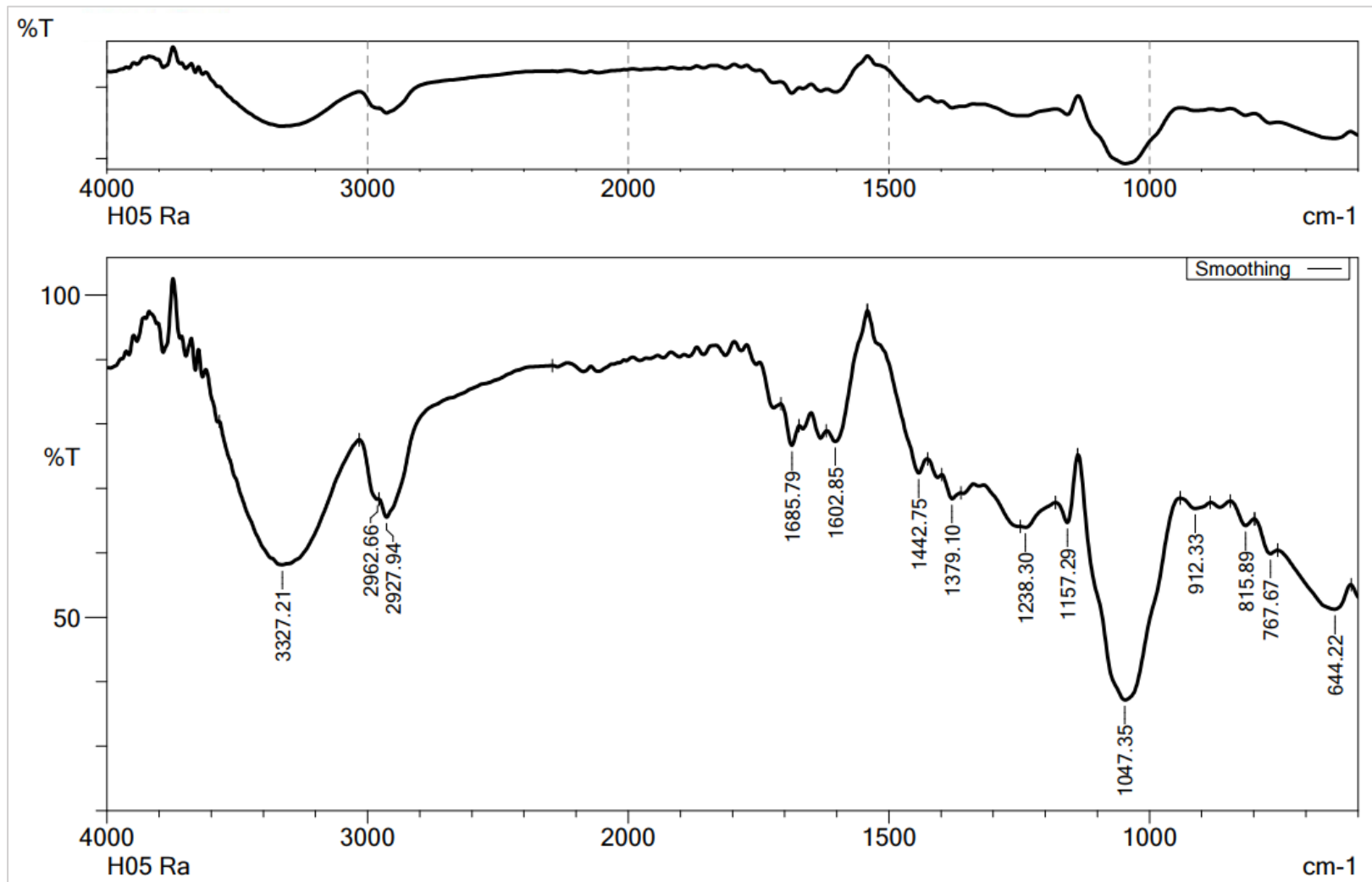


Cromatograma 13. Raquí del Corotú (*Enterolobium cyclocarpum*) recolectado en estación lluviosa.

Guayacán rosado (Tabebuia rosea)

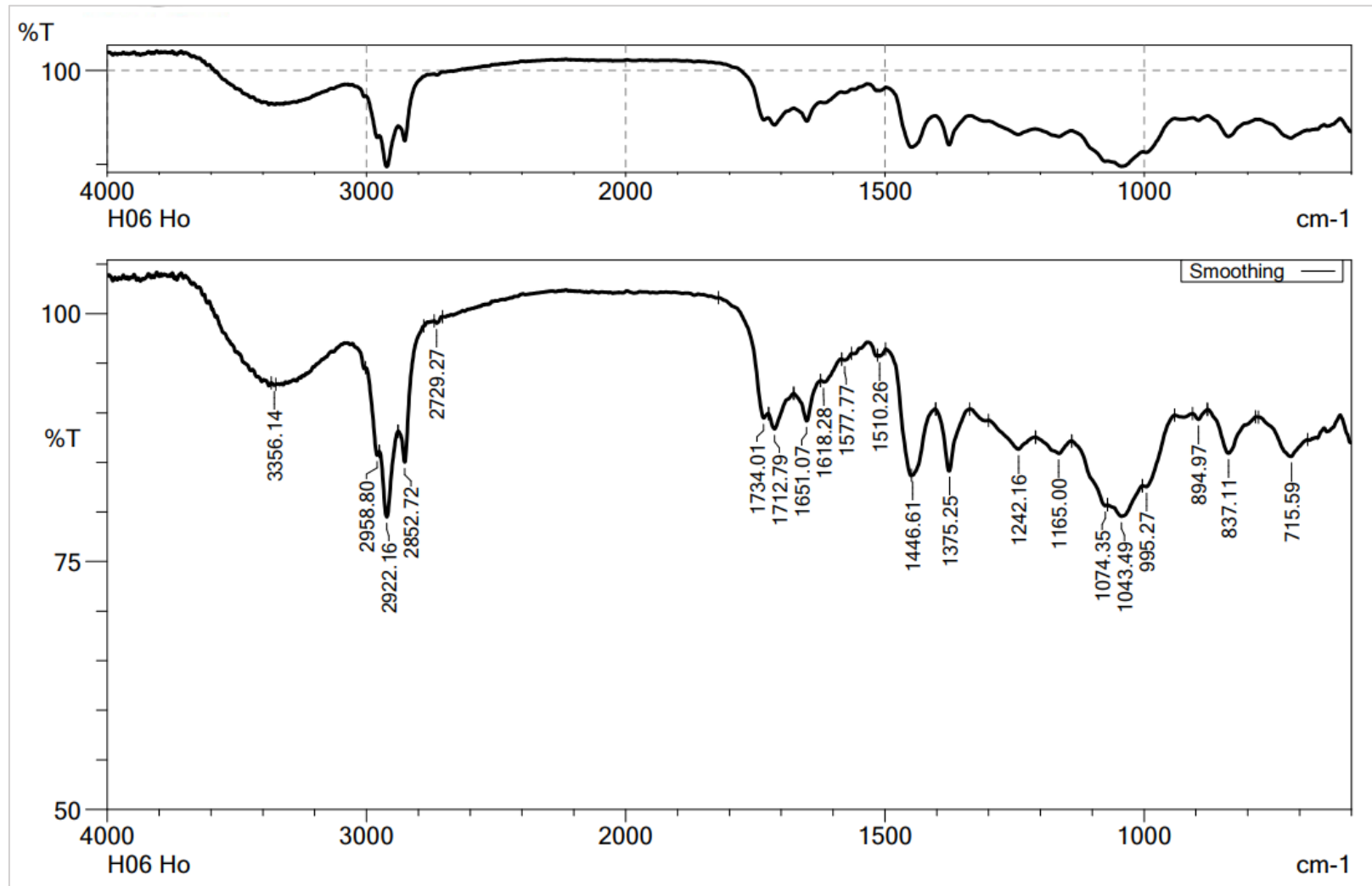


Cromatograma 14. Hoja del Guayacán (*Tabebuia rosea*).

