

DENSIDAD POBLACIONAL, REGISTRO DE PETROGLIFOS Y ACTIVIDAD GENOTÓXICA DE *Vasconcellea quercifolia* “pati” DE WARI. AYACUCHO, 2019

Tomas Miranda Tomasevich, Alejandro Yarlequé Mujica¹, Ismael Z. Pérez Calderón², Miriam Moreno Hinojosa³

Unidad de Investigación e Innovación de Ciencias Biológicas
Programa de Investigación: Biodiversidad y Gestión Ambiental- Línea de Investigación: Biodiversidad
E-mail: tomas.miranda@unsch.edu.pe

RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el objetivo de calcular la densidad poblacional, registrar los petroglifos y determinar la actividad genotóxica “*in vitro*” de extracto de alcaloides de hojas de *Vasconcellea quercifolia* “pati” del complejo arqueológico Wari. Diseño Metodológico: estudio con enfoque cuantitativo y diseño experimental. Población: *Vasconcellea quercifolia* “pati” que se desarrollan en el yacimiento arqueológico Wari, distrito de Quinua, provincia de Huamanga, región de Ayacucho. Muestras: plantas y hojas de *Vasconcellea quercifolia* “pati”, seleccionadas en estado de madurez fisiológica que se encontraban en buen estado. Muestreo: por conveniencia. Resultados: se ha contabilizado 2558 plantas de *Vasconcellea quercifolia* “pati”, en 600 hectáreas recorridas por las diferentes zonas del yacimiento arqueológico Wari en el año 2019. Se ha identificado y registrado los petroglifos de “pati” principalmente en las zonas C y D del yacimiento arqueológico Wari. El extracto de alcaloides obtenidas de hojas de *Vasconcellea quercifolia* “pati”, presenta un potente efecto genotóxico fragmentando más de 95% de ADN genómico humano, sometido al ensayo “*in vitro*”. Conclusión: La densidad poblacional de *Vasconcellea quercifolia* “pati”, en el complejo arqueológico Wari es de 4.26 plantas/ha. Se ha identificado y registrado los petroglifos de “pati” principalmente en las zonas C y D del complejo. El extracto de alcaloides de las hojas “pati” presenta potente actividad genotóxica frente a ADN genómico humano.

Palabras clave: Genotoxicidad, *Vasconcellea quercifolia*, “pati”.

POPULATION DENSITY, REGISTRATION OF PETROGLYPHES AND GENOTOXIC ACTIVITY OF *Vasconcellea quercifolia* “pati” DE WARI. AYACUCHO, 2019

ABSTRACT

The present work was carried out with the objective of calculating the population density, recording the petroglyphs and determining the genotoxic activity "in vitro" of the alkaloid extract of *Vasconcellea quercifolia* "pati" leaves from the Wari archaeological complex. Methodological Design: study with a quantitative approach and experimental design. Population: *Vasconcellea quercifolia* “pati” that are developed in the Wari archaeological site, Quinua district, Huamanga province, Ayacucho region. Samples: plants and leaves of *Vasconcellea quercifolia* "pati", selected in a state of physiological maturity that were in good condition. Sampling: for convenience. Results: 2558 plants of *Vasconcellea quercifolia* "pati" have been counted, in 600 hectares covered by the different areas of the Wari archaeological site in 2019. Petroglyphs of "pati" have been identified and recorded mainly in zones C and D of the Wari archaeological site. The alkaloid extract obtained from the leaves of *Vasconcellea quercifolia* "pati" has a powerful genotoxic effect, fragmenting more than 95% of human genomic DNA, subjected to the "in vitro" test. Conclusion: The population density of *Vasconcellea quercifolia* "pati", in the Wari archaeological complex is 4.26 plants / ha. Petroglyphs of “pati” have been identified and recorded mainly in zones C and D of the complex. The alkaloid extract of the "pati" leaves has a potent genotoxic activity against human genomic DNA.

Keywords: Genotoxicity, *Vasconcellea quercifolia*, "pati".

