



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE NUEVE
PLANTAS MEDICINALES DE SANTIAGO
QUIOTEPEC, OAXACA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A :

DÁNAE IRASEMA JAVIER VENEGAS

DIRECTORA DE TESIS :

M. en C. JULIETA OROZCO MARTÍNEZ

Los reyes Iztacala, Estado de México, noviembre 2018





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

SINODALES:

Dra. Claudia Tzasna Hernández Delgado

Dra. Rocío Serrano Parrales

Dr. José Guillermo Ávila Acevedo

M. en C. Erick Nolasco Ontiveros

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Farmacognosia
de la Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO) de la
Facultad de Estudios Superiores Iztacala

“Sólo si nos detenemos a pensar en las pequeñas cosas llegaremos a comprender las grandes.”

José Saramago

A la luz de mi vida y mi compañero inseparable,
mi Padre.

AGRADECIMIENTOS

A la Maestra Julieta Orozco por aceptarme como su tesista y apoyarme en todo el proceso que culminó en la realización de este trabajo.

A mis Sinodales, Dra. Claudia Tzasna Hernández Delgado, Dra. Rocío Serrano Parrales, Dr. José Guillermo Ávila Acevedo y M. en C. Erick Nolasco Ontiveros por retroalimentar mi trabajo y ayudarme a mejorarlo.

A la Universidad y a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala por brindarme un espacio agradable, seguro e incluyente para mi formación académica y personal.

DEDICATORIAS

A mi Padre, por dedicarme todo su amor, paciencia, comprensión y apoyo incondicional en todo lo que me he propuesto en la vida.

A mi Madre, por apoyarme cuando lo necesito y hacerme mi bonito almuerzo.

A mi Tía Marisela, por siempre estar, escuchar y hacerme sentir como si fuera su hija.

A mis “hermanitos”, Isaac y Alejandro por toda la alegría que me dan y por todas las veces que me han ayudado cuando lo he necesitado.

A mi Tía Marta, mi Tío Ezequiel, Rebeca y Luis porque a pesar de estar lejos, me ayudaron cuando más lo necesité y sus consejos me dieron fuerza.

A Cruz, mi Sol y mis estrellas, por ser, estar y por brindarme todo su apoyo y cariño.

A Salma, porque su pasión por el conocimiento, en especial por la Biología, me inspiraron para seguir a mi corazón y dedicar mi vida a la Ciencia.

A mis Mutecos, Jorge, Emma, Mayela, Isabel, Suriel, Iván, Luis, Miguel Alegría por todos los momentos inolvidables y las grandes enseñanzas, siempre es un placer intercambiar ideas con ustedes.

A Zuri, por ser una gran mujer a la que admiro y siempre tengo presente. Sé que siempre puedo confiar y contar con ella.

A Etna y Gaby por ser buenas amigas y siempre escucharme.

A Juan Carlos Tovar por aceptarme como su discípula en las artes oscuras de las TICs y por ser un buen amigo.

A la Dra. Tzasna por permitirme ser parte de los proyectos del laboratorio de Farmacognosia, por siempre impulsarme a trabajar duro y por siempre contagiarme su buen ánimo.

A la Mtra. Julieta por su amistad, tenerme tanta paciencia, comprensión y apoyarme en todo este proceso.

A la Dra. Rocío por siempre resolver mis dudas, sacarme de aprietos en el laboratorio y por siempre corregirme con mucha paciencia.

ÍNDICE GENERAL

Índice de figuras.....	vii
Índice de cuadros.....	ix
Resumen.....	1
Introducción.....	2
Hongos.....	3
Propiedades antifúngicas de las plantas.....	4
Medicina tradicional.....	7
Antecedentes.....	8
Objetivos.....	12
Metodología.....	13
Resultados.....	17
Discusión.....	24
Conclusiones.....	29
Perspectivas a futuro.....	30
Apéndices.....	31
Apéndice I. Área de colecta.....	31
Apéndice II. Descripción botánica de las plantas.....	34
Apéndice III. Antifúngicos.....	43
Apéndice IV. Características de los hongos	48
Apéndice V. Técnicas para evaluar la actividad antifúngica sobre hongos filamentosos.....	54
Apéndice VI. Técnicas para evaluar la actividad antifúngica sobre levaduras.....	57
Apéndice VII. Método cualitativo de la composición química de los extractos.....	61
Apéndice VIII. Toxicidad general.....	62
Referencias.....	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura microscópica de los hongos; levaduras e hifas.....	3
Figura 2. Eventos en los que los metabolitos secundarios se inducen durante la..... respuesta de defensa de las plantas.....	5
Figura 3. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial del extracto metanólico de <i>Z. amole</i> sobre <i>T. mentagrophytes</i>	21
Figura 4. . Porcentaje de inhibición del crecimiento radial del extracto metanólico de <i>Z. amole</i> sobre <i>A. niger</i>	21
Figura 5. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial del extracto metanólico de <i>Z. amole</i> sobre <i>F. sporotrichum</i>	21
Figura 6. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial del extracto metanólico de <i>Z. amole</i> sobre <i>F. moniliforme</i>	21
Figura 7. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial del extracto metanólico de <i>C. oaxacensis</i> sobre <i>T. mentagrophytes</i>	21
Figura 8. Ubicación de la Reserva de la Biósfera Tehuacán-Cuicatlán	31
Figura 9. Mapa de San Juan Bautista Cuicatlán	33
Figura 10. Ejemplar herborizado de <i>J. pringlei</i>	34
Figura 11. Ejemplar herborizado de <i>E. latifolia</i>	35
Figura 12. Ejemplar herborizado de <i>M. dissecta</i>	36
Figura 13. Ejemplar herborizado de <i>M. tomentosa</i>	37
Figura 14. Ejemplar herborizado de <i>K. humboldtiana</i>	38
Figura 15. Ejemplar herborizado de <i>B. odorata</i>	39
Figura 16. Ejemplar herborizado de <i>Z. amole</i>	40
Figura 17. Ejemplar herborizado de <i>C. mexicana</i>	41
Figura 18. Ejemplar herborizado de <i>C. oaxacensis</i>	42
Figura 19. Estructura química de la Nistatina.....	44
Figura 20. Estructura química del Ketoconazol.....	44
Figura 21. Estructura química de la Terbinafina.....	45
Figura 22. Estructura química de la Micafungina.....	45
Figura 23. Estructura química de la 5-fluorocitosina.....	46
Figura 24. Mecanismos de acción de los diferentes antifúngicos.....	47
Figura 25. Pseudohifas de <i>C. albicans</i>	48

Figura 26. Cultivo de <i>C. albicans</i> en PDA.....	48
Figura 27. Microscopia con aumento de 40x. A) <i>C. glabrata</i> . B) <i>C. albicans</i>	49
Figura 28. Tinción de <i>C. tropicalis</i> en tejido pulmonar.....	50
Figura 29. Microscopia de <i>C. tropicalis</i>	50
Figura 30. <i>Trichophyton</i> sp. en agar Sabouraud.....	51
Figura 31. Ascosporas de <i>Trichophyton</i> sp.....	51
Figura 32. Cultivo de <i>Fusarium</i> sp. En PDA.....	52
Figura 33. Cultivo de <i>Fusarium</i> sp. en Agar Sabouraud.....	52
Figura 34. Microscopia de <i>Aspergillus</i> sp.....	53
Figura 35. Cultivo de <i>A. niger</i> en Agar papa-dextrosa.....	53
Figura 36. Método de inhibición del crecimiento radial sobre <i>Fusarium</i> <i>sporotrichum</i> (a) y <i>F. moniliforme</i>	55
Figura 37. Método para Concentración fungicida mínima sobre <i>F. moniliforme</i> (a) y <i>Aspergillus niger</i>	56
Figura 38. Método de microdilución en agar sobre una levadura del género <i>Candida</i>	60
Figura 39. Cultivo de <i>A. salina</i>	62
Figura 40. Frascos con larvas nauplio II de <i>A. salina</i>	62

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Grupos de metabolitos secundarios con actividad antifúngica.....	6
Cuadro 2. Trabajos acerca de la actividad biológica de las especies.....	11
Cuadro 3. Datos de colecta de las plantas.....	13
Cuadro 4. Reactivos utilizados para la determinación de la composición química de los extractos.....	15
Cuadro 5. Datos de registro de las plantas.....	17
Cuadro 6. Rendimiento de los extractos.....	17
Cuadro 7. Actividad antifúngica de los extractos metanólicos de las plantas.....	18
Cuadro 8. Actividad antifúngica de los extractos de acetato de etilo de las plantas....	19
Cuadro 9. Actividad antifúngica de los extractos hexánicos de las plantas.....	19
Cuadro 10. Evaluación cuantitativa de los extractos Metanólicos activos.....	20
Cuadro 11. Caracterización cualitativa de los extractos.....	22
Cuadro 12. Dosis letal media de los extractos con mayor actividad antifúngica.....	23
Cuadro 13. Clasificación de los antifúngicos por su estructura.....	43
Cuadro 14. Clasificación de los antifúngicos por su sitio de acción en el hongo.....	46

RESUMEN

El uso de plantas medicinales para satisfacer las necesidades básicas de salud sigue siendo común en nuestros días, principalmente en comunidades con tradiciones muy antiguas. Santiago Quiotepec se ubica dentro del Estado de Oaxaca y se ha reportado el uso de plantas medicinales para tratar diferentes enfermedades de posible origen infeccioso como: *Ziziphus amole*, *Merremia dissecta*, *Melochia tomentosa*, *Karwinskia humboldtiana*, *Cedrela oxacensis*, *Crataegus mexicana*, *Bidens odorata*, *Jefea pringlei* y *Ehretia latifolia*. En este estudio se evaluó la actividad antifúngica de estas especies.

Las plantas fueron recolectadas en los estados de Puebla y Oaxaca, entre mayo y julio del 2017. Se obtuvieron tres extractos; hexánico, de acetato de etilo y metanólico de diferentes estructuras de las plantas: parte aérea, tallos, hojas y frutos. Los bioensayos se realizaron sobre siete cepas de importancia médica; *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Aspergillus niger*, *Fusarium sporotrichum* y *F. moniliforme*. Para evaluar la actividad antifúngica sobre levaduras se utilizaron: la técnica de Kirby Buer y la técnica modificada de microdilución en agar. Y para hacer la evaluación sobre los hongos filamentosos se llevaron a cabo las técnicas: inhibición del crecimiento radial y el método de dilución en agar.

Se determinó que, a excepción de los extractos de *Ehretia latifolia*, los 24 extractos restantes poseen actividad antifúngica en al menos una de las siete cepas. Se calculó la CF_{50} de los 24 extractos y solo la de los extractos metanólicos de *C. oxacensis* ($CF_{50} = 1700\mu\text{g/mL}$ sobre *A. niger*) y *Z. amole* ($CF_{50} = 463, 360, 486$ y $1102\mu\text{g/mL}$ sobre *A. niger*, *F. moniliforme*, *F. sporotrichum* y *T. mentagrophytes*, respectivamente) es menor a 2mg/mL .

Posteriormente se evaluó la toxicidad general de los extractos metanólicos de *C. oxacensis* y *Z. amole* por ser los que poseen una CF_{50} menor a 2 mg/mL ; la toxicidad general del extracto metanólico de *C. oxacensis* es moderada ($CL_{50} = 342.48\mu\text{g/mL}$) y la del extracto de *Z. amole* es fuerte ($CL_{50} = 40.63\mu\text{g/mL}$).

Se concluye que ocho de las nueve plantas utilizadas, tienen actividad antifúngica que probablemente es consecuencia de la variedad de metabolitos secundarios presentes en los extractos; fenoles, esteroides, flavonoides, monoterpenos, glucósidos y saponinas.

INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad las plantas han sido consideradas un recurso invaluable para cuidar y preservar la salud, el ser humano ha encontrado curas o paliativos para las enfermedades que le aquejan en hojas, raíces, cortezas, semillas, frutos o flores de plantas silvestres, además de dar inicio a lo que se conoce como herbolaria o medicina tradicional (Lambert *et al.*, 1997; Butler, 2004; Mishra y Tiwari, 2011). El registro fósil indica que la humanidad ha utilizado las plantas con fines medicinales desde el Paleolítico, hace aproximadamente 60,000 años. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, la medicina tradicional se utiliza ampliamente y es un sistema sanitario que está creciendo rápidamente y es de gran importancia económica. En África hasta un 80% de la población la utiliza para ayudar a satisfacer sus necesidades sanitarias y en China el 40%. Y en Latinoamérica, existen poblaciones que siguen utilizando la medicina tradicional como resultado de circunstancias históricas y creencias culturales, ya que la medicina tradicional ofrece una alternativa, ya sea oral o escrita, para beneficiar la calidad de vida de la humanidad a través del uso de las plantas (OMS, 2002).

La reciente propagación de microorganismos patógenos como virus, hongos y bacterias ha incrementado la cantidad de infecciones en los últimos años, volviéndose las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. Con el rápido incremento en el número de éstas y la resistencia de los microorganismos a los antibióticos, las investigaciones se han dirigido hacia la búsqueda de terapias alternativas, lo cual se ha vuelto una necesidad, por lo que el uso de plantas medicinales se mantiene (Fabricant y Farnsworth, 2001; Narayana *et al.*, 2017).

Como país megadiverso, México aloja entre el 4 y el 8% de la diversidad vegetal en el mundo, de esta el 51% son especies endémicas (Sosa y De-Nova, 2012) que se distribuyen en varias regiones entre las que destaca el Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Méndez-Larios *et al.*, 2006) donde se ubica la comunidad de Santiago Quiotepec (Apéndice I), al noreste de Oaxaca (García, 1981). Esta comunidad se caracteriza por tener una milenaria influencia cultural cuicateca y un largo listado de plantas medicinales utilizadas por los pobladores y sus ancestros (Pérez-Negrón, 2002). Entre las plantas que se utilizan en la comunidad para tratar enfermedades de posible origen infeccioso se encuentran *Jefea pringlei*, *Bidens odorata*, *Ehretia latifolia*, *Cedrela oaxacensis*, *Karwinskia humboldtiana* y *Crataegus mexicana*, para

aliviar las picaduras o heridas cutáneas se ocupa *Merremia dissecta*, *Ziziphus amole*, entre otras. Sin embargo, se han realizado pocos estudios fitoquímicos y de actividad biológica en la flora de esta región, por lo que en este estudio se evaluó la actividad antifúngica de nueve plantas medicinales utilizadas en Santiago Quiotepec.

Hongos

Los hongos constituyen un grupo de organismos, que incluye a las setas, mohos y levaduras. Se han descrito aproximadamente 100 000 especies de hongos y se estima que podrían existir alrededor de 1.5 millones de especies (Rivas-Morales *et al.*, 2016). Los hongos son organismos eucarióticos, cuya membrana celular contiene ergosterol, su pared celular contiene quitina, son aclorofílicos, quimioheterótrofos, aerobios o anaerobios facultativos, muy pocos son anaerobios (García *et al.*, 1994; Tortora *et al.*, 2007). Morfológicamente pueden ser levaduriformes (unicelulares) o filamentosos (pluricelulares); las levaduras son hongos unicelulares no filamentosos con forma esférica u oval. En contraste, los hongos filamentosos se caracterizan por la formación de hifas, que son estructuras filamentosas constituidas por una sucesión de celular intercomunicadas que en conjunto constituyen un micelio, como se muestra en la Figura 1 (Guarro, 2012).

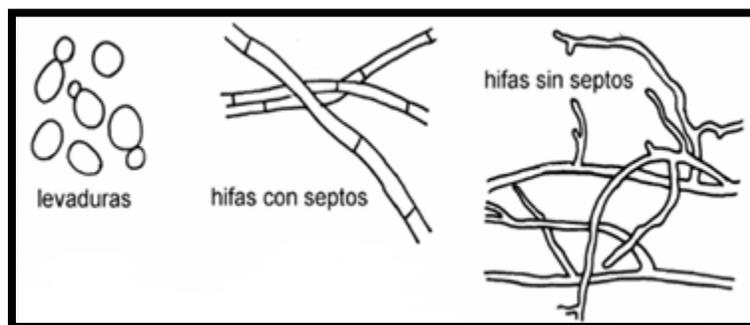


Figura 1. Estructura microscópica de los hongos; levaduras e hifas (Imagen tomada de Carrillo, 2003).

Los hongos son fundamentales para el mantenimiento de la biósfera ya que son los principales descomponedores de materia orgánica. Mediante enzimas extracelulares como las celulasas, los hongos son capaces de descomponer las partes duras de las, permitiendo así completar el ciclo del carbono. Casi todas las plantas dependen de hongos simbióticos, conocidos como micorrizas, que contribuyen a que sus raíces absorban minerales y agua del suelo (Tortora *et al.* 2007). Sin embargo, también debemos destacar la capacidad que

presentan un número importante de hongos que provocan enfermedades en el ser humano, que pueden traducirse en alergias e infecciones (Guarro, 2012).

Toda infección por hongos se denomina micosis, que suelen ser infecciones crónicas debido al lento crecimiento de tales organismos, aunado a que suelen adaptarse bien a los ambientes hostiles para las bacterias. Los hongos, al igual que las bacterias, absorben los nutrimentos en lugar de ingerirlos como lo hacen los animales, pero difieren de las bacterias en ciertos requerimientos ambientales y nutrimentales, por ejemplo: se ven favorecidos en ambientes con pH cercano a 5 (muy ácido para las bacterias); son más resistentes a los cambios de presión osmótica; pueden crecer en sustancias con poca humedad por lo que se desarrollan en lugares diversos como pisos o paredes, requieren menos nitrógeno que las bacterias, a menudo pueden metabolizar hidratos de carbono complejos como la lignina, entre otras (Guarro, 2012). Por ello, es común que un paciente que esté llevando un tratamiento con antibióticos pueda padecer una micosis al presentarse un ambiente hostil para las bacterias, pero favorable para los hongos (Hibbett *et al.*, 2007; Versalovic *et al.*, 2011).

Propiedades antifúngicas en las plantas

A diferencia de los animales superiores, las plantas no cuentan con un sistema inmunológico como tal. Sin embargo, poseen complejos mecanismos de defensa que han sido producto de un largo proceso evolutivo que les permiten resistir al ataque de patógenos mediante diferentes estrategias de defensa que, desde el punto de vista bioquímico, pueden ser: constitutivas, que son compuestos que tienen que ver con su defensa ante el ataque de patógenos entre ellos los hongos; o no constitutivos (fitoalexinas), defensas inducidas por factores externos que se producen como respuesta a la infección de patógenos (Montes-Belmont, 2009; Rivas-Morales, 2016).

Los compuestos antifúngicos en las plantas (Apéndice II) son mezclas de compuestos producidos a partir de las rutas metabólicas primarias de las mismas conocidas como metabolitos secundarios y actualmente se conocen aproximadamente 20,000 estructuras de estos (Grayer y Harbone, 1994).

Los metabolitos secundarios son compuestos de bajo peso molecular de importancia ecológica pues participan en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente, el establecimiento de la simbiosis con otros organismos y en la atracción de insectos polinizadores, dispersores de semillas y frutos. La síntesis activa de estos compuestos es inducida cuando las plantas son expuestas a condiciones adversas como: el consumo por herbívoros, el ataque por microorganismos, la competencia por el espacio de suelo, la luz y los nutrientes con otras especies de plantas y la exposición a la luz solar (Figura 2) u otros tipos de estrés abiótico (Sepúlveda-Jiménez *et al.*, 2004).

