

"2021, Año de la Independencia"

COMENTARIOS

Con fundamento en el numeral 6.3.3.1 de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SSA1-2020, se publica el presente proyecto a efecto de que los interesados, a partir del 1º de agosto y hasta el 30 de septiembre de 2021, lo analicen, evalúen y envíen sus observaciones o comentarios en idioma español y con el sustento técnico suficiente ante la CPFEUM, sito en Río Rhin número 57, colonia Cuauhtémoc, código postal 06500, Ciudad de México.

Correo electrónico: consultas@farmacopea.org.mx.

DATOS DEL PROMOVENTE

Nombre: _____
Institución o empresa: _____
Teléfono: _____

Cargo: _____
Dirección: _____
Correo electrónico: _____

EL TEXTO EN COLOR ROJO HA SIDO MODIFICADO

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>MGA-FH 0040. EXAMEN VISUAL E INSPECCIÓN MICROSCÓPICA</p>		
<p>La materia prima es fragmentos (materiales) proveniente de plantas medicinales se reconoce de acuerdo a sus características organolépticas, macroscópicas y microscópicas. Estas pruebas son las de mayor importancia debido a que proporcionan gran parte de la información sobre la identidad, pureza y con frecuencia la calidad del material puede obtenerse de dichas observaciones. Para ello, siempre se deberá contar con especímenes de referencia con calidad farmacopeica (esto es, libre de cualquier material extraño). Para cada planta medicinal debe elaborarse en primer lugar una descripción sensorial y definir las características macroscópicas y microscópicas como primer paso para establecer su identidad y grado de pureza.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Siempre que sea posible deberá contarse con especímenes auténticos y muestras de calidad farmacopeica del material en cuestión que sirvan como referencia.</p>		
<p>El análisis visual es el método más simple y rápido para establecer la identidad, pureza y posiblemente reconocer la calidad de los materiales. Si se encuentra observa que una muestra no posee, o difiere sustancialmente de las características de color, consistencia, olor y sabor, se considera que entonces el material no cumple con las especificaciones los estándares para su identidad. Sin embargo, las observaciones sobre el olor y el sabor deben realizarse con precaución considerando la variabilidad por personal capacitado para ello; en la percepción sensorial que existe de persona a persona y en diferentes tiempos puede variar entre las personas que informan acerca de la calidad y/o propiedades del material. Además, las características de éste también pueden mostrar diferencias debidas a factores como son los ambientales o propios de la planta, entre otros.</p>		
<p>La identificación macroscópica se basa en las características de la forma, tamaño y color, así como en las de la superficie y textura de los diferentes órganos vegetales; así como, la fractura y aspecto de la superficie del corte también se consideran dentro de este rubro. Esta identificación es útil al examinar el material herbolario en su totalidad Todas ellas proporcionan información útil</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>del material herbolario en su totalidad, Considerando que esas observaciones son a menudo subjetivas y que existen sustitutos y adulterantes que son muy parecidos al material genuino, frecuentemente es necesario apoyar las observaciones macroscópicas con análisis microscópicos y fisicoquímicos. lo que coadyuva a reducir errores cuando se trata de sustitutos y adulterantes que son muy parecidos al material genuino.</p>		
<p>Para la identificación de fragmentos o materiales en polvo es indispensable la observación microscópica Para ello puede ser necesario tratar el espécimen con reactivos químicos. Un examen microscópico por sí solo no siempre puede proporcionar una identificación completa, aunque utilizado en conjunto con datos provenientes de otros métodos analíticos, con frecuencia constituye un apoyo invaluable. Frecuentemente la comparación con un material de referencia puede revelar características no descritas en las especificaciones que de otro modo habrían sido consideradas como materia extraña y no como constituyentes normales. En las especificaciones puede incluirse cualquier información adicional útil para la preparación o el análisis de materiales de plantas, tal como en las hojas, la proporción de venas aisladas y la cantidad de parénquima en empalizada-, la cual evidencia caracteres celulares y de los tejidos que componen al órgano vegetal. Este tipo de análisis</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>micrográfico es complementario con los otros métodos descritos en este apartado, ya que un examen de este tipo por sí solo no proporciona una identificación completa. Además, las descripciones del material pueden incluir proporciones de venas aisladas y la cantidad de parénquima en empalizada en las hojas, entre otros. Es indispensable contar con material de referencia que revele características, que de otro modo habrían sido consideradas como materia extraña y no como constituyentes normales del material bajo estudio. En este método es necesario tratar el material con reactivos químicos.</p>		
<p>EXAMEN VISUAL Y OLOR</p>		
<p>Este examen no requiere tratamiento previo de la muestra. Sin embargo, cuando la planta (muestra) o sus partes están dobladas o arrugadas, es conveniente alisar las hierbas, hojas o flores cuando están dobladas o arrugadas extenderlas o alisarlas; puede ser la planta completa si se trata de una herbácea, o de sus órganos cuando es un arbusto o árbol, del cual solo cuenta con hojas y/o flores, entre otros (ver más adelante "Tratamiento preliminar"). Algunos frutos y semillas pueden requerir de ablandamiento antes de la disección y observación de características macroscópicas internas.</p>		