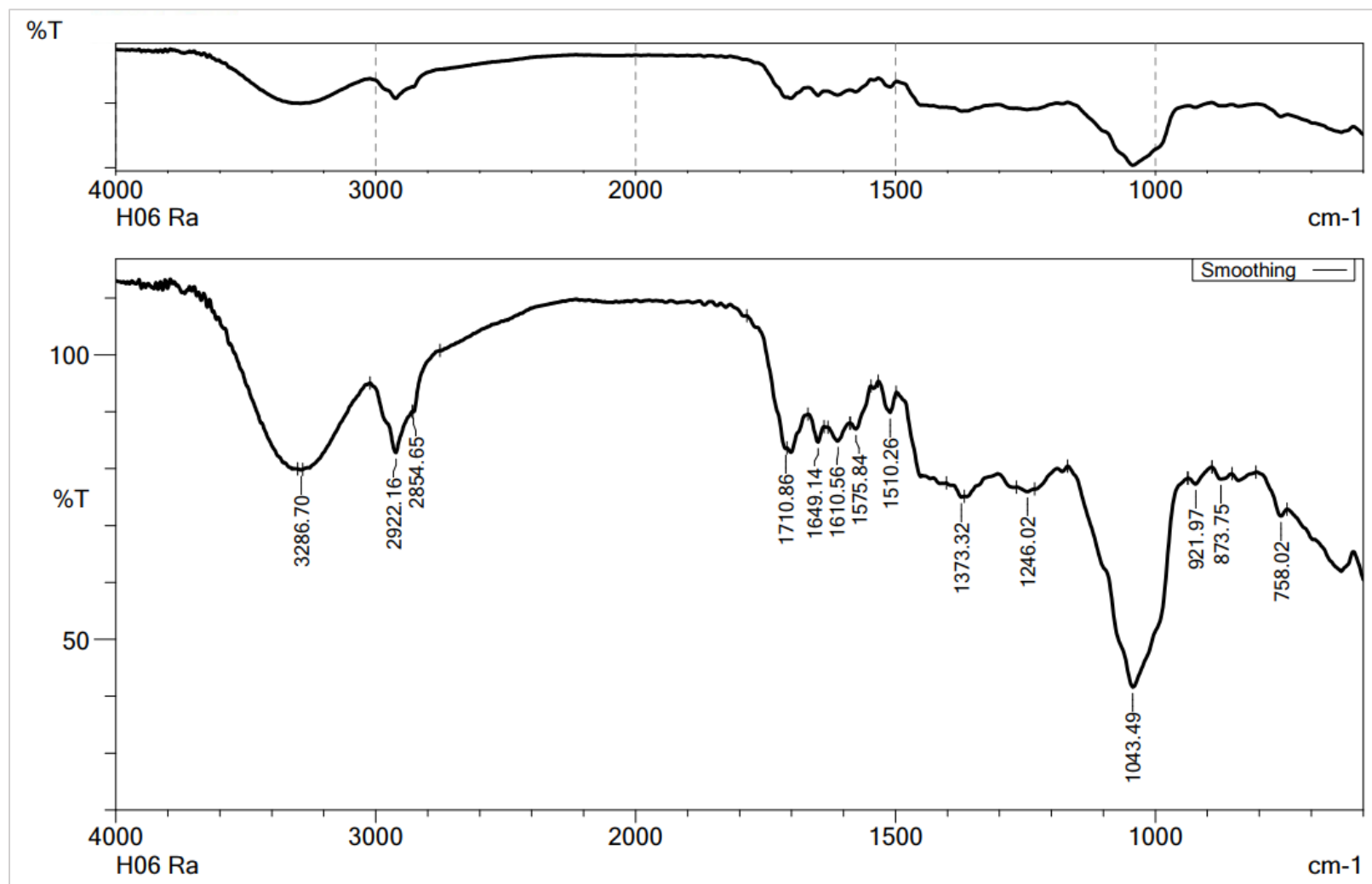


Cromatograma 15. Raqui del Guayacán (*Tabebuia rosea*).

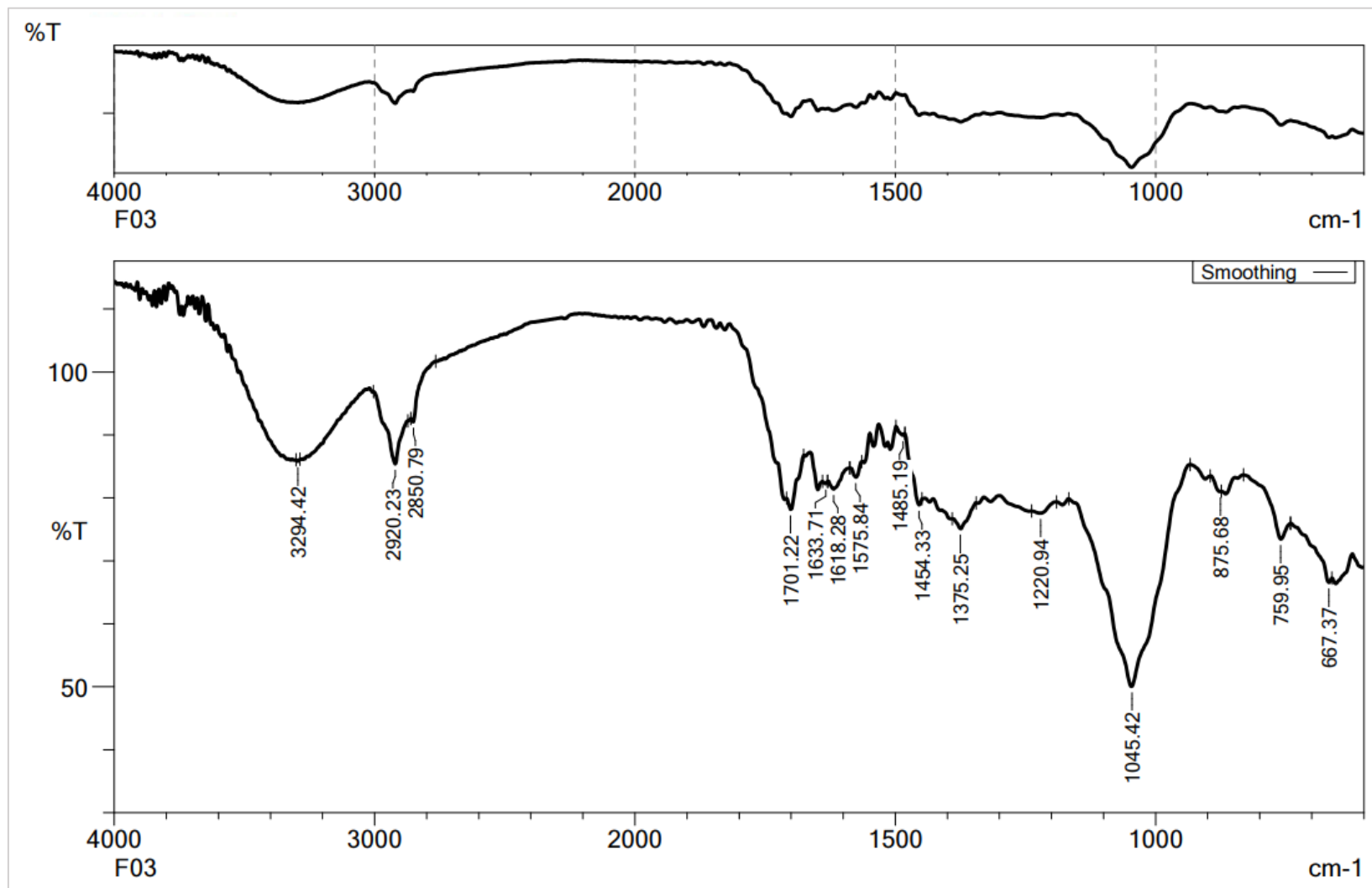
Capulín (Trema micrantha)



Cromatograma 16. Hoja del Capulín (*Trema micrantha*).