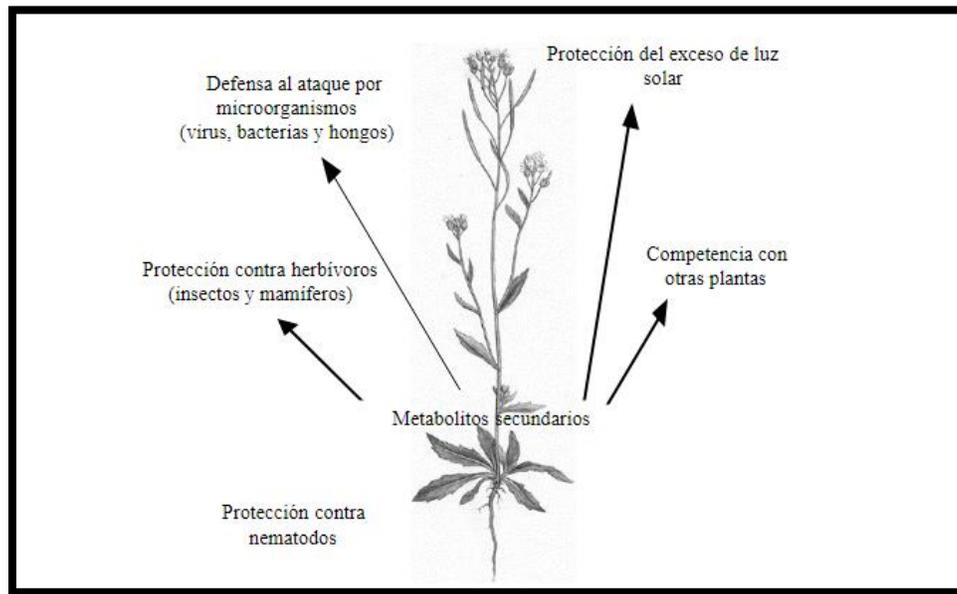


Figura 2. Eventos en los que los metabolitos secundarios se inducen durante la respuesta de defensa de las plantas (Imagen tomada de Campos, 2011).

Los metabolitos secundarios también han sido aprovechados por el ser humano ya que se ha demostrado que son los responsables de la actividad antimicrobiana que poseen varias plantas utilizadas en la medicina tradicional para curar diversas enfermedades y molestias en las personas desde hace miles de años. Dentro de los grupos de metabolitos secundarios reportados que poseen específicamente actividad antifúngica se encuentran: los fenoles, flavonoides, cumarinas, alcaloides y saponinas, los cuales se describen de manera general en el cuadro 1.

Cuadro 1. Grupos de metabolitos secundarios con actividad antifúngica.

Grupo de metabolitos	Actividad antifúngica y mecanismos de acción
Fenoles	Metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas y actúan como agentes protectores frente a patógenos y agentes estresantes (Dixon y Paiva, 1995). Se ha reportado que los sitios y el número de grupos hidroxilos en el grupo fenólico está íntimamente relacionado con la toxicidad hacia los microorganismos, es decir a mayor número de grupos hidroxilos, mayor es la toxicidad. Los mecanismos responsables de esta acción incluyen la inhibición enzimática por oxidación de compuestos, posiblemente a través de la reacción con grupos sulfhidrilo o a través de otras interacciones no específicas con proteínas (García-Hernández <i>et al.</i> , 2016).
Flavonoides	Estructuras fenólicas cuya actividad antifúngica es mayor en los compuestos donde la molécula está completamente metilada y disminuye dramáticamente cuando se remueve el grupo metilo de la posición 5. Los flavonoides inhiben una numerosa variedad de enzimas entre las que se encuentran: hidrolasas, liasas, transferasas, hidroxilasas, oxidoreductasas y quinonas (Andersen y Markham, 2006; García-Hernández <i>et al.</i> , 2016).
Cumarinas	Estimulan a los macrófagos, los cuales tienen un efecto negativo indirecto en las infecciones y su fama se ha incrementado ya que se ha descubierto que poseen actividad biológica: antitrombótica, antiinflamatoria y vasodilatadora. El mecanismo de acción de las cumarinas se debe a su actividad fotosensibilizante sobre las células, la cual se manifiesta como fototoxicidad que altera y desorganiza numerosos procesos biológicos en diferentes tipos de células (García-Hernández <i>et al.</i> , 2016).
Alcaloides	Los mecanismos de acción se basan en modificaciones del ADN-ARN que dan lugar a mutaciones; alquilación, efecto negativo en la ADN o ARN polimerasa; inhibición de la traducción proteica; afección de las membranas celulares, específicamente a los transportadores de iones y a su vez, a la estabilidad de la membrana; inhibición enzimática (García-Hernández <i>et al.</i> , 2016).
Saponinas	Las saponinas son metabolitos secundarios que se encuentran almacenadas en las células vegetales como precursores inactivos listos para ser transformados en antibióticos activos vía enzimática en respuesta a un patógeno. Son compuestos glicosilados de esteroides o triterpenoides ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Su mecanismo de acción es sobre la membrana afectando la integridad de las células fúngicas (Rivas-Morales <i>et al.</i> , 2016).

Medicina tradicional

Gracias al conocimiento empírico adquirido por civilizaciones antiguas, se sabe que las plantas pueden poseer propiedades medicinales por lo que, las que sirven para tal fin se volvieron de uso común, fueron integradas a las tradiciones de varias poblaciones y su uso se pasó de una generación a otra hasta nuestros días. Sin embargo, no hace mucho tiempo comenzaron a realizarse estudios científicos enfocados en dichas plantas medicinales dando lugar a los estudios etnobotánicos. Estos estudios han ganado importancia debido a que actualmente la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha considerado que aproximadamente el 80% de la población mundial utiliza la medicina tradicional para atender sus necesidades primarias de salud (OMS, 2013; Rivas-Morales *et al.*, 2016).

La Comisión Nacional de los Derechos Humanos (CNDH) ha hecho hincapié en que, pese a los avances en la disminución de la pobreza en México, aún hay 19.1 millones de personas que carecen de acceso a los servicios de salud, aun cuando los bienes y servicios suministrados por la medicina alópata son un elemento esencial para la salud de la población, éstos no cubren necesariamente la totalidad de la demanda, por lo que el consumo de medicina tradicional juega un papel importante en la salud de las personas (CNDH, 2017). Tan sólo en el 2011 los mexicanos destinaron 972 millones de pesos en servicios y productos de medicina tradicional, según cifras del INEGI en el 2014.

La medicina tradicional indígena es el único recurso con que cuentan las personas de muchas comunidades de nuestro país, a pesar del aumento en la población afiliada a instituciones públicas y al Seguro Popular (CONEVAL, 2016). Además, la CNDH considera que la medicina tradicional indígena representa un sistema de atención integral a la salud y como parte de los conocimientos ancestrales de sus pueblos, que al practicarlos mantienen viva su identidad cultural, por lo que debe ser reconocida como pilar fundamental en la atención a la salud y debe ser protegida por el Estado Mexicano, pues es derecho fundamental de los pueblos indígenas a acceder y mantener vivas sus prácticas de salud, además de promover la investigación, desarrollo e incorporación de sus productos, prácticas y profesionales en el Sistema Nacional de Salud (CNDH, 2017).

ANTECEDENTES

Desde la antigüedad, la humanidad ha separado a las plantas según su utilidad; medicinal, de uso ritual, alimenticias, etc. A su vez, en la medicina tradicional las plantas han sido diferenciadas por características organolépticas como: olor, sabor o textura, pues a partir de éstas las personas pueden intuir las propiedades medicinales de una planta. Por ejemplo, en algunas comunidades de Oaxaca, las personas para tratar infecciones en la piel utilizan plantas “picantes”, como la cebolla o el chile; las plantas aromáticas son consideradas de utilidad para tratar la fiebre y suelen utilizarse de manera tópica en baños o con masajes; las astringentes, como cortezas de árboles, para tratar la diarrea; las plantas amargas y algunas aromáticas se utilizan para tratar dolores de estómago, etc. (Ortiz y Browner, 1985; Heinrich, 1994).

Generalmente, al buscar compuestos con actividad biológica en plantas, suelen realizarse dos tipos de métodos de bioprospección; al azar y dirigidos. En la industria farmacéutica tienen preferencia los métodos de prospección al azar, pero no son tan efectivos como los estudios etnobotánicos, que son estudios dirigidos. Los cuales se han vuelto atractivos en los últimos años debido a que facilitan la identificación de plantas con propiedades medicinales y por ende con una posible explotación farmacéutica o terapéutica. Los estudios etnobotánicos, junto con las pruebas microbiológicas para evaluar la actividad biológica en las plantas de uso medicinal, son de suma importancia para avalar su uso por los pobladores de cualquier comunidad.

Las plantas utilizadas en el presente estudio se distribuyen en siete familias: Asteraceae, Boraginaceae, Convolvulaceae, Malvaceae, Meliaceae, Rhamnaceae y Rosaceae. De las cuales 4 son endémicas de la región: *Jefea pringlei*, *Cedrela oaxacensis*, *Ziziphus amole* y *Crataegus mexicana*, y 5 nativas en el país: *Bidens odorata*, *Ehretia latifolia*, *Merremia dissecta*, *Melochia tomentosa* y *Karwinskia humboldtiana* (Apéndice III). Todas se pueden obtener en el Valle de Tehuacán Cuicatlán y son utilizados en la Comunidad de Santiago Quiotepec, Oaxaca con fines medicinales (CONABIO, 2018).

Familia Asteraceae

Muchas especies de la familia Asteraceae son empleadas para aliviar padecimientos de posible origen microbiano como la diarrea, fiebre o infecciones de la piel. Se ha demostrado que muchas plantas de esta familia poseen actividad biológica antiinflamatoria, antiespasmolítica, analgésica, antibacteriana, antifúngica y antioxidante (Flores y Rodríguez, 2008).

Familia Boraginaceae

Algunas plantas de esta familia han sido utilizadas en medicina tradicional para tratar padecimientos como asma, conjuntivitis, erupciones cutáneas, fiebres, heridas, contra tumores, resfriados y úlceras (Da Silva *et al.*, 2009; Leos, 2010). Además, en muchas especies de esta familia se han hallado varios compuestos fenólicos como los flavonoides y taninos, además de terpenos. A su vez, se ha comprobado que varias de estas plantas poseen, principalmente, actividad antiinflamatoria, antidiabética, antioxidante y antiparasitaria (Brigham *et al.*, 1999; Leos, 2010; Salazar-Aranda *et al.*, 2011; Espitia-Baena *et al.*, 2014).

Familia Convolvulaceae

Es una familia de la que se han realizado numerosos estudios fitoquímicos en los cuales se ha reportado la presencia de alcaloides, principalmente tropanos en el 92 % de las especies, y nicotinoides en el 66%. También se han detectado otros metabolitos como esteroides glicosilados, polifenoles y flavonoides. Además, se ha comprobado que la familia posee actividad antimicrobiana, pero se han realizado pocos estudios al respecto (Aguirre, 1998; Moreno *et al.*, 2007; Eich, 2008).

Familia Malvaceae

Esta familia es de importancia económica, pues muchas son comestibles, de uso ornamental y medicinal. Se han realizado varios estudios fitoquímicos de diversas especies en los que se ha documentado la presencia de taninos y flavonoides, y en muchas especies se han detectado saponinas, esteroides y triterpenos. Además, se han realizado numerosos estudios del género *Sida*, cuya actividad antibacteriana nos indica el potencial antimicrobiano de otras especies de esta familia (Sanabria *et al.*, 2002; Brugés y Reguero, 2007; Solano, 2008; Clavijo y Cruz, 2017).

Familia Meliaceae

Desde el punto de vista quimiotaxonómico, los limonoides (terpenoides) y sus precursores constituyen los metabolitos secundarios más representativos de esta familia pues se han encontrado en la mayoría de sus especies y en todas las partes de estas (semillas, hojas, madera y corteza). Adicionalmente se sabe que los limonoides poseen una notable actividad antiprotozoaria, antihelmíntica e insecticida. Además, se ha comprobado que algunos de estos compuestos también presentan actividad diurética y antifúngica (Achinine, 1999).

Familia Rhamnaceae

Los estudios fitoquímicos han demostrado que la mayoría de las especies de esta familia contiene alcaloides ciclopéptidos como la quinina, flavonoides, glicósidos y, en algunas, saponinas, por lo que son ampliamente utilizadas en la medicina tradicional. Aunado a ello, se ha demostrado que varias de estas especies poseen una notable actividad antioxidante, antiinflamatoria y hepatoprotectora, siendo el género *Ziziphus* uno de los más estudiados (Yoshikawa *et al.*, 1997; Pawlowska, 2009; Ammar *et al.*, 2009).

Familia Rosaceae

Especies de esta familia han sido estudiadas y se ha reportado que poseen actividad antibacteriana y actividad antioxidante, principalmente en los extractos metanólicos. Su actividad biológica se atribuye a la presencia de compuestos fenólicos, entre los cuales destacan flavonoides y taninos (Matta-Riihien *et al.*, 2004; Rivera, 2010).

En el cuadro 2 se resumen algunos de los trabajos realizados sobre las especies utilizadas en este estudio:

Cuadro 2. Trabajos acerca de la actividad biológica de las especies.

Familia	Especie	Trabajos realizados
Asteraceae	<i>J. pringlei</i>	Se han realizado algunos estudios de conteo cromosomático (Turner y Zhao, 1992; Strother y Panero, 1994). Además de ser considerada como un adulterante en los medicamentos que utilizan <i>Arnica montana</i> en Europa y Estados Unidos. Sin embargo, no hay estudios sobre actividad antifúngica (Gafner y Applequist, 2016)
	<i>B. odorata</i>	No hay estudios sobre actividad antifúngica, a pesar de que existen varios estudios que han reportado actividad antifúngica significativa de <i>B. pilosa</i> y <i>B. cernura</i> (Deba <i>et al.</i> , 2007; Deba <i>et al.</i> , 2008; Rybalchenko <i>et al.</i> , 2010; Bartolo <i>et al.</i> , 2013). Adicionalmente se han aislado saponinas y triterpenos del género <i>Bidens</i> , los cuales son antifúngicos (Astudillo-Vázquez <i>et al.</i> , 2008).
Boraginaceae	<i>E. latifolia</i>	Del género <i>Ehretia</i> abundan estudios taxonómicos, pero no sobre su actividad biológica. Tampoco se han realizados estudios sobre actividad antifúngica o antibacteriana de <i>E. latifolia</i> , a pesar de que posee terpenos, que suelen tener actividad antimicótica.
Convolvulaceae	<i>M. dissecta</i>	Pérez-Amador <i>et al.</i> (1998) evaluaron la actividad antimicrobiana de ésta y de otras tres especies de la familia Convolvulaceae cuyos extractos fueron efectivos contra <i>Operculina pinatifida</i> y <i>Turbina corymbosa</i> . En 2007, Lozano <i>et al.</i> Reportaron que <i>M. dissecta</i> inhibió el crecimiento de tres bacterias gram negativas. Lucardi <i>et al.</i> reportaron que 14 fracciones de <i>M. dissecta</i> inhibieron el crecimiento de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . Los extractos acuoso, metanólico y de éter de petróleo de las hojas, tallos y semillas mostraron actividad antimicrobiana (Narayana <i>et al.</i> , 2017).
Malvaceae	<i>M. tomentosa</i>	Se han aislado alcaloides con actividad antifúngica de y otras especies de este género (Emile <i>et al.</i> , 2007; Dias <i>et al.</i> , 2007; Durga <i>et al.</i> , 2012).
Meliaceae	<i>C. oaxacensis</i>	Se ha estudiado el potencial del género <i>Cedrela</i> como pesticida natural, pero no hay estudios sobre la actividad antifúngica de esta especie (Achinine, 1999).
Rhamnaceae	<i>Z. amole</i>	Estudios han reportado que el extracto metanólico posee actividad antimicrobiana sobre <i>Staphylococcus</i> spp. y contra otras bacterias como <i>Pseudomonas vulgaris</i> (Zavala <i>et al.</i> , 1997; Gutiérrez-Morales <i>et al.</i> , 2017). Sin embargo, no se ha reportado actividad antifúngica;
	<i>K. humboldtiana</i>	Se ha reportado actividad antifúngica sobre <i>Aspergillus niger</i> , <i>Fusarium moniliforme</i> y <i>F. poae</i> (Tequida-Meneses <i>et al.</i> , 2002). Además, se ha reportado actividad antimicrobiana en bacterias y levaduras para otras especies del género <i>Karwinskia</i> (Salazar <i>et al.</i> , 2006).
Rosaceae	<i>C. mexicana</i>	Se han realizado algunos estudios sobre la actividad antifúngica de sus extractos, los cuales redujeron el crecimiento miscelial de <i>Pestalotopsis</i> spp. y <i>Rhizopus</i> spp. (Bautista-Baños <i>et al.</i> , 2000a; 2000b).

OBJETIVOS

Objetivo general

- Evaluar la actividad antifúngica de los extractos de nueve plantas medicinales utilizadas en Santiago Quioitepec, Oaxaca.

Objetivos particulares

- Obtener los extractos de distinta polaridad (hexánico, de acetato de etilo y metanólico) de cada una de las especies.
- Evaluar la actividad antifúngica cualitativamente de las plantas mencionadas sobre hongos de importancia médica.
- Determinar la Concentración Fungicida Mínima (CFM) y la Concentración Fungicida Media (CF₅₀) de los extractos activos.
- Caracterizar cualitativamente la composición química los extractos.
- Evaluar la toxicidad general de los extractos activos sobre *Artemia salina*.

METODOLOGÍA

Colecta de la planta

La colecta se realizó en diversas localidades del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Se depositó un ejemplar de cada una en el herbario IZTA de la FES Iztacala, UNAM (Cuadro 3).

Cuadro 3. Datos de colecta de las plantas

Especie	Fecha de colecta	Zona de colecta
<i>Jefea pringlei</i>	27-may-17	Tilapa, Puebla
<i>Bidens odorata</i>	01-jul-17	Teotitlan, Oaxaca
<i>Ehretia latifolia</i>	27-may-17	San Juan Los Cues, Oaxaca
<i>Merremia dissecta</i>	01-jul-17	Santiago Quiotepec, Oaxaca
<i>Melochia tomentosa</i>	01-jul-17	Quiotepec, Oaxaca
<i>Cedrela oaxacensis</i>	01-jul-17	San Juan, Coyula, Oaxaca
<i>Karwinskia humboldtiana</i>	02-jul-17	Acatepec, Puebla
<i>Ziziphus amole</i>	30-jun-17	San Rafael, Puebla
<i>Crataegus mexicana</i>	01-jul-17	San Rafael, Puebla

Obtención de extracto

➤ Maceración

Para la obtención de los extractos se utilizaron las plantas secas y trituradas. De cada planta la extracción se realizó de diferentes estructuras (parte aérea, tallos, hojas y frutos), de acuerdo con la parte de la planta utilizada por los habitantes de la zona de colecta. Se obtuvieron los extractos hexánico, de acetato de etilo y metanólico, de cada planta mediante la técnica de maceración (Domínguez, 1979), para ello al material se agregó el solvente respectivo, se dejó reposar durante tres días. Los extractos fueron filtrados e inmediatamente concentrados a presión reducida. Posteriormente se colocaron en frascos de vidrio abiertos para permitir la total evaporación del solvente y se determinó el rendimiento total. Los extractos se almacenaron en la oscuridad hasta su uso para las pruebas biológicas.

Evaluación de la actividad antifúngica

Se utilizaron siete especies de hongos de importancia médica; tres levaduras (*Candida albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*) y cuatro hongos filamentosos: *Aspergillus niger*, *Fusarium sporotrichum*, *F. moniliforme* y *Trichophyton mentagrophytes* (Apéndice IV).

a) Actividad antifúngica sobre hongos filamentosos

Evaluación cualitativa

- Método de inhibición del crecimiento radial para hongos filamentosos (Wang y Bun, 2002)

En cajas petri con agar papa dextrosa inoculadas con el hongo se colocaron sensidiscos de papel Whatman de 6 mm de diámetro y se impregnaron con 2000 µg del extracto. Como control positivo se utilizaron sensidiscos con 56 µg de Ketoconazol y como control negativo sensidiscos con 10 µL del solvente. Todos los ensayos se realizaron por triplicado (Apéndice V. A).

Evaluación cuantitativa

- Determinación de la Concentración Fungicida Mínima (CFM) y la Concentración Fungicida 50 (CF₅₀) para hongos filamentosos (Wang & Bun, 2002)

Para la determinación de la Concentración Fungicida Media (CF₅₀) y la Concentración Fungicida Mínima (CFM), se utilizó el método de dilución en agar (Wang y Bun, 2002). Las concentraciones empleadas fueron: 2000, 1500, 1000, 750, 500 y 250 µg/mL. Todos los ensayos se realizaron por triplicado (Apéndice V. B).

b) Actividad antifúngica sobre levaduras

Evaluación cualitativa

- Método de difusión en agar para levaduras (Koneman *et al.*, 1985)

A partir de un cultivo fresco de la levadura se preparó un inóculo ajustando a una turbidez igual a la del tubo 0.5 de la escala de McFarland, que equivale a 1.5×10^8 cel/mL o UFC.