<p>En caso de que se desconozca la toxicidad del especimen por analizar, ver Apéndice II. Seguridad en el uso de plantas medicinales.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Tamaño. Para la medición de la longitud, anchura y espesor de materiales crudos puede usarse una regla graduada en milímetros. Por ejemplo, las semillas y frutos pequeños pueden medirse alineando 10 de ellos sobre una hoja de papel calibrado, con una separación de 1.0 mm entre las líneas. El resultado obtenido se divide entre 10 para obtenerse un promedio de las dimensiones.</p>		
<p>Color. Examinar la muestra sin tratar, bajo luz difusa de día. Si se necesita, puede usarse una fuente de luz artificial con longitudes de onda similares a la luz del día. El color de la muestra debe compararse con el del material de referencia.</p>		
<p>Características de superficie, textura y fractura. Examinar la muestra sin tratar. Para observar las características de la superficie de corte, puede usarse una lupa (6× a 10×); además de humedecer con agua o con ciertos reactivos (véase Preparación de especímenes), como se indica en la especificación. Tocar el material para determinar si es suave o duro; doblarlo y partirlo para obtener información sobre su fragilidad y sobre la apariencia de la superficie de fractura que puede ser fibrosa, lisa, rugosa, granular, etc.</p>		
<p>Olor. Si se espera que el material sea inocuo, examinar colocar una pequeña porción de la muestra éste sobre la palma de la mano o en vaso de precipitados de tamaño adecuado una caja de Petri; examinar la muestra mediante una lenta y repetida inhalación del aire que se encuentra sobre ésta. Si no se percibe un</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>olor diferente, estrujar suavemente la muestra entre los dedos pulgar e índice o entre las palmas de las manos; si el material no es inocuo, usar otros medios, por ejemplo, vertiendo una pequeña cantidad de agua hirviendo sobre la muestra colocada en un recipiente de vidrio. Determinar primeramente la fuerza del olor (ninguna, débil, evidente, fuerte) y después el tipo de olor (aromático, a frutas, a moho, rancio, etc.). Es aconsejable la comparación directa con una sustancia de referencia (la menta debe tener un olor similar a mentol, el clavo un olor a eugenol, etc.).</p>		
<p>Sabor. Esta prueba solo debe aplicarse si se requiere específicamente para una planta determinada Si la planta es inocua, su sabor puede catarse utilizando la punta de la lengua; si la muestra corresponde a una especie tóxica, no realizar esta prueba. Se distinguen cuatro sabores fundamentales: dulce, ácido, salado y amargo; pueden presentarse sabores adicionales.</p>		
<p>INSPECCIÓN POR MICROSCOPIA</p>		
<p>Una vez que Cuando el material ha sido examinado y agrupado de acuerdo a sus características externas (macroscópicas) en los materiales en los que la identidad no ha sido establecida, puede llevarse a cabo la observación microscópica como segundo paso y no se reconoce su identidad, ésta puede lograrse a través de sus características microestructurales. Generalmente ambos tipos de caracteres, macro y</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
microscópicos contribuyen en la identidad del material.		
Para realizar el análisis del material se reconocen diversas técnicas y su uso dependerá de las características de la parte de la droga vegetal bajo examen.		
Equipo		
a) Microscopio óptico:		
- Lentes con amplio rango de amplificación oculares que contribuyan a mejorar la amplificación del microscopio.		
- Condensador.		
- Plataforma mecánica graduada.		
- Objetivos con una amplificación de 4x, 10x y 40x.		
- Filtros de color azul-verde, de vidrio esmerilado.		
b) Microscopio estereoscópico. Una lámpara, ya sea separada o incorporada al microscopio.		
c) Un juego de filtros polarizados.		
d) Una parrilla de calentamiento con termostato. Un objetivo y un ocular micrométrico que puedan insertarse en una lente 6x y colocarse en el diafragma o bien, preferiblemente, una lente micrométrica		
e) Portaobjetos [25.6 x 75.6 mm (± 0.2); vidrio claro, prelavado, de 1.05 mm (± 0.05) de espesor]. Un juego de accesorios de dibujo para microscopio.		
f) Cubreobjetos de vidrio (24 x 24 mm, 24 x 40 mm, 24 x 50 mm). Un micromechero (tipo Bunsen).		
g) Pinza de relojero de punta curva y punta recta. Porta y cubreobjetos de vidrio.		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>h) Bisturí o navaja de rasurar de uno o doble filo. h) Un juego de instrumentos para disección botánica.</p>		
<p>i) Aguja de disección.</p>		
<p>j) Caja Petri.</p>		
<p>Tratamiento preliminar. Seleccionar una muestra representativa del material. Las partes secas de la planta podrían requerir un ablandamiento previo a la preparación para microscopía, mediante el remojo en agua o la exposición de la muestra a una atmósfera húmeda, recomendándose esta última. En el caso de que se tengan pequeñas cantidades de material, colocar una cama de algodón humedecido con agua en el fondo de un tubo de ensayo y cubrir con un pedazo de papel filtro. Colocar el material a examinar sobre el papel, tapar el tubo y dejarlo reposar durante la noche o hasta que el material se ablande y sea apropiado para el corte. Usar un desecador para cantidades mayores, colocando agua en la parte inferior, en lugar del agente desecante.</p>		
