

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

**“EVALUACIÓN ANTIMICÓTICA IN VITRO DE LAS MIELES DE *Melipona
beecheii* DE LA REGIÓN BIOGEOGRÁFICA CHIMALTECA DE GUATEMALA”**



Evelin Yanira Valencia Velásquez

Shirly Janet Sanabria Guillermo

QUÍMICAS BIÓLOGAS

Guatemala, Febrero de 2017

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

**“EVALUACIÓN ANTIMICÓTICA IN VITRO DE LAS MIELES DE *Melipona
beecheii* DE LA REGIÓN BIOGEOGRÁFICA CHIMALTECA DE GUATEMALA”**

Seminario de Investigación

Presentado por

Evelin Yanira Valencia Velásquez

Shirly Janet Sanabria Guillermo

Para optar al título de

QUÍMICAS BIÓLOGAS

Guatemala, Febrero de 2017

JUNTA DIRECTIVA

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda

Decano

M.A. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza

Secretaria

MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo

Vocal I

Dr. Juan Francisco Pérez Sabino

Vocal II

Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera

Vocal III

Br. Andreina Delia Irene López Hernández

Vocal IV

Br. Carol Andrea Betancourt Herrera

Vocal V

DEDICATORIA

A DIOS

Por ser nuestro guía y apoyo incondicional en el recorrido de nuestra carrera.

A NUESTRAS MADRES

María Velásquez Carrillo

Gricelda Janet Guillermo Ligorria

Por estar siempre a nuestro lado, apoyarnos incondicionalmente en los momentos más difíciles y darnos lo mejor con mucho amor, esfuerzo y dedicación.

A NUESTROS HERMANOS Y HERMANAS

Ana Beatriz Valencia Velásquez

Dora Alicia Sanabria Guillermo

Luis Sanabria Guillermo

Jonathan Sanabria Guillermo

Por su compañía, cariño y motivación en todo momento.

A NUESTROS AMIGOS

Por brindarnos su apoyo, amistad y tiempo, especialmente a Proyecto MIRIAM.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por ayudarnos a culminar una etapa importante en nuestra vida.

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

Por brindarnos la oportunidad de formarnos como profesionales.

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Por toda la formación académica brindada para ejercer como profesionales.

A NUESTROS ASESORES

Lic. Carlos Maldonado

Lic. Manuel Díaz

Por todo su tiempo, atención y conocimientos durante la realización de este trabajo de graduación.

A NUESTRA REVISORA

Licda. María Eugenia Paredes

Por todo su tiempo y dedicación para revisar este trabajo de graduación.

A TODAS LAS INSTITUCIONES COLABORADORAS

Por el apoyo brindado en cada una de las etapas de nuestro trabajo de graduación.

ÍNDICE

I.	ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN	1
II.	RESUMEN	2
III.	ANTECEDENTES	4
	A. Micosis superficiales	4
	1. Dermatofitos	4
	2. Dermatofitosis, tineas o tiñas	4
	3. Epidemiología de los dermatofitos de importancia médica	5
	a. Agentes etiológicos de importancia médica en Guatemala	7
	4. Tratamiento de infecciones causadas por hongos	8
	a. Antimicóticos	9
	b. Manejo de <i>Tinea pedis</i>	11
	5. Actividad antimicótica <i>in vitro</i>	11
	B. Miel de Meliponinos	15
	1. Actividad antimicrobiana de la miel	16
	2. Taxonomía y distribución de las abejas sin aguijón	16
	3. Generalidades y la meliponicultura de abejas sin aguijón	18
	4. División de las regiones biogeográficas en Guatemala	20
IV.	JUSTIFICACIÓN	23
V.	OBJETIVOS	24
VI.	HIPÓTESIS	25
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS	26
VIII.	RESULTADOS	33
IX.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	43
X.	CONCLUSIONES	47
XI.	RECOMENDACIONES	48
XII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
XIII.	ANEXOS	58

I. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN (UBICACIÓN DENTRO DEL PROYECTO MACRO)

A. Título del proyecto macro

Determinación de las diferentes propiedades presentes en las mieles de *Melipona beecheii* de las distintas regiones biogeográficas de Guatemala.

En Guatemala, al igual que en otros países, se desconoce la composición y la bioactividad de estas mieles. Esto conlleva a la necesidad de conocer las distintas cualidades de la miel de estas abejas, objetivo con el cual se determinará la actividad antimicótica de muestras de miel provenientes de una región biogeográfica del país.

B. Título del proyecto del estudiante

Evaluación antimicótica *in vitro* de las mieles de *Melipona beecheii* de la región biogeográfica Chimalteca de Guatemala.

C. Nombre del asesor

Lic. Carlos Maldonado Aguilera

Lic. Manuel Díaz Paz

D. Ubicación dentro del proyecto macro:

Evaluar la actividad antimicótica de mieles de *Melipona beecheii* frente a *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Epidermophyton floccosum*.

E. Duración del proyecto

Un año.

F. Unidad Académica responsable:

Unidad para el conocimiento, uso y valoración de la Diversidad Biológica del Centro de Estudios Conservacionistas –CECON-

Departamento de Microbiología. Escuela de Química Biológica.

II. RESUMEN

En los últimos años no solo se han incrementado las infecciones micóticas como las dermatofitosis, sino que también ha aumentado el número de cepas resistentes a los diferentes antifúngicos actuales y su frecuencia está relacionada con el dermatofito causal, el nivel socioeconómico de la población y la migración de los individuos. A pesar de los nuevos antimicóticos tópicos y sistémicos, algunos de éstos sufren de varios inconvenientes tales como toxicidad, interacciones fármaco-fármaco, la falta de eficacia fungicida, el costo y la aparición de cepas resistentes causadas por el uso frecuente de algunos de ellos. Esto ha llevado a la búsqueda e investigación de nuevos componentes, resurgiendo el uso de productos naturales.

Algunos investigadores reportan que la actividad antimicótica de la miel es debido a su efecto osmótico, así como a la presencia del ácido glucónico. Sin embargo, diversos estudios indican que tiene otros componentes antibacterianos más efectivos tales como los flavonoides que son metabolitos secundarios que provienen de las plantas que polinizan las abejas (Molan, 1992).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antimicótica de 10 mieles obtenidas de la abeja *Melipona beecheii* de la región biogeográfica Chimalteca, frente a cepas del género *Trichophyton* spp. y *Epidermophyton* sp.

En *T. rubrum* se determinó que el 47.5% de las muestras de mieles presentaron inhibición, en *T. mentagrophytes* el 45% y en *E. floccosum* el 5%. Para *T. rubrum* no existe diferencia significativa entre el halo de inhibición y las concentraciones de 40, 60 y 80%. Cabe mencionar que no se realizó la prueba de Tukey ya que de 30 pruebas realizadas pocas presentaron halos de inhibición, por lo que se necesitaría de más réplicas para concluir y así tener una mejor representatividad.

De los resultados obtenidos se puede concluir que las mieles de *M. beecheii* sí presentan actividad antimicótica aplicadas a las concentraciones de 20, 40, 60 y 80%. El departamento que presentó mayor consistencia con el grado de inhibición a las

concentraciones de 40, 60 y 80 % contra los tres dermatofitos fue El Quiché siendo este el único que presentó inhibición contra *E. floccosum* a la concentración de 60 y 80%.

III. ANTECEDENTES

A. Micosis superficial

Las micosis superficiales son infecciones producidas por distintos grupos de hongos patógenos para el hombre que invaden las estructuras queratinizadas, es decir estrato córneo, pelo, uñas y las mucosas. Están distribuidos ampliamente en la naturaleza, pueden vivir en el organismo humano como saprófitos o parásitos. Solamente algunas especies de hongos conocidos son patógenas para el ser humano. En este grupo se incluyen las dermatofitosis y candidiasis (Bautista, 2013).

1. Dermatofitos

Son hongos filamentosos, hialinos y septados clasificados de acuerdo a su morfología dentro de los géneros *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton*; ellos producen queratinasas y otras enzimas proteolíticas que degradan la queratina. La hifa de estos organismos penetra en el estrato córneo de la piel y las uñas (Sánchez, Sánchez, & Sena, 2009).

Trichophyton se caracteriza por formar macroconidias multicelulares de pared lisa y pueden existir microconidias; *Microsporum*, forma macroconidias de pared rugosa y puede haber macroconidias y *Epidermophyton*, por producir macroconidias de pared lisa y delgada (Perelli, Calzolaio, & González, 2012).

Ecológicamente los dermatofitos están clasificados en tres grupos: antropofílicos, en donde el hospedero es humano; zoofílicos, en donde el hospedero es el animal y por último geofílicos, cuando cumplen su ciclo de vida o parte de este en el suelo (Prada, 2008).

2. Dermatofitosis, tineas o tiñas

La dermatofitosis es una infección superficial de la piel ocasionada por hongos queratinofílicos que afectan estructuras que contienen queratina: piel, pelo, uñas y son las micosis más comunes a nivel mundial. Son también llamadas “tineas” o “tiñas” las cuales adquieren su nombre clínico por el área de lesión y se clasifican en *Tinea capitis*, *Tinea*

corporis, *Tinea pedis*, *Tinea cruris*, *Tinea unguium*, *Tinea barbae*, *Tinea faciae*, *Tinea imbricata*, *Tinea unguium*. Pueden adquirirse por contacto directo o indirecto con objetos contaminados (peines, cepillos, sombreros, calzado, instrumentos para limpiar las uñas o ropa) (Hernández, Carbajal, Fernández, & Arenas, 2007).

En Guatemala se ha observado una frecuencia del 42.15% y la tinea más frecuente fue *T. corporis* (11.50%), seguida por *T. pedis* (11.17%), *T. capitis* (4.14%), *T. manum* (2.98%), datos no determinados (9.14%), *T. faciei* (2.27%) y *T. cruris* (0.95%) (Martínez, et al., 2012).

La tinea del pie llamada pie de atleta o tinea podal es una infección dermatofítica superficial que afecta los pies, especialmente los pliegues interdigitales, plantas y esporádicamente el dorso evolucionando en forma crónica, muchas veces subclínica con brotes irregulares y prurito de intensidad variable. La tinea de los pies es bastante común y de distribución mundial. Es más frecuente en los climas templados y tropicales, afecta a la mayoría de la población en algún momento de la vida, el riesgo aumenta con la edad, es menos frecuente antes de la pubertad, afecta más frecuentemente a los hombres, pero no hay predilección por ningún grupo racial (Tulio, et al., 2007). Los agentes causales más frecuentes son el *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* y *E. floccosum*. Habitualmente puede haber colonización de bacterias gram positivo, gram negativo y *Candida* spp. La necesidad de investigar esta tinea se explica por los estudios de Reino Unido y Canadá que han destacado que las personas con *T. pedis* presentan mayor riesgo para desarrollar onicomycosis podales y que en muchas ocasiones permanece oculta (Sánchez, Sánchez, & Sena, 2009).

3. Epidemiología de dermatofitos de importancia medica

A nivel de salud pública, conocer la epidemiología de las dermatofitosis es muy importante para poder controlar estas infecciones, ya que ocasionan enfermedades adquiridas a partir de otros pacientes, animales u objetos infectados, siendo las artroconidias y clamidoconidias las estructuras micóticas asociadas a la infección, dada su resistencia a factores ambientales como el calor y su capacidad para sobrevivir a meses o años en el ambiente (Sánchez, Sánchez, & Sena, 2009). Entre los factores predisponentes

podemos destacar: el clima, el uso de medicamentos esteroides que comprometen la función del sistema inmune, el traumatismo en los pies, la práctica de deportes que produce traumatismo secundario, el contacto con personas contaminadas o con portadores asintomáticos (generalmente familiares, amigos o compañeros de trabajo), el uso de zapatos oclusivos que propician irritación y maceración que hacen a la piel más vulnerables a la infección micótica, el uso de zapatillas ajenas, el uso de baños compartidos (por el contacto con superficies contaminadas), los malos hábitos higiénicos, el hacinamiento, ropa sintética y el uso de piscinas (que propician un ambiente húmedo en la piel), la ocupación profesional (Bautista, 2013).

Las características epidemiológicas para cada tipo de dermatofitosis son diferentes y su persistencia favorece la aparición de casos o brotes recurrentes. En Guatemala se ha observado que *T. pedis* es causa frecuente de consulta en los servicios de salud, el cual ha llegado a ocupar el tercer lugar de las enfermedades de la piel más diagnosticadas en algunos servicios de Consulta Externa del Instituto de Dermatología y Cirugía de Piel -INDERMA-. A diferencia de otros países, no se encuentran estudios que expliquen las razones de dicho aumento en nuestra población (Bautista, 2013).

English y Gibson reportaron una prevalencia de 8.2% de *T. pedis* en niños de Bristol, Inglaterra, Nueva Zelanda; Marples y Chapman, encontraron un 5.9% de cultivos positivos en niños con *T. pedis*. González et al. (2008) realizaron un estudio en Monterrey, México donde se demostró una frecuencia de 3.4% de *T. pedis* en la población pediátrica. En México, Ruiz Esmenjaud et al. (2003) han reportado una frecuencia de 2.85% de *T. pedis* en pacientes cuyas edades se encontraban entre 5 y 15 años. En investigaciones realizadas en México por Manzano et al. (2008), estas infecciones constituyen 58% de las micosis superficiales según registros de los años 1995 - 2005 (Vásquez , 2012).

En Venezuela los grupos de trabajo en micología médica, reportaron que entre los años 2004 – 2005 de un total de 848 casos de micosis superficiales estudiados en el estado de Sucre resultaron positivos 585 (68.98%), de los cuales 390 (66.67%) correspondieron a dermatofitosis. El agente aislado con mayor frecuencia fue *T. mentagrophytes* 199

(51.03%) seguido de *T. rubrum* 185 (47.44%), *M. canis* 3 (0.77%), *M. gypseum* 1 (0.25%) y *E. floccosum* 2 (0.51%) (Boletín Informativo, 2006).

Se determinó la frecuencia de las infecciones debidas a dermatofitos en un estudio retrospectivo observacional descriptivo de 2,418 casos reportados por el Centro Hospitalario Candelaria, el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social y el Instituto de Dermatología y Cirugía del Pie “Prof. Dr. Fernando A. Cordero C.” y los mayormente aislados por medio de cultivo fueron *T. rubrum* (85.0%), *M. canis* (7.0%), *T. mentagrophytes* (5.92%), *E. floccosum* (1.0%), *M.* (1.0%) y *M. audouinii* (0.08%) siendo este último un caso (Martínez, et al., 2012).