Se inocularon cajas Petri, con agar papa dextrosa, sembrando masivamente la levadura, se dejaron reposar de tres a cinco minutos y se colocaron sensidiscos. Los sensidiscos se impregnaron con 2000 µg del extracto. Como control positivo se utilizaron sensidiscos con 30 µg de nistatina y como control negativo sensidiscos con 10 µl del solvente. Todos los ensayos se realizaron por triplicad (Apéndice VI. A).

Evaluación cuantitativa

- Determinación de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Fungicida Mínima (CFM) para levaduras (Koneman *et al.*, 2006)

Para determinar la CMI y CFM se utilizó el método modificado de dilución en agar. Las concentraciones utilizadas para los bioensayos fueron: 3.0, 2.0, 1.5, 1.0, 0.75, 0.5, 0.25 y 0.125 mg/mL del extracto que presente actividad antifúngica. Cada bioensayo se realizó por triplicado (Apéndice VI. B).

Caracterización cualitativa de los extractos

- Pruebas fitoquímicas preliminares

La determinación de los principales componentes químicos en los extractos se realizó aplicando pruebas fitoquímicas preliminares (Domínguez, 1979), para detectar los siguientes grupos de compuestos: fenoles, alcaloides, saponinas, glucósidos, taninos, terpenos y esteroides (Apéndice VII).

Cuadro 4. Reactivos utilizados para la determinación de la composición química de los extractos.

Metabolitos	Reactivos	Detección
Saponinas	Extracto + Agua tibia	Capa de espuma que dura más de un minuto.
Alcaloides	1.Dragendorff 2. Meyer	1.Precipitado naranja 2.Precipitado lechoso
Fenoles	FeCl ₃ (2.5%)	Cambio de coloración a verde o azul
Taninos	Prueba de fenoles + gelatina	Cambio de color a azul o verde negruzcos
Glucósidos	Molish	Anillo morado
Monoterpenos	Revelado de placa cromatográfica con Vainillina (5%) y H ₂ SO ₄ (5%)	Manchas color verde o violeta

Evaluación de la toxicidad general

➤ Toxicidad general (McLaughlin, 1991)

En frascos de vidrio se colocaron 10 mL de solución salina al 30% de NaCl y el extracto activo; posteriormente se agregaron, en cada frasco, 10 larvas nauplio II de *Artemia salina* (Leach). Las concentraciones problema a ensayar fueron 1000, 100 y 10 $\mu\text{g/mL}$ de los extractos activos. Como control negativo se utilizó el mismo volumen del solvente utilizado para disolver los extractos activos. Los cultivos se mantuvieron iluminados con luz blanca a una temperatura de 23 a 25°C durante 24 horas (Apéndice VIII).

Análisis estadísticos

Para calcular la CFM, CF_{50} y la CL_{50} de los extractos correspondientes se utilizó el modelo matemático de regresión lineal para cada caso y los posteriormente los datos fueron graficados utilizando el Software Microsoft Office Excel 2013.

RESULTADOS

Colecta de las plantas

Las nueve especies colectadas se distribuyen en siete familias como se muestra en el Cuadro 5, junto al nombre común y el número de colecta.

Cuadro 5. Datos de registro de las plantas

Familia	Especie	Nombre común	No. de colecta
<i>Asteraceae</i>	<i>Jefea pringlei</i>	Árnica	JOM036
	<i>Bidens odorata</i>	Santa María	JOM039
<i>Boraginaceae</i>	<i>Ehretia latifolia</i>	Topoya	JOM002
<i>Convolvulaceae</i>	<i>Merremia dissecta</i>	Hierba de la araña	JOM024
<i>Malvaceae</i>	<i>Melochia tomentosa</i>	Tapacola	JOM025
<i>Meliaceae</i>	<i>Cedrela oaxacensis</i>	Cedro	JOM019
<i>Rhamnaceae</i>	<i>Karwinskia humboldtiana</i>	Hoja de venado	JOM047
	<i>Ziziphus amole</i>	Cholulo	JOM023
<i>Rosaceae</i>	<i>Crataegus mexicana</i>	Tejocote	JOM048

Obtención de los extractos

El rendimiento obtenido de cada uno de los 27 extractos se muestra en el Cuadro 6. Los extractos metanólicos fueron los de mayor rendimiento, de entre los cuales los extractos de *M. dissecta* (22.62%) y *C. mexicana* (21.37%) fueron los de mayor rendimiento. Por otra parte, para *C. oaxacensis* el extracto con mayor rendimiento fue el de acetato de etilo (4.05%).

Cuadro 6. Rendimiento de los extractos.

Especie	Parte colectada	Peso seco (g)	Hexánico		Acetato de etilo		Metanólico	
			(g)	%	(g)	%	(g)	%
<i>J. pringlei</i>	Parte aérea	132.20	4.59	3.39	2.70	2.00	9.34	6.91
<i>B. odorata</i>	Parte aérea	29.64	1.49	5.03	0.71	2.40	2.89	9.75
<i>E. latifolia</i>	Parte aérea	138.00	1.49	1.08	1.09	0.79	4.51	3.27
<i>M. dissecta</i>	Hojas	13.26	0.20	1.51	0.13	0.98	3.00	22.62
<i>M. tomentosa</i>	Parte aérea	94.50	0.51	0.54	0.87	0.92	6.20	6.56
<i>C. oaxacensis</i>	Corteza	31.08	0.56	1.80	1.26	4.05	0.33	1.06
<i>K. humboldtiana</i>	Hojas	26.04	0.36	1.38	0.13	0.50	1.63	6.26
<i>Z. amole</i>	Fruto	86.96	0.44	0.51	0.32	0.37	15.46	17.78
<i>C. mexicana</i>	Fruto	74.36	0.32	0.43	0.88	1.18	15.89	21.37

Evaluación cualitativa de la actividad antifúngica

Los resultados cualitativos de la actividad antifúngica de los extractos se muestran en los Cuadros 7, 8 y 9, donde se observa que los extractos metanólicos inhibieron el crecimiento sobre más cepas que los extractos de acetato de etilo o los hexánicos.

En el Cuadro 7 se aprecia que el extracto metanólico de *Z. amole* inhibió el crecimiento de los cuatro hongos filamentosos y de las tres cepas de levaduras, *K. humboldtiana* y *C. oaxacensis* inhibieron el crecimiento de tres hongos filamentosos y una levadura. *M. tomentosa*, *M. dissecta* y *B. odorata* inhibieron el crecimiento de un hongo filamentosos y una levadura. *C. mexicana* solo inhibió el crecimiento radial de dos hongos filamentosos y de ninguna levadura. *J. pringlei* únicamente inhibió el crecimiento de una levadura. Cabe mencionar que, a excepción del extracto de *Z. amole*, los demás extractos que inhibieron crecimiento de *C. albicans*.

Cuadro 7. Actividad antifúngica de los extractos metanólicos de las plantas.

Hongo	Extractos metanólicos									Testigo
	<i>Jp</i>	<i>El</i>	<i>Mt</i>	<i>Kh</i>	<i>Md</i>	<i>Za</i>	<i>Bo</i>	<i>Cm</i>	<i>Co</i>	
<i>An</i>	-	-	-	-	A	A	A	-	A	A
<i>Fm</i>	-	-	-	A	-	A	-	-	A	A
<i>Fs</i>	-	-	A	A	-	A	-	A	-	A
<i>Tm</i>	-	-	-	A	-	A	-	A	A	A
<i>Ca</i>	A	-	A	A	A	A	A	-	A	A
<i>Cg</i>	-	-	-	-	-	A	-	-	-	A
<i>Ct</i>	-	-	-	-	-	A	-	-	-	A

(A) Activo, (-) no activo, *An*: *A. niger*, *Fm*: *F. moniliforme*, *Fs*: *F. sporotrichum*, *Tm*: *T. mentagrophytes*, *Ca*: *C. albicans*, *Cg*: *C. glabrata*, *Ct*: *C. tropicalis*, *Jp*: *J. pringlei*, *El*: *E. latifolia*, *Mt*: *M. tomentosa*, *Kh*: *K. humboldtiana*, *Md*: *M. dissecta*, *Za*: *Z. amole*, *Bo*: *B. odorata*, *Cm*: *C. mexicana*, *Co*: *C. oaxacensis*, *K*: ketoconazol, *N*: nistatina.

En el Cuadro 8 se presentan los resultados de los extractos de acetato de etilo, donde se observa que todos los extractos, a excepción de *E. latifolia*, inhibieron el crecimiento de *C. albicans*. Además, el extracto de *C. mexicana* inhibió el crecimiento radial de tres de los cuatro hongos filamentosos, *Z. amole* y *B. odorata* inhibieron el crecimiento de dos hongos filamentosos y *K. humboldtiana*, *M. dissecta*, *C. oaxacensis* sobre un hongo filamentosos, mientras que *J. pringlei* y *M. dissecta* no inhibieron el crecimiento en hongos filamentosos.

Cuadro 8. Actividad antifúngica de los extractos de acetato de etilo de las plantas.

Hongo	Extracto de acetato de etilo									Testigo
	<i>Jp</i>	<i>El</i>	<i>Mt</i>	<i>Kh</i>	<i>Md</i>	<i>Za</i>	<i>Bo</i>	<i>Cm</i>	<i>Co</i>	
<i>An</i>	-	-	-	-	-	A	A	A	-	A
<i>Fm</i>	-	-	-	-	-	A	-	-	-	A
<i>Fs</i>	-	-	-	-	A	-	A	A	-	A
<i>Tm</i>	-	-	-	A	-	-	-	A	A	A
<i>Ca</i>	A	-	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>Cg</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
<i>Ct</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A

(A) Activo, (-) no activo, *An*: *A. niger*, *Fm*: *F. moniliforme*, *Fs*: *F. sporotrichum*, *Tm*: *T. mentagrophytes*, *Ca*: *C. albicans*, *Cg*: *C. glabrata*, *Ct*: *C. tropicalis*, *Jp*: *J. pringlei*, *El*: *E. latifolia*, *Mt*: *M. tomentosa*, *Kh*: *K. humboldtiana*, *Md*: *M. dissecta*, *Za*: *Z. amole*, *Bo*: *B. odorata*, *Cm*: *C. mexicana*, *Co*: *C. oaxacensis*, *K*: ketoconazol, *N*: nistatina

El Cuadro 9 muestra los resultados de la inhibición del crecimiento de los extractos hexánicos, de los cuales el de *B. odorata* inhibió el crecimiento de las tres levaduras y de un hongo filamentoso. Mientras que el extracto de *M. dissecta*, inhibió el crecimiento de dos hongos filamentosos y una levadura. Los extractos de *Z. amole* y *C. mexicana* el crecimiento de *F. sporotrichum* y *C. albicans*. *M. tomentosa* y *K. humboldtiana* solo inhibieron el crecimiento de dos hongos filamentosos, cada uno. *C. oaxacensis* y *J. pringlei*, solo inhibió el crecimiento de *F. sporotrichum*.

Cuadro 9. Actividad antifúngica de los extractos hexánicos de las plantas.

Hongo	Extractos hexánicos									Testigo
	<i>Jp</i>	<i>El</i>	<i>Mt</i>	<i>Kh</i>	<i>Md</i>	<i>Za</i>	<i>Bo</i>	<i>Cm</i>	<i>Co</i>	
<i>An</i>	-	-	A	-	-	-	A	-	-	A
<i>Fm</i>	-	-	-	A	A	-	-	-	-	A
<i>Fs</i>	A	-	A	-	-	A	-	A	A	A
<i>Tm</i>	-	-	-	A	A	-	-	-	-	A
<i>Ca</i>	-	-	-	-	A	A	A	A	-	A
<i>Cg</i>	-	-	-	-	-	-	A	-	-	A
<i>Ct</i>	-	-	-	-	-	-	A	-	-	A

(A) Activo, (-) no activo, *An*: *A. niger*, *Fm*: *F. moniliforme*, *Fs*: *F. sporotrichum*, *Tm*: *T. mentagrophytes*, *Ca*: *C. albicans*, *Cg*: *C. glabrata*, *Ct*: *C. tropicalis*, *Jp*: *J. pringlei*, *El*: *E. latifolia*, *Mt*: *M. tomentosa*, *Kh*: *K. humboldtiana*, *Md*: *M. dissecta*, *Za*: *Z. amole*, *Bo*: *B. odorata*, *Cm*: *C. mexicana*, *Co*: *C. oaxacensis*, *K*: ketoconazol, *N*: nistatina

Finalmente, cabe mencionar que *E. latifolia* no presentó actividad antifúngica sobre ninguno de los siete organismos utilizados.

Evaluación cuantitativa de la actividad antifúngica

De los 24 extractos evaluados cuantitativamente, solo dos presentaron una CF₅₀ menor a 2000 µg/mL sobre hongos filamentosos; los extractos metanólicos de *Z. amole* y *C. oaxacensis*. Siendo el extracto de *Z. amole* el que presentó una mayor actividad antifúngica sobre los cuatro hongos filamentosos (Cuadro 10).

Cuadro 10. Evaluación cuantitativa de los extractos Metanólicos activos

	<i>J. pringlei</i> (µg/mL)		<i>M. tomentosa</i> (µg/mL)		<i>K. humboldtiana</i> (µg/mL)		<i>M. dissecta</i> (µg/mL)		<i>Z. amole</i> (µg/mL)		<i>B. odorata</i> (µg/mL)		<i>C. mexicana</i> (µg/mL)		<i>C. oaxacensis</i> (µg/mL)	
	CF ₅₀	CFM	CF ₅₀	CFM	CF ₅₀	CFM	CF ₅₀	CFM	CF ₅₀	CFM	CF ₅₀	CFM	CF ₅₀	CFM	CF ₅₀	CFM
An	>2000	n.d.	>2000	n.d.	>2000	n.d.	>2000	n.d.	463	n.d.	>2000	n.d.	>2000	n.d.	1700	13430
Fm	>2000	n.d.	>2000	n.d.	>2000	n.d.	>2000	n.d.	360	n.d.	>2000	n.d.	>2000	n.d.	>2000	n.d.
Fs	>2000	n.d.	>2000	n.d.	>2000	n.d.	>2000	n.d.	486	1280	>2000	n.d.	>2000	n.d.	>2000	n.d.
Tm	>2000	n.d.	>2000	n.d.	>2000	n.d.	>2000	n.d.	1102	n.d.	>2000	n.d.	>2000	n.d.	>2000	n.d.

An: *A. niger*, Fm: *F. moniliforme*, Fs: *F. sporotrichum*, Tm: *T. mentagrophytes*, n.d: No determinado.

Para todos los extractos de acetato de etilo y los extractos hexánicos, la CF₅₀ fue mayor a 2000 µg/mL.

A continuación, se presentan las curvas de inhibición del extracto metanólico de *Z. amole* sobre los cuatro hongos filamentosos donde las cepas más sensibles fueron *F. moniliforme* (CF₅₀ = 360 µg/mL, figura 6) y *A. niger* (CF₅₀ = 463 µg/mL, figura 4). Y también se muestra la curva de inhibición del extracto metanólico de *C. oaxacensis* sobre *A. niger* (Figura 7) que fue la cepa más sensible a este extracto con una CF₅₀ = 1700 µg/mL.

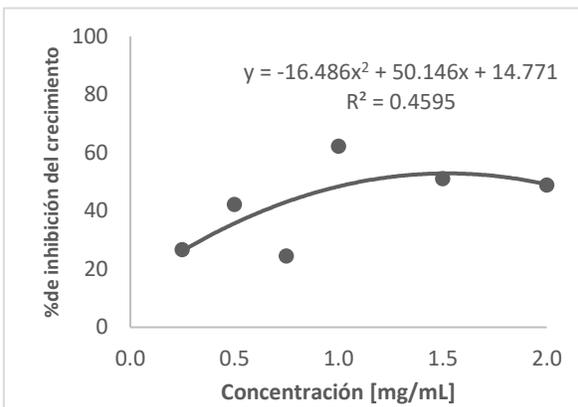


Figura 3. Porcentajes de inhibición del extracto metanólico de *Z. amole* sobre *T. mentagrophytes*

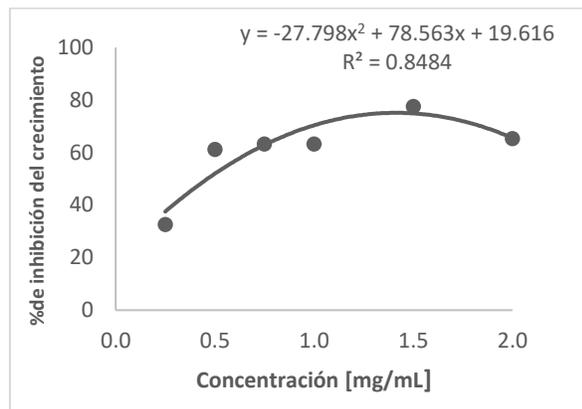


Figura 4. Porcentajes de inhibición del extracto metanólico de *Z. amole* sobre *A. niger*.

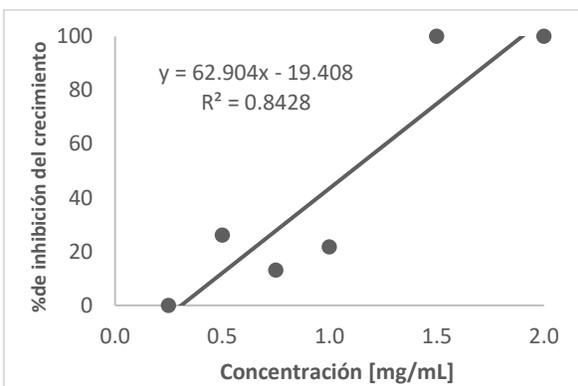


Figura 5. Porcentajes de inhibición del extracto metanólico de *Z. amole* sobre *F. sporotrichum*.

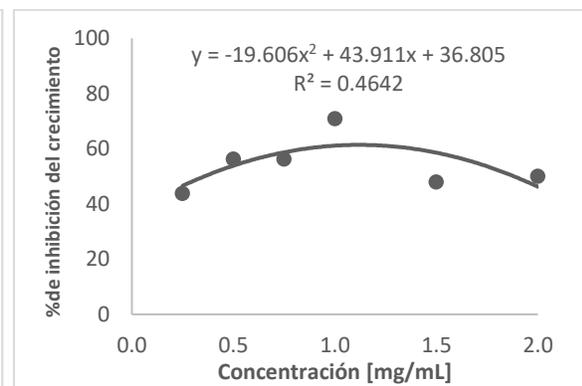


Figura 6. Porcentajes de inhibición del extracto metanólico de *Z. amole* sobre *F. moniliforme*.

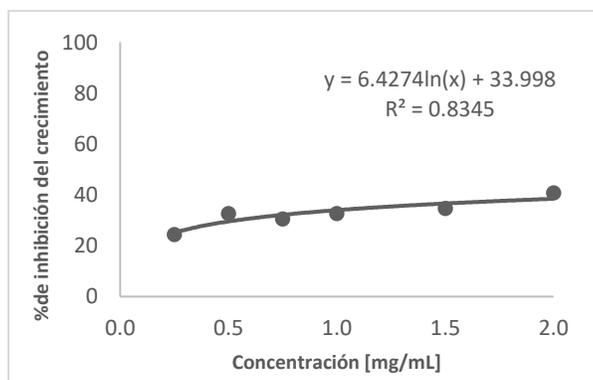


Figura 7. Porcentajes de inhibición del extracto metanólico de *C. oaxacensis* sobre *A. niger*.

En cuanto al ensayo realizado para las levaduras, todos los extractos inhibieron al menos una de las cepas, sin embargo, todos presentaron valores de CMI y CFM mayores a 3000 $\mu\text{g/mL}$

Caracterización cualitativa de los extractos

En el cuadro 11 se muestran los resultados de las pruebas cualitativas realizadas a los extractos, donde se identificó la presencia de flavonoides y esteroides en las nueve plantas. Además, de manera general, la mayoría de los extractos también contienen glucósidos y monoterpenos.

