

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



**ACTIVIDAD BIOCIDA DE SEIS
PLANTAS DE USO MEDICINAL
EN EL MUNICIPIO DE TACANÁ,
SAN MARCOS, GUATEMALA**

Informe de Tesis

Presentado por:

Lourdes Fabiola Lorenzana González

Para optar al título de

Química Bióloga

Guatemala, marzo de 2003



DL
06
T(1584)

JUNTA DIRECTIVA

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

- | | |
|---|------------|
| M. Sc. Gerardo Leonel Arroyo Catalán | Decano |
| Licda. Jeannette Magaly Sandoval de Cardona | Secretaria |
| Licda. Gloria Elizabeth Navas Escobedo | Vocal I |
| Lic. Juan Francisco Pérez Sabino | Vocal II |
| Dr. Federico Adolfo Richter Martínez | Vocal III |
| Br. Jorge José García Polo | Vocal IV |
| Br. Liza Leonor Carranza Jui | Vocal V |

AGRADECIMIENTOS

MI ASESOR

Armando Cáceres Estrada por sus enseñanzas y aplicaciones a la vida.

MIS REVISORAS

Licda. Margarita Paz de Ramírez y M. Sc. Blanca Samayoa Herrera por el empeño que demostraron en realizar este documento.

PROYECTO FLORA
REGIONAL OEA

Por proporcionarme los medios necesarios para que este trabajo de tesis se llevara a cabo.

DEPARTAMENTO DE
CITOHISTOLOGIA

Por su apoyo en este trabajo con especial afecto a Doña Blanca Chútan, Gerber Solís y Swizly Arana.

FACULTAD DE CIENCIAS
QUÍMICAS Y FARMACIA

Mi *alma mater* por el tiempo brindado en mi formación académica

ÍNDICE

I. Resumen	1
II. Introducción	3
III. Antecedentes	4
A. Etnobotánica Médica	4
1. Antropología	4
2. Agroecología	5
3. Medicina tradicional	5
B. Establecimiento de bioensayos y estudios realizados con plantas medicinales	6
C. Biodiversidad	9
D. Municipio de Tacaná	10
E. Grupo Étnico Mam	11
F. Plantas seleccionadas para el estudio	12
1. <i>Bocconia arborea</i>	12
2. <i>Hypericum uliginosum</i>	14
3. <i>Prionosciadium thapsoides</i>	15
4. <i>Salvia lavanduloides</i>	16
5. <i>Salvia microphylla</i>	18
6. <i>Selaginella silvestris</i>	19
G. Técnicas de tamizaje de la actividad biocida	20
1. Ensayo antibacteriano	21
2. Ensayo antimicótico	21
3. Ensayo antiprotozoario	22
4. Ensayo insecticida	23
5. Ensayo antiartemia	23
IV. Justificación	24
V. Objetivos	25
VI. Hipótesis	26
VII. Materiales y Métodos	27
A. Universo	27
B. Muestra	27
C. Recursos	27
D. Metodologías	30
E. Análisis de Datos	33
VIII. Resultados	35
IX. Discusión de Resultados	39
X. Conclusiones	42
XI. Recomendaciones	44
XII. Referencias	45

I. RESUMEN

La flora que posee el país es muy diversa por lo que no está documentada en su totalidad y menos aún sus usos alimenticios, ornamentales y medicinales. En el municipio de Tacaná el estudiante de la Facultad de Agronomía, Cardona (1) en el año 2001 realizó su trabajo de tesis en el cual recolectó información etnobotánica de la comunidad Mam de este municipio de San Marcos, para reforzar el conocimiento popular y hacerlo extensivo a todo el país. De los resultados de éste trabajo se planteó como recomendación la validación científica de la acción terapéutica de las plantas, especialmente de las cuales se posee poca o ninguna información bibliográfica. Por consiguiente, se seleccionaron y obtuvieron seis plantas: *Bocconia arborea*, *Hypericum uliginosum*, *Prinosciadium thapsoides*, *Salvia lavanduloides*, *Salvia microphylla* y *Selaginella silvestris*. Se colectaron las partes áreas de éstas plantas, excepto de *Prinosciadium thapsoides* del que se recolectó la semilla, se molió, se pesó y se extrajo por reperlación los componentes afines al etanol al 95% de cada una de las plantas.

Los extractos etanólicos se enfrentaron a los siguientes microorganismos según la metodología empleada por Mitscher *et al.* (2) para bacterias y hongos levaduriformes; la de Brancato y Golding (3) modificada por Mac Rae *et al.* (4) para hongos filamentosos, para el ensayo antiprotozoario según la técnica de González *et al.* (5) y Hocquemiller (6), para el ensayo insecticida el método usado por Agrochemical Division of CIBA GEIGY A. G. y el laboratorio de Hostettmann en Suiza y descrito por Sharma *et al.* (7) y para el ensayo de citotoxicidad el procedimiento descrito por Michael *et al.* (8) y adaptado por Meyer *et al.* (9).

En el ensayo antibacteriano y antimicótico para hongos levaduriformes se demostró la actividad de *H. uliginosum* a una concentración inhibitoria mínima (CIM) de 0.25 mg/ml para *Staphylococcus aureus* ATCC 6558, *Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Mycobacterium smegmatis* ATCC 607, *Cryptococcus neoformans* CCQQ C-13 y a una CIM de 1 mg/ml para *Trichopyton rubrum* CCQQ T-4; de *B. arborea* a una CIM de 0.5 mg/ml para *S. aureus* ATCC 6558 y *M. smegmatis* ATCC 607; de *P. thapsoides* a una CIM de 0.5 mg/ml para *M. smegmatis* ATCC 607 y *T. rubrum* a una CIM de 1 mg/ml; *Salvia microphylla* a una CIM de 0.25 mg/ml para *C. neoformans* CCQQ C-13, para *S. aureus* ATCC 6558, *B. subtilis* ATCC 6051, *M. smegmatis* ATCC 607 a una CIM de 0.5 mg/ml y a una CIM de 1 mg/ml para *T. rubrum* CCQQ T-4; *Salvia lavanduloides* para *S. aureus* ATCC 6558, *B. subtilis* ATCC 6051, *M. smegmatis* ATCC 607, *C. neoformans* CCQQ C-13 a una CIM de 1 mg/ml. No se encontró ningún tipo de actividad en *S. silvestris*.

En la actividad contra protozoos se encontró efecto biocida en *B. arborea*, inhibiendo el 90 por ciento de los protozoos a las siguientes concentraciones: 0.38 mg/ml para *Trypanosoma cruzi* MHOM/GT/94/SMI-04, 0.46 mg/ml para *Leishmania braziliensis* MHOM/BR/75/M2903 y 0.82 mg/ml para *Leishmania mexicana* MNYC/BZ/62M376. El extracto etanólico de la semilla de *P. thapsoides* inhibió al género *Leishmania* en una concentración de 0.66 mg/ml y 0.79 mg/ml para *L. braziliensis* y *L. mexicana* respectivamente.

Los extractos no mostraron actividad citotóxica contra *Artemia salina*, ni actividad insecticida contra *Aedes aegypti* ni *Anopheles albimanus* en ninguno de sus cuatro estadíos larvarios.

Esta investigación demostró ampliamente la actividad biocida de cinco plantas contra bacterias y hongos. Dos de las plantas mostraron acción contra protozoos, no obstante las plantas se mostraron sin efecto alguno contra insectos o bien *Artemia salina*, demostrando la confiabilidad de las plantas para su ingestión, pues no poseen toxicidad.

I. INTRODUCCIÓN

En Guatemala existe una gran diversidad de flora y fauna, gracias a las condiciones climatológicas imperantes que hacen del territorio un hábitat perfecto para el cultivo de plantas medicinales. Sobre su actividad medicinal y sobre su capacidad biocida es escasa la información documentada. La información que se posee, está basada en la experiencia transmitida por comunicación verbal de generación en generación, en las diferentes comunidades de la región Mam. El conocimiento acerca de la etnia Mam, ha sido recopilado en distintos trabajos de tesis realizados en las Facultades de Medicina y Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, con mayor énfasis en sus usos ornamentales, alimenticios y medicinales que poseen, según la región estudiada (1,10-13).

A la fecha, de las plantas de uso medicinal en el municipio de Tacaná, solamente se tiene información de la tesis denominada: "Etnobotánica de flora nativa de uso medicinal y alimenticio en una población de etnia Mam del municipio de Tacaná, departamento de San Marcos", trabajo en el que se describen 75 plantas que son utilizadas medicinalmente en la región, de las cuales algunas tienen documentación de su actividad biocida y otras nativas carecen de la misma, lo que hace necesario realizar este tipo de investigación (1).

El departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, ha desarrollado desde hace varios años, una serie de ensayos de tamizaje, que han permitido la evaluación de la actividad biocida de productos vegetales, ejecutando varios proyectos de investigación con apoyo de la Dirección General de Investigaciones (DIGI) y otras instituciones internacionales como la Agencia Japonesa de Cooperación Internacional (JICA) y la Organización de Estados Americanos (OEA). Estas pruebas incluyen ensayos: antibacteriano, antilevadura, antimicótico, antiprotozoario, insecticida y antiartemia (14-28).

El presente trabajo pretende validar científicamente la acción terapéutica de las plantas: *B. arborea*, *H. uliginosum*, *P. thapsoides*, *S. lavanduloides*, *S. microphylla*, *S. silvestris*, del municipio de Tacaná, departamento de San Marcos, recolectadas por su uso etnomédico en una comunidad Mam, para que de esta manera se valide su actividad y permita su conservación y uso.

III. ANTECEDENTES

A. Etnobotánica Médica

Las plantas medicinales constituyen un tesoro enorme que aún no ha sido estudiado en su totalidad y que se encuentra ampliamente tratado en la ciencia denominada etnobotánica médica (29).

De la Sota (30) y Hernández (31), concuerdan con definir la Etnobotánica como la ciencia que estudia las relaciones mutuas entre los grupos humanos y las plantas en una dimensión temporal, cultural y ecológica.

Es entonces donde se puede definir también Etnobotánica Médica como la rama de la etnobotánica que comprende la colecta, documentación y preservación de la cultura popular relacionada con las plantas que curan y las prácticas medicinales, agrícolas y holísticas involucradas, siendo una ciencia basada en varias disciplinas tales como la antropología, la agronomía, la ecología y la medicina (31).

1. Antropología

Este estudio comprende las prácticas mágico-religiosas, relacionadas con el uso de las plantas medicinales. Así como, lo relacionado a leyendas y mitos según el criterio que cada grupo étnico posea sobre el concepto salud-enfermedad. También el estudio de los métodos terapéuticos empleados por cada grupo étnico, para la curación de las enfermedades. Ello incluye la recopilación de la información relacionada con las propiedades medicinales atribuidas a las plantas, método de preparación, dosificación, eficacia y contraindicaciones, así como, la etiología y sintomatología de las enfermedades en cuya curación participan las plantas medicinales. La determinación de las características propias de los grupos étnicos que ocupan el área de estudio. La determinación del área geográfica que tradicional y actualmente habitan los grupos étnicos, cuyas prácticas de etnobotánica médica se estudiarán. Por último, la búsqueda y recopilación de antecedentes bibliográficos concernientes a los grupos étnicos a estudiar y especialmente en lo que respecta a la medicina tradicional (31).

2. Agroecología

La Agroecología asegura que la planta pueda ser obtenida después de su estudio, de una manera controlada, ya que se investiga todo lo relacionado a su siembra y hábitat. En el aspecto agronómico, es necesario la recopilación de información bibliográfica de los métodos de selección de propagación, cultivo, cosecha, almacenamiento y comercialización utilizados por los agricultores así como la preparación postcosecha si la planta ya fuera comercializada. La colecta de material de propagación para su introducción a un banco de semillas, o a colecciones vivas, y su estudio fenológico (32, 33).

Dentro de los aspectos ecológicos involucrados en la etnobotánica médica, los más importantes son los siguientes: el registro, ordenamiento e interpretación de los datos sobre el comportamiento de los factores bióticos (flora y fauna) y abióticos (suelo y clima) del área, donde una determinada planta medicinal crece; el estudio de la interrelación entre las plantas medicinales y la flora y fauna que les rodea, y la determinación de la zona de vida en la que cada una de éstas se desarrolla. Entendiéndose por zona de vida a las unidades climáticas naturales, en las que se agrupan diferentes asociaciones vegetales correspondientes a determinados ámbitos de temperatura, precipitación y humedad (32, 34).

3. Medicina tradicional

La morbilidad y mortalidad son consecuencia de factores socioeconómicos, tales como: pobreza extrema, falta de higiene, ignorancia; los que colaboran en la propagación de agentes infecciosos que podrían ser prevenidos. También hay que agregar la dificultad que tiene la población al acceso de productos farmacéuticos que le permitan la solución de sus problemas de salud (35).

Por lo anteriormente citado en las áreas rurales se hace uso de la medicina tradicional la cual se define como: El conjunto de conocimientos y prácticas terapéuticas generadas en el seno de la comunidad, transmitidas generacionalmente y que basadas en un saber empírico ofrecen o intentan ofrecer soluciones a las diversas manifestaciones de enfermedad buscando propiciar la salud de la población. Su rasgo característico es su íntima relación con la cultura de la comunidad (36).

Con el propósito de comprender las raíces de la Medicina Tradicional en la población y sus diferentes metodologías es importante hablar de la cultura de los antepasados de la población nativa guatemalteca: los mayas (37).

