

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JAÉN
CARRERA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA CON
ESPECIALIDAD EN LABORATORIO CLÍNICO



**UNIVERSIDAD NACIONAL
DE JAÉN**

**EFECTO CITOTÓXICO Y GENOTÓXICO DEL EXTRACTO
ACUOSO DE *MATRICARIA CHAMOMILLA* (MANZANILLA)
SOBRE CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE *ALLIUM CEPA*
(CEBOLLA).**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO
TECNÓLOGO MÉDICO EN LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA
PATOLÓGICA**

Autoras: Bach. Leyla Sughey Fernández Saavedra

Bach. Fiorella Lisseth Llanos Yangua

Asesora:

Dra. Cinthya Yanina Santa Cruz López

JAÉN-PERÚ, NOVIEMBRE 2022.

NOMBRE DEL TRABAJO

TESIS TURNITIN FINAL (2).docx

AUTOR

sugey

RECuento DE PALABRAS

5809 Words

RECuento DE CARACTERES

32655 Characters

RECuento DE PÁGINAS

47 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

72.1MB

FECHA DE ENTREGA

Feb 20, 2023 6:44 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Feb 20, 2023 6:45 PM GMT-5**● 17% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 16% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 12% Base de datos de trabajos entregados
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref



UNIVERSIDAD NACIONAL DE JAÉN

Ley de Creación N° 29304

Universidad Licenciada con Resolución del Consejo Directivo N° 002-2018-SUNEDU /CD

ACTA DE SUSTENTACIÓN

En la ciudad de Jaén, el día lunes 28 de noviembre del año 2022, siendo las 6:00pm, se reunieron los integrantes del Jurado:

Presidente: **Mg. José Celso Paredes Carranza**

Secretario: **Mg. Diomer Marino Jara Llanos**

Vocal : **M.Cs. Yudelly Torrejón Rodríguez**

Para evaluar la Sustentación de:

- () Trabajo de Investigación
() Tesis
() Trabajo de Suficiencia Profesional

Titulada: **“EFECTO CITOTÓXICO Y GENETÓXICO DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Matricaria chamomilla* (MANZANILLA) SOBRE CÉLULAS MARISTEMÁTICAS DE *Allium cepa* (CEBOLLA)”**, de los Bachilleres Leyla Sugey Fernández Saavedra y Fiorella Lisseth Llanos Yangua, de la Carrera Profesional de Tecnología Médica de la Universidad Nacional de Jaén.

Después de la sustentación y defensa, el Jurado acuerda:

- () Aprobar () Desaprobar () Unanimidad () Mayoría

Con la siguiente mención:

- | | | |
|----------------|------------|--------|
| a) Excelente | 18, 19, 20 | () |
| b) Muy bueno | 16, 17 | () |
| c) Bueno | 14, 15 | (19) |
| d) Regular | 13 | () |
| e) Desaprobado | 12 ò menos | () |

Siendo las 7:00pm del mismo día, el Jurado concluye el acto de sustentación confirmando su participación con la suscripción de la presente.

Mg. José Celso Paredes Carranza

Presidente Jurado Evaluador

Mg. Diomer Marino Jara Llanos

Secretario Jurado Evaluador

M.Cs. Yudelly Torrejón Rodríguez

Vocal Jurado Evaluador

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS.....	8
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
3.1. Población, muestra y muestreo	9
3.2. Variables de estudio.....	9
3.3. Métodos, técnicas, procedimientos e instrumentos de recolección de datos	10
3.3.1 Tipo y diseño de investigación.....	10
3.3.2 Metodología	10
3.3.3. Procedimiento para la recolección de datos	10
3.3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	12
3.4 Análisis estadístico de datos	13
IV. RESULTADOS	14
V. DISCUSIÓN	17
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	21
CONCLUSIONES	21
RECOMENDACIONES.....	21
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
DEDICATORIA.....	32
AGRADECIMIENTO	33
ANEXOS	34

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Índice mitótico e índices de fases en las células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> (cebolla) sometidas al extracto acuoso de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla) a concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ ml	15
Tabla 2. Crecimiento radicular y su porcentaje de inhibición en <i>Allium cepa</i> (cebolla) expuestas al extracto acuoso de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla) a concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ ml	16
Tabla 3: Análisis de la Varianza de los índices mitóticos	40
Tabla 4: Correlación de Pearson	41
Tabla 5: Prueba de Tukey, agrupa información con una confianza de 95%, las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes	41
Tabla 6. Base de datos del conteo de células de <i>Allium cepa</i> (cebolla) expuestas al extracto acuoso de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla) a concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ ml.	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Aberraciones cromosómicas en las células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> (cebolla) ocasionadas por el extracto acuoso de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla) a concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ ml	15
Figura 2: Gráficas de residuos para Índice Mitótico, Profásico, Metafásico, Anafásico y Telofásico	40
Figura 3: Gráfica de prueba de tukey del índice mitótico e índice de fases de <i>Allium cepa</i> (cebolla) sometida a diferentes concentraciones del extracto acuoso de <i>M. chamomilla</i> (manzanilla).....	42
Figura 4. Obtención y filtrado del extracto acuoso de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla)	43
Figura 5. Exposición de las raíces de <i>Allium cepa</i> (cebolla) frente al extracto acuoso de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla)	43
Figura 6. Medición de las raíces de <i>Allium cepa</i> (cebolla) después de la exposición a los tratamientos	44
Figura 7. Obtención de los preparados citológicos de <i>Allium cepa</i> (cebolla).....	44
Figura 8. Células binucleadas (CB) y células con macronúcleos (MN) observado en células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> (cebolla) sometidas a la concentración de 30 mg/ml del extracto acuoso de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla)	45
Figura 9. Tumorcación en raíces de <i>Allium cepa</i> (cebolla) sometidas a la concentración de 30 mg/ml del extracto acuoso de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla)	45
Figura 10. Fases de la mitosis en células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> (cebolla) en grupo control	46

RESUMEN

Matricaria chamomilla (manzanilla) es una planta comúnmente usada en fitoterapia para aliviar diversas enfermedades a través de sus compuestos activos. Pese a ello, se han detectado especies vegetales con fines terapéuticos que contienen principios activos responsables de intoxicaciones y otros efectos colaterales sobre la población que las consume. Por ello, mediante este estudio se buscó determinar el efecto citotóxico y genotóxico del extracto acuoso de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ml sobre las células del meristemo de *Allium cepa* (cebolla). Para su realización, se utilizó 12 bulbos de cebolla que fueron expuestos a distintos tratamientos del extracto y un grupo control. La coloración, preparado citológico y montaje se realizaron de acuerdo a la técnica de Fiskesjö. Se hizo un conteo de aproximadamente 3600 células meristemáticas, además se calculó el índice mitótico (IM), índice de fases y aberraciones celulares. Encontrándose un IM de 1,89 % para la concentración más alta (30 mg/ml), mientras que, para el índice profásico fue de 88,89%, para el índice metafásico de 11,11%, para el índice anafásico e índice telofásico de 0% y 0% respectivamente. Así mismo, se hallaron presencia de células con doble núcleo (binucleadas) y macronúcleos. Concluyéndose así, que los extractos acuosos de manzanilla a las concentraciones ya mencionadas ocasionaron citotoxicidad y genotoxicidad sobre las células meristemáticas de la cebolla.

Palabras clave: *Matricaria chamomilla*, *Allium cepa*, Citotóxico, Genotóxico, Extracto acuoso.

ABSTRACT

Matricaria chamomilla (chamomile) is a plant commonly used in phytotherapy to alleviate various diseases through its active compounds. Despite this, plant species for therapeutic purposes have been detected that contain active principles responsible for poisoning and other side effects on the population that consumes them. Therefore, this study sought to determine the cytotoxic and genotoxic effect of the aqueous extract of *Matricaria chamomilla* (chamomile) at concentrations of 10, 20 and 30 mg/ml on the meristem cells of *Allium cepa* (onion). For its realization, 12 onion bulbs were used that were exposed to different extract treatments and a control group. Staining, cytological preparation, and mounting were performed according to the Fiskesjö technique. A count of approximately 3600 meristematic cells was made, in addition the mitotic index (MI), phase index and cellular aberrations were calculated. Finding an MI of 1.89% for the highest concentration (30 mg/ml), while for the prophasic index it was 88.89%, for the metaphasic index 11.11%, for the anaphasic index and index telophasic of 0% and 0% respectively. Likewise, the presence of cells with double nucleus (binucleated) and macronuclei were found. Thus, it was concluded that the aqueous extracts of chamomile at the aforementioned concentrations caused cytotoxicity and genotoxicity on onion meristematic cells.

Key words: *Matricaria chamomilla*, *Allium cepa*, Cytotoxic, Genotoxic, Aqueous extra

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas con fines médicos han sido usadas por el ser humano desde la antigüedad en el tratamiento o curación de diversas dolencias. Además de emplearse para la elaboración de muchos fármacos industriales que son lanzados al mercado¹. Existe una convicción errónea de que las plantas usadas en fitoterapia no producen efectos colaterales al ser consumidas, sin embargo, estas contienen sustancias activas no solo encargadas de las propiedades curativas, sino también de las intoxicaciones y los efectos secundarios al ser consumidas en dosis no adecuadas y por tiempos prolongados^{2,3}, lo cual genera que la población utilice las plantas empíricamente y se auto medique con ellas, sin conocer sus efectos colaterales⁴.

Por otro lado, se sabe que alrededor del 40% de los medicamentos en el mercado proceden directa o indirectamente de fuentes naturales; perteneciendo el 25% a plantas, 13% a microorganismos y 2% a animales⁵.

Por lo que, en el transcurso de los últimos años se han ejecutado diversos estudios sobre plantas medicinales para poder comparar o corroborar sus beneficios, encontrar los principios activos que poseen y que les permiten aliviar las distintas dolencias o enfermedades, siendo una de estas plantas *Matricaria chamomilla* (manzanilla)⁶, perteneciente a la familia de las Asteráceas, especie Chamomilla o también conocida como Recutita⁷. Esta planta requiere de condiciones frías y templadas con una temperatura de 7 – 26°C y crece en varios tipos de suelo, pero es preferible un suelo bien drenado, arenoso o limo con pH entre 4 y 8⁸.

