



**UNIVERSIDAD  
DEL AZUAY**

Universidad del Azuay

Facultad de Ciencia y Tecnología

Escuela de Biología

**Histoquímica y capacidad antioxidante de *Valeriana tomentosa*  
(Shilpalpal) y *Bidens andicola* (Ñachig), especies medicinales nativas  
del Ecuador**

Trabajo previo a la obtención del grado académico de: **Biólogo/o**

Autores:

**María Candelaria Iodice Rodríguez**

**Josué Leonardo Romero Benavides**

Directora:

**M.Sc. Mayra Catalina Jiménez Pesántez**

**Cuenca - Ecuador**

**2026**

## **DEDICATORIA**

Candelaria Iodice,

Dedico esta investigación a mi fiel compañero Leo, por ser más que un amigo y compartir juntos todas las experiencias hermosas que nos trajo esta carrera. Te admiro enormemente por tu gran voluntad y persistencia hacia tus metas.

Josué Romero,

Dedico este trabajo a Candelaria, por ser una excelente compañera de tesis y por el camino recorrido juntos desde el inicio de la carrera. Gracias por ser un pilar fundamental en mi formación académica y personal y sobre todo, por permitirme culminar este proceso a tu lado.

## **AGRADECIMIENTOS**

Deseamos expresar nuestro sincero agradecimiento a Nubia Guzmán, por su invitación a participar en este proyecto y por su acompañamiento constante durante todo el proceso; su guía fue fundamental para profundizar en el estudio de la botánica y el desarrollo de esta investigación. Asimismo, agradecemos a Mayra Jiménez y al Herbario Azuay por su disposición y apoyo técnico permanente.

A Laura Enríquez, nuestra guía en el laboratorio, le agradecemos por compartir su experiencia y por enseñarnos la importancia de la rigurosidad frente a los errores en la práctica experimental. Nuestra gratitud se extiende a Andrés Pérez, por facilitarnos el acceso a las instalaciones del Laboratorio de Química, y a Nicole, por su gestión en el Laboratorio de Biotecnología para agilizar los procesos necesarios. También agradecemos a Jonathan y Lorena, por su valiosa colaboración en las jornadas de laboratorio.

Finalmente, agradecemos a Juan Fernando y Maca por su apoyo logístico en la recolección de muestras de campo, y a todas las personas que, de una u otra forma, contribuyeron a la culminación de este trabajo.

## RESUMEN

La flora andina del Austro ecuatoriano posee un alto valor medicinal, destacando especies como *Valeriana tomentosa* y *Bidens andicola*, ampliamente utilizadas por sus propiedades analgésicas y en el tratamiento de trastornos digestivos. En este estudio se analizó la distribución histoquímica de compuestos polifenólicos y la capacidad antioxidante de ambas especies, recolectadas en un matorral húmedo montano de la provincia del Azuay, Ecuador, evaluando tres métodos de extracción: infusión, decocción y maceración etanólica. Mediante microscopía de fluorescencia y tinciones específicas, se determinó una compartimentalización estratégica de polifenoles totales, flavonoides y antocianinas en estructuras epidérmicas, especialmente en tricomas uniseriados y glandulares de *B. andicola* y *V. tomentosa*. Los análisis de polifenoles totales (*FolinCiocalteu*) demostraron que las flores, seguidas de las hojas de ambas especies presentaron mayor concentración de compuestos fenólicos en relación con los tallos, así como una mayor capacidad antioxidante medida a través de DPPH y ORAC-FL. Además, se determinó que los métodos de extracción térmicos (infusión y decocción) superan significativamente a la maceración etanólica en frío en la liberación de antioxidantes, con actividades cercanas al 70% de inhibición en flores de *V. tomentosa*. Estos resultados evidencian un alto potencial de estas especies como recursos medicinales, identifican los órganos con mayor producción de compuestos fenólicos y actividad antioxidante y establecen el método de extracción más eficiente, aportando evidencia científica crucial para la preservación del patrimonio botánico regional y el fortalecimiento de los conocimientos ancestrales sobre el aprovechamiento sostenible de la biodiversidad en el Austro ecuatoriano.

**Palabras clave:** polifenoles, flavonoides, taninos, antocianinas, estrés abiótico, extracción vegetal, etnobotánica.

## ABSTRACT

The Andean flora of southern Ecuador holds high medicinal value, including species such as *Valeriana tomentosa* and *Bidens andicola*, traditionally used for analgesic and digestive purposes. This study analyzed the histochemical distribution of polyphenolic compounds and the antioxidant capacity of both species collected from a humid montane shrubland in Azuay Province, Ecuador. Three extraction methods were evaluated: infusion, decoction, and ethanolic maceration.

Fluorescence microscopy and specific staining revealed a strategic compartmentalization of total polyphenols, flavonoids, and anthocyanins in epidermal tissues, particularly in uniseriate and glandular trichomes. Total phenolic content (Folin–Ciocalteu) showed that flowers, followed by leaves, had higher concentrations of phenolic compounds than stems, along with greater antioxidant capacity measured by DPPH and ORAC-FL assays.

Thermal extraction methods (infusion and decoction) significantly outperformed cold ethanolic maceration in antioxidant release, reaching up to 70% inhibition in *V. tomentosa* flowers. These findings highlight the medicinal potential of these species, identify key organs with higher phenolic production, and determine the most efficient extraction method. This study contributes to the scientific validation of traditional knowledge and supports the sustainable use of Andean plant biodiversity.

**Keywords:** Phenolic compounds, flavonoids, tannins, anthocyanins, abiotic stress, plant extraction methods, ethnobotany.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. OBJETIVOS .....	2
2.1 Objetivo general.....	2
2.2 Objetivos específicos .....	2
3. METODOLOGÍA .....	4
3.1 Recolección y preparación de las muestras .....	4
3.2 Análisis fitoquímicos .....	4
3.2.1 Diseño experimental y preparación de extractos .....	4
3.2.2 Determinación del contenido total de polifenoles .....	5
3.2.2.1 Método de <i>Folin-Ciocalteu</i> .....	5
3.2.3 Determinación de la capacidad antioxidante in vitro .....	6
3.2.3.1 Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) .....	6
3.2.3.2 ORAC-FL ( <i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i> con fluoresceína) .....	6
3.2.4 Análisis estadístico .....	7
3.3 Histoquímica.....	8
3.3.1 Preparación de las muestras.....	8
3.3.2 Detección de compuestos fenólicos.....	9
3.3.3 Evaluación microscópica.....	9
3.3.3.1 Microscopía óptica (campo claro).....	9
3.3.3.2 Microscopía bajo luz ultravioleta (UV) .....	10
3.3.4 Evaluación de la intensidad de reacción.....	10
4. RESULTADOS.....	11
4.1 <i>Valeriana tomentosa</i> .....	11
4.1.1 Análisis Fitoquímico de <i>V. tomentosa</i> .....	11
4.1.1.1 Determinación de fenoles totales ( <i>Folin-Ciocalteu</i> ) en <i>V. tomentosa</i> .....	11

4.1.1.2 Capacidad antioxidante mediante el radical DPPH en <i>V. tomentosa</i> .....	12
4.1.1.3 Capacidad de absorción de radicales peroxilo (ORAC-FL) en <i>V. tomentosa</i> .....	12
4.1.1.4 Comparaciones múltiples en <i>V. tomentosa</i> .....	13
4.1.2 Análisis Histoquímico de polifenoles en <i>V. tomentosa</i> .....	15
4.2 <i>Bidens andicola</i> .....	21
4.2.1 Análisis Fitoquímico de <i>B. andicola</i> .....	21
4.2.1.1 Determinación de fenoles totales ( <i>Folin-Ciocalteu</i> ) en <i>B. andicola</i> .....	21
4.2.1.2 Capacidad antioxidante mediante el radical DPPH en <i>B. andicola</i> .....	22
4.2.1.3 Capacidad de absorción de radicales peroxilo (ORAC-FL) en <i>B. andicola</i> .....	22
4.2.1.4 Comparaciones múltiples en <i>B. andicola</i> .....	23
4.2.2 Análisis histoquímico de polifenoles en <i>B. andicola</i> .....	25
5. DISCUSIÓN .....	32
6. CONCLUSIONES .....	35
7. RECOMENDACIONES .....	36
7.1 Recomendación metodológica (estandarización internacional): .....	36
7.2 Recomendaciones de continuidad científica:.....	36
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
9. ANEXOS.....	40

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Comparaciones post-hoc de medias (Tukey) para el análisis fitoquímico según el órgano y el método de extracción en <i>V. tomentosa</i> .....	15
Tabla 2. Distribución de compuestos fenólicos en órganos y tejidos de <i>V. tomentosa</i> , determinada mediante análisis histoquímico en campo claro y luz ultravioleta (UV) . .	20
Tabla 3. Comparaciones post-hoc de medias (Tukey) para el análisis fitoquímico según el órgano y el método de extracción en <i>B. andicola</i> .....	25
Tabla 4. Distribución de compuestos fenólicos en órganos y tejidos de <i>B. andicola</i> , determinada mediante análisis histoquímico en campo claro y luz ultravioleta (UV) ..	31

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Evaluación de fenoles totales (Folin-Ciocalteu) por órgano vegetal y técnica .....	11
de extracción en <i>V. tomentosa</i> .....	11
<i>Figura 2.</i> Evaluación de la capacidad antioxidante (ensayo DPPH) por órgano vegetal y técnica de extracción en <i>V. tomentosa</i> .....	12
<i>Figura 3.</i> Evaluación comparativa de la actividad antioxidante cinética (ensayo ORACFL) por órgano vegetal y técnica de extracción en <i>V. tomentosa</i> .....	13
<i>Figura 4.</i> Perfil de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en <i>V. tomentosa</i> por órgano y método de extracción. ....	14
<i>Figura 5.</i> Reacción histoquímica en tejidos florales de <i>V. tomentosa</i> .....	16
<i>Figura 6.</i> Reacción histoquímica bajo luz ultravioleta en tejidos florales de <i>V. tomentosa</i> . .....	17
<i>Figura 7.</i> Reacción histoquímica en tejidos foliares de <i>V. tomentosa</i> .....	18
<i>Figura 8.</i> Reacción histoquímica bajo luz ultravioleta en tejidos foliares de <i>V. tomentosa</i> . .....	18
<i>Figura 9.</i> Reacción histoquímica en el tallo de <i>V. tomentosa</i> .....	19
<i>Figura 10.</i> Reacción histoquímica bajo luz ultravioleta en el tallo de <i>V. tomentosa</i> ....	19
<i>Figura 11.</i> Evaluación de fenoles totales (Folin-Ciocalteu) por órgano vegetal y técnica de extracción en <i>B. andicola</i> .....	21
<i>Figura 12.</i> Evaluación de la capacidad antioxidante (ensayo DPPH) por órgano vegetal y técnica de extracción en <i>B. andicola</i> .....	22
<i>Figura 13.</i> Evaluación comparativa de la actividad antioxidante cinética (ensayo ORAC-FL) por órgano vegetal y técnica de extracción en <i>B. andicola</i> .....	23
<i>Figura 14.</i> Perfil de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en <i>B. andicola</i> ...	24
<i>Figura 15.</i> Reacción histoquímica en tejidos florales de <i>B. andicola</i> .....	26
<i>Figura 16.</i> Reacción histoquímica bajo luz ultravioleta en tejidos florales de <i>B. andicola</i> .....	27
<i>Figura 17.</i> Reacción histoquímica en tejidos foliares de <i>B. andicola</i> . ....	28

<i>Figura 18.</i> Reacción histoquímica bajo luz ultravioleta en tejidos foliares de <i>B. andicola</i> . .....	29
<i>Figura 19.</i> Reacción histoquímica en el tallo de <i>B. andicola</i> .....	30
<i>Figura 20.</i> Reacción histoquímica bajo luz ultravioleta en el tallo de <i>B. andicola</i> .....	30

## **INDICE DE ANEXOS**

9.1 Especies estudiadas .....	40
9.2 Preparación extractos .....	40
9.3 Análisis fitoquímico .....	41
9.4 Análisis Histoquímico .....	41

## 1. INTRODUCCIÓN

Históricamente, las comunidades andinas han desarrollado un vasto conocimiento sobre la flora local, clasificando las plantas según sus propiedades terapéuticas como un recurso esencial para la salud y la cultura. En los Andes ecuatorianos se registran más de 500 especies utilizadas sistemáticamente para tratar diversas afecciones, lo que refleja una profunda comprensión sobre qué órganos vegetales emplear y cómo procesarlos para obtener efectos biológicos (de la Torre, 2008). En el Austro ecuatoriano, este legado etnobotánico persiste en áreas rurales; no obstante, corre el riesgo de desaparecer debido a su transmisión predominantemente oral y a la falta de validación técnica (Armijos et al., 2022).

*Valeriana tomentosa* (Shilpalpal) y *Bidens andicola* (Ñachig) son especies de alto valor en la medicina popular, encontrándose comúnmente expandidas en los mercados locales del Azuay. La infusión de las flores, hojas y tallos de *V. tomentosa* se emplea tradicionalmente en el tratamiento de afecciones gástricas, como úlceras y dolor de estómago; además de ser utilizada como desinflamante para los huesos (de la Torre, 2008; Minga Ochoa, 2014). Por otra parte, *B. andicola* es reconocida por sus propiedades analgésicas y antiinflamatorias (Minga Ochoa, 2014); sus hojas y flores en infusión, se utilizan para tratar desórdenes en el sistema nervioso, así como para el dolor de estómago, diarrea y cólico; además, sus pétalos junto con otras flores se usan para aliviar las dolencias del corazón (de la Torre, 2008; Minga Ochoa, 2014).

Estas especies de ecosistemas de alta montaña, donde la intensa radiación solar y las fluctuaciones térmicas extremas han favorecido la síntesis de metabolitos secundarios, especialmente polifenoles, como un mecanismo de protección tisular frente al estrés oxidativo (Zargoosh et al., 2019). Esta producción de compuestos bioactivos, influenciada por factores genéticos y ambientales, es la que sustenta científicamente las propiedades medicinales atribuidas a estas plantas (Kabubii et al., 2023).