Como en otras culturas antiguas, la civilización maya muestra el carácter sagrado de la medicina. Los mayas desarrollaron amplios conocimientos sobre la flora y la fauna de las tierras que habitaron. Lograron seleccionar y aprovechar todas aquellas a las que les descubrieron propiedades terapéuticas; Villatoro (38), dice al respecto: "La nomenclatura botánica usada por los mayas superaba a la empleada en ese entonces en los países de Europa. Muchas de las plantas utilizadas por ellos conservan aún nombres indígenas".

A partir de la conquista, durante la época colonial y aún después de ella, el arte de la medicina maya, así como los otros componentes de la cultura maya, han sido menospreciados. Sin embargo, a pesar del sometimiento de que fueron objeto los indígenas, muchas de sus creencias y tradiciones han persistido y están vigentes en los pueblos actuales (39).

B. Establecimiento de bioensayos y estudios realizados con plantas medicinales

Lozoya (39), escribe acerca de la medicina tradicional: "Esta ha sido la medicina de los pobres, con sus recursos tradicionales como plantas medicinales y otros, proporciona salud a cerca del 40% de la población Mesoamericana". Además enfatiza que se requiere una detallada valoración del conocimiento médico popular que permita impulsar formas combinadas del tratamiento y curación donde la medicina tradicional ocupe el verdadero lugar que le corresponde, a la par de conocimientos científicos, en beneficio de la salud de la población mayoritaria. Para esto es indispensable un profundo análisis sobre las plantas medicinales, sus usos y sus características.

En Guatemala no existe un inventario completo de la flora medicinal, existen inventarios parciales, dentro de los cuales cabe mencionar los siguientes: "Historia Natural del Reino de Guatemala" de Ximenez (31), "Flora útil médico-guatemalteca" de Roque (31), "Contribución a las investigaciones sobre plantas medicinales y económicas de Guatemala" de Ippisch (40) y "Atlas of Medicinal Plants of Middle America" de Morton (33).

También se han realizado estudios de etnobotánica medicinal; entre estos trabajos cabe mencionar que en 1974 Mellen (41), publicó un listado de 300 plantas en las que describe el nombre común y científico, clasificación por acción terapéutica y modo de preparación. Este trabajo es importante, porque hace una reseña histórica del uso de las

grado 4 microorganismos causantes de infecciones de la piel y las mucosas, mientras que otras 2 inhibieron un amplio rango de microorganismos. El resto de plantas inhibieron solamente una o dos bacterias. Se evaluaron para el estudio *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *S. aureus* y se montó la técnica antimicrobiana de disco.

En 1988 Girón *et al.* (16), realizaron un estudio acerca de la actividad anticándida de plantas usadas en vaginitis. Los resultados obtenidos se constituyeron en 8 plantas con actividad contra microorganismos causantes de infecciones mucosas y dérmicas en éste trabajo se utiliza el método modificado de Bauer y Kirby (46) de impregnación de disco.

En 1990, Cáceres *et al.* (17), por medio de encuestas y revisiones de literatura identificaron 385 plantas utilizadas para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales, de las cuales se prepararon extractos hidroalcohólicos de 84 plantas obteniéndose que los extractos de 34 plantas presentaron actividad inhibitoria a más de alguna de las enterobacterias ensayadas.

Un año después, Cáceres *et al.* (18), demostraron que de 68 plantas investigadas, 28 inhibieron el crecimiento de *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*.

Posteriormente Cáceres *et al.* (19), realizan una selección de 100 plantas de las cuales obtiene una muestra de 50 plantas para un estudio de tamizaje concerniente al tratamiento de dermatofitos con plantas nativas, en esta investigación evalúan la actividad contra *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *T. rubrum*. Es en este trabajo en donde se establece la técnica antimicótica que no es más que una modificación del método de dilución sugerido por García y Salas (20) para antimicóticos químicos y adaptado para el tamizaje de extractos vegetales por Lam (21). La metodología ha sido perfeccionada para la demostración antimicótica *in vitro* de plantas usadas en Guatemala como el tratamiento de enfermedades dermatomucosas por Arriaza (22), Girón (23) y para la determinación de la CIM la técnica utilizada por Ríos *et al.* (47).

En 1993 Cáceres *et al.* (24), realizan la evaluación de la actividad antifúngica de 7 plantas americanas utilizando la técnica de dilución en una fase sólida descrita por Mac Rae *et al.* (4), modificando de ésta manera la usada por Brancato y Golding (3).

En 1996 Cáceres *et al.* (25), publican un estudio de la actividad antimicrobiana de 21 plantas nativas usadas para tratar infecciones por protozoarios en Guatemala, en donde utilizan todas las técnicas anteriormente citadas pero además se usa una técnica nueva en la actividad antibacteriana, que ya no utiliza discos como en la de Bauer y Kirby (46), sino estrías en el agar según describe Mitscher *et al.* (2).

Posteriormente Berger *et al.* (26), realizan un estudio utilizando las técnicas de González *et al.* (5) y Hocquemiller *et al.* (6), montando así la técnica para protozoos tanto para *T. cruzi* como *L. mexicana* y *L. braziliensis*. En este trabajo también se utiliza un tamizaje al crustáceo *A. salina*.

Se estudio *A. salina* ya que sus nauplios son sensibles a gran variedad de sustancias por lo que pueden medir fácilmente la toxicidad de extractos y dirigir de esta manera el fraccionamiento bioguiado. Se basó para este ensayo en la técnica descrita por Michael *et al.* (8), Meyer *et al.* (9), Anderson *et al.* (48) y Solís *et al.* (49).

En el 2000 se empezaron dos trabajos de tesis en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia a saber: Letona (27) y Arana (28) los trabajos de tesis acerca de la actividad larvicida de plantas detectadas por etnobotánica y bioprospección. Como resultado de las tesis se implementó la técnica insecticida.

C. Biodiversidad

Diversidad biológica o biodiversidad se define como: la variabilidad entre organismos y el complejo ecológico del cual son parte. Los diferentes parámetros que indican la biodiversidad de una región se manifiestan por los ecotipos, especies endémicas, hábitats de organismos y diversidad biológica de importancia social, económica y cultural (50).

En 1995 en el primer Congreso sobre biodiversidad de Guatemala, se menciona que en Guatemala se encuentran 8,681 plantas superiores, con varios grupos de alta diversidad, distribuido en 14 zonas de vida, lo cual indica los diferentes pisos altitudinales del país (50).

La pérdida de la biodiversidad durante los últimos años ha sido alarmante, según la Facultad de Agronomía desde comienzo de este siglo se ha perdido aproximadamente un 75 por ciento de la diversidad genética entre los cultivos agrícolas, por la destrucción de hábitat y la homogenización impulsada por el modelo de agricultura extensiva. Como consecuencia de los programas de cultivo y a los incrementos logrados mediante la adopción de variedades de alto rendimiento, los resultados han sido una creciente erosión del germoplasma y el abandono de cultivos nativos, el remplazo de las variedades por híbridos y el desaparicimiento de ciertos sistemas agrícolas tradicionales (50).

Aún cuando el desarrollo social se ha basado en el aprovechamiento de muchas especies vegetales, animales y microorganismos, en la actualidad se tiende a utilizar un número reducido de éstas provocado por el valor de cambio asignado a las especies, que la industria y el mercado han considerado más rentable. La alimentación humana, en las grandes ciudades del país tiende a ser menos diversa, lo cual ha conducido a que muchos agricultores, especialmente minifundistas, estén perdiendo el interés por los cultivos

tradicionales. Prueba de ello se encuentra en el estudio realizado por Ronquillo (45), en donde de 79 plantas de importancia alimenticia y/o medicinal identificadas en la región semiárida del país, sólo 6 son actualmente cultivadas en la población (45, 50).

La pérdida de la biodiversidad tiene su máxima expresión en los bosques en donde se encuentran amenazadas el mayor número de especies, las actividades industriales han contribuido a la degradación de los recursos biológicos, por medio de las descargas de contaminantes a los ecosistemas (50).

Otra causa de la pérdida acelerada de la biodiversidad, son los problemas ambientales que se originan por un proceso desordenado de urbanización, la falta de planificación para el uso y la distribución de recursos y servicios, el bajo nivel socioeconómico y educativo de los habitantes. Otro lo constituye la ampliación de las fronteras agrícolas en áreas de escasa producción agrícola, por el problema agrario no resuelto, situación que en los últimos años se ha acentuado en el norte de las Verapaces, Péten y el Altiplano. El ritmo de la deforestación nacional supera los 600 km², al año (50).

Finalmente, si la pérdida de los recursos genéticos continúan sin disminuir la tasa actual, las porciones genéticas para los cambios que se necesitan en la producción agrícola en el futuro, se perderá para siempre (51).

D. Municipio de Tacaná:

Es un municipio del departamento de San Marcos, con una Municipalidad de segunda categoría. Tiene un área aproximada de 302 km² y su nombre Tacaná. Colinda al norte con Tectitán (Huehuetenango); al este con San José Ojetenán e Ixchiguán (San Marcos) y Tectitán (Huehuetenango); al sur con Sibinal (San Marcos) y México; al oeste con México (52).

La cabecera está en la Sierra Madre, al nor-noreste del volcán de Tacaná. Por la ruta nacional 12-N al sureste unos 26 km a la cabecera de Ixchiguán y de allí sureste aproximadamente 29 km a la cabecera departamental y municipio de San Marcos; altitud 2410 msnm, latitud 15°14'25'', longitud 92°04'04''. Tiene caminos, roderas y veredas que unen a sus poblados y propiedades rurales entre sí y con los municipios vecinos. Para llegar al Tacaná desde la ciudad capital se requieren de 7 a 8 horas en automóvil y hasta 12 horas en autobús, pues el área es muy accidentada (52, 53).

El municipio de Tacaná es conocido por poseer en su territorio el segundo volcán más alto del territorio Centroamericano con una altura de 4,092 msnm; su ubicación específica es 15°07'54'', longitud 92°06'30'', en la línea limítrofe entre Guatemala y México por lo que una parte del volcán pertenece al estado de Chiapas, México. El volcán se asienta en un macizo de granito, en lo que se ha dado en designar Sierra Madre (52).

La actividad del volcán es nula debido a que se encuentra actualmente tapado por un domo. Se ha registrado actividad en 1855, 1878, 1949, 1986 y la última en 1996. El Tacaná está constituido por vestigios de un volcán activo, se clasifica según su erupción como estromboliano (52).

El clima es cálido subhúmedo, clasificado según el mapa de De la Cruz (34) como Bosque muy húmedo Montano bajo subtropical. La vegetación natural predominante que puede considerarse como indicadora es *Cupressus lusitanica*, *Chiranthodendron pentadactylon*, *Pinus ayacahuite*, *Pinus hatwegii* las cuales se encuentran en la parte superior de la zona, el *Pinus psedostrobus* se encuentra mezclado con la anteriores, por ser común en toda la zona de vida. Otras especies que también se observan en esta formación son el *Alnus jorulensis*, *Quercus* spp., *Zinowiewia* spp., y *Buddleja* spp. también vistas en la zona. Las condiciones generales sobre su uso apropiado son que puede dársele un uso combinado de fitocultivo y bosque. Los cultivos principales pueden ser trigo, maíz, papa, haba, verduras, frutales como manzana, durazno, pera, aguacate y otros. El bosque merece ser manejado cuidadosamente pues por la densidad de población tiende a disminuir, dando paso a la erosión en las pendiente fuertes (34). Su flora de selva contiene: ceiba, caoba, cedro rojo, volador y guapaque. Su fauna constituida de mamíferos y aves tales como: tlacuache, sarahuato, puercoespín y venado cola blanca; meseta: tepezcuintle, tigrillo, jabalí, mono, oso hormiguero, lagarto y jaguar; en las llanuras costeras: cocodrilo, tortuga y aves acuáticas (54, 55).

Según el último censo realizado en 1994 existe una población de 53,568 habitantes: 27,185 (51%) hombres y 26,383 (49%) mujeres, alfabetos 12,265 (23%) indígenas 34,286 (64%). Con una población económicamente activa de 14,398 (27%) personas (56).

Tacaná se encuentra dividido en 127 comunidades. La mayoría carece del servicio de energía eléctrica y agua potable, aspectos que denotan la pobreza del lugar y lo marginado que se encuentra por el gobierno nacional. La principal fuente de trabajo y los servicios de salud los encuentran en México por encontrarse en un punto cercano a la república mexicana y con mejores vías de acceso que a la metrópoli. Esta influencia mexicana hace que los habitantes del lugar se sientan más aztecas que chapines (53).

Tacaná es uno de los territorios donde se asienta la etnia Mam (57).

E. Grupo Étnico Mam

El nombre Mam, Mames o "Mems", según Brasseur de Bourbourg citado por Recinos, provino de la dureza de su lengua y de la dificultad que tenían para hablar, donde ellos eran los únicos capaces de pronunciar su lengua, por ello se les llamo "Mem o "Tartamudos" con mal acuerdo, desfigurado por los españoles en la palabra "Mame" (58).

Los grupos mames, de indudable origen Maya como los del centro y norte de la república, ocupaban desde antes de la conquista española el territorio de Soconusco en el actual estado de Chiapas, la costa del Pacífico de San Marcos, Retalhuleu, y más al norte, las montañas que hoy forman los departamentos de Quetzaltenango y Huehuetenango. En todos ellos se habla la lengua Mam que ha sobrevivido en parte de dicho territorio (58).

La plaza fuerte de Zaculeu, fue hasta la época de la conquista, la capital de los Mames.