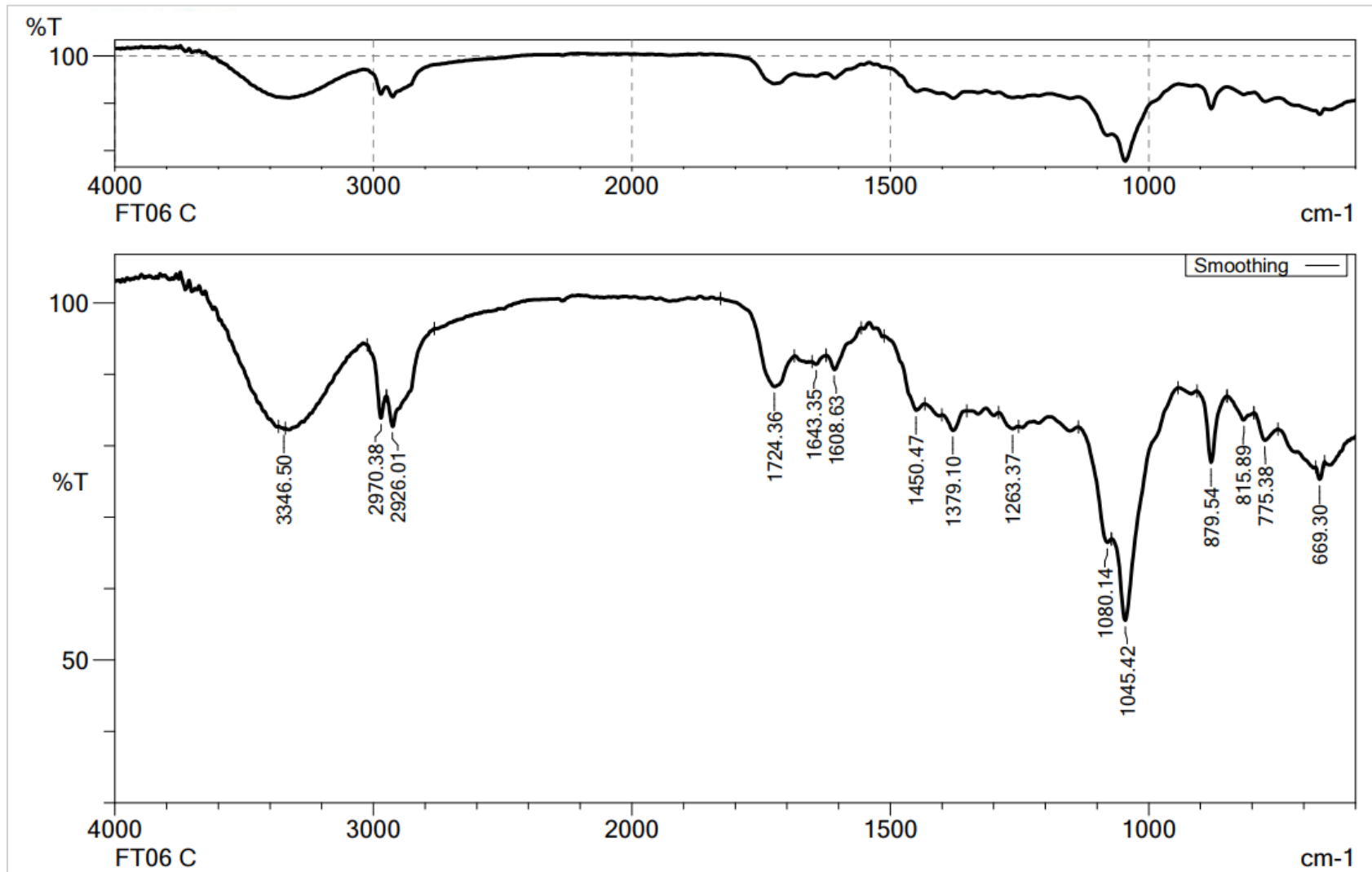


Cromatograma 17. Raqui del Capulín (*Trema micrantha*).

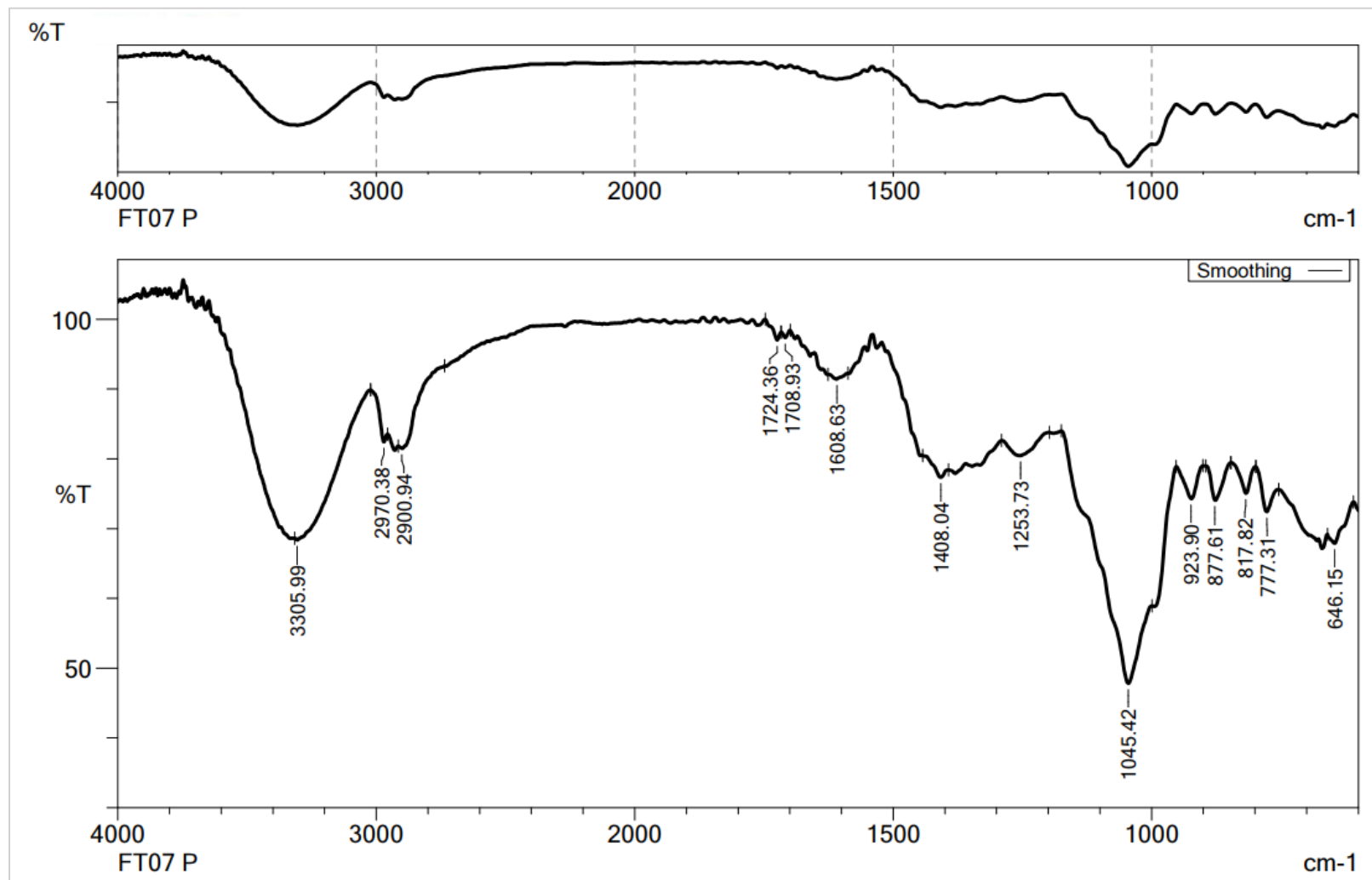


Cromatograma 18. Flor del Capulín (*Trema micrantha*).

Virola elongata



Cromatograma 19. Cáscara del fruto maduro del *Virola elongata*.