Estudios realizados en diferentes partes del mundo, en personas que consultan por lesiones dermatológicas, muestran que no hay un consenso en cuanto a cuál es la lesión más frecuente. Asimismo, no hay un predominio de una especie de dermatofito en particular, sin embargo, se observa que en la mayoría de estudios se reporta a *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* y *E. floccosum* (Pérez, 2005).

En Guatemala existe muy poca información acerca de estudios de prevalencia para dermatofitos (Martínez, et al., 2012).

a. Agentes etiológicos de importancia médica en Guatemala

Las siguientes especies se han especializado en producir dermatofitosis en el hombre y se aíslan exclusivamente de muestras humanas:

i. *Trichophyton rubrum*

Se caracteriza por presentar microconidias en forma de lágrima (piriforme), que miden de 2 a 5 µm y casi siempre nace a los lados de las hifas; es más común encontrarlas en las cepas aterciopeladas. Las macroconidias aparecen rara vez, tiene forma de aguja, de paredes delgadas, con extremos romos y presentan de 3 a 8 tabiques; son más comunes en las cepas granulosas (Ver anexo No. 2) (Logemann, 1995).

El crecimiento es lento, la colonia aplanada o elevada puede variar de algodonosa blanca a granular rosada. Son comunes los pliegues en arrugas, el reverso es amarillo cuando la colonia es joven, luego va cambiando a un color rojo vino (aproximadamente a las dos semanas); este color característico se observa mejor en el reverso de la colonia y puede desaparecer en el subcultivo (Koneman, 2006).

ii. *Trichophyton mentagrophytes*

El crecimiento es relativamente rápido y llega a la maduración en 3 a 5 días. Pueden observarse dos tipos de colonias: algodonosas o granulares. Las variantes algodonosas son inicialmente blancas, pero pueden tornarse de color crema a ocre con la madurez (Koneman, 2006). A menudo se desarrollan hifas estériles que forman telarañas con una zona central umbilicada. La periferia y el reverso de la colonia pueden ser rosados a ocre. Las variantes granulares producen colonias planas que se diseminan con una superficie granular gruesa (Gioseffi, et al., 2009).

iii. *Epidermophyton floccosum*

Colonia marrón amarillenta, aterciopelada, de crecimiento lento y reverso incoloro a marrón. No difunde pigmento al medio. Es un hongo filamentoso que forma abundantes macroconidios dispuestos en racimos, con pared gruesa y lisa, con extremos romos, que presentan de dos a cuatro septos. Los macroconidios se asientan sobre el conidióforo por un pequeño pedículo. No forma microconidias (Sánchez, Sánchez, & Sena, 2009). Poseen hifas en forma de raqueta, las colonias son visibles a los 7-9 días, como un mechón de hifas amarillas oscuras, de color canela, de un color gris verdoso (colonias de 2-3cm de diámetro a los veinte días), con aspecto aterciopelado, finalmente pulverulento, planas, con centro umbilicado del que parten surcos radiales y color de verde amarillento a verde oliva (Ver anexo No. 2). La zona marginal termina en una corona radial blanca. *E. floccosum* crece rápidamente en agar papa dextrosa y madura en menos de o hasta diez días (Koneman, 2006).

4. Tratamiento de infecciones causadas por hongos

En cuanto a su actividad antimicótica, se definen dos grupos: fungicidas, los cuales producen depleción del ergosterol lo que se traduce en la muerte del hongo y fungistáticos

que producen acumulación de escualeno, lo que interfiere con el ciclo celular e inhibe la multiplicación del hongo sin provocar su muerte (Bautista, 2013).

Hay una gran variedad de medicamentos, tanto fungicidas como fungistáticos, siendo los más utilizados: La griseofulvina el cual fue el primer antifúngico oral utilizado en el tratamiento de las dermatofitosis. Es un antifúngico natural producido por varias especies de *Penicillium*, especialmente *P. griseofulvum*. Su espectro está restringido a dermatofitos y carece de actividad frente a otros hongos patógenos (Fernández, 2005).

a. Antimicóticos

El éxito en el tratamiento de las dermatofitosis depende de factores relacionados con el agente causal y también de las propiedades físico-químicas del antimicótico, por lo que este debe basarse en la sensibilidad antimicótica de los dermatofitos (Manzano, 2008) (Méndez, et al., 2007).

En la actualidad, existen numerosos antimicóticos para el tratamiento de las dermatofitosis. La terapia puede ser tópica, sistémica o una combinación de ambas dependiendo de la localización, extensión y severidad de las lesiones, la edad del paciente y la especie del dermatofito involucrada en la infección (Méndez, et al., 2007).

Los antimicóticos de acción tópica se aplican localmente en la lesión y pueden presentarse en forma de geles, cremas, soluciones, lacas de uñas o ungüentos. Sin embargo, se ha reportado que este tipo de terapia suele fracasar con *T. unguium*, *T. capitis* o *T. pedis* (Colella, 2006)

Los antimicóticos de acción sistémica están indicados principalmente en *T. capitis*, *T. unguium* y en las dermatofitosis severas o diseminadas en pacientes inmunosupresos (Colella, 2006). Aunque existe un gran arsenal de antimicóticos tanto tópicos como orales para el tratamiento de las dermatofitosis, el éxito de curación de pacientes con *T. unguium* es muy bajo; se han reportado tasas de fracaso del 35%, por lo que recomiendan la terapia combinada en estos casos (Manzano, 2008).

De acuerdo con el grupo químico al que pertenecen, los antimicóticos se clasifican en:

i. Azoles

Inhiben la actividad de la enzima 14- α -desmetilasa, bloqueando la desmetilación de lanosterol a ergosterol, componente principal de la membrana celular de los hongos. Como consecuencia de ello, se altera la membrana celular y se acumulan compuestos no desmetilados que inhiben el crecimiento fúngico. Estos se subdividen en:

- **Imidazoles tópicos**

Está el Clotrimazol, Bifonazol, Ketoconazol, Terconazol, Miconazol, Econazol, Sertaconazol, Flutrimazol y Eberconazol (Manzano, 2008).

- **Triazoles sistémicos**

Esta el Itraconazol, Fluconazol, Voriconazol, Posaconazol, Ravuconazol y Albaconazol (Méndez, et al., 2007).

ii. Alilaminas

Inhiben la actividad de la enzima escualeno-epoxidasa, impidiendo la síntesis de lanosterol (actividad fungistática). Por tanto, la vía enzimática es bloqueada en un paso anterior al inhibido por los azoles. Como resultado de ello, el escualeno acumulado en la célula fúngica provoca la muerte celular (actividad fungicida). Los principales representantes de este grupo son: terbinafina y naftifina (Bautista, 2013).

iii. Derivados de morfolina

Actúan bloqueando la producción del ergosterol e inhibiendo la enzima 14- α -reductasa y la 7-delta-8-isomerasa. El principal representante de este grupo es la amorolfina (Méndez, et al., 2007).

b. Manejo de *T. pedis*

El tratamiento de la *T. pedis* es fundamentalmente tópico, según la forma clínica de presentación y el tratamiento sistémico es excepcional. Además, se debe corregir los factores predisponentes, uso diario de polvos antimicóticos. Pueden administrarse imidazoles en crema o solución al 1 o 2%, como miconazol, clotrimazol o isoconazol dos veces al día; ketoconazol o bifonazol, una vez al día, durante uno o dos meses (Bautista, 2013).

5. Actividad antimicótica *in vitro*

La miel se ha utilizado como medicina desde la antigüedad en culturas china, egipcia, hebrea, griega, hindú, persa, romana y maya. La actividad antimicótica de la miel se cree que se atribuye a la alta concentración de azúcares y de bajo contenido de agua (Molan, 1992).

Hasta la fecha se han realizado muy pocos intentos de evaluar las propiedades antimicóticas de la miel, en comparación con la gran cantidad de literatura que ha establecido que la miel presenta actividad antibacteriana significativa (Koc, Silici, Kasap, Hormet, & Mavus, 2008).

Actualmente los efectos de la actividad antimicótica han llamado la atención de los científicos debido al desarrollo de resistencia a los antimicóticos (Khosravi, Shokri, Katirae, Ziglari, & Forsi, 2008) o la creciente conciencia sobre los efectos secundarios de muchos medicamentos, por ello han realizado estudios de actividad antimicótica *in vitro* en mieles demostrando inhibición en el crecimiento de todos los dermatofitos comunes y levaduras (Olaitan, Adeleke, & Ola, 2007) (Cancliracci, Citterio, & Piatti, 2012).

Estudios realizados determinaron que muestras de miel presentaron actividad antimicótica contra los hongos del género *M. gypseum* y en el mismo observaron que este fue el más sensible de todos los aislados fúngicos, mientras que *C. albicans* fue la menos sensible. Los valores de Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) y Concentración Fungicida Mínima (CFM) oscilaron entre 12.5 y 50% (v/v) y con ello confirmaron que la miel mostró un amplio espectro de actividad (Anyanwu, 2012).

Cabe mencionar otro estudio donde la actividad antimicótica de diluciones de la miel empleando el ensayo de difusión en agar, muestra una inhibición del crecimiento alrededor de los pozos de *E. floccosum* al 25 y 10%; *M. canis* 25 y 15%; *M. gypseum* 55 y 20%; *T. mentagrophytes* var *interdigitale*. 45 y 15%; *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes* 25 y 15%; *T. rubrum* 20 y 5% y *T. tonsurans* 25 y 20%. Los resultados de estas investigaciones demuestran que los dermatofitos comunes son sensibles a la actividad de la miel, lo cual justifica su evaluación clínica en el tratamiento de tineas (Brady, Molan, & Harfoot, 1996).

Los usos de la miel de ulmo (*Eucryphia cordifolia*) rico en compuestos fenólicos, es capaz de inhibir el crecimiento *in vitro* de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* grupo B- Hemolítico, entre otras, además de poseer actividad fungicida y fungistática contra *Candida albicans*, *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. ya han sido patentados por Montenegro & Ortega, 2011, patente N° WO/2011/057421.

En una gran cantidad de estudios se ha evaluado la actividad antibacteriana de la miel y al determinarse que también posee actividad antimicótica le provee un mayor valor agregado en infecciones en donde se puede ver implicados ambos microorganismos. En Guatemala y en otros países no se han reportado estudios de actividad antimicótica *in vitro* de la miel contra *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* y *Epidermophyton floccosum* empleando el método de difusión en agar.

Cabe mencionar la importancia de evaluar de la actividad antimicótica *in vitro* de nuestras mieles nativas de *M. beecheii* ya que en Guatemala ni en otros países se han reportado estudios contra los dermatofitos causantes de *Tinea pedis*: *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* y *E. floccosum*.

a. Tamizaje de la actividad antimicótica *in vitro*

Pone de manifiesto la inhibición del crecimiento de un hongo, determinada en condiciones estándar con una concentración previamente determinada como punto de corte de un extracto, fracción o compuesto (Sólis, De solis, Gattuso, & Cáceres, 2005).

Hasta hace dos décadas las pruebas de susceptibilidad para dermatofitos y otros hongos filamentosos *in vitro* a los diferentes antimicóticos solo se empleaban ocasionalmente en laboratorios especializados ya que son varios los factores que dificultan un procedimiento estándar para medir *in vitro* la susceptibilidad antimicótica, tales como el tipo y tamaño del inóculo, la temperatura de crecimiento, composición del medio, pH y el tiempo de incubación (Colella, 2006). El manejo, recuento, dilución y transferencia de hifas muestra un mayor grado de dificultad que el de las conidias, por lo que generalmente, las técnicas de sensibilidad suelen realizarse con estas últimas. Hasta los momentos se dispone como técnica de referencias para el estudio de la susceptibilidad del documento M 38-P de la NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002).

Existen tres métodos para pruebas de susceptibilidad con antimicóticos: difusión en agar, dilución en caldo y dilución en agar, todos se basan en los mismos principios de los utilizados para agentes antibacterianos (Cáceres, 1999).

i. Método de difusión en agar

Este procedimiento se basa en el descrito por Bauer -Kirby (Cáceres, 1999). Se utiliza un disco, agujero o cilindro como reservorio en el agar, el cual contiene la muestra a ensayar, luego del período de incubación se mide el diámetro de la zona clara alrededor del reservorio (diámetro de inhibición) (Sharapin, 2000).

Este método no requiere dispersión homogénea en agua de la sustancia o producto a evaluar, la cantidad de muestra utilizada en el tamizaje es pequeña y permite probar cinco a seis compuestos contra varios organismos, además es el más conveniente para el tamizaje preliminar de sustancias puras. Este método fue originalmente diseñado para controlar la cantidad de sustancias antibióticas en extractos crudos (Sharapin, 2000).

ii. Método de dilución

Este método se basa en que el crecimiento exponencial de hongos susceptibles inoculados en la superficie o profundidad de los medios de cultivo adecuados es inhibido por las moléculas bioactivas diluidas en el medio de agar. Este procedimiento ofrece una

distribución homogénea del compuesto en el agar y está basado en el método descrito por Mitscher et al. (Ortíz, 2006).

- **Método de dilución en caldo**

En este método el indicador de inhibición es la turbidez del medio. Cuando no existe crecimiento el medio permanece claro, es decir, el antimicrobiano inhibe el microorganismo; cuando el antimicrobiano no tiene ningún efecto hay crecimiento y el medio aparece turbio. El grado de inhibición se relaciona con la turbidez y esta se mide por espectrofotometría. La concentración mínima del antimicrobiano que no muestre crecimiento es la medida del efecto bacteriostático o fungistático del microorganismo (Forbes, Sahn, & Weissfeld, 2009).

Este se ha convertido en la base de casi todos los métodos utilizados en la actualidad. El caldo más comúnmente usado para estas pruebas es el de Mueller-Hinton suplementado con los cationes magnesio y calcio (Ellisa, 2008), el cual proporciona resultados cuantitativos y no influidos por la tasa de crecimiento de microorganismos (Pinto, 2003).

- **Método de dilución en agar**

Este método es parecido al método de dilución en caldo. Este método es rápido y la CIM de un producto puede ser determinada contra seis microorganismos a la vez. Este permite la inoculación de aproximadamente 20-25 microorganismos en cajas estandarizadas. Las ventajas de este método son su simplicidad, sensibilidad, reproducibilidad, rapidez, facilidad de estandarizar y procesar gran cantidad de muestras, además ofrece la posibilidad de usarlo en el estudio de antimicrobianos solubles en agua o muestras insolubles como aceites esenciales, además pueden ser sembrados hasta seis microorganismos en una caja de petri (Molina, 2005).