Representa la máxima desviación glotocronológica de la lengua maya: le separan 1,500 años de la lengua quiché y, dentro de él, hay dialectos separados por 400 años. A partir de 1982 sufrieron en igual medida que cualquier otro pueblo maya, pero con menor publicidad, la ofensiva genocida del Ejército guatemalteco, por lo que decenas de millares se vieron obligados a refugiarse en México o en otras zonas del país. Desde ese momento se agruparon en varias organizaciones del conjunto maya y en alguna específica de su etnia, como la Coordinadora Mam de Desarrollo Integral. Hoy ascienden a casi un millón de personas, la mayoría en Guatemala (55).

F. Plantas seleccionadas para el estudio

La tesis de Cardona (1) es el primer inventario realizado en el municipio de Tacaná, departamento de San Marcos para reconocer el potencial genético nativo vegetal de valor medicinal y alimenticio en el municipio.

De las 75 plantas colectadas se observan 6 plantas con pocos o ningún estudio de actividad biocida reportado en la base de datos Napralert (59), de las cuales se trata a continuación:

1. *Bocconia arborea* Wats

a) Nombres comunes: Quiebra-muelas, Palo de matates, Lloro sangre, Sangre de chucho, Saupé de chucho, Palo amarillo (60), Chicacote, Chicalote, Chicalote de árbol, Mano de león, Palo del diablo, Enguanche, Tiñe canasta (61), Matamuelas (1).

b) Familia: *Papaveraceae*

c) Descripción botánica: Arbusto o árbol de 2.5 a 6 m de alto, con la corteza de corcho, con pocas ramas gruesas, las ramas jóvenes tomentosas; las hojas se encuentran en las partes terminales de las ramas y son de color verde pálido, miden hasta 45 cm de largo y 30 cm de ancho pero son usualmente más pequeñas, profundamente pinnadas-lobadas, glabras en el haz de la hoja, en la parte inferior grisáceas o cafés y más o menos tomentosas, con la edad a menudo glabras, lóbulos angostos, serrados, la mayoría largos-acuminados o atenuados; panículas largas, frecuentemente de 20 cm de largo o más, usualmente curvas al menos en su etapa

adulta, las flores son pequeñas de color amarillo, pediceladas, el pedicelo de 1 cm de largo o menos; sépalos acuminados, usualmente de 10-12 mm de largo, glabros; 12 estambres aproximadamente; el fruto mide cerca de 7 mm de largo, estipitado, curvo, elipsoide, 1 cm de largo o menos, coronado por el persistente y elongado estilo (*Fide* 60).

d) Hábitat: Se localiza en llanuras húmedas o bosques, la mayoría de veces en bosques de roble, crece en clima templado, entre los 500 y los 2630 msnm. Asociada a cultivos de riego temporal; es una planta muy abundante en muchos lugares del occidente y la bocacosta del Pacífico de Guatemala. Algunas veces se ve como planta ornamental en los parques de Huehuetenango. Se ha encontrado en los departamentos de: Chiquimula; Jalapa; Jutiapa; Santa Rosa; Escuintla; Guatemala; Sacatepéquez; Chimaltenango; Suchitepéquez; Quiché; Quetzaltenango; San Marcos; y en el Centro y sur de México; El Salvador; Costa Rica y Panamá (60, 61).

e) Usos: Los usos de la llova sangre datan desde los ancestros indígenas ya que la corteza le proporciona un color amarillo que los aborígenes mexicanos la usaron para teñir sus penachos y otros objetos. En el siglo XVI, se empleaba para la gastritis, paperas, y para algunas sintomatologías como: inflamaciones de la garganta, fiebre o para purificar la garganta y el pecho según el Códice Florentino. En el mismo siglo se reporta el uso del jugo untado para curar la sarna. A finales del siglo XIX la Sociedad Mexicana de Historia Natural le atribuye usos para contrarrestar humores espesos y crudos. En el siglo XX se reporta el uso para abscesos, para heridas, llagas, úlceras de mal carácter y verrugas, atrofia mesentérica, hidropesía e ictericia (61). En Guatemala es usada como una planta para tinción. La savia de esta planta es naranja se utiliza para dolores de dientes, en México se ha utilizado como anestésico local, ya que contiene alcaloides parecidos a los de la *Papaver* por lo que ha sido utilizado por cirujanos en la ciudad de México. Se ha reportado que el tronco se utiliza para las quemaduras. En Morelos, México se utiliza para problemas de la piel como verrugas, jilote, además el cocimiento de las hojas administrado por vía oral se usa para la bilis, anemia y flojura de cintura. La corteza en infusión se utiliza junto con las hojas de eucalipto para el tratamiento de la diabetes (60). En las comunidades Nuevo Paraíso, Chichum y Las Tablas, en el Municipio de Tacaná se utiliza en dermatitis alérgica y odontalgia (1).

f) Propiedades: A finales del siglo XIX la Sociedad Mexicana de Historia Natural lo cita como anestésico, tetanizante, tóxico, analgésico, antitérmico y en el siglo XX se reporta con actividad antiparasitaria, antitumoral, catártico, detergente y vulnerario (61). De *B. arborea* se han realizado estudios que demuestran su actividad contra enfermedades

infecciosas: El primer estudio realizado en 1996 por Navarro *et al.* (62), reporta estudios realizados a partir de las hojas secas de esta planta extraídas con metanol, presentando inactividad a la concentración dada para los siguientes microorganismos: 0.6 mg/ml para *S. aureus*, 10.0 mg/ml para *E. coli*, 10.0 mg/ml para *P. aeruginosa*, y 1.25 mg/ml para *C. albicans*. Los ensayos se llevaron a cabo en placas de agar. El segundo estudio en 1998 también realizado por Navarro *et al.* (63), presenta que la extracción de los compuestos activos con diclorometano a partir de las hojas secas y los tallos de la planta en cuestión, nuevamente en placas de agar proporciona actividad contra los mismos microorganismos anteriormente citados y contra *Proteus mirabilis* que fue agregado a la serie de microorganismos, obteniéndose los siguientes valores de IC₅₀ para cada microorganismo: 0.062 mg/ml de *S. aureus*, 0.375 mg/ml de *E. coli*, 1.0 mg/ml de *P. aeruginosa*, 0.25 mg/ml de *C. albicans* y 0.375 mg/ml de *P. mirabilis*. Otros estudios demuestran en diferentes animales de laboratorio e incluso en humanos su poder anestésico al ser inyectada como clorhidrato, por vía intramuscular en el hombre, a la dosis de 0.02 g, para un individuo adulto cuyo efecto dura 10 minutos, ya que puede ser tóxica a dosis mayores (61).

g) Composición: Estudios fitoquímicos demuestran la presencia de dihidrocheleritrina y dihidrosanguinarina los cuales son alcaloides isoquinolínicos encontrados en las partes aéreas de la planta a una concentración de 0.007 y 0.004 por ciento respectivamente (64). Además se han detectado alcaloides en frutos, hojas y la corteza del tallo. La corteza se caracteriza por la presencia de una mezcla de alcaloides llamada boconina, formada de boconietrina, boconiclorina, boconiyodina, boconixantina, cheleritrina, alocritapina y protapina (61, 65).

2. *Hypericum uliginosum* HBK.

a) Nombre común: Mil flores, Retij (Cobán, Quecchí), Ruda de monte (60), Chacmak (Mam), Periconcillo (1), Planta de conejo, Tzotzil y Chinchimali (59).

b) Familia: *Clusiaceae*

c) Descripción botánica: Plantas esencialmente anuales pero algunas veces persisten por más de un año, posee una raíz perpendicular o varias raíces corpulentas, erguidas, simples o usualmente ramificadas, siendo la mayoría de veces de 50 cm de alto aproximadamente; hojas lineares o casi lineares, la mayoría de 1-2 cm de largo, agudas u obtusas y apiculadas, angostas en la base sésil, con un nervio punticulado, pálidas por el envés, esparcidas o ascendentes, usualmente aplanadas pero algunas veces revolutas; flores usualmente numerosas, subcurimbosas a lo largo de las cortas o

elongadas ramas secundarias, sésiles o cercanas a eso; sépalos lineares-lanceolados, largos y atenuados, estriados, epunctados; pétalos amarillo profundo, un poco más largos que los sépalos; aproximadamente 20 estambres, libres; 3 estilos, cápsula lancea-oblonga, de 5 a 6 mm de largo, aguda, 1-embrión; numerosas semillas, ovales, parduscas, apenas de 0.5 mm de largo, bastante suaves (Fide 60).

d) Hábitat: Se localiza frecuentemente en elevaciones medias, en alturas de 3,400 msnm. Se encuentra en casi todos los hábitat excepto en los bosques húmedos, rara vez en lugares pantanosos densos. Se ha encontrado en campos abiertos y laderas, bosques de pino, roble, ciprés o abedul y muy frecuentemente en suelo pedregoso seco. En Guatemala se ha encontrado en los departamentos de: Alta Verapaz, Chimaltenango, Sololá, Quiché, Huehuetenango, Totonicapán, Quetzaltenango y San Marcos. También se ha localizado en la república de México, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica y Panamá (60, 66).

e) Usos: Se utiliza para diarrea (59), disentería ligera y grave, dolor de oído, quemaduras en la piel (1), tónico del hígado, gripe, neumonía, antidiabético y antipirético (67).

f) Propiedades: Se reporta solamente un estudio realizado sobre la actividad biológica de *H. uliginosum* en el cual se realizó una extracción de sus compuestos activos utilizando como solvente una mezcla de etanol y agua en una relación 1:1 demostrando en placas de agar la actividad de la planta entera frente a *S. aureus* y *T. mentagrophytes*. Sin evaluar para ninguno de los dos microorganismos la concentración usada del extracto, ni su Concentración inhibitoria del 50 por ciento (CI₅₀) (68).

g) Composición: Pocos estudios se reportan de esta especie en particular en cuanto a su composición química, sin embargo se ha aislado de la planta entera ulginosina A (68-70) y ulginosina B, ambos bencenoides que se encuentran en toda la planta en una concentración de 0.3 por ciento y 0.4 por ciento respectivamente (68) y se ha demostrado por cromatografía en papel que no contiene hipericina (71).

3. *Prionosciadium thapsoides* DC.

a) Nombre común: Angélica mexicana, Axan xemel, Cuscuta de sapo, Pimientillo (60), Chincamey (1).

b) Familia: *Apiaceae*

c) Descripción botánica: Plantas ásperas y robustas, llegan a medir más o menos 3 m de alto, el tallo rollizo no es hueco, con reducidas hojas en la base de la inflorescencia;

hojas radicales y muy largas, pecíolo largo, el limbo o lámina regularmente mide 35 cm o más e igual de amplitud, ternadas, la división pinadamente decompuesta, los folíolos o sus lóbulos cuneados, largo-decurrentes en el raquis, obtusas, más bien gruesas, crenadas-serradas, con dientes mucronados, glabras por encima, de algún modo puberulentas o escabrosas por debajo, en las venas con pequeños y gruesos pelos; los pecíolos de las hojas que se encuentran en la parte inferior del tallo, ampliamente alados y envainados; la inflorescencia usualmente larga y muy frondosa, las ramillas escabrosas; umbelas compuestas, de aproximadamente 7 cm de ancho, con numerosos rayos firmes y desiguales, las bractéolas lanceoladas, los pedicelos firmes, muy desiguales; el fruto maduro mide cerca de 13 mm de largo y 8 mm de ancho, las alas pálidas de hasta 4 mm de ancho, glabro. La planta de Guatemala rara vez llega a su plenitud y sus hojas largas y gruesas no se parecen a ninguna otra de las plantas locales (*Fide* 60).

d) Hábitat: Crecen en terreno seco y rocoso, en bosques abiertos de pino y roble, o en laderas de matorrales. Se encuentran a una altura de aproximadamente 1600-2600 msnm. Son conspicuas durante la temporada seca. Su distribución en Guatemala es la siguiente: Baja Verapaz, Sacatepéquez, Sololá, Quiche, Quetzaltenango, Huehuetenango. También se ha demostrado su presencia en México (60).

e) Usos: Los indígenas de Huehuetenango la utilizan para dar sabor el atole, demostrando de esa manera su propiedad aromática, común en las plantas de ésta familia (60). Las propiedades medicinales que le atribuye la etnia Mam son contra la fiebre, gripe y diarrea (1).

f) Propiedades y Composición: No se ha reportado ningún estudio realizado de propiedades y composición química según la base de datos NAPRALERT hasta febrero del 2001 (59).