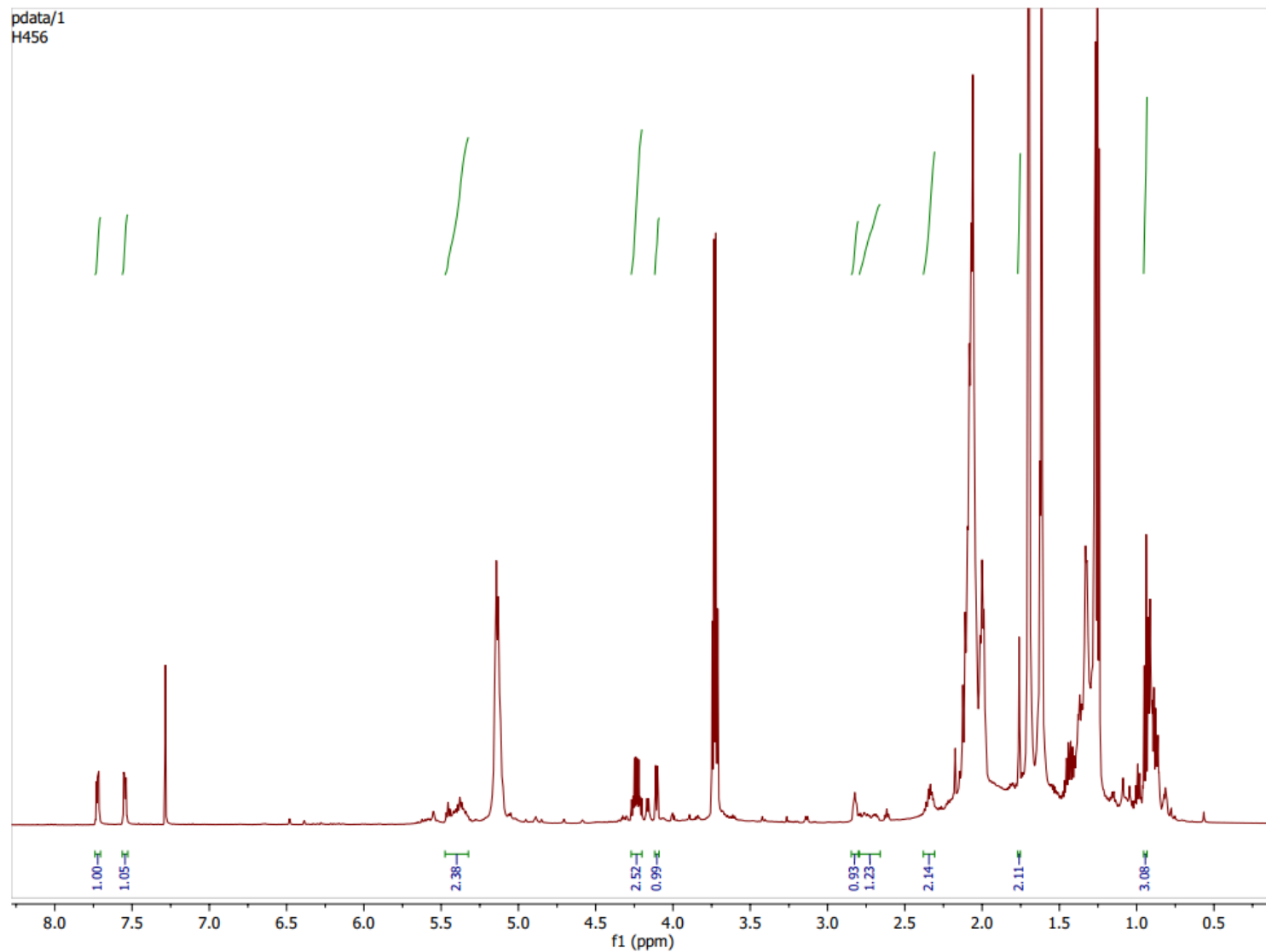


Cromatograma 20. Pulpa del fruto maduro del *Virola elongata*.

