

Flora útil de HIDALGO

Avances en la documentación
y evaluación de la actividad biológica I



*Blanca Estela Pérez Escandón
Berenice Nathaly López Gutiérrez
Jesús Alan Reyes Silva
Miguel Ángel Villavicencio Nieto*

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

Flora útil de Hidalgo

*Avances en la documentación y evaluación de la
actividad biológica I*

Flora útil de Hidalgo
*Avances en la documentación y evaluación de la
actividad biológica I*

Blanca Estela Pérez Escandón
Berenice Nathaly López Gutiérrez
Jesús Alan Reyes Silva
Miguel Ángel Villavicencio Nieto



Pachuca de Soto, Hidalgo
México, 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

Adolfo Pontigo Loyola
Rector

Octavio Castillo Acosta
Secretario General

Marco Antonio Alfaro Morales
Coordinador de la División de Extensión de la Cultura

Arturo Otilio Acevedo Sandoval
Director del Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería

Fondo Editorial

Asael Ortiz Lazcano
Director de Ediciones y Publicaciones

Joselito Medina Marín
Subdirector de Ediciones y Publicaciones

Primera edición electrónica: 2022

D.R. © UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
Abasolo 600, Col. Centro, Pachuca de Soto, Hidalgo, México, C.P. 42000
Dirección electrónica: editor@uaeh.edu.mx

El contenido y el tratamiento de los trabajos que componen este libro son responsabilidad de los autores y no reflejan necesariamente el punto de vista de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

ISBN: 978-607-482-706-4

Esta obra está autorizada bajo la licencia internacional Creative Commons Reconocimiento – No Comercial – Sin Obra Derivada (by-nc-nd) No se permite un uso comercial de la obra original ni la generación de obras derivadas. Para ver una copia de la licencia, visite <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>.



Hecho en México/*Printed in México*

Índice

Presentación

Capítulo I.

Los huertos familiares del municipio de Zapotlán, Hidalgo
su: composición, uso, estructura y manejo. 9

Pérez Fosado, M.L.

Pérez Escandón, B.E.

Villavicencio Nieto, M.A.

Capítulo II.

Plantas útiles de San Juan Solís, municipio de San
Agustín Tlaxiaca 49

López Gutiérrez, B.N.

Pérez Escandón, B.E.

Villavicencio Nieto, M.A.

Capítulo III.

Actividad biológica de plantas usadas para tratar cáncer y otros
padecimientos en dos comunidades de Hidalgo, México. 91

Villavicencio Nieto, M.A.

B.E. Pérez Escandón

E. Mendoza Pérez

J.E. Cortés Cabrera

V. Maldonado Lagunas

Capítulo IV.

Actividad antibacteriana en staphylococcus aureus de plantas
medicinales usadas en los cides, Tepeapulco, Hidalgo. **121**

Reyes Silva, J.A.

Gordillo Martínez, A.J.

Pérez Escandón B.E.

Villavicencio Nieto, M.A.

Capítulo V.

Bioactividad de aceites esenciales de siete especies de plantas
medicinales de lamiaceae. **165**

Cortes Méndez, F.H.

Pérez Escandón, B.E.

Villavicencio Nieto, M.A.

Capítulo VI.

Composición química, actividad antibacteriana de los aceites
esenciales y morfología glandular de tres especies medicinales
de lamiaceae. **209**

Garrido González, M.

Pérez Escandón, B.E.

Villavicencio Nieto, M.A.

Presentación

En el Laboratorio de Etnobotánica del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo se está llevando a cabo el estudio de la Flora Útil de Hidalgo que tiene dos objetivos principales: hacer el inventario de las plantas que se utilizan en la entidad y evaluar la actividad biológica de especies de plantas seleccionadas, así como identificar algunos principios activos.

En este proceso existen varios factores que son fundamentales para alcanzar estos objetivos. El primero se refiere a la participación de alumnos de la licenciatura en biología de la Institución en cuyo programa de estudio incluye las asignaturas de Trabajos de Investigación en las que a partir del séptimo semestre los estudiantes deben seleccionar e incorporarse a alguno de los laboratorios del Centro u otro que participe en este programa docente. Una vez que lo hacen desarrollan un proyecto de investigación el cual puede culminar en una tesis.