4. *Salvia lavanduloides* HBK.

a) Nombre común: Altamiza, Alucena, Azulillo, Cenicilla, Poleo, Salvia morada, Recampóna, Torongiz, Cuethton (61), Lengua de venado (1), Alucema (Honduras), Salvia de monte (Guatemala) (72).

b) Familia: *Lamiaceae*

c) Descripción botánica: Es una hierba delgada, perenne, de 50 cm de altura (*Fide* 61). Los tallos pueden ser solitarios o en grupos, erguidos de un metro de alto aproximadamente, ramas simples o muy separadas, frondosas, puberulentas o hirtulas con la mayoría de pelos reflexos; hojas con pecíolo corto, estrechamente elíptico-

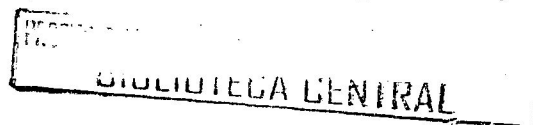
oblongas o lanceoladas, frecuentemente de 3-9 cm de largo, agudas o obtusas agudas o atenuadas en la base, serruladas, venosas, verdes o verdosas en el anverso, densamente pubescentes hasta casi glabras, en el envés más densamente pubescentes y usualmente grisáceas o blancuzcas; verticilo de aproximadamente 12 flores, formando espigas muy densas de 3-12 cm de largo a 1.5 cm de diámetro; bracteas ovadas-atenuadas, caducas, flores sésiles o cercanas a eso; cáliz en flor de 4-5.5 mm de largo, rara vez alcanza 7mm de largo, blancuzco y densamente estrigoso, cercano a glabro; la corola de azul intenso a azul pálido o púrpura, el tubo de 3.5 a 4.5 mm de largo, el labio superior de 2-2.5 mm de largo y densamente tomentosa, el inferior de 3-5 mm de largo (Fide 60).

d) Hábitat: Es una planta asociada a terrenos de cultivo y riego temporal, bosque tropical caducifolio y subcaducifolio, bosque espinoso, bosque mésofilo de montaña bosques de pino encino y roble (61) y en regiones secas, algunas veces en bosques abiertos de Abetos, frecuentemente crece entre las hierbas a unos 1500 a 3800 msnm. Presente en clima cálido. Se ha localizado en Guatemala en los siguiente departamentos: Baja Verapaz, Zacapa, Jalapa, Santa Rosa, Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltenango, Sololá, Quiché, Huehuetenango, Totonicapán, Quetzaltenango, San Marcos y en otros países como en México en la parte Central y Sur del país y en Honduras. Se encuentra más frecuentemente al final de la temporada lluviosa entre los meses de noviembre a febrero (60).

e) Usos: En el siglo XVI se refiere contra la tos de la tuberculosis. En el siglo XX se vuelve a encontrar información como curativa de alopecia. En México se ha reportado el uso de la alucema en los siguientes lugares: Morelos para trastornos digestivos y para curar la vesícula, en Michoacán para curar la diarrea, en Chiapas para el dolor de estómago y de muelas y contra el vómito. También, con frecuencia se utiliza para contrarrestar la tos y la tos ferina, así como para la "frialidad del niño". Se le emplea también para controlar las hemorragias vaginales (producidas por desórdenes de la menstruación) para lavar heridas disminuir la calentura o fiebre y arreglar el cabello (61). En las comunidades de las Tablas, Sajquin, Chactela y Chichum, del municipio de Tacaná se ha reportado su uso medicinales: para disentería por el frío y para amenorrea (1).

f) Propiedades: Se le atribuyen propiedades expectorantes, hemostáticas, oxitócicas (61). No se ha reportado estudios de actividad biológica según la base de datos NAPRALERT (59).

g) Composición: Se ha reportado que en la planta completa se encuentran presentes los flavonoides eupatorin 5-hidroxitetrametoxi y 5-hidroxitrimetoxiflavona glucoférido y



santin, y de las ramas, los triterpenos ácidos oleanólico, ursólico y los diterpenos salvandulina A, B, C, D, con un porcentaje de 0.51592 por ciento, 0.07805 por ciento, 0.14674 por ciento y 0.01504 por ciento respectivamente; en la raíz, los diterpenos 5hidroxi-3'-4'-6-7-tetrametoxiflavona horminona en un 0.00821 por ciento y 7-alfa-acetoxi- royleanona en 0.11951 por ciento, el triterpeno ácido ursólico en un 0.00272 por ciento y el esteroide beta sitosterol en 0.02800 por ciento (61, 73-77).

5. *Salvia microphylla* HBK

a) Nombre común: *Salvia silvestre*, Mirto, Mirto dulce, *Grahamii* (60), Diente de Acamaya, Hierba de Mirto, Mastranzo, Mirto chico, Mirto cultivado, Mirto de Castilla, Toronjil, Verbena, Mistro, Mistru, Simbaregne, Mustia (61), Mishco (1).

b) Familia: *Lamiaceae*

c) Descripción botánica y hábitat: Pequeño arbusto o hierba perenne, de 1 a 1.5 m de altura, ramoso, con los tallos densamente puberulentos, frecuentemente viscidos y cuadrados; sus hojas delgadas pero más anchas abajo que en la punta, el borde ondulado y con pocos dientes, pecioladas, deltoides-ovaladas a elípticas u oblongas, de 1 a 2.5 cm de largo, usualmente obtusas, generalmente agudas u obtusas en la base, serradas- crenuladas o subenteras, puberulentas o glabras; tiene racimos con dos a seis flores en la parte terminal de la planta, de 15 cm de largo o menos, usualmente muy cortos, viscidos-pubescentes, las bracteas ovado-acuminadas, de 3-6 mm de largo, caducos; las flores se encuentran dispuestas de manera opuesta, pediceladas; el cáliz en anthesis de 10-15 mm de largo, densamente pubescentes y granuladas, verdes; corola de roja a rosada, el tubo de 16-18 mm de largo, el labio superior de 6 a 12 mm de largo, el inferior más largo, disperso; frutos de color café, planta muy aromática (Fide 60, 61).

d) Hábitat: Es una planta nativa de México, cultivada ocasionalmente en los jardines de Guatemala (como en Jalapa, Alta Verapaz y Guatemala), posiblemente nativas en el país desde que han sido colectadas desde el sur de Oaxaca. El clima propicio para su crecimiento es el semiseco y el templado, crece desde los 420 a los 3,900 msnm. Asociada a bosque tropical perennifolio, matorral xerófilo, pastizal, bosques de encino, de pino, mixto de pino-encino y bosques de juníperos (60, 61).

e) Usos: El uso principal de ésta planta es de somnífero, en el centro de México, ya que se utiliza para dormir niños. Además se utiliza para limpias en enfermedades culturales como "susto", "mal de ojo" y "aire" (padecimiento caracterizado por punzadas, vómitos, mareos, adquiridos al pasar donde se encuentra un animal muerto o presenciar

cópula de perros). En Puebla se hace referencia a problemas de cólicos premenstruales, hemorragia vaginal, para limpiar a las mujeres de parto reciente y enfriamientos después del parto. También es útil en el tratamiento de la esterilidad. Se dice que es útil en problemas dérmicos como granos, salpullido, sarampión y escarlatina con calentura. Sirve en trastornos digestivos como disentería, "empacho", infecciones estomacales, inflamación del estómago y vómitos. Es útil también para la bilis, para infecciones en los ojos y dolor de oído (61). En las comunidades de Chichum y Altamira de la población Mam del Tacaná, se reporta el uso de ésta planta para catarró por resfrío y tos (1). En el municipio de Malacatancito, del departamento de Huehuetenango se le utiliza para la indigestión las hojas y los cogollos tiernos (11).

f) Propiedades: Se le atribuyen propiedades como emenagogo, antiséptico y antihelmíntico (63). A pesar de tener bastantes usos etnomédicos reportados, no se tiene ningún estudio de actividad biológica que lo respalde según la base de datos NAPRALERT (59).

Composición: Las partes aéreas contienen un aceite esencial del que se aisló el tereftalato de dimetilo. Contiene además los diterpenos: neo-7-alfahidroxisandaracopirámico, 7-oxo ácido sandracopirámico, 3-13 diene-18-19-15-16-diclerodano. En la variedad neurepia de origen mexicano se han identificado el triterpeno: ácido ursólico y el esteroide: beta sitosterol. Se ha detectado presencia de alcaloides, aceites esenciales, taninos, azúcares y triterpenos, en esta especie (61, 78, 79).

6. *Selaginella silvestris* Aspl.

a) Nombre común: Rodillo (1).

b) Familia: *Selaginellaceae*

c) Descripción botánica: Tallos 1-2 mm de ancho, decumbentes, glabros; rizóforos a lo largo de los 2/3 basales del tallo; hojas axilares lanceoladas a elípticas, la base no auriculada, los márgenes enteros a serrulados en el ápice, el ápice anchamente agudo; hojas laterales (2.5)3-4(-4.4)x (1.1-)1.4-1.6(-1.9)mm, oblongas, la base no auriculada, el lado basiscópico redondeado basalmente, los márgenes enteros a serrulados en el margen acroscópico y el ápice del margen basiscópico, el ápice anchamente agudo a obtuso; hojas medias asimétricas, 2- auriculadas en la base, con una ancha aurícula exterior obtusa y una aurícula interior, reducida, redondeada, los márgenes serrulados, el ápice acuminado o aristado; células isodiamétricas o casi isodiamétricas en el haz de las hojas; megasporas generalmente 700-900 µm; microsporas 30-34 µm, equinadas.

S. silvestris se caracteriza por los tallos rastreros, las hojas laterales y axilares no auriculadas y por las hojas medias acuminadas a aristadas. Las hojas, siendo enteras a serruladas, carecen de los cilios presentes en especies superficialmente similares, tales como *Selaginella difusa* y *S. horizontalis*. Además esta planta posee células isodiamétricas en el haz de las hojas, mientras que todas las demás especies articuladas en Mesoamérica tienen células alargadas. El patrón de células isodiamétricas es común entre las especies no articuladas (Fide 80).

d) Hábitat: Crece en climas fríos y muchas otras habitan en zonas templadas, en áreas protegidas ocasionalmente expuestas entre los intersticios rocosos, éstas plantas están descritas como cosmopolitas, lo cual implica que estarán representadas donde exista condiciones apropiadas para su subsistencia; Selvas altas perennifolias, bosques de neblinas, riberas, bordes de caminos abiertos, crecen de 0 a 2,800 msnm, se localiza en México; Mesoamérica; Colombia; Venezuela; Ecuador; Perú y Bolivia (80).

e) Usos: para diarrea, vómitos, dolor de cabeza, dolor abdominal y fiebre (1).

f) Propiedades y Composición: Según la base de datos NAPRALERT no se ha reportado ni propiedades medicinales, ni actividad biológica, ni se ha investigado su composición química (59).

G. Técnicas de tamizaje de la actividad biocida

La morbilidad y mortalidad de la población guatemalteca, cuando se examinan todas las edades, tienen fuerte presencia las enfermedades infectocontagiosas. Por ésta razón, debe darse a este problema una solución rápida y accesible, lo cual hace importante la validación de las plantas utilizadas en Guatemala contra este tipo de enfermedades (81).

Lo anterior, se obtiene si se realiza un tamizaje de las plantas, entendiéndose por tamizaje a una serie de ensayos biológicos (bioensayos) generalmente *in vitro* que dan una idea preliminar de la posible bioactividad de un extracto crudo, fracción purificada o principio activo puro. Las técnicas de tamizaje pretenden orientar al farmacólogo, al químico y al farmacognosista con técnicas relativamente sencillas, que no involucren animales, que tengan bajo costo y que puedan realizarse un número grande de muestras en forma rápida, sencilla y reproducible (10).

Estas técnicas se utilizan para evaluar la actividad inhibitoria de una planta o sus derivados, la potencia de un compuesto, la susceptibilidad de un microorganismo a concentraciones conocidas de una droga vegetal, el espectro de microorganismos inhibidos y la concentración de la droga en el organismo humano. Para evaluar la actividad

es preciso conocer el modelo microbiano perfectamente y tenerlo controlado en las condiciones de laboratorio, ya sea por procedimientos *in vitro* o *in vivo* (10).

La medición de la actividad se hace principalmente por dos métodos el de difusión y el de dilución. El método de difusión se usa como un procedimiento cualitativo o en algunos casos semicuantitativo, por que generalmente, los microorganismos son categorizados como resistentes, intermedios o susceptibles para cada agente antimicrobiano, estos son aplicados en forma de discos de papel filtro y se conoce como el método de Bauer y Kirby (46). El método de dilución se usa para determinar la CIM que se requiere del agente antimicrobiano para inhibir o matar al microorganismo, la técnica más conocida de esta índole es el método de Mitscher *et al.*(2), recomendado para el tamizaje de recursos naturales, además presenta las ventajas de alta reproducibilidad, sensibilidad y relativamente fácil estandarización y procesamiento de una gran cantidad de muestras. La CIM es la concentración más baja en la que no hay crecimiento visible; este tipo de prueba puede realizarse en caldo (tubo) y en agar (placa) (10).

1. Ensayo antibacteriano

El principio de este ensayo es que el crecimiento exponencial de bacterias en el medio de cultivo adecuado es inhibido por las moléculas bioactivas que difunden o se encuentran diluidas en el medio de cultivo (66).

Entre las bacterias a evaluar se encuentran algunas patógenas al hombre como: *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Salmonella typhi*; *E. coli*, como patógeno oportunista en sitios anatómicos diferentes al tracto gastrointestinal, y otras como indicadoras de su género ya que las bacterias patógenas a las que representan son de manejo difícil y cuidado especial tales como: *B. subtilis* representando a *Bacillus anthracis* y *M. smegmatis* representando a *Mycobacterium tuberculosis* (10).

2. Ensayo antimicótico

Los procedimientos antimicóticos son similares a los antibacterianos. Las pruebas se complican por ciertas características de los hongos, que incluyen dimorfismo y requerimientos de crecimiento por tiempo prolongados. Existen tres métodos para pruebas de susceptibilidad con antifúngicos, dilución en caldo, dilución en agar y difusión en agar, todos se basa en los mismos principios de los utilizados para agentes antibacterianos (10).

Para detectar la actividad antilevadura se usa una modificación del método de dilución para antibióticos, que determina la susceptibilidad de los cultivos frente a la preparación vegetal. La actividad antidermatofítica se determina por dos métodos: Dilución en tubo y dilución en placa. La primera se basa en el crecimiento en superficie o en profundidad de tubos con caldo nutritivo inoculado con el dermatofito, cuyo crecimiento puede ser inhibido por las moléculas bioactivas diluidas en el caldo. Este procedimiento se basa en el descrito por García y Salas (20) y que se ha estandarizado para validar actividad antifúngica vegetal. Si bien la prueba es sencilla de realizar, su reproducibilidad es limitada, ya que su evaluación final es subjetiva. La técnica de Brancato y Golding (3) según la modificación de Mac Rae *et al.* (4) en donde se evalúa el crecimiento del hongo filamentoso inoculado en pozos de medio de cultivo adecuado. El hongo es inhibido por las moléculas bioactivas diluidas en el medio de agar. Esta última técnica se utiliza para hongos filamentosos (10).