A pesar de su uso extendido, existe un vacío de información sobre cómo estos metabolitos se distribuyen internamente y de qué manera los métodos de preparación tradicionales, como las infusiones y decocciones, afectan su

liberación. Estudios previos en la región han mostrado resultados inconsistentes sobre su actividad biológica (Padilla & Paucar, 2008), lo que subraya la necesidad de analizar la compartimentalización histoquímica para determinar si estas especies almacenan sus defensas fitoquímicas en estructuras especializadas como tricomas o idioblastos epidérmicos (Konarska et al., 2025).

Bajo estos antecedentes, la presente investigación plantea caracterizar los compuestos fenólicos en *V. tomentosa* y *B. andicola* mediante un enfoque fitoquímico e histoquímico integrado. El estudio se centra en localizar estos metabolitos a nivel tisular en tallos, hojas y flores, cuantificar su presencia en distintos extractos para evaluar su capacidad antioxidante e identificar la relación entre la anatomía secretora de la planta y su potencial antioxidante. Los resultados aquí presentados proporcionan una base científica para el aprovechamiento fitofarmacológico de estas especies nativas y la puesta en valor del patrimonio botánico regional. (Zea Cobos et al., 2025).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo general**

Caracterizar los compuestos fenólicos presentes en tallos, hojas y flores de *Valeriana tomentosa* y *Bidens andicola* mediante análisis histoquímicos y fitoquímicos, identificando las estructuras secretoras involucradas en su producción, cuantificando su contenido total en distintos tipos de extractos, y evaluando su actividad antioxidante.

### **2.2 Objetivos específicos**

Localizar a nivel histológico los compuestos polifenólicos en flores, hojas y tallos de *Valeriana tomentosa* y *Bidens andicola*.

- Cuantificar el contenido total de polifenoles en los extractos (infusión, decocción y maceración) obtenidos de las flores, hojas y tallos de ambas especies.
- Evaluar la capacidad antioxidante *in vitro* de los diferentes extractos obtenidos.

- Analizar los perfiles histoquímicos y fitoquímicos de los compuestos fenólicos en relación con el órgano vegetal y el método de extracción, identificando diferencias en su composición y distribución.

### **3. METODOLOGÍA**

#### **3.1 Recolección y preparación de las muestras**

La recolección del material vegetal de *Bidens andicola* y *Valeriana tomentosa* se realizó dentro de la Estación Científica “El Gullán” de la Universidad del Azuay, ubicada en el cantón Nabón, comunidad de La Paz (3.3409° S, 79.1714° O). La estación se encuentra a una altitud de 2970 m s.n.m. y presenta una temperatura media anual de 14.6 °C (rango: 8.2 -- 23.3 °C) y una precipitación promedio de 1058 mm/año (rango: 552–2396 mm).

Se colectó material vegetal de las partes aéreas de cada especie, proveniente de poblaciones naturales que crecen dentro del matorral húmedo montano (Sierra et al., 1999), una de las formaciones vegetales características del área. Las muestras fueron transportadas al laboratorio, donde se lavaron con agua para eliminar impurezas, el material se separó en flores, hojas y tallos y se secó a 35 °C. Con el fin de mantener la integridad del material hasta el momento de su procesamiento, las muestras se almacenaron bajo condiciones controladas de baja humedad. Además, se colectó material botánico adicional que fue herborizado y depositado como muestra de referencia en el Herbario Azuay.

#### **3.2 Análisis fitoquímicos**

##### **3.2.1 Diseño experimental y preparación de extractos**

De cada especie (*Bidens andicola* y *Valeriana tomentosa*) se procesaron flores, hojas y tallos por separado mediante tres métodos de extracción: infusión, decocción y maceración.

Para cada una de las especies en estudio (*Bidens andicola* y *Valeriana tomentosa*), el diseño experimental contempló un total de 9 combinaciones (3 métodos de extracción por 3 órganos vegetales). Los extractos, infusión, decocción y maceración se obtuvieron de flores, hojas y tallos procesados de forma independiente. Para garantizar la representatividad y validez estadística, cada combinación se trabajó con tres réplicas biológicas independientes, resultando en un total de 27 muestras analizadas por especie. Para la obtención de los extractos,

el material vegetal seco se trituró hasta obtener un polvo homogéneo. Los protocolos de extracción se realizaron siguiendo los lineamientos de la Farmacopea Argentina (ANMAT, 2013), que establece concentraciones estándar del 5% p/v para preparaciones acuosas y del 10-20% p/v para extractos etanólicos. Los procedimientos de extracción se ejecutaron bajo las siguientes condiciones:

- Infusión: se vertieron 100 ml de agua destilada a punto de ebullición sobre 5 g de muestra, dejando reposar por 20 minutos.
- Decocción: se colocaron 5 g de muestra en 100 ml de agua destilada y se mantuvo en ebullición durante un periodo de 20 minutos.
- Maceración: se utilizó una relación 1:10 p/v con etanol al 70%, manteniendo el contenido en agitación constante, a temperatura ambiente por 72 horas.

Todos los extractos fueron filtrados y conservados a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Es importante destacar que, para los análisis espectrofotométricos (*Folin-Ciocalteu*, DPPH y ORAC-FL), los extractos base se ajustaron mediante diluciones precisas hasta alcanzar una concentración final de 0.25% p/v. Este ajuste fue necesario para asegurar que las lecturas de absorbancia se mantuvieran dentro del rango de sensibilidad de los equipos y evitar saturaciones que pudieran sesgar los resultados.

### **3.2.2 Determinación del contenido total de polifenoles**

#### **3.2.2.1 Método de *Folin-Ciocalteu***

Para este método se utilizó el reactivo comercial de *Folin-Ciocalteu*, una solución de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) al 20 % m/v y Ácido gálico como estándar. En tubos de ensayo se añadieron 100  $\mu\text{L}$  de muestra o estándar diluido, 3,95 mL de agua destilada y 250  $\mu\text{L}$  del reactivo *Folin-Ciocalteu* y se mezcló inmediatamente. Posteriormente se incorporaron 750  $\mu\text{L}$  de la solución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20 % y se dejó reaccionar durante 2 h a temperatura ambiente en oscuridad.

La absorbancia se midió a 760 nm y la concentración de fenoles totales se determinó por interpolación en la curva de calibración elaborada con soluciones de ácido gálico, cuyo rango es de 10 ppm a 400 ppm. Los resultados se expresaron

como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto (mg eq GAE/g), siguiendo el protocolo de Singleton et al. (1999), con modificaciones de la Universidad de Chile proporcionadas por el Laboratorio de Química de la Universidad del Azuay.

### **3.2.3 Determinación de la capacidad antioxidante *in vitro***

#### **3.2.3.1 Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)**

Se prepararon diferentes concentraciones de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) en un rango de 10 ppm a 400 ppm. Para evaluar la actividad antioxidante, los valores de absorbancia obtenidos a 517 nm fueron transformados en porcentaje de inhibición (%I), el cual mide la capacidad de los extractos para neutralizar el radical libre DPPH. Este cálculo se realizó mediante la fórmula:

$$\% I = 100 - [Absorbancia\ muestra / Absorbancia\ blanco] * 100]$$

Para la cuantificación, se empleó la ecuación de la recta de la curva estándar ( $y = mx + b$ ). En esta función, “y” representa la absorbancia o porcentaje de inhibición, “x” la concentración del estándar, “m” la pendiente que indica la sensibilidad del método y “b” el intercepto o señal del blanco. El despeje de “x” permitió determinar la capacidad antioxidante en cada extracto. Este parámetro permite comparar directamente la eficacia de los diferentes métodos de extracción y órganos de la planta en la captura de radicales libres. El análisis de las curvas de calibración y la interpolación de los datos se realizó mediante el software *OriginPro*. Este procedimiento se realizó siguiendo el método de Torres et al. (2002), con modificaciones de la Universidad de Chile proporcionadas por el Laboratorio de Química de la Universidad del Azuay.

#### **3.2.3.2 ORAC-FL (*Oxygen Radical Absorbance Capacity con fluoresceína*)**

La capacidad antioxidante se determinó mediante el método ORAC-FL, utilizando un lector de microplacas con control de temperatura y detección de fluorescencia (excitación 485 nm, emisión 520 nm). Se emplearon soluciones de fluoresceína como sonda, Ácido gálico como estándar antioxidante y un tampón fosfato con AAPH (2,2'- azobis (2amidinopropano) dihidrocloruro) ajustado a pH 7,4 y concentración molar 1 M como generador de radicales peroxilo. Como modificación al protocolo original, se utilizó ácido

gálico como estándar antioxidante en lugar de Trolox, con el fin de uniformizar la expresión de resultados con la determinación de fenoles totales.

En cada pocillo se añadieron 150  $\mu\text{L}$  de la solución de fluoresceína y 25  $\mu\text{L}$  del tampón, del estándar de ácido gálico o de la muestra correspondiente. Posteriormente, las placas se incubaron a 37 °C para equilibrar las condiciones de reacción. La reacción se inició con la incorporación de 25  $\mu\text{L}$  del tampón fosfato con AAPH, registrando lecturas cinéticas de fluorescencia a intervalos regulares hasta la completa degradación del blanco. El área bajo la curva (AUC) de fluorescencia versus tiempo se calculó mediante el software *OriginPro*, obteniéndose el valor neto (muestra menos blanco). A partir de la curva estándar de ácido gálico se interpolaron los valores de las muestras y los resultados se expresaron en micromoles equivalentes de ácido gálico por gramo ( $\mu\text{mol eq GAE/g}$ ) para mantener la homogeneidad con la determinación de fenoles totales, siguiendo la metodología de (Ou et al., 2001) con modificaciones de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile, proporcionadas por el Laboratorio de Química Analítica de la Universidad del Azuay.

### 3.2.4 Análisis estadístico

Los datos crudos obtenidos de los ensayos químicos y las lecturas cinéticas fueron procesados inicialmente en el software *OriginPro* para el cálculo de áreas bajo la curva (AUC) e interpolaciones. Posteriormente, la información fue organizada y depurada en Microsoft Excel para estructurar una base de datos compatible con el software RStudio (versión 4.5.2).

Para el análisis de los datos, se procedió de la siguiente manera:

- **Exploración de datos:** Se realizó una visualización previa mediante el paquete *ggplot2* para identificar tendencias y evaluar la dispersión de los datos generada por la variabilidad natural de las réplicas biológicas.
- **Modelado estadístico:** Se ajustaron Modelos Lineales Generalizados de Efectos Mixtos de la familia Binomial Negativa (GLM-NB) utilizando la función *glmer.nb* del paquete *lme4*. Se seleccionó esta distribución para corregir la sobredispersión presente en los datos de absorbancia e inhibición, garantizando que la varianza no afectara la validez de las pruebas de

significancia. El modelo incluyó las réplicas biológicas como efectos aleatorios, permitiendo así controlar la variabilidad natural del material vegetal recolectado y obtener estimaciones precisas para los efectos fijos de órgano y método de extracción.

- **Comparaciones Múltiples:** Para determinar la existencia de diferencias significativas entre los niveles de los factores (Órgano y Extracción), se aplicó la prueba de *post-hoc* de *Tukey* mediante la función *emmeans*. A diferencia de las comparaciones simples contra un intercepto, este método permitió realizar comparaciones por pares entre todos los elementos, facilitando la identificación de interacciones complejas.

- **Visualización de efectos:** Los resultados finales y las interacciones del modelo fueron visualizados mediante la función *allEffects* del paquete ‘*effects*’, permitiendo una interpretación clara de la magnitud de cada variable sobre la capacidad antioxidante y el contenido fenólico.

### 3.3 Histoquímica

#### 3.3.1 Preparación de las muestras

Para las reacciones histoquímicas se seleccionaron órganos vegetales frescos, los cuales se conservaron a 4 °C hasta su procesamiento. De cada órgano se realizaron cortes transversales a mano alzada utilizando una hoja de afeitar, obteniéndose entre 5 y 10 secciones por muestra para cada una de las pruebas histoquímicas, con el fin de corroborar los resultados y reducir la posibilidad de falsos positivos.

Los cortes control se montaron en gelatina glicerinada, para su comparación con aquellos sometidos a las reacciones histoquímicas.

En *Bidens andicola* y *Valeriana tomentosa* se evaluaron los siguientes órganos: 1) flor: pétalos, estructuras reproductivas y brácteas, 2) hoja: pecíolo, raquis (específicamente para *B. andicola*) y lámina; y 3) tallo.

### 3.3.2 Detección de compuestos fenólicos

- **Prueba 1: Taninos – Cloruro férrico 10% + Carbonato de sodio**

Los cortes de tejido fresco se colocaron en una solución de cloruro férrico al 10 %, a la que posteriormente se añadió carbonato de sodio al 2 %. Tras 5 min de reacción, los cortes se lavaron con agua destilada. Los taninos reaccionan con los iones férricos formando complejos que producen una coloración azul-verdosa en las células donde están presentes. La aparición de tonalidades marrón rojizas puede indicar la formación de flobafenos. (Johansen, 1940).

- **Prueba 2: Fenoles totales – Cloruro férrico 2%**

Los cortes se trataron con una solución de cloruro férrico al 2 % en etanol durante 30 min y posteriormente se lavaron con etanol. Los iones  $Fe^{3+}$  reaccionan con grupos hidroxilo fenólicos formando complejos de color marrón oscuro. (Johansen, 1940).

- **Prueba 3: Fenoles totales - Fijación con formalina 10% y sulfato ferroso**

Los órganos se sumergieron en formalina al 10 % con sulfato ferroso durante 48 h. Posteriormente se realizaron los cortes. Este tratamiento permite precipitar compuestos fenólicos, observables como coloraciones marrón oscuro a negras (Marilia De & Demarco, 2008).