¹UNSCH. Facultad de Ciencias de la Salud. Laboratorio de Farmacia y Bioquímica.

²UNSCH. Facultad de Ciencias Sociales. Área Arqueología.

³ Colaboradora

INTRODUCCIÓN

En las culturas prehispánicas, algunos árboles, cactus y yerbas, entre ellas sus hojas, raíces, tallos, flores y frutos, cultivadas o silvestres, jugaron un papel fundamental en la medicina tradicional, también como adornos y/o símbolos mágicos; por citar, el “cactus” en la cultura Chavín aparece representado como un cetro o báculo de poder mágico religioso; el “palo verde” en la cultura Moche o Mochica, aparece asociado a campos de caza de venados; el “qantu” fue la flor preferida en la élite de la sociedad inca y, el “pati” es considerado como árbol sagrado de la cultura Wari, por tanto, un indicador para determinar la presencia. El arqueólogo Luis Lumbreras sostiene que el árbol “pati”, procede del valle Pampas y Apurímac, de donde los Wari, pudieron haberlo traído por lo útil y ornamental para la ciudad, capital política administrativa del imperio del mismo. (Miranda y col, 2010).

El yacimiento arqueológico de Wari, es la zona de vida donde se encuentra el árbol de "pati", correspondiente a estepa espinosa Montano Bajo Subtropical (ee-MBS), que según Holdridge y Pulgar Vidal pertenece a la región Quechua en el territorio peruano. (Miranda y col, 2010).

Las ruinas del yacimiento, está ubicado a una distancia aproximada de 23 Km por carretera desde la ciudad de Ayacucho, entre los distritos de Pacaycasa y Quinoa, provincia de Huamanga y Departamento de Ayacucho. Tiene una biotemperatura promedio anual de 18°C, humedad relativa ambiental (HRA) de 65% y presión atmosférica de 590 mmHg. El árbol "pati" crece en las ruinas de Wari, desde tiempos inmemorables, distribuidos desde los 2690 m.s.n.m. en su parte más baja, siendo la parte intermedia de 2870 m.s.n.m. donde es más abundante la especie, extendiéndose su zona de vida hasta los 2940 m.s.n.m. que es la parte más alta donde crece esta planta. (Yarlequé y col, 1999).

El uso de las plantas medicinales en las diferentes poblaciones del mundo, han alcanzado gran importancia en los últimos años, pero también se tiene reportes del daño que podrían estar causando a nivel del ADN (genotoxicidad); por lo que se recomienda realizar estudios o pruebas que permiten medir el daño que puede causar los metabolitos secundarios, a nivel del ADN de las células del organismo que esté recibiendo el tratamiento con productos vegetales. (Carballo y col, 2005).

En Ayacucho-Perú se está investigando el efecto genotóxico de plantas medicinales de uso común en ésta región; por citar, un estudio que demostró el efecto genotóxico *in vitro* de plantas medicinales antivirales *Ficus carica* “higo” y *Euphorbia peplus* “leche leche”, cuyos resultados revelan que los látex de estas dos plantas tienen efecto genotóxico sobre ADN genómico humano, donde las concentraciones del látex influyen en el efecto genotóxico. (Pillaca, 2013).

Los pobladores actuales de los alrededores del yacimiento arqueológico Wari, refieren que *Vasconcellea quercifolia*, conocido comúnmente por ellos con el nombre de “pati”, es una planta que manifiesta muchas propiedades medicinales, siendo utilizadas las hojas, el fruto y el látex para preparar diferentes remedios caseros, lo que ha motivado realizar el presente trabajo de investigación planteándonos como objetivo: calcular la densidad poblacional, registrar los petroglifos y determinar la actividad genotóxica “*in vitro*” de extracto de alcaloides de hojas de *Vasconcellea quercifolia* “pati” del complejo arqueológico Wari.

MATERIAL Y MÉTODOS

La identificación y recolección de las muestras, fueron tomadas en la circunscripción de los yacimientos arqueológicos de la Cultura Wari, distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga de la región Ayacucho, Perú.