<p>Las cortezas, maderas y otros materiales duros y densos, usualmente requieren remojar o hervir en agua durante el tiempo necesario para estar lo suficientemente suave al corte, Algunas veces puede requerirse hervir en agua durante unos minutos. todo dependerá de la naturaleza del material.</p> <p>Algunos de los componentes solubles al agua pueden ser eliminados de las células durante el remojo; por ejemplo, los granos de almidón se gelatinizan durante la ebullición en agua. Para evitar</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>en la medida de lo posible, la pérdida de componentes celulares, es frecuente que maderas y cortezas se coloquen en un fijador (GAA) que ayuda, además, al ablandamiento de la muestra. El GAA se prepara con las siguientes sustancias: glicerina, alcohol y agua en proporción 1:2:3. En algunos casos, el humedecimiento del material con agua por algunos minutos, puede suavizar las superficies facilitando el corte en secciones.</p>		
<p>Preparación de especímenes</p>		
<p><i>Para materiales en polvo.</i> Colocar 1 o 2 gotas de agua, SR de glicerol-etanol o SR de hidrato de cloral, en un portaobjetos. Posteriormente se humedece la punta de una aguja de disección con agua y se toma una pequeña cantidad de polvo (del material que se adhiera a la punta de la aguja). Agitar-Mezclar el polvo en la gota del fluido que se encuentra sobre el portaobjetos (en cualquiera de las soluciones mencionadas); con cuidado colocar un cubreobjetos y presionarlo suavemente para eliminar el exceso de fluido de las orillas con ayuda de papel filtro. En caso de ser necesario pueden usarse otros fluidos, en la misma forma. Para eliminar las burbujas de aire, hervir cuidadosamente el polvo con el fluido en el portaobjetos hasta que las partículas se vean claras y se haya eliminado completamente el aire. Si en este proceso se han formado burbujas de aire, entonces calentar ligeramente el polvo con la solución que se encuentra en el portaobjetos, presionar levemente sobre el cubreobjetos, hasta</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>que éstas desaparezcan. Durante este proceso se debe ir agregando solución durante el análisis del polvo para que éste no se seque.</p>		
<p>Debe tenerse cuidado al sustituir el líquido que se evapora, de tal modo que al final de la operación, el espacio de abajo del cubreobjetos se mantenga completamente lleno del fluido que se está utilizando.</p>		
<p>Para superficies de hojas y flores. Para hacer transparentes las hojas delgadas, éstas se hierven directamente sobre un portaobjetos. Cortar la hoja en 2 partes, voltear una de las mitades, de tal modo que la parte superior quede hacia abajo y agregar SR de hidrato de cloral. Hervir el fragmento cuidadosamente sobre la flama pequeña de un micromechero y tan pronto como escapen las burbujas, retirar el portaobjetos de la flama. Cuando ya no hay más burbujas, hervir nuevamente hasta que los fragmentos sean transparentes.</p> <p>En hojas de consistencia papirácea, si se requiere tener fracciones y no se especifica otra cosa, se cortan fragmentos cuadrados del borde de la hoja de aproximadamente 6 mm. Los fragmentos deben tomarse en el tercio o la mitad de la hoja a partir de la base e incluir una nervadura, así como uno o dos fragmentos del borde que contengan el margen dentado, si éste existe. Si se trata de hojas rotas o cortadas, deben tomarse fragmentos apropiados, según lo antes descrito. Colocar los fragmentos dentro de un tubo de ensayo con SR</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>de hidrato de cloral y hervir durante algunos minutos hasta que se vuelva transparente. Transferir a un portaobjetos un fragmento y cortar éste en 2 mitades iguales. Voltear una de las mitades (cara superior hacia abajo) y alinear ambas mitades de modo que ambas superficies (externa e interna) puedan ser observadas bajo el microscopio. Agregar 2 gotas de SR de hidrato de cloral y colocar un cubreobjetos. Con la finalidad de observar características de las superficies de hojas delgadas o pétalos se lleva a cabo la técnica de transparentación (diafanización), la cual consiste en vaciar el contenido celular del tejido vegetal, de tal manera que se puedan observar estructuras como nervaduras, tipos de aparatos estomáticos y células epidérmicas, entre otros. Cuando el material está herborizado, se debe hervir previamente en agua durante aproximadamente 5 min; si es fresco se somete directamente a la transparentación y blanqueado. La muestra se hierve utilizando una caja Petri y una parrilla con termostato, en una disolución de hidróxido de sodio (NaOH) al 5 % durante aproximadamente 10 min; tener cuidado de que la solución no se evapore y la muestra no se seque; posteriormente ésta se enjuaga con agua potable. Para blanquear la muestra, se debe colocar en hipoclorito de sodio (NaClO) al 30 % y calentarla, sin que se alcance la ebullición, hasta que adquiera un color blanquecino; en seguida se lava con agua potable repetidas veces. Se elimina el</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>exceso de agua y sin dejar secar la muestra, se coloca sobre un portaobjetos. Finalmente se monta en gelatina glicerinada* con safranina, o en una solución (SV) de agua: glicerina (1:1). Las hojas y partes de flores (sépalos o pétalos) se pueden cortar en dos mitades, de tal forma que al momento del montaje una de las superficies (abaxial/adaxial) quede hacia arriba y la otra hacia abajo. Cuando el material es de gran tamaño, se deben tomar fragmentos de aproximadamente 6 mm² que no sobrepasen el tamaño del cubreobjetos; los fragmentos deben tomarse en el tercio o la mitad de la hoja a partir de la base e incluir una nervadura, así como uno o dos fragmentos del margen foliar. Si se trata de hojas rotas o cortadas, deben tomarse fragmentos apropiados, según lo antes descrito.</p>		