El segundo factor es el trabajo en Cuerpos Académicos. Un Cuerpo Académico es el conjunto de profesores investigadores de un área específica del conocimiento que comparten una o varias líneas de generación y aplicación innovadora del conocimiento. En este caso se trata del Cuerpo Académico “Uso, manejo y conservación de la biodiversidad”.

Además, la misma Universidad proporciona apoyos a través de diferentes programas. También son fundamentales los apoyos externos como los del Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Hidalgo FOMIX HGO.

Este libro incluye los resultados obtenidos en trabajos de investigación para tesis que dieron lugar a los seis capítulos que integran la obra. Los dos primeros capítulos se inscriben en el objetivo relacionado con el inventario de la flora útil, éstos son: “Los Huertos Familiares del Municipio de Zapotlán, Hidalgo su: Composición, Uso, Estructura y Manejo” y “Plantas Útiles de San Juan Solís, Municipio de San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo” ambos contribuyen al objetivo en cuestión aportando en conjunto datos acerca de la documentación del uso de 285 especies de plantas.

En los siguientes cuatro capítulos que son: “Actividad biológica de plantas usadas para tratar cáncer y otros padecimientos en dos comunidades de Hidalgo, México”, “Actividad Antibacteriana en *Staphylococcus aureus* de Plantas Medicinales Usadas en Los Cides, Tepeapulco, Hidalgo”, “Bioactividad de Aceites Esenciales de Siete Especies de Plantas Medicinales de Lamiaceae”

y “Composición química, actividad antibacteriana de los aceites esenciales y morfología glandular de tres especies medicinales de Lamiaceae” se evaluó la actividad biológica de 35 especies de plantas y de dos ellas se aislaron e identificaron a los principios activos. Con estos resultados se contribuye al segundo objetivo.

CAPÍTULO I

Los Huertos Familiares del Municipio de Zapotlán, Hidalgo su: Composición, Uso, Estructura y Manejo.

Pérez Fosado, M.L.

Pérez Escandón, B.E.

Villavicencio Nieto, M.A.

Laboratorio de Etnobotánica.

Centro de Investigaciones Biológicas.

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Resumen

El estudio describe el manejo y la riqueza de especies que se encuentran en los huertos familiares del municipio de Zapotlán de Juárez, en el estado de Hidalgo, el cual se encuentra sometido a una fuerte presión demográfica por lo que se consideró de importancia la realización del estudio con el fin de obtener las características de dicho agroecosistema, el cual se identifica por su diversidad y poca utilización de insumos. Los resultados se basan en entrevistas y colectas a quince familias, en las tres principales localidades del municipio: Zapotlán, Acayuca y San Pedro, la información recabada se agrupo por composición, uso antropogénico y estrato. Teniendo así que los huertos son sistemas muy diversos ya que se registraron un total de 215 especies siendo la composición en cada huerto variable dependiendo de los gustos familiares por lo que los análisis de Cluster mostraron catorce clases de huertos y patios, en los que se pudo observar que no necesariamente los que se encuentran en las mismas comunidades son los que presentan menor disimilitud, se presentaron seis usos antropogénicos, de las especies vegetales: ornamental, alimento, medicinal, forraje, cerco vivo y mágico-religioso. La estructura vertical de los huertos se encuentra compuesta por tres estratos bien definidos: arbóreo, arbustivo y herbáceo, siendo este último el más diverso. Por lo que en conclusión podemos mencionar que los valores ecológicos, económicos, nutricionales y culturales se encuentran presentes en los

huertos de Zapotlán, y su importancia radica en que son sistemas que se inscriben en el desarrollo sostenido.

Palabras clave: Huertos, Zapotlán, Hidalgo, Uso, Manejo.

Introducción

Durante los últimos años se han estado reivindicando los valores ecológicos, genéticos, económicos, nutricionales y culturales de los sistemas tradicionales del manejo de la naturaleza. Su conocimiento ha revelado que, lejos de constituir prácticas irracionales, obedecen a una racionalidad profundamente acorde con aquella de los ecosistemas en que se han desarrollado y que, por lo tanto, son prácticas que se inscriben en el ahora llamado desarrollo sostenido, que persigue un uso racional de los recursos naturales que permita satisfacer eficazmente las necesidades humanas sin menoscabo de la naturaleza (ONU-FAO, 2000).