• Para la densidad poblacional de “pati” y registro de petroglifos de “pati”.

Toda la circunscripción de los yacimientos arqueológicas de las ruinas de la Cultura Wari, fue dividida en cuatro zonas: zona A, zona B, zona C y zona D, considerando su ubicación geográfica y rango de altitud de las mismas. Además, de la ubicación de canteras, murallas, patios de la ciudadela y asentamientos cercanos entre ellos: Churo, Ocopa, Tablapampa, Quinoa Corral y Machahuay.

Se procedió al conteo de cada uno de los individuos de “pati”; así mismo, los petroglifos, tallados o grabados que representan las siluetas del árbol de “pati” en cada una de las zonas predeterminadas.

La densidad de la población de *Vasconcellea quercifolia* “pati”, resultó del número de individuos de *Vasconcellea quercifolia* “pati” entre el área ocupado en hectáreas (ha), en el tiempo determinado año 2019.

• Para la obtención del extracto de alcaloide y efecto genotóxico.

Las muestras de hojas de *Vasconcellea quercifolia* “pati” seleccionadas de plantas en estado de madurez fisiológica que se encontraban en buen estado, fueron recolectadas en horas de la mañana luego transportadas al laboratorio del Centro de Investigación en Biología Molecular y Bioinformática de la Facultad de Ciencias Biológicas de la

UNSCH, para someterlos a secado en temperatura ambiente. Una vez secada la muestra, se trituró empleando un mortero y pilón de porcelana con la finalidad de obtener un polvo fino y se procedió a realizar la preparación del extracto.

Extracción de alcaloides:

Se pesaron 40 g del pulverizado de las hojas de “pati” y se maceró con NH₄OH 17 % durante 24 horas, luego se evaporó el amoníaco al aire libre y al residuo se le añadió acetato de etilo para cubrir la superficie, durante tres horas; luego se filtró y la solución orgánica se evaporó a sequedad, al residuo se le trató con ácido acético al 10 % y se llevó a un pH entre 10 y 11 con hidróxido de amonio 17 %; finalmente se extrajo con cloroformo y se obtuvo una fase orgánica que se concentró para realizar una cromatografía en capa fina y se usó como soporte sílica gel F254 y una serie de solventes:

- Tolueno: acetato de etilo: dietilamina (70 : 20 : 10)
- Acetato de etilo: metanol: agua (10: 13.5 : 10)
- Metanol: hidróxido de amonio (200 : 3)
- Cloroformo: dietilamina (90 : 10)
- Tolueno: acetona: etanol: amoníaco (40 : 40 : 6 : 2)
- Acetona: agua: amoníaco (90 : 70 : 3)

Luego se realizó una cromatografía preparativa utilizando como solvente de elección cloroformo: dietilamina (90 : 10), soporte sílica gel F254 y revelador el reactivo de Dragendorff. (Lock de Ugaz, 1994).

Con la fase orgánica también se realizó las pruebas para alcaloides como la reacción de Erdmann, Marquis, Shaer, Dragendorff, Hager, Mayer y Wagner. (Miranda y col, 2000).

Obtención de ADN genómico humano.

Se obtuvo 5 mL de sangre total de un voluntario, en un tubo conteniendo anticoagulante y se procedió a realizar la obtención del ADN con el siguiente protocolo: (Miranda y col, 2013).