- **Prueba 4: Flavonoides – Cloruro de aluminio 1 %**

Los cortes se trataron con una solución de cloruro de aluminio ( $AlCl_3$ ) al 1 % y se observaron bajo luz ultravioleta. El  $Al^{3+}$  forma complejos con los grupos hidroxilo y carbonilo de los flavonoides, generando fluorescencia característica en los tejidos donde están presentes (Konarska et al., 2025).

### 3.3.3 Evaluación microscópica

#### 3.3.3.1 Microscopía óptica (campo claro)

Las muestras tratadas con reactivos histoquímicos fueron observadas en el microscopio óptico ZEISS *Primostar 3*, equipado con cámara digital integrada. Las reacciones positivas se evidenciaron mediante cambios de coloración en los tejidos, de acuerdo con el reactivo empleado.

### 3.3.3.2 Microscopía bajo luz ultravioleta (UV)

Para la visualización de las muestras, se utilizó un microscopio de epifluorescencia *Nikon Eclipse* con cámara integrada. Las señales se capturaron utilizando filtros estándar para excitación ultravioleta  $\lambda 340$  nm. Bajo estas condiciones, los flavonoides presentaron fluorescencia amarillo-verdosa, mientras que las antocianinas mostraron fluorescencia en tonos fucsia a naranja. También se registró autofluorescencia en ciertos tejidos.

### 3.3.4 Evaluación de la intensidad de reacción

La intensidad de las reacciones histoquímicas se evaluó de forma cualitativa mediante observación en microscopio óptico. La presencia de compuestos fenólicos se registró según la intensidad de la coloración observada en las células o tejidos, utilizando la siguiente escala:

- **Tinción intensa (++)**: Caracterizada por una coloración oscura y altamente saturada, indicando una alta densidad de compuestos acumulados que pueden llegar a opacar las estructuras celulares internas.
- **Tinción leve (+)**: Observada como una coloración clara o moderada con baja saturación, donde el tono es perceptible, pero permite distinguir claramente la morfología celular de fondo.
- **Ausencia de tinción (-)**: Sin cambio aparente en la coloración original de los tejidos o presencia de una reacción cromática nula tras la aplicación del reactivo.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 *Valeriana tomentosa*

#### 4.1.1 Análisis Fitoquímico de *V. tomentosa*

##### 4.1.1.1 Determinación de fenoles totales (*Folin-Ciocalteu*) en *V. tomentosa*

El contenido de fenoles totales en *V. tomentosa* varió según el órgano y el método de extracción (Figura 1). En la flor, la infusión presentó la mayor concentración, con valores que alcanzan los 60 mg eq GAE/g, mostrando una ligera superioridad frente a la decocción (46,47 mg eq GAE/g). En la hoja, ambos métodos de extracción presentaron rendimientos similares, estabilizándose en ~37 mg eq GAE/g. Por el contrario, en el tallo, la decocción fue superior a la infusión, aunque ambos mostraron valores significativamente menores a los de los órganos aéreos, con el tallo oscilando entre los ~20 y ~35 mg eq GAE/g según el método térmico. En todos los órganos, el macerado resultó con valores cercanos a cero, confirmándose como el método menos eficiente para la recuperación de estos compuestos. Se aprecia que la extracción de los compuestos bioactivos en esta especie es dependiente de la temperatura.



Figura 1. Evaluación de fenoles totales (*Folin-Ciocalteu*) por órgano vegetal y técnica de extracción en *V. tomentosa*

Fuente: Elaboración propia (2026)

#### 4.1.1.2 Capacidad antioxidante mediante el radical DPPH en *V. tomentosa*

La actividad antioxidante en *V. tomentosa* mostró una dependencia directa del órgano y el método extractivo (Figura 2). La flor destacó como el órgano de mayor potencial de inhibición, especialmente mediante decocción (65%) e infusión (51%), superando significativamente a los demás tejidos.

En las hojas, se observó una capacidad moderada de inhibición con valores similares entre ambos métodos térmicos (62% para decocción y 54% para infusión). Por el contrario, el tallo presentó la menor captación del radical, con resultados que no superan el 50% de inhibición del radical DPPH. El macerado resultó ineficaz en todos los casos, reportando una actividad nula o mínima.

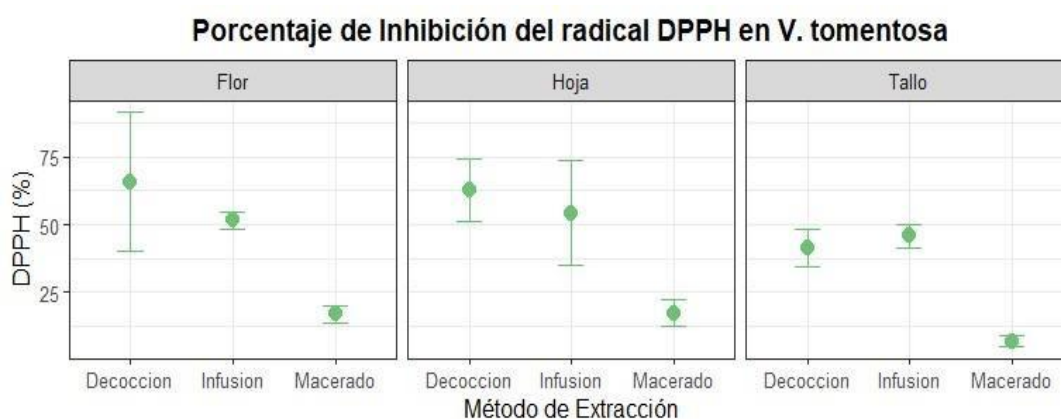


Figura 2. Evaluación de la capacidad antioxidante (ensayo DPPH) por órgano vegetal y técnica de extracción en *V. tomentosa*

Fuente: Elaboración propia (2026)

#### 4.1.1.3 Capacidad de absorción de radicales peroxilo (ORAC-FL) en *V. tomentosa*

Los resultados del ensayo ORAC-FL confirmaron la alta eficiencia antioxidante de *V. tomentosa*, siguiendo un patrón consistente con los métodos anteriores (Figura 3). La flor presentó la mayor capacidad de protección frente a la degradación de la fluoresceína, destacando nuevamente la infusión (6  $\mu\text{mol eq GAE/g}$ ) y la decocción (3,88  $\mu\text{mol eq GAE/g}$ ) como los tratamientos más efectivos.

En las hojas, se registró una actividad significativa, aunque menor a la de las estructuras reproductivas, con valores de ( $\sim 3,7 \mu\text{mol eq GAE/g}$ ) para la extracción térmica. El tallo, por su parte, mostró la capacidad de absorción más baja entre los órganos analizados ( $2,2 \mu\text{mol eq GAE/g}$  por decocción). Al igual que en Folin y DPPH, el macerado no logró una recuperación importante de antioxidantes, situándose en niveles mínimos. A diferencia del DPPH, estos valores reflejan la capacidad total de reserva antioxidante de la planta frente a una degradación constante

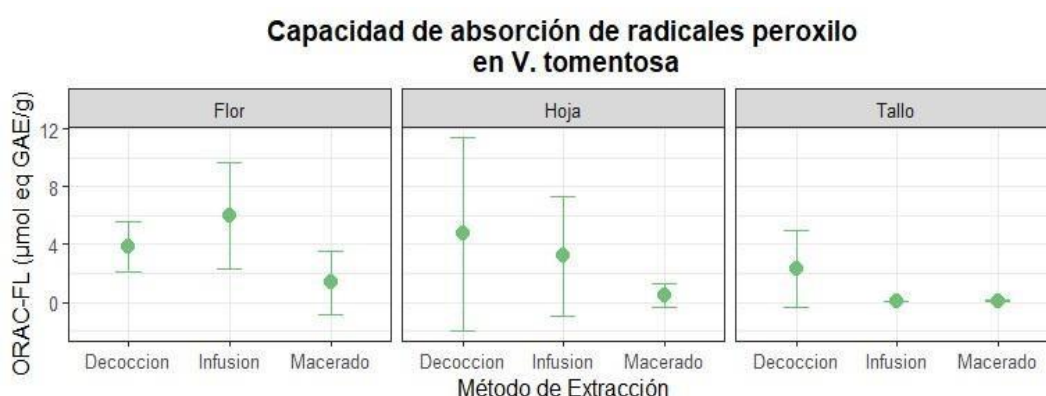


Figura 3. Evaluación comparativa de la actividad antioxidante cinética (ensayo ORACFL) por órgano vegetal y técnica de extracción en *V. tomentosa*

Fuente: Elaboración

propia (2026)

#### 4.1.1.4 Comparaciones múltiples en *V. tomentosa*

Los modelos de comparación múltiple confirman una correspondencia estrecha entre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante en *V. tomentosa* (Figura 4). En las tres metodologías evaluadas (*Folin-Ciocalteu*, DPPH y ORAC-FL), los órganos aéreos (flor y hoja) no presentaron diferencias significativas entre sí ( $p > 0.05$ ), consolidándose como las principales fuentes de compuestos fenólicos bioactivos y potencial antioxidante en comparación con el tallo, el cual mostró valores significativamente inferiores en todos los casos ( $p < 0.01$ ) (Tabla 1).

En cuanto a la eficiencia de extracción, la infusión y la decocción presentan un comportamiento estadísticamente equivalente en la recuperación de antioxidantes para flores y hojas. Ambos métodos logran la mayor liberación de compuestos

fenólicos, lo que se traduce directamente en una actividad antioxidante superior en estos órganos. Por el contrario, el macerado resultó ser el método menos eficiente, con diferencias marcadas frente a los métodos térmicos ( $p < 0.0001$ ) (Figura 4 y Tabla 1). Estos resultados sugieren que los compuestos de *V. tomentosa* son termoestables y se ven favorecidos por la extracción con agua a altas temperaturas, optimizando tanto la concentración de polifenoles como la inhibición de radicales libres.

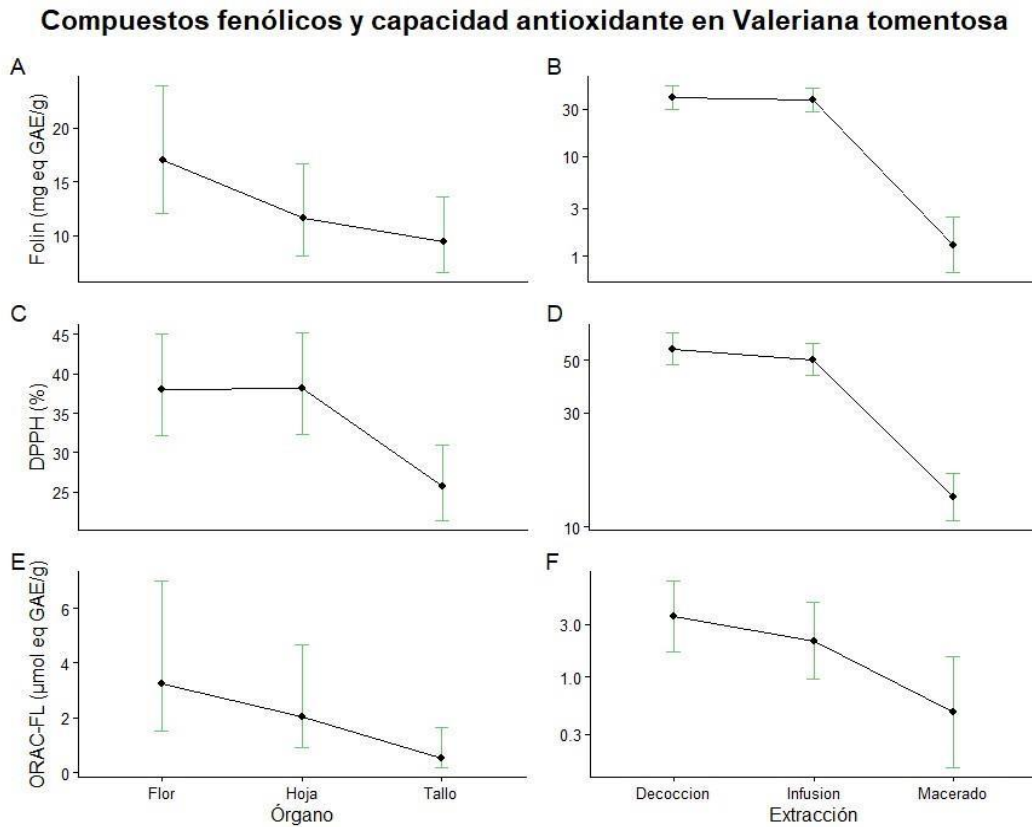


Figura 4. Perfil de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en *V. tomentosa* por órgano y método de extracción. (A, B) Fenoles totales; (C, D) DPPH; (E, F) ORAC- FL. Los puntos representan las medias ajustadas y las barras verdes el error estándar (SE)

Fuente: Elaboración propia (2026)

Tabla 1. Comparaciones post-hoc de medias (Tukey) para el análisis fitoquímico según el órgano y el método de extracción en *V. tomentosa*

Factor	Comparación	Diferencia (Estimate)	Desviación estándar (SE)	p.value
<b>Compuestos fenólicos totales (Folin-Ciocalteu)</b>				
Órgano	Flor - Hoja	0.377	0.181	0.0930
	Flor - Tallo	0.588	0.184	0.0040
	Hoja - Tallo	0.211	0.188	0.5032
Extracción	Decocción - Infusión	0.063	0.155	0.913
	Decocción - Macerado	3.404	0.323	0.0001
	Infusión - Macerado	3.341	0.323	0.0001
<b>Porcentaje de inhibición del radical DPPH</b>				
Órgano	Flor - Hoja	-0.0025	0.112	0.9997
	Flor - Tallo	0.3919	0.117	0.0024
	Hoja - Tallo	0.3944	0.117	0.0022
Extracción	Decocción - Infusión	0.0998	0.104	0.6051
	Decocción - Macerado	1.4258	0.130	0.0001
	Infusión - Macerado	1.3260	0.131	0.0001
<b>Capacidad de absorción de radicales peroxilo (ORAC-FL)</b>				
Órgano	Flor - Hoja	0.465	0.533	0.6575
	Flor - Tallo	1.791	0.640	0.0141
	Hoja - Tallo	1.326	0.653	0.1046
Extracción	Decocción - Infusión	0.507	0.526	0.6000
	Decocción - Macerado	2.010	0.659	0.0064
	Infusión - Macerado	1.503	0.672	0.0652

Fuente: Elaboración propia (2026)

#### 4.1.2 Análisis Histoquímico de polifenoles en *V. tomentosa*

Las micrografías presentadas a continuación (Figuras 5–10) evidencian la distribución de compuestos fenólicos en los distintos órganos de *Valeriana tomentosa*. En la flor de *V. tomentosa*, se observó una alta densidad de compuestos fenólicos en los tricomas glandulares de la epidermis de pétalos y brácteas, evidenciada por una coloración negra intensa. A nivel reproductivo se detectaron taninos en las papilas estigmáticas (Figura 5), mientras que los flavonoides se

localizaron específicamente en los tricomas unicelulares de la superficie de los pétalos y brácteas (Figura 6.)

