

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

Lourdes Lorenzana, Antulio Nehemías Cardona Fuentes y Armando Cáceres
Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia,
Universidad de San Carlos de Guatemala.

RESUMEN

En el municipio de Tacaná, San Marcos, Cardona en el año 2001 inició un trabajo de tesis en el cual colectó información etnobotánica de la comunidad mam. Los resultados de dicho trabajo se plantearon como recomendación para la validación científica de la acción terapéutica atribuida a las plantas, especialmente de aquellas que se posee poca o ninguna información bibliográfica. Se seleccionaron y obtuvieron seis especies: *Bocconia arborea*, *Hypericum uliginosum*, *Prionosciadium thapsoides*, *Salvia lavanduloides*, *Salvia microphylla* y *Selaginella silvestris* y se extrajeron por reperlación los componentes afines al etanol al 95% de cada una.

Los extractos etanólicos se enfrentaron a bacterias Gram positivo y Gram negativo, levaduras, hongos filamentosos, protozoos, larvas de insectos y al nauplio *Artemia salina*, con el fin de determinar su actividad biocida.

En el ensayo antibacteriano y antilevadura se demostró la actividad de *H. uliginosum* a una concentración inhibitoria mínima (CIM) de 0.25 mg/mL para *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium smegmatis* y *Cryptococcus neoformans*, y a una CIM de 1 mg/mL para *Trichophyton rubrum*; *S. microphylla* tuvo actividad a una CIM de 0.25 mg/mL para *C. neoformans*, 0.5 mg/mL para *S. aureus*, *B. subtilis*, *M. smegmatis*, y 1 mg/mL para *T. rubrum*; de *B. arborea* una CIM de 0.5 mg/mL se encontró actividad contra *S. aureus* y *M. smegmatis*; de *P. thapsoides* a una CIM de 0.5 mg/mL para *M. smegmatis* y *T. rubrum* a una CIM de 1 mg/mL; *S. lavanduloides* para *S. aureus*, *B. subtilis*, *M. smegmatis*, *C. neoformans* a una CIM de 1 mg/mL. No se encontró actividad en *S. silvestris*.

En la actividad contra protozoos se encontró efecto biocida en *B. arborea*, inhibiendo el 90% de los protozoos a las siguientes concentraciones: 0.38 mg/mL para *Trypanosoma cruzi*, 0.46 mg/mL para *Leishmania braziliensis* y 0.82 mg/mL para *Leishmania mexicana*. El extracto etanólico de la semilla de *P. thapsoides* inhibió al género *Leishmania* en una concentración de 0.66 mg/mL y 0.79 mg/mL para *L. braziliensis* y *L. mexicana* respectivamente.

Ningún extracto mostró actividad citotóxica contra *A. salina*, ni actividad insecticida contra larvas de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* en ninguno de sus cuatro estadios larvarios.

INTRODUCCIÓN

En Guatemala existe una gran diversidad de flora y fauna, gracias a las condiciones climatológicas imperantes que hacen del territorio nacional un hábitat perfecto para el desarrollo de plantas medicinales. Sobre su actividad medicinal y sobre su capacidad biocida es escasa la información documentada. La información que se posee, está basada en la experiencia transmitida por comunicación verbal de generación en generación, en las diferentes comunidades de la región mam. El conocimiento acerca de la etnia mam, ha sido recopilado en distintos trabajos de tesis realizados en las Facultades de Medicina y Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, con mayor énfasis en sus usos ornamentales, alimenticios y medicinales que poseen, según la región estudiada (1-4).

A la fecha, de las plantas de uso medicinal en el municipio de Tacaná, solamente se tiene información de la tesis denominada: "Etnobotánica de flora nativa de uso medicinal y alimenticio en una población de etnia mam del municipio de Tacaná, departamento de San Marcos", trabajo en el que se describen 75 especies que son utilizadas medicinalmente en la región, de las

cuales algunas tienen documentación de su actividad biocida y otras que son nativas carecen de la misma, lo que hace necesario realizar este tipo de investigación (1).