1. Se transfirió 1 mL de sangre de un tubo de centrifuga con tapa y adición 9 mL del tampón Tris– HCL 50 mM (pH 7.7) precalentado a 37 °C.
2. Se homogenizó e incubó a 37 °C por 30 minutos, luego se centrifugó a 2500 rpm por 10 minutos para sedimentar los glóbulos blancos.
3. Se descartó el sobrenadante aspirándolo con una pipeta Pasteur dejando 1 mL del centrifugado (botón celular) en la parte inferior del tubo.
4. Se repitió los procedimientos 2 y 3 (esta vez con 7 mL de tampón Tris – HCl 50 mM (pH 7.7), 4 y 5 hasta tener un preparado claro.
5. Luego se adicionó 1 mL de centrifugado, 9 mL de solución salina (NaCl al 0.85%) homogenizar y centrifugar a 2500 rpm durante 10 minutos.
6. Se aspiró y descartó el sobrenadante dejando solo el sedimento (botón celular), se resuspendió el sedimento en 0.5 mL de la solución HIGH TE (Tris-HCl 50 mM, pH 8.0; EDTA 100 mM). Se resuspendió el sedimento y transfirió a un tubo de microcentrífuga de 2 mL.
7. Se adicionó 0.5 mL de solución de lisis (Tris-HCl 10 mM, pH 8.0; EDTA 40 mM; SDS 1 %; NaCl 10 mM) precalentada a 50 °C.
8. Luego se agregó 10 µL de la solución de proteinasa K (20 mg/mL) e incubó por una hora y media a 53 °C.
9. Se adicionó 750 µL cloroformo: alcohol isoamílico (24:1) y homogenizó por inversión delicadamente durante 10 minutos.
10. Se centrifugó a 14,000 rpm durante 10 minutos para separar las fases, luego se aspiró la fase superior acuosa que contiene el ADN y transfirió a un tubo nuevo de microcentrífuga de 2 mL.
11. Se adicionó a la fase acuosa 1 mL de la solución de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1) y homogenizó por inversión durante 5 minutos. Se centrifugó durante 10 minutos a 14 000 rpm, se aspiró la fase acuosa que contiene el ADN y transfirió a un tubo nuevo de microcentrífuga de 2 mL.
12. Se repitió el procedimiento 11 hasta obtener una fase acuosa completamente clara.
13. Luego se adicionó la solución de acetato de sodio 3M, pH 5.2. en cantidad igual a 1/10 del volumen de la fase acuosa.
14. Se agregó un volumen de alcohol isopropílico helado y dejó en reposo por una noche en hielo. Luego se centrifugó durante 15 minutos a 14 000 rpm.
15. Se eliminó cuidadosamente el sobrenadante y enjuagó el sedimento con 1 mL de etanol al 70%.
16. Se volvió a centrifugar durante 10 minutos, se eliminó el alcohol y dejó secar el sedimento a temperatura ambiente.
17. Se resuspendió el sedimento con 400 µL de la solución low TE (Tris HCl 50 mM, pH 8.0; EDTA 1 mM. Se guardó el ADN obtenido, en la nevera.

Determinación de genotoxicidad “*in vitro*” mediante método Tomasevich:

Los ensayos se desarrollaron con el siguiente protocolo: (Miranda y col, 2017).

Fase de cuantificación y preparación de stock de ADN genómico obtenido para el ensayo.

El ADN genómico humano obtenido, fue cuantificado por espectrofotometría UV marca Eppendorf BioPhotometer plus; luego se preparó un stock a concentración de 1,500 ng/ μ L en volumen final de 150 μ L, para cada ensayo del estudio.

- **Fase de ensayo de genotoxicidad “*in vitro*” del extracto de alcaloide, sobre el ADN genómico humano.**

Se preparó las soluciones de alcaloides obtenidos de las hojas de *Vasconcellea quercifolia* “pati”, a concentraciones de 5, 10, 50 y 100 mg/mL, respectivamente, con agua bidestilada estéril.

Se acondicionó las mezclas para ensayo de genotoxicidad *in vitro* de ADN genómico humano, de acuerdo al detalle siguiente:

Tabla 1. Preparación de las mezclas para ensayo de genotoxicidad “*in vitro*” de alcaloides de las hojas de *Vasconcellea quercifolia* “pati”, sobre ADN genómico humano.