B. Miel de Meliponinos

La miel producida por *Apis mellifera* es una sustancia azucarada, densa, transparente y viscosa. Es elaborada a partir de las las abejas mediante la recolección de néctar de las plantas, de secreciones de partes vivas de éstas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de las mismas y que las abejas recogen, transforman mediante una acción enzimática. De este modo el néctar es enriquecido con fermentos, ácidos y albúmina de la abeja (Moguel, Echazarreta, & Mora, 2005).

Se ha comparado la miel de los meliponinos con la miel producida por *A. mellifera*, y se ha determinado que la miel de *M. beecheii* tiende a ser más líquida, ácida y su composición no es idéntica, lo cual puede marcar una diferencia en el efecto que puedan presentar sobre los microorganismos. Esto ha llevado a que se realicen ensayos para comprobar la acción antimicrobiana y antioxidante de la miel de meliponinos (Enríquez & Solís, 2001) (Enríquez & Dardón, 2007).

Las mieles de los meliponinos poseen diversas características, principalmente llegan a variar por factores como el recurso floral disponible para la obtención de polen y néctar. La composición bioquímica de la miel de algunas especies de abeja sin aguijón presenta una alta cantidad de monosacáridos, que constituyen el 60–80% de la miel; agua, alrededor de un 15 a 20%; minerales, sustancias nitrogenadas, ácidos orgánicos los cuales confieren a la miel un pH de 3.6 a 4.2; enzimas, vitaminas y hormonas; inhibinas, a las que se les atribuye actividad antibiótica (Enríquez & Dardón, 2007).

La miel de los meliponinos se ha reconocido principalmente como un alimento nutritivo de alto valor energético que posee propiedades curativas y esto ha conllevado a que se realicen ensayos para comprobar su acción antimicrobiana y antioxidante. Debido a que la miel de Costa Rica y en Latinoamérica es reconocida popularmente por sus propiedades terapéuticas, el cual se emplea para el tratamiento de diversas afecciones respiratorias, dermatológicas y gastrointestinales ha incrementado su valor frente a la miel de *A. mellifera* (Vit, Medina, & Enríquez, 2004).

En Guatemala la apicultura tiene potencial, aunque con pequeños volúmenes de producción. El Comité Apícola de la Asociación Guatemalteca de Exportadores (AGEXPORT) manifestó que el sector apícola de Guatemala cuenta con un estimado de 120,000 colmenas, las cuales son trabajadas por un aproximado de 4,000 productores dedicados a la apicultura. A la vez, consideran que otras 25,000 personas están vinculadas a la cadena de valor de la miel de abejas y otros productos apícolas (AGEXPORT, 2014).

Se ha reportado la presencia de especies de abejas sin aguijón de las cuales al menos 13 son utilizadas para la obtención de miel y otros productos de la colmena (Enríquez & Dardón, 2007).

1. Actividad antimicrobiana de la miel

Esta se vincula con factores como la acidez, osmolaridad, presencia de peróxido de hidrógeno. La miel está saturada o súper saturada de solución de azúcar, esta posee propiedades osmóticas, las moléculas del agua reaccionan perfectamente con los azúcares de la miel permitiendo poca agua disponible para los microorganismos. La actividad de la diastasa, enzima encargada de la degradación del almidón, está vinculada con la actividad antibacteriana de la miel. La presencia de peróxido de hidrógeno generada por la actividad enzimática de la glucosa en la miel contribuye a su actividad antibacteriana. La eficiente actividad antibacteriana y antiinflamatoria pone de manifiesto su enorme potencial de aplicación en el ámbito clínico a nivel dermatológico (Dardón & Enríquez, 2008).

2. Taxonomía y distribución de las abejas sin aguijón

Las abejas sin aguijón pertenecen a la tribu Meliponini (Hymenoptera, Apidae, Apinae) almacenan la miel en potes de cerumen, a diferencia de los panales de cera que utiliza *A. mellifera*, se desarrollan en las regiones tropicales y subtropicales, también constituyen uno de los grupos de insectos de mayor abundancia en el mundo, se conocen alrededor de 20,000 especies distribuidas en 11 familias. La mayoría de los representantes de este orden presentan hábitos solitarios mientras otros presentan distintos grados de organización social. La familia Apidae es la única que presenta especies con una organización altamente social. Estas especies pertenecen principalmente a las subfamilias Apinae y Meliponinae (Vit, 2008).

Los meliponinos están divididos en tres tribus: Trigonini, Lestrimellitini y Meliponini. Esta última está constituida por un único género *Melipona* que se distribuye únicamente en la región tropical de América (Gutiérrez, et al., 2008). Los Trigonini presentan varios géneros (*Plebeia*, *Trigona*, *Tetragonisca*, etc.) y están ampliamente distribuidos en las áreas tropicales y subtropicales de todo el mundo. Lestrimellitini solamente tiene un género. En Guatemala se distribuyen tres de las 69 especies de *Melipona* (Nogueira, 2006).

a. Características entomológicas de *Melipona*

Este es el género más característico de Meliponini. Se compone de especies apiformes bastante grandes, en su mayoría son un poco más robustos que las obreras de *Apis*, con alas que se extienden más allá del ápice del metasoma (parte posterior de la abeja), un estigma delgado dentro de la célula marginal que no es convexo y presenta de 9 a 14 hamuli (serie de diminutos ganchos que se ubican en el borde del ala y se enganchan con el borde del primer par de alas) (Espinoza, 2004). El estilete de las abejas obreras está en ángulo recto o agudo, y la cápsula genital masculina es esquizogonal. En cuanto al estilete y caracteres genitales masculinos, *Melipona* se asemeja al género del grupo africano. En la biología de anidación, *Melipona* es único entre la tribu Meliponini en la crianza de numerosas pequeñas reinas en celdas. En todos los otros géneros solo unas pocas reinas son producidas normalmente en celdas especiales de gran tamaño (Charles, 2000).

i. *Melipona beecheii*

Una de las especies más apreciadas por su miel es *M. beecheii*, especie endémica de abejas sin aguijón de Mesoamérica. Es la abeja más importante en la meliponicultura de Yucatán, se considera de fácil manejo y es la abeja sin aguijón de mayor tamaño en la Península de Yucatán (González, 2008). La longitud de su cuerpo es de 10-11 mm, presenta en el tórax una vellosidad blanca, el abdomen es negro con cinco anillos transversales color amarillo verdoso, la forma de su cuerpo es más o menos redondeada y los ojos son de un color gris verdoso traslúcido. El macho es similar a la obrera (Charles, 2000).

Los dibujos amarillos del clípeo, área paraocular y la mancha oscura en el extremo distal de la tibia posterior son muy variables. El área paraocular en los ejemplares de la

Península de Yucatán, es con frecuencia más amarilla que en los ejemplares de localidades un poco más norteñas por la costa del Golfo de México o de la Costa del Pacífico. El color del extremo distal de la tibia posterior es muy variable, pudiéndose encontrar en localidades tan distantes como los Tuxtlas (Quezada, 2005). Su respuesta defensiva es baja ya que son abejas de carácter dócil, sus colonias pueden tener de 800 a 1,200 abejas. Habitan de forma natural en parches de selva primaria. La entrada a su nido asemeja a la forma de un sol o más o menos radiada hasta simplemente redondeada hecha con resina, barro o fragmentos de cal (González, 2008).

3. Generalidades y la meliponicultura de abejas sin aguijón de Guatemala

Meliponicultura se le llama a la crianza de abejas nativas sin aguijón, para la obtención de distintos productos de las colmenas de las mismas, entre estos: miel, cera, polen y propóleo. Guatemala cuenta con 33 especies de abejas nativas sin aguijón, desde 0 a 2,000 metros sobre el nivel del mar (msnm). Los campesinos utilizan principalmente la miel de una gran cantidad de especies de meliponinos, atribuyéndole muchas propiedades medicinales en particular para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales, oftalmológicas, dermatológicas, etc. (Dardón & Enríquez, 2008).

Al comparar la miel de los meliponinos con la miel producida por *A. mellifera*, se encuentra que esta tiende a ser más líquida, más ácida y su composición no es idéntica, lo cual puede marcar una diferencia en el efecto que puedan presentar sobre los microorganismos (Enríquez, Yurrita, Ayala, & Marroquín, 2006).

Las especies más importantes en cuanto a producción de miel y de mayor distribución son: *M. beecheii*, *Tetragonisca angustula*, *Scaptotrigona mexicana*, *Scaptotrigona pectoralis* y *Geotrigona acapulconis* (Enríquez & Solis, 2001).

La meliponicultura es una actividad antigua que fue practicado por los mayas en la península de Yucatán y en menor escala por los otros indígenas en las Américas. En los últimos años se ha perdido la mayor parte de los conocimientos indígenas debido a la destrucción intencional de las abejas nativas, al lento declive de la práctica e introducción de *A. mellifera* (Villanueva & Roubik, 2005).

El grupo de las abejas es muy diverso en todo el mundo. Los mayas criaban abejas nativas sin aguijón, llegando a formar meliponarios con cientos de colmenas. Este grupo de insectos está formado por especies solitarias, parásitas y sociales. Las abejas sin aguijón pertenecen al grupo de las abejas sociales (Enríquez, Maldonado, & Dardón, 2007).

Las abejas nativas sin aguijón, pertenecientes a la sub-familia *Meliponinae* (Hymenoptera: Apidae) son especies nativas de los trópicos y sub-trópicos. Presentan una mayor diversidad en América Neotropical. Estas abejas elaboran miel, cera y otros productos que pueden ser aprovechados tanto en el campo de la nutrición como en el de la medicina. Otra característica importante de los integrantes de este gran grupo es su eficiencia como polinizadores de plantas silvestres y de cultivos. El tamaño de estas abejas varía desde pequeñas (2 mm) a grandes (13 mm) (Dardón, 2005).

Las dos especies de abejas sin aguijón de mayor importancia, al igual que en otras regiones del país son: *M. beecheii* que produce de 1.5 a 12 botellas y su precio varía de Q.50.00 – Q.200.00 y *T. angustula*, que produce de 0.5 a 1 botella y su miel no es muy comercializada en la región del Trifinio-El Portillo. Estas abejas son verdaderamente sociales y almacenan su alimento (miel y polen) en un nido permanente, lo que ha propiciado su crianza. Estas dos especies anidan en troncos ahuecados y se suelen encontrar semi-domesticadas en los aleros de las casas (Enríquez, et al., 2005).

La abeja *M. beecheii* (“Criolla” o “Colmena Grande”) aún se mantiene en troncos de algunas casas de comunidades rurales, reportado principalmente en regiones como Santa Rosa y Chiquimula, en donde también suelen mantener colmenas de *T. angustula* (“Doncellita”, “Chumelita” o “chumelo”) (Dardón, 2005). Las personas conservan colmenas en sus casas, empleando la miel y otros productos de la colmena como alimento o para el tratamiento de diversas afecciones. En especial la miel blanca, producida por *M. beecheii*, la cual suele ser empleada para el tratamiento de diferentes afecciones respiratorias, dermatológicas y gastrointestinales, entre otros (Vit, Medina, & Enríquez, 2004).

La miel de abejas varía debido a factores como el recurso floral disponible para la obtención de polen y néctar, área geográfica y especie de abejas en cuestión y la miel de los meliponinos presenta diversas características particulares y diferentes a la miel de *A. mellifera* (Molan, 1992).

4. División de las regiones biogeográficas en Guatemala

La distribución de las especies, en general está determinada por diversos factores físicos como el clima, la vegetación, la composición y tipo de suelo, así como por factores ecológicos como la competencia y la disponibilidad de alimento (Zunino & Zullini, 2003).

Según el trabajo realizado por Stuart, Campbell y Vannini, Guatemala se divide en diez regiones naturales o áreas bióticas los cuales son: Escuintleca, Petenera, Volcánica, Chimalteca, Cuchumatán, Serrana, Merendón, Zacapaneca, Queqchí y Trifinio–El Portillo (Ver anexo No. 1) (Stuart, 1942).

Stuart reporta que el área Petenera presenta la mayor diversidad de abeja sin aguijón con 20 especies, seguida de las áreas Escuintleca y Volcánica con 15 especies, el área Chimalteca (13), el área Queqchí (12) y el área Serrana (11). Las 4 áreas restantes presentan menor diversidad (Marroquín, 2000).

a. Región Escuintleca

Incluye las Tierras Bajas del Pacífico, y entre 0 y 600 msnm, con vegetación de manglar, bosque tropical seco y bosque tropical lluvioso (Marroquín, 2000).

b. Región Petenera

Incluye las tierras bajas del Caribe, principalmente en los departamentos de Petén e Izabal, con altitudes de 0-600 msnm, vegetación predominante de bosque tropical lluvioso (Marroquín, 2000).

c. Región Volcánica

Incluye la región de pie de monte del pacífico y desciende hasta la provincia escuintleca y hacia el norte están todas las tierras altas del cinturón volcánico del país, entre

600 y 4,000 m (conos volcánicos), con vegetación predominante de bosques de coníferas en las partes más altas, bosques nubosos en las partes medias y cultivos de café en las partes más bajas (Armas, 2009).

d. Región Chimalteca

Incluye la región nominada Meseta Central, ubicada en los departamentos de Chimaltenango, Totonicapán, Santa Rosa, Escuintla, Guatemala, El Quiché y partes de los departamentos de Jalapa y Jutiapa. Hacia el sur está limitada por los volcanes y al este los límites están regidos por los ríos del Caribe. Se extiende desde la pared meridional de la Sierra de los Cuchumatanes hasta Honduras. Esta provincia se caracteriza por depósitos ígneos y contener cordilleras de origen no volcánico. La vegetación predominante es un bosque algo seco de: *Pinus-Quercus*, con altitudes entre 1,500-2,500 m (Armas, 2009).

e. Región Cuchumatán

Incluye toda la Sierra de los Cuchumatanes entre 600 y 3,500 msnm, en el noreste se une a la planicie de Chiapas y a la quechiana, al sur a la chimalteca. Con vegetación de *Pinus-Juniperus* en las mayores alturas y *Pinus-Quercus* y bosques nubosos en alturas medias (Cano, 1990).

f. Región Serrana

Incluye la Sierra de las Minas, Sierra de Chuacús y Cerro San Gil, con altitudes entre 600 y 2,500 msnm y vegetación de bosque nuboso en altitudes medias y altas, bosque de *Pinus-Quercus* en altitudes medias y en el caso de Cerro San Gil, un tipo de bosque entre tropical lluvioso y nuboso (Cano, 1990).

g. Región del Merendón

Incluye la Sierra del Merendón y Sierra de Caral, en altitudes entre 800 y 1,200 msnm, con vegetación de bosque nuboso y una mezcla de bosque nuboso y tropical lluvioso. Está comprendida luego de la Chimalteca hasta Honduras bajo la región Zacapaneca (Armas, 2009).

h. Región Zacapaneca

Incluye las tierras secas de Nentón y Cuilco en Huehuetenango, Sacapulas en El Quiché, Salamá en Baja Verapaz, y el valle del río Motagua entre El progreso y Zacapa. La vegetación es típica de bosque seco tropical y chaparrales espinosos (Cano, 1990).

i. Región Queqchí

Se encuentra en Alta Verapaz, incluyendo la Sierra de Santa Cruz y Sierra de Chamá, entre altitudes de 8,100 y 2,500 m, con cafetales y de bosques de *Liquidambar* y de *Pinus-Quercus* en las partes medias y bosques nubosos en las partes medias y muy altas (Cano, 1990).

j. Región Trifinio-El Portillo

Se localiza cerca de la frontera Guatemala-Honduras-El Salvador, con altitudes entre 600 y 2,400 msnm, con topografía variada y vegetación de bosque seco en las partes bajas y bosques nubosos y de coníferas a altitudes de 1,400 msnm (Marroquín, 2000).