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

El presente trabajo pretende validar científicamente la acción terapéutica de las plantas *Bocconia arborea*, *Hypericum uliginosum*, *Prionosciadium thapsoides*, *Salvia lavanduloides*, *Salvia microphylla* y *Selaginella silvestris*, del municipio de Tacaná, departamento de San Marcos, recolectadas por su uso etnomédico en una comunidad mam, para que de esta manera se demuestre su actividad y permita su conservación y uso.

MATERIALES Y MÉTODOS

Universo

De 75 plantas medicinales recolectadas, se seleccionaron 30 plantas escasamente conocidas por la población general del país (1). La muestra correspondió a seis especies pertenecientes a la familias *Papaveraceae* (*B. arborea*), *Clusiaceae* (*H. uliginosum*), *Apiaceae* (*P. thapsoides*), *Lamiaceae* (*S. lavanduloides* y *S. microphylla*) y *Selaginellaceae* (*S. silvestris*) utilizadas etnobotánicamente por la comunidad mam. De estas plantas se trabajó la parte aérea excepto *P. thapsoides* de la cual se evaluó la semilla.

Obtención de extractos

De las plantas estudiadas, se separaron los órganos de interés para el estudio, se molieron y colocaron en un percolador 150 g de materia seca vegetal, se cubrieron con etanol 95%, se dejaron reposar durante 24 horas, seguidamente se eluyeron las tinturas y se concentraron en rotavapor a 40°C, con presión reducida hasta obtener una consistencia de "melcocha"; el alcohol recuperado se reutilizó para completar la extracción. Este procedimiento se repitió hasta que la tintura eluida dejó de presentar color. Se vertió el extracto en placas de cristalización y se dejó en desecadora hasta completa sequedad. Se etiquetó y almacenó el extracto en frasco oscuro a 4°C, para luego someterlo a los diferentes ensayos (5).

Actividad contra bacterias y hongos levaduriformes

La actividad contra bacterias y levaduras se determinó por el método de dilución de Mitscher *et al.* (6) en agar Mueller Hinton (AMH) conteniendo 1 mg/mL del extracto. Se usó bacterias proporcionadas por el Subprograma X del CYTED (*Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Mycobacterium smegmatis* ATCC 607, *Staphylococcus aureus* ATCC 6558, *Escherichia coli* ATCC 9637, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 14028, *Candida albicans* ATCC 10231) y por la Facultad de CCQQ y Farmacia (*Cryptococcus neoformans* CCQQ C-13), las que se inocularon en caldo nutritivo por 24 horas a 36°C, se diluyeron 1:100 e inocularon por estrías en cuadruplicado en la superficie del AMH, incubandolas a 36°C por 24 horas (5). La actividad se demostró por inhibición del crecimiento bacteriano. En los extractos positivos se determinó la CIM en cajas cuadruplicate con 1, 0.5 y 0.25 mg/mL.

Actividad contra hongos filamentosos

La actividad contra estos hongos filamentosos se llevó a cabo por el método de MacRae *et al.* (7) que consistió en purificar los hongos en agar Mycosel, luego se inocularon en medio para esporulación (Takashio), se incubaron a 27°C por 21 días,

posteriormente se colectaron las esporas y se estandarizó una suspensión de 100 esporas/mL, se guardó a 4°C. Se prepararon cajas con agar Sabouraud (AS) con 1 mg/mL del extracto, se perforaron agujeros de 5 mm de diámetro, se inoculó 30 µL de la suspensión de esporas y se incubó a 27°C en el caso de *Aspergillus flavus* (CCQQ A-75) durante 24-48 horas y en el caso de *Trichopyton rubrum* (CCQQ T-4) durante 15-21 días. Para la CIM se utilizó el mismo procedimiento con 1, 0.5 y 0.25 mg/mL. Si el diámetro del crecimiento del hongo era menor del 75% respecto al control negativo, la actividad se consideró positiva (5).