<p>Para hojas más gruesas, que no se diafanizan con facilidad por los métodos antes mencionados, los fragmentos de la hoja se aclaran mediante ebullición en un tubo de ensayo y se transfiere un fragmento a un portaobjetos. Partir en 2 secciones iguales y voltear una de las partes hacia abajo. Raspar la superficie de las mitades utilizando un escalpelo hasta que quede sólo una capa de epidermis. Lavar la epidermis con unas gotas de SR de hidrato de cloral o de SR de glicerol-etanol para eliminar cualquier residuo y si es posible, voltear ambas partes de la epidermis con la parte superior hacia abajo y adicionar uno de los líquidos antes citados. Cuando las hojas son gruesas se</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>pueden obtener las epidermis por medio del método de raspado o separación. El raspado consiste en obtener fragmentos de la hoja y aclararlos como se ha descrito. Estos fragmentos se colocan sobre un portaobjetos; si se requiere observar características de la superficie adaxial, entonces el fragmento se colocará con la cara abaxial hacia arriba, la cual se empezará a raspar utilizando un bisturí o navaja, hasta eliminar el mesófilo y que quede sólo la capa de la epidermis adaxial. El mismo procedimiento se realiza para la observación de la epidermis abaxial, pero ahora será de manera inversa (con la cara adaxial hacia arriba). Lavar repetidas veces la epidermis con unas gotas de SR de hidrato de cloral o de SR de glicerol-etanol para eliminar los residuos.</p>		
<p>Para hojas aún más gruesas o para hojas carnosas, eliminar la parte superior e inferior de la epidermis, enrollando la hoja ablandada alrededor del dedo índice, presionar con el pulgar y el dedo medio contra el índice, haciendo cuidadosamente una incisión, tomar la parte seccionada con unas pinzas y doblar con cuidado la epidermis hacia atrás. la observación de la superficie epidérmica se puede llevar a cabo por desprendimiento de la misma. Se dobla una de las superficies de una muestra de aproximadamente 1 cm², con la mano y sin alcanzar el otro extremo, se separa la epidermis del lado contrario a la cara que se rompió. Los pétalos y sépalos de las flores pueden tratarse en forma semejante.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Para secciones. Seleccionar fragmentos representativos del material a examinar y cortar en fragmentos de tamaño apropiado, uno de cuyos extremos se alisa después de ablandarse secciones de 1.5 cm² para el caso de hojas y probetas de 2 cm por lado en madera y corteza (esto último dependerá del grosor de la corteza); siempre el extremo a cortar debe alisarse con una navaja después de hidratarse y/o ablandarse.</p>		
<p>Las secciones transversales se preparan cortando con una navaja de rasurar en ángulo recto al eje longitudinal del material. Las secciones longitudinales se preparan cortando en paralelo al eje longitudinal, ya sea en dirección radial (sección radial) o en dirección tangencial (sección tangencial). Las muestras se deben analizar observando las células y tejidos en diferentes planos: transversal y longitudinal (tangencial y/o radial).</p>		
<p>Los materiales gruesos duros como madera, tallos leñosos, rizomas y raíces, pueden cortarse sosteniendo el material suavizado entre los dedos pulgar y el índice, apoyados por el dedo medio o bien deteniéndolo en el orificio central un microtomo manual a mano alzada bajo el microscopio estereoscópico. Sobre la platina se coloca la muestra dependiendo del plano que se quiera obtener; empleando una navaja de rasurar de un filo, se realiza un corte en un solo movimiento de la mano a manera de guillotina y los cortes que se van obteniendo se colocan en una</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>caja de Petri con agua o con SR1 de etanol diluido. Los cortes más delgados, parejos y con los tejidos mejor conservados, se pueden montar en laminillas semipermanentes (agua:glicerol) o teñirse y montarse en gelatina glicerizada con safranina.</p>		
<p>Los materiales delgados como hojas, pétalos y tallos herbáceos deben ser atados o situados entre las dos mitades de un soporte adecuado. Si se requiere, humedecer con SR1 de etanol, tanto la superficie a ser cortada como la navaja. Cortar las secciones tan delgadas y parejas como sea posible. Transferir las secciones utilizando un pincel humedecido con etanol diluido, a un vidrio de reloj que contiene los líquidos antes mencionados. Seleccionar las secciones satisfactorias para preparar los cortes. En el caso de algunos materiales, puede utilizarse un microtomo. pueden colocarse sobre un fragmento de aproximadamente 2 mm de grueso de unigel, el cual se queda sobre la platina del microscopio estereoscópico; esto es con la finalidad de amortiguar el desgaste de la navaja. Realizar el corte fijando la muestra al fragmento de unigel con los dedos. Mantener la muestra constantemente húmeda con SR1 de etanol, tanto la superficie a ser cortada como la navaja. Otras técnicas para obtención de cortes de material herbáceo son la de inclusión en parafina, inclusión en plástico y congelación, para lo cual se emplean diferentes tipos de microtomos.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Las semillas y frutos muy planos, pequeños y/o esféricos que no pueden sostenerse manipularse de la manera descrita anteriormente, se insertan dentro de una hendidura hecha sobre un tapón de caucho o se fijan en parafina dura como se describe a continuación. Preparar un bloque duro de parafina en forma rectangular, de aproximadamente 7 mm x 7 mm x 15 mm y fundir un pequeño orificio en el centro de uno de los extremos por medio de una aguja caliente o una varilla de vidrio delgada. Presionar el material, que preferiblemente está seco o suavizado por exposición a atmósfera húmeda, dentro de este orificio y proceder al corte con una navaja de rasurar (a mano alzada).</p>		