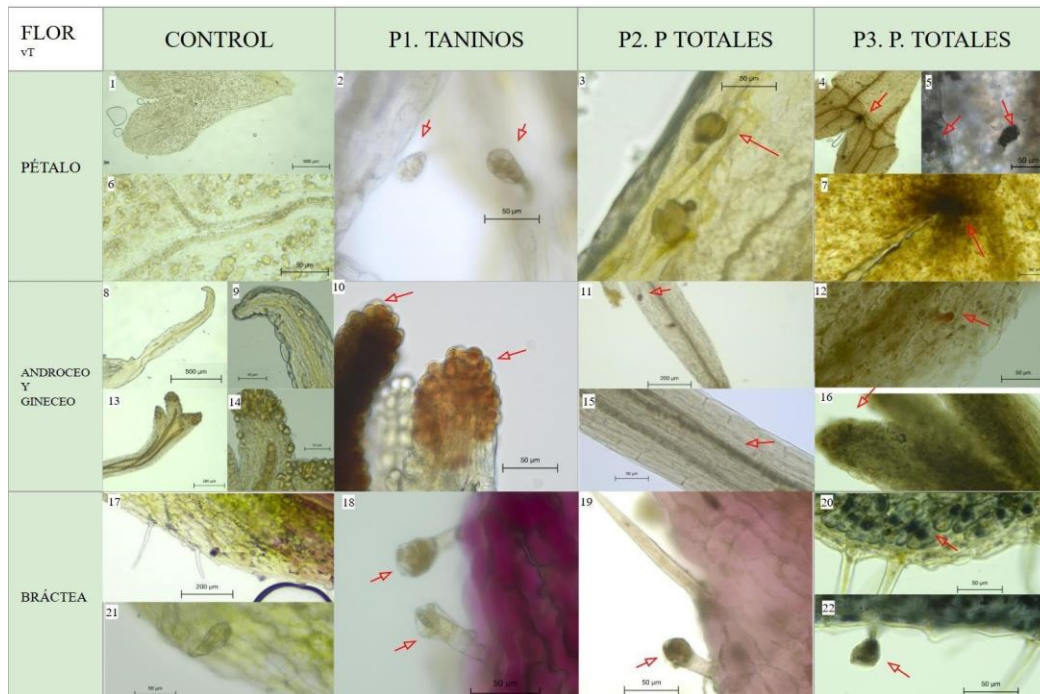
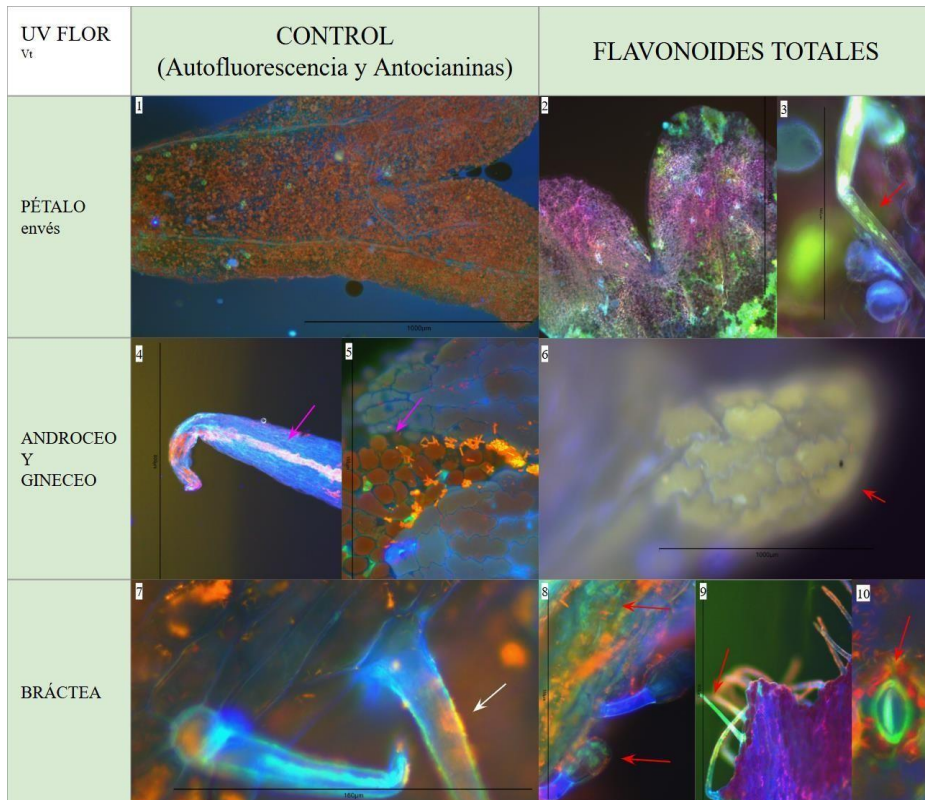


Figura 5. Reacción histoquímica en tejidos florales de *V. tomentosa*. Las flechas rojas indican reacción positiva a polifenoles. Se evidencian: Pétalo: (1) vista general; (2, 3, 5) tricoma glandular; (4, 7) base del pétalo; (6) células del envés y traqueidas. Androceo y gineceo: (8, 9, 11, 12) androceo (estambres y anteras); (10, 13, 14, 16) gineceo; (6) pistilo; (15) tubos polínicos del gineceo. Bráctea: (17) vista general con tricomas; (18, 19, 22) tricoma glandular; (20, 21) tricomas uniseriados y epidermis

Fuente: Elaboración propia (2026)



*Figura 6.* Reacción histoquímica bajo luz ultravioleta en tejidos florales de *V. tomentosa*. Las flechas blancas indican autofluorescencia positiva; las flechas fucsias indican presencia de antocianinas; y las flechas rojas presencia de flavonoides totales. Se evidencian: Pétalo: (1) vista general, epidermis pigmentada y tricomas glandulares con autofluorescencia; (2) vista general del pétalo; (3) tricoma uniseriado Androceo y gineceo; (4) androceo (tubos polínicos y anteras); (5, 6) estigma. Bráctea: (7) control en epidermis y tricomas; (8) tricomas glandulares; (9) tricomas uniseriados; (10) estomas

*Fuente:* Elaboración propia (2026)

En la hoja los compuestos fenólicos se localizaron principalmente en tricomas glandulares y multiseriados tanto del pecíolo como de la lámina, evidenciados por una coloración intensa negra intensa (Figura 7). Además, de una reacción positiva en el floema del sistema vascular (Figura 7). Se observaron flavonoides y antocianinas en tricomas glandulares, así como autofluorescencia en idioblastos del parénquima y en el floema del pecíolo y lámina (Figura 8).

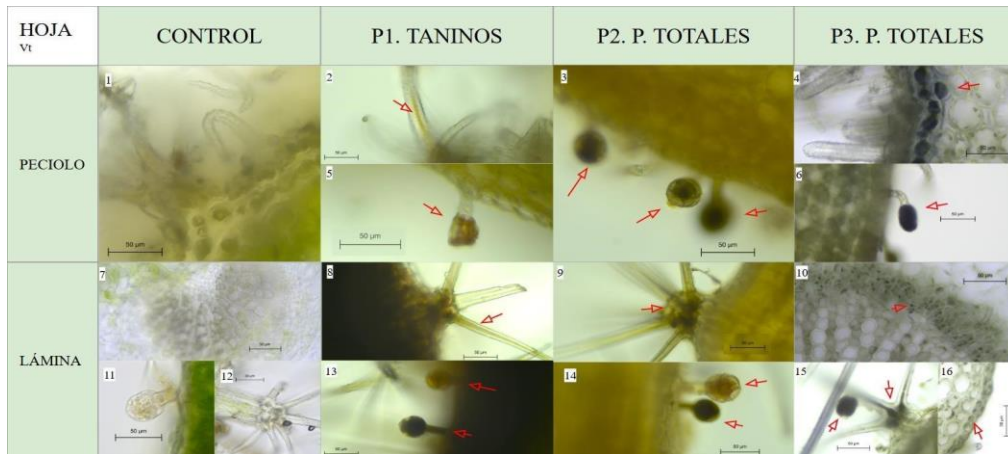


Figura 7. Reacción histoquímica en tejidos foliares de *V. tomentosa*. Las flechas rojas indican reacción positiva a polifenoles. Se evidencian: Pecíolo: (1) epidermis y tricomas multiseriados; (2) tricoma multiseriado; (3, 5, 6) tricomas glandulares; (4) epidermis en la cara abaxial. Lámina: (7) sistema vascular (vista general); (8, 9, 12) tricomas multiseriados; (11, 13, 14) tricomas glandulares; (15) tricomas uniseriados y glandulares; (10) floema del sistema vascular

Fuente: Elaboración propia (2026)

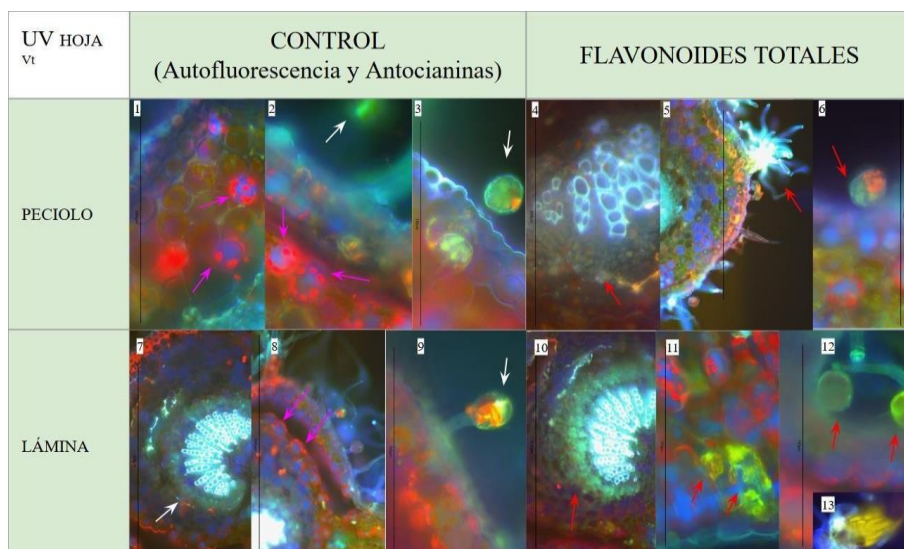


Figura 8. Reacción histoquímica bajo luz ultravioleta en tejidos foliares de *V. tomentosa*. Las flechas blancas indican autofluorescencia positiva; las flechas fucsias indican reacción positiva a antocianinas; y las flechas rojas a flavonoides totales. Se evidencia: Pecíolo: (1) idioblastos en el parénquima cortical; (2) idioblastos y tricoma uniseriado con autofluorescencia; (3) tricoma glandular con autofluorescencia; (4) floema del sistema vascular; (5) tricoma multiseriado; (6) tricoma glandular con doble reacción. Lámina: (7) floema del sistema vascular con autofluorescencia; (8) idioblastos en el parénquima; (9) tricoma glandular con doble reacción; (10) floema del sistema vascular; (11) células del mesófilo en empalizada; (12) tricoma glandular uniseriado; (13) tricoma multiseriado

Fuente: Elaboración propia (2026)

En el tallo, los compuestos fenólicos se localizaron en la epidermis y tricomas, glandulares, uniseriados y multiseriados, evidenciados por una coloración negra intensa (Figura 9), además, se detectaron flavonoides y antocianinas en las mismas estructuras, evidenciadas por fluorescencia (Figura 10).