Cuadro 11. Caracterización cualitativa de los extractos.

Extracto		Fenoles	Glucósidos	Saponinas	Flavonoides	Esteroides	Monoterpenos
<i>J. pringlei</i>	M	+	-	+	+	+	-
	A	+	-	-	+	+	+
	H	-	-	-	-	+	+
<i>E. latifolia</i>	M	+	+	-	-	+	+
	A	+	-	-	+	+	+
	H	-	-	-	-	+	+
<i>M. tomentosa</i>	M	+	+	-	+	-	-
	A	+	+	-	+	+	+
<i>K. humboldtiana</i>	M	+	+	-	+	+	-
<i>M. dissecta</i>	M	+	+	-	+	+	-
	A	+	+	-	+	+	+
<i>Z. amole</i>	M	+	+	+	+	+	-
	A	+	-	-	+	+	-
<i>B. odorata</i>	M	+	+	-	+	+	-
	A	+	+	-	+	+	+
	H	+	-	-	-	+	+
<i>C. mexicana</i>	M	+	+	-	+	-	-
	A	+	-	-	+	-	-
<i>C. oaxacensis</i>	M	+	+	-	-	+	-
	A	-	+	-	-	+	-
	H	+	-	-	+	+	-

(M) Extracto metanólico, (A) Extracto de acetato de etilo, (H) Extracto hexánico, (+) Positivo.

Toxicidad general

Se realizó la prueba de toxicidad general solo para los extractos que presentaron una CF_{50} por debajo de los 2000 $\mu\text{g/mL}$ para al menos un hongo; de los 24 extractos activos solo los extractos metanólicos de *Z. amole* y *C. oaxacensis* cumplieron con este criterio.

El extracto de *Z. amole* presenta una toxicidad fuerte según los criterios de McLaughlin (Apéndice VI), mientras que el extracto de *C. oaxacensis* tiene una toxicidad moderada.

Cuadro 12. Dosis letal media de los extractos con mayor actividad antifúngica.

<i>Z. amole</i> ($\mu\text{g/mL}$)		<i>C. oaxacensis</i> ($\mu\text{g/mL}$)	
CL₅₀	Toxicidad	CL₅₀	Toxicidad
40.63	Fuerte	342.48	Moderada

DISCUSIÓN

Las plantas elegidas para este estudio se utilizan comúnmente como antiinflamatorios, para tratar enfermedades respiratorias y enfermedades gastrointestinales dentro de la comunidad de Santiago Quiotepec. La inflamación es una respuesta general al daño producido directamente a un tejido o a la presencia de un agente extraño, que puede ser un microorganismo (bacterias, hongos y virus). Uno de los primeros síntomas en las primeras etapas de una infección por microorganismos es la inflamación aguda, como respuesta del sistema inmunológico a la invasión (Stainer *et al.*, 1992). Por lo anterior, se evaluó la actividad antifúngica de las especies utilizadas en este estudio.

Rendimiento de los extractos

A pesar de que la extracción con solventes orgánicos es eficiente y sencilla para las pruebas en laboratorio, puede ser perjudicial para la salud humana debido a las trazas de solvente orgánico que pueden quedar en el extracto. Por esta razón, en medicina tradicional se reporta que las plantas deben macerarse en soluciones agua-etanol a concentraciones de etanol de 30% o 70% debido a su baja toxicidad para el consumo humano (Soto-García y Rosales-Castro, 2016).

Para obtener los extractos se utilizó un solvente químicamente polar (metanol), uno de polaridad intermedia (acetato de etilo) y uno no polar (hexano), con la finalidad de extraer compuestos de estas polaridades para hacer un tamizaje fitoquímico que permitiera saber si la actividad biológica de los extractos obtenidos se asocia a la polaridad de sus compuestos.

En el cuadro 4 se compara el rendimiento de los extractos según el solvente utilizado, los extractos metanólicos fueron de los que se obtuvieron mayores rendimientos, lo que indica que estas plantas contienen más compuestos de alta polaridad que de polaridad intermedia o polaridad baja.

Caracterización cualitativa de los extractos

Dentro de la medicina tradicional, la mayoría de los compuestos con actividad biológica que se obtienen a partir de infusiones y maceraciones, contienen compuestos de alta polaridad. Las plantas empleadas en el presente estudio no son la excepción, ya que los extractos metanólicos fueron los de mayor rendimiento (Cuadro 4), lo que indica que tienen un alto

contenido de compuestos polares. Y, de manera complementaria, se realizó la caracterización cualitativa de todos los extractos y se detectó que cualitativamente casi todos, incluyendo a los extractos de polaridad intermedia y los no polares, contienen compuestos fenólicos; fenoles y flavonoides (Cuadro 11).

Otros grupos de metabolitos secundarios abundante en las nueve plantas fueron; los esteroides (Cuadro 11) que se han reportado como antiinflamatorios altamente efectivos, como antidiabéticos, antihipercolesterolémicos, antivirales y antifúngicos; los glucósidos que también poseen actividad antiinflamatoria, antioxidante y antitumoral; los monoterpenos que fungen como antimicóticos (Gómez *et al.*, 2011; Aguilera *et al.*, 2011).

Actividad antifúngica

Las nueve especies de este estudio tienen en común que además de sus diversos usos, en la comunidad de Santiago Quiotepec, todas son reconocidas por su actividad antiinflamatoria, la cual probablemente esté asociada a la presencia de los esteroides y flavonoides (Cuadro 11). Además, ocho de estas plantas presentaron actividad antifúngica, la cual puede deberse a su variado contenido de metabolitos secundarios reportados con actividad antifúngica; fenoles, flavonoides, saponinas, esteroides y monoterpenos. A continuación, se comparan estudios anteriores contra los resultados obtenidos para cada especie con base en si su actividad antifúngica fue alta (menor a 2000 μ g/mL), moderada (mayor a 2000 μ g/mL) o nula:

Especies con actividad alta

- *Z. amole*

En 1997, Zavala y colaboradores, así como Gutiérrez-Morales en 2017 reportan que el extracto metanólico de *Z. amole*, posee actividad antibacteriana. En el presente estudio se demuestra que, además, ejerce actividad antifúngica en bajas concentraciones sobre hongos miceliados y levaduras del género *Candida*. Además, la CF₅₀ sobre los cuatro hongos miceliados está por debajo de lo 2000 μ g/mL (Cuadro 8), pero para las levaduras la CF₅₀ fue mayor a 3000 μ g/mL.

- *C. oaxacensis*

Hasta el momento no se habían realizado estudios sobre la actividad antifúngica de *Cedrela oaxacensis* la cual, inhibió el crecimiento de hongos filamentosos y de levaduras (Cuadros 5, 6 y 7), lo que puede deberse al contenido de fenoles pues, se sabe que los compuestos fenólicos pueden ser altamente tóxicos para los microorganismos al interferir en la síntesis de proteínas (Rivas-Morales *et al.*, 2016).

Especies con actividad moderada

- *K. humboldtiana*

Se ha reportado que inhibe el crecimiento de *A. niger*, hongos del género *Fusarium* y de levaduras (Tequida-Meneses *et al.*, 2002; Salazar *et al.*, 2006), lo que se confirmó en esta tesis (Cuadro 5).

- *J. pringlei* y *B. odorata*

Se ha reportado actividad antimicrobiana para la familia Asteraceae y se han registrado estudios antifúngicos de *J. pringlei*, en este estudio presentó actividad antifúngica sobre *C. albicans* y *F. sporotrichum* (Cuadros 5, 6 y 7). Además, aunque en diversos estudios se menciona que las plantas del género *Bidens* han mostrado actividad antimicrobiana (Deba *et al.*, 2007; Deba *et al.*, 2008; Rybalchenko *et al.*, 2010; Bartolomé *et al.*, 2013), en ninguno de dichos estudios se utilizaron los extractos, se utilizaron aceites esenciales, que suelen contener una mayor concentración de metabolitos secundarios, además de que no realizaron pruebas cuantitativas para calcular la Concentración Fungicida Media (CF₅₀) y en este trabajo sí se realizó y la CF₅₀ para todos los hongos miceliados, la cual es mayor a 2000µ/mL (Cuadro 8).

- *C. mexicana*

En los dos estudios realizados por Bautista-Baños *et al.* en el 2000, extractos de *C. mexicana* inhibieron el crecimiento de hongos miceliados, lo que es congruente con los resultados obtenidos ya que los extractos inhibieron el crecimiento de este grupo de hongos y de *C. albicans* (Cuadros 5, 6 y 7).

- *M. tomentosa*

Presentó actividad antifúngica (Cuadros 5, 6 y 7) sobre hongos miceliados y levaduras, lo que no es de sorprenderse debido a que anteriormente se han aislado compuestos con actividad antifúngica de esta especie y en general de la familia Malvaceae (Emile *et al.*, 2007; Dias *et al.*, 2007; Durga *et al.*, 2012).

- *M. dissecta*

Se ha reportado su notable actividad antibacteriana, además de que hay varios estudios que demuestran la actividad antimicrobiana para la familia Convolvulaceae (Pérez-Amador *et al.*, 1998; Lozano *et al.*, 2007; Narayana *et al.*, 2017). Sin embargo, de esta especie no se había evaluado la actividad antifúngica; inhibe el crecimiento de hongos miceliados y levaduras.

Especies con actividad nula

- *E latifolia*.

Éste es el primer reporte de la actividad antifúngica de *E. latifolia* y a pesar de que se ha reportado su uso medicinal contra enfermedades infecciosas gastrointestinales, no presentó actividad antifúngica en ninguno de los siete hongos utilizados en este trabajo (Cuadros 5, 6 y 7). Sin embargo, esto es congruente con estudios de la familia Boraginaceae donde se menciona que, aunque poseen compuestos fenólicos y monoterpenos, las plantas de esta familia se caracterizan más bien por contener alcaloides y se ha reportado que sí poseen actividad antiinflamatoria, antidiabética, antioxidante y antiparasitaria, pero no se ha reportado que posean actividad antifúngica (Brigham *et al.*, 1999; Leos, 2010; Salazar-Aranda *et al.*, 2011; Espitia-Baena *et al.*, 2014).

A pesar de que casi todos los extractos poseen actividad antifúngica, las pruebas cuantitativas demuestran que en la mayoría se requieren concentraciones mayores a 2mg/mL (Cuadro 8). Sin embargo, se valida que el uso medicinal que se le da a estas plantas se justifica para enfermedades de posible origen infeccioso.

Toxicidad general

De los 27 extractos obtenidos para este estudio, únicamente se realizó la prueba de toxicidad general para los que presentaron una CF_{50} menor a 2 mg/mL sobre alguna de las cepas.

El estudio de la toxicidad de extractos o moléculas aisladas de las plantas es muy importante, pues si se determina esta se puede calcular el índice terapéutico del extracto o compuesto para utilizarlo con dosis subtóxicas. El índice terapéutico refleja la seguridad relativa de un medicamento o compuesto en su selectividad de acción (Leos-Rivas, 2016).

La toxicidad general del extracto metanólico de *Z. amole* es fuerte ($CL_{50} = 40.63 \mu\text{g/mL}$), pero es importante tomar en cuenta la manera en que es utilizada esta planta por los pobladores de la comunidad de Santiago Quiotepec ya que, a pesar de su toxicidad, la dosis empleada puede ser baja;

El extracto metanólico de *C. oaxacencis* tiene una toxicidad general moderada ($CL_{50} = 342.48 \mu\text{g/mL}$), lo que sugiere que quizás podría ocuparse con una dosis “subtóxica”.

Sin embargo, no es posible determinar la concentración exacta para el uso medicinal de estas especies solo con estos datos, debido a que no se realizó la prueba de toxicidad para los extractos hexánico ni de acetato de etilo. Además, se desconoce la concentración exacta de los principios activos con actividad antifúngica de ambas especies, pues no se ha reportado nada al respecto.

CONCLUSIONES

- Los extractos con mayor rendimiento fueron los metanólicos de *M. dissecta* (22.62%) y *C. mexicana* (21.37%) y para *C. oaxacensis* el extracto de acetato de etilo (4.05%). Es decir, la mayoría de los extractos poseen una mayor concentración secundarios de metabolitos secundarios de alta polaridad.
- De los 27 extractos evaluados, 24 inhibieron el crecimiento radial de los hongos filamentosos en las pruebas cualitativas. Sin embargo, solo los extractos metanólicos de *Z. amole* y *C. oaxacensis* presentan una CF_{50} menor a 2000 $\mu\text{g/mL}$ sobre éstos. Siendo el extracto de *Z. amole* el que presentó una mayor actividad antifúngica sobre los cuatro hongos filamentosos.
- Aunque en las pruebas cuantitativas, todos los extractos inhibieron el crecimiento de al menos una levadura, ninguno alcanzó valores de CMI y CFM menores a 3000 $\mu\text{g/mL}$.
- *E. latifolia* no posee actividad antifúngica sobre hongos filamentosos ni levaduras.
- En las nueve especies hay presencia de flavonoides, glicósidos y esteroides.
- La CL_{50} de los extractos metanólicos de *Z. amole* y *C. oaxacensis* es de 40.63 $\mu\text{g/mL}$ y 342.48 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente; la toxicidad general los extractos metanólicos de *Z. amole* y *C. oaxacensis* es fuerte y moderada respectivamente.

PERSPECTIVAS

En los últimos años la incidencia de micosis ha aumentado debido al uso excesivo e inadecuado de los antibióticos. A su vez, los antibióticos suelen ser agresivos dentro del organismo y eliminan a la mayoría de las bacterias, patógenas y no patógenas, lo que favorece la reproducción de hongos y generar una micosis. El uso de plantas medicinales, sustentado por estudios científicos de esta índole, sin duda es una alternativa para poder tratar estas micosis de manera económica y menos agresiva para el organismo.

Por lo anterior, valdría la pena ampliar el estudio de la actividad antifúngica utilizando otras cepas de interés clínico y económico como lo son los hongos fitopatógenos, pues más de la mitad de las enfermedades en plantas son producidas por este tipo de hongos y ocasionan pérdidas millonarias a nivel mundial.

Adicionalmente, cabe recalcar que los metabolitos secundarios están adquiriendo cada día mayor importancia como base para la clasificación vegetal, ya que algunos de estos son característicos de tribus, géneros y en ocasiones, son típicos de especies particulares. Por lo que sería conveniente realizar los perfiles fitoquímicos de estos ejemplares para tratar de caracterizar los extractos y así conocer con exactitud los compuestos activos responsables de su actividad antifúngica, así como realizar el aislamiento de dichos metabolitos para su futuro uso farmacéutico.

También, es recomendable evaluar la toxicidad de los extractos faltantes ya que todas estas plantas siguen siendo consumidas por la comunidad de Santiago Quiotepec y, además, podríamos considerarlos como una alternativa para ampliar su uso terapéutico para complementar la medicina alópata.

APÉNDICE I

Área de colecta

La comunidad de Santiago Quiotepec se encuentra en el Municipio San Juan Bautista Cuicatlán en el Estado de Oaxaca. Pertenece a la Reserva de la Biósfera de Tehuacán-Cuicatlán dentro de los Estados de Puebla y Oaxaca (Figura 8).



Figura 8. Ubicación de la Reserva de la Biósfera Tehuacán-Cuicatlán.

El municipio de San Juan Bautista Cuicatlán se encuentra comprendido entre los 17°48' de latitud norte y 96°57' de longitud oeste a una altitud de 620 metros sobre el nivel del mar y se ubica aproximadamente a 104 Km al norte de la capital del Estado. Colinda al norte con los municipios de Concepción Pápalo, Cuyamecalco Villa de Zaragoza, Mazatlán Villa de Flores, Santa María Ixcatlán y Santa María Tecomavaca; al sur con San Juan Bautista Atlatlahuaca, San Pedro Jaltepetongo y Santiago Nacaltepec; al oeste con los municipios de Santa María Apazco, San Pedro Jaltepetongo, Valerio Trujano, San Pedro Jocotipac, San Miguel Huautla y Santa María Ixcatlán; al este con Concepción Pápalo, San Juan Tepeuxila, Santos Reyes Pápalo, Santa María Pápalo, San Juan Tepeuxila y San Juan Bautista Atlatlahuaca (INAFED, 2010).

Este municipio cuenta con una superficie aproximada de 456.39 Km². Ocupa el 0.49% de la superficie del estado y cuenta con 33 localidades y una población de 9 181 habitantes (INAFED, 2010).

Orografía

El terreno donde se ubica la población presenta elevaciones de menor tamaño; a espaldas del municipio se localiza un cerro de gran tamaño; la extensión completa del municipio cuenta con grandes cerros, siendo muy accidentado el territorio municipal (INEGI, 2008).

Hidrografía

La extensión territorial del municipio es regada ampliamente por el río Grande, principal río de la localidad, además el municipio se localiza en lo que se conoce como la Cuenca del Río Papaloapan, contando con afluentes de este río (INEGI, 2008).

Clima

La temperatura promedio en el municipio varía entre los 16°C y 30°C alcanzando temperaturas en verano hasta de 36°C. Tiene un promedio anual de precipitación pluvial de 500 mm, presentándose las lluvias durante los meses de junio a septiembre (INEGI, 2008).

Flora

Dentro de la flora que se puede encontrar en el municipio se localiza el amate, higo, guapinol, aguacatillo, roble y cedro en las partes altas; en las bajas se encuentra principalmente palmas, ceibas, cactus, biznagas y cazahuate (INEGI, 2008).

Fauna

En lo que respecta a la fauna silvestre se cuenta con palomas, tortolitas, tejones, tlacuaches, iguanas, serpientes y gran variedad de insectos (INEGI, 2008).

Recursos naturales

El principal recurso natural es el forestal y el hidrológico, el terreno es fértil y se obtienen frutas en abundancia (INEGI, 2008).

Características y Uso de Suelo

El municipio de Cuicatlán está formado por suelos tipo fluvisol éutrico, los cuales se caracterizan por estar compuestos siempre de materiales acarreados por agua. Son suelos poco desarrollados y la vegetación que presenta varía desde selvas hasta matorrales y pastizales (INEGI, 2008).

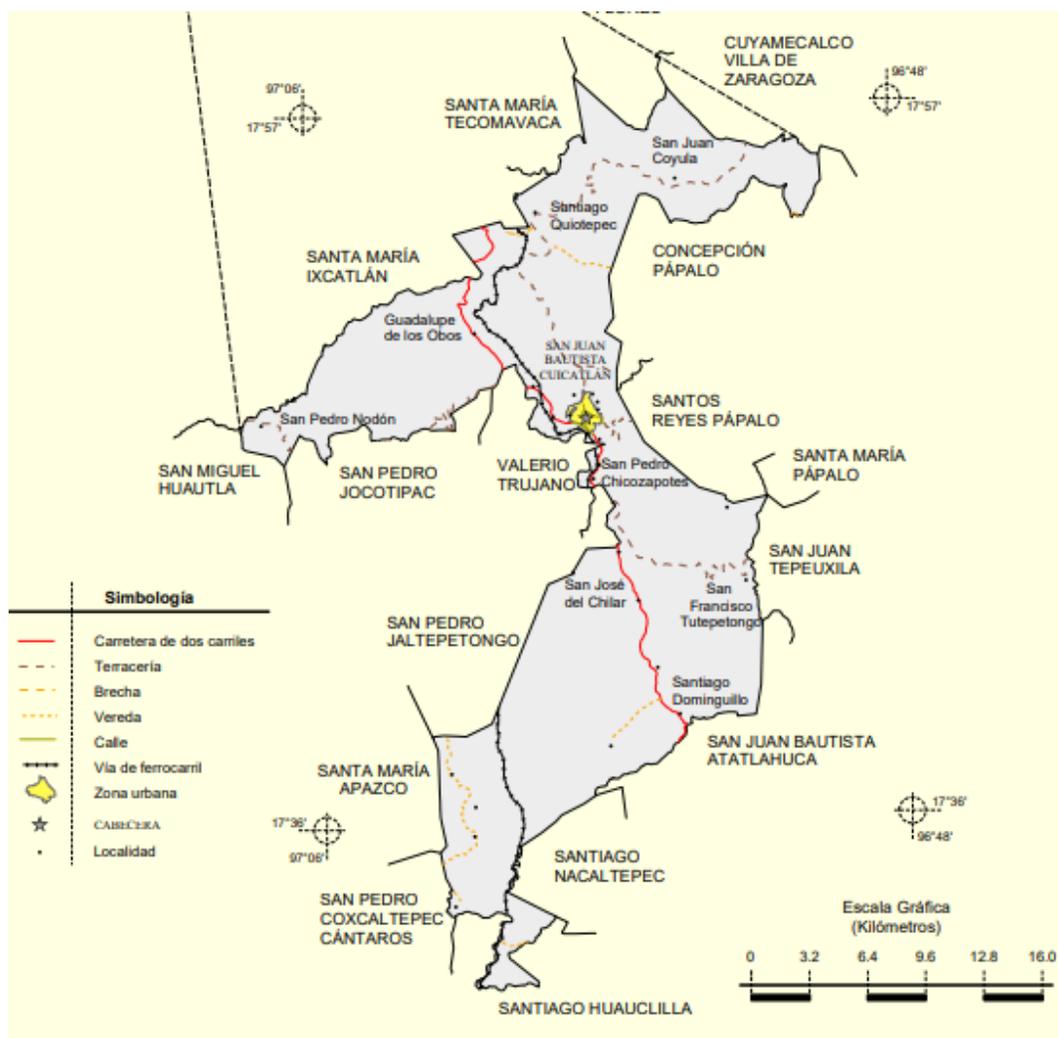


Figura 9. Mapa de San Juan Bautista Cuicatlán.