IV. JUSTIFICACIÓN

El uso de la medicina natural ha tomado auge partiendo del hecho que gran parte de la población, especialmente el área rural recurre a esta como única fuente para resolver sus problemas de salud. Debido a ello es importante evaluar a través de estudios microbiológicos la actividad que se le atribuye a las mieles de *Melipona beecheii*, ya que en Guatemala no existen aportes al conocimiento sobre la actividad antimicótica de las mismas. Hoy en día los fármacos químicos son de difícil adquisición para un alto porcentaje de personas por el elevado costo que poseen, por lo que se considera necesario contar con opciones de menor costo, de fácil preparación, efectivas y sobre todo accesibles a la población.

Con este estudio se determinó la actividad antimicótica de estas mieles de la región biogeográfica Chimalteca con respecto a los años, con la finalidad de emplearla en un futuro como una alternativa medicinal de aplicación tópica que pueda actuar contra los agentes causales de *Tinea pedis* tales como *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Epidermophyton floccosum* en Guatemala.

Asimismo, la aplicabilidad de los resultados obtenidos se dirige fundamentalmente para que los meliponicultores tengan noción que su producto tiene un valor agregado, ya que este es un país con una diversidad de abejas en el que aún se desconoce el potencial que pueden tener las especies nativas en beneficio de la población.

V. OBJETIVOS

A. Generales

Evaluar la actividad antimicótica *in vitro* de las mieles de *M. beecheii* de la región biogeográfica Chimalteca de Guatemala.

B. Específicos

- Evaluar la presencia o ausencia de la actividad antimicótica *in vitro* de las mieles de *M. beecheii* frente a *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Epidermophyton floccosum*.
- Determinar la actividad antimicótica *in vitro* de las mieles de *M. beecheii* colectadas durante el periodo de 2004 a 2014.
- Comparar la actividad antimicótica *in vitro* de las mieles de *M. beecheii* entre los departamentos de Santa Rosa, El Quiché, Jutiapa, Escuintla pertenecientes a la región biogeográfica Chimalteca.

VI. HIPÓTESIS

Las mieles de *M. beechii* presentan actividad antimicótica *in vitro* frente a *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Epidermophyton floccosum*.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo

Mieles de *M. beecheii* provenientes de los departamentos (Santa Rosa, El Quiché, Jutiapa y Escuintla) correspondientes a la región biogeográfica Chimalteca las cuales fueron colectadas por meliponarios de dicha región y almacenadas en la Unidad para el Conocimiento, Uso y Valoración de la biodiversidad del Centro de Estudios Conservacionistas (CECON). La extracción del mismo se realizó durante el período de 2004 a 2014.

B. Muestra

Estudio constituido por 10 mieles de *M. beecheii* procedentes de la región biogeográfica Chimalteca.

C. Recursos

1. Humanos

- Seminaristas: Br. Evelin Yanira Valencia Velásquez
Perito Shirley Janet Sanabria Guillermo
- Asesores: Lic. Carlos Maldonado Aguilera
Lic. Manuel Díaz Paz
- Revisora: Licda. María Eugenia Paredes

2. Institucionales

- Unidad para el Conocimiento, Uso y Valoración de la biodiversidad del Centro de Estudios Conservacionistas (CECON).
- Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

D. Materiales

- Algodón
- Cuaderno

- Fósforos
- Hojas de papel bond
- Marcador permanente
- Papel Parafilm
- Papel Kraft para envolver y esterilizar
- Regla graduada en milímetros
- Lapicero
- Hielera
- Terbinafina

E. Equipo

- Autoclave
- Incubadora bacteriológica (temperatura rango 24-35 °C)
- Refrigeradora bacteriológica
- Homogenizador (Stomacher)
- Campana bacteriológica
- Baño maría a 37 °C
- Gradillas de metal
- Microscopio
- Balanza semianalítica y balanza analítica
- Incinerador
- Asas bacteriológicas (en argolla y en punta)
- Pipetores
- Pipetas automáticas
- Tips amarillos de 200 µl
- Tips azules de 1,000 µl
- Viales
- Asas estériles calibradas de plástico

F. Cristalería

- Agitador
- Esparcidor de vidrio
- Tubos de ensayo
- Pipetas volumétricas
- Cajas de petri estériles de 15x100 ml, plásticas o de vidrio.
- Erlenmeyers de 500 ml
- Erlenmeyers de 1,000 ml
- Pipetas estériles de 1 ml con graduaciones de 0.01 ml
- Pipetas estériles de 5 ml con graduaciones de 0.1 ml
- Pipetas estériles de 10 ml con graduaciones de 0.1 ml
- Beackers de 500 ml
- Tubos con tapón de rosca de 15 mL
- Campanillas de durham

G. Medios de cultivo

- Agar Saboraud
- Agar PDA (Potatoe Dextrose Agar)

H. Reactivos

- Agua destilada estéril
- Alcohol 70%
- Solución salina estéril (NaCl 0.90%)
- Azul de lactofenol

I. Procedimiento

1. Origen de las muestras de miel

Se analizó 10 muestras de miel de abeja sin aguijón provenientes de la región biogeográfica Chimalteca correspondientes a la abeja nativa *M. beecheii* las cuales fueron colectadas por meliponarios de dicha región y almacenadas en la Unidad para el Conocimiento, Uso y Valoración de la biodiversidad del Centro de Estudios Conservacionistas (CECON) (Ver figura No. 1). La extracción del mismo se realizó durante el período de 2004 a 2014. Posterior a la extracción fue colocada en recipientes plásticos y de vidrio con un tamaño adecuado al volumen extraído. Todas las muestras de miel fueron conservadas en refrigeración (4 °C) evitando la exposición lumínica.

Figura No. 1: Mieles de *Melipona beecheii* de diferentes departamentos de la región biogeográfica Chimalteca



Fuente: Imágenes tomadas durante el experimento (Valencia, E. & Sanabria, S.)

2. Preparación de la miel

Las muestras que se encontraban cristalizadas y que contenían sedimentos se colocaron en baño maría durante 30 minutos no sobrepasando los 37 °C. Posteriormente se dejaron enfriar a temperatura ambiente (Brady, Molan, & Harfoot, 1996).

Se diluyó la muestra de miel con agua destilada estéril (% V/V): se agregó 1.2 ml de miel y 0.3 ml de agua destilada al 80%, 0.9 ml de miel y 0.6 ml de agua destilada al 60%,

0.6 ml de miel y 0.9 ml de agua destilada al 40% y 0.3 ml de miel con 1.2 ml de agua destilada para preparar el 20% (Anyanwu, 2012).

3. Preparación del inóculo para *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* y *E. floccosum*

El inóculo se realizó a partir de un cultivo de 15 días en tubo PDA (Potatoe Dextrose Agar) a 27 °C. Luego se observó si había un buen crecimiento para realizar una suspensión con 4-5 ml de solución salina estéril (NaCl 0.90%). Se levantó cuidadosamente con una varilla de vidrio todo el desarrollo del hongo, trasvasándolo a un tubo estéril (National Comitte for Clinical Laboratory Standards, 2002) (Treviño, et al., 2012) (Oladejo, et al., 2013).

Se agitó bien por 5-10 minutos y luego se realizó el recuento en cámara de Neubauer estimando una concentración de 1,000 esporas/ml ó 100 esporas/ μL = 1×10^5 esp./mL (aproximadamente 10 esporas por cuadrante). Este material se colocó en viales estériles a 4°C hasta el momento de su uso (Ortíz, 2006) (Lora, Luján, Robles, Saravia, & Cabeza, 2010).

4. Preparación de medio de cultivo para hongos filamentosos

Se preparó cajas con 15 ml de agar Sabouraud (National Comitte for Clinical Laboratory Standards, 2002).

Se esterilizó durante 15 minutos a 121 °C, se dejó enfriar a 50 °C, se dejó solidificar e incubar a 36 °C durante 24 horas para verificar esterilidad. Se guardó en refrigeración hasta el momento de su uso.

5. Determinación de actividad antimicótica de *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, y *E. floccosum*

Con una micropipeta de 1,000 μl se introdujo 100 μl del inóculo del hongo en las cajas de agar Sabouraud suplementado y se extendió con un esparcidor de vidrio en condiciones estériles. Se dejó secar de 3-5 minutos dejando la placa entreabierta. Para los tres diferentes hongos se utilizó el mismo procedimiento (Anyanwu, 2012) (Oladejo, et al., 2013) (Pokharkar, Funde, & Pingales, 2008).

Se procedió a abrir 4 agujeros en las cajas de agar Sabouraud con campanillas de Durham de 5 mm de diámetro, en forma equidistante. Se tomó 0.1 ml de las diferentes concentraciones de miel previamente mencionadas y se le adicionó a cada pocillo, haciendo un total de cinco repeticiones. Se dejó reposar durante 5-10 minutos (Anyanwu, 2012).

Se incubó a 27 °C por 7 días *T. rubrum* y *E. floccosum*. Para *T. mentagrophytes* se incubó a 27 °C por 3 días.

Control positivo: Se inoculó el hongo en agar Sabouraud (15 ml) realizando el mismo procedimiento de la determinación antimicótica colocando en los agujeros 0.1 ml de Terbinafina para cada dermatofito como control positivo (Monroy, 2011) (Colella, 2006) (Lora, Luján, Robles, Saravia, & Cabeza, 2010)

Control negativo: Se inoculó el hongo al agar Sabouraud (15 ml) realizando el mismo procedimiento de la determinación antimicótica colocando agua destilada estéril como control negativo y así se comprobó el crecimiento de los hongos en un término de 15 días (Anyanwu, 2012) (Treviño, et al., 2012) (Soto, Yoc, Guitiérrez, Arriola, & Arriola, 2012).

6. Interpretación de los resultados

Se midió el diámetro del halo de inhibición de la miel con respecto al crecimiento del hongo en mm a los 7 días para *T. rubrum* y *E. floccosum*. Para *T. mentagrophytes* se midió el halo de inhibición a los 3 días (Lora, Luján, Robles, Saravia, & Cabeza, 2010).

7. Diseño estadístico

Actividad antimicótica de mieles de *M. beecheii* sobre hongos causantes de *Tinea pedis*.

Variedades de hongos: *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* y *E. floccosum*

Tratamientos: 10 mieles de la abeja sin aguijón *M. beecheii*

Variable dependiente: Presencia o ausencia de actividad antimicótica.

Variable independiente: Región biogeográfica

Por conveniencia se tomó 10 muestras de mieles recolectadas en el periodo 2004-2014 de la región biogeográfica Chimalteca por meliponarios de dichas regiones, dado que son las únicas que por su volumen es posible analizar. De la especie *Melipona beecheii* se realizó un ensayo dicotómico.

a. Ensayo inhibitorio

Se realizó un tamizaje de actividad antimicótica de las mieles en una caja con 4 pozos aleatorizados con las concentraciones evaluadas: 20, 40, 60 y 80%, realizando 5 réplicas para cada miel y dermatofito. Una caja constituyó un bloque por cada miel en un diseño de bloques completos al azar.

b. Análisis

Debido a que la respuesta fue inhibición o no, se evaluó por medio de una prueba de hipótesis binomial. Para un nivel $\alpha= 0.05$, este es el mínimo de muestra para probar la siguiente hipótesis:

Ho (Hipótesis nula): $p=0.5$ (no efecto)

Ha (Hipótesis alternativa): $p > 0.5$ (sí efecto)

.

VIII. RESULTADOS

1. Obtención de muestras de mieles

Se seleccionaron diez muestras de miel, recolectadas en meliponarios durante el periodo de 2004 al 2014 pertenecientes a la región biogeográfica Chimalteca de Guatemala. Las muestras estaban almacenadas en la Unidad para el Conocimiento, Uso y Valoración de la Biodiversidad del Centro de Estudios Conservacionistas (CECON). Todas las muestras de miel empleadas fueron conservadas en refrigeración (4 °C) evitando la exposición lumínica (Ver cuadro No. 1).

Cuadro No. 1: Muestras de miel de *Melipona beecheii* colectadas en las distintas regiones biogeográficas de Guatemala.

No. de mieles	Especie: <i>Melipona beecheii</i>	Código	Año de recolección	Departamento	Región biogeográfica
1	MB (CH)	103	2004	Santa Rosa	Chimalteca
2	MB (CH)	104	2005	Santa Rosa	Chimalteca
3	MB (CH)	47	2006	El Quiché	Chimalteca
4	MB (CH)	106	2006	Jutiapa	Chimalteca
5	MB (CH)	79	2007	Santa Rosa	Chimalteca
6	MB (CH)	105	2009	Santa Rosa	Chimalteca
7	MB (CH)	114	2010	Santa Rosa	Chimalteca
8	MB (CH)	101	2011	Santa Rosa	Chimalteca
9	MB (CH)	108	2011	Escuintla	Chimalteca
10	MB (CH)	125	2014	Santa Rosa	Chimalteca

Fuente: Unidad para el Conocimiento, Uso y Valoración de la biodiversidad del Centro de Estudios Conservacionistas (CECON). Universidad de San Carlos de Guatemala.

2. Actividad antimicótica *in vitro*

Para evaluar la presencia o ausencia de la actividad antimicótica *in vitro* de 10 mieles de *M. beecheii* se realizó un bioensayo contra tres dermatofitos a las concentraciones de 20, 40, 60 y 80% mostrando diferentes halos de inhibición (Ver figura No. 1, 2 y 3). Los datos obtenidos indican que la inhibición del crecimiento de los dermatofitos fue observado a las siguientes concentraciones de las mieles: *T. mentagrophytes* 20, 40, 60 y 80%, *T. rubrum* 40, 60 y 80%, *E. floccosum* en 60 y 80%. Solamente la miel colectada en el departamento de El Quiché presentó inhibición contra los tres dermatofitos. Asimismo, la miel que presentó el mayor halo de inhibición en *T. mentagrophytes* pertenece al departamento de Escuintla, en *T. rubrum* fue Santa Rosa y en *E. floccosum* fue El Quiché (Ver cuadro No. 2).