Entre los hongos a evaluar se encuentran dos hongos levaduriformes: *C. albicans*, y *C. neoformans*, un saprófito: *Aspergillus flavus* y el dermatofito denominado *T. rubrum* (66).

3. Ensayo antiprotozoario

Las pruebas antiprotozoario se realizan en medio líquido, ya sea en tubo o microplaca; consisten en enfrentar cultivos estándar en su fase de crecimiento exponencial ($\pm 10^6$ protozoos/ml) y diluciones de los extractos, incubar en las condiciones óptimas y cuantificar el crecimiento por métodos microscópicos o por medios radioactivos como la incorporación de timidina tritiada, de acuerdo con las diferencias bioquímicas de cada parásito. La técnica se basa en la de González *et al.* (5) y Hocquemiller *et al.* (6) en donde se colocan los epimastigotes en un medio de cultivo adecuado agregándole la planta diluida para que las moléculas bioactivas inhiban el crecimiento (10).

Entre los protozoos a evaluar se encuentran: los promastigotes de *L. braziliensis* y *L. mexicana* y los epimastigotes de *T. cruzi* (10).

4. Ensayo insecticida

El método a utilizar fue adaptado del usado por Agrochemical División of CIBA-GEIGY A.G. y el Laboratorio de Hostettmann en Suiza, para probar extractos crudos, fracciones y compuestos puros que se puede realizar en tubo o bien en microplaca (7).

El método consiste en colocar los huevos del insecto (*A. aegypti* y *A. albimanus*) en un disco de papel filtro e incubar por 24 horas con agua del grifo exenta de cloro. Las larvas empiezan a ser visibles después de unas pocas horas y después de 24 horas pueden ser utilizadas para las pruebas (7).

Los extractos son probados en un tamizaje preliminar de 500 ppm y solamente aquellos con 100 por ciento de mortalidad son ensayados en otras diluciones geométricas. Aproximadamente 20 larvas se colocan en cada tubo que contienen la solución de prueba. El volumen es ajustado con agua del grifo. Los tubos son incubados en un lugar oscuro (7).

La concentración letal 100 por ciento (concentración mínima en que todas las larvas están muertas a CL_{100}) se determina después de 30 minutos y después de 24 horas. La evaluación es hecha exponiendo los tubos contra una fuente de luz, las larvas activas o vivas pueden ser vistas moviéndose, mientras que las muertas caen al fondo o están suspendidas en la interfase agua-aire (7).

5. Ensayo antiartemia

La evaluación de la actividad tóxica de los extractos vegetales o compuestos purificados es indispensable para considerar que un tratamiento es seguro. Ya que se debe definir la toxicidad intrínseca de la planta (66).

La *A. salina* (camarón salino) es un crustáceo cuyas larvas (nauplios) son sensibles a gran variedad de sustancias, por lo que puede medirse fácilmente la toxicidad de extractos vegetales, como un tamizaje, y de ésta manera servir para dirigir el fraccionamiento bioguiado en forma rápida y simple, es una prueba útil aunque no es selectiva para ninguna molécula química y su correlación con otras actividades no ha sido bien estudiada. El procedimiento fue originalmente descrito por Michael *et al.* (8) y ha sido adaptado por Meyer *et al.* (9) como un útil bioensayo en la investigación química y biológica de productos naturales (10).

IV. JUSTIFICACIÓN

La riqueza del recurso vegetal del municipio de Tacaná se debe en gran parte a su topografía y clima, este recurso es ampliamente conocido por sus habitantes como lo demuestran los estudios etnobotánicos previos, realizados por otros investigadores. Sin embargo, no es aprovechado por el resto de la población por la inaccesibilidad del lugar razón por la cual sus plantas nativas no están documentadas en cuanto a su actividad biocida.

En Guatemala se vive una crisis económica severa, la cual conlleva problemas de diversa índole ocupando un lugar importante los de salud, especialmente en el interior de la república, donde las enfermedades infecciosas constituyen la primera causa de morbilidad y la disponibilidad de los productos farmacéuticos es limitada. Por lo anteriormente planteado, se hace necesario que la comunidad médica conciba el uso de productos fitofarmacéuticos de bajo costo, cuya actividad, esté científicamente comprobada contra los principales agentes infecciosos, al menos en estudios *in vitro*, para que de esta manera promuevan la medicina tradicional.

En este trabajo de tesis, se pretendió demostrar la actividad biocida de seis plantas nativas usadas en la región de estudio, en el tratamiento de enfermedades infecciosas, utilizando para ello, extractos etanólicos de cada una, como una forma de respaldar el conocimiento etnobotánico. En el estudio se investigó la actividad antibacteriana, antifúngica, antiprotozoaria, insecticida y toxigénica como un tamizaje para su uso como opciones terapéuticas.

El conocimiento de las propiedades validadas correspondientes a las plantas nativas contribuirá a tomar conciencia sobre su conservación y propiciará técnicas de cultivo para garantizar su disponibilidad.

V. OBJETIVOS

A. General

Validar científicamente la acción terapéutica de las plantas que son utilizadas etnomédicamente en el municipio de Tacaná, por la comunidad Mam, que no han sido estudiadas previamente, para promover su conservación, cultivo y uso.

B. Específicos

1. Evaluar el porcentaje de rendimiento del extracto etanólico para evaluar la actividad biocida de las plantas: *B. arborea*, *H. uliginosum*, *P. thapsoides*, *S. lavanduloides*, *S. microphylla* y *S. silvestris*.
2. Estandarizar una batería de técnicas de tamizaje *in vitro* para determinar la actividad biocida de los extractos obtenidos de las plantas indicadas.
3. Determinar la posible toxicidad de los extractos etanólicos de las plantas objeto de este estudio, mediante una técnica *in vitro*.

VI. HIPÓTESIS

Por lo menos uno de los seis extractos etanólicos investigados presentan actividad inhibitoria de alguno de los microorganismos de la batería establecida.

VII. MATERIAL Y MÉTODOS

A. Universo

De 75 plantas medicinales recolectadas, se seleccionaron 30 plantas escasamente usadas en la población general del país (1).

B. Muestra

Seis especies pertenecientes a la familias *Papaveraceae* (*B. arborea*), *Clusiaceae* (*H. uliginosum*), *Apiaceae* (*P. thapsoides*), *Lamiaceae* (*S. lavanduloides* y *S. microphylla*) y *Selaginellaceae* (*S. silvestris*) utilizadas etnobotánicamente por la comunidad Mam. De estas plantas se trabajó las partes aéreas excepto *H. uliginosum* que se evaluaron sus hojas y *P. thapsoides* de la cual se evaluó la semillas.

C. Recursos

1. Humanos:

- a) Tesista: Br. Lourdes Fabiola Lorenzana González.
- b) Asesor: Lic. Armando Cáceres Estrada.
- c) Recolector: Br. Antulio Nehemías Cardona Fuentes.

2. Institucionales:

Departamentos de Citohistología y Micología de la Escuela de Química Biológica pertenecientes a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Proyecto Aprovechamiento de la Flora Regional como Fuente de Moléculas Antifúngicas, Antiparasitarias y Anticáncer de la Organización de Estados Americanos (OEA), Departamento de Entomología del Ministerio de Salud Pública, Bibliotecas del Laboratorio Farmaya y de la Facultad de Agronomía.

3. Recursos Físicos

a) Materiales

- i. Balón aforado
- ii. Percolador
- iii. Vasos de precipitar
- iv. Pipetas automáticas de 50-200 ml
- v. Puntas desechables para pipeta
- vi. Microplacas con 96 pozos
- vii. Espátula

- viii. Papel encerado
- ix. Papel aluminio
- x. Varilla de vidrio
- xi. Tijeras
- xii. Algodón
- xiii. Papel filtro
- xiv. Cajas de petri desechables
- xv. Cajas cuadriplate
- xvi. Anillo de metal
- xvii. Soporte universal
- xviii. Asa microbiológica en argolla
- xix. Pecera
- xx. Cámara de Neubauer

b) Equipo

- i. Rotavapor
- ii. Desecador
- iii. Balanza analítica
- iv. Autoclave
- v. Incubadora
- vi. Refrigeradora
- vii. Bomba de vacío
- viii. Desecadora
- ix. Bomba de aireación
- x. Campana de Flujo Laminar
- xi. Agitador magnético/ estufa
- xii. Estereoscopio
- xiii. Microscopio

c) Reactivos

- i. Etanol absoluto
- ii. Agua destilada
- iii. Agar Mueller Hinton
- iv. Agar planta
- v. Agar Mycosel
- vi. Agar Sabouraud
- vii. Agar Takashio
- viii. Caldo Tripticasa Soya

- ix. Medio de cultivo LIT
 - x. Medio de cultivo Evans
 - xi. Agua de Mar
 - xii. Agua estancada
 - xiii. Silica gel
- d) Microorganismos
- i. Bacterias
 - *Staphylococcus aureus* ATCC 6558
 - *Bacillus subtilis* ATCC 6051
 - *Salmonella typhi* ATCC 14028
 - *Escherichia coli* ATCC 9637
 - *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
 - *Mycobacterium smegmatis* ATCC 607
 - ii. Hongos
 - Levaduriformes
 - *Candida albicans* ATCC 10231
 - *Cryptococcus neoformans* CCQQ C-13
 - Saprofitos
 - *Aspergillus flavus* CCQQ A-75
 - Dermatofitos
 - *Trichophyton rubrum* CCQQ T-4
 - iii. Protozoos
 - *Trypanosoma cruzi* (MHOM/GT/94/SMI-04)
 - *Leishmania braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903)
 - *Leishmania mexicana* (MNYC/BZ/62/M376)
 - iv. Larvas
 - Crustáceos
 - *Artemia salina*
 - Insectos
 - *Aedes aegypti*
 - *Anopheles albimanus*
- e) Plantas seleccionadas
- i. *Bocconia arborea* Wats. Partes aéreas.
 - ii. *Hypericum uliginosum* HBK. Hojas.
 - iii. *Prinosciadium thapsoides* DC. Semilla.

- iv. *Salvia lavanduloides* HBK. Partes aéreas.
- v. *Salvia microphylla* HBK. Partes aéreas.
- vi. *Selaginella selvestris* Aspl. Partes aéreas

D. Metodologías

1. Obtención de extractos

De las plantas a estudiar, se separaron los órganos de interés para el estudio, se molieron y colocaron en un percolador 150 g de materia seca vegetal, se cubrieron con etanol 95°, se dejaron reposar durante 24 horas, seguidamente se eluyeron las tinturas y se concentraron en rotavapor a $40^{\circ}\text{C} \pm 1$, con presión reducida hasta obtener una consistencia de "melcocha"; el alcohol recuperado se reutilizó para completar la extracción. Este procedimiento se repitió por aproximadamente 15 días o hasta que la tintura eluida dejó de presentar color. Se vertió el extracto "amelcochado" en caja de petri y se dejó en desecadora hasta completa sequedad. Se etiquetó y almacenó el extracto en frasco oscuro a 4°C , para luego someterlo a los diferentes ensayos (82, 83).

2. Actividad contra bacterias y hongos levaduriformes

La actividad contra bacterias y levaduras, se determinó por el método de dilución de Mitscher *et al.* (2) en agar Muller Hinton (AMH) conteniendo 1 mg/ml del extracto. Se usaron bacterias proporcionadas por el subprograma X del CYTED (*B. subtilis*, *M. smegmatis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *C. albicans*) y por la Facultad de CCQQ y Farmacia (*C. neoformans*), las que se inocularon en caldo nutritivo por 24 horas a 36°C , se diluyeron con agua destilada estéril (50 μl de la suspensión de bacterias en 4.95 ml de agua estéril y 500 μl de la suspensión de levaduras en 4.5 ml de solución estéril), se inocularon por estrias en cuadruplicado en la superficie del AMH y se incubaron a 36°C por 24 horas (82). La actividad se demostró por inhibición del crecimiento bacteriano. En los extractos positivos se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) en cajas cuadruplicate con 1, 0.5 y 0.25 mg/ml.

3. Actividad contra hongos filamentosos

La actividad contra estos hongos filamentosos se llevó a cabo por el método de Brancato y Golding (3) según la modificación por MacRae *et al.* (4) que consistió en purificar los hongos en agar Mycosel, luego se inocularon en medio para esporulación (Takashio), se incubaron a 27°C por 21 días, posteriormente se colectaron las esporas, se contaron y se estandarizó una suspensión de 100 esporas/ml, se guardó a 4°C ; posteriormente se prepararon cajas con agar Sabouraud (AS) con 1 mg/ml del extracto,

se perforaron agujeros de 6 mm de diámetro, se inoculó 30 μ l de la suspensión de esporas y se incubó a 27°C en el caso de *A. flavus* durante 24-48 horas y en el caso de *T. rubrum* durante 15-21 días. Para la CIM se utilizó el mismo procedimiento con 1, 0.5 y 0.25 mg/ml; si el diámetro del crecimiento del hongo es menor del 75 por ciento respecto al control, la actividad se consideró positiva (82, 84).