Condiciones	Mezclas para ensayo de genotoxicidad “ <i>in vitro</i> ”						
Nº de tubo	1	2	3	4	5	6	
Stock de ADN (1 500 ng/ μ L) Volumen en μ L	1 4	14	14	14	-	1 4	
Extracto de Alcaloides	Concentra ción (mg/mL)	5	10	50	100	100	-
	Volum en (μ L)	6	6	6	6	2 0	-
Agua bidestilada estéril	-	-	-	-	-	6	
Volumen total (μ L)	2 0	20	20	20	2 0	2 0	
Incubación en baño María a 37°C	1 hora						

Se realizaron cuatro repeticiones de los ensayos de genotoxicidad “*in vitro*”, de la planta medicinal en estudio.

- **Fase de electroforesis para la detección de genotoxicidad.**

Se preparó el gel de agarosa a 1% y se dispuso en una cámara de electroforesis Biometra.

Para el volumen de carga en gel de agarosa, se utilizó las siguientes cantidades:

1 μ L de *loading* (colorante señalizador de migración de las bandas), 7 μ L de la solución para la prueba de genotoxicidad *in vitro* y 2 μ L de agua bidestilada estéril, volumen final 10 μ L; se mezcló y se cargó en el respectivo pozo del gel de agarosa para electroforesis.

Se instaló la cámara de electroforesis a la fuente de poder y programó a 30 voltios (V) durante tres horas.

- **Fase de radiación UV para la visualización de genotoxicidad.**

Luego del tiempo de corrido electroforético, se sumergió el gel de agarosa en una solución de bromuro de etidio al 1% durante diez minutos aproximadamente, se enjuagó con agua corriente dos veces y para visualizar las bandas y/o fragmentos de ADN productos de la genotoxicidad, se colocó el gel expuesto a radiación de luz ultra violeta, dentro del sistema de registrador de imágenes Biometra *UVsolo TS*.

- **Fase de interpretación del registro visual de genotoxicidad “*in vitro*”.**

La escala de los valores numéricos correspondientes a los niveles de fragmentación del ADN como producto de la genotoxicidad, visualizados en el registro fotográfico, fueron basados en la clasificación del “ensayo cometa” propuesto por Speit (1995) y Collins (2004), en tesis de Mónica Marisol Larrea Poma.

Tabla 2. Clasificación visual de los niveles de fragmentación del ADN, en registro fotográfico.

Clase: Valor numérico	Genotoxicidad expresado en Fragmentación
--------------------------	--

0	Fragmentación de ADN < 5%
1	Fragmentación de ADN entre 5 a 20%
2	Fragmentación de ADN entre 20 a 40%
3	Fragmentación de ADN entre 40 a 95%
4	Fragmentación de ADN > 95%

Fuente: Larrea Poma M., 2007.

Análisis de datos del estudio.

Los datos fueron agrupados y presentados en tablas, expresados en registros fotográficos y figuras que explican mejor los hallazgos. El daño genotóxico se evaluó mediante registro fotográfico del corrido de electroforesis. (Hernández y col 2010)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 3. Densidad poblacional de *Vasconcellea quercifolia* “pati”, en las diferentes zonas del yacimiento arqueológico Wari. Ayacucho, 2019.

Yacimiento arqueológico Wari		Altitud (msnm)	Área (ha)	<i>Vasconcellea quercifolia</i> “pati”	
Sector	Ubicación			Número de individuos	Densidad poblacional
Zona A	Hasta las quebradas Ocopa, Peticha y Checclla Huayqo.	2550 a 2700	100	3	0.03 Plantas/ha.
Zona B	Centro de la ciudad.	2700 a 2800	350	2500	7 Plantas/ha.
Zona C	Haripampa.	2800 a 2850	100	50	0.1 Plantas/ha.
Zona D	Parte más elevada del complejo.	2850 a 3300	50	5	0.05 Plantas/ha.
Total		2550 a 3300	600	2558	4.26 Plantas/ha.