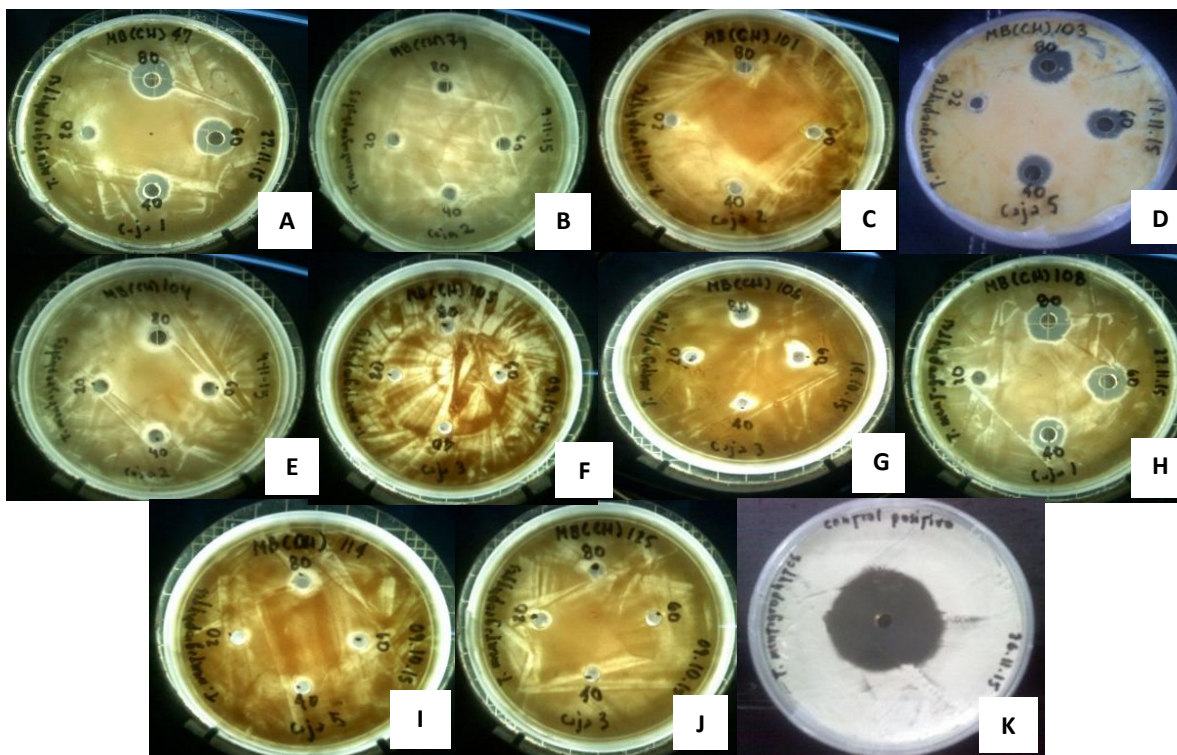
Cuadro No. 2: Diámetro de halos de inhibición de actividad antimicótica

Código de muestra de miel	Departamento	Dermatofitos											
		<i>T. mentagrophytes</i>				<i>T. rubrum</i>				<i>E. floccosum</i>			
		Concentración (%)											
		20	40	60	80	20	40	60	80	20	40	60	80
		Diámetro de inhibición (mm)											
MB(CH) 47	El Quiché	0	6	7	8	0	4	7	8	9	7	0	0
MB(CH) 79	Santa Rosa	0	0	0	0	0	4	5	6	0	0	0	0
MB(CH) 101	Santa Rosa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MB(CH) 103	Santa Rosa	0	5	6	8	0	10	13	15	0	0	0	0
MB(CH) 104	Santa Rosa	0	3	5	8	0	0	0	6	0	0	0	0
MB(CH) 105	Santa Rosa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MB(CH) 106	Jutiapa	2	3	4	6	0	0	8	9	0	0	0	0
MB(CH) 108	Escuintla	0	5	8	10	0	0	5	10	0	0	0	0
MB(CH) 114	Escuintla	0	0	3	5	0	5	10	14	0	0	0	0
MB(CH) 125	Santa Rosa	0	0	0	0	0	0	5	7	0	0	0	0

Fuente: Datos experimentales obtenidos en el laboratorio.

Tamizaje de diez mieles contra *T. mentagrophytes*: durante 3 días de incubación a las concentraciones de 20, 40, 60 y 80% presentando diferentes halos de inhibición (mm) (Ver figura 2,A- J). Se utilizó como control positivo terbinafina en donde se pudo observar que fueron inhibidos a 150 µg/ml. Los resultados del control indican que todos los hongos en su fase micelial fueron significativamente susceptibles (Ver figura 2,K).

Figura No. 2: Halos de inhibición de diez mieles de *M. beecheii* contra *T. mentagrophytes*

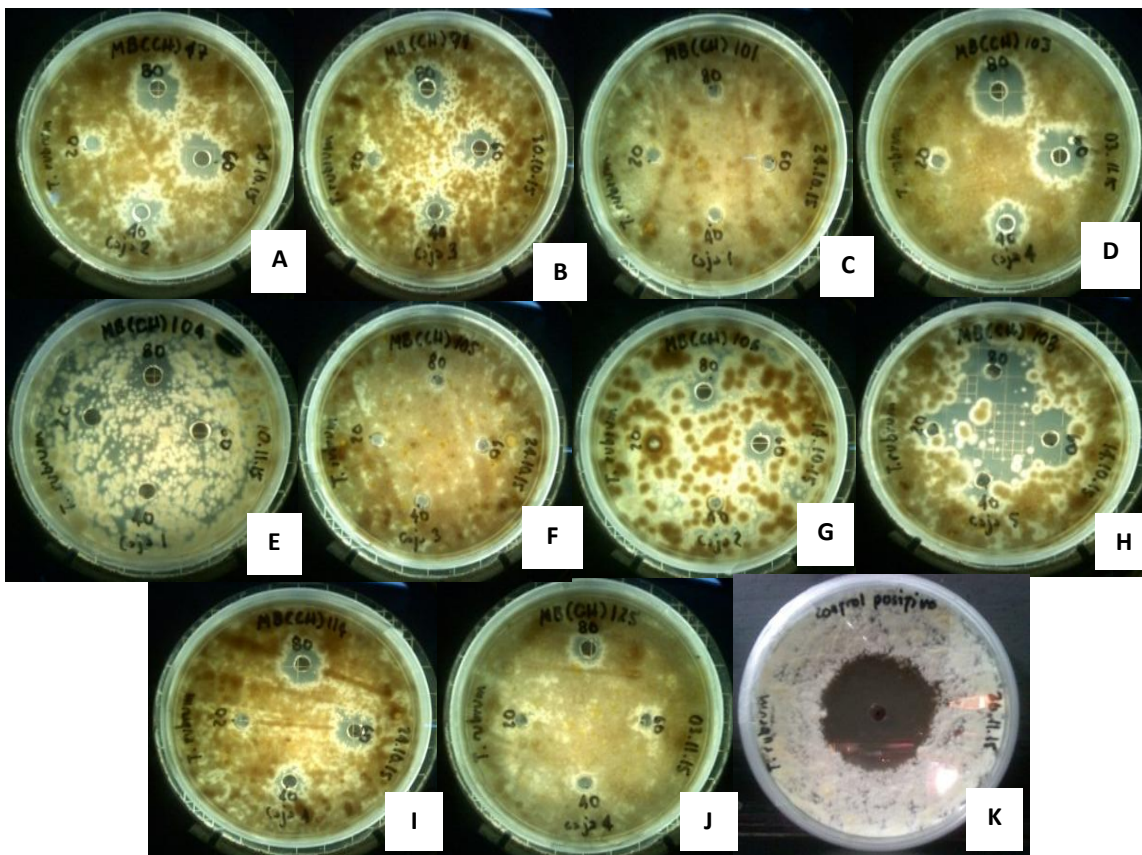


Fuente: Imágenes tomadas durante el experimento (Valencia, E. & Sanabria, S.)

A. MB(CH) 47 B. MB(CH) 79 C. MB(CH) 101 D. MB(CH) 103 E. MB(CH) 104 F. MB(CH) 105 G. MB(CH) 106 H. MB(CH) 108 I. MB(CH) 114 J. MB(CH) 125 K. Control positivo.

Tamizaje de diez mieles contra *T. rubrum*: durante 7 días de incubación a las concentraciones de 20, 40, 60 y 80% en donde se observó que ocho muestras presentaron inhibición (Ver figura 3,A- J). Se utilizó como control positivo terbinafina en donde se pudo observar que fueron inhibidos a 150 µg/ml. Los resultados del control indican que todos los hongos en su fase micelial fueron significativamente susceptibles (Ver figura 3,K).

Figura No. 3: Halos de inhibición de diez mieles de *M. beecheii* contra *T. rubrum*

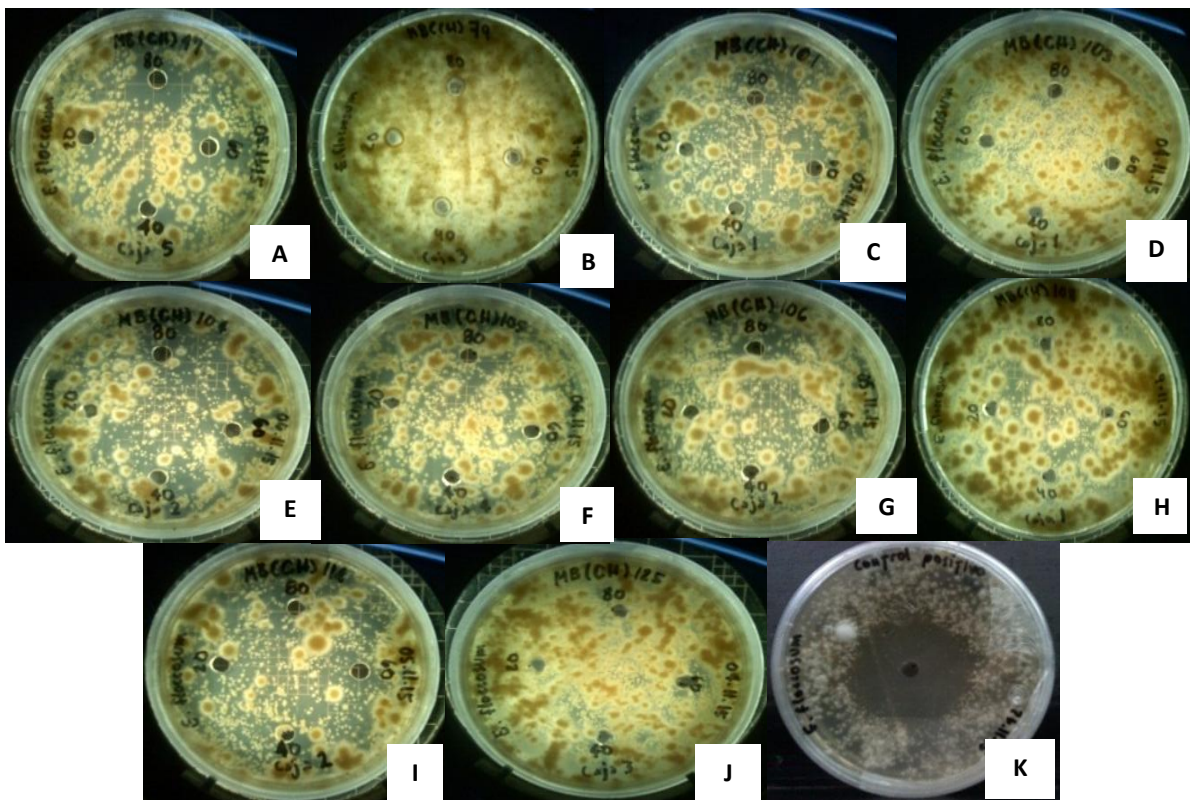


Fuente: Imágenes tomadas durante el experimento (Valencia, E. & Sanabria, S.)

A. MB(CH) 47 B. MB(CH) 79 C. MB(CH) 101 D. MB(CH) 103 E. MB(CH) 104 F. MB(CH) 105 G. MB(CH) 106 H. MB(CH) 108 I. MB(CH) 114 J. MB(CH) 125 K. Control positivo.

Tamizaje de diez mieles contra *E. floccosum*: a las concentraciones de 20, 40, 60 y 80% donde se demostró que a los siete días de incubación no hubo actividad inhibitoria excepto una muestra cómo se puede observar en la figura No. 4,A. Se utilizó como control positivo, terbinafina en donde se pudo observar que fueron inhibidos a 150 µg/ml. Los resultados del control indican que todos los hongos en su fase micelial fueron significativamente susceptibles (Ver figura 4,K).

Figura No. 4: Halos de inhibición de diez mieles de *M. beecheii* contra *E. floccosum*



Fuente: Imágenes tomadas durante el experimento (Valencia, E. & Sanabria, S.)

A. MB(CH) 47 B. MB(CH) 79 C. MB(CH) 101 D. MB(CH) 103 E. MB(CH) 104 F. MB(CH) 105 G. MB(CH) 106 H. MB(CH) 108 I. MB(CH) 114 J. MB(CH) 125 K. Control positivo.