4. Actividad contra protozoos: Epimastigotes de *T. cruzi*

La actividad antitripanosoma *in vitro* según se evaluó por el método de Fournet *et al.* (85) y adaptado por González *et al.* (5) consistió en descongelar rápidamente a 37°C un vial conteniendo cepa *T. Cruzi*, se lavó con PBS estéril, se centrifugó a 3000 RPM por 10 minutos; se lavó con medio LIT, se trasladaron los parásitos a frascos de cultivo con medio LIT, se incubaron a 26°C; se revisaron los cultivos cada dos días contando los parásitos para alcanzar un recuento de 1×10^6 parásitos/ml diluyendo con medio LIT, se disolvieron 100 mg de extractos en agua destilada si el compuesto era polar o bien en dimetilsulfóxido (DMSO) si era apolar, se mezclaron 10 μ l de la solución de extracto con 990 μ l de medio de cultivo LIT (1 mg/ml); se pipetearon en triplicado 100 μ l de extracto en microplaca, se agregaron 100 μ l de la suspensión de parásitos a cada pozo (1:1); se utilizó como control positivo una solución al 50 mg/ml de Nifurtimox y como control negativo una solución al 0.5 por ciento de DMSO en medio LIT. Las microplacas se incubaron a 26°C por 48 horas; se contó en cámara de Neubauer y se interpretó comparando el número de parásitos vivos contra el recuento del control negativo. Se utilizó regresión lineal y el programa Finney para calcular la Concentración inhibitoria del 90 por ciento (CI_{90}) (5, 86, 87).

5. Actividad contra protozoos: Promastigotes de *Leishmania* sp.

La actividad contra promastigotes según Berger *et al.* (26), González *et al.* (5), Hocquemiller *et al.* (6) y Fournet *et al.* (85) consistió en preparar tubos conteniendo 2 ml de medio difásico Evans-LIT. Se preparó una suspensión de 1×10^6 promastigotes/ml de las cepas de *L. braziliensis* y de 2×10^6 para *L. mexicana* por conteo en cámara de Neubauer diluyendo con medio LIT; se inoculó el medio con los promastigotes y se incubaron a 26°C, se realizaron resiembras en tubos cada cuatro días; se disolvieron 100 mg de los extractos en agua destilada o DMSO según su afinidad polar; se mezclaron 10 μ l de la solución de extracto con 990 μ l de medio de cultivo LIT (2 mg/ml); se pipetearon por triplicado 100 μ l de extracto en microplaca, se agregaron 100 μ l de la suspensión de parásitos a cada pozo (1:1); se incubaron las microplacas a 26°C durante 48 horas; se determinó la actividad contra *Leishmania* sp., por conteo de promastigotes viables en

cámara de Neubauer y se interpretó comparando el número de parásitos vivos contra el recuento en el control negativo; se utilizó Regresión Lineal y el programa Finney para calcular la CI_{90} (86, 87).

6. Actividad antiartemia

La actividad citotóxica contra nauplios de *A. salina*, se determinó utilizando el método descrito por Michael *et al.* (8) y estandarizado para determinación micrométrica por Solís *et al.* (48) el cual consistió en disolver 30 g de sal de mar en un litro de agua destilada, se realizó una marca en el vaso de precipitado y se dejó hervir por 30 minutos, se completó el volumen de agua evaporada hasta la marca, se filtró y refrigeró, se colocaron 200 ml de agua de mar en un recipiente y se le bombeo aire por 1 hora, se colocó el agua en la pecera y se agregaron 40 mg de huevecillos; se incubaron durante 48 horas a temperatura ambiente y con luz artificial; se pesaron 0.004 g. de extracto a analizar y se disolvieron en 2 ml de agua de mar; se agregaron por triplicado en una microplaca, 100 μ l del extracto disuelto más 100 μ l de agua de mar conteniendo de 10 a 15 nauplios. Para el control Negativo se utilizó 200 μ l de agua de mar con 10 a 15 nauplios; se incubaron a temperatura ambiente durante 24 horas. Luego se procedió a contar el número de nauplios vivos y muertos en cada pozo utilizando estereoscopio, se interpretaron los resultados de la siguiente manera: si el porcentaje de camarones muertos era mayor del 50 por ciento, se repitió la prueba utilizando dosis de 1.0, 0.5 y 0.25 mg/ml. Se determinó el valor de Dosis Letal al 50 por ciento (DL_{50}) con el programa Finney (86, 87).

7. Actividad larvicida

La técnica de actividad larvicida es la descrita por Sharma *et al.* (7), el CYTED (82), Chariandy *et al.* (88) y Zarroug *et al.* (89) que consistió en dejar reposar agua de chorro durante 2 días antes de empezar el ensayo; se pesaron 0.04 g de extracto y se disolvieron en 2 ml de agua reposada; se agregaron a una microplaca por triplicado 100 μ l del extracto disuelto más 100 μ l de agua reposada conteniendo 10 a 15 larvas; se colocó un control negativo que contuviera 200 μ l de agua reposada con 10 a 15 larvas de *A. aegypti* o *A. albimanus*; se incubaron las microplacas a temperatura ambiente durante 24 horas; se colocaron en el estereoscopio y se contaron el número de larvas vivas y muertas en cada pozo. Los resultados se interpretaron de la siguiente manera: la prueba fue positiva si todas las larvas estaban muertas. Si las larvas muertas eran el 100 por ciento, se calculó la Dosis Letal (DL_{100}), repitiendo la prueba y utilizando dosis de 0.5, 0.15 y 0.125 mg/ml. Se determinó el valor de DL_{100} con el programa Finney (86, 87).

E. Análisis de Datos

Se utilizó una distribución binomial (90), ya que se consideró que un extracto era bioactivo cuando inhibió cualquiera de los microorganismos que se utilizaron a una concentración de 1 mg/ml.

Se probó de esta manera la siguiente hipótesis estadística:

$$H_0 = P = 0.5$$

$$H_a = P > 0.5$$

En donde P = porcentaje de actividad y solamente se aceptó el 100 por ciento de actividad, es decir actividad en todas las repeticiones de 1 mg/ml.

Se realizó para cada ensayo, cuatro repeticiones, lo cual constituye un porcentaje de error menor de 10 ($\alpha=0.10$); si se obtuvo el efecto deseado en las cuatro repeticiones.

1. **Tipo de estudio:** Experimental.
2. **Muestreo:** El muestreo se realizó con la colaboración del Ing. Agrónomo *inferi* Antulio Cardona de las seis plantas poco estudiadas según las características ya establecidas para las muestras.
3. **Variables de interés:**
 - a) Variable independiente: Plantas de uso medicinal en el municipio de Tacaná.
 - b) Variable dependiente: La actividad biocida de los extractos etanólicos de las plantas seleccionadas.
4. **Interpretación de resultados de ensayo antibacteriano y antimicótico (hongos levaduriformes):**
 - a) Demostración del tamizaje:
 - Crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo: Actividad Negativa.
 - Sin crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo: Actividad Positiva.
 - Presencia de microorganismos fuera de la inoculación: Contaminación.
 - b) Determinación de la CIM: Se prepararon diluciones de extracto en agar de 1, 0.5, 0.25 y se reportaron los resultados según el paso anterior.
5. **Ensayo antimicótico para hongos filamentosos:**
 - a) Hongos filamentosos: Se midió el diámetro de la colonia del hongo en mm, se calculó el porcentaje de inhibición, comparando el diámetro contra el de las colonias en las cajas control según la fórmula: Porcentaje de inhibición = $\text{Diámetro medido} / \text{Diámetro control} * 100$.
 - b) Para evaluar la CIM, se ensayaron cantidades decrecientes del extracto vegetal: 1:10, 1:50; 1:100. su interpretación es la misma que en el inciso anterior

6. **Actividad antiprotozoaria utilizando epismastigotes de *T. cruzi* y promastigotes de *L. mexicana* y *L. braziliensis*:** Se comparó el número de parásitos vivos en los pozos con extracto contra el control negativo. Para realizar el cálculo se utilizó el programa Finney's Probit con regresión lineal, se utilizó previamente la siguiente operación: Porcentaje de inhibición = $(C-E/C) \times 100$. En donde C = Número de parásitos vivos en el control negativo y E = Número de parásitos vivos en el extracto
7. **Determinación de citotoxicidad de *A. salina*: Interpretación:** Para calcular el porcentaje de camarones muertos, se sumó el número de camarones muertos en los tres pozos (X), se sumó el número total de camarones en los tres pozos (Y), se dividió X dentro de Y y luego se multiplicó por 100. Si el porcentaje de camarones muertos era mayor del 50 por ciento, se repitió la prueba utilizando dosis de 1.0, 0.5 y 0.25 mg/ml. Se obtuvieron los valores de X y Y en cada dosis y se determinó el valor de DL_{50} con el programa Finney Probit en ambiente DOS. Si el porcentaje era menor del 50 por ciento la citotoxicidad se consideró mayor de 1 mg/ml.
8. **Tamizaje de la actividad larvicida: Interpretación:** La prueba de tamizaje se consideró positiva si todas las larvas estaban muertas. Si el porcentaje de larvas muertas era del 100 por ciento, Se calculó la DL_{100} , para ello se repitió la prueba utilizando dosis de 0.5, 0.15 y 0.125 mg/ml utilizando nuevamente el programa Finney's Probit.

VIII. RESULTADOS

A. Obtención de extractos.

Se prepararon los extractos etanólicos de seis plantas de uso medicinal, recolectadas en el municipio de Tacaná, San Marcos, obteniéndose el porcentaje de rendimiento de extracto etanólico de cada una en base a la relación del peso inicial de materia vegetal seca y el peso final del extracto tal como se aprecia en la Tabla No. 1.

Tabla No. 1
Rendimiento del proceso de extracción de las plantas

PLANTA	PESO INICIAL (g)	EXTRACTO ETANOLICO (g)	PORCENTAJE DE RENDIMIENTO (%)
<i>Bocconia arborea</i>	128	16.93	13.23
<i>Hypericum uliginosum</i>	354	69.23	19.56
<i>Prinosciadium thapsoides</i>	475	67.83	14.28
<i>Salvia lavanduloides</i>	240	42.58	17.7
<i>Salvia microphylla</i>	154	27.25	17.7
<i>Selaginella silvestris</i>	93	11.8	12.7

De los seis extractos etanólicos se observó que los rendimientos oscilan aproximadamente entre un 12 a un 20 por ciento, constituyéndose *H. uliginosum* en la planta que proporciona un mayor rendimiento (19.56 %), luego *S. lavanduloides* y *S. microphylla* con un (17.7 %), *P. thapsoides* (14.28 %), *B. arborea* (13.23 %) y *S. silvestris* que tuvo el menor rendimiento (12.7 %).

B. Actividad contra bacterias y hongos

En el tamizaje preliminar se observó que solamente el extracto etanólico de *Selaginella silvestris* no presentó actividad contra los microorganismos ensayados. Mientras que los otros extractos, *B. arborea*, *H. uliginosum*, *P. thapsoides*, *S. lavanduloides* y *S. microphylla*, presentaron alguna actividad con más de uno de los microorganismos enfrentados.

Es importante hacer notar que los extractos coinciden en no tener actividad contra los microorganismos Gram negativo tales como: *S. typhi*, *P. aeruginosa* y *E. coli* así como también contra los hongos: *C. albicans* y *A. flavus*. Por otro lado los cinco extractos que presentan actividad inhiben el crecimiento de *M. smegmatis*.

De los cinco extractos con actividad solamente *P. thapsoides* no presenta actividad biocida contra *S. aureus*. *H. uliginosum*, *S. lavanduloides* y *S. microphylla* presentaron actividad contra *B. subtilis* y *C. neoformans*. Contra *T. rubrum* presentaron actividad *H. uliginosum*, *P. thapsoides* y *S. microphylla*.

Estos resultados se observan en la Tabla No. 2.

Tabla No. 2
Tamizaje de la actividad antibacteriana y antifúngica (1 mg/ml)

Extracto etanólico	Bacterias Gram positivo		Bacterias Gram negativo			Mycobacterias	Hongos levaduriformes		Hongos filamentosos	
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. thypi</i>	<i>M. smegmatis</i>	<i>C. neoformans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>T. rubrum</i>	<i>A. flavus</i>
<i>Bocconia arborea</i>	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Hypericum uliginosum</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-
<i>Prionosciadium thapsoides</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
<i>Salvia lavanduloides</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
<i>Salvia microphylla</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-
<i>Selaginella silvestris</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A los extractos etanólicos que en el tamizaje demostraron tener actividad contra los microorganismos ensayados, se les determinó la CIM obteniéndose como resultado que *H. uliginosum* demuestra actividad biocida contra cinco microorganismos: *S. aureus*, *M. smegmatis*, *B. subtilis*, *C. neoformans* y *T. rubrum*, todos a una concentración de 0.25 mg/ml excepto para *T. rubrum* que tiene actividad solamente a 1 mg/ml; *S. microphylla* posee actividad para *C. neoformans* a una concentración de 0.25 mg/ml, para *S. aureus*, *M. smegmatis* y *B. subtilis* actuó a una concentración de 0.5 mg/ml y para *T. rubrum* a una concentración de 1 mg/ml; *B. arborea* tiene actividad contra *S. aureus* y *M. smegmatis* a una concentración de 0.5 mg/ml; *P. thapsoides* presenta actividad solamente para *M. smegmatis* y *T. rubrum* a una concentración de 0.5 y 1 mg/ml respectivamente; *S. lavanduloides* posee efecto biocida a una concentración de 1 mg/ml para los siguientes

microorganismos: *S. aureus*, *M. smegmatis*, *B. subtilis* y *C. neoformans*; Estos resultados se observan en la Tabla No. 3.