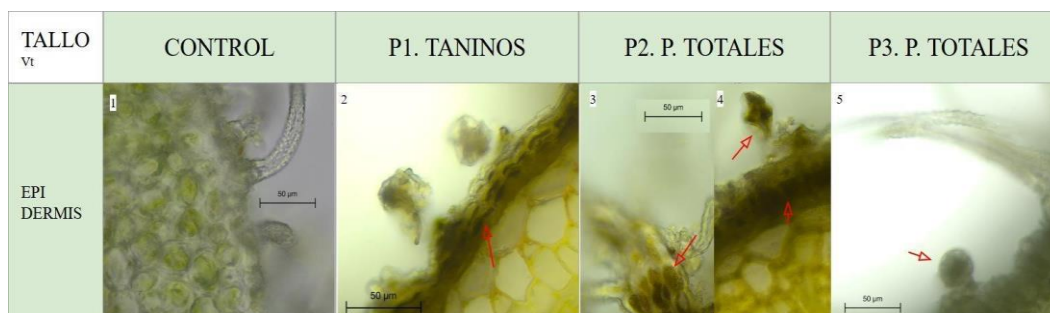


Figura 9. Reacción histoquímica en el tallo de *V. tomentosa*. Las flechas rojas indican reacción positiva a polifenoles. (1) epidermis con tricoma uniseriado; (2, 4, 5) epidermis con tricomas glandulares; (3) tricoma multiseriado

Fuente: Elaboración propia (2026)

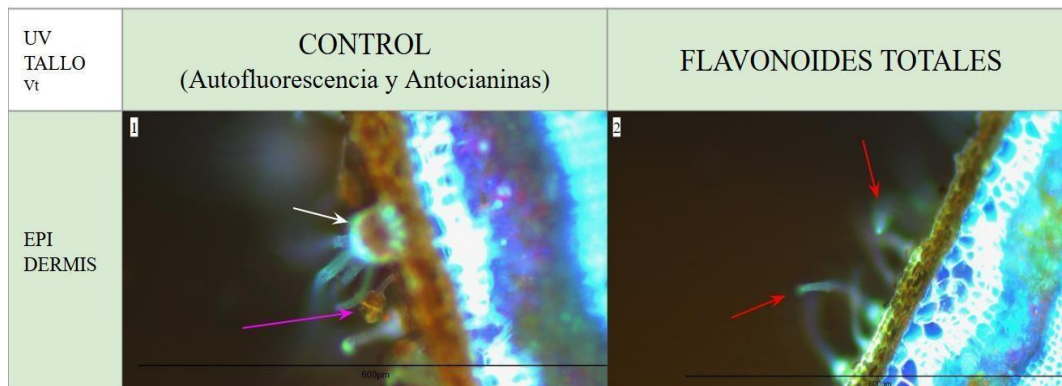


Figura 10. Reacción histoquímica bajo luz ultravioleta en el tallo de *V. tomentosa*. Las flechas blancas indican autofluorescencia positiva; las flechas fucsias indican reacción positiva a antocianinas; y las flechas rojas a flavonoides totales. Se evidencian: (1) tricomas glandulares; (2) tricomas uniseriados y multiseriados

Fuente: Elaboración propia (2026)

La Tabla 2 sintetiza los resultados de las pruebas histoquímicas en *Valeriana tomentosa*, integrando la información obtenida en campo claro y bajo luz UV para los distintos órganos y tejidos. Esta tabla resume la distribución e intensidad de los compuestos fenólicos previamente evidenciados en las micrografías, permitiendo una visualización comparativa global de los metabolitos analizados.

Tabla 2. Distribución de compuestos fenólicos en órganos y tejidos de *V. tomentosa*, determinada mediante análisis histoquímico en campo claro y luz ultravioleta (UV).

Sección	Tejido	P. totales	Taninos	Antocianinas	Flavonoides
Flor					
Pétalo	Epidermis	++	-	++	+
	Tricomas uniseriados	+	-	-	++
	Tricomas glandulares	+	+	-	++
Estructuras reproductivas	Gineceo	++	++	-	++
	Androceo	+	+	+	-
Bráctea	Epidermis	+	-	-	+
	Tricomas uniseriados	+	+	-	++
	Tricomas glandulares	++	+	-	+
Hoja					
Pecíolo	Epidermis	++	-	+	-
	Tricomas uniseriados	-	+	-	++
	Tricomas glandulares	++	+	+	+
	Tricomas multiseriados	-	+	-	+
	Sistema vascular (floema)	+	-	-	+
	Mesófilo	-	-	++	-
Lámina	Epidermis	+	-	++	-
	Tricomas glandulares	++	++	+	+
	Tricomas multiseriados	++	++	-	++
	Sistema vascular (floema)	++	-	-	++
	Mesófilo	-	+	++	++
Tallo					
	Epidermis	+	+	+	-

Tricomas uniseriados	-	-	-	++
Tricomas glandulares	+	+	++	-
Tricomas multiseriados	-	-	-	+

Intensidad de reacción: (++) fuerte, (+) leve, (-) ausente

Fuente: Elaboración propia (2026)

## 4.2 *Bidens andicola*

### 4.2.1 Análisis Fitoquímico de *B. andicola*

#### 4.2.1.1 Determinación de fenoles totales (*Folin-Ciocalteu*) en *B. andicola*

El contenido de fenoles totales en *B. andicola* mostró variaciones significativas dependiendo de la estructura vegetal y el método extractivo empleado (Figura 11). En la flor, la decocción presentó la mayor concentración de compuestos fenólicos (60 mg eq GAE/g), mostrando una tendencia ligeramente superior frente a la infusión (33,8 mg eq GAE/g), mientras que en la hoja ambos métodos térmicos alcanzaron rendimientos comparables (37 - 51 mg eq GAE/g). Por el contrario, el tallo registró de manera consistente los valores más bajos en todas las pruebas, confirmando como el órgano con menor acumulación de estos metabolitos.

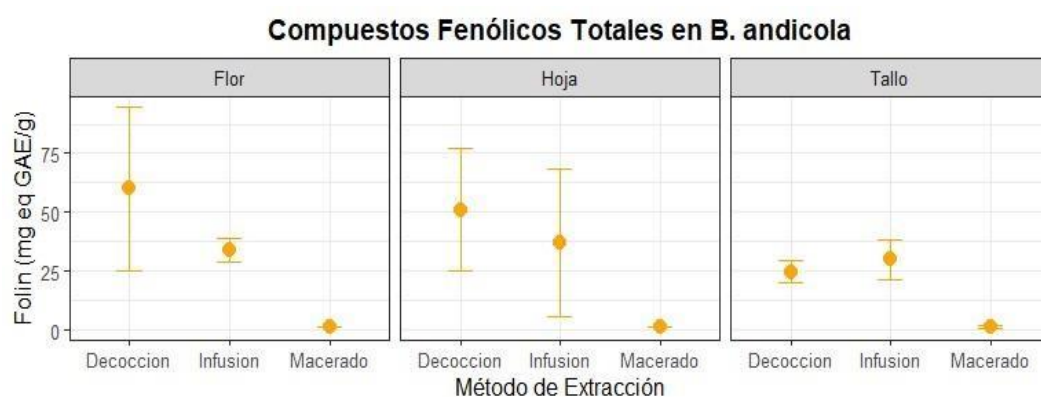


Figura 11. Evaluación de fenoles totales (Folin-Ciocalteu) por órgano vegetal y técnica de extracción en *B. andicola*

Fuente: Elaboración propia (2026)

#### 4.2.1.2 Capacidad antioxidante mediante el radical DPPH en *B. andicola*

La capacidad antioxidante de *B. andicola* evaluada mediante el porcentaje de inhibición del radical DPPH mostró una estrecha relación con el órgano vegetal y el método de extracción (Figura 12). En la flor, la infusión alcanzó los porcentajes de inhibición más elevados con (70%), superando a la decocción (45%). En el caso de la hoja, ambos métodos térmicos presentaron una eficacia notable, con valores que se estabilizaron en torno al (~35%). Por el contrario, el tallo exhibió la menor capacidad de captación de radicales, donde la decocción (31%) fue superior a la infusión (19%), pero ambos se mantuvieron significativamente por debajo de los órganos aéreos. Finalmente, el macerado en todos los órganos reportó porcentajes de inhibición mínimos o cercanos a cero, confirmando que la activación de los compuestos antioxidantes en esta especie depende de la aplicación de calor durante la extracción.

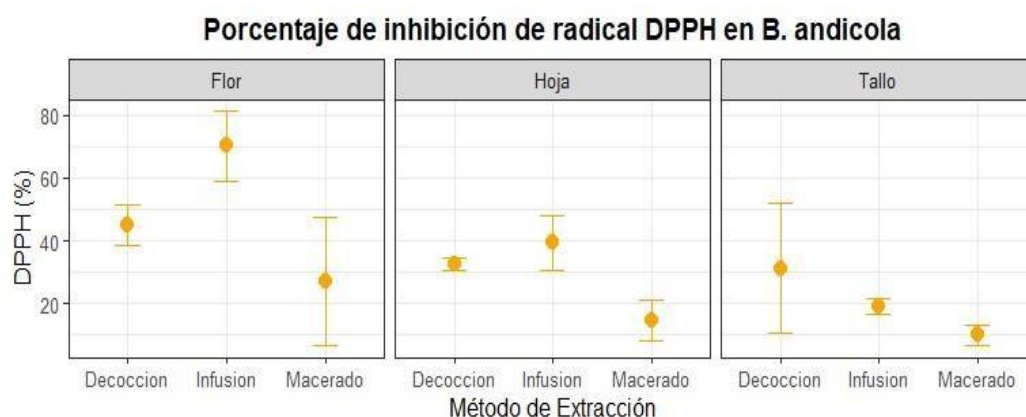


Figura 12. Evaluación de la capacidad antioxidante (ensayo DPPH) por órgano vegetal y técnica de extracción en *B. andicola*

Fuente: Elaboración propia (2026)

#### 4.2.1.3 Capacidad de absorción de radicales peroxilo (ORAC-FL) en *B. andicola*

La capacidad antioxidante de *B. andicola* evaluada mediante el ensayo ORAC-FL mostró una tendencia marcada según el tipo de tejido y el método de extracción (Figura 13). En la flor, la decocción alcanzó los niveles más altos de

absorción de radicales peroxilo con (8,6  $\mu\text{mol eq GAE/g}$ ), superando a la infusión que registró (7  $\mu\text{mol eq GAE/g}$ ). Por su parte, en la hoja se observó un comportamiento eficiente en ambos métodos térmicos, con valores que se situaron en torno a los ( $\sim 10$   $\mu\text{mol eq GAE/g}$ ). En el tallo, la capacidad de absorción fue considerablemente menor en comparación con los órganos aéreos, donde la decocción (7,7  $\mu\text{mol eq GAE/g}$ ) mantuvo una ligera ventaja sobre la infusión (6,6  $\mu\text{mol eq GAE/g}$ ). Finalmente, el macerado presentó el rendimiento más bajo en todos los órganos evaluados, reafirmando que la liberación de los compuestos con mayor capacidad protectora frente a radicales libres en esta especie se ve favorecida por procesos de extracción a altas temperaturas.

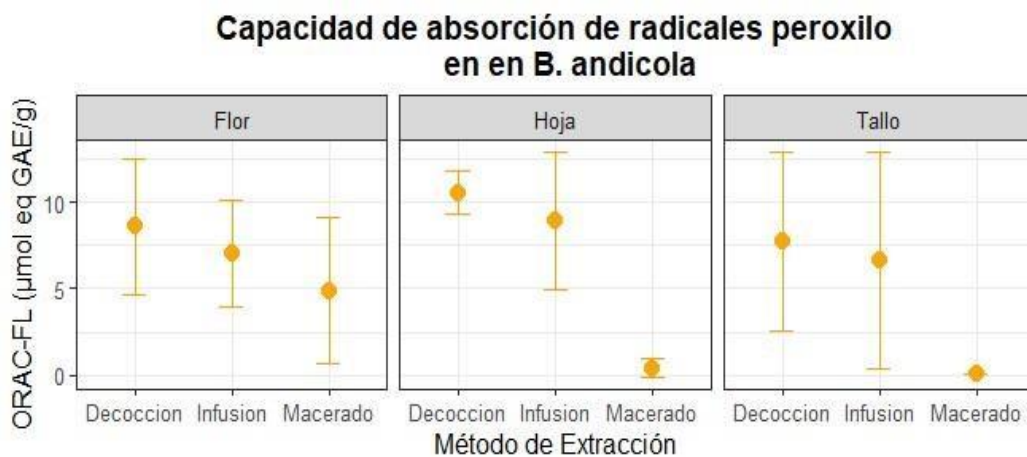


Figura 13. Evaluación comparativa de la actividad antioxidante cinética (ensayo ORAC-FL) por órgano vegetal y técnica de extracción en *B. andicola*

Fuente: Elaboración propia (2026)

#### 4.2.1.4 Comparaciones múltiples en *B. andicola*

Los modelos de comparación múltiple confirman una correspondencia estrecha entre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante en *B. andicola* (Figura 14). En las tres metodologías evaluadas (Folin, DPPH y ORAC-FL), los órganos aéreos superiores (flor y hoja) no presentaron diferencias significativas entre sí ( $p > 0.05$ ), consolidándose como las fuentes principales de metabolitos secundarios en comparación con el tallo, el cual mostró valores significativamente inferiores en todos los casos ( $p < 0.0001$ ) (Tabla 4). Específicamente, en la prueba

de DPPH, la flor exhibió una tendencia de inhibición ligeramente más alta, aunque estadísticamente comparable a la de la hoja.