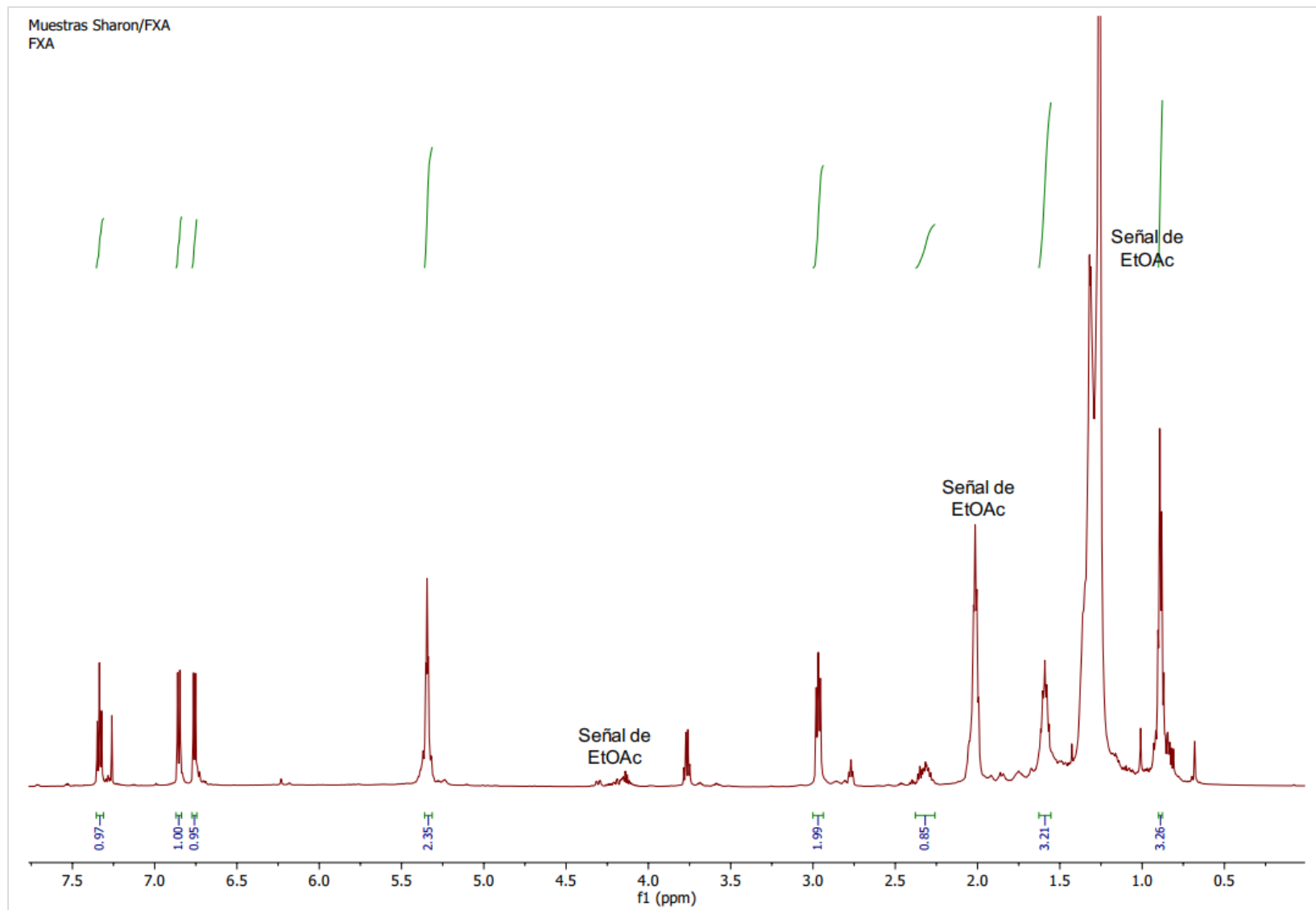
Anexos III

7.3. Cromatogramas de Espectros RMN

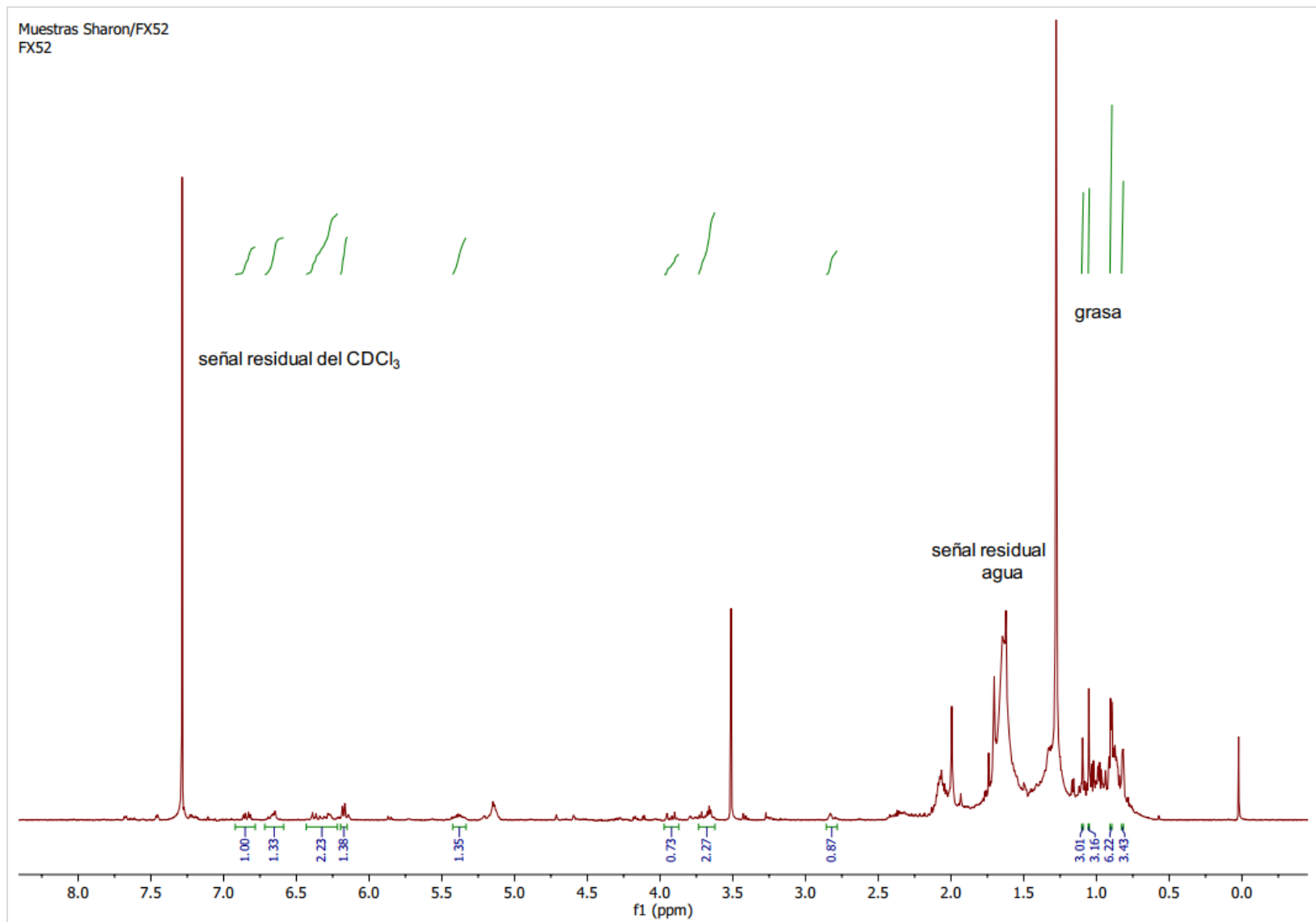




Cromatograma 21. Espectro (1H-RMN) de la hoja de corotú recolectada en estación seca, muestra H₄₅₆.

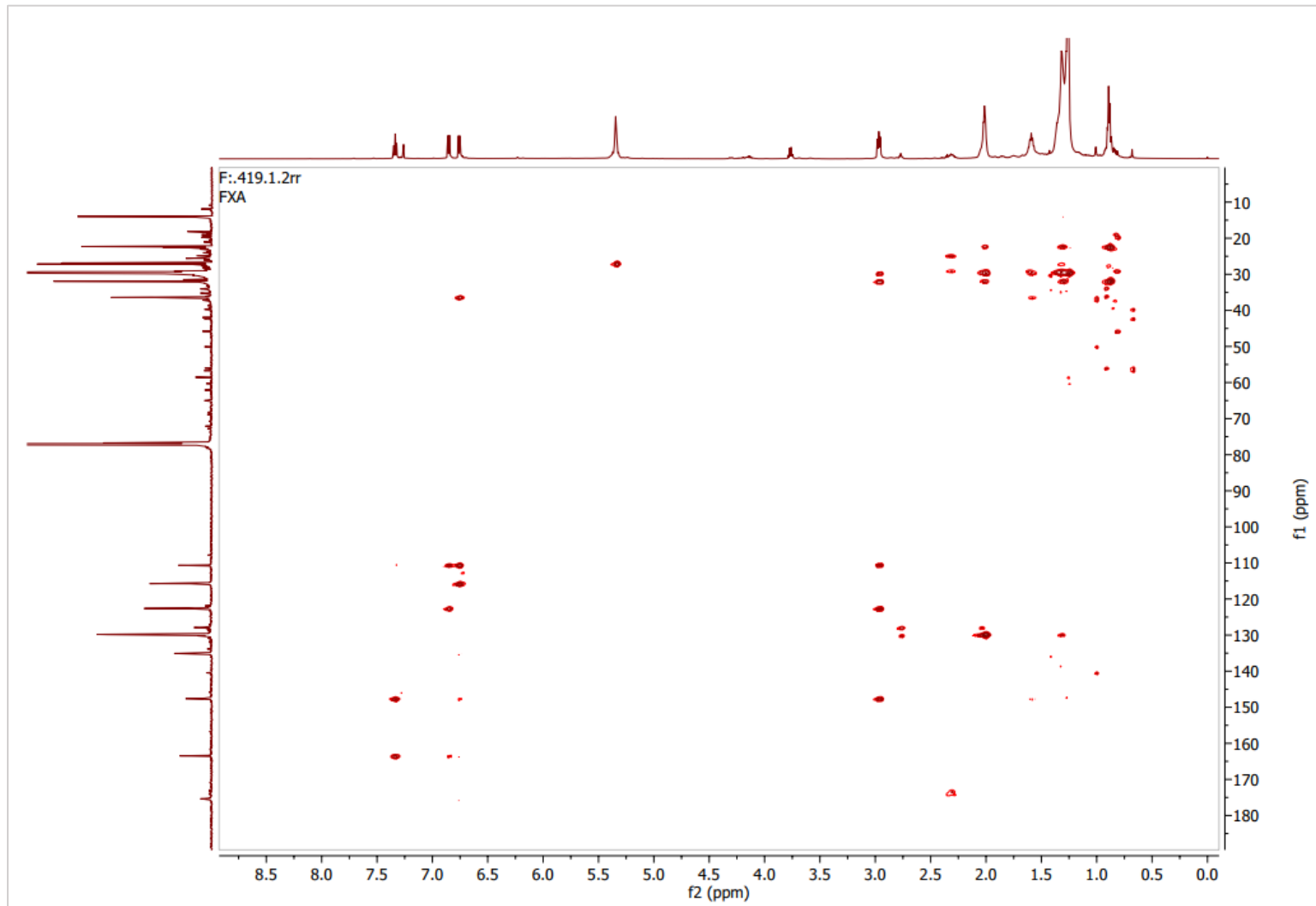


Cromatograma 22. Espectro (^1H -RMN) del fruto del espavé, fracción FxA.

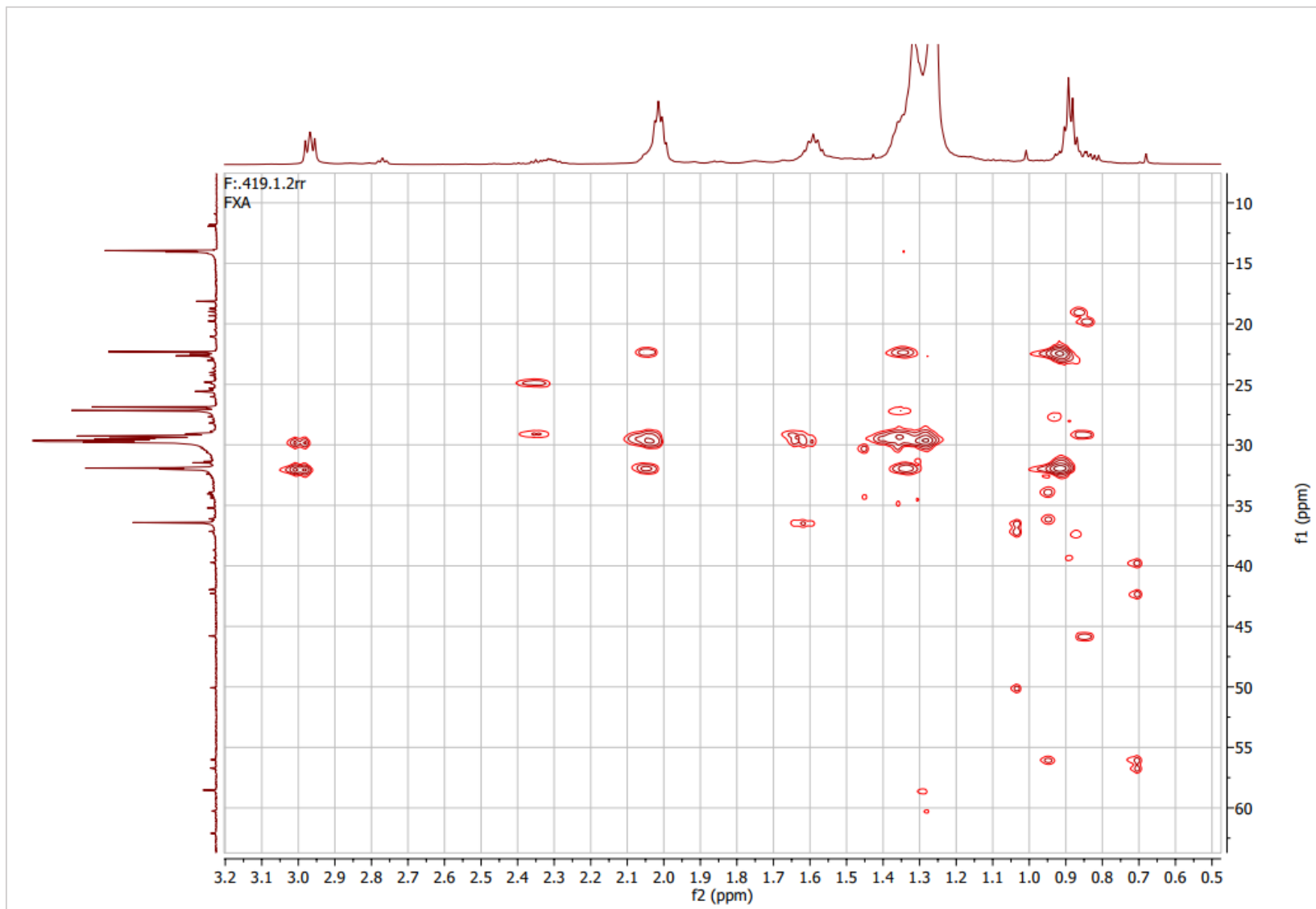


Cromatograma 23. Espectro (^1H -RMN) de la hoja del corotú recolectada en época lluviosa, fracción FxM56.