Tabla No. 3
Concentración inhibitoria mínima (mg/ml) de la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos etanólicos

Extracto etanólico	Bacterias Gram positivo		Bacterias Gram negativo			Mycobacterias	Hongos levaduriformes		Hongos filamentosos	
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. thypi</i>	<i>M. smegmatis</i>	<i>C. neoformans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>T. rubrum</i>	<i>A. flavus</i>
<i>Bocconia arborea</i>	0.5	>1	>1	>1	>1	0.5	>1	>1	>1	>1
<i>Hypericum uliginosum</i>	0.25	0.25	>1	>1	>1	0.25	0.25	>1	1	>1
<i>Prionosciadium thapsoides</i>	>1	>1	>1	>1	>1	0.5	>1	>1	1	>1
<i>Salvia lavanduloides</i>	1	1	>1	>1	>1	1	1	>1	>1	>1
<i>Salvia microphylla</i>	0.5	0.5	>1	>1	>1	0.5	0.25	>1	1	>1
<i>Selaginella silvestris</i>	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1

C. Actividad contra protozoos

En la actividad contra protozoos se encontró respuesta positiva de las plantas *Bocconia arborea* y *Prionosciadium thapsoides*. La primera de las mismas inhibe el crecimiento del 90 por ciento de los tres protozoos en estudio a unas concentraciones de: 0.38 mg/ml para *T. cruzi*, 0.46 mg/ml para *L. braziliensis* y 0.82 mg/ml para *L. mexicana*. *Prionosciadium thapsoides* inhibe el crecimiento del género *Leshmania* a una concentración de 0.66 mg/ml para *L. braziliensis* y 0.79 mg/ml para *L. mexicana*.

Las demás plantas no presentaron actividad biocida contra protozoos como se aprecia en la Tabla No. 4.

Tabla No. 4
 Actividad antiprotozoaria de los extractos etanólicos
 Concentración inhibitoria del 90 por ciento de protozoos (mg/ml)

Extracto etanólico	T.	L.	L.
	<i>cruzi</i>	<i>mexicana</i>	<i>braziliensis</i>
<i>Bocconia arborea</i>	0.38	0.82	0.46
<i>Hypericum uliginosum</i>	>1	>1	>1
<i>Prionosciadium thapsoides</i>	>1	0.79	0.66
<i>Salvia lavanduloides</i>	>1	>1	>1
<i>Salvia microphylla</i>	>1	>1	>1
<i>Selaginella silvestris</i>	>1	>1	>1

Estos resultados se obtuvieron por el ensayo probabilístico Finney's Probit Analysis con Regresión Lineal

D. Actividad antiartemia y larvicida

La actividad contra *A. salina* y las larvas de *A. aegypti* y *A. albimanus* fue negativa para todas las plantas a una concentración de 1 mg/ml.

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la Tabla 1 se observa que las seis plantas estudiadas proporcionaron un porcentaje de rendimiento intermedio para el extracto etanólico, ya que parte de un 12.7 por ciento para *S. silvestris* hasta un 19.56 por ciento para *H. uliginosum*. Estos rendimientos demuestran que los compuestos afines al etanol se encuentran concentrados en un porcentaje intermedio para cada planta lo cual influye en la dosis que requiere para su empleo medicinal.

En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos del tamizaje realizado con las plantas contra bacterias y hongos, encontrándose que de las seis plantas solamente *S. silvestris* no posee ninguna actividad biocida, a pesar de que en San Marcos se utiliza para diarrea, vómitos y fiebre. Sin embargo, ésta no se utiliza sola sino en combinación con otra especie *Baccharis* sp., lo cual puede dar indicio de que la actividad la contenga la otra planta (1). Por otro lado, la inactividad biocida puede deberse a que los usos reportados de *S. silvestris* son gastrointestinales, afecciones que provocan en su mayoría bacteria Gram negativo y ninguna de las plantas evaluadas presentó actividad contra las bacterias Gram negativo ensayadas (*S. typhi*, *P. aeruginosa* y *E. coli*). La inactividad presentada contra las bacterias Gram negativo puede explicarse por la pared celular de las mismas, la cual posee mayor cantidad de fosfolípidos que las bacterias Gram positivo, esto hace que al tratarse con alcohol la pared celular se vuelva porosa evitando el contacto y retención del compuesto fitoquímico, extraído con etanol, e incluso frente a algunos antibióticos (91).

Por otro lado el estudio realizado por Navarro *et al.* en 1996 (62) reportó inactividad contra *P. aeruginosa* y *E. coli* a una concentración de 10 mg/ml en ambas bacterias, enfrentándolas al extracto metanólico de *B. arborea*; en un estudio posterior de Navarro *et al.* en 1998 (63) se demostró actividad a 0.375 mg/ml para *P. aeruginosa* y 1 mg/ml para *E. coli* enfrentándolos a la misma planta pero esta vez un extracto diclorometánico. Este estudio sugiere que puede encontrarse actividad en las plantas estudiadas utilizando otro disolvente que extraiga mejor el compuesto activo de la planta.

En la Tabla 3 se observa que cinco plantas presentaron actividad contra *M. smegmatis* a una concentración de 0.25 mg/ml para el extracto etanólico de *H. uliginosum*, 0.5 mg/ml para el extracto etanólico de *B. arborea*, *P. thapsoides* y de *S. microphylla* y a una concentración de 1 mg/ml para el extracto etanólico de *S. lavanduloides*. Este microorganismo fue utilizado como un tamizaje del género *Mycobacterium* y aunque se encontró bastante efectiva la potencia de los extractos contra este género, no se debe olvidar que el microorganismo patógeno al que se pretende proyectar la información es a *M. tuberculosis* que posee factores de virulencia y

patogenicidad que lo hacen de difícil manejo en el laboratorio y de características diferentes que *M. smegmatis*. De todas las plantas solamente *S. lavanduloides* se reportó por su uso etnomédico contra la tos de tuberculosis (61) la información data de hace muchos años y ahora se vuelve importante ya que esta enfermedad emergió por los casos de pacientes inmunocomprometidos pero se estudió todas las plantas como parte del tamizaje de las mismas.

Los extractos etanólicos de *H. uliginosum* (0.25 mg/ml), *B. arborea* (0.5 mg/ml), *S. microphylla* (0.5 mg/ml) y *S. lavanduloides* (1 mg/ml) son plantas de uso etnomédico para desinfección de heridas, granos, dermatitis e infecciones de garganta que pueden ser relacionadas con este agente (1,61). En un estudio realizado por Taylor y Broker se reportó la actividad biocida del extracto etanólico de *H. uliginosum* contra este microorganismo pero sin precisar su CIM (68).

H. uliginosum, *S. microphylla* y *S. lavanduloides* presentaron actividad contra *B. subtilis* a concentraciones de 0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml y 1 mg/ml respectivamente. Este microorganismo es utilizado como un indicador de esterilidad motivo por el cual se puede decir que estas plantas poseen un efecto inhibitor del crecimiento bacteriano; también debe recordarse que esta bacteria se utilizó como un indicador del género *Bacillus* y que sugiere actividad de estas plantas sobre *B. anthracis*.

En cuanto a los hongos levaduriformes no se encontró ninguna actividad de las plantas trabajadas contra *C. albicans*, pero contra *C. neoformans* se demostró actividad con los extractos etanólicos de *H. uliginosum* (0.25 mg/ml), *S. microphylla* (0.25 mg/ml) y *S. lavanduloides* (1 mg/ml), ninguna de estas plantas reporta uso etnomédico correspondiente a esta levadura y este hecho constituye un avance en esta investigación.

En los hongos filamentosos ningún extracto presentó actividad contra *A. flavus*, que por ser un hongo saprofito es muy difícil de inhibir, más se encontró actividad de *H. uliginosum*, *P. thapsoides* y de *S. microphylla* para *T. rubrum* que es un dermatofito. Aunque la concentración a la que inhibió el crecimiento de este hongo fue de 1 mg/ml para todos los extractos, se demuestra otro uso no reportado para estas plantas, ya que solamente existen estudios hechos de *H. uliginosum* para *T. mentagrophytes* sin establecer su CIM.

Del ensayo realizado para los protozoos se encontró actividad de los extractos etanólicos de *B. arborea* a una concentración de 0.38 mg/ml para *T. cruzi*, 0.46 mg/ml para *L. braziliensis* y 0.82 mg/ml para *L. mexicana* y *P. thapsoides* a una concentración de 0.66 mg/ml para *L. braziliensis* y 0.79 mg/ml para *L. mexicana*. Estos hallazgos se observan en la Tabla 4 y su importancia está en

que la tripanosomiasis y leishmaniasis son enfermedades tropicales que afectan las zonas cálidas del país, hecho que se puede extrapolar a éstas zonas, razón por la cual en el área de Tacaná no se encontró reporte de ese uso etnomédico ya que no existen las condiciones climatológicas necesarias para la reproducción del vector. Es importante hacer notar que *B. arborea* tiene actividad biocida contra todos los protozoos investigados, lo que sugiere la necesidad de un estudio con otros protozoos más comunes en todo el país como por ejemplo *Trichomonas vaginalis*.

La actividad antiartemia se presentó negativa para todas las plantas estudiadas al igual que la actividad larvicida. El hecho de no presentar actividad antiartemia es un resultado satisfactorio ya que indica cierta falta de toxicidad de todas las plantas. El ensayo larvicida tampoco presentó resultados positivos, pero este aspecto se evaluó solamente como parte de la batería establecida en la metodología de investigación ya que en la literatura nunca se reportó actividad contra las larvas de los mosquitos *A. aegypti* y *A. albimanus*.



X. CONCLUSIONES

1. Las seis plantas obtuvieron un porcentaje de rendimiento menor del 20 por ciento, demostrando una concentración intermedia de los compuestos activos.
2. El extracto etanólico de *S. silvestris* es el único de las plantas estudiadas que no posee efecto biocida contra ninguno de los microorganismos ensayados.
3. Ninguno de los extractos etanólicos de las plantas pertenecientes a esta investigación demostró actividad contra bacterias Gram negativo (*S. typhi*, *P. aeruginosa* y *E. coli*).
4. El extracto etanólico de las partes aéreas de *B. arborea* presentó actividad biocida contra una bacteria Gram positivo (*S. aureus*) y contra una micobacteria (*M. smegmatis*) a una CIM de 0.5 mg/ml para los dos microorganismos.
5. El extracto etanólico de *H. uliginosum* posee actividad biocida contra las bacterias Gram positivo (*S. aureus* y *B. subtilis*) a una CIM de 0.25 mg/ml, para la micobacteria (*M. smegmatis*) y contra los hongos (*C. neoformans*), a la misma concentración y para (*T. rubrum*) a una CIM de 1 mg/ml.
6. El extracto etanólico de la semilla de *P. thapsoides* tuvo efecto biocida contra *M. smegmatis* con una CIM de 0.5 mg/ml y contra el hongo filamentoso *T. rubrum* a una CIM de 1 mg/ml.
7. El extracto etanólico de *S. lavanduloides* demostró acción antibacteriana y animicótica con una CIM de 1 mg/ml para los siguientes microorganismos: bacterias Gram positivo (*S. aureus* y *B. subtilis*) la micobacteria (*M. smegmatis*) y el hongo levaduriforme (*C. neoformans*).
8. El extracto etanólico de *S. microphylla* manifestó efecto contra el hongo levaduriforme (*C. neoformans*) a una CIM de 0.25 mg/ml, contra las bacterias Gram positivo (*S. aureus* y *B. subtilis*) a una CIM de 0.5 mg/ml, contra la micobacteria (*M. smegmatis*) a igual concentración, y contra el hongo filamentoso (*T. rubrum*) a una CIM de 1 mg/ml.

9. Ninguno de los extractos ensayados presentó actividad contra *C. albicans*, y *A. flavus*.
10. De los seis extractos etanólicos, dos presentaron actividad antiprotozoaria: *B. arborea* y las semillas de *P. thapsoides*.
11. El extracto etanólico de *B. arborea* demostró efecto biocida para los tres protozoos enfrentados, inhibiendo el 90 por ciento de los microorganismos a las siguientes concentraciones: 0.38 mg/ml para *T. cruzi*, 0.46 mg/ml para *L. braziliensis* y 0.82 mg/ml para *L. mexicana*.
12. El extracto etanólico de *P. thapsoides* mostró actividad antiprotozoaria solamente contra el género *Leshmania* a una concentración de 0.66 mg/ml para *L. braziliensis* y 0.79 mg/ml para *L. mexicana*.
13. Ninguno de los extractos etanólicos demostró citotoxicidad ya que ninguno afectó al nauplio *A. salina* por lo que se pueden consumir sin riesgo alguno.
14. Las larvas de mosquito *A. aegypti* y *A. albimanus* fueron resistentes a la acción de los seis extractos etanólicos.

XI. RECOMENDACIONES

1. Fraccionar los compuestos activos de las plantas con otros solventes, para utilizarlos en un bioensayo, que demuestre su actividad, dirigido especialmente contra bacterias Gram negativas.
2. Identificar los metabolitos responsables de la bioactividad de los extractos etanólicos de las plantas *B. arborea*, *H. uliginosum*, *P. thapsoides*, *S. lavanduloides* y *S. microphylla*
3. Realizar estudios con bacterias causantes de odontalgia en especial para *B. arborea* y *S. lavanduloides*, pues se reportó su uso etnomédico pero no se encontraron microbios asociados a esta sintomatología en la batería seleccionada para el estudio.
4. Efectuar el mismo tamizaje para las seis plantas con *M. tuberculosis* y para *B. anthracis* con *H. uliginosum*, *S. lavanduloides* y *S. microphylla*.
5. Someter los extractos etanólicos con actividad, contra las diferentes cepas de microorganismos para proporcionar alternativas de tratamiento en cepas resistentes a los antibióticos o aisladas de material clínico.
6. Investigar la actividad de *B. arborea* y de *P. thapsoides* sobre otros protozoos con alta incidencia en el país como *T. vaginalis*.
7. Realizar estudios de la actividad citotóxica de las plantas *in vivo* para garantizar su falta de toxicidad.