3. Comparación de la actividad antimicótica *in vitro* contra *T. mentagrophytes* y *T. rubrum*

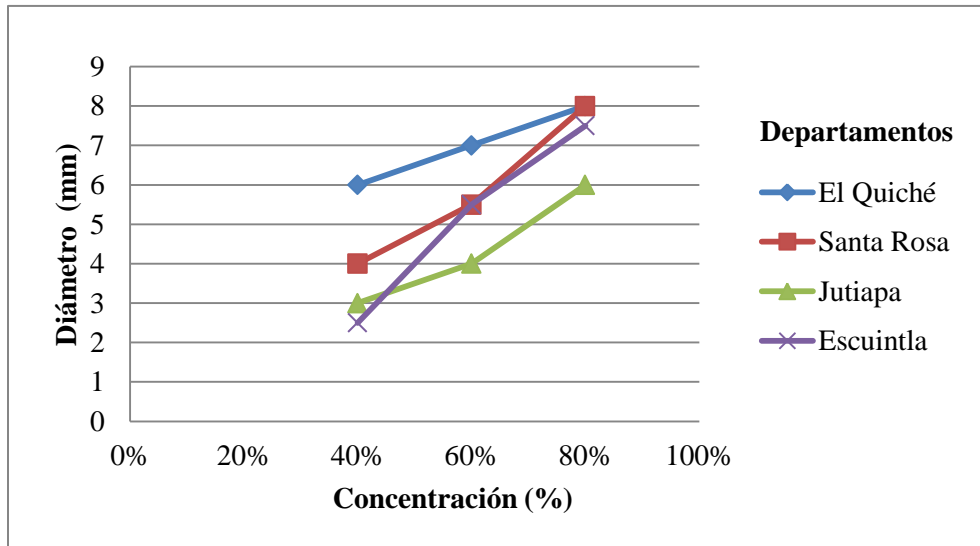
En la comparación de la actividad antimicótica de las mieles entre departamentos contra *T. mentagrophytes*, la muestra proveniente del departamento de El Quiché fue el que presentó en promedio mayores halos de inhibición a todas las concentraciones, seguido de Santa Rosa. Las muestras que presentaron en promedio mayores halos de inhibición en *T. rubrum* a la concentración de 80% fue Escuintla, al 60% Jutiapa y al 40% El Quiché (Ver cuadro No. 3 y Gráfica No. 1 y 2).

Cuadro No. 3: Promedios de diámetro de halos de inhibición a diferentes concentraciones de *T. mentagrophytes* y *T. rubrum*

Departamentos	Dermatofitos					
	<i>T. mentagrophytes</i>			<i>T. rubrum</i>		
	Concentración (%)					
	40	60	80	40	60	80
Promedio de diámetros (mm)						
El Quiché	6	7	8	4	7	8
Santa Rosa	4	5.5	8	3.5	5.7	8.5
Escuintla	2.5	5.5	7.5	2.5	7.5	12
Jutiapa	3	4	6	0	8	9

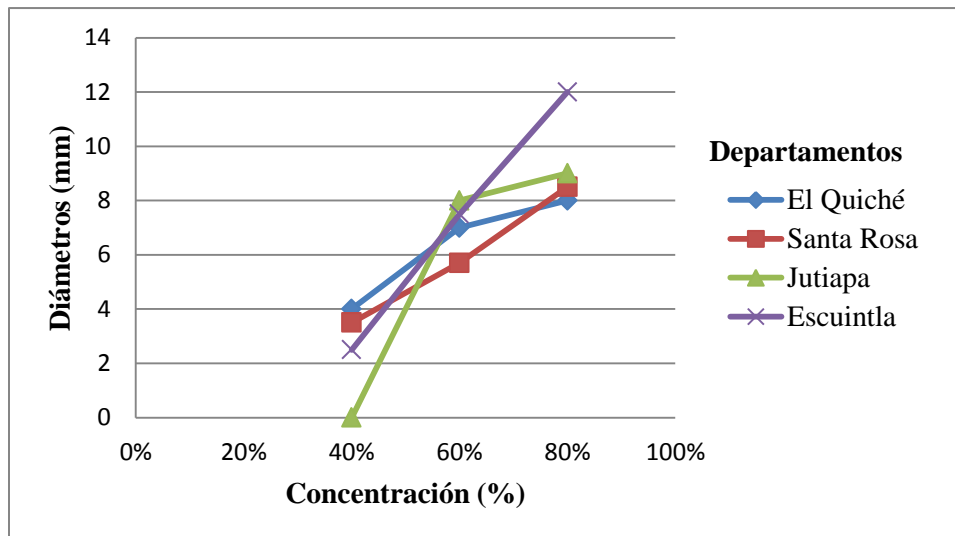
Fuente: Datos experimentales obtenidos en el laboratorio.

Gráfica No. 1: Promedios de diámetro de halos de inhibición a diferentes concentraciones contra *T. mentagrophytes*



Fuente: Datos experimentales obtenidos en el programa Excel 2010

Gráfica No. 2: Promedios de diámetro de halos de inhibición a diferentes concentraciones contra *T. rubrum*

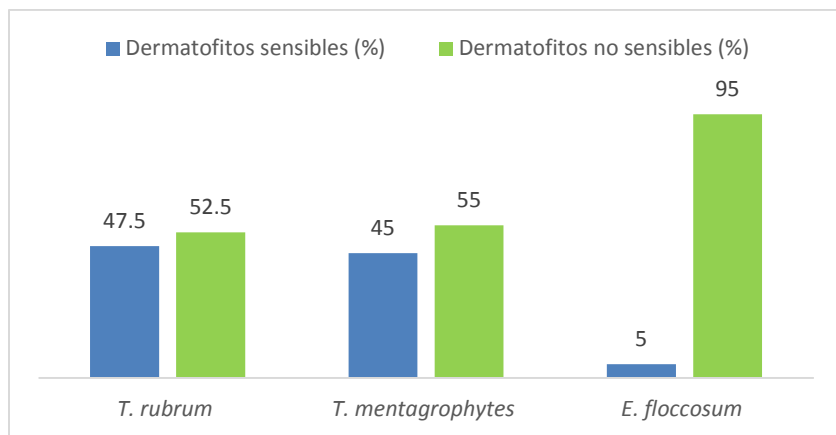


Fuente: Datos experimentales obtenidos en el programa Excel 2010

4. Porcentaje de dermatofitos sensibles y no sensibles a las mieles de *M. beecheii*

En *T. rubrum* se determinó que el 47.5% de las muestras de mieles presentaron inhibición, en *T. mentagrophytes* el 45% y en *E. floccosum* el 5% (Ver gráfica No. 3).

Gráfica No. 3: Porcentaje de dermatofitos sensibles y no sensibles



Fuente: Datos obtenidos en el programa JMP.

5. Significancia de resultados

Para determinar la significancia se hizo una comparación de halos de inhibición contra *T. mentagrophytes* se obtuvo que existe diferencia significativa y no existe diferencia significativa para *T. rubrum* a las concentraciones evaluadas de 40, 60 y 80% (Ver cuadro No.4).

Cuadro No. 4: Análisis de varianza de *T. mentagrophytes* y *T. rubrum*

Dermatofito	DF	F Ratio	Probabilidad	Probabilidad > F
<i>T. mentagrophytes</i>	2	4.7998	0.0259	Significativo
<i>T. rubrum</i>	2	1.7821	0.2001	No significativo

Fuente: Datos obtenidos por medio del programa. JMP.

De acuerdo a la prueba de Tukey- Kramer HSD para *T. mentagrophytes* existe diferencia significativa solo entre las concentraciones de 80% y 40%. Entre 80% - 60% y 60% - 40% no existe diferencia significativa. Cabe mencionar que no se realizó la prueba de Tukey en *T. rubrum* ya que de 40 pruebas no hubo relación entre los halos de inhibición por lo tanto se necesitaría de más muestras para tener buena representatividad de los resultados (Ver cuadro No. 5).

Cuadro No. 5: Prueba de Tukey en *T. mentagrophytes* (Q 2.61728, α 0.05)

Concentraciones (%)	Valor p	Conclusión ($p < 0.05$)
80 y 40	0.0233*	Significativo
80 y 60	0.1382	No significativo
60 y 40	0.5460	No significativo

Fuente: Datos obtenidos por medio del programa. JMP.

DF: Grados de libertad

α : Alpha (nivel de significancia prefijado)

p-Value: valor de P

P: Probabilidad

Pearson Chi-Square: Análisis de contingencia

Q: Puntos porcentuales de la distribución del rango estudentizado

F Ratio: Distribución F (Fisher) o valor crítico.

F: Estadístico calculado

Significancia (α): 0.05 %

De acuerdo a la prueba de Chi cuadrado se obtuvo que la inhibición de *T. rubrum* sí se relaciona con la concentración de miel y la inhibición de *T. mentagrophytes* y *E. floccosum* no se relaciona (Ver cuadro No. 6).

Cuadro No. 6: Análisis de contingencia de la presencia o ausencia de inhibición entre concentraciones de miel

Dermatofito	DF	Pearson Chi-Square	Pearson Prob > ChiSq	Prob > ChiSq
<i>T. mentagrophytes</i>	3	6.869	0.0762	No significativo
<i>T. rubrum</i>	3	15.539	0.0014*	Significativo
<i>E. floccosum</i>	3	2.105	0.5508	No significativo

Fuente: Datos obtenidos por medio del programa. JMP.

De acuerdo a los datos obtenidos se obtuvo que *T. mentagrophytes* se ajusta más al modelo de regresión debido a la existencia de una correlación significativa de las concentraciones de la miel y los halos de inhibición, por lo tanto, fue el único con diferencia significativa. Para *E. floccosum* no se pudo hacer análisis de regresión por presentar pocos datos con presencia de halos de inhibición (Ver cuadro No. 7).

Cuadro No. 7: Regresión lineal, análisis bivalente entre los halos de inhibición y las concentraciones.

Dermatofitos	DF	F Ratio	Prob	R²	Prob > F
<i>T. mentagrophytes</i>	1	15.7781	0.0011*	0.496509	Significativo
<i>T. rubrum</i>	1	3.7869	0.0684	0.182176	No significativo

Fuente: Datos obtenidos por medio del programa. JMP.

DF: Grados de libertad
F: Estadístico calculado

F ratio: Distribución F (Fisher) o valor crítico.
Pro: Probabilidad

R: Regresión lineal

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos después de haber realizado la evaluación de la actividad antimicótica *in vitro* de mieles de *M. beecheii* de la región biogeográfica Chimalteca de Guatemala a las concentraciones de 20, 40, 60 y 80% mostraron diferentes halos de inhibición y estos concuerdan con los reportados por Mervat y El-Gendy en 2010, donde evalúan la actividad antimicótica por medio de la técnica de difusión de agar demostrando que todas las muestras de miel a una concentración de 50, 100, 200 y 500 µg/ml inhibieron el crecimiento de algunos dermatofitos a diferentes grados.

De 10 muestras de mieles evaluadas, se determinó que la mayor sensibilidad *in vitro* alcanzada por los tres dermatofitos fue 47.5% para *T. rubrum*, 45% para *T. mentagrophytes* y 5% para *E. floccosum*. Estos datos son similares a los obtenidos en otro estudio en donde evalúan la miel de *Leptospermum scoparium* (Manuka) y se evidencia mayor sensibilidad contra *T. rubrum* y menor contra *T. mentagrophytes*. Cabe mencionar otro estudio de Mervat y El-Gendy (2010) en donde a una concentración de 100 µg/ml la miel de *Citrus reticulata* (flor de mandarina) exhibió potente actividad antimicótica contra especies de *Trichophyton* con halos de inhibición entre 22 y 35 mm de diámetro lo que indica que los diámetros de inhibición de *M. beecheii* son cercanos con valores de 15 mm (Brady, Molan, & Harfoot, 1996).

En nuestro estudio solamente una miel presentó actividad contra *E. floccosum* y las demás fueron resistentes esto coincide con el estudio de Mervat y El-Gendy (2010) en donde la miel de *Citrus reticulata* fue resistente contra especies de *Epidermophyton* a diferencia de otras mieles de *Cassia* y *Ziziphus* las cuales fueron sensibles obteniendo diámetros de 16 y 29 mm. La baja susceptibilidad de algunos de los organismos de prueba a las muestras de miel podría ser debida a varios factores que pueden influir en la actividad antimicótica tales como sus propiedades físico-químicas, componentes incluyendo ácidos fenólicos, flavonoides y otras biomoléculas, en diferentes tipos de miel, el origen botánico y entomológico de las abejas (Demera & Angert, 2004).

También cabe mencionar que Brady, Molan & Harfoot, (1996) determinaron al 20% halos de 1 mm de diámetro para *T. mentagrophytes* y en nuestro estudio se obtuvo halos de 20 mm a la misma concentración. Con esto se evidencia que a esa concentración la miel de *Melipona beecheii* presenta mayor halo de inhibición comparada a la miel de Manuka.

Se utilizó el antimicótico sintético como control positivo para el estudio, terbinafina para los dermatofitos en donde se pudo observar que los tres se vieron inhibidos a 150 µg/ml. Los resultados del control sintético obtenidos indican que todos los hongos en su fase miceliar fueron significativamente susceptibles.

Las mieles evaluadas presentaron diferentes niveles de inhibición entre departamentos pertenecientes a la región Chimalteca los cuales correlacionan con los obtenidos por Gheldof, Wang & Engeseth, (2002) en donde indican que al evaluar la actividad antimicótica de las mieles de diferentes regiones biogeográficas de Nigeria contra aislados fúngicos presentaron varios niveles de inhibición a diferentes concentraciones (20, 40, 60, 80 y 100%) debido a los diferentes orígenes botánicos y esta fue directamente proporcional a la concentración de la miel (Anyanwu, 2012). El color de la miel también se ve implicado a las plantas que las abejas visitan para recolectar el néctar ya que presentan un color ámbar con alta luminosidad (verde-amarilla) debido a las pequeñas cantidades de pigmentos (carotenoides, clorofila y xantofila) que establecen la diferencia entre una miel clara y otra oscura (Suescún & Vit, 2008).

La capacidad de las muestras de mieles de inhibir el crecimiento de varias especies de hongos es un índice de ser un potencial antimicótico de amplio espectro que lo convierte en un candidato para la aplicación como un agente antimicótico. Se han encontrado y documentado cientos de sustancias bioactivas en las mieles de *Melipona* en diferentes países (Oddo, et al., 2008) (Oliveira, Sarkis, Gracias, & Alves, 2012) (Silva, Santos, Rodrigues, Silva, & Novais, 2013). Entre estos compuestos con actividad biológica se encuentran los flavonoides, las enzimas glucosa oxidasa y catalasa, que han recibido una atención especial de grupos de investigación debido a su rol en la prevención de enfermedades asociadas con el estrés oxidativo (Aljadi & kamaruddin, 2004).

La actividad biológica de la miel se atribuye principalmente a los compuestos fenólicos que se ha relacionado con su capacidad antimicrobiana para desnaturalizar proteínas (Estevinho, Pereira, Moreira, Dias, & Pereira, 2008).

El conocimiento de los flavonoides y el contenido de los compuestos fenólicos en mieles de diversos climas, es importante para futuras investigaciones no solo por ser un marcador de origen floral sino también un indicador potencial de su capacidad biológica ya que su composición y naturaleza en diversas áreas geográficas (Europa, Norteamérica, Regiones ecuatoriales, Sudamérica, China y Australia (Tomás, Martos, Ferreres, Radovic, & Anklam, 2001) se ha observado que derivados de flavonoides de polen-néctar son los componentes principales (Montenegro, et al., 2003). Cientos de sustancias bioactivas han sido ya encontradas en mieles de especies de *Melipona* en diferentes países por lo que podría considerarse su estudio en Guatemala (Oddo, et al., 2008) (Oliveira, Sarkis, Gracas, & Alves, 2012) (Silva, Santos, Rodrigues, Silva, & Novais, 2013).