<p>Si se requiere Para-examinar mucílagos, tal como granos de aleurona o esfero-cristales de inulina, cortar el material sin usar agua.</p>		
<p>Clarificación de partículas microscópicas</p>		
<p>La presencia de ciertos contenidos celulares tales como granos de almidón y de granos de aleurona, plastidios, grasas, aceites, etc., con frecuencia proporciona secciones poco translúcidas y oscurecen algunas características. En tales casos se usan reactivos que disuelven algunos de los contenidos celulares antes mencionados y vuelven observables las partes restantes, o bien, producen un efecto de penetración. Esto hace que las células sean más transparentes y se revelen detalles de su estructura.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>La acción de los agentes clarificantes depende del índice de refracción, si éste es cercano al de la estructura celular, el material que se está probando se vuelve casi invisible; si difiere apreciablemente, el material se torna marcadamente la estructura del material se vuelve evidente. Los más frecuentemente usados son los siguientes:</p>		
<p><i>SR de Hidrato de cloral.</i> Por calentamiento suave disuelve granos de almidón, granos de aleurona, plastidios y aceites esenciales; y expande tejidos colapsados y delicados, sin ninguna acción indebida de hinchamiento en las paredes celulares o distorsión de tejido. Tiene un índice de refracción (n_D^{20}) de 1.44 a 1.48 y es el mejor reactivo para poner en evidencia al oxalato de calcio. Es particularmente útil para cristales pequeños, sin embargo, este reactivo tiene poca capacidad para disolver el oxalato de calcio debido a un incremento de acidez cuando se deja en reposo.</p> <p>Nota: El hidrato de cloral puede ser sustituido por hipoclorito de sodio sódico al 6 %.</p>		
<p><i>Hipoclorito sódico de sodio.</i> Usado para blanquear secciones fuertemente coloreadas. Sumergir las secciones en hipoclorito sódico de sodio concentrado al 6 % por unos minutos hasta que estén suficientemente blanqueadas, lavar con agua y preparar el montaje con SR de glicerol-etanol. Las secciones blanqueadas dan reacción negativa a la lignina.</p>		
<p><i>SR de Lactocloral.</i> Tiene un uso similar al del hidrato de cloral pero generalmente se aplica a</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>secciones difíciles de clarificar. Puede usarse frío. Antes de usarse, debe eliminarse el aire presente en el espécimen colocándolo en un desecador y aplicando vacío.</p>		
<p><i>SR de Lactofenol.</i> Este puede ser usado en frío o en caliente. Tiene un índice de refracción (n_D^{20}) de 1.44 y es útil para la preparación de hongos, polen, frutos y semillas, la mayoría de los polvos no oleosos y algunos parásitos como ácaros, gusanos nemátodos, etc. Con este reactivo pueden medirse apropiadamente los tamaños de los granos de almidón, pero los anillos concéntricos son usualmente invisibles cuando se preparan en este reactivo. Los cristales de oxalato de calcio son claramente visibles en lactofenol y brillan cuando se iluminan con luz polarizada. Este reactivo disuelve los depósitos de carbonato de calcio con una lenta efervescencia, debido a la presencia de ácido láctico.</p>		
<p><i>Disolventes usados para grasas y aceites.</i> El xileno y el SR1 de éter dietílico-éter de petróleo pueden usarse para eliminar grasas y aceites de polvos o secciones oleosas. Sumergir el material en el disolvente por poco tiempo, decantar y lavar con disolvente fresco.</p>		
<p>Detección histoquímica de paredes y contenidos celulares</p>		
<p>La aplicación de reactivos a secciones o muestras en polvo sobre el portaobjetos puede llevarse a cabo ya sea de dos formas:</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>1) por adición Adicionar gotas del reactivo a la muestra y colocación del cubreobjetos seguida por irrigación, e usando una pipeta, para que la muestra se siga manteniendo húmeda.</p>		
<p>2) poniendo unas gotas del reactivo por un lado del cubreobjetos de un espécimen preparado, eliminando el líquido que queda debajo del cubreobjetos por succión y colocando un pedazo de papel filtro por el lado opuesto usar unas gotas del reactivo por un lado del cubreobjetos del espécimen preparado, eliminando el líquido que queda debajo del cubreobjetos por succión. Esto se lleva a cabo colocando un pedazo de papel filtro u otro material absorbente en alguno de los lados del cubreobjetos.</p>		
<p>Usando el segundo método y observando bajo microscopio, puede seguirse el progreso de la reacción química al microscopio. Debe tenerse Tener cuidado de evitar el uso de reactivos o vapores que puedan atacar la lente u otras partes del microscopio.</p>		
<p><i>Paredes celulares de celulosa.</i> Adicionar a la muestra de 1 a 2 gotas de SR de cloruro de zinc yodatado y dejar en reposo unos minutos, alternativamente puede agregarse 1 gota de yodo 0.1 M SV, dejar reposar por 1 min, eliminar el exceso de reactivo con una tira de papel filtro y añadir 1 gota de SR1 de ácido sulfúrico; las paredes celulares de celulosa se tiñen de color azul a azul violeta. Por adición de 2 gotas de SR de cuoxam, las paredes celulares de celulosa se</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>hinchán y se disuelven gradualmente degradan progresivamente.</p>		