En cuanto a la eficiencia de extracción, se observa que la infusión y la decocción presentan un comportamiento estadísticamente equivalente en la recuperación de compuestos bioactivos para todos los órganos evaluados ( $p = 0.4240$ ). Ambos métodos térmicos logran la mayor liberación de polifenoles, lo que se traduce directamente en una capacidad de absorción de radicales libres superior. Por el contrario, el macerado resultó ser el método menos eficiente con diferencias críticas frente a los procesos que involucran calor ( $p < 0.0001$ ) (Figura 14 y Tabla 3). Estos resultados sugieren que los analitos de *B. andicola* son termoestables y que el uso de agua a altas temperaturas optimiza la extracción, mientras que el reposo en frío con solvente hidroalcohólico limita drásticamente la recuperación de su potencial antioxidante

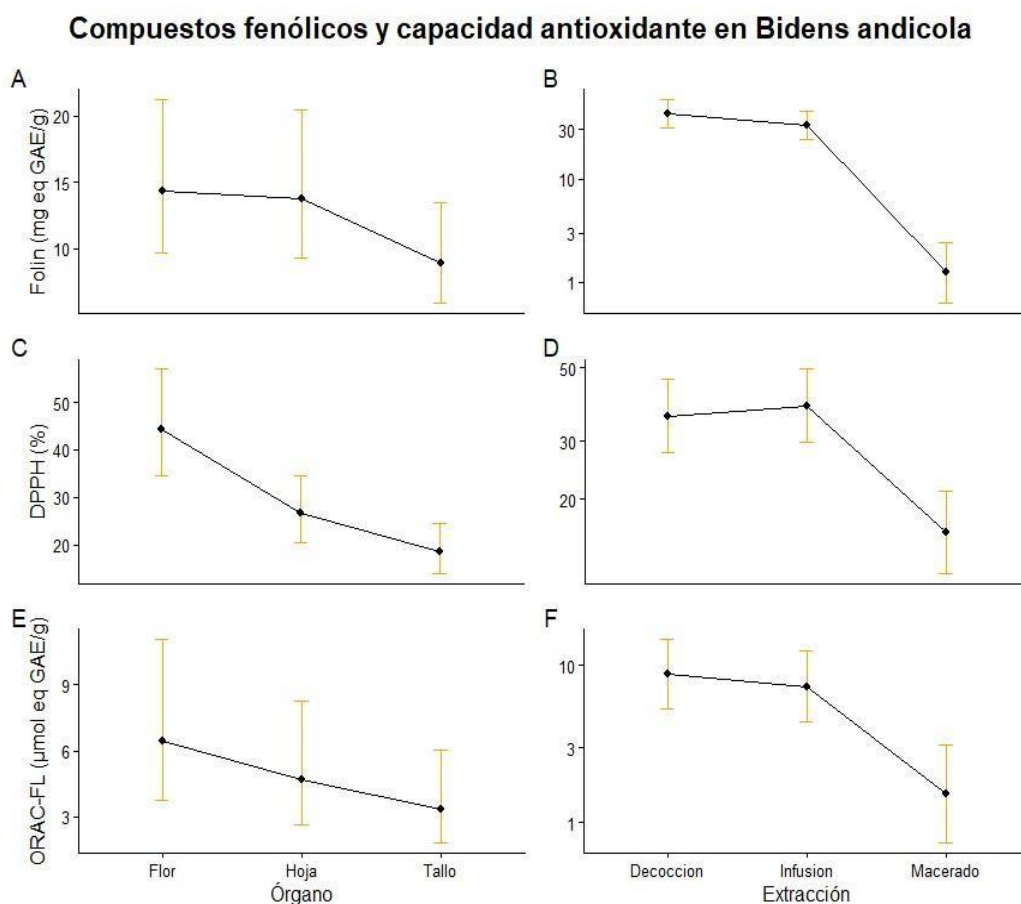


Figura 14. Perfil de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en *B. andicola* por órgano y método de extracción. (A, B) Fenoles totales; (C, D) DPPH; (E, F) ORAC-FL. Los puntos representan las medias ajustadas y las barras verdes el error estándar (SE)

Fuente: Elaboración propia (2026)

Tabla 3. Comparaciones post-hoc de medias (Tukey) para el análisis fitoquímico según el órgano y el método de extracción en *B. andicola*

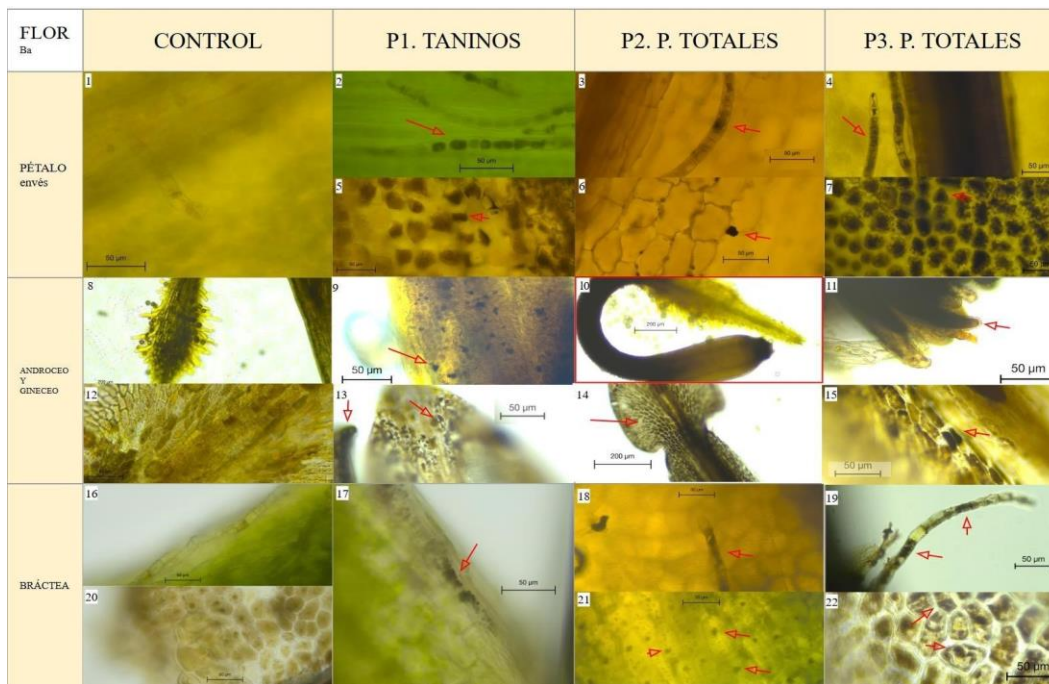
Factor	Comparación	Diferencia (Estimate)	Desviación estándar (SE)	p.value
Compuestos fenólicos totales ( <i>Folin-Ciocalteu</i> )				
Órgano	Flor - Hoja	0.038	0.232	0.4240
	Flor - Tallo	0.477	0.237	<0.0001
	Hoja - Tallo	0.439	0.238	<0.0001
Extracción	Decocción - Infusión	0.251	0.251	0.4240
	Decocción - Macerado	3.550	0.355	<0.0001
	Infusión - Macerado	3.299	0.356	<0.0001
Porcentaje de inhibición del radical DPPH				
Órgano	Flor - Hoja	0.512	0.158	0.0033
	Flor - Tallo	0.874	0.163	<0.0001
	Hoja - Tallo	0.361	0.168	0.0807
Extracción	Decocción - Infusión	-0.0726	0.155	0.8868
	Decocción - Macerado	0.8103	0.168	<0.0001
	Infusión - Macerado	0.8829	0.167	<0.0001
Capacidad de absorción de radicales peroxilo (ORAC-FL)				
Órgano	Flor - Hoja	0.323	0.337	0.6036
	Flor - Tallo	0.669	0.350	0.1349
	Hoja - Tallo	0.346	0.358	0.5976
Extracción	Decocción - Infusión	0.19	0.314	0.8173
	Decocción - Macerado	1.76	0.394	<0.0001
	Infusión - Macerado	1.57	0.397	0.0002

Fuente: Elaboración propia (2026)

#### 4.2.2 Análisis histoquímico de polifenoles en *B. andicola*

Las micrografías (Figuras 15–20) evidencian la distribución de compuestos fenólicos en distintos órganos de *Bidens andicola*.

En la flor, los compuestos fenólicos se localizaron en los tricomas uniseriados y en la epidermis de pétalos y brácteas, mediante una coloración negra intensa (Figura 15). Asimismo, en estructuras reproductivas como el estigma y las anteras, junto con la presencia de cristales en la epidermis de las flores del disco (Figura 15). Se confirmó la presencia de flavonoides y antocianinas en los tricomas uniseriados, la epidermis y las papilas estigmáticas, así como autofluorescencia en tricomas y anteras (Figura 16).



*Figura 15.* Reacción histoquímica en tejidos florales de *B. andicola*. Las flechas rojas indican reacción positiva a polifenoles. Se evidencia: Pétalo: (1–4) tricomas uniseriados en la epidermis; (5, 7) epidermis de flores liguladas; (6) cristal en la epidermis de la flor del disco. Androceo y gineceo: (8–11) gineceo (estigma); (12–15) androceo (anteras). Bráctea: (16–19) tricomas uniseriados; (20–22) epidermis

*Fuente:* Elaboración propia (2026)

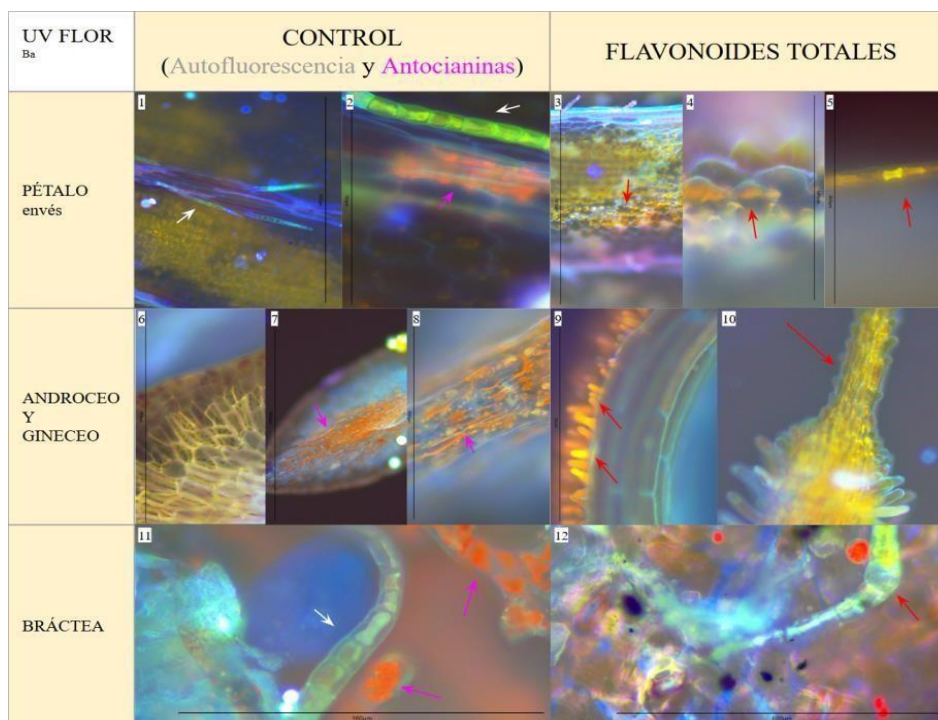
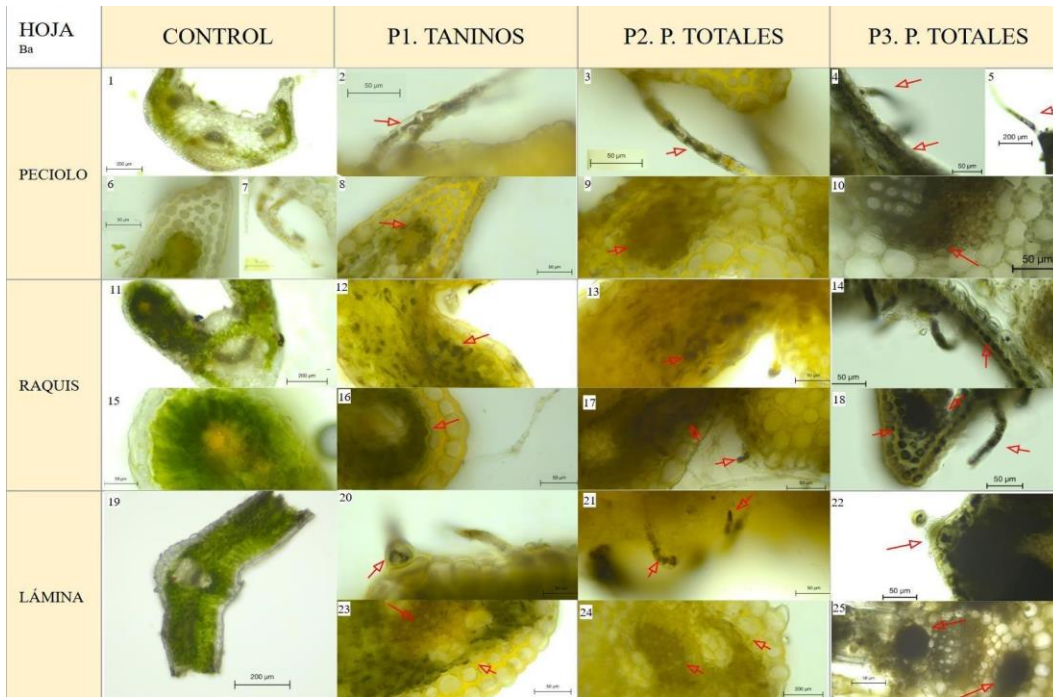


Figura 16. Reacción histoquímica bajo luz ultravioleta en tejidos florales de *B. andicola*. Las flechas blancas indican autofluorescencia positiva; las flechas fucsias indican reacción positiva a antocianinas; y las flechas rojas a flavonoides totales. Se evidencia: Pétalo: (1, 2) tricomas uniseriados con autofluorescencia; (3, 4) epidermis; (5) tricoma uniseriado. Androceo y gineceo: (6–8) epidermis y contenido extracelular de la antera; (9, 10) papilas del estigma. Bráctea: (11) tricomas uniseriados con autofluorescencia; tricoma globular y cristales con reacción a antocianinas; (12) tricoma uniseriado

Fuente: Elaboración propia (2026)

En la hoja, los compuestos fenólicos se localizaron en tricomas uniseriados y en la epidermis del pecíolo, raquis y lámina, así como en idioblastos del parénquima y en el floema, evidenciados por una coloración negra intensa (Figura 17). Se observaron flavonoides y antocianinas en tricomas uniseriados y autofluorescencia en el floema, idioblastos y vacuolas de células del parénquima y colénquima en tejidos foliares (Figura 18).