La comunidad de Santiago Quiotepec se encuentra en la parte más baja de una zona de depresión identificada como la "Cañada poblano–oaxaqueña", en el interior de la Sierra Madre Occidental, con apenas 545 m de altitud. Se beneficia de un clima semiárido muy seco ya que recibe una precipitación anual de sólo 500 mm, mientras que su temperatura promedio supera los 25°C.2 Las lluvias se concentran entre junio y septiembre, relacionadas comúnmente con la presencia de ciclones y huracanes.

Esta comunidad se distingue por un potencial hídrico favorable, a pesar del tipo de clima. Ello se debe a su localización a la orilla de cuatro ríos, en particular el Río Grande que en Quiotepec se une con el río Salado, siendo los dos tributarios del río Papaloapan (Brunel, 2008).

APÉNDICE II

Descripción botánica de las plantas

Familia: Asteraceae

Especie: *Jefea pringlei* (Greenm.) Strother

Nombre común: Árnica

Parte utilizada: Parte aérea y hojas

Distribución: Estado de Puebla y Oaxaca

Usos medicinales: Se utiliza como antiinflamatorio y sobre heridas cutáneas.



Figura 10. Ejemplar herborizado de *J. pringlei*.
(Red de herbarios del Noreste de México, 2018)

Familia: Boraginaceae

Especie: *Erhetia latifolia* Loisel. Ex A. DC.

Nombre común: Topoya, Capulín Blanco

Parte utilizada: Parte aérea

Distribución: Estado de Puebla y Oaxaca. Normalmente se

encuentra en áreas de pastoreo y utilizada en cercas vivas a orillas de caminos y carreteras.

Descripción: Árbol de 12 a 25 metros de altura. Hojas simples, alternas, de 4 a 15 cm. de largo por 3 a 7 cm. de ancho, de ovadas a ovado-elípticas u ovaes. Ápice agudo. Flores blancas, campanuladas, de 4.6 a 5.2mm. de largo. Los frutos son drupas de 2.0 por 1.5 cm. de diámetro, ovoides, blancas o amarillo-pálidas al madurar, y se tornan negras o pardo-oscuros posteriormente. Se caracteriza por sus hojas ásperas y borde aserrado, así como por su copa redondeada y densa. En época de floración esta copa es blanca y conspicua, y ayuda a reconocerlo fácilmente a la distancia (Zamora, 1989).

Usos medicinales: Se utiliza como antiinflamatorio, sobre heridas cutáneas, para dolores de riñón, para tratar enfermedades gastrointestinales, tumores y postparto.



Figura 11. Ejemplar herborizado de *E. latifolia*. (Red de herbarios del Noreste de México, 2018)

Familia: Convolvulaceae

Especie: *Merremia dissecta* (Jacq.) Hallier f.

Nombre común: Hierba de la araña, correhuela de las doce.

Parte utilizada: Hojas

Distribución: Campeche, Chiapas, Coahuila, Colima, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo San Luís Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán.

Descripción: Se distingue de especies parecidas por sus hojas profundamente lobuladas (pero no con folíolos separados), los lóbulos a su vez dentados, corola blanca, glabra y grande (más de 3 cm) con la garganta morada o rojiza, fruto una cápsula que abre por valvas, estambres y estilos sin sobresalir de la corola, estigma bigloboso, estambres torcidos.

(CONABIO, 2010).

Usos medicinales: Se utiliza para picaduras y problemas en el hígado.



Figura 12. Ejemplar herborizado de *M. dissecta*.
(Red de herbarios del Noreste de México, 2018)

Familia: Malvaceae

Especie: *Melochia tomentosa* L.

Nombre común: Tapacola, Malva de los cerros.

Parte utilizada: Parte aérea

Distribución: Baja California Sur, Campeche, Chihuahua, Colima, Durango, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán y Zacatecas. En orillas de camino, sitios perturbados, bosques secos, campos y sabanas.

Descripción: Arbusto o raramente hierba erecta de hasta 4 metros de altura. Con un tallo con pelos estrellados y lenticelas visibles. Las hojas son alternas, ovadas a angostamente ovadas, de hasta 6.5 cm de largo y hasta 4 cm de ancho, con el ápice más o menos agudo, con dientes (a veces redondeados) en el margen, la base redondeada a acorazonada, cubiertas de abundantes pelos estrellados. Las flores agrupadas en las axilas de las hojas, sostenidas por un pedúnculo generalmente más largo que el pecíolo de la hoja correspondiente; a veces también ubicadas en las puntas de los tallos (CONABIO, 2009).

Usos medicinales: Para tratar enfermedades gastrointestinales, para resfriados y lavados de ojos, pero también hay indicios que puede causar tumores.



Figura 13. Ejemplar herborizado de *M. tomentosa*.
(Red de herbarios del Noreste de México, 2018)

Familia: Rhamnaceae

Especie: *Karwinskia humboldtiana* (Schult.) Zucc.

Nombre común: Hoja de venado, Tullidora.

Parte utilizada: Hojas

Distribución: Baja California a Tamaulipas, Veracruz, Yucatán, Oaxaca, Querétaro, Sinaloa, Nayarit, Nuevo León, hasta el Oeste de Texas.

Descripción: Arbusto de 1 a 3m de altura. Las hojas son alargadas, miden de 4 a 8cm de largo están rígidas y se ven paradas. Las flores son blanco-verdosas y pequeñas. Los frutos son globosos, lisos y brillantes, cuando maduros, son de color rojo. Las semillas tienen forma de lenteja.

Usos medicinales: El principal uso medicinal que se hace de la tullidora, es para curar heridas; con tal motivo se aplica la savia en la parte afectada (Oaxaca), o bien se lavan las heridas infectadas con la infusión de las hojas y la raíz. Sin embargo, para tratar la disentería amebiana, las hojas de este arbusto se muelen y se bebe su extracto previamente colado. También se le utiliza para tratar problemas del aparato digestivo como disentería (en general) y cálculos biliares; y contra el dolor de cabeza, reumatismo, convulsiones, paludismo y tétanos. Se le atribuyen propiedades abortivas.

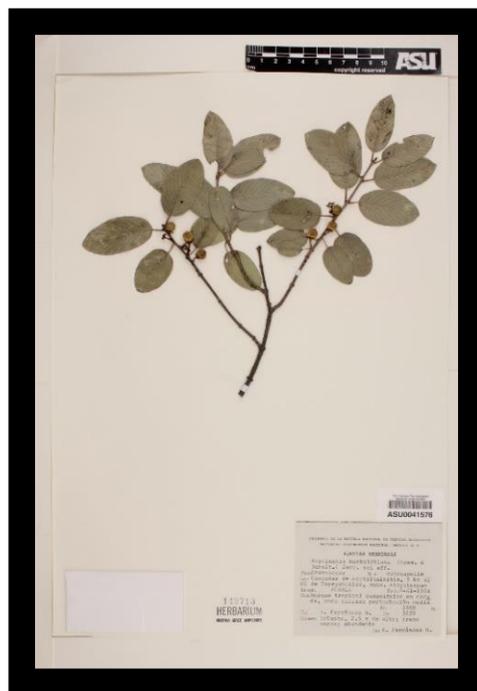


Figura 14. Ejemplar herborizado de *K. humboldtiana*.
(Red de herbarios del Noreste de México, 2018)

Familia: Asteraceae

Especie: *Bidens odorata* Cav.

Nombre común: Santa María

Parte utilizada: Hojas

Distribución: Oaxaca, Puebla y Veracruz.

Descripción: Es una hierba que mide de 10 a 80cm de altura y tiene tallos angulosos de color púrpura. Sus hojas suelen estar divididas como en cinco pequeños fascículos. Sus cabezuelas son parecidas a la margarita, las 5 flores de alrededor presentan lengüetas blancas con líneas púrpuras, mientras las centrales son flores tubulosas y amarillas. Los frutos son largos y angostos, van del color café al negro (APMTM, 2018).

Usos medicinales: Antiinflamatoria y postparto.



Figura 15. Ejemplar herborizado de *B. odorata*.
(Red de herbarios del Noreste de México, 2018)

Familia: Rhamnaceae

Especie: *Ziziphus amole* (Sessé & Moc.) M.C. Johnst

Nombre común: Cholulo

Parte utilizada: Fruto

Distribución: Puebla, Oaxaca, Sinaloa y Veracruz.

Descripción: Es un arbusto o árbol pequeño que alcanza un tamaño de 12 m de altura, con las ramas jóvenes verdes, a veces tiene espinas. Las hojas tienen forma de huevo o a veces un poco redondeadas. Las flores son un poco velludas. Los frutos son globosos y pequeños, de color rojizo (Naturalista, 2018).

Usos medicinales: para calmar la comezón.



Figura 16. Ejemplar herborizado de *Z. amole*. (Red de herbarios del Noreste de México, 2018)

Familia: Rosaceae

Especie: *Crataegus mexicana* Moc. & Sessé

Nombre común: Tejocote

Parte utilizada: Fruto



Distribución: Valle de México, Morelos, Tlaxcala, Hidalgo, Puebla, Veracruz, San Luis Potosí, Jalisco, Michoacán, Chiapas, Guerrero, Oaxaca y Sinaloa

Descripción: Árbol de 4 a 8 m de altura, es de crecimiento moderado y vive hasta 40 años. Pecíolos hasta de 1 cm de largo, láminas pecioladas, alternas, simples, romboideo-elípticas a ovadas u oblongas a obovadas, de 3-11 cm de largo por 1-5 cm de ancho, ápice agudo u obtuso, borde aserrado a veces algo lobado, base cuneada, haz verde oscuro poco piloso o glabro, envés más pálido, esparcida o densamente pubescente; corimbos de pocas flores; sépalos 5, lanceolados, tomentosos, de alrededor de 5 mm de largo, subenteros o glanduloso-aserrados; pétalos 5, blancos, de 1 cm de largo o menos; fruto semejando una pequeña manzana amarillo-anaranjada, de 2-3 cm de diámetro; semillas cafés, lisas (CONAFOR, 2015).

Usos medicinales: para tratar enfermedades respiratorias.



Figura 17. Ejemplar herborizado de *C. mexicana*. (Red de herbarios del Noreste de México, 2018)

Familia: Meliaceae

Especie: *Cedrela oaxacensis* C. DC. & Rose

Nombre común: Cedro

Parte utilizada: Corteza

Distribución: Valle de Oaxaca



Descripción: Árbol monoico, de hasta 4 m de altura. Corteza exfoliable, lisa, de color gris rojizo; ramas pubérulo-lenticeladas con pequeñas manchas blancas. Hojas paripinnadas, generalmente con 6 pares de folíolos de 8 cm de largo por 5.5 cm de ancho, enteros con una cubierta pilosa o vellosa. Inflorescencias terminales, de 20 a 35 cm de largo, con flores unisexuales color de rosa, de 7 a 8 mm de longitud con el cáliz de 5 dientes. Ovario globoso, con cinco lóculos, cada uno con 9 o 10 óvulos, aunque en las flores masculinas es más pequeño y los óvulos son vestigiales. Fruto ligeramente leñoso, erecto, cápsula oblonga, de 2.5 a 4.5 cm de diámetro, pedúnculo de 5 mm, columela de caras cóncavoconvexas y de ápice cerrado. Semillas aladas de color café, de 2 cm.; plántulas epigeas (Aguilar y García, 2004).

Usos medicinales: para tratar tumores, enfermedades cardiovasculares, como antiinflamatorio, para dolor esqueleto-muscular y para purificar la sangre.



Figura 18. Ejemplar herborizado de *C. oaxacensis*. (Red de herbarios del Noreste de México, 2018)

APÉNDICE III

Antifúngicos

Los antifúngicos, también conocidos como antimicóticos, son sustancias capaces de producir una alteración en la estructura de las células de un hongo, de tal manera que consigan inhibir su desarrollo, alterando su viabilidad o capacidad de supervivencia, lo que facilita el funcionamiento de los sistemas de defensa del huésped por lo que se utilizan contra las infecciones causadas por hongos (Korolkovas, 1983; Gregori, 2005).

Clasificación

Debido a que este grupo de agentes incluye una amplia variedad de sustancias con diferentes estructuras químicas y mecanismos de acción, su clasificación se realiza según criterios que atienden a su estructura (cuadro 13); de acuerdo con su origen (sustancias producidas por organismos vivos o derivados de síntesis química); de acuerdo con su espectro de acción (amplio o restringido) y de acuerdo con el sitio de acción (cuadro 14) (Gregori, 2005).

Estructura

Cuadro 13. Clasificación de los antifúngicos por su estructura.

Polienos	Nistatina, Natamicina, Amfotericina B
	Imidazol: miconazol, clotrimazol
Azoles	Triazoles: fluconazol, itraconazol, ketoconazol
	Triazoles de segunda generación: voriconazol, ravuconazol, posaconazol
Alilaminas	Terbinafina, naftifina
	Papulacandinas
Lipopéptidos	Triterpenos glicosilados
	Equinocandinas: caspofungina, anidulofungina, micafungina
Primidinas fluoradas	Flucitosina
Otros	Yoduro de potasio, ciclopirox, tolnaftato, griseofulvin

Polienos. Los medicamentos que se encuentran en este grupo se unen al ergosterol presente en la membrana celular del hongo, formando poros que alteran la permeabilidad de la membrana lo que provoca una pérdida de proteínas, glúcidos y cationes monovalentes y divalentes, ocasionando de la muerte celular. Un ejemplo es la Nistatina (Figura 19); con una excelente actividad antifúngica frente a un amplio espectro de patógenos como *Candida*, se aísla de cultivos de *Streptomyces noursei*. Se caracteriza por poseer una cadena cíclica de 37 átomos de carbono y un oxígeno, con tres sustituyentes metilo, un aminoazúcar (la micosamina) y seis dobles enlaces. Estos dobles enlaces hacen a la molécula sensible a la luz, el oxígeno y a las alteraciones del pH (Velázquez *et al.*, 1976; Carrillo-Muñoz *et al.*, 2001).

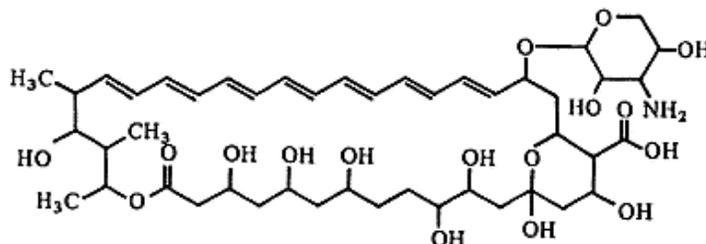


Figura 19. Estructura química de la Nistatina

Azoles. Estos inhiben al citocromo P-450-3-A de la célula, a través de la inactivación de la enzima C-14-a-dimetilasa, con lo cual se interrumpe la síntesis del ergosterol en la membrana celular. Debido a la falta de ergosterol se acumulan esteroides tóxicos intermedios, aumenta la permeabilidad de la membrana y se interrumpe el crecimiento del hongo. Como ejemplo tenemos el Ketoconazol (Figura 20); Como otros imidazoles, tiene 5 estructuras del anillo que contienen 2 átomos de nitrógeno. El ketoconazol es el único miembro de la clase del imidazol que se usa actualmente para el tratamiento de infecciones sistémicas. Este antifúngico es un compuesto lipofílico, propiedad que le permite encontrarse en concentraciones altas en los tejidos grasos, aunque sus concentraciones en el fluido cerebroespinal son pobres en presencia de inflamación (Korolkovas, 1983; Gregori, 2005).

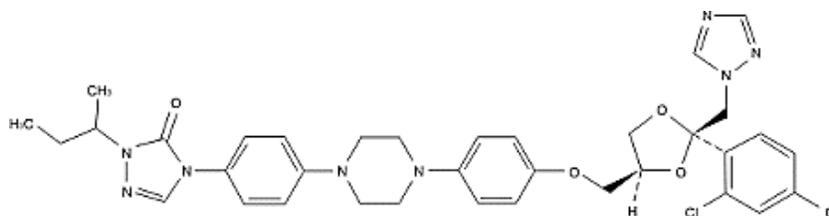


Figura 20. Estructura química del Ketoconazol

Alilaminas. Su mecanismo de acción se centra en la inhibición de la síntesis de ergosterol, pero el nivel de esta es distinto al de los antimicóticos azólicos recayendo sobre el enzima escualeno-epoxidasa y no sobre la C-14 alfademetilasa. Como consecuencia, se produce, además de la reducción de la síntesis de ergosterol, acumulación de escualeno (Sánchez *et al.*, 1999). El ejemplo más común es la Terbinafina (Figura 21), antifúngico que puede ser administrado por vía oral o aplicado tópicamente. La Terbinafina por vía oral es muy efectiva en el tratamiento de las onicomicosis debido a su espectro y actividad antimicóticos y por su capacidad para concentrarse en la queratina de las uñas (Ryder *et al.*, 1992).

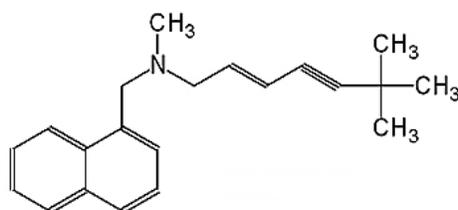


Figura 21. Estructura química de la Terbinafina

Lipopéptidos. Actúan inhibiendo la síntesis de glucanos a través de la inactivación de la enzima 1,3-beta-glucano sintetasa, enzima responsable de formar este polímero de la glucosa que es esencial para la estructura de la pared de la célula fúngica. La pared se debilita y se torna incapaz de soportar el estrés osmótico, por lo que la célula muere. Un ejemplo reciente, aún bajo investigación, es la Micafungina (Figura 22) que es un inhibidor del glucano estructural (Espinel-Ingroff, 1998; Allevato *et al.*, 2007).