La ciudad de Wari, que ocupa la parte central del complejo del mismo nombre el cual abarca aproximadamente 1000 ha, delimitado hacia el norte por la quebrada Ocopa, al sur con la quebrada Checclla Huayqo, al este con las nacientes y curso superior de las quebradas Carsala y Chipingura y, hacia el oeste con el fundo de Wayllapampa de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

Hemos contabilizado 2558 plantas de *Vasconcellea quercifolia* “pati”, en 600 hectáreas que hemos recorrido por las diferentes zonas del complejo arqueológico de la Cultura Wari en el año 2019, que resulta una densidad poblacional de 4.26 plantas/ha.

Más del 90% de árboles “pati” se encuentran asociados a estructuras y yacimientos arqueológicos, entendiéndose como estructuras a las canteras, superficies de terreno con cerámica, material lítico, cuevas y abrigos rocos con ocupación humana, etc. y yacimientos a lugares arqueológicos con arquitectura visibles como es el caso del núcleo urbano de la ciudad de Wari, o bien un sitio cercano con restos de arquitectura o construcción arqueológica (andenes, canales, etc.) como se detalla:

Las plantas crecen por la caída de los frutos en lugares donde lógicamente antes había una antigua planta, también si consideramos que los frutos son comestibles, entonces es posible que tanto los pobladores de la zona como los pájaros silvestres (“chiwaco”) al consumir y depositar sus excrementos en campo abierto estén originado el crecimiento desordenado en diferentes partes del complejo urbano, donde a la vez el clima es favorable para el crecimiento y reproducción. A todo esto, debemos agregar que los últimos 30 años se han trasplantado pequeñas plantas a lugares con visita turística como es el caso del jardín frontal del actual museo de sitio y de la caseta de control administrativo en el sector de Cheqo Wasi, en el área ceremonial de la ciudad de Wari, lo cual permitirá deducir al futuro los años de duración del referido “árbol sagrado”.



Figura 1. Registro fotográfico de petroglifos de “pati” en la circunscripción del complejo arqueológico de la Cultura Wari. Ayacucho, 2019.

Debemos manifestar que no estamos de acuerdo con las referencias etnográficas de algunos investigadores sostienen que las hojas y tallo del árbol “pati”, no tiene utilidad para los pobladores del lugar, debido a que en recientes trabajos de campo los señores pobladores: Demetrio Quispe (98 años) y Francisco Huaraca (76 años) en conversación personal (marzo, 2018 y febrero 2020), manifestaron la utilidad de los frutos y hojas en actividades medicinales, señalan que los pobladores consumen el fruto por lo dulce y bueno para limpiar el estómago tan igual que las hojas como mate, también para limpiar el estómago además de ser bueno para los riñones.

Atendiendo a la distribución espacial de la planta en el ámbito o espacio que abarca el complejo, afirmamos el planteamiento que, el mayor número de plantas se encuentra entre los 2700-2800 msnm, (zona B), seguido de la zona C, ambas zonas representan al espacio donde se concentra los restos arqueológicos que corresponde al núcleo urbano o área monumental, es la razón porque algunos arqueólogos le dan el uso ornamental, basados en el relativo orden del crecimiento de la planta en lugares abiertos y junto a las murallas, aun cuando no contamos hasta el momento con un plano que permita distinguir la distribución urbana del monumento. Los planos actuales están hechos en base a fotografías aéreas debido a que solo se ha expuesto el 2 % del área total considerada como la ciudad que abarca aproximadamente 300 has.

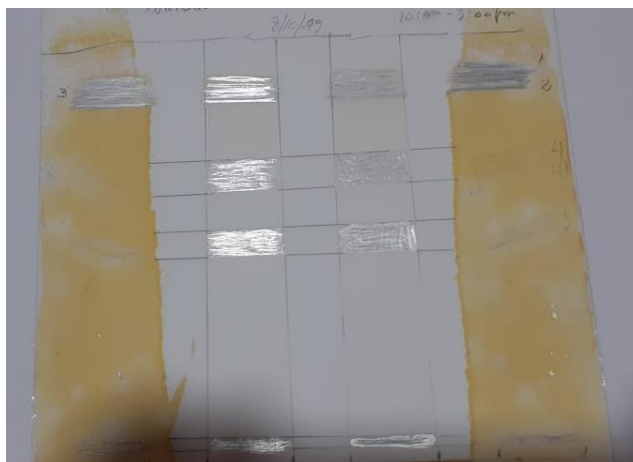


Figura 2. Cromatografía de capa fina en sílicagel para la obtención de alcaloides de las hojas de *Vasconcellea quercifolia* “pati”.