M. chamomilla está compuesta aproximadamente por 120 componentes químicos, identificados como metabolitos secundarios con actividad farmacológica potencial⁹. Entre los compuestos químicos que posee esta planta se encuentra el terpeno, farneseno, camazuleno, flavonoides, cumarina, apigenina-7-O-glucósido, ácido cafeico, ácido clorogénico, luteolina, y α -bisabolol¹⁰, de los que se consideran a sesquiterpenos, flavonoides y cumarinas los constituyentes más importantes^{11,12}. Los flavonoides, en condiciones

naturales, son producidos como glucósidos ligados a la fracción de los azúcares, estos se caracterizan por ser altamente estables y solubles en agua, y es por esta solubilidad que la forma más común de su uso es la infusión⁹.

De modo que, *Matricaria chamomilla* (manzanilla), es utilizada para tratar nervios, insomnio, heridas inflamadas, cólicos, problemas respiratorios, infecciones gastrointestinales y vaginales, etc⁷. Sin embargo, pese a todas las propiedades que se le asignan a *M. Chamomilla*, es necesario realizar ensayos para asegurar el consumo adecuado de esta planta y evitar los riesgos, considerando que, se ha encontrado que distintos extractos de plantas con fines terapéuticos causan daños citotóxicos y genotóxicos en las células, debido a mutaciones genéticas y cromosómicas en las células, así también están relacionados a enfermedades como el cáncer^{13,14}.

Al respecto, estudios realizados indican que el extracto hidroalcohólico de *M. chamomilla* tiene actividad bactericida contra *Staphylococcus aureus* y *Propionibacterium acnes*^{15,16}, a su vez es efectiva frente a protozoos como *Leishmania amazonensis* y *Trypanozoma cruzi*¹⁷, mientras que, el aceite esencial de las flores tiene efecto antimicótico sobre *Aspergillus niger*¹⁸ y antiparasitaria, frente a larvas L3 de *Anisakis* tipo I, amastigotes intracelulares de *Leishmania braziliensis* y *Leishmania panamensis*^{19,20}, además se determinó que el extracto acuoso es efectivo frente al ácaro *Psoroptes cuniculi*⁶.

Es importante conocer, que el efecto citotóxico de una sustancia es considerado como el daño, alteración del ciclo o muerte celular¹³. Para evaluar la toxicidad se determina el efecto antiproliferativo de las sustancias, ya sea mediante conteo directo de células o a través de la inhibición de función metabólica celular²¹. La determinación de la citotoxicidad y genotoxicidad es relevante para la identificación de alteraciones en el material genético, como mutaciones vinculadas al incremento del riesgo de desarrollar células cancerígenas y otras patologías, para ello se usan como indicadores de una apropiada proliferación celular a los índices mitóticos y de replicación²².

Cabe resaltar que, las células se reproducen a través de un proceso llamado división celular, en el cual su material genético (ADN) se divide entre dos nuevas células hijas²³, sin embargo, debido a errores en el proceso de replicación y división del ADN este proceso puede verse afectado, es por ello que se realizan estudios genotóxicos, los cuales tienen como objetivo principal mostrar el tipo o nivel de organización del ADN al que pertenece el daño ocasionado por la sustancia que se está usando, en relación a ello se establecieron cuatro niveles: mutación genética (nivel 1), mutación cromosómica (nivel 2), daño primario al ADN (nivel 3), transformación celular (nivel 4), etc²⁴.

Se hace mención a las aberraciones cromosómicas cuando ocurre cambio en la forma o cantidad de cromosomas, que podrían ser causadas por factores químicos, físicos o biológicos. El método que se utiliza para determinar aberraciones cromosómicas es una técnica citogenética, este resulta muy útil pues permite identificar si la sustancia a la que es expuesta la muestra adquiere propiedades mutagénicas o cancerígenas mediante la evaluación de mecanismos clastogénicos, caracterizados por la ruptura cromosómica durante la mitosis, o mecanismo aneugénico, que es la alteración en cuanto a la estructura celular tal como el huso mitótico y esto conlleva a pérdidas cromosomales^{13,14}.

Sin embargo, existen factores múltiples como el estilo de vida, cambio climático, tratamientos médicos, polimorfismos genéticos, etc., que influyen en la integridad cromosómica. Además, estas aberraciones cromosómicas están relacionadas con algunas enfermedades genéticas como el cáncer, por lo cual es importante evaluar efectos de sustancias de interés con la finalidad de conocer futuras aplicaciones terapéuticas^{13,14}, por eso se desarrollaron ensayos para conocer el efecto genotóxico *in vitro*, el cual en la actualidad está prosperando debido a su uso en investigaciones relacionadas a la mutagénesis²⁵.

La evaluación de la genotoxicidad de diversos extractos de plantas con fines terapéuticos debe realizarse primero a través de pruebas *in vitro*, aprobadas internacionalmente, que determinen el daño a nivel de mutaciones genéticas y cromosómicas. Por lo general, los ensayos se basan en los niveles I y II, debido a su diversidad y amplia utilización,

mediante estos se busca la detección en etapas inicial de genotoxicidad, las cuales son expresadas como alteraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas, formación de micronúcleos, roturas cromosómicas (producto de la radiación y de sustancias genotóxicas), mutaciones génicas a la altura de locus HPRT (hipoxantina fosforibosiltransferasa), síntesis de ADN no programada y electroforesis celular; es por ello que las pruebas *in vitro* han ido adquiriendo cada vez más importancia entre los análisis genotóxicos con el paso de los años ya que poseen una elevada sensibilidad y precisión^{24,26}.

Existen diversos ensayos para evaluar estos efectos, entre las cuales aparecen ensayos *in vitro* como la prueba de captación de rojo neutro, ensayo de unión al azul de kenacid, ensayo de reducción de MTT (Bromuro de 3(4,5 dimetil-2-tiazolil)-2,5-difeniltetrazólico), prueba de electroforesis alcalina de células individuales impregnadas en microgel^{27,28}, así también ensayos *in vivo* empleando individuos como *Mus musculus*, *Artemia salina*, *Drosophila melanogaster*, *Lactuca sativa*, *Lepidium sativum*, *Vicia faba*, *Allium cepa*, entre otros, que son expuestos a las distintas sustancias²⁹.

No obstante, entre las técnicas más utilizadas para la determinación del efecto citotóxico y genotóxico de alguna sustancia, se encuentra el Allium test, usado por Levan desde 1938, el cual ha demostrado un 80% de efectividad³⁰.

Es así que, las células meristemáticas apicales de *Allium cepa* (cebolla) se utilizaron para evidenciar daños del material genético, como mutaciones cromosómicas y alteraciones mitóticas, pues estas permiten evaluar con facilidad un vasto rango de alteraciones en las células, lo que convierte a las raíces de esta planta en materia biológica altamente sensible para la detección de sustancias dañinas para el bienestar del ser humano y del medio ambiente³⁰. Además, cuando los bulbos de *Allium cepa* se rehidratan se estimula el desarrollo de los meristemas, lo que a su vez produce el alargamiento de las raíces de esta especie vegetal. En cambio, si la rehidratación se hace con sustancias que presentan toxicidad, la división celular del meristemo radicular puede verse inhibido, ya sea por el retraso en algún proceso de la mitosis o la destrucción misma de la célula³¹.

Siendo así que, el rápido desarrollo de las raíces de *A. cepa* y la respuesta inmediata de su ADN a sustancias citotóxicas y genotóxicas (de consistencia líquida), indican que estas puedan causar daño en el ciclo celular, lo cual, conforme a la cuasi universalidad del código genético llevaría a suponer que estos agentes podrían causar un potencial efecto toxico en el proceso normal de la división celular de cualquier célula eucariota^{32,33}.

Existen diversas investigaciones que demuestran el efecto citotóxico y genotóxico de distintas plantas medicinales, las cuales emplearon *Allium cepa* como marcador biológico, mediante el método de Allium test. Entre ellos, se tiene un estudio realizado por Santa Cruz-López y Cabrejo-Paredes, en el que se evaluó los efectos citotóxicos y genotóxicos de los extractos acuosos de las hojas de *Physalis peruviana L.* (aguaymanto) a 10, 20 y 30mg/ml. Encontrando que estos extractos ocasionaron un decrecimiento en el índice mitótico, dando un 10,14% para el extracto de mayor concentración. En cuanto, a los índices de la profase, metafase, anafase y telofase obtuvieron 93,51%, 1,62%, 2,50% y 2,37% respectivamente, además, observaron la presencia de alteraciones en las células, encontrando células con doble núcleo (binucleadas) y puentes cromosómicos. Así mismo, se evidenció la inhibición del crecimiento radicular en la cebolla y se observó cambios en la forma y consistencia de las raíces³⁴.

Mediante otro estudio, se identificó los efectos citotóxicos y genotóxicos de los extractos acuosos de semillas de *Moringa oleifera* (moringa) a concentraciones de 0,05; 0,1; 0,5 y 1 g/L durante 48 horas, evidenciándose un decrecimiento del índice mitótico y la aparición de alteraciones a nivel cromosómico, los cuales incrementaron directamente proporcionales al tiempo y concentración del extracto²⁹.

Así mismo, los extractos acuosos de *Caesalpinia spinosa* (tara) en concentraciones de 0%, 0,42%, 0,83%, 1,25% y 1,67% sobre las células de los meristemos de la cebolla, mostraron citotoxicidad y genotoxicidad, además, se evidenció una disminución estadísticamente significativa del índice mitótico, dependiendo de la concentración del extracto²².

Del mismo modo, se evaluó la citotoxicidad de los extractos hidroalcohólicos de las cáscaras de *Citrus limon* (limón) a tratamientos de 0,25%, 0,50% y 0,75%, de las cuales sobresale la concentración de 0,75%, pues evidenció una disminución significativa del 6,52% en el índice mitótico y a la vez un incremento del 18,94% en el índice anafásico³¹.

Mientras que, Saldaña-Jiménez *et al.*, mediante su investigación evaluaron los efectos citotóxicos y genotóxicos del extracto acuoso de *Syzygium aromaticum* (clavo de olor) a 1% y 2% de concentración, sobre células meristemáticas de cebolla, en la que se obtuvieron resultados que mostraron el decrecimiento del índice mitótico y el hallazgo de anomalías mitóticas como puentes anafásicos y células binucleadas³⁵.

Posteriormente, se investigaron los potenciales efectos genotóxicos de los extractos metanólicos de *Euphorbia hirta* (hierba de paloma) a 125, 250, 500 y 1, 000 µg / ml, donde se mostró que el índice mitótico disminuyó a medida que aumentaban las concentraciones de extracto y se observó aberraciones cromosómicas, dependiente de la dosis, como pegajosidad, c-mitosis, puentes, cromosomas vagabundos y células micronucleadas en la interfase, las cuales aumentaron con relación a las dosis empleadas³⁶.