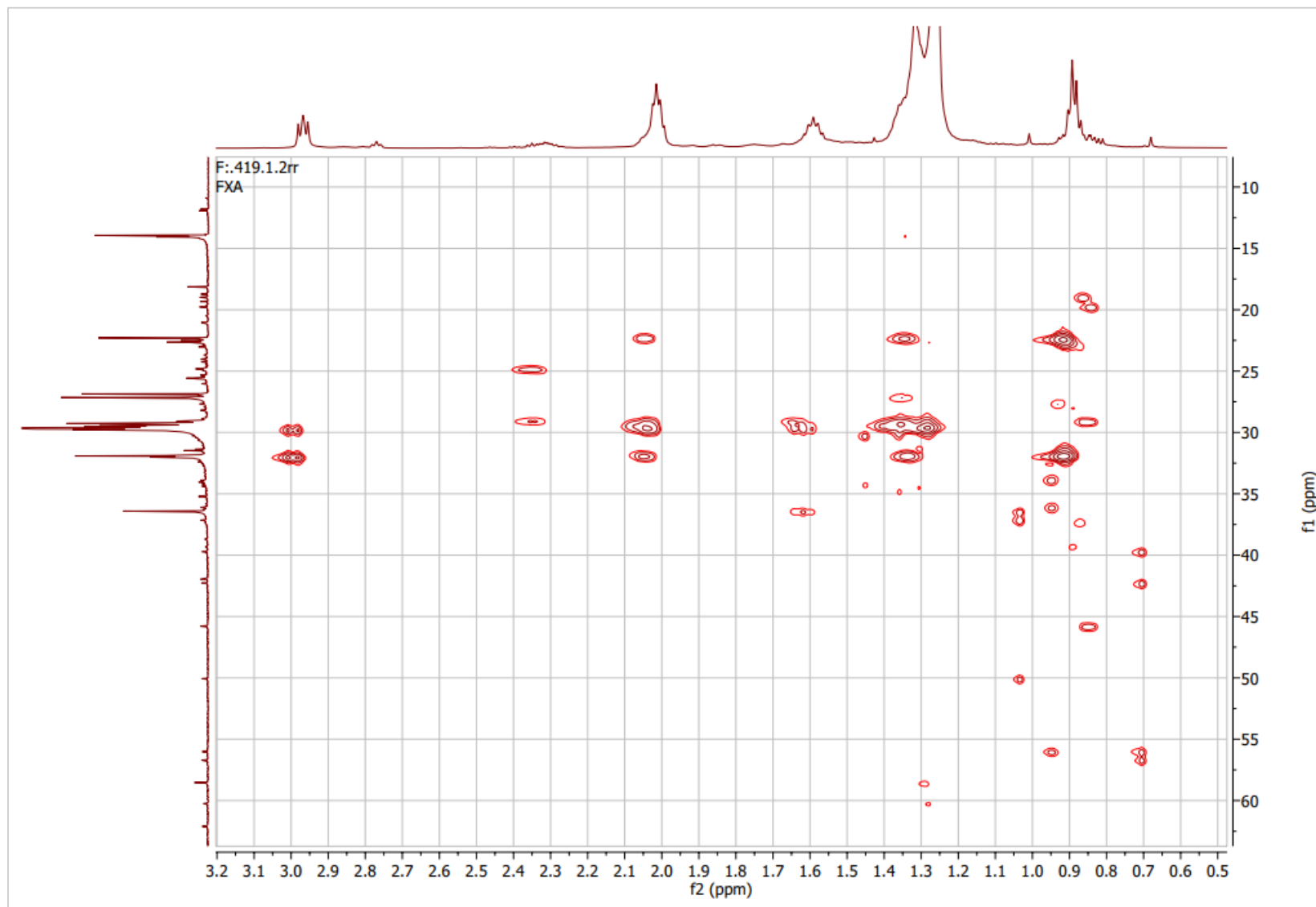
Espectros RMN HMBC de muestra de Anacardium excelsum, fracción FxA



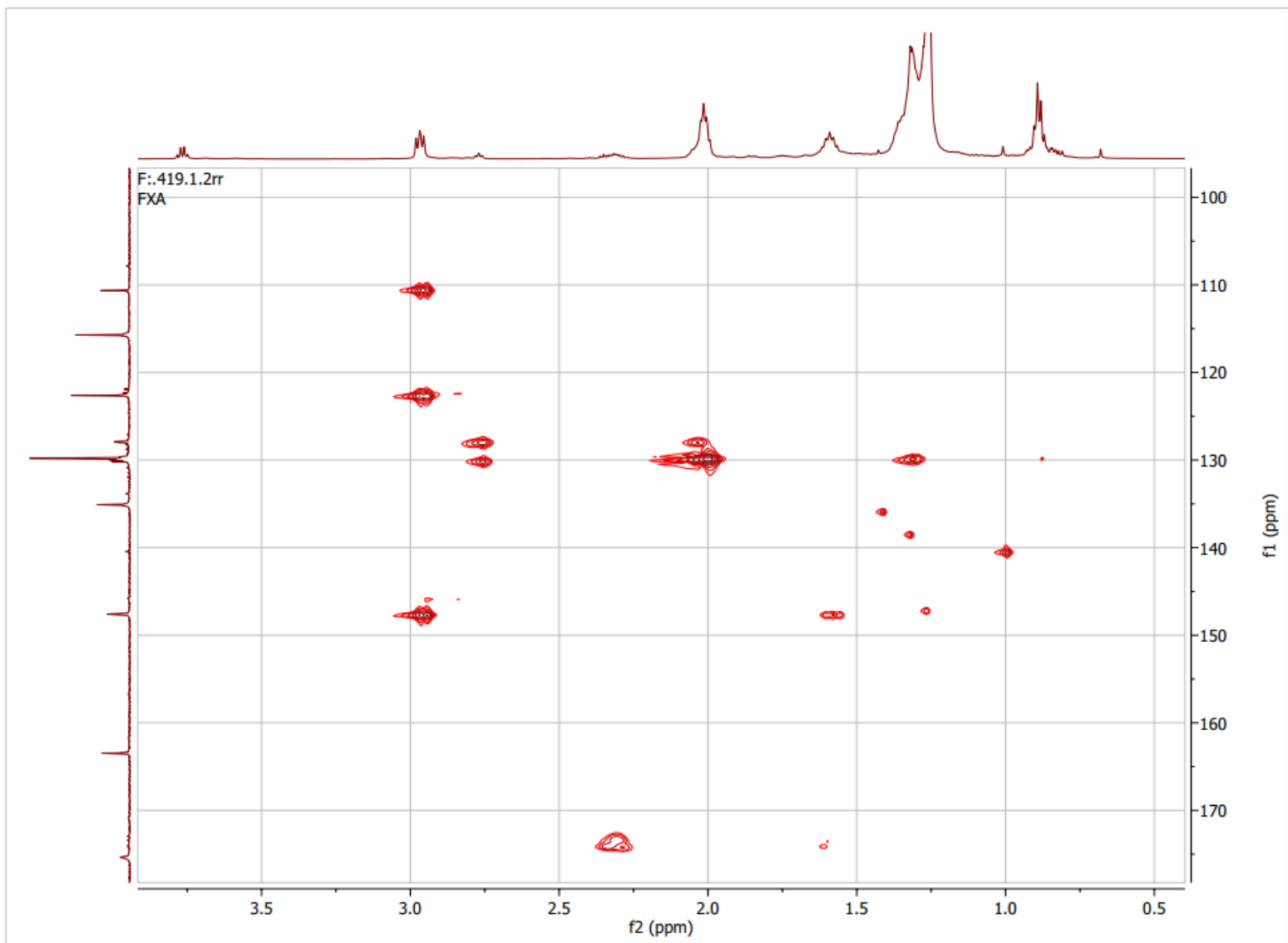
Espectro 1. RMN 2D (HMBC), espectro total de la fracción purificada FxA del fruto del espavé (Anacardium excelsum).