<p><i>Paredes celulares lignificadas.</i> Humedecer el polvo o sección en un portaobjeto con un pequeño volumen de SR2 de floroglucinol y dejar en reposo por aproximadamente 2 min o casi a sequedad, o hasta que la muestra quede casi seca. Adicionar 1 gota de ácido clorhídrico concentrado y colocar un cubreobjetos, las paredes celulares lignificadas se tiñen de color rosa a rojo-cereza. El ácido clorhídrico es corrosivo, por lo que se debe evitar el contacto directo (o a través de sus vapores), con la piel y ojos, entre otros; así como con las partes del microscopio.</p>		
<p><i>Paredes celulares cuticulares o suberizadas.</i> Adicionar a la muestra de 1_ a 2 gotas de Si rojo sudán y dejar reposar por unos minutos o calentar suavemente; las paredes celulares cuticulares o suberizadas se tiñen de color rojo-naranja a rojo.</p>		
<p><i>Granos de aleurona.</i> Adicionar a la muestra unas gotas de SR de yodo-etanol; los granos de aleurona se vuelven de color café-amarillento a café. Adicionar entonces unas gotas de SR de trinitrofenol etanólico y aparece un color amarillo. Añadir aproximadamente 1-0 mL de SR de nitrato mercúrico y dejar que se disuelva; La solución cambia a rojo ladrillo. Si el espécimen contiene gran cantidad de lípidos, eliminar la grasa por inmersión y lavado en un disolvente apropiado, antes de realizar las pruebas anteriores.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Carbonato de calcio. Los depósitos o cristales de carbonato de calcio se disuelven lentamente con efervescencia cuando se agrega SR1 de ácido acético o ácido clorhídrico 70 g/L. Para evidenciar los cistolitos se pueden usar colorantes; se tiñen de azul con azul de metileno y los que están en formación se colorean de rojo con rojo de rutenio. Si se requiere que estos depósitos se disuelvan, entonces se agrega SR1 de ácido acético o ácido clorhídrico 70 g/L; dichos depósitos se disuelven lentamente con efervescencia.</p>		
<p>Oxalato de calcio. Los cristales de oxalato de calcio son insolubles en SR1 de ácido acético pero se disuelven sin efervescencia en ácido clorhídrico 70 g/L. (Si se aplica por aspersion, el ácido debe ser más concentrado). También se disuelven en SR2 de ácido sulfúrico, pero cuando se deja reposar por más de 10 min, se separan cristales en forma de agujas de sulfato de calcio. A la luz polarizada, los cristales de oxalato de calcio son birrefringentes. El oxalato de calcio se visualiza mejor después de aclarar la muestra, por ejemplo, con SR de hidrato de cloral. A la luz polarizada, este tipo de cristales son birrefringentes; se presentan en forma de prismas, drusas, estiloides y rafidios, entre otros. Se visualizan mejor después de aclarar la muestra con SR de hidrato de cloral. Si se requiere que se disuelvan, se usa ácido clorhídrico 70 g/L (aquí no hay efervescencia); cuando se aplica por aspersion, el ácido debe ser más concentrado. También se puede emplear SR2 de</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>ácido sulfúrico; cuando se deja reposar por más de 10 min, se pueden separar cristales en forma de agujas (estiloides o rafidios) de sulfato de calcio. Los cristales de oxalato de calcio son insolubles en SR1 de ácido acético.</p>		
<p>Grasas, aceites fijos, aceites esenciales y resinas. Adicionar de 1 a 2 gotas de SI rojo de Sudán a la preparación y dejar reposar durante unos minutos o calentar suavemente si es necesario. Los aceites fijos se tiñen de rojo-naranja a rojo. Rociar la preparación con etanol y calentar suavemente; los aceites esenciales y las resinas se disuelven en el disolvente, mientras que las grasas y los aceites fijos (excepto el aceite de ricino y el de crotón) permanecen intactos.</p>		
<p>Hidroxiانtraquinonas. Adicionar 1 gota de hidróxido de potasio al 5.5 por ciento %; las células que contienen 8-dihidroxiانtraquinonas se tiñen de rojo.</p>		
<p>Inulina. Adicionar 1 gota de SR1 de α-naftol y otra de ácido sulfúrico concentrado; los agregados esféricos de inulina se vuelven de color púrpura y se disuelven.</p>		
<p>Mucílago. Adicionar 1 gota de tinta china a la muestra seca; el mucílago se muestra en forma de fragmentos esféricos dilatados sobre un fondo negro. Alternativamente, adicionar 1 gota de SR de tionina a la muestra, secar y dejar reposar por 15 min, lavar con SR2 de etanol, el mucílago se torna rojo-violeta (la celulosa y las paredes de las células</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
lignificadas se tiñen de azul y azul-violeta, respectivamente).		
Almidón. Adicionar un pequeño volumen de yodo 0.02 M; se produce un color azul o azul rojizo Adicionar un pequeño volumen de yodo 0.02 M; se produce un color azul o azul-rojizo. A un poco de material bien disgregado, para que los granos puedan observarse lo mejor posible, adicionar un pequeño volumen de SR de glicerol-etanol y examinar al microscopio con luz polarizada; se observa birrefringencia dando un efecto de cruz maltesa, con la cruz interceptando el hilio.		
Taninos. Adicionar a la muestra 1 gota de SR3 de cloruro férrico; la solución los contenidos se tornan de color negro-azulado o negro-verdoso.		
Desintegración de tejidos (maceración)		
La desintegración de pequeñas secciones de órganos permite la separación de células para el análisis de sus características. Cortar el material en pequeñas piezas (2 mm de grueso y 5 mm de largo) o en rebanadas de 1 mm de grueso. En el caso de madera (xilema secundario) de tallos se prefieren las secciones tangencial-longitudinales. raíces, las piezas se obtienen de las caras longitudinales. Si el material está seco, hervir en agua.		