Actividad contra protozoos

Epimastigotes de *Trypanosoma cruzi*

La actividad antitripanosoma *in vitro* se evaluó por el método adaptado de González *et al.* (8) que consiste en descongelar rápidamente a 37°C un vial conteniendo una cepa *T. cruzi*, se lavó con PBS estéril, se centrifugó a 3000 RPM por 10 minutos; se lavó con medio LIT, se trasladaron los parásitos a frascos de cultivo con medio LIT, se incubaron a 26°C. Se revisaron los cultivos cada dos días contando los parásitos para alcanzar un recuento de 1×10^6 parásitos/mL diluyendo con el mismo medio, se disolvieron 100 mg de extractos en agua destilada si el compuesto era polar o bien en dimetilsulfóxido (DMSO) si era apolar, se mezclaron 10 µL de la solución de extracto con 990 µL de medio de cultivo LIT (1 mg/mL); se pipetearon en triplicado 100 µL de extracto en microplaca, se agregaron 100 µL de la suspensión de parásitos a cada pozo (1:1); se utilizó como control positivo una solución al 50 mg/mL de Nifurtimox y como control negativo una solución al 0.5% de DMSO en medio LIT.

Las microplacas se incubaron a 26°C por 48 horas; se contó en cámara de Neubauer y se interpretó comparando el número de parásitos vivos contra el recuento del control negativo. Se utilizó regresión lineal y el programa Finney para calcular la concentración inhibitoria del 90% (CI_{90}) (8,9).

Actividad contra protozoos

Promastigotes de *Leishmania* sp.

La actividad contra promastigotes según González *et al.* (8), consistió en preparar tubos conteniendo 2 mL de medio difásico Evans-LIT. Se preparó una suspensión de 1×10^6 promastigotes/mL de cepas de *Leishmania braziliensis* y de 2×10^6 para *Leishmania mexicana* por conteo en cámara de Neubauer diluyendo con medio LIT; se inoculó el medio con los promastigotes y se incubaron a 26°C, se realizaron resiembras en tubos cada cuatro días; posteriormente se trabajó de la misma manera que para los epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* solamente usando como control positivo Ketoconazol en lugar de Nifurtimox (9).

Actividad antiartemia

La actividad contra *Artemia salina* se determinó utilizando el método descrito por Michael *et al.* (10) el cual consistió en disolver 30 g de sal de mar en un litro de agua destilada, se realizó una marca en el vaso de precipitado y se dejó hervir por 30 minutos, se completó el volumen de agua evaporada hasta la marca, se filtró y refrigeró, se colocaron 200 mL de agua de mar en un recipiente y se le bombeó aire por 1 hora, se colocó el agua en la pecera y se agregaron 40 mg de huevecillos; se incubaron durante 48 horas a temperatura ambiente y con luz artificial; se pesaron 4 mg de extracto a analizar y se disolvieron en 2 mL de agua de mar; se agregaron por triplicado en una microplaca, 100 μ L del extracto disuelto más 100 μ L de agua de mar conteniendo de 10 a 15 nauplios. Para el control negativo se utilizó 200 μ L de agua de mar con 10 a 15 nauplios; se incubaron a temperatura ambiente durante 24 horas. Luego se procedió a contar el número de nauplios vivos y muertos en cada pozo utilizando estereoscopio, se interpretaron los resultados de la siguiente manera: si el porcentaje de nauplios muertos era mayor del 50%, se repitió la prueba utilizando dosis de 1.0, 0.5 y 0.25 mg/mL. Se determinó el valor de Dosis Letal al 50% (DL_{50}) con el programa Finney (9).

Actividad larvicida

La técnica de actividad larvicida es la descrita por el CYTED (5), que consistió en dejar reposar agua de chorro durante 2 días antes de empezar el ensayo; se pesaron 40 mg de extracto y se disolvieron en 2 mL de agua reposada; se agregaron a una microplaca por triplicado 100 μ L del extracto disuelto más 100 μ L de agua reposada conteniendo de 10 a 15 larvas; se colocó un control negativo que tuviera 200 μ L de agua reposada con 10 a 15 larvas de *Aedes aegypti* o *Anopheles albimanus*; se incubaron las microplacas a temperatura ambiente durante 24 horas; se colocaron en el estereoscopio y se contaron el número de larvas vivas y muertas en cada pozo. Los resultados se interpretaron de la siguiente manera: prueba positiva, todas las larvas estaban muertas. Si las larvas muertas eran el 100%, se calculó la Dosis Letal (DL_{100}), repitiendo la prueba y utilizando dosis de 0.5, 0.25 y 0.125 mg/mL. Se determinó el valor de DL_{100} con el programa Finney (9).