Por otro lado, el extracto acuoso de *Inula viscosa* (olivarda) a 2,5; 5 y 10 mg/ml inhibió significativamente el desarrollo de la raíz de *A. cepa*, observándose también la citotoxicidad que causa y, la presencia de aberraciones cromosómicas, como micronúcleos en la división celular³⁷.

Akinboro y Bakare demostraron que los efectos citotóxicos y genotóxicos de extractos acuosos de *Azadirachta indica* (neem), *Morinda lucida* (benth), *Cymbopogon citratus* (zacate limón), *Mangifera indica* (mango) y *Carica papaya* (papaya) a concentraciones de 1; 2,5; 5, 10 y 20% de cada uno de los extractos, causan efectos mitodepresores en la división celular y alteración inducida del huso mitótico en *A. cepa*³⁸.

Así mismo, el extracto acuoso de *Maytenus laevis* (palmo rosado), a 1,92; 3,19 y 4,92 mg/ml, mostró tener efecto citotóxico y causar anomalías en las células, como células binucleadas, trinucleadas, aberraciones en el cromosoma, anormalidad en la forma de las células y vacuolizaciones en las células meristemáticas de *A. cepa*; además se hizo énfasis en la concentración de 7,13 mg/ml, pues ocasionó la destrucción completa de las raíces, inclusive después de seis horas de iniciado el tratamiento¹³.

En tanto, Gastañadui mediante su investigación mostró la citotoxicidad y genotoxicidad del Ibuprofeno a concentraciones de 0, 200, 400 y 800 mg/L en células meristemáticas de la cebolla, en donde se evidenció la disminución del índice mitótico, siendo de 7,8 % y aumento del índice profásico, con un 85,6 %; así mismo se evidenció disminución del índice en la metafase, anafase y telofase con un 7,9%, 4,6% y 1,9% respectivamente; del mismo modo se encontraron alteraciones cromosómicas, como puentes anafásicos, metafases anormales, micronúcleos y polinúcleos³⁹.

Es así que, por lo ya mencionado anteriormente, esta investigación buscará adquirir información actual a cerca del efecto citotóxico y genotóxico que implica la ingesta indiscriminada de la manzanilla, que al ser utilizada empíricamente y sin un control estandarizado puede causar efectos adversos en quienes la consumen. De manera que, mediante este estudio se puede determinar posibles alteraciones en el material genético, mutaciones críticas, etc., que podrían aumentar el riesgo de padecer cáncer, entre otras. Cabe resaltar que, no existen muchos estudios enfocados en la toxicología de las plantas medicinales, a pesar de que el manejo de una dosis inadecuada, puede estar relacionada al desarrollo de ciertas enfermedades.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

Determinar el efecto citotóxico y genotóxico del extracto acuoso de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ml sobre células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla).

2.2. Objetivos específicos

- Evaluar el índice mitótico e índices de fases en las células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla) sometidos al extracto acuoso de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ ml.
- Identificar alteraciones en las células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla) ocasionadas por el extracto acuoso de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ ml.
- Calcular el crecimiento radicular y su porcentaje de inhibición en *Allium cepa* (cebolla) expuestas al extracto acuoso de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ ml.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Población, muestra y muestreo

La población fue conformada por 12 cebollas en buenas condiciones fitosanitarias. Mientras que la muestra fue constituida por células del meristemo apical de las raíces de los 12 bulbos. El muestreo fue no probabilístico de tipo intencional.

3.1.1 Criterios de inclusión

Se consideraron cebollas con un peso aproximado de 60-80 gr. que se encontraban en buen estado y con una homogeneidad en tamaño, forma, color, consistencia dura, sin las catáfilas y raicillas secas.

3.1.2 Criterios de exclusión

Se excluyeron las cebollas que tenían dañado el disco radicular, no se encontraban en buenas condiciones y no cumplían con los criterios de inclusión.

3.2. Variables de estudio

3.2.1. Variable dependiente

Células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla).

3.2.2. Variable independiente

Extracto acuoso de *Matricaria chamomilla* (manzanilla).

La operacionalización de variables está disponible en el Anexo 3.

3.3. Métodos, técnicas, procedimientos e instrumentos de recolección de datos

3.3.1 Tipo y diseño de investigación

Estudio de tipo experimental y diseño de estímulo creciente, con distintas concentraciones, un pos prueba y un grupo control⁴⁰.

3.3.2 Metodología

El método de la investigación fue el inductivo porque se logró obtener conclusiones generales partiendo de antecedentes e información obtenida en particular⁴¹.

3.3.3. Procedimiento para la recolección de datos

Recolección y selección de la especie vegetal

Se obtuvo la muestra de *Matricaria chamomilla* a 2623 m.s.n.m. en el caserío La Palma Central, distrito de Jaén, Se secó a temperatura ambiente y luego se realizó la identificación en el herbario Augusto Weberbauer (MOL) de la Universidad Nacional La Molina (anexo 4), y se transportó al laboratorio de la Universidad Nacional de Jaén para su procesamiento.

Preparación del extracto acuoso de *Matricaria chamomilla* (manzanilla)

Se procedió a la recolección de 1 gramo de manzanilla; previamente lavada, desinfectada y secada, luego se puso en un vaso de precipitado el cual contenía 100 ml de agua destilada estéril. Después se obtuvo el extracto de 10mg/ml colocando la manzanilla a 80°C durante 15 minutos. Posterior a ello se filtró el extracto acuoso con papel filtro Whatman N°1. Para la obtención del extracto al 20 y 30 mg/ml se usó la misma metodología³⁴.

Obtención de las raicillas de *Allium cepa* (cebolla)

Se usó 12 bulbos de cebolla, de pesos entre 60 a 80 gramos, a estos se les retiraron las catáfilas y raicillas secas. Luego se les insertó cuatro palillos de dientes a distancias equitativas con el fin de sujetar el bulbo de la cebolla en la boca del vaso de vidrio para que el agua estuviera en contacto con el disco germinativo y así lograr la producción de nuevas raicillas. El vaso se llenó con 100 ml de agua del grifo (para cubrir todo el disco germinativo), se cambió el agua cada 24 horas durante 3 días (72 horas), teniendo en cuenta que estas raicillas deben crecer en oscuridad⁴².

Exposición de las raicillas a las diferentes concentraciones del extracto

Una vez transcurridas las 72 horas, las raicillas de 9 cebollas fueron expuestas a los extractos de manzanilla a distintas concentraciones preparadas previamente (10, 20 y 30 mg/ml). Esta exposición se realizó por un lapso de 24 horas. Mientras que, los tres restantes fueron tomadas como control, dejándolas en exposición al agua de caño⁴².

Medición de las raíces de la cebolla.

Después de exponer las raíces a los diferentes tratamientos, se constató la longitud promedio de las raíces, esto se realizó utilizando una regla común con una escala milimétrica. El efecto inhibitorio se calculó mediante la siguiente fórmula³⁴:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{(\text{longitud del control} - \text{longitud de la muestra}) \times 100}{\text{longitud del control}}$$

Obtención de preparados citológicos

Una vez finalizados los procedimientos, se realizó el corte de los ápices radicales de cada cebolla, se lavó con agua destilada y se colocaron en una luna reloj. Posterior a ello, se añadieron nueve gotas de orceína al 2% y se le agregó una gota de HCl (ácido clorhídrico) 1N. Las raicillas fueron llevadas al fuego hasta lograr la emisión de vapor o humo blanco (esto se repitió 3 veces con tiempos intermedios de 15 minutos), evitando hervir el colorante y dejando reposar por 10 minutos, todo ello conforme la técnica de Fiskesjö⁴³.

Análisis citológico para determinar el efecto citotóxico y genotóxico en *Allium cepa*

En una lámina portaobjeto, se colocó cada ápice coloreado, se agregó 1 gota de gelatina glicerizada y se cubrió con una laminilla, posteriormente se realizó el “squash” (aplastamiento) del tejido y se selló los bordes de la laminilla con esmalte transparente para uñas, esto con el fin de evitar la deshidratación celular⁴⁴. Luego, los preparados citológicos fueron observados al microscopio óptico BM-120 a 400x y 1000x de aumento.

Para evaluar citotoxicidad, se consideró los valores del índice mitótico (IM) e índice de fases (IF). En tanto, para la genotoxicidad se evaluó el hallazgo de aberraciones celulares como puentes cromosómicos, células con doble núcleo (binucleadas), entre otras³⁴.

$$\% \text{ IM} = \frac{\text{Número de células en mitosis (P+M+A+T)} \times 100}{\text{Número total células}}$$

$$\% \text{ IF} = \frac{\text{Número de células por fase mitótica} \times 100}{\text{Número de células en mitosis}}$$

3.3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se utilizó como método de recolección de datos la observación estructurada de las variables evaluadas. Además, se usó como herramienta para la recolección de datos una ficha de control (Anexo 5), en donde, el personal encargado registró los eventos observados y las cualidades de estos durante el desarrollo del ensayo.

3.4 Análisis estadístico de datos

Se utilizó Microsoft Office Excel® 2013 y Minitab® 17 para Windows® versión 8 para realizar el análisis estadístico de datos⁴⁵. Se organizó los datos en tablas y gráficos para poder comparar los resultados a las diferentes concentraciones empleando promedios, desviación estándar (DS), varianza y coeficiente de correlación de Pearson para los datos cuantitativos con el fin de determinar el efecto del extracto acuoso de *M. chamomilla*.

IV. RESULTADOS

De este estudio se concluyó que los extractos acuosos de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) en concentraciones de 10 mg/ml, 20 mg/ml y 30 mg/ml son citotóxicos y genotóxicos para las células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla), para confirmar lo anterior se obtuvieron los siguientes resultados:

La tabla 1 mostró los promedios de los porcentajes del Índice Mitótico (IM) y de Fases; observándose un IM menor (1,89%) en la mayor concentración, en comparación con el IM obtenido del control (32,00%), así también se observó un aumento del Índice Profásico (IP) del tratamiento a 30 mg/ml (88,89%), en contraste con el obtenido por el control (42,06%). Las células en metafase, anafase y telofase fueron las que disminuyeron considerablemente en contraste al control utilizado.