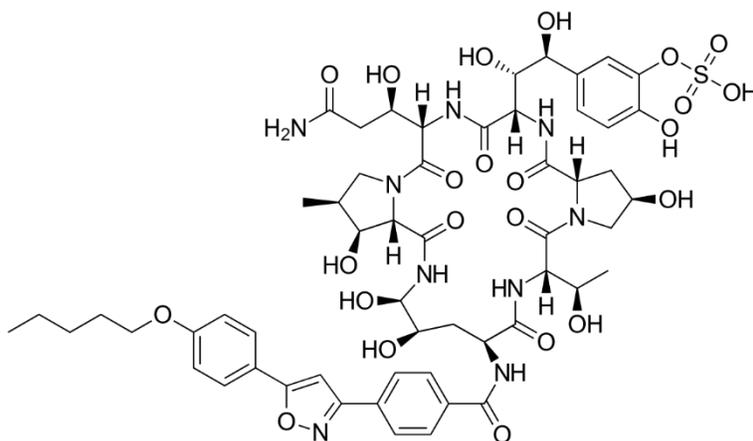


Figura 22. Estructura química de la Micafungina

Pirimidinas fluoradas. Actúan como antimetabolitos. La más conocida de este grupo es la flucitosina o 5-fluorocitosina (Figura 23) que inhibe el crecimiento y reproducción de los hongos. Este fármaco se convierte en 5-fluorouracilo (5-FU), el cual es fosforilado e incorporado al ARN, convirtiéndose en un dexosinucleotido, inhibiendo a la timidilato sintetasa y de esta forma impide la síntesis de proteínas de la célula. También inhibe la síntesis de la proteína fúngica, reemplazando el uracil con 5-FU en el ARN fúngico (Gregori, 2005; Allevato *et al.*, 2007).

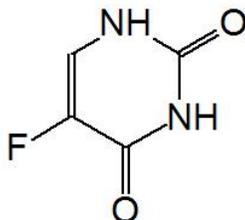


Figura 23. Estructura química de la 5-fluorocitosina

Mecanismo de acción

El mecanismo de acción depende del lugar en el que actúe el antifúngico, lo cual está relacionado con su estructura química.

Cuadro 14. Clasificación de los antifúngicos por su sitio de acción en el hongo.

Sitio de acción	Tipo de antifúngico
Pared celular	Lipopéptidos
Membrana celular	Polienos, azoles, alilaminas
Núcleo	Pirimidinas fluoradas

a) Acción sobre la membrana celular

Las partículas lipídicas llamadas esteroides, forman aproximadamente el 25 % de la membrana celular, específicamente en los hongos el esteroide predominante es el ergosterol. La membrana celular, desempeña una importante función en la división celular y en el metabolismo por lo que la diferencia del contenido de esteroides en la membrana ha sido utilizada como blanco de acción en varios medicamentos antifúngicos (Gregori, 2005; Catalán y Montejó, 2006).

b) Acción sobre la pared celular

Desde el punto de vista estructural, la pared celular de los hongos está compuesta de un complejo protéico y polisacarídico cuya composición varía en dependencia de la especie de hongo. La distribución de estas proteínas y carbohidratos en la matriz está en relación con la función de la pared celular y los procesos de osmosis y lisis. Los antifúngicos que actúan sobre ella lo hacen inhibiendo la síntesis de los glucanos a través de la inactivación de la enzima 1,3-beta-glucano sintetasa. La falta de glucanos en la pared celular la vuelve débil e incapaz de soportar el estrés osmótico, por lo que muere (Allevato *et al.*, 2007).

c) Acción sobre el núcleo

El núcleo es el sitio de almacenamiento, replicación y expresión de la información genética de la célula. Los antifúngicos cuyo sitio de acción es el núcleo suelen fungistáticos ya que detienen inhiben la producción de proteínas y la síntesis de ácidos nucleicos; de esta manera interrumpen la mitosis evitando que el hongo se reproduzca o deteniendo su crecimiento (Koolman y Röhm, 2003; Allevato *et al.*, 2007)

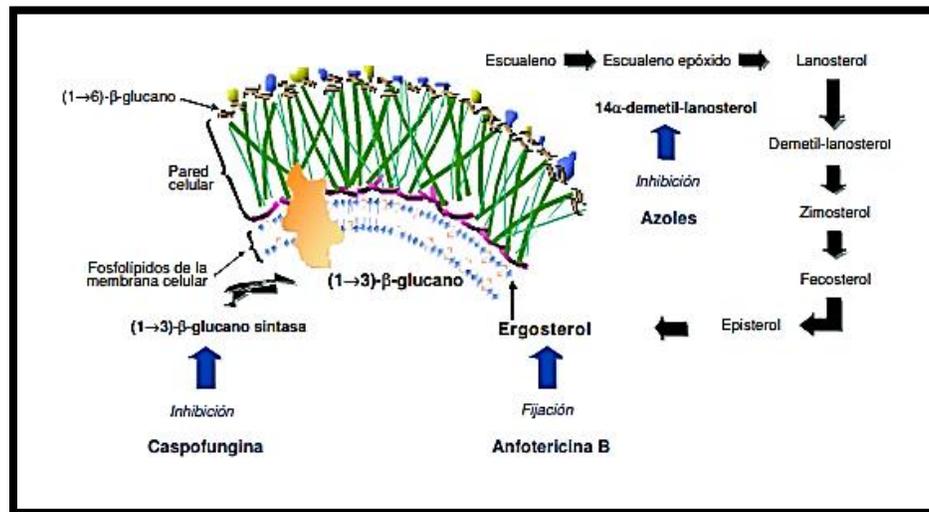


Figura 24. Mecanismos de acción de los diferentes antifúngicos (Imagen tomada de Catalán y Montejo, 2006)

APÉNDICE IV

Características de los hongos

➤ *Candida albicans*

Es un hongo dimórfico, es decir, se desarrolla de forma distinta en función de la temperatura de crecimiento, como levadura, normalmente a 37°C en el huésped, y como hongo de aspecto filamentoso, a 25°C en la naturaleza. Pertenece al filo Ascomycota y se produce de forma asexual por gemación.

En forma de levadura presenta un aspecto de células redondas u ovaladas, de 3-8 x 2-7 micras de tamaño, agrupadas en pequeños grupos, mientras que, en forma de hongo filamentoso, las células se alargan y se diversifican tomando la apariencia de filamentosos, pseudohifas o pseudo micelio. El dimorfismo le permite evadir los mecanismos de defensa relacionados con la inmunidad celular del huésped. En forma de levadura se comporta como saprofito, conviviendo en simbiosis con el huésped, mientras que, en forma de hongo filamentoso, se comporta como parásito patógeno produciendo síntomas en el huésped.

Su hospedero es el humano y puede sobrevivir fuera del huésped, en zonas húmedas y oscuras. Provoca Candidiasis o moliniasis. Macroscópicamente, en agar Sabouraud crece formando colonias blancas, blandas cremosas y lisas (INSHT, 2012a).

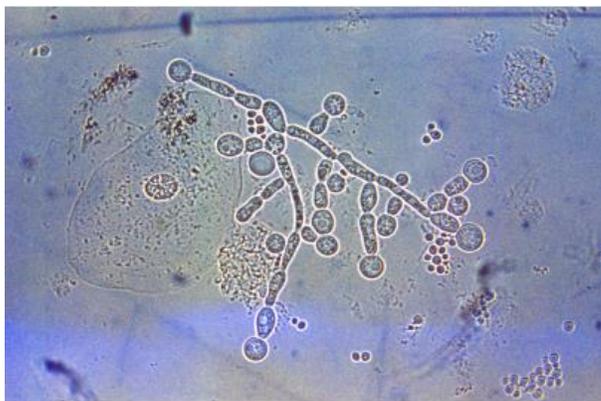


Figura 25. Pseudohifas de *C. albicans*
(Imagen tomada de INSHT, 2012a)



Figura 26. Cultivo de *C. albicans* en PDA.
(Imagen tomada de INSHT, 2012a)

➤ *Candida glabrata*

Es una levadura saprófita, que forma parte de la microbiota comensal. Inicialmente fue clasificada como *Cryptococcus glabratus* (1917) y posteriormente reclasificada como *Torulopsis glabrata* (1938) debido a que sus blastoconidios no producen pseudoifas o hifas verdaderas. Finalmente fue clasificada como *Candida glabrata* en 1978.

Los blastoconidios de esta levadura son considerablemente más pequeños, midiendo de 1 a 4 micrometros respecto a los de *C. albicans* que miden de 4 a 6 micrómetros. Además, solo asimila los azúcares glucosa y trealosa a diferencia de la mayoría de otras especies de *Candida*, y no filamta en plasma a 37°C. Finalmente cabe señalar que el genoma de *C. Glabrata* es haploide, lo que facilita la rápida adquisición de resistencia secundaria a azoles. Este microorganismo no era considerado como patógeno, pero con el uso de la terapia antifúngica de amplio espectro, la frecuencia de infecciones superficiales y profundas por este agente ha aumentado significativamente en los últimos años, por lo que se considera un patógeno emergente. Aunque no forma pseudohifas, sí produce proteinasas y presenta hidrofobicidad en su superficie celular facilitando su adherencia. Además, la alta mortalidad asociada a infecciones por esta levadura y su prevalencia apoyan la idea de que sí es un organismo patógeno. Se aísla en infecciones intrahospitalarias, en pacientes inmunocomprometidos, y en infecciones superficiales, principalmente en candidiasis vulvovaginal (Tapia, 2008).

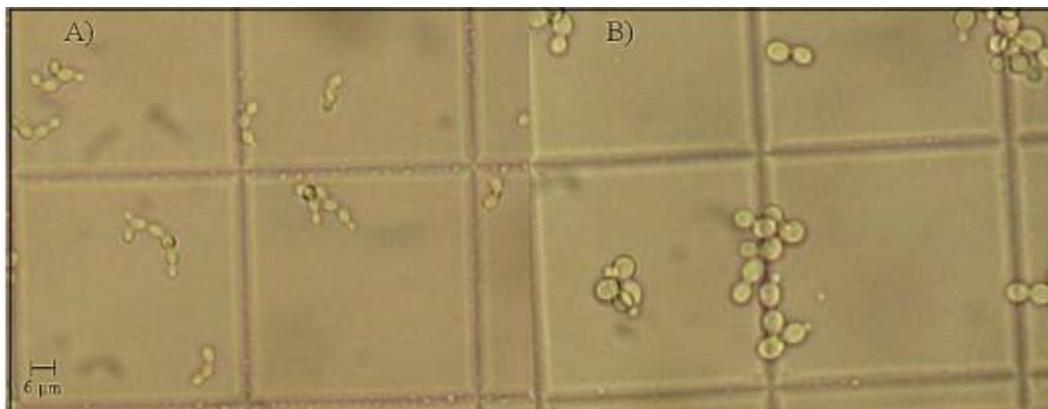


Figura 27. Microscopia con aumento de 40x. A) *C. glabrata*. B) *C. albicans*
(Imagen tomada de Tapia, 2008)

➤ *Candida tropicalis*

Representa el 4% de las levaduras obtenidas de agua de mar, intestinos de peces, manglares y algas marinas, así como de camarones lo que nos demuestra su amplia distribución en los ambientes tropicales y subtropicales. También puede obtenerse de diferentes frutas, heces y el suelo.

Los cultivos en agar Sabouraud o Papa dextrosa son de color crema o blanco grisáceo, mate, liso y cremosos. Las colonias, morfológicamente, difícilmente se diferencian de otras especies de *Candida*, pero la ausencia de clamydiosporas es una característica de *C. tropicalis*. Es la principal causa de candidemia en áreas tropicales y subtropicales. Se aísla comúnmente en la sangre y es la principal causa de candidemia en la Unidades de Cuidados Intensivos o en pacientes inmunocomprometidos o inmunodeprimidos.

Provoca infecciones en la sangre (candidemia) y de manera menos común invade los tejidos. En raras ocasiones forma biopelículas. En ocasiones puede llegar a ser más patógena que *Candida albicans* (Kothavade *et al.*, 2010; LIFE, 2017).

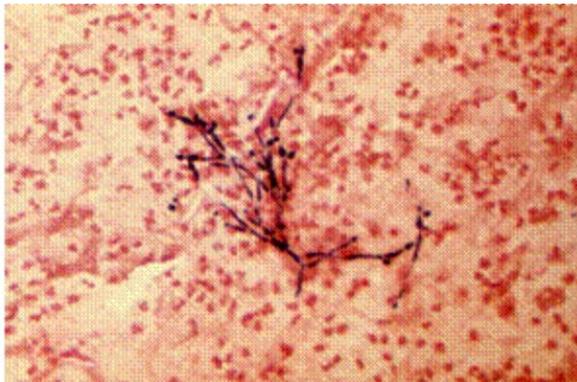


Figura 28. Tinción de *C. tropicalis* en tejido pulmonar.
(Imagen tomada de Kothavade *et al.*, 2010)

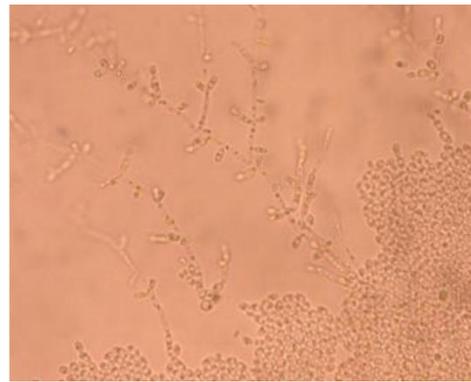


Figura 29. Microscopia de *C. tropicalis*.
(Imagen tomada de Kothavade *et al.*, 2010)

➤ *Trichophyton* spp.

A este género pertenecen varias especies: *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans*, *T. violaceum*, *T. schoenleinii*, *T. verrucosum* y *T. equinum*.

Es un hongo filamentoso perteneciente al filo Ascomycota. Microscópicamente tiene hifas largas y delgadas, los microconidios son abundantes con forma piriforme a redondeada, raramente hay macroconidios con pared delgada, multiseptados, de tamaño variable y con forma de puro o cigarrillo.

Macroscópicamente las colonias son algodonosas, en el tiempo toman un aspecto aterciopelado y pulverulento, de color blanquecino a amarillento o rojo violeta. El reverso de la colonia suele tener un color rosado-rojo, pero en ocasiones puede ser amarillo-marrón, rojo vino o violeta e incluso, pueden carecer de pigmento.

Los hospedadores de *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans*, *T. violaceum* y *T. schoenleinii* son los humanos y otros mamíferos. Provocan dermatofitosis o tiñas: micosis superficiales que afectan la piel, pelo y uñas en distintas partes del cuerpo. Las esporas pueden sobrevivir en distintas superficies, en la ropa, en el suelo, en el agua dulce y salada y, durante meses, en escamas de la piel a temperatura ambiente (INSHT, 2013).



Figura 30. *Trichophyton* sp. en agar Sabouraud.
(Imagen tomada de INSHT, 2013)



Figura 31. Ascosporas de *Trichophyton* sp.
(Imagen tomada de INSHT, 2013)

➤ *Fusarium* spp.

El género *Fursarium* es un grupo de hongos filamentosos ampliamente distribuidos en el suelo y plantas (fitopatógenos). Debido a su capacidad de crecer a 37°C, son considerados oportunistas.

Al microscopio, los filamentos son finos, con forma de botella; simple o ramificada; cortas o largas. Los macroconidios presentan forma de medialuna, hialinos y septados. Los microconidio, ausentes en algunas especies, poseen formas variadas, agrupaciones, en cadenas largas o cortas, todas observables a la lupa (40x).

En los agares PDA y Sabouraud se puede observar el diámetro de la colonia, morfología y pigmento (café, rojo, violeta, naranja, gris o blanco) difusible al medio, mientras que en el agar CLA, se observa el desarrollo de cadenas de microconidios y morfología en detalle de macrocondios.

Pueden causar infecciones sistémicas en pacientes inmunocomprometidos, con una alta mortalidad. Algunas de sus especies producen toxinas que afectan al hombres y animales, provocando infecciones como: queratitis, peritonitis, diálisis peritoneal crónica ambulante, infección del catéter venoso, onicomycosis, etc. (Monzón y Rodríguez, 2000; Tapia y Amaro, 2014).



Figura 32. Cultivo de *Fusarium* sp. en PDA.
(Imagen tomada de Tapia y Amaro, 2014)

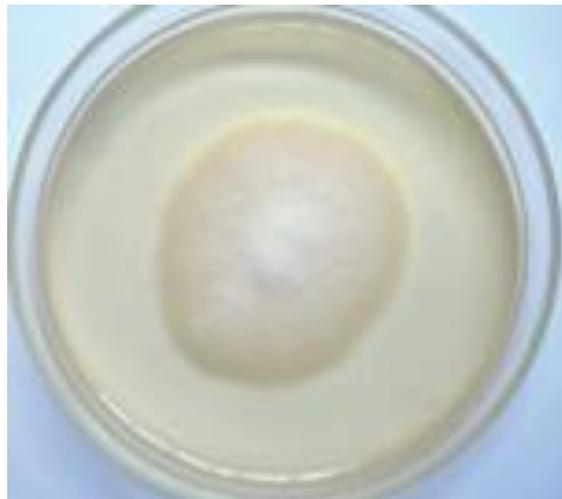


Figura 33. Cultivo de *Fusarium* sp. en Agar Sabouraud.
(Imagen tomada de Tapia y Amaro, 2014)

➤ *Aspergillus* spp.

Entre las especies que pertenecen a este género se encuentran: *A. niger*, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *A. clavatus*, *A. terreus*, *A. parasiticus*, *A. versicolor*, *A. oryzae* y *A. niveus*.

Es un hongo filamentoso hialino, saprofita, perteneciente al filo Ascomycota. Se encuentra formado por hifas hialinas septadas y puede tener reproducción sexual (con formación de ascosporas en el interior de ascas) y asexual (con formación de conidios). Las diferentes especies se diferencian en tamaño, tasa de crecimiento, textura (aterciopelada, granular, algodonosa) y color de la colonia: verde-amarillento, negro (*A. niger*), marrón (*A. terreus*). La coloración aparece casi siempre en todas las estructuras aéreas, tanto en el micelio como en las cabezas conidiales.

Aspergillus es uno de los principales hongos productores de micotoxinas. Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos y secretados por el hongo durante el proceso de degradación de la materia orgánica, como mecanismo de defensa frente a otros microorganismos. Su reservorio suelen ser el suelo y la materia orgánica en descomposición, sin embargo, son patógenos oportunistas que causan infecciones locales y superficiales como la micosis (otomicosis, onicomiosis, queratitis) y el aspergiloma puede desarrollarse en una lesión pulmonar (INSHT, 2012a).

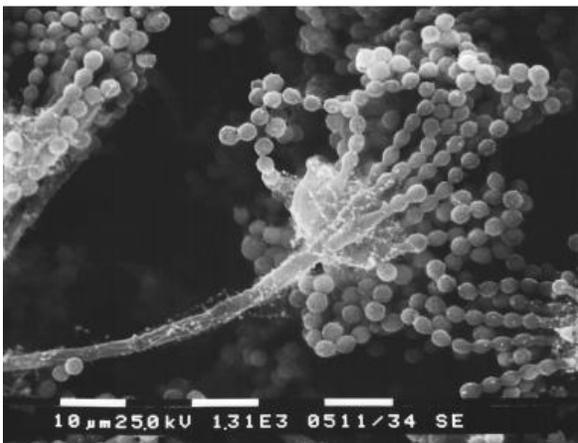


Figura 34. Microscopia de *Aspergillus* sp.
(Imagen tomada de INSHT, 2012a)

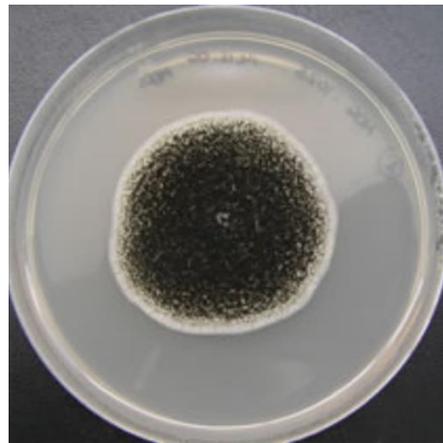


Figura 35. Cultivo de *A. niger* en Agar papa-dextrosa
(Imagen tomada de INSHT, 2012a)

APÉNDICE V

Técnicas para evaluar la actividad antifúngica sobre hongos filamentosos

A. Método cualitativo de Inhibición del Crecimiento Radial

(Wang y Bun, 2002)

Este método se utiliza para evaluar cualitativamente la actividad antifúngica de los extractos sobre hongos miceliados.