En el caso de tejidos con paredes celulares lignificadas usar el método 1 o 2. Para tejidos en los que las células lignificadas son escasas o aparecen en pequeños grupos, usar el método 3.		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p><i>Método 1. Ácido nítrico y clorato de potasio (Método de Schultze).</i> Colocar el material en un tubo de ensayo que contenga 5.0 mL de SR de ácido nítrico. Añadir pocos cristales de clorato de potasio. Calentar suavemente con un baño de arena en una campana cerrada hasta que el material se blanquee (adicionar nuevas porciones de clorato de potasio en polvo según se requiera). Cuando se observa una tendencia a la desintegración, se prueba su resistencia presionando el material con una varilla de vidrio. Si el material se rompe, interrumpir la reacción vertiendo el contenido del tubo de ensayo en agua. Permitir que el material se asiente y decantarlo, lavando con agua hasta eliminar la acidez. Transferir el material a un portaobjetos y disgregarlo con una aguja. Adicionar 1 gota de SR de glicerol-etanol y colocar un cubreobjetos. El material desintegrado da negativa a la reacción para lignina.</p>		
<p><i>Método 2. Ácido nítrico y ácido crómico (Método de Jeffrey).</i> Colocar el material en un vidrio de reloj pequeño y calentar con SR de ácido nitrocrómico hasta que el material se disgregue fácilmente cuando se presiona con una varilla de vidrio. una pequeña fracción del material en una caja de Petri pequeña y calentar por 1 a 2 días; de 30 a 40 °C con SR de Jeffrey hasta que el material se disgregue fácilmente cuando se presiona con una varilla de vidrio. Si el material es blando, el tiempo de exposición al calor puede ser menor. Lavar el</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>material varias veces con agua y pasarlo a un portaobjetos. Disgregar el material, adicionar 1 gota de SR de glicerol-etanol y colocar un cubreobjetos. El material da negativo a la reacción para lignina.</p>		
<p><i>Método 3. Método de álcalis cáusticos.</i> Digerir el material en un tubo de ensayo que contenga 5 mL de una solución de hidróxido de potasio (112 g/L, 2 M) o de una solución de hidróxido de sodio (80g/L, 2 M) y calentar en un baño de agua durante 15 min a 30 min hasta que una parte se separe con facilidad cuando se presiona con una varilla de vidrio. Decantar el líquido y lavar calentando con agua, eliminándola y repitiendo la operación varias veces. Este método es particularmente útil para la desintegración de hojas y flores, o tejidos suaves como la epidermis. El material desintegrado da negativa la reacción para lignina.</p>		
<p>Medición de especímenes</p>		
<p><i>Equipo.</i> Para medir el tamaño de los objetos pequeños, usar un microscopio con un micrómetro ocular. Las escalas deben ser calibradas usando un micrómetro, que consiste de un portaobjetos de vidrio de tamaño normal, sobre el cual se ha grabado o está fotografiada una escala de 1 mm o 2 mm de longitud en divisiones de 0.1 mm y 0.01 mm. El micrómetro ocular (<i>figura 0040.1</i>) tiene un pequeño disco de vidrio en el que está grabada o fotografiada una escala de 100 líneas, que se coloca en el diafragma de un ocular de Huygens.</p>		

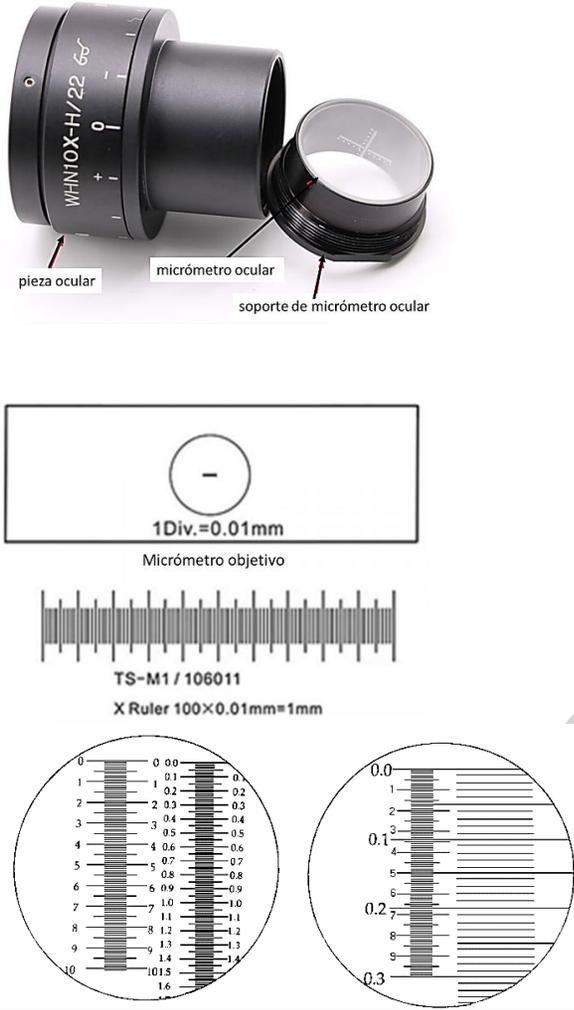
"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p><i>Calibración del ocular micrométrico.</i> Enfocar la escala del micrómetro ocular moviendo la lente hasta que se obtenga una definición clara. Sobreponer el micrómetro objetivo (<i>figura 0040.1</i>) en la escala del micrómetro ocular y alinear las divisiones de la escala. Ambas escalas deben estar perfectamente definidas en el campo. Moviendo el ocular, pueden colocarse exactamente en una posición paralela, y si se requiere, el micrómetro objetivo puede moverse hasta que el inicio de ambas escalas coincida (<i>figura 0040.1</i>). Contar el número de divisiones del micrómetro ocular que corresponden con una cierta distancia del micrómetro del objetivo con la finalidad de determinar cuál es la longitud equivalente a una división de la escala del micrómetro del ocular, por ejemplo, si 100 divisiones de la escala del micrómetro ocular son iguales a 30 divisiones de la escala del objetivo, puesto que las divisiones del objetivo están a una distancia de 0.01 mm; 100 divisiones del micrómetro ocular son equivalentes a 0.30 mm y cada pequeña división del micrómetro ocular representa 3.0 μm. Como el valor del micrómetro se aplica sólo a una combinación de lentes específica, es aconsejable determinar y anotar los valores micrométricos para las combinaciones de lentes que se usan con mayor frecuencia.</p>		
<p><i>Método.</i> Colocar el espécimen en la placa del objetivo del microscopio y enfocar el objeto que va a ser medido. Sobreponer la escala micrométrica</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>ocular en el objeto y leer sus dimensiones con el micrómetro ocular. Multiplicar el número de divisiones de la escala por el valor micrométrico, lo que dará el valor real en micrómetros. Por este método, usando objetivo 40x y un ocular 6x, las mediciones son correctas hasta valores cercanos a 2 µm, por ejemplo, una dimensión de 20 µm está sujeta a un error de 2 µm o 10 %, o ± 5 %; una dimensión de 100 µm a uno de 2 % o ± 1%.</p> <p>En el caso de objetos curvos y alargados, las mediciones de longitud pueden hacerse usando un microscopio equipado con un aditamento para dibujo o una cámara-lúcida. El instrumento debe disponerse de tal manera que enfoque claramente y en forma simultánea la imagen del objeto, el papel para dibujar y el lápiz. Con el micrómetro objetivo en su lugar, trazar las líneas de la escala del micrómetro objetivo sobre un papel adecuadamente sujeto o sobre un cuaderno de dibujo, inclinar el cuaderno si es necesario hasta que las divisiones dibujadas sobre el papel estén igualmente separadas. El aumento se determina midiendo la distancia entre las líneas seleccionadas en el papel y dividiendo entre la distancia entre las líneas correspondientes en el micrómetro del objetivo. Colocar el espécimen en la placa del objetivo y trazar la imagen del objeto sobre el papel. Sobreponer un hilo de color a lo largo de la imagen dibujada en el papel, estirar el hilo y medir la longitud del hilo usando una regla graduada en</p>		