Análisis de datos

Se utilizó una distribución binomial (11), ya que se consideró que un extracto era bioactivo cuando inhibió cualquiera de los microorganismos que se utilizaron a una concentración de 1 mg/mL.

Se probó de esta manera la siguiente hipótesis estadística:
 $H_0 = P = 0.5$ $H_a = P > 0.5$

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

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

RESULTADOS

Obtención de extractos

Se prepararon los extractos etanólicos de seis plantas de uso medicinal, recolectadas en el municipio de Tacaná, San Marcos, obteniéndose el porcentaje de rendimiento de extracto etanólico de cada una con base a la relación del peso inicial de materia vegetal seca y el peso final del extracto tal como se aprecia en la Tabla 1.

Tabla 1. Rendimiento del proceso de extracción de las plantas

Planta	Peso inicial (g)	Extracto etanólico (g)	Rendimiento (%)
<i>B. arborea</i>	128	16.93	13.23
<i>H. uliginosum</i>	354	69.23	19.56
<i>P. thapsoides</i>	475	67.83	14.28
<i>S. lavanduloides</i>	240	42.58	17.70
<i>S. microphylla</i>	154	27.25	17.70
<i>S. silvestris</i>	93	11.80	12.70

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

Actividad contra bacterias y hongos

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

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

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

A los extractos etanólicos que en el tamizaje demostraron tener actividad contra los microorganismos ensayados, se les determinó la CIM obteniendo como resultado que *H. uliginosum* demuestra actividad biocida contra cinco microorganismos *S. aureus*, *M. smegmatis*, *B. subtilis*, *C. neoformans* y *T. rubrum*, todos a una

concentración de 0.25 mg/mL excepto para *T. rubrum* que tiene actividad solamente a 1 mg/mL; *S. microphylla* posee actividad para *C. neoformans* a una concentración de 0.25 mg/mL, para *S. aureus*, *M. smegmatis* y *B. subtilis* actuó a una concentración de 0.5 mg/mL y para *T. rubrum* a una concentración de 1 mg/mL; *B. arborea* tiene actividad contra *S. aureus* y *M. smegmatis* a una concentración de 0.5 mg/mL; *P. thapsoides* presenta actividad solamente para *M. smegmatis* y *T. rubrum* a una concentración de 0.5 y 1 mg/mL respectivamente; *S. lavanduloides* posee efecto biocida a una concentración de 1 mg/mL para *S. aureus*, *M. smegmatis*, *B. subtilis* y *C. neoformans* (Tabla 2).

Tabla 2. CIM (mg/mL) de la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos etanólicos

Extracto Etanólico	Bacterias gram (+)		Bacterias gram (-)			Mico bacteria	Levadura		Hongos filamentosos	
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
<i>B. arborea</i>	0.5	>1	>1	>1	>1	0.5	>1	>1	>1	>1
<i>H. uliginosum</i>	0.25	0.25	>1	>1	>1	0.25	0.25	>1	>1	>1
<i>P. thapsoides</i>	>1	>1	>1	>1	>1	0.5	>1	>1	>1	>1
<i>S. lavanduloides</i>	1	1	>1	>1	>1	1	1	>1	>1	>1
<i>S. microphylla</i>	0.5	0.5	>1	>1	>1	0.5	0.25	>1	1	>1
<i>S. silvestris</i>	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1

A: *S. aureus*, B: *B. subtilis*, C: *E. coli*, D: *P. aeruginosa*, E: *B. subtilis*, F: *M. smegmatis*, G: *C. neoformans*, H: *C. albicans*, I: *T. rubrum*, J: *A. flavus*

Actividad contra protozoos

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

Las demás plantas no presentaron actividad biocida contra protozoos (Tabla 3).