*Figura 17.* Reacción histoquímica en tejidos foliares de *B. andicola*. Las flechas rojas indican reacción positiva a polifenoles. Pecíolo: (1) vista general; (2, 3, 5, 7) tricomas uniseriados; (4) epidermis y tricoma uniseriado; (5, 11) idioblastos del parénquima cercanos a la epidermis; (6, 8–10) floema asociado al sistema vascular. Raquis: (11) vista general; (12, 13, 17) idioblastos cercanos a la epidermis; (14) epidermis y tricomas uniseriados; (15, 16) floema asociado al sistema vascular; (18) epidermis y subepidermis, sistema vascular (conductos secundarios) y tricoma uniseriado. Lámina: (19) vista general; (20, 21) tricomas uniseriados; (22) epidermis; (23) idioblastos cercanos a la epidermis y floema del sistema vascular; (24) floema del sistema vascular; (25) sistema vascular (conductos secundarios) y floema

*Fuente:* Elaboración propia (2026)

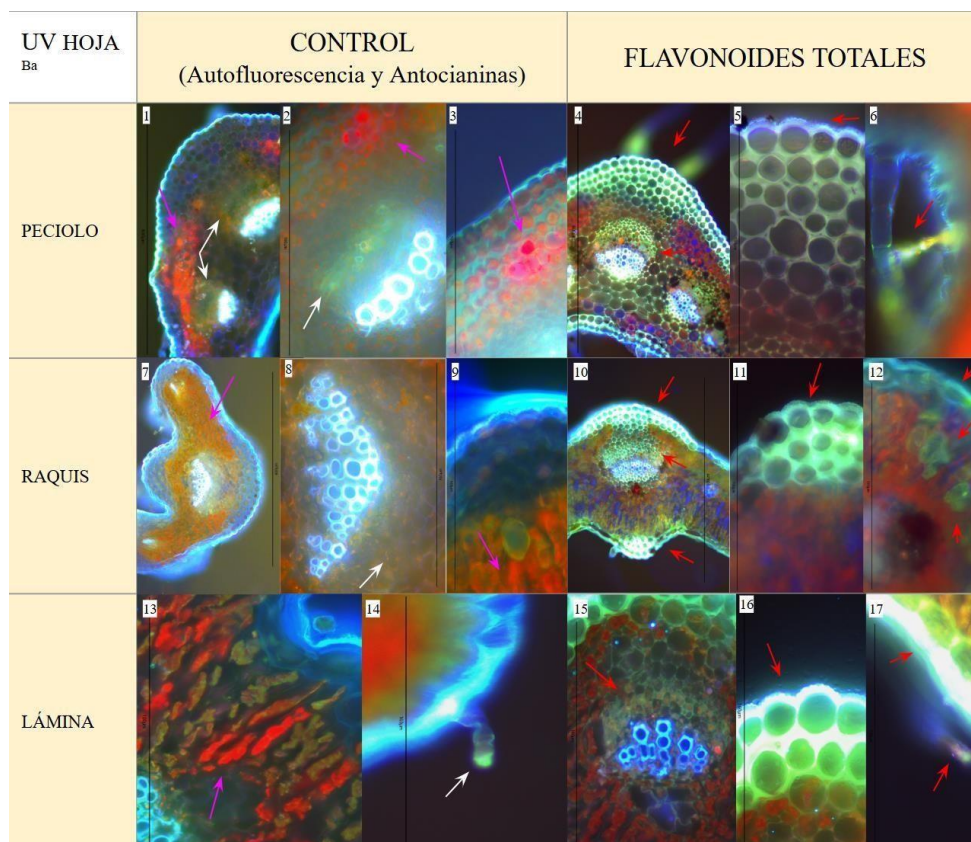


Figura 18. Reacción histoquímica bajo luz ultravioleta en tejidos foliares de *B. andicola*. Las flechas blancas indican autofluorescencia positiva; las flechas fucsias indican reacción positiva a antocianinas; y las flechas rojas a flavonoides totales. Se evidencia: Pecíolo: (1, 2) floema del sistema vascular con autofluorescencia y vacuolas en idioblastos cercanos a la epidermis; (3) cristal y vacuolas en idioblastos del parénquima; (4) vista general (floema, colénquima y epidermis); (5) espacios intercelulares del colénquima; (6) tricoma uniseriado. Raquis: (7) vista general con vacuolas en colénquima; (8) floema del sistema vascular; (9) vacuolas en colénquima; (10) epidermis y floema; (11) epidermis y subepidermis en la vena media, con espacios intercelulares; (12) células del parénquima empalizada Lámina: (13) vacuolas en células del mesófilo; (14) tricoma uniseriado con autofluorescencia; (15) floema del sistema vascular; (16) epidermis y subepidermis; (17) tricoma uniseriado y epidermis

Fuente: Elaboración propia (2026)

En el tallo, los compuestos fenólicos se localizaron en la epidermis, tricomas uniseriados, cristales y floema evidenciados por una coloración negra intensa (Figura 19). Se detectaron antocianinas en vacuolas de células del parénquima por autofluorescencia (Figura 20).

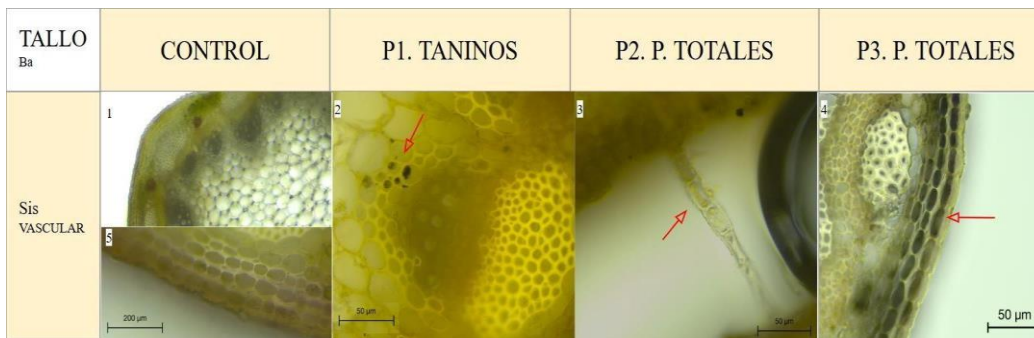


Figura 19. Reacción histoquímica en el tallo de *B. andicola*. Las flechas rojas indican reacción positiva a polifenoles. (1) sistema vascular (vista general); (2) cristales en el floema del sistema vascular; (3) tricoma uniseriado; (4, 5) epidermis

Fuente: Elaboración propia (2026)

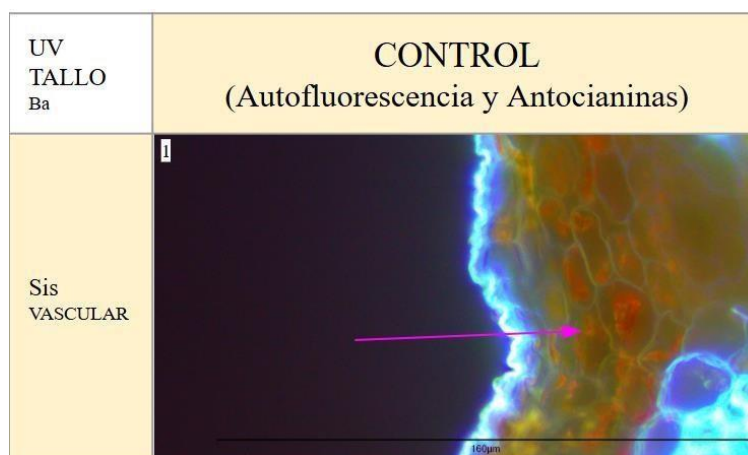


Figura 20. Reacción histoquímica bajo luz ultravioleta en el tallo de *B. andicola*. Las flechas fucsias indican reacción positiva a antocianinas. Se observan las vacuolas en células del parénquima

Fuente: Elaboración propia (2026)

La Tabla 4 sintetiza los resultados de las pruebas histoquímicas en *Bidens andicola*, integrando la información obtenida en campo claro y bajo luz UV para los distintos órganos y tejidos. Esta tabla resume la distribución e intensidad de los compuestos fenólicos previamente evidenciados en las micrografías, permitiendo una visualización comparativa global de los metabolitos analizados.

Tabla 4. Distribución de compuestos fenólicos en órganos y tejidos de *B. andicola*, determinada mediante análisis histoquímico en campo claro y luz ultravioleta (UV)

Sección	Tejido	P. Totales	Taninos	Antocianinas	Flavonoides
Flor					
Pétalo (lígula y flor discal)	Epidermis	++	++	-	++
	Tricomas uniseriados	++	++	-	++
Estructuras reproductivas	Gineceo	++	++	-	++
	Androceo	++	++	+	-
Bráctea	Epidermis	++	+	++	-
	Tricomas uniseriados	++	-	-	++
Hoja					
Pecíolo	Epidermis	++	-	++	++
	Tricomas uniseriados	++	+	-	++
	Sistema vascular (floema)	++	+	-	-
	Mesófilo	-	-	++	++
Raquis	Epidermis	++	-	-	+
	Tricomas uniseriados	++	-	-	-
	Sistema vascular (floema)	++	+	-	+
	Mesófilo	-	-	+	-
Foliolo	Epidermis y subepidermis	-	-	++	++
	Tricomas uniseriados	++	+	-	++
	Sistema vascular (floema)	++	+	-	++
	Mesófilo	-	-	++	-
Tallo					
	Epidermis	++	-	+	-
	Tricomas uniseriados	++	-	-	-
	Sistema vascular	-	+	-	-

Intensidad de reacción: (++) fuerte, (+) leve, (-) ausente

Fuente: Elaboración propia (2026)

## 5. DISCUSIÓN

Los hallazgos experimentales demuestran que *Valeriana tomentosa* y *Bidens andicola* poseen concentraciones de compuestos fenólicos significativamente superiores en sus flores y hojas, en contraste con los tejidos de sostén como el tallo. Esta superioridad metabólica resulta consistente con lo reportado en otras Asteráceas, donde las inflorescencias superan en un 16% el contenido fenólico de las partes vegetativas (Konarska et al., 2025). Específicamente para el género *Bidens*, se confirma que metabolitos como los glucósidos de aurona se concentran selectivamente en las partes superiores y órganos reproductivos para asegurar el éxito biológico frente al daño fotooxidativo (Adeniyi et al., 2025), además de actuar como disuasores químicos (*antifeedants*) que inactivan enzimas digestivas de herbívoros para preservar la integridad tisular (Konarska et al., 2025; Zagorskina et al., 2023).

En la comparativa regional, los valores reportados en esta tesis exhiben una jerarquía superior respecto a otras especies medicinales andinas; mientras que la "pena pena" (*Fuchsia sp.*, familia Onagraceae) y la "arvejilla" (*Vicia cf. andicola*, familia Fabaceae) registran valores que oscilan entre 0.11 y 0.52 mg eq AG/mL, las especies en estudio se posicionan como fuentes robustas de metabolitos secundarios (Padilla & Paucar, 2008). Por consiguiente, esta bioactividad se sustenta en una base fitoquímica prominente: En *V. tomentosa*, los órganos reproductivos presentan una alta capacidad antioxidante en el ensayo DPPH, particularmente en infusión, con valores superiores a los reportados en especies comerciales como *V. officinalis*, cuyos estudios se centran habitualmente en raíces por ser la droga oficial en farmacopeas (Çelik & Kırmızıbekmez, 2025). Por su parte, en *B. andicola*, la flor en infusión alcanza una inhibición cercana al 70%, nivel de jerarquía equivalente a la referencia comercial *B. pilosa* (76% a 83%).

La validación microscópica confirma que, en plantas de altura, los compuestos se distribuyen estratégicamente en la epidermis para disipar la radiación UV. Se identificaron estructuras biosintéticas especializadas: en *V. tomentosa* destaca la presencia de tricomas glandulares y multiseriados, mientras que en *B. andicola* predominan tricomas uniseriados (Konarska et al., 2025; Weberling & Salzer, 2009). Bajo luz UV, las señales de autofluorescencia rojo intenso o fucsia en idioblastos y la fluorescencia amarillo-verdosa tras la quelación con cloruro de

aluminio validan la función de estas estructuras como filtros ópticos biológicos (Hutzler et al., 1998). Es relevante notar que la protección frente a la radiación varía según la longevidad de la planta; mientras que en hierbas anuales es predominantemente vacuolar, en especies perennes de climas extremos los fenoles se ligan a la pared celular para otorgar mayor resistencia estructural (Hutzler et al., 1998). En este contexto, los tricomas glandulares operan como biocentros de síntesis y almacenamiento de polifenoles, localizándose en la cutícula y vacuola para mitigar el impacto de la radiación antes de su penetración celular (Hutzler et al., 1998; Konarska et al., 2025).

Desde un enfoque funcional, la localización periférica de estos compuestos les permite desempeñar roles fundamentales. En *B. andicola*, los flavonoides contribuyen a la coloración floral y a las señales visuales para polinizadores, además de intervenir en el desarrollo del polen (Konarska et al., 2025). En contraste, la cobertura de tricomas en *V. tomentosa* conforma una barrera física, mientras que la disposición de antocianinas en idioblastos del parénquima sugiere una protección específica del sistema vascular ante fluctuaciones térmicas extremas (Hutzler et al., 1998).

En cuanto al proceso extractivo, la elección metodológica responde a la necesidad de optimizar la liberación de compuestos bioactivos. Se determinó una eficacia superior de la decocción e infusión frente al macerado etanólico, subrayando la alta solubilidad de los polifenoles en medios acuosos calientes. El empleo de temperaturas de ebullición (100-110 °C) resulta óptimo para maximizar la ruptura de paredes celulares y la consecuente liberación de flavonoides vacuolares (Benmerzoug et al., 2020; Trevizan et al., 2020). No obstante, temperaturas superiores a 140 °C inducirían a la degradación, lo que justifica la eficiencia de los métodos térmicos convencionales aplicados (Benmerzoug et al., 2020).

Resulta notable el contraste con estudios previos en el ABVP Aguarongo, donde Padilla y Paucar (2008) reportaron a *B. andicola* como "no activa" en DPPH tras emplear metanol y Soxhlet. La validación actual de una eficacia del 70% sugiere que la extracción térmica acuosa es el factor determinante en la liberación de compuestos fenólicos. Por el contrario, la maceración presenta un rendimiento inferior debido a una cinética de difusión más lenta, propia de las extracciones en frío, aunque permite la recuperación de metabolitos de diversa polaridad (Kabubii

et al., 2023; Shahidi & Samarasinghe, 2025). Estos hallazgos validan técnicamente la preparación tradicional de "aguas" y "tés" (aprox. 66 °C) como vía para maximizar la recuperación de antioxidantes de la matriz vacuolar sin comprometer su integridad (Sandoval & Moreno, 2023).