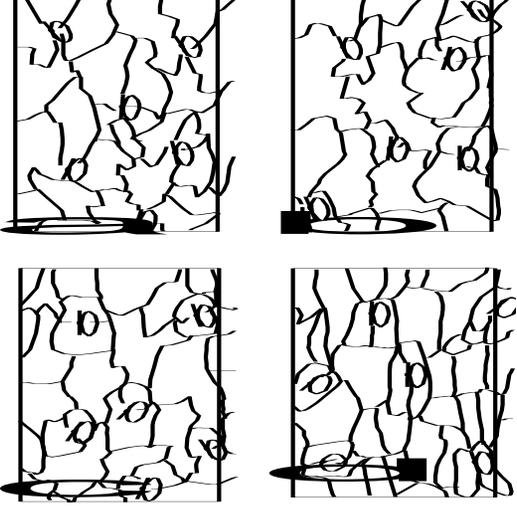
"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>milímetros; dividir la longitud medida entre el aumento para obtener la longitud del objeto real.</p>  <p>Figura 0040.1.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
Estomas de hojas		
<p><i>Tipos de estomas. En una hoja madura pueden observarse cuatro tipos básicos de aparatos estomáticos (figura 0040.2); los cuales se distinguen por el arreglo de las células anexas (subsidiarias o acompañantes), con respecto a las oclusivas (estomáticas o guarda). Cuando se describe una epidermis en la que algunos estomas difieren del tipo predominante, el término que se aplica es el que corresponde a la mayoría.</i></p>		
<p>a) Anomocítico o ranuláceo ranunculáceo (células irregulares); en el que el estoma está rodeado por un número variable de células que generalmente no difieren de las de la epidermis.</p>		
<p>b) Anisocítico o crucífero (células desiguales); en el que el estoma suele estar rodeado por tres 3 o 4 cuatro células subsidiarias, una de las cuales es claramente más pequeña que las restantes.</p>		
<p>c) Diacítico o cariofiláceo (células transversales): el estoma está acompañado de 2 dos células subsidiarias cuya pared común forma un ángulo recto con el estoma una línea perpendicular con el eje longitudinal de las células oclusivas.</p>		
<p>d) Paracítico o rubiáceo (células paralelas) ; el estoma presenta dos células subsidiarias, en las cuales el eje longitudinal es paralelo al eje del estoma paralelas al eje mayor de las células oclusivas.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
		
<p>Figura 0040.2. Tipos de estomas.</p>		
<p><i>Determinación del índice estomático.</i> El índice estomático es el porcentaje de estomas existentes con relación a las células epidérmicas.</p>		
<p>Colocar fragmentos de hoja, de aproximadamente 5 mm x 5 mm de tamaño, en un tubo de ensayo con 5.0 mL de SR de hidrato de cloral y calentar en un baño de agua por aproximadamente 15 min o hasta que los fragmentos sean transparentes. Transferir un fragmento a un portaobjetos y preparar como se describió anteriormente, en SR de hidrato de cloral, haciendo evidente la epidermis inferior, y colocando una pequeña gota de SR de glicerol-etanol por un lado del cubreobjetos, para evitar que el material se seque. Examinar al microscopio con un objetivo 40x y un ocular 6x, equipado con un aparato de dibujo. Marcar en el papel del dibujo</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
una cruz (x) por cada célula epidérmica y un círculo (o) por cada estoma. Calcular el índice estomático de la siguiente manera:		
Índice estomático $= \frac{S \times 100}{E + S}$		
donde:		
S = número de estomas en un área dada de hoja		
E = número de células epidérmicas (incluyendo tricomas) en la misma área de hoja.		
Para cada muestra de hoja, llevar a cabo al menos 10 determinaciones para calcular el índice estomático.		
Microsublimación		
<i>Se trata de un ensayo físico-químico cualitativo que caracteriza la presencia de ciertos compuestos derivados del metabolismo secundario.</i>		
Montar una pequeña placa cuadrada de metal de aproximadamente 4 cm x 4 cm, sobre una placa de asbesto a la cual se le ha hecho un orificio de 1.0 cm de diámetro en el centro. Colocar un anillo de metal de aproximadamente 1.0 cm de diámetro y 8 mm de altura en el centro de la placa de metal alineado con el agujero de la placa de asbesto. Colocar 0.1 g a 0.2 g de material en polvo en la base del anillo de metal de manera que se forme una capa plana, de 2 mm de espesor. Cubrir el anillo con un portaobjetos limpio. Calentar suavemente y en forma gradual con la pequeña llama de un mechero Bunsen o de una lámpara de alcohol. Cambiar el portaobjetos si se observa una cantidad apreciable de agua o de sublimado.		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
Normalmente se preparan cuatro 4 a cinco 5 portaobjetos. Quitar el portaobjetos del anillo metálico y dejarlo reposar hasta que el sublimado esté seco. Examinarlo luego al microscopio sin agregar ningún fluido ni cubreobjetos.		
Si se dispone de un objetivo susceptible de calentarse, puede registrarse la temperatura de sublimación.		
Aguilar-Rodríguez S. 1998. Técnicas de laboratorio para el estudio de las embriofitas. En: Tejero-Díez J.D. y Granillo-Velázquez M.P. Eds. <i>Plantae</i>. Introducción al Estudio de las Plantas con Embrión, pp. 247-272, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.		
Sandoval, Z. E. 2005. Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal. Volumen 38 de Cuadernos del Instituto de Biología, México. UNAM. 278 pp.		
Berlyn P G., J. P. Miksche 1976. Botanical Microtechnique and Cytochemistry. Iowa State University Press, 326 pp. ISBN: 0608001511, 9780608001517.		

*Para una mejor comprensión de su solicitud adjunte bibliografía u otros documentos que sustenten sus comentarios.