Tabla 3. Actividad antiprotozoaria de los extractos etanólicos. Concentración inhibitoria del 90% de protozoos (mg/mL)

Extracto etanólico	<i>T. cruzi</i>	<i>L. mexicana</i>	<i>L. braziliensis</i>
<i>B. arborea</i>	0.38	0.82	0.46
<i>H. uliginosum</i>	>1	>1	>1
<i>P. thapsoides</i>	>1	0.79	0.66
<i>S. lavanduloides</i>	>1	>1	>1
<i>S. microphylla</i>	>1	>1	>1
<i>S. silvestris</i>	>1	>1	>1

Actividad antiartemia y larvicida

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

DISCUSIÓN

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

De los resultados obtenidos del tamizaje realizado con las plantas contra bacterias y hongos, se encontró que de las seis plantas solamente *S. silvestris* no posee ninguna actividad biocida, a pesar que en San Marcos se utiliza contra diarrea, vómitos y fiebre. Sin embargo, ésta no se utiliza sola, sino en combinación con otra especie *Baccharis* sp., lo cual puede dar indicio de que la actividad la contenga la otra planta (1). Por otro lado, la inactividad biocida puede deberse a que los usos reportados de *S. silvestris* son gastrointestinales, afecciones que provocan en su

mayoría bacteria Gram negativo y ninguna de las plantas evaluadas presentó actividad contra las bacterias Gram negativo ensayadas. La inactividad presentada contra las bacterias Gram negativo puede explicarse por la pared celular de las mismas, la cual posee mayor cantidad de fosfolípidos que las bacterias Gram positivo, esto hace que al tratarse con alcohol la pared celular se vuelva porosa evitando el contacto y retención del compuesto fitoquímico, extraído con etanol (12).

Por otro lado, el estudio realizado por Navarro *et al.* en 1996 (13) reportó inactividad contra *P. aeruginosa* y *E. coli* a una concentración de 10 mg/mL en ambas bacterias, enfrentándolas al extracto metanólico de *B. arborea*; en un estudio posterior de Navarro *et al.* en 1998 (14) demostró actividad a 0.375 mg/mL para *P. aeruginosa* y 1 mg/mL para *E. coli* enfrentándolos a la misma planta pero esta vez un extracto diclorometánico. Este estudio sugiere que puede encontrarse actividad en las plantas estudiadas utilizando otro disolvente que extraiga mejor el compuesto activo de la planta.

En la Tabla 2 se observa que cinco plantas presentaron actividad contra *M. smegmatis*, los extractos etanólicos de *H. uliginosum* (0.25 mg/mL), *B. arborea* (0.5 mg/mL), *P. thapsoides* (0.5 mg/mL), *S. microphylla* (0.5 mg/mL) y *S. lavanduloides* (1 mg/mL). Este microorganismo fue utilizado como un tamizaje del género *Mycobacterium* y aunque se encontró bastante efectiva la potencia de los extractos contra este género, no se debe olvidar que el microorganismo patógeno al que se pretende proyectar la información es a *M. tuberculosis* que posee factores de virulencia y patogenicidad que lo hacen de difícil manejo en el laboratorio y de características diferentes que *M. smegmatis*. De todas las plantas solamente *S. lavanduloides* se reportó por su uso etnomédico contra la tos de tuberculosis (15).

Los extractos etanólicos de *H. uliginosum* (0.25 mg/mL), *B. arborea* (0.5 mg/mL), *S. microphylla* (0.5 mg/mL) y *S. lavanduloides* (1 mg/mL) son plantas de uso etnomédico para desinfección de heridas, granos, dermatitis e infecciones de garganta que pueden ser relacionadas con este agente (1, 15). En un estudio realizado por Taylor & Broker se reportó la actividad biocida del extracto etanólico de *H. uliginosum* contra este microorganismo pero sin precisar su CIM (16).

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

En cuanto a los hongos levaduriformes no se encontró ninguna actividad de las plantas trabajadas contra *C. albicans*, pero contra

C. neoformans se demostró actividad con los extractos etanólicos de *H. uliginosum* (0.25 mg/mL), *S. microphylla* (0.25 mg/mL) y *S. lavanduloides* (1 mg/mL), ninguna de estas plantas reporta uso etnomédico correspondiente a esta levadura y este hecho constituye un avance en esta investigación.