El análisis de varianza (ANOVA) mostró diferencias significativas estadísticamente entre las medias del índice mitótico y de fases, en función de la concentración del extracto acuoso de manzanilla, lo que permitió demostrar que este extracto afecta el índice mitótico y de fases en *Allium cepa* (Anexo 6). Además, la prueba de Tukey comparó la media de los índices de profase, metafase, anafase y telofase, en donde encontró que la media de los índices profásicos eran significativamente mayor que la media de los demás índices. Sumado a ello, el coeficiente de correlación de Pearson entre el índice profásico y anafásico y entre el índice profásico y telofásico indicaron que existe una correlación significativa pero inversamente proporcional, así cuando aumenta el índice profásico, disminuye el índice anafásico y telofásico respectivamente; mientras que, entre índice anafásico y telofásico se encontró una correlación directamente proporcional (Anexo 7).

Tabla 1. Índice mitótico e índices de fases en las células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla) sometidas al extracto acuoso de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ ml.

	CONTROL	DESVEST	T1	DESVEST	T2	DESVEST	T3	DESVEST
ÍNDICE MITÓTICO	32,00	0,5774	13,11	0,8389	7,22	0,5092	1,89	0,1925
ÍNDICE PROFÁSICO	42,06	3,7270	41,64	3,0771	52,39	2,5071	88,89	9,6225
ÍNDICE METAFÁSICO	20,48	0,8248	24,53	1,5670	23,16	1,6721	11,11	9,6225
ÍNDICE ANAFÁSICO	23,25	1,1950	20,29	1,2700	16,86	1,6567	0,00	0,0000
ÍNDICE TELOFÁSICO	14,21	1,9036	13,54	0,7330	7,60	2,2565	0,00	0,0000
	F: 8,54			p<0,05				

Para la cuantificación de aberraciones celulares se consideraron las células con macronúcleo y binucleadas (Anexo 8). Observándose la presencia de anomalías en todas las concentraciones evaluadas, siendo en la mayor concentración de 29,33% y 34,67% para células binucleadas y células con macronúcleo respectivamente.

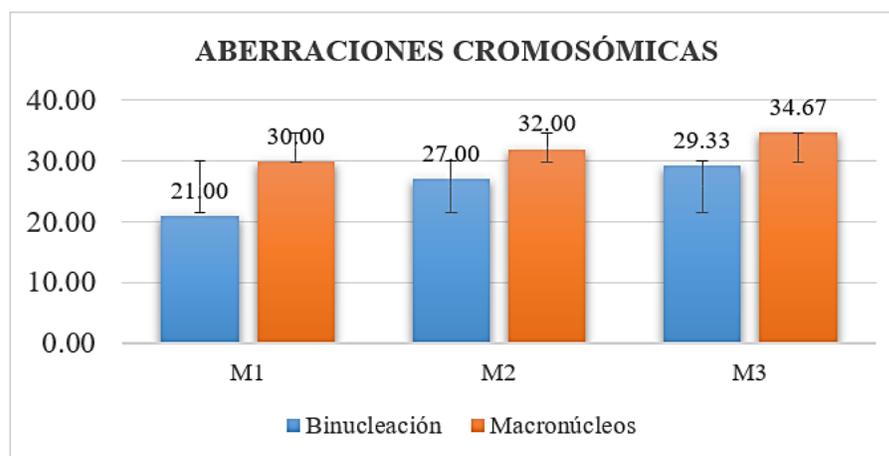


Figura 1. Aberraciones en las células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla) ocasionadas por el extracto acuoso de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ ml.

La tasa de inhibición del crecimiento radicular se calculó considerando el promedio de las raíces de cebollas con las que se trabajó, lo que indicó una disminución en las longitudes de las raicillas, de acuerdo a las concentraciones examinadas y con ello un incremento del porcentaje de inhibición del crecimiento, el cual fue de 57,05% para el tratamiento 3 (Tabla 2).

Tabla 2. Crecimiento radicular y su porcentaje de inhibición en *Allium cepa* (cebolla) expuestas al extracto acuoso de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ ml.

Concentración	Longitud de raíz (cm)	Desviación Estándar (DS)	Porcentaje de inhibición (%)
Control	4,82	0,09	0,00
Tratamiento 1 (10 mg/ml)	3,31	0,17	31,33
Tratamiento 2 (20 mg/ml)	2,63	0,17	45,44
Tratamiento 3 (30 mg/ml)	2,07	0,09	57,05

V. DISCUSIÓN

Las células del tejido meristemático apical de las cebollas representan un modelo adecuado para estudiar anomalías que ocurren dentro de la célula, pues, al estar expuestas a sustancias antimitóticas, cito y genotóxicas, su desarrollo se vuelve anormal, lo que se ve reflejado en el daño de hasta los cromosomas, lográndose inhibir, retrasar o causar apoptosis, durante la división celular³³.

Por ello, durante el estudio se determinaron los efectos citotóxicos y genotóxicos del extracto acuoso de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ml sobre células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla), de las cuales se contabilizaron 3 600 células meristemáticas de las 12 cebollas (bulbos) estudiadas, donde se observó un porcentaje menor en el índice mitótico de las células que estuvieron sometidas a las distintas concentraciones del extracto. El índice mitótico obtenido en el grupo control fue 32,00%, a diferencia del 1,89% reportado en la mayor concentración (Tabla 1), evidenciando una marcada reducción del índice mitótico, que estaría relacionada al efecto del extracto acuoso de manzanilla ($p < 0,05$).

Es necesario resaltar que, las CdKs (enzimas quinasas dependientes de ciclinas), son las encargadas de la regulación del ciclo celular, ya que son las responsables de la fosforilación de muchos sustratos, incluyendo los inhibidores del ciclo, permitiendo así que este progrese⁴⁴. Las etapas que preceden mitosis (que constituyen a la interfase), son responsables de la replicación del ADN, la condensación cromosómica, la formación del huso acromático y la preparación para la desintegración de la membrana nuclear, siendo necesarios los productos de estos procesos para iniciar la mitosis, donde tiene lugar la división celular^{24,44}. Sin embargo, ciertas sustancias son capaces de afectar el complejo Ciclina-Kinasas, teniendo como consecuencia que las células no cumplan las condiciones para pasar hacia la mitosis y que descienda la cantidad de células en división²⁴.

Es así que, compuestos como los sesquiterpenos, flavonoides y cumarinas presentes en la manzanilla^{1,12}, podrían ser responsables de interrumpir el ciclo celular y, por lo tanto,

reducir la división celular, lo que sugiere efectos citotóxicos y genotóxicos de esta planta. Los resultados obtenidos coinciden con el estudio realizado por Santa Cruz López y Cabrejo Paredes, quienes evaluaron los efectos citotóxico y genotóxico de *Physalis peruviana* L. (aguaymanto), afirmando que redujo el índice mitótico en un 10,14% cuando se trató con el extracto de mayor concentración³⁴. Así también, se evidenció el efecto cito y genotóxico de *Maytenus laevis* (palmo rosado), encontrándose que, para la concentración de 7,13mg/ml fue de 5,49%¹³. Del mismo modo, al evaluar *Moringa Oleifera* (moringa) en su extracto acuoso, también se observó una significativa reducción de la tasa del índice mitótico en todas las concentraciones estudiadas²⁹.

El cálculo del índice profásico mostró un aumento significativo, del 88,89% para el extracto de 30mg/ml, mientras que el grupo control un 42,06% (Tabla 1). Esto podría ser ocasionado por los efectos oxidativos de algunos componentes activos de la manzanilla (sesquiterpenos, flavonoides y cumarinas), capaces de afectar al complejo ciclina B – cdk1 y con ello evitar que se activen las proteínas de mantenimiento estructural (condensinas), polimerice el ADN y se forme el huso mitótico, de manera que, las células no pasen de profase a metafase con normalidad³⁵. Estudios como el de Saldaña-Jiménez *et al.*, mostraron también un incremento del índice profásico en las distintas concentraciones del extracto de *Syzygium aromaticum* (clavo de olor) estudiadas³⁵.

En cuanto al índice de metafase (Tabla 1), en el tercer tratamiento (30mg/ml) tuvo una marcada disminución, siendo 11,11% para esta concentración, frente al 20,48 % en el grupo control, lo que indicaría que cuando se aumentó la concentración del extracto, condujo a una disminución en la agregación del huso mitótico debido a la inhibición del factor promotor de la mitosis, lo cual hará que se deje de realizar la polimerización de microtúbulos (ancla al cinetocoro), de manera que se obtiene un menor índice de células en metafase³⁵. Concordante a estos resultados, se tiene la investigación del efecto citotóxico del extracto hidroalcohólico de cáscaras de *Citrus limon* (limón) donde se mostró un índice metafásico de 12,56%, al exponer las células meristemáticas de cebollas al extracto de mayor concentración, mientras que, para el grupo control un valor de 14,91%³¹.

Los índices de anafase y telofase (Tabla 1), se redujeron significativamente en comparación al control utilizado, llegándose a observar 0% en los bulbos expuestos al extracto de 30mg/ml, esto debido a que la mitosis fue detenida en la metafase, por lo tanto, se pierden las fases restantes del ciclo celular³⁵. Resultados similares se obtuvieron al evaluar las raicillas de *Allium cepa* expuestas al extracto acuoso de *C. spinosa* (tara), obteniendo 6,6% para el índice anafásico y 2,5% para el índice telofásico, a diferencia del control en el que se obtuvo 15,8% para el IA y 13,1% para el IT, por lo que se observa una marcada diferencia en cuanto a la disminución de estos índices²².

Así también, se observó la presencia de aberraciones celulares, que ocurren espontáneamente o bajo la exposición a factores físicos o químicos que pueden afectar el número cromosómico o de manera estructural a la célula⁴⁶. En este estudio se visualizaron macronúcleos y células binucleadas (Anexo 8) en los distintos tratamientos relacionadas con el incremento de las concentraciones (Figura 1). Las anomalías encontradas fueron concordantes con lo reportado en un estudio de Saldaña – Jiménez *et al.*, quienes expusieron los bulbos de cebolla a distintas concentraciones del extracto acuoso de clavo de olor, evidenciando la presencia de 0,36% de células binucleadas, en las raicillas expuestas al 2% del extracto³⁵.

De modo que, las células con binucleaciones (Anexo 8) pueden aparecer debido a un proceso de citocinesis incompleto, durante el cual se bloquea la fusión de vesículas del aparato de Golgi, que van del centro de la célula a la periferia e impiden la formación del fragmoplasto, responsable de la nueva pared celular en la telofase³⁵.