Una de las limitaciones que sobresale en este estudio es que no se contó con muestras de mieles suficientes de la especie en estudio y tampoco existen estudios relacionados con las especies de hongos por lo que no se puede llegar a un resultado concreto, por lo que podría considerarse en futuras investigaciones.

Con la finalidad de detectar si hay o no diferencia significativa entre halos de inhibición de la miel contra los tres dermatofitos se realizó un análisis de varianza y en base a los resultados se determina que existe diferencia significativa entre el halo de inhibición de la miel contra *T. mentagrophytes* con respecto a las concentraciones evaluadas. Posteriormente se realizó la prueba de Tukey comparando entre pares de concentraciones donde se obtuvo diferencia significativa entre 80 y 40%.

De acuerdo al análisis de regresión sí existe una correlación significativa entre la concentración de miel y el halo de inhibición contra *T. mentagrophytes*. Para *T. rubrum* no existe una correlación significativa entre la concentración de miel y el halo de inhibición.

Para *E. floccosum* no se puede hacer análisis de regresión por tener pocos datos del halo de inhibición.

De acuerdo a los resultados obtenidos sería conveniente seguir trabajando con las mismas mieles para evaluar su actividad contra otros hongos que producen enfermedades de importancia en el país.

X. CONCLUSIONES

1. Las mieles de *M. beecheii* sí presentan actividad antimicótica al ser aplicadas a *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* y *E. floccosum* a las concentraciones de 20, 40, 60 y 80% obteniendo que la concentración máxima de inhibición contra *T. mentagrophytes* fue de 10 mm.
2. Se pudo demostrar que la mayor sensibilidad *in vitro* alcanzada por los tres dermatofitos fue con *T. rubrum* (47.5%), seguida por *T. mentagrophytes* (45%) y *E. floccosum* (5%); del cual solamente la miel del departamento de El Quiché presentó consistencia con el grado de inhibición hasta cierto umbral contra los tres dermatofitos, siendo este el único que presentó inhibición contra *E. floccosum*.

XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios para conocer a profundidad los componentes que presentan actividad biológica específica, su asociación al origen biogeográfico y la concentración mínima inhibitoria de cada miel.
2. Realizar una comparación de mieles con relación a los años y su origen botánico.

XII. REFERENCIAS

- AGEXPORT. (24 de febrero de 2014). Cosecha de miel se reduce por el clima irregular. *Periódico Digital del Sector Exportador de Guatemala*, págs. 3-4.
- Aljadi, A., & kamaruddin, M. (2004). Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chemistry* , 85: 513–518.
- Álvarez, J., Giampieri, F., Gonzalez, A., Damiani, E., Astolfi, P., & Martinez, G. (2012). Phenolics from monofloral honeys protect human erythrocyte membranes against oxidative damage. *Food and Chemical Toxicology*, 50: 1508–1516.
- Anyanwu, C. (2012). Investigación de la actividad antifúngica *in vitro* de la miel . *Revista Journal of Medicinal Plants Investigación*, 6(18): 3.512-3.516.
- Armas, A. (2009). *Riqueza y distribución potencial de las abejas Euglosinas (Apinae: Euglossini) en Guatemala*. (Tesis de Licenciatura). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos. Guatemala.
- Bautista, M. (2013). *Características epidemiológicas, diagnóstico microbiológico, factores de riesgo y calidad de vida en pacientes con diagnóstico clínico de Tinea pedis y onicomycosis*. (Tesis de investigación de Licenciatura para optar el título de Médico y Cirujano). Facultad de Ciencias Médicas. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Bogdanov, S., Vit, P., & Kilchenmann, V. (1996). Sugar profiles and conductivity of stingless bee honeys from Venezuela. *Apidologie*, 27: 445-450.
- Boletín Informativo. (2006). Casuística de micosis superficiales. *Las micosis en Venezuela*, 39: 4-7.
- Brady, P., Molan, C., & Harfoot, G. (1996). The sensitivity of dermatophytes to the antimicrobial activity of Manuka honey and other honey. *Pharmaceutical Sciences* , 2(47):1473.
- Cabañes, F. (2001). Identificación de hongos dermatofitos. *Rev Iberoam Micol.* [en línea] [accesado 20 junio 2014]; Disponible en: <http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo12.pdf>.

- Cáceres, A. (1999). Manual de Procedimientos del Proyecto Biodiversidad Tropical de Centro América. Organización de Estados Americanos. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. (pp.17-18).
- Cancliracci, M., Citterio, B., & Piatti, E. (2012). Food Chem. 131(2):293-499.
- Cano, E. (1990). *Phizlophaga (Coleóptera: Scarabaeidae: Melolonteinae) de Guatemala: sistemática, diversidad, biología y biogeografía*. Laboratorio de Entomología Sistemática. Universidad del Valle de Guatemala. Guatemala, Guatemala: FONACYT y UVG.
- Cauich, R., Ruiz, J., Ortiz, E., & Segura, M. (2015). Potencial antioxidante de la miel de *Melipona beecheii* y su relación con la salud: una revisión. *México: Nutrición Hospitalaria*, 32(4):1432-1442.
- Charles, D. (2000). The bees of the world. The John Hopkins University Press. Baltimore, Londres. The John Hopkins University Press. Baltimore, Londres.
- Colella, M. (2006). Susceptibilidad antifúngica en dermatofitos. *Kasmera*, 34(2); 85-92.
- Dardón. (2005). *Caracterización fisicoquímica y antibacteriana de la miel de Melipona beecheii en Guatemala*. (Tesis de Licenciatura). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Dardón, J., & Enríquez, E. (2008). Caracterización fisicoquímica y antimicrobiana de la miel de nueve especies de abeja sin aguijón (Meliponini) de Guatemala. *Interciencia*, 12(33): 916-922.
- Demera, J., & Angert, E. (2004). Comparison of the antimicrobial activity of honey produced by *Tetragonisca angustula (Meliponinae)* and *Apis mellifera* from different phytogeographic regions of Costa Rica. *Apidologie* , 35, 411–417.
- Ellisa, A. (2008). Métodos para validación de actividad antimicrobiana y determinación de concentración mínima inhibitoria (CIM) de plantas medicinales. *Brasileira de Farmacognosia*, (18): 301-307.
- Enríquez, E., & Dardón, J. (2007). Caracterización de la miel de meliponinos de distintas regiones biogeográficas de Guatemala. *En resúmenes de investigaciones*, Dirección General de Investigación. Universidad de San Carlos. Guatemala (pp. 3-8).

- Enríquez, E., & Solis, A. (2001). En *Situación actual de la meliponicultura en Pueblo Nuevo Viñas, Santa Rosa, Guatemala*. II Seminario mexicano sobre abejas sin aguijón. Mérida, Yucatán, México. (pp.120).
- Enríquez, E., Maldonado, C., & Dardón, J. (2007). Caracterización de la miel de abejas sin aguijón (Apidae: Meliponini) de Guatemala. (pp. 40-44) Mérida, México: En memorias V Congreso Mesoamericano sobre abejas sin aguijón.
- Enríquez, E., Yurrita, C., Aldana, C., Ochenta, J., Jáuregui, R., & Chau, P. (2005). Conocimiento tradicional acerca de la biología y manejo de abejas nativas sin aguijón en Chiquimula. *Agricultura*, 8, 27-30.
- Enríquez, E., Yurrita, C., Ayala, R., & Marroquín, A. (2006). Diversidad de abejas silvestres de Guatemala.
- Espinoza, N. (2004). Caracterización de la flora apícola visitada por cinco especies de abejas sin aguijón en el meliponario Sinaí, Aldea San Antonio Las Flores, Pajapita, San Marcos. (Tesis de Licenciatura). Facultad de Humanidades. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Estevinho, L., Pereira, A., Moreira, L., Dias, L., & Pereira, E. (2008). Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. *Food Chem Toxicol*, 46:3774–3779.
- Estrada, H., Gamboa, C., Reyes, C., & Arias, M. (2005). Evaluación de la actividad antimicrobiana de la miel de abeja contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* y *Aspergillus niger*. *Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. ALAN*, 55(2).
- Fernández, B. (2005). *Sensibilidad antifúngica de los dermatofitos*. (Tesis doctoral). Unidad de Microbiología. Universidad Roviera i Virgili, Reus, España.
- Forbes, B., Sahm, D., & Weissfeld, A. (2009). *Diagnóstico microbiológico*. 12a. Edición. Buenos Aires: Médica Centroamericana.
- Gheldof, N., Wang, X., & Engeseth, N. (2002). Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21): 5870–5877.

- Gioseffi, M., Guerdile, M., Boscaro, G., Giachetti, A., Nogueiras, M., Greco, G., . . . Giardelli, M. (2009). *Tinea corporis*. *Arch Argen Pediatr*, 107 (3): 259-263.
- González, A. (2008). Cría y manejo de las abejas nativas sin aguijón en México. En *Cría y manejo de las abejas nativas sin aguijón en México*. Universidad Autónoma de Yucatán. Secretaria de Fomento Agropecuario y Pesquero. Dirección Estatal de Apicultura. Gobierno del Estado de Yucatán. (pp.177). México: Planeta Impresores S.A.
- Gutiérrez, M., Enríquez, E., Lusco, L., Rodríguez, A., Persano, O., & Vit, P. (2008). Caracterización de mieles de *Melipona beecheii* y *Melipona solani* de Guatemala. *Revista Facultad de Farmacia*, 50(1): 2-6.
- Hernández, A., Carbajal, P., Fernández, R., & Arenas, R. (2007). Dermatofitosis por *Trichophyton rubrum*. Experiencia de 10 años (1996-2005) en un servicio de dermatología de un hospital general de la Ciudad de México. *Revista Iberoamericana de Micología*, 24, 122-1224.
- Huicochea, L. (2011). Sabores, saberes y rituales curativos en torno a la miel de las meliponas. *ECOFRONTERAS*, 43(24).
- Jessup, C., Ryder, N., & Ghannoum, M. (2000). An evaluation of the *in vitro* activity of terbinafine. *Medical Mycology*, 38, 155– 159.
- Jessup, C., Warner, J., Isham, N., Hasan, I., & Ghannoum, M. (2000). Antifungal susceptibility testing of dermatophytes: establishing a medium for inducing conidial growth and evaluation of susceptibility of clinical isolates. *J Clin Microbio*, 38(1):341-4.
- Khosravi, A., Shokri, H., Katirae, F., Ziglari, T., & Forsi, M. (2008). Fungicidal potential of different Iranian honeys against some pathogenic *Candida* species. *J. Agric. Res*, 47(4), 256-260.
- Koc, N., Silici, S., Kasap, F., Hormet, T., & Mavus, H. (2008). Antifungal activity of Turkish honey against *Candida* sp.: *Trichosporon* spp. an *in vitro* evaluation. *Med Mycol*, 2:1-6.
- Koneman, E. (2006). Diagnóstico microbiológico, texto y atlas en color. (pp. 1141). Madrid, España: Médica panamericana.

- Kucuk, M., Kolayli, S., Karaoglu, S., Ulusoy, E., Baltaci, C., & Candan, F. (2007). Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem*, 100: 526-534.
- Logemann, H. (1995). Manual práctico de Micología Médica. (pp. 227). Guatemala: Bayer de Guatemala.
- Lora, C., Luján, M., Robles, H., Saravia, V., & Cabeza, J. (2010). Efecto *in vitro* de diferentes concentraciones de *Allium sativum* “ajo” frente a dermatofitos y *Candida albicans*. *UCV - Scientia Perú: Universidad César Vallejo.*, 2(2).
- Magaldi, S., Mata, S., Hartung, C., Pérez, C., Colella, M., Olaizola, C., & Ontiveros, Y. (2004). Well diffusion for antifungal susceptibility testing. *Journal of Infectious Diseases*, 8: 39-45.
- Manzano, P. (2008). II. Las micosis superficiales: su relevancia médica y socioeconómica. *Micología Médica en México*, 144(2).
- Marroquín, A. (2000). Sistemática e historia natural de las abejas (Hymenoptera:Apoidea) de Guatemala. (Tesis de Licenciatura). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Martinez, E., Matta, V., Carias, J., Porras, C., Logeman, H., & Arenas, R. (2012). Dermatofitos y dermatofitosis: Frecuencia en Guatemala durante el periodo de mayo del 2008 a junio 2009. *Revista Científica año 2012 de Investigaciones Químicas y Biológicas*, 2(1):19-23.
- Méndez, L., Manzano, P., Velásquez, V., Millan, B., Hernández, F., Mondragón, R., & López, R. (2007). Resistencia a compuestos azólicos de aislamiento clínico de *Trichophyton* spp. *Revista Iberoamericana de Micología*, 24: 320-322.
- Mendizábal, F. (2005). *Abejas*. Buenos Aires. República Argentina: Albatros. (pp. 85).
- Mitscher, L. et al. (1972). Antimicrobial agents from higher plants. Introduction, rationale and methodology. *Lloydia*, 35: 157-166.
- Moguel, Y., Echazarreta, C., & Mora, R. (2005). Physicochemical quality of honey from honeybees *Apis mellifera* produced in the State of Yucatan during different stages of the production process and blossoms. *Téc Pecú México*, 43(3):323-334.
- Molan, P. (1992). The antimicrobial activity of honey: 1 The nature of the antibacterial activity. *Bee world*, 73(1):5-28.