Leyenda:
Solvente : Cloroformo : dietilamina (90 : 10)
Revelador : Reactivo de Dragendorff
Soporte : Placa de aluminio sílicagel F-254
Tiempo de corrido : Cuatro horas

La figura 2, corresponde a la cromatografía de capa fina en sílicagel para la obtención de alcaloides y flavonoides de las hojas de *Vasconcellea quercifolia* “pati”; se utilizó etanol de 70° como solvente, el reactivo de Dragendorff como revelador, de soporte palca de aluminio con sílicagel F-254, y cuatro horas de tiempo de corrido, con lo cual se obtuvo cinco manchas muy bien definidas: una de color rojo y cuatro de color naranja, las que corresponden a metabolitos secundarios alcaloides y fenoles. Se realizó un raspado de estas manchas y con este producto se llevó a cabo las pruebas correspondientes a la determinación de la actividad genotóxica frente al ADN genómico humano.

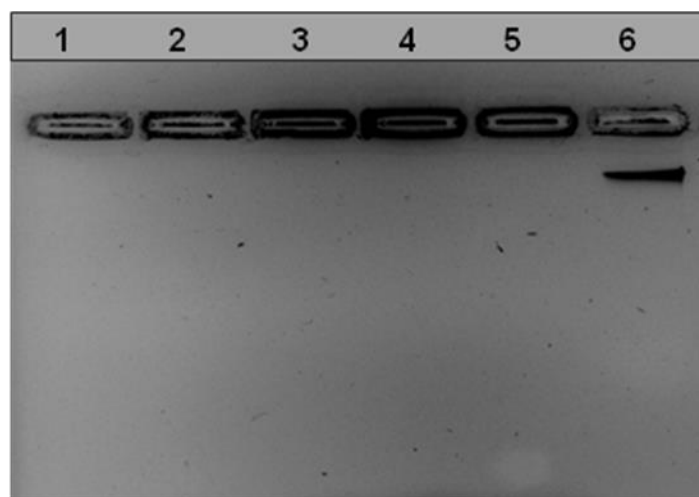


Figura 3. Electroforesis de los productos de la genotoxicidad “*in vitro*” del extracto de alcaloide de hojas de *Vasconcellea quercifolia* “pati” a concentraciones de 5, 10, 50 y 100 mg/mL, respectivamente, frente al ADN genómico humano a 1500 ng/μL, durante una hora de incubación a 37°C.

Leyenda:

Carril N° 1: Con extracto de alcaloide a 5 %.

Carril N° 2: Con extracto de alcaloide a 10 %.

Carril N° 3: Con extracto de alcaloide a 50 %.

Carril N° 4: Con extracto de alcaloide a 100 %.

Carril N° 5: Con extracto de alcaloide a 100% (blanco).

Carril N° 6: Con 100% de ADN (control).

Volumen de carga: Muestra (7 μL)+loading (1 μL)+agua bidestilada (2 μL)=10 μL.

Condiciones de electroforesis: 30 voltios durante 3 horas.

Coloración de ADN: Bromuro de etidio al 1 % durante 10 minutos.

La observación del registro fotográfico de electroforesis en gel de agarosa al 1% de la figura 3 nos muestra los productos de la genotoxicidad *in vitro* expresado por la fragmentación del ADN genómico humano a concentración inicial de 1 500 ng/μL, sometidos al efecto del extracto de alcaloides y fenoles de *Vasconcellea quercifolia* “pati” a diferentes concentraciones de 5 mg/mL, 10 mg/mL, 50 mg/mL y 100 mg/mL, que fueron incubados en baño maría a 37°C durante 1 hora; al respecto, los carriles 1, 2, 3, 4, revelan que no hay ADN, todo ha sido fragmentado en un 100%, desde las concentración de 5 hasta 100mg/mL lo cual nos indica que el extracto de alcaloide y fenoles tienen una actividad genotóxica potente. El grado de fragmentación de ADN es mayor al 95%, estos valores están clasificados en la escala de genotoxicidad propuesto por Larrea Poma M. (Ayala, 2013).