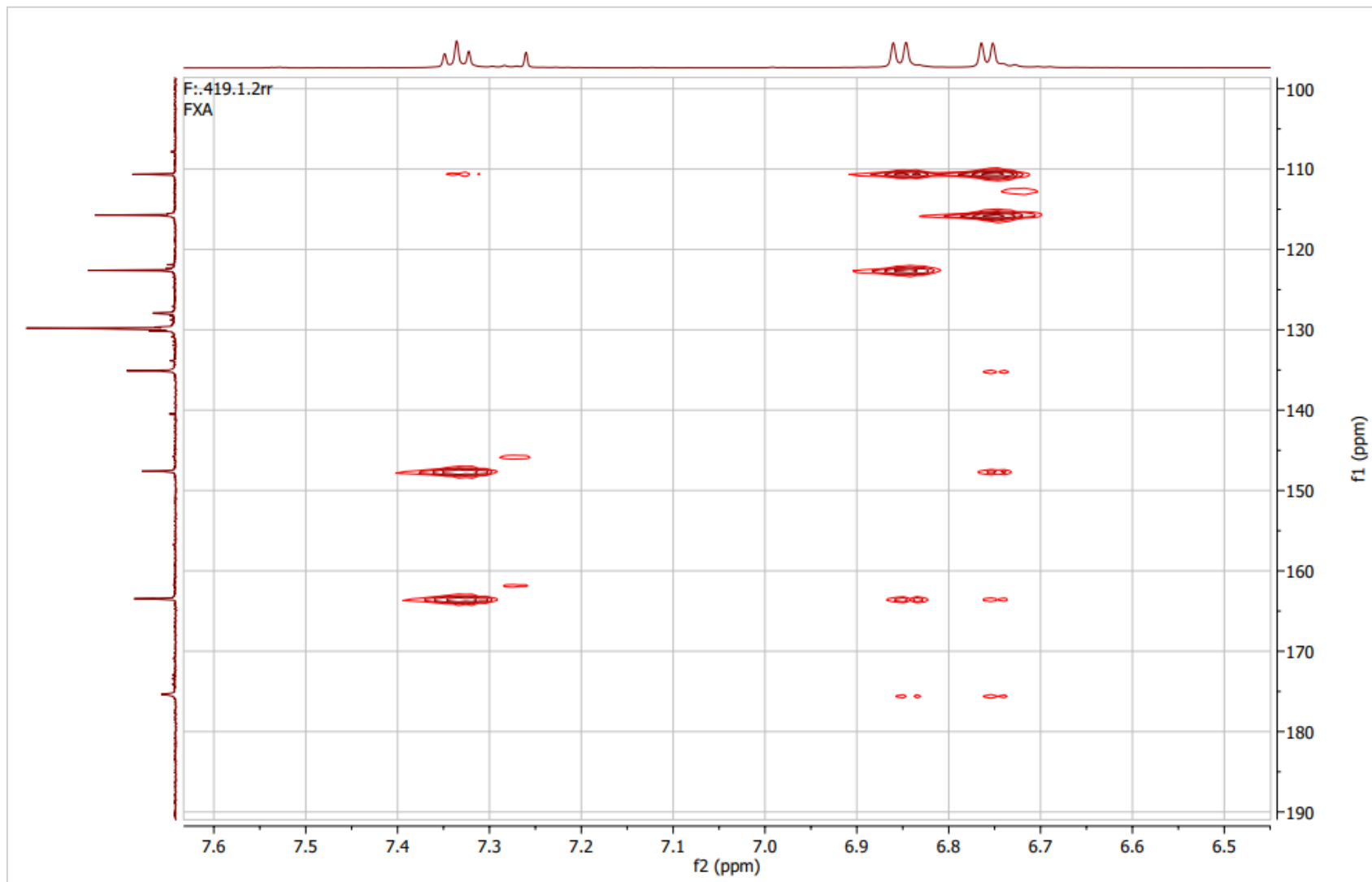
Espectro 2. RMN 2D (HMBC), espectro ampliado (sección A1) de la fracción purificada FxA del fruto del espavé (*Anacardium excelsum*).



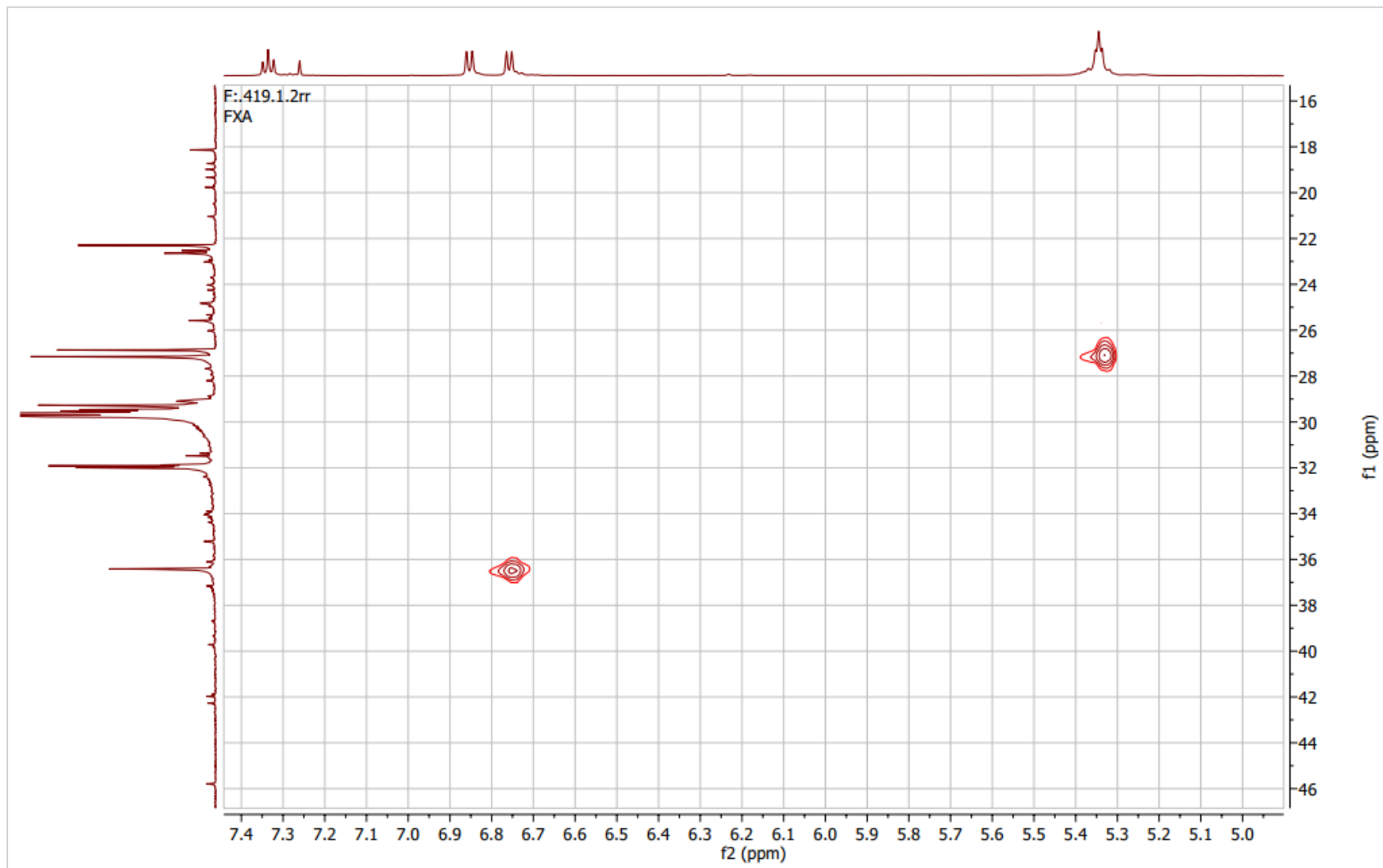
Espectro 3. RMN 2D (HMBC), espectro ampliado (sección A2) de la fracción purificada FxA del fruto del espavé (*Anacardium excelsum*).