Consecuentemente, la capacidad de captura de radicales libres guarda una correspondencia directa con el pool fenólico total (Shahidi & Samarasinghe, 2025). En *V. tomentosa*, al contrastar con especies como *V. wallichii*, que alcanza inhibiciones del 89% solo en extractos concentrados de hasta 30 mg/mL, nuestra investigación aporta un valor científico adicional al validar que la decocción de sus flores logra una eficacia cercana al 70% empleando extractos de menor concentración (Çelik & Kırmızıbekmez, 2025). De manera similar la infusión de la flor de *B. andicola*, con un 70% de inhibición, posee un contenido de fenoles totales que puede duplicar lo reportado para poblaciones de *B. pilosa* (76% - 83%), destacando una riqueza particular en glicósidos de flavonol y chalconas (Vinueza et al., 2017).

Estos hallazgos proporcionan el sustento científico necesario para el saber ancestral del sur ecuatoriano (Zea Cobos et al., 2025). De acuerdo con Armijos et al. (2022), la región se erige como un reservorio biológico donde predomina el uso de especies nativas; sin embargo, gran parte de este conocimiento corre el riesgo de desaparecer debido a su transmisión exclusivamente oral. En este contexto, el contenido fenólico detectado para el género *Bidens* valida su potencial analgésico y antiinflamatorio, corroborando reportes donde extractos inhiben la inflamación en modelos celulares (Huarcaya & Sotelo, 2018; Vinueza et al., 2017), además, la literatura reciente sugiere que las hojas y flores poseen efectos uterotróficos y oxitócicos, lo que explicaría su uso tradicional en la regulación del ciclo menstrual y la inducción del parto (Adeniyi et al., 2025). En *V. tomentosa*, su riqueza en taninos y flavonoides la posiciona como un regulador del estrés oxidativo tisular en mucosas (Konarska et al., 2025), permitiendo su propuesta para el tratamiento de afecciones gástricas y úlceras. Validar estas propiedades no solo respalda el conocimiento tradicional, sino que subraya la imperante necesidad de conservar la biodiversidad del Austro ecuatoriano como un recurso vital para la fitofarmacología regional (Armijos et al., 2022; Bec et al., 2024).

## 6. CONCLUSIONES

El estudio demostró que *Valeriana tomentosa* presenta una alta concentración de compuestos fenólicos en flores y hojas, con valores significativamente superiores al tallo, y una correspondencia directa entre el contenido fenólico y la capacidad antioxidante. La extracción mediante infusión y decocción resultó significativamente más eficiente que la maceración en la recuperación de estos compuestos. A nivel histoquímico, se evidenció una localización predominante de polifenoles, flavonoides y antocianinas en tricomas glandulares, epidermis e idioblastos del parénquima, confirmando una distribución tisular diferenciada según el órgano vegetal.

En *Bidens andicola*, se confirmó que las flores y hojas constituyen las principales fuentes de compuestos fenólicos y actividad antioxidante, con valores significativamente mayores que en el tallo, y una relación consistente entre ambos parámetros. Los métodos de extracción térmica (infusión y decocción) optimizaron la liberación de antioxidantes frente a la maceración. El análisis histoquímico evidenció la localización de polifenoles, flavonoides y antocianinas principalmente en tricomas uniseriados, epidermis, tejidos vasculares e idioblastos, estableciendo una compartimentalización específica de estos metabolitos en los distintos órganos.

## 7. RECOMENDACIONES

### 7.1 Recomendación metodológica (estandarización internacional):

Se recomienda incorporar en futuros ensayos de capacidad antioxidante ORAC el uso de Trolox como estándar de referencia, en sustitución del ácido gálico. La expresión de resultados en equivalentes de Trolox ( $\mu\text{mol TE/g}$ ) permitirá la comparabilidad directa de los valores obtenidos para *Valeriana tomentosa* y *Bidens andicola* con la literatura científica internacional y con bases de datos globales de actividad antioxidante, facilitando la validación externa de los resultados y su integración en estudios comparativos.

### 7.2 Recomendaciones de continuidad científica:

- Se sugiere profundizar en la caracterización fitoquímica mediante técnicas cromatográficas de alta resolución (HPLC-DAD, LC-MS/MS), con el fin de identificar y cuantificar los compuestos fenólicos específicos responsables de la actividad antioxidante observada.
- Se recomienda evaluar la bioactividad de los extractos mediante ensayos biológicos complementarios, como pruebas de citotoxicidad y actividad antiinflamatoria *in vitro*, que permitan validar funcionalmente el potencial terapéutico asociado a los compuestos identificados.
- Se propone analizar la variabilidad del contenido fenólico y la capacidad antioxidante en función de factores ambientales (altitud, estacionalidad) y de procesos postcosecha (secado y almacenamiento). Esta línea permitirá determinar la estabilidad de los compuestos bioactivos y optimizar las condiciones de manejo para su aprovechamiento fitofarmacológico.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adeniyi, I. A., Olufunke, O., Usman, I. M., & Owu, D. U. (2025). Unraveling the reproductive potential of selected flavonoids in *Biden pilosa*: A comprehensive review. *Phytomedicine Plus*, 5(2), 100784. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2025.100784>
- ANMAT. (2013). *Farmacopea Argentina* (7a ed.). Ministerio de Salud de la Nación. <https://www.argentina.gob.ar/anmat/farmacopea-argentina/libro>
- Armijos, C., Ramírez, J., & Vidari, G. (2022). Poorly Investigated Ecuadorian Medicinal [Plants](#). *Plants*, 11(12), 1590. <https://doi.org/10.3390/plants11121590>
- Bec, N., Larroque, C., & Armijos, C. (2024). Exploring Southern Ecuador's Traditional Medicine: Biological Screening of Plant Extracts and Metabolites. *Plants*, 13(10), 1422. <https://doi.org/10.3390/plants13101422>
- Benmerzoug, A., Svarc-Gajic, J., Nastic, N., Guettaf, S., & Harzallah, D. (2020). Subcritical water extraction of polyphenols from endemic Algerian plants with medicinal properties. *Acta Periodica Technologica*, (51), 191-206. <https://doi.org/10.2298/APT2051191B>
- Çelik, C., & Kırmızıbekmez, H. (2025). The genus *Valeriana* L.: Ethnopharmacology, phytochemistry and biological activities—an updated review. *Phytochemistry Reviews*. <https://doi.org/10.1007/s11101-024-10061-x>
- de la Torre, L. (Ed.). (2008). *Enciclopedia de las plantas útiles del Ecuador* (1. ed). Herbario QCA [u.a.].
- Huarcaya, L., & Sotelo, N. (2018). *Actividad analgésica y antiinflamatoria del extracto etanólico de las flores de Bidens andicola H.B.K. "quiquo"*.
- Hutzler, P., Fischbach, R., Heller, W., Jungblut, T. P., Reuber, S., Schmitz, R., & Veit, M. (1998). *Tissue localization of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy*. Johansen. (1940). *Plant Microtechnique*. <http://archive.org/details/in.ernet.dli.2015.271824>
- Kabubii, Z. N., Mbaria, J. M., Mathiu, M. P., Wanjohi, J. M., & Nyaboga, E. N. (2023). Evaluation of seasonal variation, effect of extraction solvent on phytochemicals and antioxidant activity on *Rosmarinus officinalis* grown in different agroecological zones of Kiambu County, Kenya. *CABI Agriculture and Bioscience*, 4(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s43170-023-00141-x>

- Konarska, A., Weryszko-Chmielewska, E., Materska, M., Sulborska-Różycka, A., Dmitruk, M., & Chilczuk, B. (2025). Phenolic Compounds in Flowers and Herb of *Achillea millefolium* L.: Histochemical and Phytochemical Studies. *Molecules*, 30(9), 2084. <https://doi.org/10.3390/molecules30092084>
- Marilia De, M. C., & Demarco, D. (2008). Phenolic Compounds Produced by Secretory Structures in Plants: A Brief Review. *Natural Product Communications*, 3(8), [1934578X0800300809](https://doi.org/10.1177/1934578X0800300809). <https://doi.org/10.1177/1934578X0800300809>
- Minga Ochoa, D. A. (2014). *Relación entre el conocimiento tradicional y la diversidad de plantas en el Bosque Protector Aguarongo Azuay Ecuador* [masterThesis]. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/7087>
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001). Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4619-4626. <https://doi.org/10.1021/jf010586o>
- Padilla, E. del C., & Paucar, V. P. (2008). *Estudio de las propiedades antioxidantes «In Vitro» de 10 plantas medicinales nativas del ABVP Aguarongo, Provincia del Azuay* [bachelorThesis, Universidad del Azuay]. <http://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/116>
- Sandoval, A., & Moreno, D. (2023). *Elaboración de té de flores con potencial antimicrobiano para enfermedades urinarias, empleando dos tipos de secado*.
- Shahidi, F., & Samarasinghe, A. (2025). How to assess antioxidant activity? Advances, limitations, and applications of in vitro, in vivo, and ex vivo approaches. *Food Production, Processing and Nutrition*, 7(1), 50. <https://doi.org/10.1186/s43014-025-00326-z>
- Sierra, R. (1999). *Propuesta Preliminar de un Sistema de Clasificación de Vegetación para el Ecuador Continental*. <https://doi.org/10.13140/2.1.4520.9287>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999, enero 1). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)

- Torres, J. L., Varela, B., García, M. T., Carilla, J., Matito, C., Centelles, J. J., Cascante, M., Sort, X., & Bobet, R. (2002). Valorization of Grape (*Vitis vinifera*) By products. Antioxidant and Biological Properties of Polyphenolic Fractions Differing in Procyanidin Composition and Flavonol Content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(26), 7548-7555. <https://doi.org/10.1021/jf025868i>
- Trevizan, J., Soto, E., Parra, F., Bustos, L., Parra, C., Trevizan, J., Soto, E., Parra, F., Bustos, L., & Parra, C. (2020). Antioxidant activity of nine medicinal plants with commercial potential. *Idesia (Arica)*, 38(3), 53-58. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292020000300053>
- Vinueza, D., López, E., Acosta, K., & S, S. (2017). Assessment of anti-inflammatory activity and cytotoxicity of freeze dried hydroalcoholic extract of *Bidens andicola* on isolated neutrophils. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(6), 160. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i6.17574>
- Weberling, F., & Salzer, E. (2009). Tufted stellate hairs in *Valeriana tomentosa* Kunth. *Feddes Repertorium*, 120(3-4), 139-144. <https://doi.org/10.1002/fedr.200911197>
- Zagoskina, N. V., Zubova, M. Y., Nechaeva, T. L., Kazantseva, V. V., Goncharuk, E. A., Katanskaya, V. M., Baranova, E. N., & Aksenova, M. A. (2023). Polyphenols in Plants: Structure, Biosynthesis, Abiotic Stress Regulation, and Practical Applications (Review). *International Journal of Molecular Sciences*, 24(18), 13874. <https://doi.org/10.3390/ijms241813874>
- Zargoosh, Z., Ghavam, M., Bacchetta, G., & Tavili, A. (2019). Effects of ecological factors on the antioxidant potential and total phenol content of *Scrophularia striata* Boiss. *Scientific Reports*, 9(1), 16021. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52605-8>
- Zea Cobos, A. G., Portilla Farfán, F. L., Robles Bykbaev, Y., Velez Siavichay, J. L., Orellana Robles, P. A., Soliz Panamá, J. A., & Cazorla Orellana, P. A. (2025). *Guía etnobotánica de plantas medicinales de las Parroquias Rurales de Cuenca Ecuador*. <https://doi.org/10.17163/abyaups.125>

## 9. ANEXOS

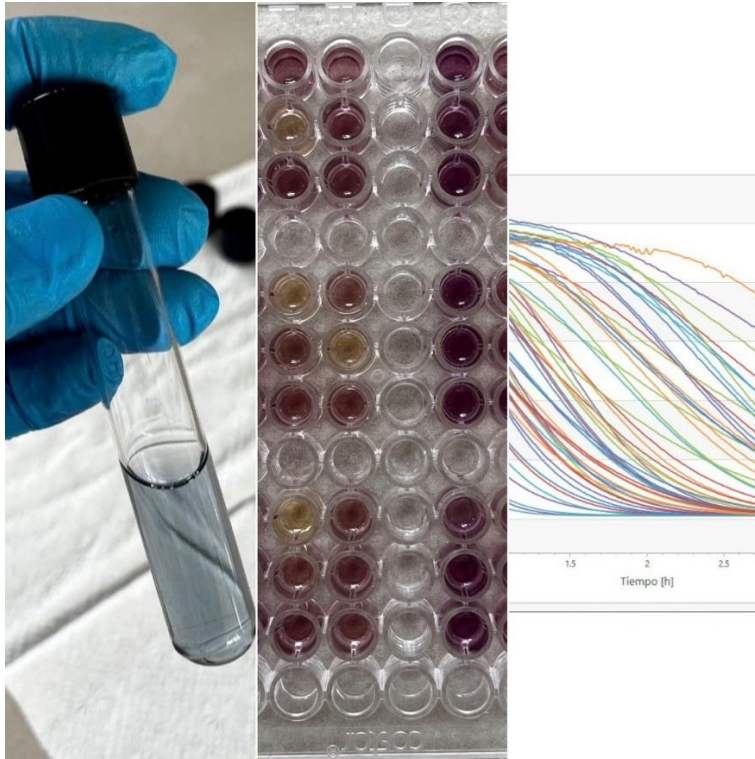
### 9.1 Especies estudiadas



### 9.2 Preparación extractos



### 9.3 Análisis fitoquímico



### 9.4 Análisis Histoquímico