Medio de cultivo

Se utiliza como medio de cultivo el Agar Papa Dextrosa (PDA). El medio debe tener un espesor uniforme de 4 mm. Si es más delgado, los antibióticos, impregnados en los sensidiscos, tienden a difundir más en dirección lateral, aumentando el tamaño de las zonas de inhibición. Por otra parte, un agar de más de 4 mm de espesor produce una mayor difusión del antibiótico hacia abajo, con tendencia a estrechar artificialmente las zonas de inhibición.

Aplicación de sustancias

El ensayo contra hongos filamentosos se lleva a cabo en cajas petri, que contienen 20 mL de agar papa dextrosa (PDA).

Inóculo

Se inocula un botón de 0.5 cm de diámetro en el centro de cada caja petri. Una vez que el micelio se ha desarrollado, se colocan los sensidiscos a una distancia de 5 mm del límite micelial y se dejan reposar unos minutos.

Controles

Se evalúa la sensibilidad de las cepas experimentales con sensidiscos impregnados de Ketoconazol de 56 µg/disco, como control positivo. Y discos con 10 µL del solvente utilizado como control negativo.

Incubación

Las placas son incubadas a 23°C durante 72 horas o hasta que el crecimiento micelial se haya desarrollado.

Interpretación de resultados

En caso de que existan zonas de inhibición el extracto se reporta como activo, en todos los casos esta prueba se realiza por triplicado.

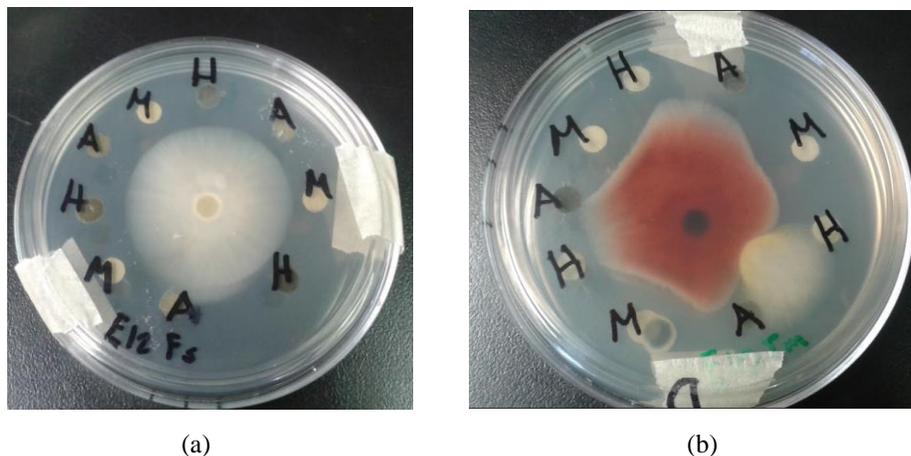


Figura 36. Método de inhibición del crecimiento radial sobre *Fusarium sporotrichum* (a) y *F. moniliforme*.

B. Método cuantitativo para la determinación de la Concentración Fungicida Mínima (CFM) (Wang y Bun, 2002)

Este método se utiliza para medir la sensibilidad de un hongo filamentoso a un agente fungicida determinado. La CFM es la concentración mínima a la cual se inhibe el 100% del crecimiento radial de un hongo.

Medio de cultivo

Al igual que para las pruebas cualitativas, se utiliza agar papa dextrosa (PDA) en cajas de 24 pozos.

Aplicación de sustancias

Se preparan soluciones de los extractos que resulten positivos en la prueba antifúngica cualitativa con las siguientes concentraciones: 2000, 1500, 1000, 750, 500 y 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$. En cajas de 24 pozos se agregan 1.5 mL de PDA y en cada pozo se colocarán las concentraciones correspondientes.

Inóculo

Se dejará reposar las cajas durante 5 minutos y se colocará un inóculo de 1 mm de diámetro de micelio del hongo en el centro de cada pozo

Controles

Como control positivo se dejan pozos que contengan únicamente PDA y como control negativo se agrega el solvente utilizado para obtener el extracto a ensayar al agar.

Incubación

Las cajas se dejarán incubar a 28°C durante 72 horas.

Interpretación de resultados

Los resultados se reportarán en porcentaje de inhibición, donde se considera 100% de inhibición cuando no hay crecimiento del hongo.

Con ayuda de una regla se medirá el crecimiento del micelio y se procederá a calcular los porcentajes de crecimiento correspondientes a cada concentración. Por último, se hará una interpolación dentro de los valores obtenidos para calcular la CF₅₀.

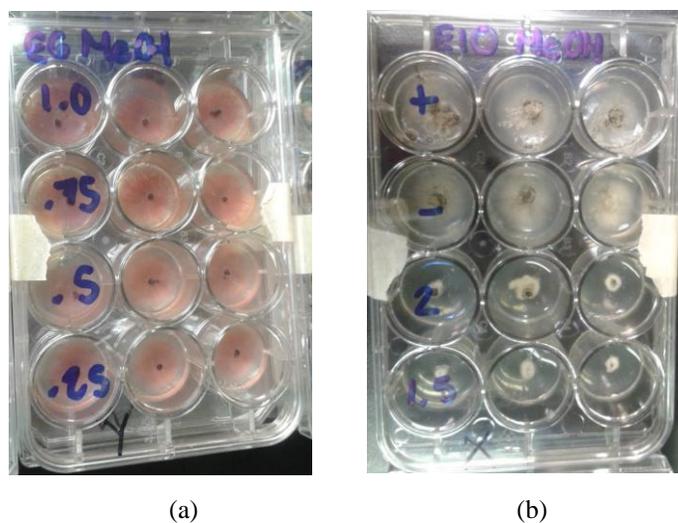


Figura 37. Método para Concentración fungicida mínima sobre *F. moniliforme* (a) y *Aspergillus niger*.

APÉNDICE VI

Técnicas para evaluar la actividad antifúngica sobre levaduras

A. Método de Difusión en Agar de Kirby-Baüer para levaduras (Koneman *et al.*,1985)

Este método se utiliza para evaluar cualitativamente la actividad antibacteriana de los extractos, y para evaluar la actividad antifúngica sobre levaduras.

Medio de cultivo

Se utiliza como medio de cultivo estándar, para levaduras, el Agar Papa Dextrosa (PDA). Es importante que el medio alcance en la placa un espesor uniforme de 4 mm. Si es más delgado, los antibióticos tienden a difundir más en dirección lateral, aumentando el tamaño de las zonas de inhibición, un agar de más de 4 mm de espesor produce una mayor difusión del antibiótico hacia abajo, con tendencia a estrechar artificialmente las zonas de inhibición.

Aplicación de sustancias

Para este caso se utilizan sensidiscos de 5 mm de diámetro hechos de papel Whatman No.5. En todos los casos se hacen diluciones para que los sensidiscos lleven la cantidad deseada del producto. Se utilizan 2 mg de los extractos disueltos en 10µL del solvente correspondiente a cada extracto. Al llevar a cabo la prueba de susceptibilidad, los discos impregnados con las sustancias a evaluar se colocan en la superficie del agar manualmente, utilizando una pinza estéril y deben colocarse por lo menos a 22 mm uno de otro y a 14 mm del borde de la placa para evitar que las zonas de inhibición se superpongan o se extiendan hasta el margen de la placa. Los sensidiscos se deben presionar suavemente con la punta de la pinza, cuidando de no moverlos una vez colocados en su lugar. Los sensidiscos se preparan 24 horas antes del bioensayo.

Inóculo

Con un asa estéril se tocan las superficies convexas de 4 o 5 colonias. Se sumerge el asa en un tubo con 10 mL de caldo Müeller-Hinton y se descarga el material. El tubo de cultivo se incuba a 37°C de 18 a 24 horas, o hasta que la turbidez del medio sea equivalente al estándar No. 0.5 de MacFarland. Esto equivale a una concentración de aproximadamente 1.5×10^8

UFC/mL. El estándar 0.5 de MacFarland se prepara añadiendo 0.5mL de sulfato de bario a 99.5 mL de H₂SO₄ 0.36 N. La comparación de la turbidez entre el estándar y el caldo con el organismo en estudio se puede efectuar observándolos contra una cartulina blanca con líneas negras horizontales (Bailey *et al.*,1987).

Si la suspensión de organismos es más turbia que el estándar, se añade solución salina hasta igualarla. Una vez logrado esto, se sumerge un hisopo de poliéster estéril y seco en la suspensión bacteriana, y antes de retirarlo se elimina el exceso de líquido haciendo rotar el hisopo contra la pared interna del tubo. Con este hisopo se inocula la superficie de una placa de PDA. Previamente, se deja que la placa alcance la temperatura ambiente, es aconsejable mantener la tapa entreabierta para permitir la evaporación de cualquier exceso de humedad de la superficie del agar. Finalmente, se siembra mediante estría en al menos tres direcciones, girando la placa en ángulos de 60° después de cada estría.

Se permite que la capa de bacterias se adhiera a la superficie de agar durante un periodo de 5 minutos, después se aplican los sensidiscos previamente impregnados con el extracto a evaluar.

Controles

A los discos que utilizados como control negativo se les agrega 10 µL del solvente empleado para disolver el problema. Como control positivo se utilizan sensidiscos con 30 µg de Nistatina dejándolos evaporar durante 24 horas

Incubación

Una vez preparadas las placas para la prueba de susceptibilidad, se colocan en una incubadora a 37°C durante 24 horas.

Interpretación de resultados

Las zonas de inhibición se miden con una regla de calibración en milímetros. En todos los casos, esta prueba se hace por triplicado y se reportan los valores promedio.

B. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración fungicida Mínima (CFM) para levaduras (método modificado de microdilución en agar) (Koneman, 2006)

Este método se utiliza para medir la sensibilidad de bacterias o levaduras a un agente fungicida determinado. La CFM es la concentración mínima a la cual no hay crecimiento del microorganismo.

Medio de cultivo

Los bioensayos se llevan a cabo con agar papa dextrosa (PDA)

Aplicación de sustancias

La solución antifúngica de trabajo se prepara diluyendo la cantidad correspondiente de la fracción en agar de PDA, para obtener la concentración final deseada. La prueba se realiza en cajas de petri. Las concentraciones utilizadas son 3.0, 2.0, 1.5, 1.0, 0.75, 0.5, 0.25 y 0.125 mg/mL. En cada caja se colocarán 5 mL de agar con la concentración del extracto correspondiente. Cada ensayo se realiza por triplicado.

Inóculo

Se prepara un inóculo que contenga 10^5 UFC/mL (unidades formadoras de colonias/mL) agregando a cada caja 0.1 ml de este inóculo.

Controles

Como control positivo se utilizan cajas petri que contengan únicamente PDA y como control negativo, cajas con agar al que se le agrega el solvente utilizado para obtener el extracto a ensayar.

Incubación

Incubar las cajas a 35 °C durante 16 a 20 horas. No se recomienda la incubación en atmósfera de CO₂ a menos que sea esencial para el desarrollo del microorganismo.

Interpretación de resultados

La menor concentración de antimicrobiano a la cual existe una disminución drástica del crecimiento representa la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la concentración que produce una inhibición completa del desarrollo representa la Concentración Fungicida Mínima (CFM).

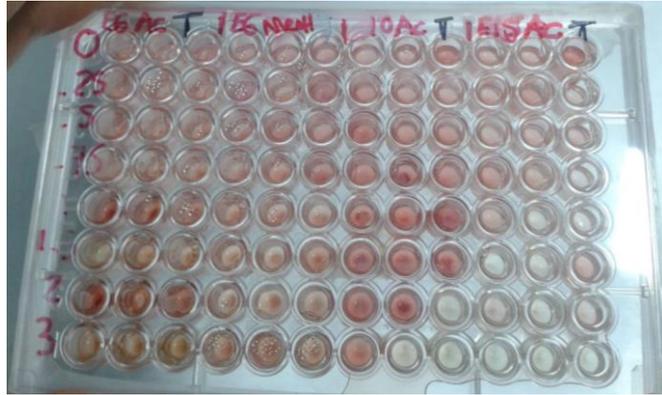


Figura 38. Método de microdilución en agar sobre una levadura del género *Candida*.

APÉNDICE VII

Método cualitativo de la composición química de los extractos

(Domínguez, 1979)

Fenoles: Al extracto metanólico disuelto en 5 mL de etanol se le agregaron 3 gotas de cloruro férrico, la formación de precipitados de color verde o azul indican que el extracto contiene fenoles.

Taninos: Al extracto metanólico disuelto en 5mL se agregaron 3 gotas de cloruro férrico y reactivo de gelatina. Si se observa un precipitado azul negruzco indica la presencia de Taninos Condensados y la presencia de precipitado verde oscuro indica la presencia de taninos hidrolizables.

Glucósidos: Para esta prueba se tomaron 5mL de los extractos y se agregaron unas gotas de α -naftol y una gota de HCl. Se espera observar un anillo color morado que indica la presencia de glucósidos.

Alcaloides: Para realizar esta prueba, se tomaron 5 mL del extracto metanólico y se le agregaron unas gotas de reactivo de Dragendorffr, esperando un precipitado naranja que indica la presencia de alcaloides. A veces estas pruebas dan falsos positivos por lo que se verifica repitiendo la prueba en otro tubo con reactivo Mayer, si la muestra se torna lechosa se confirma la presencia de alcaloides.

Saponinas: En esta prueba se emplean los extractos metanólicos. Se colocó 1 mL del extracto en un tubo de ensayo de 5 mL, sumergiendo la base de los tubos en baño maría, luego al residuo se agregó 3 mL de agua caliente (50° C) y se agita vigorosamente el tubo, la formación de una capa de espuma que permanecerá estable se tomará como reacción positiva para la presencia de saponinas. Al testigo con metanol, se realizó de igual forma. Para estimar la concentración de los compuestos secundarios se usa una escala arbitraria de 0 a 4; dependiendo de la intensidad de la reacción, a la concentración se le asignan los siguientes valores: 0 nula, 1 baja, 2 media, 3 alta y 4 muy alta.

Terpenos: Para realizar esta prueba se utilizó el extracto metanólico en una placa cromatografía con fase móvil: tolueno-acetato de etilo (93:7). Se usó solución de vainillina 5% y Ácido sulfúrico 5% para revelar, posteriormente la placa se calentó y finalmente se comparó el Rf con la bibliografía (Wagner, 1996).

APÉNDICE VIII

Toxicidad General

(McLaughlin, 1991)

Las pruebas de toxicidad general nos permiten conocer la dosis letal media (CL_{50}) de alguna sustancia, utilizando modelos animales para poder obtener curvas de supervivencia que nos permitan calcular dicha dosis.

Cultivo

El ensayo se realiza con larvas nauplio II de *Artemia salina* (Leach). Se agregan 0.5g de quistes de *A. salina* en 2.5L de agua con una concentración de 30g/L de NaCl.

Aplicación de sustancias

En frascos de vidrio transparentes en los que se colocan 10mL al 30% de NaCl; posteriormente se añaden 10 larvas por frasco. Las concentraciones del problema a ensayar fueron 1000, 100 y 10 $\mu\text{g/mL}$.

Controles

Como control positivo se colocan larvas en frascos únicamente con agua al 30% de NaCl y como control negativo se utilizó el mismo volumen de dimentilsulfóxido (DMSO) con fórmula CH_3SOCH_3 , para disolver la dilución problema del extracto activo.

Incubación

Los cultivos se mantuvieron iluminados con luz blanca a una temperatura de 23 a 25°C y abundante oxigenación durante 24 horas.



Figura 39. Cultivo de *A. salina*

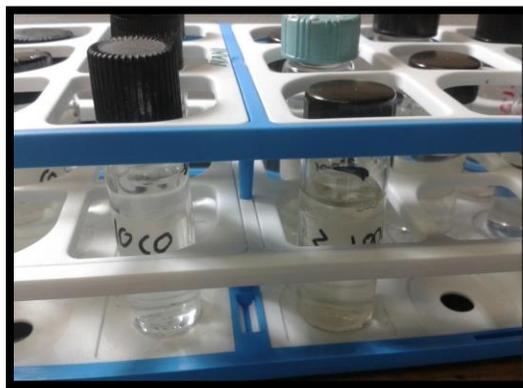


Figura 40. Frascos con larvas nauplio II de *A. salina*.

Interpretación de resultados

Se cuenta el número de larvas sobrevivientes, las cuales se desplazaban de la misma manera que las del grupo testigo. La Concentración Letal Media (CL_{50}) se determina para cada extracto activo interpolándolo en gráficas de porcentaje de mortalidad contra la concentración en $\mu\text{g/mL}$ y a través del análisis de regresión lineal. La actividad tóxica general se considera débil cuando la CL_{50} se encuentra entre 500 y 1000 $\mu\text{g/ml}$, moderada cuando se encuentra entre 100 y 500 $\mu\text{g/ml}$, y fuerte entre 0 y 100 $\mu\text{g/ml}$.

REFERENCIAS

- Achinine, L. 1999. Caracterización bioquímica del modo de acción en la fotosíntesis de metabolitos secundarios aislados de las familias Meliaceae y Convolvulaceae con posible actividad herbicida. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas. Universidad nacional Autónoma de México.
- Aguilar S. R. y García, R. 2004. Catálogo de plantas reportadas como parte de la dieta de la Guacamaya verde (*Ara militaris*) en la región de la cañada oaxaqueña. Proyecto del Centro interdisciplinario de Investigación para el desarrollo integral regional. IPN, Unidad Oaxaca.
- Aguilera O., M., Reza V., M. C., Chew M., R. G. y Meza V., J. A. 2011. Propiedades funcionales de las antocianinas. *Ciencias Biológicas y de la Salud* 13(2):16-22.
- Aguirre H., E. 1998. Estudio fitoquímico de las fracciones no polares de la raíz de *Merremia dissecta* (Jacq.) Hallier f. y *M. Tuberosa* (L.) Rendle (Convolvulaceae). Tesis para obtener el título de Biólogo. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Allevato, M. A., Negroni, R. y Galimberti, R. 2007. Antifúngicos: Ayer, hoy y mañana. *Acta Terapéutica Dermatológica* 30:8-19.
- Ammar, R., Bhourri, W., Sghaier, M., Boubaker, J., Skandrani, I., Neffati, A., Bhoulel, I., Kilani, S., Mariotte, A., Chekir-Ghedira, L., Dijoux-Franca, M. y Ghedira, K. 2009. Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae): A structure-activity relationship study. *Food Chemistry* 116(1):258-264.
- Andersen, O. M. y Markham, K. R. 2006. Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications. Editorial Boca raton. New York, Estado unidos de América.
- APMTM (Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana).2018. *Bidens odorata* Cav. Consultado el 19 de agosto de 2018 en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Aceitilla&id=7077>
- Bartolome, P.A., I.M. Villaseñor y W.-C.Yang. 2013. *Bidens pilosa* L. (Asteraceae): Botanical Properties, Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.
- Bautista-Baños, S., M. Hernández-López y L.L. Barrera-Necha. 2000a. Antifungal screening of plants of the State of Morelos against four fungal postharvest pathogens of fruits and vegetables. *Revista Mexicana de Fitopatología* 18(1): 36-41.
- Bautista-Baños, S., M. Hernández-López, J.C. Díaz-Pérez y C.F. Cano-Ochoa. 2000b. Evaluation of the fungicidal properties of plant extracts to reduce *Rhizopus stolonifer* of 'ciruela' fruit (*Spondias purpurea* L.) during storage. *Postharvest Biology and Technology* 20: 99-106.
- Baylei, S., Fine, Sidney, M. Baron, E. Jo. (1987). Diagnóstico microbiológico. 190-210 pp.