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

Del ensayo realizado para los protozoos se encontró actividad de los extractos etanólicos de *B. arborea* a una concentración de 0.38 mg/mL para *T. cruzi*, 0.46 mg/mL para *L. braziliensis* y 0.82 mg/mL para *L. mexicana* y *P. thapsoides* a una concentración de 0.66 mg/mL para *L. braziliensis* y 0.79 mg/mL para *L. mexicana*. Estos hallazgos se observan en la Tabla 3 y su importancia está en que la tripanosomiasis y leishmaniasis son enfermedades tropicales que afectan las zonas cálidas del país, hecho que se puede extrapolar a estas zonas. En esta área de Tacaná no se encontró reporte de uso etnomédico ya que no existen las condiciones climatológicas necesarias para la reproducción del vector. Es importante hacer notar que *B. arborea* tiene actividad biocida contra todos los protozoos investigados, lo que sugiere la necesidad de un estudio con otros protozoos más comunes en todo el país como por ejemplo *Trichomonas vaginalis*.

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

De esta manera se comprueba ampliamente la actividad biocida de los cinco extractos etanólicos y se invita a continuar con el fraccionamiento bioguiado de los mismos.

AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala; proyecto Aprovechamiento de la Flora Regional como Fuente de Moléculas Antifúngicas, Antiparasitarias y Anticáncer de la Organización de los Estados Americanos (OEA) al Centro Universitario de Occidente de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

REFERENCIAS

1. Cardona A. Etnobotánica de Flora Nativa de Uso Medicinal y Alimenticio en una Población de Etnia mam del Municipio de Tacaná, San Marcos. Guatemala: Universidad de San Carlos, Centro Universitario de Occidente, (protocolo de tesis de graduación, Facultad de Agronomía) 2001. 36p.
2. Ralda H. Plantas de uso popular utilizadas con fines medicinales en el área Mam del departamento de Huehuetenango: Estudio realizado en los Municipios de Malacatancito, San Gaspar Ixchil, San Sebastián, Huehuetenango y Santa Bárbara del departamento de Huchuetenango en el período comprendido de 1 de abril al 31 de julio de 1989. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Médicas) 1989. 131p.
3. Fernández H. Etnobotánica de los recursos fitogenéticos de uso medicinal presentes en 8 municipios del área de influencia étnica Mam, del departamento de Huehuetenango. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Agronomía) 1992. 275p.
4. Aguilar R. Estudio etnobotánico de especies nativas de valor medicinal y su uso actual en las comunidades de etnia Mam, Tajumulco, San Marcos. Guatemala: Universidad de San Carlos: Centro Universitario de Occidente, (tesis de graduación, Facultad de Agronomía) 1998. 134p.
5. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED). Manual de Técnicas de Investigación. Bogotá: Proyecto X-1, Doc. Tec. 1993. S/n.
6. Mitscher L. *et al.* Antimicrobial agents from higher plants. 1. Introducción rationale and methodology. *Lloydia*. 1972;35:157-166.
7. Mac Rae W., *et al.* Studies on the pharmacological activity of Amazonian *Euphorbiaceae*. *J. Ethnopharmacol.* 1988; 22: 143-172.
8. González J. *et al.* *In vitro* activity of natural products against the tripomastigote form of *Trypanosoma cruzi*. *Phytother. Res.* 1990;4:1-4.
9. Finney D. *Probit Analysis*. 3ª edición. USA: Cambridge University Press 1971. 333p.
10. Michael A. *et al.* *Artemia salina* as a test organism bioassay. *Sci.* 1956;123:456.
11. Spiegel MR. *Estadística*. 2ª edición. México: Editorial McGraw-Hill, 1991. 356p. (p.159-163).
12. Pelczar M. *et al.* *Microbiología*. 4ª edición. México: Editorial McGraw-Hill, 1982. XIV+826p. (p.60).
13. Navarro V. *et al.* Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious disease. *J. Ethnopharmacol.* 1996;53 3:143-147.
14. Navarro V. *et al.* Antimicrobial compounds detected in *Bocconia arborea* extracts by a direct bioautographic method. *Arch. Med. Res.* 1998;29 2:191-194.
15. Instituto Nacional Indigenista. *Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana*. México: Biblioteca de la Medicina Tradicional Mexicana. 1994. Vols. III, Vol. I y II. 1786p (p.116, 919,1009-1010).
16. Taylor HL, Broker RM. The isolation of uliginosin A and uliginosin B from *Hypericum uliginosum* Lloydia. 1969;32 2:217-219.