- Molina, R. (2005). Determinación de la actividad biocida del extracto etanólico y sus participaciones (hexánica, clorofórmica, acetato de etilo y acuosa) de hojas de *Cornutia pyramidata* L. (jorobté). (Tesis de Licenciatura). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos Guatemala, Guatemala.
- Monroy, R. (2011). *Actividad in vitro de seis plantas medicinales nativas contra los principales hongos dermatofitos y levaduriformes que afectan piel y anexos en perros*. (Tesis de Licenciatura). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Montenegro, G., Pizarro, R., Avila, G., Castro, R., Rios, R., Muñoz, O., . . . Gómez, M. (2003). Evaluación biológica de polen apícola de plantas nativas de Chile. *Ciencia e Investigación Agraria*, 30, 161.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2002). Reference Method for Broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium forming filamentous fungi; proposed standard document M38-P. *Wayne Pennsylvania*.
- Nogueira, N. (2006). Meliponicultura Global: Retos y Oportunidades. *Brasil: Apidologie Versailles*, 37: 275-292.
- Oddo, L., Heard, T., Rodríguez, A., Pérez, R., Fernández, M., & Sancho, M. (2008). Composition and antioxidant activity of *Trigona carbonaria* honey from Australia. *Journal of Medicinal Food*, 11, 789–794.
- Oladejo, J., Ramota, R., Taiwo, B., Olaosebikan, M., Charles, N., & Afalobi, O. (2013). Susceptibility of dermatophytes to Aloe vera juices using agar diffusion and broth dilution techniques. *American Journal of Research Communication*, 1(8).
- Olaitan, P., Adeleke, O., & Ola, I. (2007). Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *African Health Sciences*, 3(7):159-165.
- Oliveira, P., Sarkis, R., Gracas, K., & Alves, C. (2012). Phenolic acids, flavonoids and antioxidant activity in honey of *Melipona fasciculata*, *M. flavolineata* (Apidae, Meliponini) and *Apis mellifera* (Apidae, Apini) from the Amazon Quim. *Nova*, 35(9):1728-1732.
- Orozco, L., Peineres, J., Garcia, C., Carillo, L., Quintero, M., Garcia, S., . . . Cruz, T. (2008). Estudio de la actividad antifúngica de un extracto de propóleo de la abeja

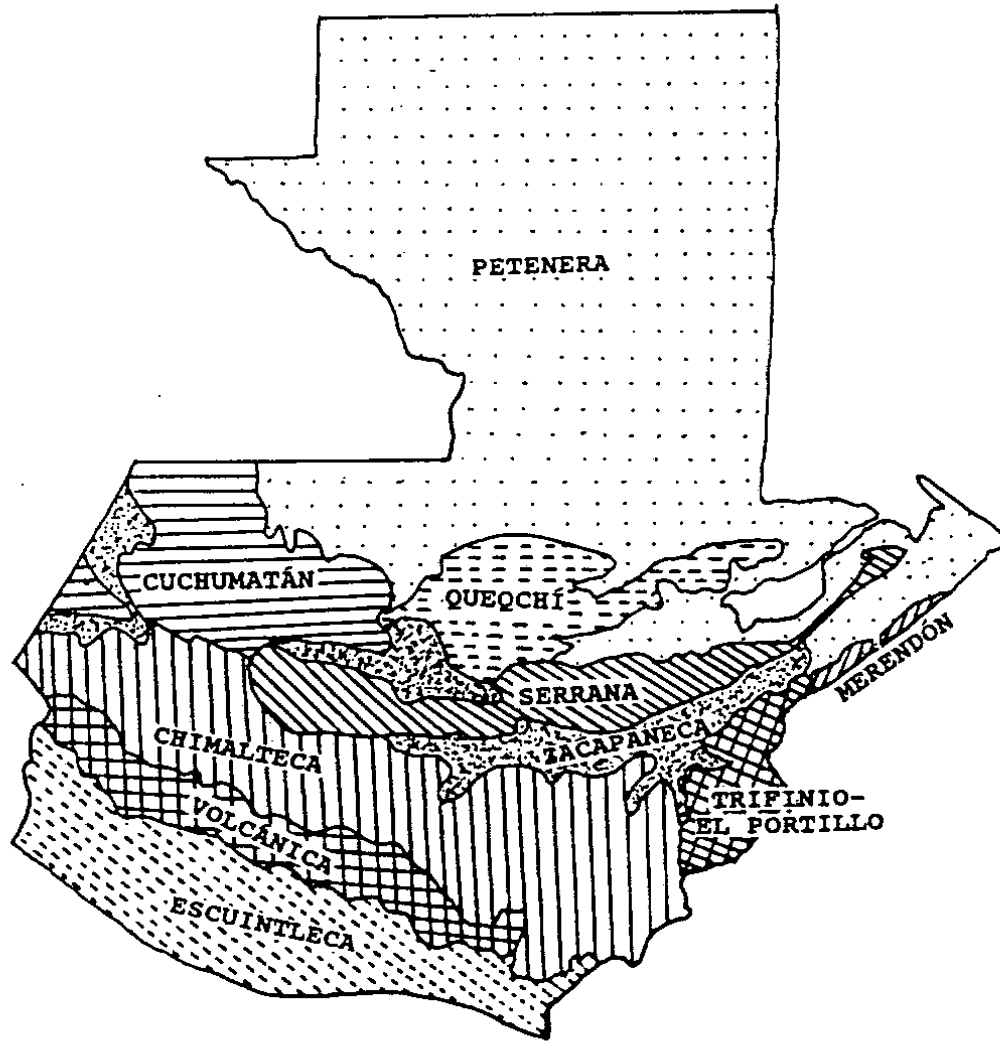
- Apis mellifera* proveniente del estado de México. *Tecnología en marcha*, 21(1): 49-55.
- Ortíz, H. (2006). *Actividad antifúngica de los extractos etanólicos de la flor de Bourreria huanita y la hoja de Lippia graveolens y sus particiones hexánica, clorofórmica, acetato de etilo y acuosa contra los hongos Sporothrix schenckii y Fonsecaea pedrosoi*. (Tesis de Licenciatura). Facultad de Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Perelli, A., Calzolaio, V., & González, E. (2012). Micosis superficiales en atletas de la Facultad de Ciencias de la Educación. Universidad de Carabobo. *Kasmera*, 40 (1): 59-66.
- Pérez, J. (2005). Aspectos actuales sobre las dermatofitosis y sus agentes etiológicos. *Revista ciencias básicas: Biosalud*, 14,105-121.
- Pinto, T. (2003). *El control biológico de calidad de los productos farmacéuticos y relacionados cosméticos*. 2da. Edición. Brasil: Atheneu.
- Pokharkar, R., Funde, P., & Pingales, S. (2008). Antibacterial activity of the Fatty Acid Methyl Esters from synthesis of Sesbania Rostrata Seed by in-Situ Transesterification Reaction. *Pharmacologyonline*, 1: 32-37 .
- Prada, L. (2008). *Caracterización y evaluación de actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de hongos de la familia Tricholomataceae frente a agentes causales de dermatomycosis en animales*. Tesis de Licenciatura para optar al Título de Microbiólogo Industrial. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C.
- Quezada, E. (2005). Biología y uso de las abejas sin aguijón de la Península de Yucatán, México (Hymenoptera: Meliponini). (pp.45). Mérida, Yucatán, México: Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán.
- Rosso, J., & Nates, G. (2005). Meliponicultura: una actividad generadora de ingresos y servicios ambientales. *LEISA revista de agroecología*, 21(3):14-16. .
- Ruiz, J., Arenas R., Rodríguez M., Monroy, E., Fernández, R. (2003). *Tinea pedis* y onicomycosis en niños de una comunidad indígena Mazahua. *Gac Méd Méx*, 139(3):215-220.

- Sánchez, M., Sánchez, S., & Sena, H. (2009). Infecciones micóticas superficiales. *Dermatología Peruana*, 19(3):226-266.
- Sharapin, N. (2000). Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Colombia: CAB Y CYTED.
- Silva, T., Camara, C., Lins, A., Filho, J., Silva, E., & Freitas, B. (2006). Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 507–511.
- Silva, T., Santos, F., Rodrigues, A., Silva, E., & Novais, J. (2013). Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of Jandaira (*Melipona subnitida*) honey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 29, 10–18.
- Sólis, P., De solis, N., Gattuso, S., & Cáceres, A. (2005). Manual de Caracterización y Análisis de Drogas Vegetales y Productos Fitoterapéuticos. (pp.49). México.
- Soto, E., Yoc, A., Guitiérrez, J., Arriola, M., & Arriola, M. (2012). *Estudios de Actividad Biocida, Citotóxica y Genotóxica de Tres Plantas Medicinales de la Familia Euphorbiaceae: Euphorbia Lancifolia, Cnidoscolus Aconitifolius Var. Mansa y Cnidoscolus Aconitifolius Var. Estrella*. (Tesis de Licenciatura). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Stuart, C. (1942). Una descripción preliminar de las provincias bióticas de Guatemala, fundada sobre la distribución del género salamandrino (sic). *USA: Anales de la Sociedad de Geografía e Historia de Guatemala*, 1(18): 29-38.
- Suescún, L., & Vit, P. (2008). Control de calidad de la miel de abeja producida como propuesta para un proyecto de servicio comunitario obligatorio. *Fuerza Farmacéutica*, 12(1).
- Tomás, F., Martos, I., Ferreres, F., Radovic, B., & Anklam, E. (2001). HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys *Sci. Food Agr*, 81, 485.
- Treviño, J., Rodríguez, R., Verde, J., Morales, E., Garza, R., Rivas, C., & Oranday, A. (2012). Actividad antifúngica de *Stenocereus pruinosus* y *Echinocereus stramineus*. *Rev Mex Cienc Farm*, 43(1): 18.

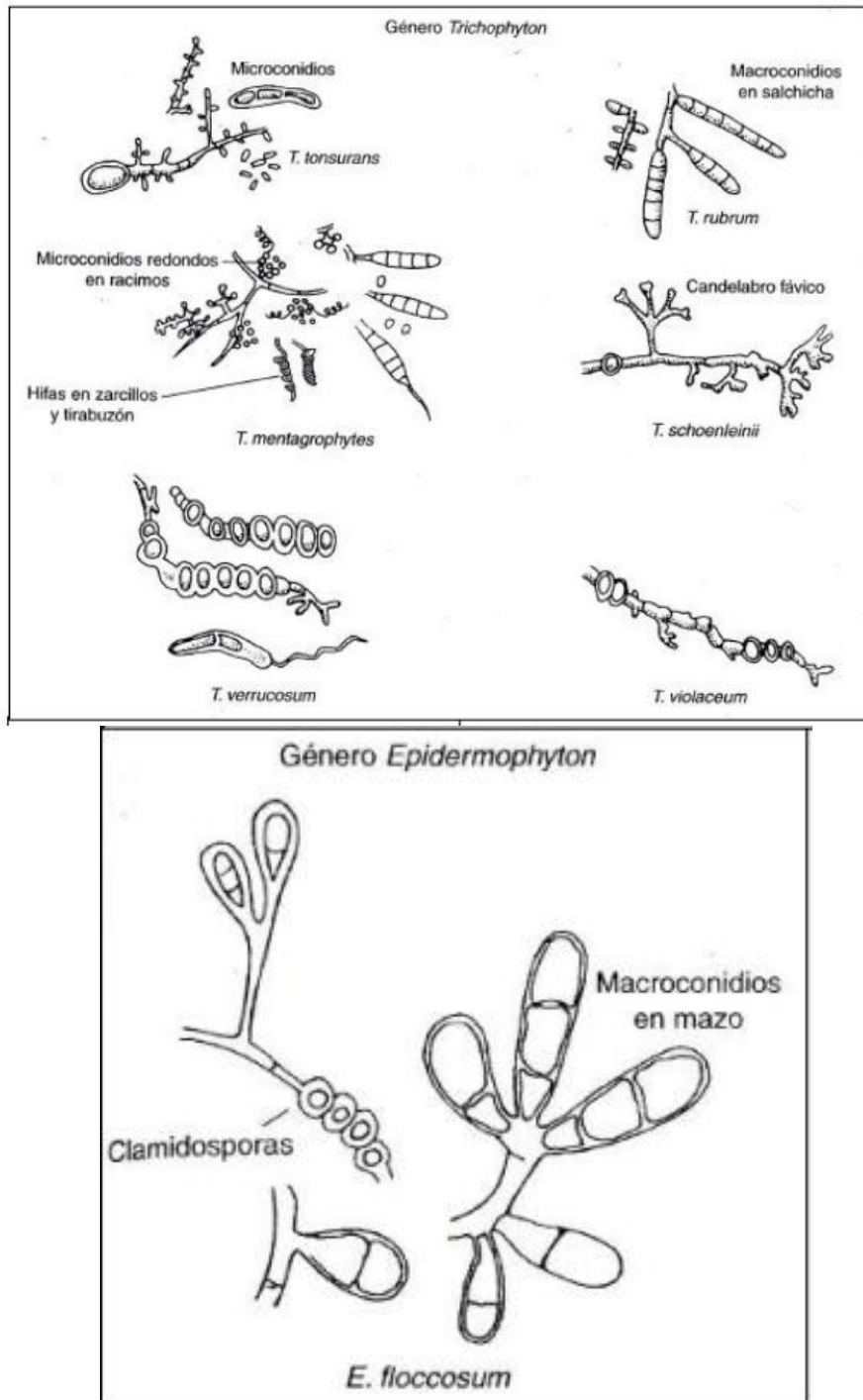
- Tulio, V., Banche, G., Panzone, M., Cervetti, O., Roana, J., Allizond, V., . . . Cuffini, M. (2007). *Tinea pedis* and *Tinea unguium* in a 7-year-old child. *Journal of Medical Microbiology* , 56, 1122–1123.
- Vásquez , P. (2012). *Prevalencia de Dermatofitosis en Niños Institucionalizados en Edad Preescolar, Parroquia Valentín Valiente, Municipio Sucre*. (Tesis para optar por el Título de Licenciado en Bioanálisis). Escuela de Ciencias. Universidad de Oriente, Cunamá.
- Villanueva, G., & Roubik, D. (2005). Extinction of *Melipona beecheii* and traditional beekeeping in the Yucatán península . *Bee World*, 86(2): 35-41.
- Villanueva, R., & Colli, W. (2012). Rescate de la meliponicultura en la Zona Maya de Quintana Roo. En V. P. DW (Ed.).
- Vit, P. (2008). Honey Quality Control Norms still lacking for pre-columbian stingless bees (Meliponini). *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 3(42): 415-423.
- Vit, P., Medina, M., & Enríquez, E. (2004). Quality standards for medicinal uses of *Meliponinae* honey in Guatemala, México and Venezuela. *Bee World*, 85(1): 2-5
- Zunino, M., & Zullini, A. (2003). En *Biogeografía la dimensión espacial de la evolución*. Pimentel M. trad. México: Fondo de Cultura Económica.

XIII. ANEXOS

Anexo No. 1: Mapa de las áreas Bióticas de Guatemala. Modificado en parte de Stuart (1942), Campbell y Vannini (1989) y Schuster (1985)



Anexo 2: Características microscópicas de los dermatofitos



Fuente: Imagen tomado de Cabañes F.: Identificación de hongos dermatofitos. Rev Iberoam Micol. 2001

Evelin Yanira Valencia Velásquez

Autora

Shirly Janet Sanabria Guillermo

Autora

Lic. Carlos Maldonado Aguilera

Asesor

Lic. Manuel Alejandro Díaz Paz

Asesor

M.A. María Eugenia Paredes Sánchez

Revisora

MSc. Alba Marina Valdés de García

Directora

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda

Decano