- Brigham, L. A., Michaels, P. J., Flores, H. E. 1999. Cell-specific production and antimicrobial activity of naphthoquinones in roots of *Lithospermum erythrorhizon*. *Plant Physiology* 119: 417-128
- Brugés, K. y Reguero R., M. T. 2007. Evaluación preliminar de toxicidad, genotoxicidad y actividad antimicrobiana de *Sida rhombifolia* L. *Revista Colombiana de biotecnología* 1:5-13
- Brunel, M. 2008. Poner la conservación al servicio de la producción campesina, reto para la construcción de un nuevo paradigma de desarrollo. *Argumentos México* 57(21): 115-137.
- Butler, M.S. 2004. The role of natural product chemistry in drug discovery. *Journal of Natural Products* 67: 2141-2153.
- Campos G., E. 2011. Estudio de los principios bioactivos de interés farmacéutico de *Brassica oleracea*, *Satureja macrostema* y *Eringium heterophyllum*. Tesis para obtener el título de Ingeniero farmacéutico.
- Carrillo-Muñoz, A. J., Brió, S. y Quindós, G. 2001. Una nueva generación de fármacos antifúngicos. *Revista Iberoamericana de Micología* 18:2-5.
- Carrillo, L. 2003. Los Hongos de los alimentos y forrajes. Universidad Nacional de Salta, Argentina. P. 25.
- Castillo G., E. y Martínez S., I. 2007. Manual de fitoterapia. Ed. Elsevier Masson. Barcelona, España. Pp. 29-45.
- Catalán, M. y Montejo, J. C. 2006. Antifúngicos sistémicos. Farmacodinamia y farmacocinética. *Revista Iberoamericana de micología* 23: 39-49.
- Clavijo M., N y Cruz J., B. 2017. Análisis fitoquímico preliminar de *Pachira quinata* (Jacq.) W. S. Alverson, Bogotá, Colombia. *Boletín Semillas Ambientales* 11(1): 30-39.
- CNDH (Comisión Nacional de los Derechos Humanos). 2017. Debe reconocerse la medicina tradicional indígena e incorporar un enfoque intercultural en el sistema nacional de salud: CNDH. Consultado el 10 de octubre del 2018 en: http://www.cndh.org.mx/sites/all/doc/Comunicados/2017/Com_2017_347.pdf
- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad). 2009. Ficha informativa de *Melochia tomentosa* L. Consultado el 20 de agosto del 2018 en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/sterculiaceae/melochia-tomentosa/fichas/ficha.htm>
- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad). 2010. Ficha técnica de *Merremia dissecta* (Jacq.) Hallier f. Consultado el 20 de agosto del 2018 en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/convolvulaceae/merremia-dissecta/fichas/ficha.htm>

- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad). 2017. Ficha técnica de *Bidens odorata* Cav. Consultado el 21 de febrero del 2018 en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/bidens-odorata/fichas/ficha.htm>
- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad). 2018. Enciclovida. Consultado el 26 de octubre del 2018 en: <http://enciclovida.mx/>
- CONAFOR (Comisión Nacional Forestal). 2015. *Crataegus mexicana* Moc. Sessé. Consultado el 25 de agosto del 2018 en: <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/908Crataegus%20mexicana.pdf>
- CONEVAL (Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social). 2016. Evaluación integral del desempeño de los programas federales de promoción y prevención en salud 2014-2015. Consultado el 12 de octubre del 2018 en: https://www.coneval.org.mx/Evaluacion/IEPSM/IET/Documents/2014/PromocionPreveccion_Salud.pdf
- Da Silva, S. A., Agra, M., Tavares, F., Da Cumba, V. L., Barbosa-Filho, J. M., Da Silva, S. 2009. Flavones from aerial parts of *Cordia globosa* (Jacq.) Kunth, Boraginaceae. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 20(5): 682-685.
- Deba, F., T. D. Xuan, M. Yasuda y S. Tawata. 2007. Herbicidal and fungicidal activities and identification of potential phytotoxins from *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Scherff. *Weed Biology and Management* 7(2): 77-83.
- Deba, F., T. D. Xuan, M. Yasuda y S. Tawata. 2008. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. *Food Control* 19: 346-352.
- Dias O. C., C. Porto, C. Z. Stüker, V. Graessler, R.A. Burrow, I.i. Dalcol, U.F. de Silva y A.F. Morel. 2007. Alkaloids from *Melochia chamaedrys*. *Letter Planta Medica* 73: 289-292.
- Dixon, R. A. y Paiva, N. L. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7: 1085 – 1097.
- Domínguez, X. A. 1979. Métodos de la Investigación Fitoquímica. Ed. Limusa. México. pp. 45-47 y 281.
- Durga, B., B.C. Kanth, D. Prabhakar, K.P. Kumar y V.G. Sastry. 2012. Synthesis and anthelmintic activity of Isatin derivatives against *Pheritima posthuma*. *International Journal of Pharmacy & Therapeutics* 3(1): 78-83.
- Eich, E. 2008. Solanaceae and Convolvulaceae: Secondary Metabolites. Biosynthesis, Chemotaxonomy, biological and economic significance. Editorial Springer, Alemania. 636p.

- Emile, A., J. Waikedre, C. Herrenknecht, C. Fourneau, J-C- Gantier, E. Hnawai, P. Cabalion, R. Hocquemiller y A. Fournet. 2007. Bioassay-guided isolation of antifungal alkaloids from *Melochia odorata*. *Phytotherapy Research* 21: 398-400.
- Espinel-Ingroff A.1998. Comparison of in vitro activities of the new triazole SCH56592 and the echinocandins MK-0991 (L-743,872) and LY303366 against opportunistic filamentous and dimorphic fungi and yeasts. *Journal of Clinical Microbiology*. 36: 2950-2956.
- Espitia- Baena, J. E., Robledo-Restrepo, S. M., Cuadrado-Cano, B. S., Duran-Sandoval, H. y Gómez-Estrada, H. A. 2014. Perfil fitoquímico, actividad anti-Leishmania, hemolítica y toxicológica de *Cordia dentata* Poir. y *Heliotropium indicum* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 19(4): 208-224.
- Fabricant, S. y R. Fansworth. 2001. The Value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental Health Perspectives* 109(1): 69-75.
- Flores U., D. y Rodríguez R. N. 2008. Plantas medicinales de la familia Asteraceae con actividad antimicrobiana. Tesina para obtener el grado de Biólogo. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Gafner, S. y W. Applequist. 2016. Bulletin on adulteration of *Arnica montana*. Botanical adulterants Bulletin. Consultado el 20 de febrero del 2018 en: https://www.researchgate.net/profile/Stefan_Gafner/publication/308401059_Arnica_Botanical_Adulterants_Bulletin/links/57e2caf908ae0e3158a6b717.pdf
- García, M., P., Paredes S., F y Fernández B., M. T. 1994. Microbiología Clínica práctica. Universidad de Cadiz, Cadiz. Pp. 401-405.
- García, E., 1981. Modificaciones al Sistema de clasificación climática de Koppen. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- García-Hernández, D. G., Rivas-Morales, C. y Leos-Rivas, C. 2016. Actividad antifúngica. *Investigación en plantas medicinales de importancia médica*. Editorial OmniaScience, Barcelona, España. p. 101-128.
- Gómez E., H. A., González R., K. N. y Medina, J. D. 2011. Actividad antiinflamatoria de productos naturales. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 10(3):182-217.
- Grayer, R. J. y Harborne, J. B. 1994. A survey of antifungal compounds from higher plants, 1982-1993. *Phytochemistry* 37: 19-42.
- Gregori V., B. S. 2005. Estructura y actividad de los antifúngicos. *Revista cubana de farmacia* 39(2)
- Guarro, J. 2012. Taxonomía y biología de los hongos causantes de infección en humanos. *Enfermedades infecciosas y Microbiología clínica* 30(1): 33-39.

- Gutiérrez-Morales, A., V. Velázquez-Ordoñez, A. Khusro, A. Z.M. Salem, M.E. Estrada-Zuñiga, M. Z.M. Salem, B. Valladares-Carranza, C. y Burrola-Aguilar. 2017. Antistaphylococcal properties of *Eichhornia crassipes*, *Pistacia vera*, and *Ziziphus amole* leaf extracts: Isolates from cattle and rabbits. *Microbial Pathogenesis* 113:181-189.
- Heinrich, M. 1994. Herbal and Symbolic Medicines of the lowland Mixe (Oaxaca, Mexico). *Anthropos* 89: 73-83.
- Hibbett, D. S., Binder, M., Bischoff, J. F., Blackwell, M., Cannon, P. F., Eriksson, O. E., Huhndorf, S., James, T., Kirk, P.M., Lücking, R., Thorsten Lumbsch, H., Lutzoni, F., Matheny, P. B., McLaughlin, D. J., Powell, M. J., Redhead, S., Schoch, C. L., Spatafora, J. W., Stalpers, J. A., Vilgalys, R. y Aime, M.C. 2007. A higher-level phylogenetic classification of the fungi. *Mycological Research* 5(3): 509-547.
- INAFED (Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal). 2010. San Juan Bautista Cuicatlán. Consultado el 2 de septiembre de 2018 en: <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM20oaxaca/index.html>
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2008. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos: San Juan Bautista Cuicatlán, Oaxaca. Consultado el 2 de septiembre del 2018 en: http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/20/20177.pdf
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2014. Estadísticas a propósito del día mundial de la salud (7 de abril): Datos económicos nacionales. Consultado el 15 de octubre del 2018 en: (<http://www.beta.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2014/salud0.pdf>)
- INSHT (Instituto Nacional de Saguridad e Higiene en el Trabajo). 2012a. Ficha técnica: *Candida albicans*. Consultado el 12 de agosto de 2018 en: <http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Hongos/Candida%20albicans.pdf>
- INSHT (Instituto Nacional de Saguridad e Higiene en el Trabajo). 2012b. Ficha técnica: *Aspergillus* spp. Consultado el 12 de agosto de 2018 en: <http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Hongos/Ficha%20Aspergillus%20spp.pdf>
- INSHT (Instituto Nacional de Saguridad e Higiene en el Trabajo). 2013. Ficha técnica: *Trichophyton* spp. Consultado el 12 de agosto de 2018 en: <http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Hongos/Trichophyton%20spp.pdf>
- Koneman E. W., Allen S. D., Janda W. M., Schreckenberger P. C. y Winn W. C. 2006. Diagnóstico Microbiológico. 6ª ed. Ed. Médica Panamericana S. A. Buenos Aires. (Protocolo 17-1) 1420-1421 pp.
- Koolman, J. y Röhm, K. 2003. Bioquímica: Texto y atlas. Editorial Médica Panamericana, Madrid. p. 208.

- Korolkovas, A. y Burckhalter, J. 1983. Compendio esencial de química farmacéutica. Ed. Reverté. Barcelona, España. Pp. 560-580.
- Kothavade, J. R., Kura, m. M., Valand, A. G. y Panthaki, M. H. 2010. *Candida tropicalis*: its prevalence, pathogenicity and increasing resistance to fluconazole. *Journal of Medical Microbiology* 59: 873-880.
- Lambert, J., Srivastava, J. y Vietmeyer, N. 1997. Medicinal Plants: Rescuing a Global Heritage. World Bank.
- Leos-Rivas, C., Rivas-Morales, C. y García-Hernández, D. 2016. Actividad antioxidante y toxicidad. *Investigación en plantas de importancia médica*. Editorial OmniaScience, Barcelona, España. p. 41-76.
- Leos R., L. 2010. Estudio de la actividad biológica de los extractos de tres plantas de la familia Boraginaceae. Tesis para obtener el título de Doctor en Ciencias. Universidad autónoma de Nuevo León.
- LIFE (Leading International Fungal Education). 2017. Consultado el 17 de agosto de 2018 en: <http://www.life-worldwide.org/fungal-diseases/candida-tropicalis1>
- Lozano, C. M., M. Vásquez-Tineo, M. Ramírez y F. Jiménez. 2013. In vitro antimicrobial activity screening of tropical medicinal plants used in Santo Domingo, Dominican Republic. part I. *Pharmacognosy Communications* 3(2): 64-69.
- Lucardi, M.C., M.V. Pérez, N. Moruaga, A. Bardón, M.E. Arena y E. Cartagena. 2016. Volatiles from subtropical Convolvulaceae Taht interfere with bacterial Cell-to-cell communication as potential antipathogenic drugs. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.
- McLaughlin, J. L. 1991. Crown Gall Tumours on Potato Disc and Brine Shrimp Lethality: Two Simple Bioassays for Higher Plant Screening and Fractionation. *Methods in plant Biochemistry Assays for Bioactivity* 6: 1-32.
- Méndez-Larios, I., R. Lira, H. Godínez-Alvarez, P. Dávila y E. Ortiz. 2006. Proposal for the establishment of the core zones in the Biosphere Reserve of Tehuacán-Cuicatlán, Mexico. *Biodiversity and Conservation* 15: 1627-1659.
- Mishra, B. B. y Tiwari, V. K. 2011. Natural products: an evolving role in future drug discovery. *European Journal of Medicinal Chemistry* 46(10): 4769-4807.
- Montes-Belmont, R., Cruz-Cruz, V., Martínez-Martínez, G.,rcía-Licon, R., Zilch-Dominguez, S., Bravo-Luna, L., Bermúdez-Torres, K. y Flores-Moctezuma, H. E. 2000. Propiedades antifúngicas en Plantas Superiores. Análisis retrospectivo de Investigaciones *Revista Mexicana de Fitopatología* 18(2): 125-131.
- Montes-Belmont, R. 2009. Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Micología* 29: 73-82.

- Monzón, A. y Rodríguez T., J. L. 2000. Infecciones Causadas por el género *Fusarium*. SEIMC (Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica). Consultado el 20 de agosto de 2018 en: <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/micologia/fusarium.pdf>
- Moreno, S., Herrera, H., Crescente, O., Vallera, H., Moreno, M., Mundaray, M. y Materano, Y. 2007. Evaluación fitoquímica y antibacteriana de los extractos de *Ipomoea quamoclit* L. (Convolvulaceae). *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente* 19(2):205-209.
- Narayana, D.V., T. Gopichandramukhi, K.H.A. kumar, P. Nikhil, R. Mahesh y J.A. Akbar. 2017. A review on natural critical antimicrobial agents. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences* 6(5): 329-341.
- Naturalista. 2018. *Ziziphus amole*. Consultado el 22 de agosto del 2018 en: <https://www.naturalista.mx/taxa/279111-Ziziphus-amole>
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 2002. Estrategias de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005. Consultado el 28 de febrero de 2018 en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/67314/1/WHO_EDM_TRM_2002.1_spa.pdf
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 2013. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Consultado el 30 de septiembre de 2018 en: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf>
- Ortiz de Montellano, B. y Browner, C. 1985. Chemical bases for medicinal plant use in Oaxaca, Mexico. *Journal of Ethnopharmacology* 13(1):57-88.
- Pawlowska, A., Camangi, F., Bader, A. y Braca, A. 2009. Flavonoids of *Zizyphus jujuba* L. and *Zizyphus spina-christi* (L.) Willd (Rhamnaceae) fruits. *Food Chemistry* 112:858-862.
- Pérez-Amador, M. C., García-Argáez, A., Contreras, C., Herrera, J. y Ríos, M. 1998. Resins of four species of Convolvulaceae and their allelopathic potencial. *International Journal of Experimental Botany* 62 (1): 195-8.
- Pérez-Negrón, E. S. 2002. Etnobotánica y aspectos ecológicos de las plantas útiles de Santiago Quiotepec, Cuicatlán, Oaxaca. Tesis para obtener el título de Biólogo. Instituto de Ecología, UNAM.
- Red de herbarios del Noreste de México. 2018. Consultado en agosto de 2018: <http://herbanwmex.net/portal/collections/harvestparams.php>
- Riedl, V. 1997. Boraginaceae. *Flora Malesiana* 1(13): 43-144.
- Rivas-Morales, C., Oranday-Cárdenas, M. A. y Verde-Star, M. J (Eds.). 2016. Investigación en plantas de importancia médica. Editorial OmniaScience, Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

- Rybalchenko, N.P., V.A. Prykhodko, S.S. Nagoma, N.N. Volynets, A.N. Ostapchuk, V.V. Klochko, T.V. Rybalchenko y L.V. Avdeeva. 2010. In vitro antifungal activity of phenylheptatriyne from *Bidens cernua* L. against yeast. *Fitoterapia* 81(5): 336-338.
- Ryder, N. S., Stuetz, A. y Nussbaumer, P. 1992. Squalene epoxidase inhibitors: structural determinants for activity and selectivity of allylamines and related compounds. Regulation of isopentenoid metabolism. Washington DC, American Chemical Society pp.192-204.
- Sanabria-Galindo, A., Cárdenas, L. C. y Parroquiano, M. L. 2002. Actividad antimicrobiana y examen fitoquímico preliminar de siete angiospermas y una muestra de propóleo. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-farmacéuticas* 31(1):36-42.
- Salazar-Aranda, R., Pérez-Lopez, L. A., Lopez-Arroyo, J., Alanís-Garza, B. A. y Waksman de Torres, N. 2011. Antimicrobial and antioxidant activities of plants from northeast of Mexico. *Evidence-based Complementary and alternative medicine* 2011: 536139.
- Salazar, R., V. Rivas, G. González y N. Waksman. 2006. Antimicrobial activity of coupled hydroxyanthracenones isolates from plants of the genus *Karwinskia*. *Fitoterapia* 77: 398-400.
- Sánchez C., J. L., Obón L., L. y Pont S., C. 1991. Tratamiento actual de las micosis superficiales. *Revista Iberoamericana de Micología* 16: 26-30.
- Sepúlveda-Jiménez, G., Porta-Ducoing, H. y Rocha-Sosa, M. 2004. La participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21(3): 355-363.
- Solano C., E. 2008. Etnobotánica de las plantas vasculares del municipio de Putla de Guerrero, Oaxaca; México. Tesis para obtener el título de Bióloga. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Sosa, V. y J. A. De-Nova. 2012. Endemic Angiosperm lineages in Mexico: Hotspots for conservation. *Acta Botánica Mexicana* 100: 293-315.
- Soto-García, M. y Rosales-Castro, M. 2016. Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxyla*. *Maderas. Ciencia y Tecnología* 18(4):701-714.
- Stainer, R. Y., Ingraham, J. L., Wheelis, M. L. y Painter, P. R. 1992. Microbiología. Editorial Reverté, México. pp.635-638.
- Strother, J. L. y J. L. Panero. 1994. Chromosome studies: Latin American Compositae. *American Journal of Botany* 81(6): 770- 775.
- Tapia P., C. 2008. *Candida glabrata*. *Revista Chilena de Infectología* 25(4): 293
- Tapia P., C. y Amaro, J. 2014. Género *Fusarium*. *Revista Chilena de Infectología* 31(1): 85-86.

- Tequida-Meneses, M., M. Cortez-Rocha, E.C. Rosas-Burgos, S. López-Sandoval y C. Corrales-Maldonado. 2002. Efecto de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Apergillus flavus*, *Apergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*. *Revista Iberoamericana de Micología* 19: 84-88.
- Tortora, G. J., Funke, B. R. y Case, C. L. 2007. Introducción a la Microbiología. Editorial Médica panamericana. Madrid, España. pp.346-355
- Turner, B. I. y Z. Zhao. 1992. Documents chromosome numbers 1992:2. miscellaneous U.S.A. and Mexican species, mostly Asteraceae. *SIDA Contributions to botany* 15(1): 147-150.
- Velázquez, L. 1976. Farmacología y su proyección a la clínica. Ed. Oteo, Madrid. Pp.965.
- Versalovic, J., Carroll, K. C., Funke, G., Jorgensen, Landry, M. L., Warnock, D. W. 2011. Manual of Clinical Microbiology. Editorial ASM Press, Washington DC. p. 2314
- Wang H., Bun N. T. 2002. Isolation of an antifungal thaumatin-like protein from kiwi fruits. *Phytochemistry* 61: 1-6.
- Yoshikawa, M., Murakami, T., Ueda, T., Yoshizumi, S., Ninomiya, K., Murakami, N., Saito, M. Fuji, W., Tanaka, T. y Yamahara, J. 1997. Bioactive constituents of Chinese natural medicines. III. Absolute stereostructures of new dihydroflavonols, hovenitins I, II, and III, isolated from hoveniae semen seu fructus, the seed and fruit of *Hovenia dulcis* THUNB. (Rhamnaceae): inhibitory effect on alcohol-induced muscular relaxation and hepatoprotective activity. *Journal of the pharmaceutical society of Japan* 117(2):108-118.
- Zamora, N. 1989. Flora arborescente de Costa Rica: especies de hojas simples. Editorial Tecnológica de Costa Rica. P. 262.
- Zavala, M.A., S. Pérez y R.M. Pérez. 1997. Antimicrobial screening of some medicinal Plants. *Phytotherapy Research* 11: 368-371.