En un estudio titulado “Estudios preliminares sobre citotoxicidad y la genotoxicidad de un extracto derivado del palmo rosado en células meristemáticas de *Allium cepa*”, también se encontraron formas irregulares en las células y megacélulas en la mínima concentración a la que se expusieron las células meristemáticas, coincidiendo con lo reportado en esta investigación (Anexo 8).

La Tabla 2 evidenció el efecto de distintas concentraciones de manzanilla en el crecimiento de la raíz de la cebolla. Se encontró que, el crecimiento de la raíz de la cebolla se redujo en las raíces expuestas a los tratamientos con extracto acuoso, es así que, se calculó un porcentaje de inhibición de crecimiento del 57,05 % en las raíces enfrentadas a 30mg/ml del extracto de manzanilla; valores superiores a los obtenidos en el estudio del efecto citotóxico de las hojas de aguaymanto, cuya inhibición del crecimiento de las raíces presentó un máximo del 42,44%³⁴. Es importante recalcar que a diversas concentraciones de extracto de manzanilla se observó hinchazón de la raíz de cebolla y pérdida de firmeza. Esto se observó con mayor frecuencia a concentraciones de 30 mg/ml. (Anexo 8).

La manzanilla es una planta muy utilizada para aliviar diversas dolencias y comúnmente se consume en forma de infusión, pero si se consume en dosis erróneas durante un largo período de tiempo puede interrumpir el ciclo celular y puede causar cambios en el ADN de la célula, causando problemas mayores e incluso incentivando la formación de tumores malignos que conducen al cáncer.

Finalmente, diversos autores reportaron que las plantas y animales comparten morfología similar en cuanto a sus cromosomas y, por lo tanto, responden al tratamiento con mutágenos de manera similar a otros eucariotas^{46,47}. Por lo tanto, los resultados obtenidos en este estudio son de gran importancia, ya que permitirían establecer un vínculo con la exposición a sustancias con potencial citotóxico y genotóxico en seres humanos, constituyendo una base para futuras investigaciones.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- Los índices mitóticos y de fase disminuyeron en las células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla) expuestas a extractos acuosos de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ml, considerando el control utilizado.
- Se identificaron anomalías celulares, como células binucleadas y macronúcleos inducidas por extractos acuosos de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ ml.
- El crecimiento radicular disminuyó, mostrando aumento de la tasa de inhibición en *Allium cepa* (cebolla) expuesta a extractos acuosos de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ ml.

RECOMENDACIONES

El estudio del efecto citotóxico y genotóxico del extracto acuoso de manzanilla, resulta ser de guía futuras investigaciones en toxicología vegetal. Por lo que se recomienda:

- Utilizar, en futuros estudios, otras técnicas para evidenciar el daño a nivel celular y las anomalías a nivel cromosómicos, como ensayos de micronúcleos, ensayo cometa, entre otros.
- Evaluar en condiciones estándar de laboratorio, la dosis y el tiempo de exposición adecuados para que el extracto acuoso de manzanilla no ocasione daños a nivel celular.

- Emplear extractos de plantas diversas que son usados con frecuencia como tratamiento empírico de distintas enfermedades, evaluar su toxicidad, para prevenir algún daño citotóxico y genotóxico que estos puedan causar.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rodríguez N, Pérez J, Iglesias J, Gallego R, Veiga B, Cotelo N. Actualidad de las plantas medicinales en terapéutica. *Acta Farmacéutica Portuguesa* 2015; 4(1):42–52. Published online [fecha de acceso] 10 de mayo 2019. Disponible en:http://www.grupoberbes.es/uploads/2/6/0/1/26011151/2015_plantas_medicinales.pdf
2. López M. Plantas medicinales. *OFFARM* 2008; 27(4):76–83. Published online [fecha de acceso] 10 de mayo 2019. Disponible en:<https://www.elsevier.es/index.php?p=revista&pRevista=pdf-simple&pii=13120069>
3. Cosme-Pérez I. El uso de las plantas medicinales. *Revista Intercultural* 2008; 23–26. Published online [fecha de acceso] 12 de mayo 2019. Disponible en:https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/8921/tra6_p23-26_2010-0.pdf?sequence=1&isAllowed=y
4. Bayona A, Fajardo N. Desarrollo de nuevos medicamentos: oportunidades y beneficios para el Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* 2012; 29(4):521-528. Published online [fecha de acceso] 9 de mayo 2019. Disponible en:http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342012000400016
5. Asare GA, Bugyei K, Sittie A, Yahaya ES, Gyan B, Adjei S, et al. Genotoxicity, cytotoxicity and toxicological evaluation of whole plant extracts of the medicinal plant *Phyllanthus niruri* (Phyllanthaceae). *Genetics and molecular research: GMR* 2012; 11(1):100–111. Published online [fecha de acceso] 17 de mayo 2019. Disponible en:https://www.researchgate.net/publication/221791898_Genotoxicity_cytotoxicity

and toxicological evaluation of whole plant extracts of the medicinal plant Phyllanthus niruri Phyllanthaceae

6. Macchioni F, Perrucci S, Cecchi F, Cioni PL, Morelli I, Pampiglione S. Acaricidal activity of aqueous extracts of chamomile flowers, *Matricaria chamomilla*, against the mite *Psoroptes cuniculi*. Medical and Veterinary Entomology 2004; 18(2):205–207. Published online [fecha de acceso] 17 de mayo 2019. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15189247>
7. Bussmann RW, Sharon D. Plantas medicinales de los andes y la Amazonía - la flora mágica y medicinal del Norte del Perú. 15a ed. Ethnobotany Research & Applications; 2016.
8. Sharifi-Rad M, Nazaruk J, Polito L, Morais-Braga M, Rocha J, Coutinho H, et al. *Matricaria genus* as a source of antimicrobial agents: From farm to pharmacy and food applications. Microbiol Res 2018; 215:76–88. Published online [fecha de acceso] 16 de mayo 2019. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/325984309_Matricaria_genus_as_a_source_of_antimicrobial_agents_From_Farm_to_Pharmacy_and_Food_Applications
9. Hernandez- de Romero Y. *Matricaria recutita*, un agente fitoterapéutico en odontología. Odous Científica 2015; 16(1):77–86. Published online [fecha de acceso] 29 de mayo 2019. Disponible en: <http://servicio.bc.uc.edu.ve/odontologia/revista/vol16-n1/art06.pdf>
10. Miraj S, Alesaeidi S. A systematic review study of therapeutic effects of *Matricaria recuita chamomile* (chamomile). Electronic Physician 2016; 8(9):3024-3031. Published online [fecha de acceso] 2 de junio 2019. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5074766/>

11. Saavedra Y. Efecto del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. [Tesis para optar el grado de licenciado biólogo - microbiólogo]. Universidad Nacional de Trujillo. 2015.
12. Singh O, Khanam Z, Misra N, Srivastava M. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. Pharmacognosy Reviews 2011; 5(9):82. Published online [fecha de acceso] 17 de mayo 2019. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3210003/>
13. Freyre S, Estrada M, Bolaños H. Estudio preliminar de la citotoxicidad y genotoxicidad de un extracto de origen vegetal conocido como palmo rosado en células meristemáticas de *Allium cepa*. Rev Nac de Investigaciones 2010; 5(2):12–17. Published online [fecha de acceso] 10 de junio 2019. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/288327812_Estudio_preliminar_de_la_citotoxicidad_y_la_genotoxicidad_de_un_extracto_de_origen_vegetal_conocido_como_palmo_rosado_en_celulas_meristemáticas_de_Allium_cepa
14. Arboleda-Moreno Y, Stella Hoyos L, Carvajal S, Sierra-Torres C. Genotoxicidad por exposición a cigarrillos en fumadores jóvenes en Colombia. Rev Panam Salud Pública 2004; 15(6):367–372. Published online [fecha de acceso] 10 de junio 2019. Disponible en: <http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/8219>
15. Silva N, Barbosa L, Seito L, Fernandes J. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of crude extracts and essential oils from medicinal plants. Natural Product Research 2012; 26(16): 1510-1514. Published online [fecha de acceso] 13 de junio 2019. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22007687>

16. Vora J, Srivastava A, Modi H. Antibacterial and antioxidant strategies for acne treatment through plant extracts. *Informatics in Medicine unlocked* 2017; 13(1): 128-132. Published online [fecha de acceso] 14 de junio 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.imu.2017.10.005>
17. Luize P, Tiunan T, Morello L, Maza P. Effects of medicinal plant extracts on growth of *Leishmania (L.) amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 2005; 41(1):85-94. Published online [fecha de acceso] 14 de junio 2019. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322005000100010
18. Tolouee M, Alinezhad S, Saberi R, Eslamifar A, Javad S, Jaimand K, et al. Effect of *Matricaria chamomilla* L . flower essential oil on the growth and ultrastructure of *Aspergillus niger* van Tieghem. *International Journal of Food Microbiology* 2010; 139(3):127–33. Published online [fecha de acceso] 16 de junio 2019. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20385420>
19. Romero C, Valero A, Martín-Sánchez J, Navarro-Moll M. Activity of *Matricaria chamomilla* essential oil against anisakiasis. *European Journal of Integrative Medicine* 2012; 19(6):520–530. Published online [fecha de acceso] 20 de junio 2019. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22397992>
20. Ríos Y, Otero A, Muñoz D, Echeverry M, Robledo S, Yepes M. Actividad citotóxica y leishmanicida *in vitro* del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla*). *Revista Colombiana Ciencia Químico Farmacéutica* 2008; 37(2):200–211. Published online [fecha de acceso] 16 de junio 2019. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/15254>
21. Espinosa A, García E, García H. Avances en la seguridad y actividad biológica de sustancias bioactivas y probióticos. México: Nanobio; 2017.