XII. REFERENCIAS

1. Cardona A. Proyecto de Tesis: Etnobotánica de Flora Nativa de Uso Medicinal y Alimenticio en una Población de Etnia Mam del Municipio de Tacaná, San Marcos. Guatemala: Universidad de San Carlos, Centro Universitario de Occidente, (protocolo de tesis de graduación, Facultad de Agronomía) 2001. 36p.
2. Mitscher L. *et al.* Antimicrobial agents from higher plants. 1. Introducción rationale and methodology. *Lloydia*. 1972;35:157-166.
3. Brancato F, Golding N. The diameter of the mould colony as a reliable measure of growth. *Mycol*. 1953;45:848-864.
4. Mac Rae W, Hudson J, Towers G. Studies on the pharmacological activity of *Amazonian Euphorbiaceae*. *J. Ethnopharmacol*. 1988;22:143-172.
5. González J. *et al.* *In vitro* activity of natural products against the tripomastigote form of *Trypanosoma cruzi*. *Phytother. Res*, 1990;4:1-4.
6. Hocquemiller R. *et al.* Isolement et synthese de l'espintanol, nouveau momoterpene antiparasitaire. *J. Nat. Prod*. 1991; 54:445-452.
7. Sharma N. *et al.* Larvicidal activity of *Gliricidia sepium* against mosquito larvae of *Anopheles stephansi*, *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus*. *Int. J. Pharmacog*. 1998;36 1:3-7.
8. Michael A. *et al.* *Artemisa salina* as a test organism bioassay. *Sci*. 1956;123:456.
9. Meyer BN. *et al.* Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med*. 1982;45:31-34.
10. Cáceres A. Plantas de Uso Medicinal en Guatemala. Guatemala: USAC, 1996. 402p.

11. Ralda H. Plantas de uso popular utilizadas con fines medicinales en el área Mam del departamento de Huehuetenango: Estudio realizado en los Municipios de Malacatancito, San Gaspar Ixchil, San Sebastián, Huehuetenango y Santa Bárbara del Departamento de Huehuetenango en el período comprendido de 1 de Abril al 31 de Julio de 1989. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Médicas) 1989. 131p.
12. Fernández H. Etnobotánica de los recursos fitogenéticos de uso medicinal presentes en 8 municipios del área de influencia étnica Mam, del departamento de Huehuetenango. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Agronomía) 1992. 275p.
13. Aguilar R. Estudio etnobotánico de especies nativas de valor medicinal y su uso actual en las comunidades de etnia Mam, Tajumulco, San Marcos. Guatemala: Universidad de San Carlos: Centro Universitario de Occidente, (tesis de graduación, Facultad de Agronomía) 1998. 134p.
14. Cáceres A. *et al.* Plantas de Uso Medicinal en Guatemala: Tamizaje de la Actividad Antimicrobiana. Rev. USAC. 1990;9:55-77.
15. Cáceres A. *et al.* Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases. J. Ethnopharmacol. 1987;20:223-237.
16. Girón L. *et al.* Anticandidal activity of plants used for the treatment of vaginitis in Guatemala and clinical trial of a *Solanum nigrescens* preparation. J. Ethnopharmacol. 1988;22:307-313.
17. Cáceres A. *et al.* Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders; I. Screening of 84 plants against Enterobacteria. J. Ethnopharmacol. 1990;30:55-73.
18. Cáceres A. *et al.* Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases; I. Screening of 68 plants against Gram positive bacteria. J. Ethnopharmacol. 1991;31:193-208.

19. Cáceres A. *et al.* Actividad antimicótica de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de dermatofitos. *Rev. Mex. Mic.* 1991; 7:21-38.
20. García L, Salas J. Sensibilidad micótica *in vitro*. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1980. 29p.
21. Lam de Rivera S. Acción inhibitoria de preparaciones vegetales sobre algunos dermatofitos. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1983. 55p.
22. Arriaza D. Acción diurética y antimicrobiana de algunos vegetales del género *Smilax*. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1983. 50p.
23. Girón L. Investigación de la inhibición de *C. albicans* por preparaciones de plantas usadas en la medicina popular. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1983. 48p.
24. Cáceres A. *et al.* Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections; 2. Evaluation of antifungal activity of seven American plants. *J. Ethnopharmacol.* 1993;40: 207-213
25. Cáceres A. *et al.* Actividad antimicrobiana de 21 plantas nativas usadas para tratar infecciones por protozoarios en Guatemala. *Rev. USAC.* 1996;1:49-61.
26. Berger I. *et al.* Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections; II. Activity of extracts and fractions of five Guatemalan plants against *Trypanosoma cruzi*. *J. Ethnopharmacol.* 1998;62:107-115.
27. Letona T. Determinación de la actividad larvicida de 18 plantas detectadas en la reserva biosfera Sierra de las minas. Guatemala: Universidad de San Carlos, (anteproyecto de tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2000. 5p.
28. Arana S. Determinación de la actividad larvicida de 18 plantas detectadas por Etnobotánica y Bioprospección en Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2002. 52p.

29. Comité para el Aprovechamiento de las Plantas Medicinales. I Seminario Mesoamericano de Etnofarmacología y III Nacional de Medicina Tradicional: Memorias. Guatemala: Editorial Universitaria. 1987. 157p.
30. De la Sota E. La taxonomía y la revolución de las ciencias biológicas. Washington, D. C.: Secretaria General de la OEA. Vols. 30, vol 24, 1977. 320p. (p. 1-13).
31. Universidad de San Carlos de Guatemala: Dirección General de Investigación. Etnobotánica y conservación de los recursos fitogenéticos de uso medicinal presentes en Guatemala: Proyecto Piloto. Guatemala: Editorial Universitaria. 1988. 43p.
32. Hernández X. Exploración etnobotánica y su metodología. México: Universidad Autónoma de Chapingo. Vols. 3, vol. 1, 1985. 432p. (p. 162-188).
33. Programa de recursos genéticos CATIE/GTZ. Los recursos genéticos de las plantas cultivadas en América Central. Costa Rica: CATIE. 1979. 31p
34. De la Cruz J. Clasificación de Zonas de Vida de Guatemala a Nivel de Reconocimiento. Guatemala: Talleres Gráficos de Reproducción de la URL. Doc. Tec. Vols. 3, vol. 2, 1985. XXI+384p.
35. Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD). Informe Mundial del Desarrollo Humano. Guatemala: Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo. Doc. Tec. 2002. 120p.
36. Villatoro E. La medicina tradicional en Guatemala: Aspectos históricos. Guatemala: Serviprensa. 1984. 316p.
37. Cáceres A, Sapper D. Estudio sobre la Medicina popular en Guatemala. Med. Trad. 1977; 12:67-69.
38. Vilalatoro M. La Comunicación Popular y la Salud Materno-infantil. Rev. Cent. Est. Folk. USAC. 1988; 30 2:61-73.
39. Lozoya X. *et al.* Medicina Tradicional en México. Bolet. Of. Sanit. Pana. 1984; 94 4:360-364.

40. Linares E, Flores B, Bye R. Selección de las plantas medicinales de México. México: Limusa. 1985. 125p.
41. Mellen G. El uso de las plantas medicinales en Guatemala. *Guat. Indig.* 1974; 9:15-22.
42. Cáceres A, Sapper D. Estudios realizados sobre medicina popular en Guatemala. *Med. Trad.* 1977; 1:59-68.
43. Pöll E. Plantas comestibles y tóxicas de Guatemala. *Rev. Cient.* 1984; 8:13-18.
44. Pöll E. Contribución al estudio de las *Loranthaceas*. *Rev. Cient.* 1985; 12:27-35.
45. Ronquillo B. Búsqueda y colecta de plantas medicinales y alimenticias de uso actual o potencial en la región semi-árida del noriente de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Agronomía) 1988. 254p.
46. Bauer AW, Kirby W, Sherris J, Turk M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 1966;36:493-496.
47. Ríos J, Recio M, Villar A. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: A review of literature. *J. Ethnopharmacol.* 1988;23:127-149.
48. Anderson JE. *et al.* A blind comparison of simple benchtop bioassays and human tumor cell cytotoxicities as antitumor pre-screens. *Phytochem. An.* 1991;2:107-111.
49. Solís PN. *et al.* A microwell cytotoxicity assay using *Artemia salina* (brine shrimp). *Plan. Med.* 1993;59:250-252
50. FAUSAC, CCAD y Green Peace. I Congreso Nacional Sobre Biodiversidad de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos. 1995. 123p. (p. 1-23).
51. Miller J, Tyler G. *Ecología y Medio Ambiente*. De León, I, trad. México: Editorial Iberoamericano, S. A de C. V. 1994. 360p.
52. Tipografía Nacional. *Diccionario Geográfico de Guatemala*. Guatemala: Tipografía Nacional, 1983, Vols. IV, vol. IV. 1225p. (p. 12-16)

66. Alcorn JB. Huastec Mayan Ethnobotany. USA: Austin, University of Texas Press, 1985. 671p.
67. Ramírez VR. *et al.* Vegetales empleados en medicina tradicional, Norperuana. Banco Agrario del Peru & Nacl Univ Trujillo, Peru, 1988;Junio:54.
68. Taylor HL, Broker RM. The isolation of Uliginosin A and Uliginosin B from *Hypericum uliginosum* Lloydia. 1969;32 2:217-219.
69. Parker WL, Jonson F. The structure determination of antibiotic compounds from *Hypericum uliginosum* I. J. Amer. Chem. Soc. 1968; 90:4716.
70. Meikle T, Stevens R. Synthesis of the antibiotics Uliginosin A and Dihydrouliginosin B. Chem. Commun. 1972;1972:123-124.
71. Mathis C, Ourisson G. Chemotaxonomy of the genus *Hypericum* I; Occurrence of Hypericin. Phytochem. 1963;2:157-171.
72. House PR. *et al.* Plantas Medicinales Comunes de Honduras. Honduras: UNAH/CIMNH/CID/CHR/GTZ. 1995. 407p.
73. Rodríguez J. *et al.* Flavanoids of Mexican plants; Isolation and structure of santin and glucoferide. Rev. Latinoamer. Quim. 1974; 5 1:41-53.
74. Maldonado E. *et al.* Abietane and neo-clerodanediterpenoids from *Salvia lavanduloides*. Phytochem. 1994;37 5:1480-1487.
75. Ortega A. *et al.* Salviandulines A and B two secoclerodane diterpenoids from *Salvia lavanduloides*. Phytochem. 1991;30 10:3357-3360.
76. Maldonado E. *et al.* Salvianduline C, A 5,6-Secoclerodane diterpenoids from *Salvia lavanduloides*. Phytochem. 1992;31 1: 217-220.
77. Romo de Vivar A, González JM, Pérez C. Pentacyclic triterpenes from *Salvia lavanduloides*. Rev. Latinoamer. Quim. 1985;16 1:51-52.

78. Esquivel B. *et al.* The Primarane-Type diterpenoids of *Salvia microphylla* var. *neurepia*. *Planta Med.* 1989;55 1:62-63.
79. Esquivel B, Cárdenas J, Rodríguez-Hahn L. The diterpenoid constituents of *Salvia fulgens* and *Salvia microphylla*. *J. Nat. Prod.* 1987;50 4:738-740.
80. Davidse SC. *et al.* *Flora Mesoamericana*. México: UNAM 1995. Vols. IV, vol. I. 4200p. (p.28).
81. Organización Panamericana de la Salud (OPS). *Las Condiciones de Salud en las Américas*. Costa Rica: Organización Panamericana de la Salud. Doc. Tec. 1990. S/n.
82. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED). *Manual de Técnicas de Investigación*. Bogotá: Proyecto X-1, Doc. Tec. 1993. S/n.
83. Williamson C. *et al.* *Selection, Preparation and Pharmacological Evaluation of Plant Material*. USA. 1998. 16p.
84. Cáceres A. *et al.* *Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections; II. Evaluation of antifungal activity of seven American plants*. *J. Ethnopharmacol.* 1993;40:203-217p.
85. Fournet A. *et al.* *Leishmanicidal and trypanocidal activities of Bolivian medicinal plants*. *J. Ethnopharmacol.* 1994;41:1937.
86. Cáceres A. *et al.* *Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections; I. Screening of activity to bacteria; fungi and American trypanosomes of 13 native plants*. *J. Ethnopharmacol.* 1998;62:195-202p.
87. Finney D. *Probit Analysis*. 3ed. USA, : Cambridge University Press 1971. 333p.
88. Chariandy CM. *et al.* *Screening of medicinal plants from Trinidad and Tobago for antimicrobial and insecticidal properties*. *J. Ethnopharmacol.* 1999;64:265-270.
89. Zarroug IM. *et al.* *Evaluation for sudanese plant extract as mosquito larvicides*. *Int. J. Crud Drug Res.* 1988;26:77-80.

90. Spiegel MR. Estadística. 2 ed. Mexico: Editorial McGraw-Hill, 1991. 356p. (p.159-163).
91. Pelczar M. *et al.* Microbiología. 4 ed. México: Editorial McGraw-Hill, 1982. XIV+826p.
(p.60)