Estos resultados son similares a los reportados por Ayala, 2013, que estudió el efecto genotóxico “*in vitro*” de plantas medicinales antibacterianas *Spartium junceum* L. “retama”, *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze “tara” y *Eucalyptus globulus* Labill “eucalipto”; demostró que los extractos hidroalcohólicos de estas plantas tienen efecto genotóxico sobre ADN genómico de *Staphylococcus aureus*, donde el tiempo de incubación a una y cuatro horas, no influye en el efecto; mientras que las concentraciones de los extractos, sí influyen en el efecto genotóxico.

Varios estudios realizados, de las plantas medicinales de otras familias, nos refiere que la actividad antibacteriana, así como la actividad genotóxica se le atribuye a la presencia de los flavonoides, alcaloides y taninos.

Con el análisis de los datos obtenidos en el presente estudio, hemos llegado a las siguientes conclusiones:

Se ha contabilizado 2558 plantas de *Vasconcellea quercifolia* “pati”, en 600 hectáreas recorridas por las diferentes zonas del complejo arqueológico de la Cultura Wari en el año 2019, que resulta una densidad poblacional de 4.26 plantas/ha.

Se ha identificado y registrado los petroglifos de “pati” principalmente en las zonas C y D del complejo arqueológico Wari, como representación del arte rupestre de la cultura Wari.

Se determinó que el extracto de alcaloides de las hojas de *Vasconcellea quercifolia* “pati”, presenta un potente efecto genotóxico fragmentando a más de 95% de ADN genómico humano, sometido al ensayo “*in vitro*”.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ayala E. Efecto genotóxico in vitro de plantas medicinales antibacterianas *Spartium junceum* L. “retama”, *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze “tara” y *Eucaliptus globulus* Labill “eucalipto”. Ayacucho-Perú, 2013.
2. Carballo M, Cortada C, Gadano A. Riesgos y beneficios en el consumo de plantas medicinales. Revista teoría, historia y fundamentos de la Ciencia [revista en Internet] 2005 [acceso febrero 2014]; 14(2): 95-108. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=29914211>.
3. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación. Quinta edición. Perú. Editorial Mc Graw Hill. 2010.
4. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de los productos naturales. 2ª ed. Lima: Fondo editorial; 1994.
5. Miranda M, Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacognosia y Productos Naturales. Universidad De La Habana Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba; 2000.
6. Miranda T, Valer G. Protocolos de Biología Molecular. Guía de Prácticas. Editorial Multiservicios Infante EIRL. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. 2013.
7. Miranda T, Yarlequé J. y Valer G. Identificación botánica y estudio fitoquímico de *vasconcellea quercifolia* A.St.-Hil. “pati” de Wari-Quinua y *Eriotheca ruizii* (k.schun) A. Robyns “pati” de Hualla en el departamento de Ayacucho. Instituto de Investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH. 2010.
8. Miranda T. “Método Tomasevich”: para determinar el Efecto Genotóxico in vitro de plantas medicinales y/o productos fitoterapéuticos. 2º Congreso Latinoamericano de Farmacogenómica y Medicina Personalizada. Clave: TXG808. Durango: México. 2017.
9. Pillaca L. Efecto genotóxico in vitro de plantas medicinales antiverrucosas *Euphorbia peplus* “leche leche” y *Ficus carica* “higo”, Ayacucho - 2013. Tesis de Químico Farmacéutico. UNSCH.
10. Yarlequé J, Vila P y Miranda T. Pati *Carica augusti* Harms “Estudio fitoquímico, fitogeográfico y evaluación de la densidad poblacional”. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. 1999.