22. Aybar J. Efecto citotóxico y genotóxico del extracto acuoso del pericarpo acuoso de *Cesalpinia spinosa* “tara” en células meristemáticas de *Allium cepa* L. var Arequipeña. [Tesis para optar el grado de licenciado biólogo]. Universidad Nacional de Trujillo. 2015.
23. Curtis, Barnes, Schnek, Massarini. Biología. 7ma. ed. Madrid: Panamericana; 2008.
24. Yoc A, Soto E, Gutiérrez J, Arriola M. Estudio de actividad biocida, citotóxica y genotóxica de tres plantas medicinales de la familia Euphorbiaceae: *Euphorbiaceae lancifolia*, *Cnidocolus aconitifolius var. mansa* y *Cnidocolus aconitifolius var. estrella*. [Tesis para optar el grado de licenciado]. Universidad de San Carlos de Guatemala. 2012.
25. Zalacain M, Sierrasesúmaga L, Patiño A. El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. Anales Sis San Navarro 2005; 28(2): 227–236. Published online [fecha de acceso] 25 de junio 2019. Disponible en: <https://recyt.fecyt.es/index.php/ASSN/article/view/2788>
26. Lobo T, Bolaños A. Micronúcleos: biomarcador de genotoxicidad en expuestos a plaguicidas. Salus 2014; 18(2):18–26. Published online [fecha de acceso] 25 de junio 2019. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-71382014000200005
27. Arencibia D, Rosario L, Curveco D. Principales ensayos para determinar la citotoxicidad de una sustancia, algunas consideraciones y su utilidad. Retel 2003; 13(1):40-52. Published online [fecha de acceso] 27 de junio 2019. Disponible en: <https://www.mendeley.com/catalogue/principales-ensayos-para-determinar-la-citotoxicidad-una-sustancia-algunas-consideraciones-y-su-util/>

28. Ansoar-Rodríguez Y, Fontanetti C, Christofolletti C, Díaz-Llera S. Aplicaciones del Ensayo Cometa en Genética Ecotoxicológica. CENIC 2015; 46(1):51–62. Published online [fecha de acceso] 30 de junio 2019. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/307205177_Aplicaciones_del_Ensayo_Cometa_en_Genetica_Ecotoxicologica
29. Vergara-Quispe F. Efecto de cuatro concentraciones del extracto acuoso de semillas de *Moringa Oleifera Lam.* sobre el ciclo celular en *Allium cepa L.* [Tesis para optar el grado de licenciado biólogo]. Universidad Nacional de Trujillo. 2018.
30. Muñoz-Solarte D, Guerrero-Pepinosa N. Allium test para evaluar el efecto citotóxico y genotóxico de extractos naturales en células meristemáticas de *Allium cepa*. Memorias 2013; 11(19):6-83. Published online [fecha de acceso] 2 de julio 2019. Disponible en: <https://www.mendeley.com/catalogue/allium-test-para-evaluar-el-efecto-citot%C3%B3xico-y-genot%C3%B3xico-extractos-naturales-en-c%C3%A9lulas-meristem%C3%A1t/>
31. Otiniano-Matos A. Efecto de tres concentraciones de extracto hidroalcohólico de Citrus limon sobre el ciclo celular en meristemas radiculares de Allium cepa. [Tesis para optar el grado de licenciado biólogo]. Universidad Nacional de Trujillo. 2014.
32. Andrioli N, Wulff A, Mudry M. *Allium cepa* como biomonitor de toxicidad y genotoxicidad de metronidazol. Theoría 2006; 15 (2): 9-16. Published online [fecha de acceso] 3 de julio 2019. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/299/29915202.pdf>
33. Cumpa-Yupton C, Zavala-de la Cruz F. Determinación del índice mitótico de meristemas radiculares de *Allium cepa* expuestas al extracto etanólico de hojas de *Erythroxylum coca* “coca” a diferentes concentraciones y tiempos de exposición. Sagasteguiana 2013; 1(1):29–38. Published online [fecha de acceso] 3 de julio

2019. Disponible en:
<http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/REVSAGAS/article/view/1774>

34. Santa Cruz-López C, Paredes, Cabrejo J. Efecto citotóxico y genotóxico del extracto acuoso de *Physalis peruviana* L. (aguaymanto) sobre células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla). Revista Ciencia y Tecnología 2019; 15(1):137–145. Published online [fecha de acceso] 14 de mayo 2019. Disponible en: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/PGM/article/view/2362>
35. Saldaña-Jiménez J, Muro-Morey J, Zavala- de la Cruz F, Zavaleta-Espejo G, Araujo-Soria J, Fajardo-Fernández, K. Efecto del extracto acuoso de *Syzygium aromaticum* a diferentes concentraciones sobre el ciclo celular en meristemos radiculares de *Allium cepa*. Revista Científica de la Facultad de Ciencias Biológicas 2012; 32(2): 27-38. Published online [fecha de acceso] 5 de julio 2019. Disponible en: <https://docplayer.es/77056326-Efecto-del-extracto-acuoso-de-syzygium-aromaticum-a-diferentes-concentraciones-sobre-el-ciclo-celular-en-meristemos-radiculares-de-allium-cepa.html>
36. Ping K, Darah I, Yusuf U, Yeng C, Sasidharan S. Genotoxicity of Euphorbia hirta: An *Allium cepa* Assay. Molecules 2012; 17(7):7782–7791. Published online [fecha de acceso] 7 de julio 2019. Disponible en: <https://www.mendeley.com/catalogue/genotoxicity-euphorbia-hirta-allium-cepa-assay/>
37. Çelik T, Aslantürk Ö. Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of *Inula viscosa* leaf extracts with Allium test. Journal of Biomedicine and Biotechnology 2010; 2010(1): 1-8. Published online [fecha de acceso] 7 de Julio 2019. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2010/189252/>

38. Akinboro A, Bakare AA. Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn. Journal of Ethnopharmacology 2007; 112(3):470–475. Published online [fecha de acceso] 10 de julio 2019. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17572030>
39. Gastañadui-Rosas D. Efecto citotóxico y genotóxico de concentraciones de Ibuprofeno sobre el Ciclo celular y Nucleolar de células meristemáticas de *Allium cepa* "cebolla". [Tesis para optar el grado de licenciado biólogo]. Universidad Nacional de Trujillo. 2015.
40. Stracuzzi S, Pestana F. Metodología de la investigación cuantitativa. 2. ed. Caracas: Fedupel; 2006.
41. Rodríguez-Jiménez A, Pérez-Jacinto A. Métodos científicos de indagación y construcción del conocimiento. Revista EAN 2017; 82(1): 179-200. Published online [fecha de acceso] 27 de febrero del 2020. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/ean/n82/0120-8160-ean-82-00179.pdf>
42. Llapo M, Llontop N. Efecto del extracto acuoso de hojas de *Cordia lutea* sobre células meristemáticas de *Allium cepa*. [Tesis para obtener el grado de bachiller en farmacia y bioquímica]. Universidad Nacional de Trujillo. 2019.
43. Fiskesjö G. The Allium test - an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. Elsevier 1988; 197(2):243–260. Published online [fecha de acceso] 12 de julio 2019. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3340086>
44. Mejías M, Molist P, Pombal M. Atlas de histología animal y vegetal. Vigo: Scribus 2017; 346:40-49. Published online [fecha de acceso] 20 diciembre 2019. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/atlas-celula-08-ciclo-celular.pdf>

45. Dawson B, Trapp R. Bioestadística médica. 4a ed. México: Manual Moderno; 2005
46. Hemachandra CK, Pathiratne A. Assessing toxicity of copper, cadmium and chromium levels relevant to discharge limits of industrial effluents into inland surface waters using common onion, *Allium cepa* bio-assay. Bull. Environ. Contam. Toxicol 2015; 94(2), 199-203. Published online [fecha de acceso] 18 de julio 2019. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25201323>
47. Nefic H, Musanovic J, Metovic A, Kurteshi K. Chromosomal and nuclear alterations in root tip cells of *Allium cepa* L. induced by alprazolam. Med. Arch 2013; 67(6): 388-392. Published online [fecha de acceso] 18 de julio 2019. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25568504>

DEDICATORIA

En primer lugar, a Dios, por siempre guiarnos en nuestra vida profesional y darnos fuerzas para seguir día a día.

A nuestros padres y hermanos, que, al largo de los años, nos han brindado apoyo, amor, comprensión y sacrificio, y gracias a eso hemos llegado hasta aquí y nos han convertido en lo que somos hoy.

A todas aquellas personas que aportaron en nuestra formación profesional y nos ayudaron a ser mejores seres humanos.

Fiorella y Sughey

AGRADECIMIENTO

A la Universidad, por brindarnos el permiso para utilizar los ambientes necesarios para realizar nuestro trabajo de investigación.

A la Dra. Cinthya Yanina Santa Cruz López, quien compartió su conocimiento con nosotras durante el transcurso de toda la investigación, nos guió con su paciencia e integridad como docente y contribuyó a la revisión y supervisión del estudio.

A los encargados del laboratorio, por facilitarnos todos los materiales y equipos requeridos durante nuestro procedimiento.

A nuestros padres, por brindarnos los recursos económicos para poder realizar este trabajo de investigación.

A TODOS MUCHAS GRACIAS.

ANEXOS

Anexo 1



UNIVERSIDAD NACIONAL DE JAÉN

Ley de Creación N° 29304

COMPROMISO DEL ASESOR

El que suscribe, Cinthya Yanina Santa Cruz López, con Profesión/Grado de Licenciada en Biología, microbiología y parasitología/Doctora en Ciencias Biomédicas, D.N.I. () / Pasaporte () / Carnet de Extranjería () N° 46543358 con conocimiento del Reglamento General de Grado Académico y Título Profesional de la Universidad Nacional de Jaén, se compromete y deja constancia de las orientaciones a las Estudiantes Llanos Yangua Fiorella Liseth y Fernández Saavedra Leyla Sugey de la Carrera Profesional de Tecnología médica en la formulación y ejecución del:

- () Plan de Trabajo de Investigación () Informe Final de Trabajo de Investigación
() Proyecto de Tesis () Informe Final de Tesis
() Informe Final del Trabajo por Suficiencia Profesional

Por lo indicado doy testimonio y visto bueno que el Asesorado ha ejecutado el Trabajo de Investigación; por lo que en fe a la verdad suscribo la presente.

Jaén, 28 de noviembre del 2022

Asesor

Anexo 2



UNIVERSIDAD NACIONAL DE JAÉN

Ley de Creación N° 29304

DECLARACIÓN JURADA DE NO PLAGIO

Yo, Llanos Yangua Fiorella Lisseth, identificado con DNI N° 74829523, bachiller de la Carrera Profesional de Tecnología Médica de la Universidad Nacional de Jaén; declaro bajo juramento que Soy Autor del **Informe final de Tesis**: Efecto citotóxico y genotóxico del extracto acuoso de *Matricaria Chamomilla* (manzanilla) sobre células meristemáticas de *Allium Cepa* (cebolla).

El mismo que presento para optar: () Grado Académico de Bachiller (x) Título Profesional

2. El **Informe final de Tesis** no ha sido plagiado ni total ni parcialmente, para la cual se han respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas.
3. El **Informe final de Tesis** presentado no atenta contra derechos de terceros.
4. El **Informe final de Tesis** no ha sido publicado ni presentado anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
5. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falsificados, ni duplicados, ni copiados.