Espectro 4. RMN 2D (HMBC), espectro ampliado (sección B) de la fracción purificada FxA del fruto del espavé (*Anacardium excelsum*).



Espectro 5. RMN 2D (HMBC), espectro ampliado (sección C) de la fracción purificada FxA del fruto del espavé (*Anacardium excelsum*).



Espectro 6. RMN 2D (HMBC), espectro ampliado (sección D) de la fracción purificada FxA del fruto del espavé (*Anacardium excelsum*).

Anexos IV

7.4. Ilustraciones



Las ilustraciones presentadas en las portadas de capítulo y subdivisiones fueron realizadas por el Lic. Edmund Quintero, y son de las especies arbóreas identificadas en el estudio realizado.

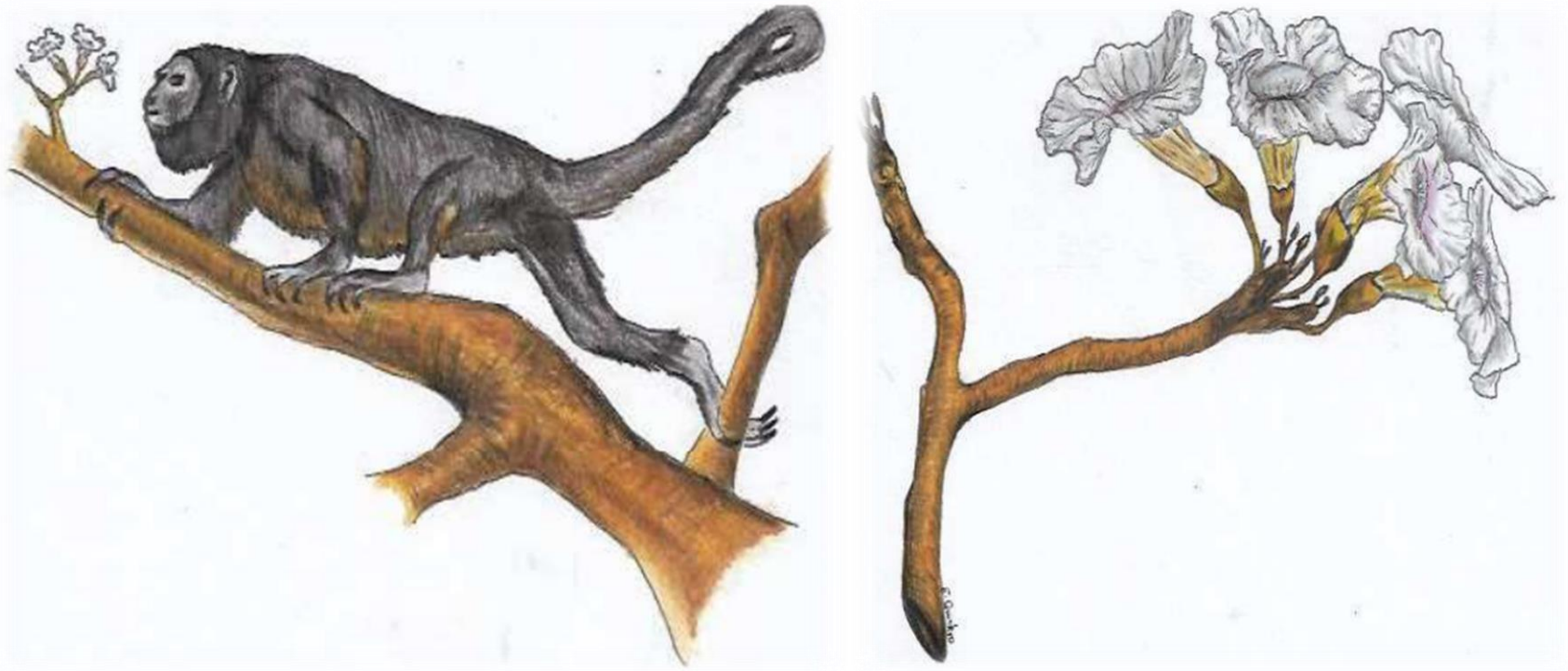


Ilustración 1. Dibujo de la flor de Tabebuia rosea y mono aullador (Alouatta palliata palliata).

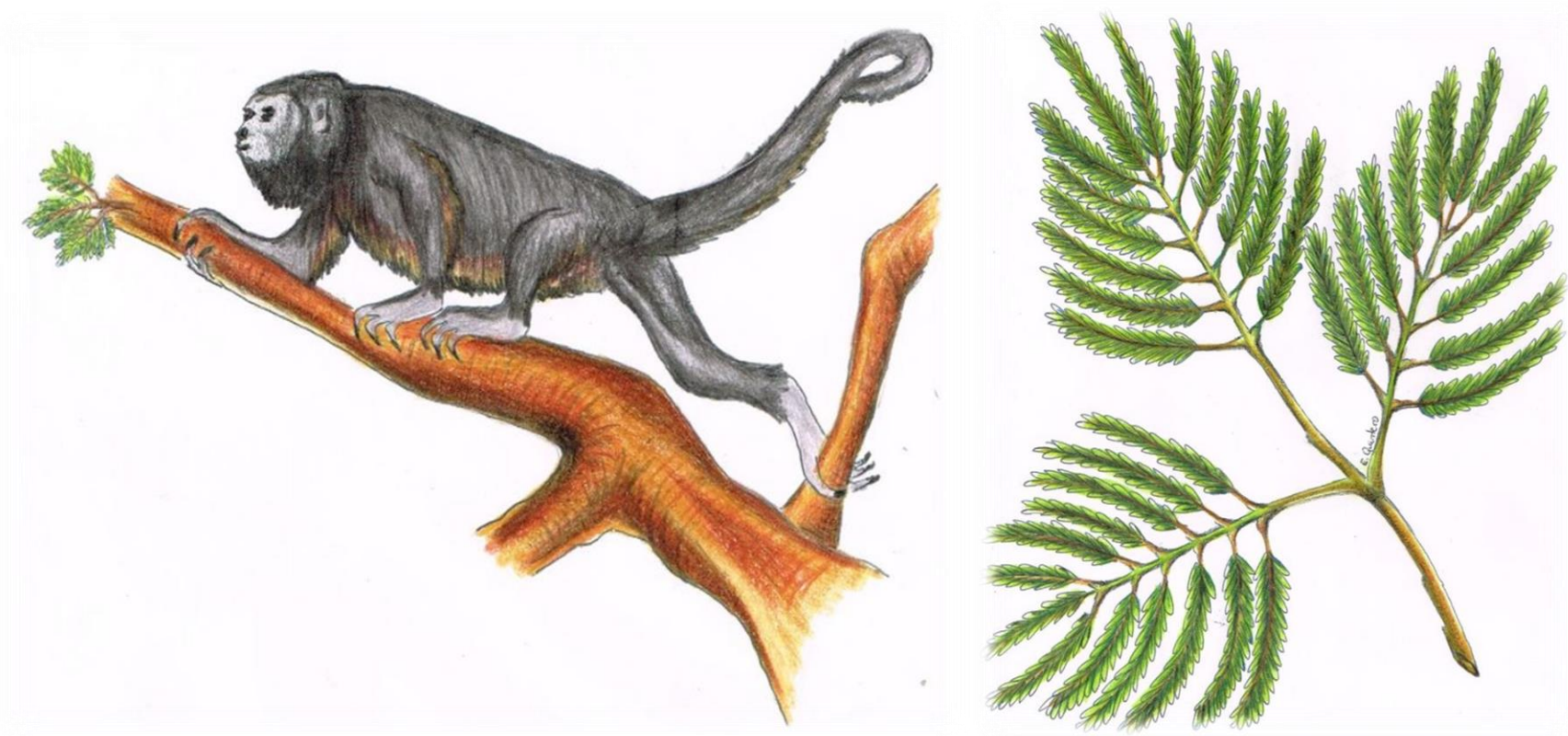


Ilustración 2. Dibujo de rama de Enterolobium cyclocarpum y mono aullador (Alouatta palliata palliata).



Ilustración 3. Dibujo de fruto de *Chrysophyllum cainito* y mono aullador (*Alouatta palliata palliata*).



Ilustración 4. Dibujo de hoja y flor de *Anacardium excelsum* y mono aullador (*Alouatta palliata palliata*).