Por lo expuesto, mediante la presente asumo toda responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido del **Informe final de Tesis**, así como por los derechos sobre la obra y/o invención presentada. Asimismo, por la presente me comprometo a asumir además todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse para la UNJ en favor de terceros por motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontraren causa en el contenido del **Informe final de Tesis**.

De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación o que el trabajo de investigación haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones civiles y penales que de mi acción se deriven.

Jaén, 28 de noviembre del 2022



Firma – Huella Digital

DECLARACIÓN JURADA DE NO PLAGIO

Yo, Fernández Saavedra Leyla Sugely, identificado con DNI N° 70970203, bachiller de la Carrera Profesional de Tecnología Médica de la Universidad Nacional de Jaén; declaro bajo juramento que soy Autor del **Informe final de Tesis**: Efecto citotóxico y genotóxico del extracto acuoso de *Matricaria Chamomilla* (manzanilla) sobre células meristemáticas de *Allium Cepa* (cebolla).

El mismo que presento para optar: () Grado Académico de Bachiller (x) Título Profesional

2. El **Informe final de Tesis** no ha sido plagiado ni total ni parcialmente, para la cual se han respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas.
3. El **Informe final de Tesis** presentado no atenta contra derechos de terceros.
4. El **Informe final de Tesis** no ha sido publicado ni presentado anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
5. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falsificados, ni duplicados, ni copiados.

Por lo expuesto, mediante la presente asumo toda responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido del **Informe final de Tesis**, así como por los derechos sobre la obra y/o invención presentada. Asimismo, por la presente me comprometo a asumir además todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse para la UNJ en favor de terceros por motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontraren causa en el contenido del **Informe final de Tesis**.

De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación o que el trabajo de investigación haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones civiles y penales que de mi acción se deriven.

Jaén, 28 de noviembre del 2022



Firma – Huella Digital

Anexo 3

Operacionalización De Variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES
extracto acuoso de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla)	Un extracto acuoso es una parte de la materia prima extraída con agua.	Concentraciones	10mg/ml 20mg/ml 30mg/ml
Células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> (cebolla)	Son células no diferenciadas que se dividen continuamente, por lo que son capaces de autorreproducirse y dar origen a otra célula.	Citotoxicidad	Índice mitótico. Índice de fases. Crecimiento de raíces.
		Genotoxicidad	Aberraciones cromosómicas.

Anexo 4

Constancia de identificación en el herbario Augusto Weberbauer (MOL) de la Universidad Nacional La Molina.



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE CIENCIAS
Departamento Académico de Biología



La Molina, 10 de marzo de 2021

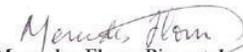
CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN 009-2021-HM-UNALM

Mediante la presente se informa que las muestras de «manzanilla» provenientes del centro poblado La Palma Central (provincia de Jaén, departamento de Cajamarca), remitidas por las estudiantes Fiorella Lisseth Llanos Yangua y Leyla Sugely Fernández Saavedra, correspondientes al proyecto de investigación «Efecto citotóxico y genotóxico del extracto acuoso de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla)», han sido estudiadas en el Herbario del Departamento de Biología de la Universidad Nacional Agraria La Molina (MOL) para su determinación taxonómica. El examen y reconocimiento de los caracteres morfológicos de orden cualitativo y cuantitativo en tales especímenes permiten concluir que corresponden a la especie *Matricaria chamomilla* L. de la familia Asteraceae.

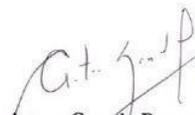
La clasificación taxonómica de la especie según el sistema APG IV (Angiosperm Phylogeny Group, 2016) es la siguiente:

Clado	:	angiospermas (≡ Angiospermae)
Clado	:	mesangiospermas (≡ Mesangiospermae)
Clado	:	eudicotiledóneas (≡ Eudicotyledoneae)
Clado	:	gunnéridas (≡ Gunneridae)
Clado	:	pentapétalas (≡ Pentapetalae)
Clado	:	superastéridas
Clado	:	astéridas
Clado	:	euastéridas (≡ genciánidas)
Clado	:	campanúlidas
Orden	:	Asterales
Familia	:	Asteraceae
Género	:	<i>Matricaria</i> L.
Especie	:	<i>Matricaria chamomilla</i> L.

Atentamente,


Mercedes Flores Pimentel
Jefe
Herbario del Dpto. de Biología (MOL)
Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Agraria La Molina




Arturo Granda Paucar
Investigador Adjunto
Herbario del Dpto. de Biología (MOL)
Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Agraria La Molina

Anexo 5

Ficha de control

Fecha:

hora:

Lugar:

Numero de muestras:

Tratamiento	Laminilla	Índice mitótico (IM)	Promedio IM	Índice de fases				Índice Interf	Crecim. radicular	Porcentaje de imbibición	Aberraciones cromosómicas	
				IP	IMet	IA	IT				Cel. binucleadas	Puentes cromos.
Control negativo												
Concentración 10mg/ml												
Concentración 20mg/ml												
Concentración 30mg/ml												

Anexo 6

Tabla 3. Análisis de la Varianza de los índices mitóticos de *Allium cepa* (cebolla) sometida a diferentes concentraciones del extracto acuoso de *M. chamonilla* (manzanilla).

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	5868	1467,1	8,54	0,001
Error	15	2576	171,8		
Total	19	8445			

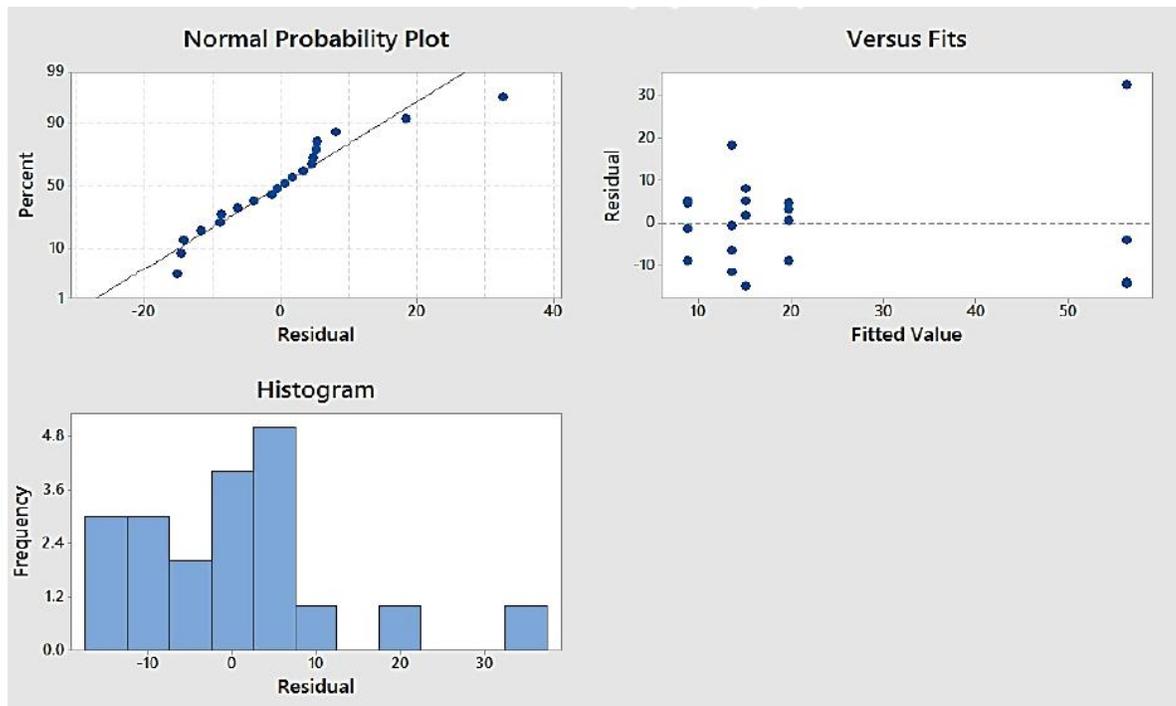


Figura 2. Gráfica de probabilidad, ajustes e histograma para el índice mitótico e índice de fases de *Allium cepa* (cebolla) sometida a diferentes concentraciones del extracto acuoso de *M. chamonilla* (manzanilla).

Anexo 7

Tabla 4. Correlación de Pearson de los índices de fase de *Allium cepa* (cebolla) sometida a diferentes concentraciones del extracto acuoso de *M. chamonilla* (manzanilla).

	Índice Mitótico	Índice Profásico	Índice Metafásico	Índice Anafásico
Índice Profásico	-0,696 0,304			
Índice Metafásico	0,380 0,620	-0,927 0,073		
Índice Anafásico	0,765 0,235	-0,992 0,008	0,886 0,114	
Índice Telofásico	0,801 0,199	-0,970 0,030	0,823 0,177	0,969 0,031

Tabla 5. Prueba de Tukey de los índices de fases de *Allium cepa* (cebolla) sometida a diferentes concentraciones del extracto acuoso de *M. chamonilla* (manzanilla).

Factor	N	Media	Agrupación
Índice Profásico	4	56,2	A
Índice Metafásico	4	19,82	B
Índice Anafásico	4	15,10	B
Índice Telofásico	4	8,84	B

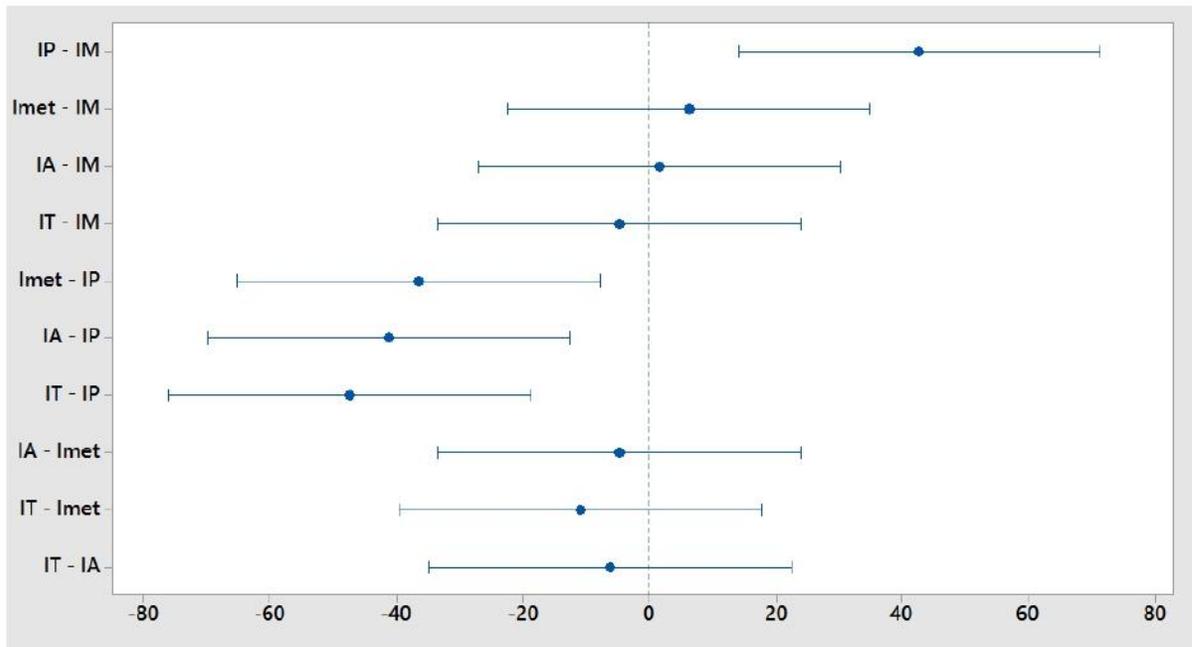


Figura 3. Gráfica de prueba de tukey del índice mitótico e índice de fases de *Allium cepa* (cebolla) sometida a diferentes concentraciones del extracto acuoso de *M. chamonilla* (manzanilla).

Anexo 8

Evidencias fotográficas



Figura 4. Obtención y filtrado del extracto acuoso de *Matricaria chamomilla* (manzanilla).



Figura 5. Exposición de las raíces de *Allium cepa* (cebolla) frente al extracto acuoso de *Matricaria chamomilla* (manzanilla).

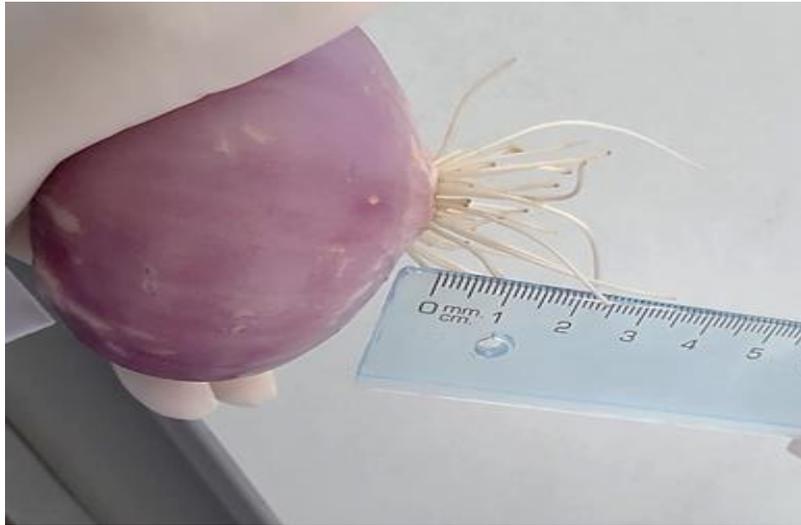


Figura 6. Medición de las raíces de *Allium cepa* (cebolla) después de la exposición a los tratamientos.

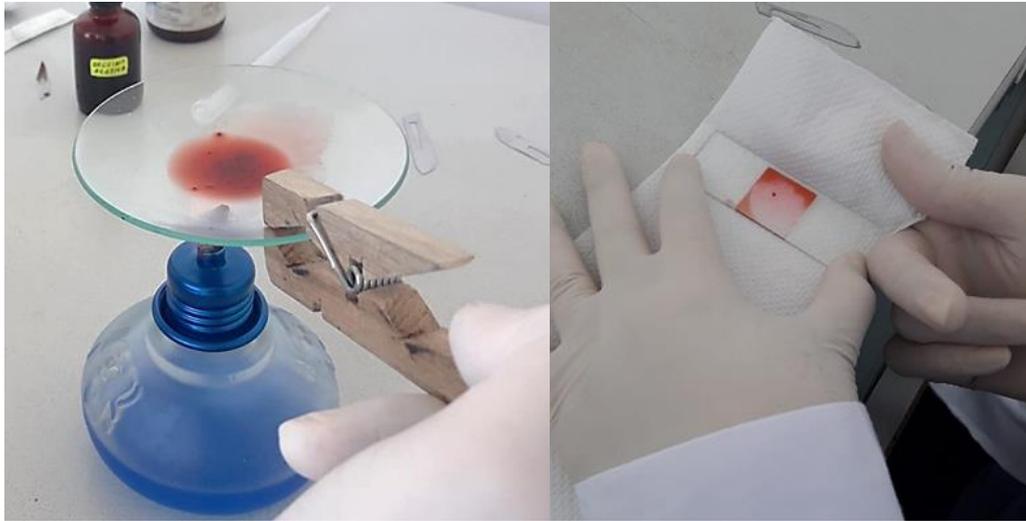


Figura 7. Obtención de los preparados citológicos de *Allium cepa* (cebolla).

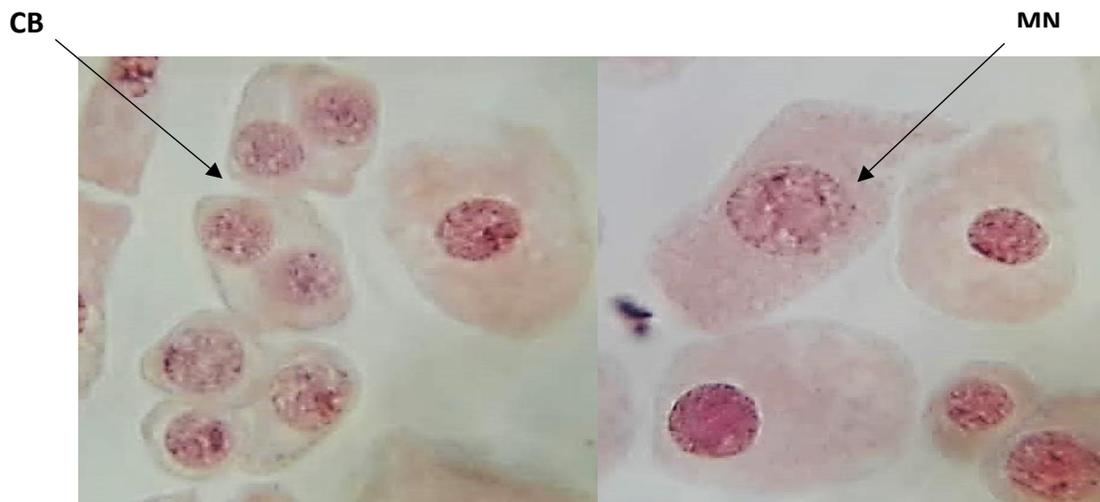


Figura 8. Células binucleadas (CB) y células con macronúcleos (MN) observado en células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla) sometidas a la concentración de 30 mg/ml del extracto acuoso de *Matricaria chamomilla* (manzanilla).



Figura 9. Tumoración en raíces de *Allium cepa* (cebolla) sometidas a la concentración de 30 mg/ml del extracto acuoso de *Matricaria chamomilla* (manzanilla).



Figura 10. Fases de la mitosis en células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla) en grupo control.

Anexo 9

Base de datos de investigación

Tabla 6. Base de datos del conteo de células de *Allium cepa* (cebolla) expuestas al extracto acuoso de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ ml.

Fases del ciclo celular	CONTROL												
	CEBOLLA 1				CEBOLLA 2				CEBOLLA 3				TOTAL
	L1	L2	L3		L1	L2	L3		L1	L2	L3		
Interfase	68	69	68	68.33	69	68	68	68.33	69	62	71	67.33	612
Profase	14	13	15	14.00	16	14	12	14.00	12	13	12	12.33	121
Metafase	6	6	7	6.33	5	8	6	6.33	7	8	6	7.00	59
Anafase	7	8	6	7.00	6	7	9	7.33	7	11	6	8.00	67
Telofase	5	4	4	4.33	4	3	5	4.00	5	6	5	5.33	41
Total	100	100	100	100.00	100	100	100	100.00	100	100	100	100.00	900

Fases del ciclo celular	Tratamiento 1 (10 mg/ml)												
	CEBOLLA 1				CEBOLLA 2				CEBOLLA 3				TOTAL
	L1	L2	L3		L1	L2	L3		L1	L2	L3		
Interfase	88	87	88	87.67	86	86	89	87.00	88	83	87	86.00	782
Profase	5	6	5	5.33	6	5	6	5.67	5	6	5	5.33	49
Metafase	4	3	2	3.00	3	4	2	3.00	4	4	3	3.67	29
Anafase	2	2	3	2.33	3	3	2	2.67	2	4	3	3.00	24
Telofase	1	2	2	1.67	2	2	1	1.67	1	3	2	2.00	16
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	900

Fases del ciclo celular	Tratamiento 2 (20 mg/ml)												
	CEBOLLA 1				CEBOLLA 2				CEBOLLA 3				TOTAL
	L1	L2	L3		L1	L2	L3		L1	L2	L3		
Interfase	92	93	93	92.67	93	94	93	93.33	93	92	92	92.33	835
Profase	4	4	3	3.67	4	3	4	3.67	4	3	5	4.00	34
Metafase	2	1	2	1.67	2	1	2	1.67	1	2	2	1.67	15
Anafase	1	1	2	1.33	1	1	1	1.00	1	2	1	1.33	11
Telofase	1	1	0	0.67	0	1	0	0.33	1	1	0	0.67	5
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	900

Fases del ciclo celular	Tratamiento 3 (30 mg/ml)												
	CEBOLLA 1				CEBOLLA 2				CEBOLLA 3				TOTAL
	L1	L2	L3		L1	L2	L3		L1	L2	L3		
Interfase	97	98	99	98.00	98	98	99	98.33	97	99	98	98.00	883
Profase	2	2	1	1.67	2	2	1	1.67	2	1	2	1.67	15
Metafase	1	0	0	0.33	0	0	0	0.00	1	0	0	0.33	2
Anafase	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0
Telofase	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	900