Es importante el rescate de la filosofía de la conservación de recursos que reproduzca en forma sostenida maneras productivas centenarias que han sido practicadas con éxito por nuestros antepasados (Traversa, 1998).

Los huertos familiares tienen una amplia distribución en mesoamérica y son conocidos con diferentes nombres, entre los que se encuentran: huerta, traspatio, kuaros, solares y conuco entre otros. Son espacios completos y ricos, en los que intervienen distintos y numerosos elementos: culturales, ecológicos, biológicos, agronómicos, sociales y económicos. El huerto familiar es una parte del sistema de producción agrícola que generalmente se encuentra cerca de la casa-habitación y es generado, dirigido y atendido por la unidad-familiar; en el huerto se encuentran plantas de diferente uso y a veces se crían animales domésticos (Gaytan, 2001).

Los huertos familiares son unidades de producción pequeñas cerca de la casa orientados a la subsistencia (Drescher, 1998). Otro concepto de huerto familiar es el que lo define como un componente semipermanente de un sistema de producción entero, manejado por los miembros de la familia (Drescher, 1998).

Los huertos familiares son la porción del terreno destinado al cultivo de hortalizas y frutales, en donde las verduras deben predominar en la superficie de cultivo con respecto a los frutales y cuya producción debe tener únicamente un sentido de subsistencia para la alimentación de la familia; estas huertas, también llamadas hogareñas, se pueden construir en zonas urbanas, suburbanas y rurales (Gentile, 1997).

Los huertos familiares son sistemas agroforestales que se encuentran distribuidos en todo el mundo, en ellos conviven especies arbóreas, arbustivas y herbáceas de uso múltiple (Jiménez-Osorio, 1999)

Una de las formas mas viejas del agroecosistema son los huertos familiares en los cuales sigue habiendo procesos ecológicos básicos como la competencia entre las plantas, el consumo de las plantas por ganado y parásitos; pero estos procesos ecológicos ahora son regulados por los procesos agrícolas como el control del agua y de las enfermedades, a su vez estos procesos agrícolas son regulados por decisiones económicas y sociales, por lo que el huerto familiar es un sistema socioeconómico y agrícola con un límite biofísico (Soemarwoto, 1992).

Antecedentes

En México los estudios realizados sobre los huertos familiares empezaron a tomar interés a partir de los años ochenta (Herrera *et al.*, 1993), y a la fecha se han incrementado por la importancia alimenticia que presenta en las comunidades rurales, sobre todo porque son sistemas productivos que tienen gran importancia ecológica y socioeconómica (Xuluc, 1995).

Así mismo Alcorn (1983) habla de la importancia de los huertos en algunas comunidades indígenas; por ejemplo los huastecos incluyen en sus huertos de 80 a 120 plantas promedio, las cuales en su mayoría son plantas medicinales nativas.

Para Montes y Benítez (1976) la importancia que reviste el estudio de estos sistemas es la aportación de conocimiento sobre la posible historia de diversas plantas cultivadas y la evolución de la agricultura.

Los huertos familiares están ampliamente distribuidos en el mundo, se encuentran en diferentes climas, altitudes y regiones, en México la mayor parte de los estudios sobre huertos se han hecho en zonas tropicales; y se sabe poco de las regiones templadas y semiáridas (Gaytan *et al.*, 2001).

Justificación

El presente trabajo es el estudio de los huertos familiares del municipio de Zapotlán de Juárez, estado de Hidalgo, con el fin de obtener las características de dicho agroecosistema. Se estudio su estructura y su composición florística.

La diversidad de espacios productivos ha favorecido el cultivo de muchas especies y variedades que deben de ser definidas y estudiadas para aprovechar su potencial, por eso, realizar un trabajo sobre el conocimiento de las plantas de los huertos familiares constituye un aporte al conocimiento de uno de los aspectos más esenciales de uno de los más importantes y tradicionales sistemas agrícolas.

El conocimiento de la diversidad de las especies cultivadas no sólo es una contribución al conocimiento de la agricultura tradicional, sino también constituye

un aporte para conocer el inventario de dichos recursos en nuestro país, que a su vez son la base del moderno desarrollo biotecnológico.

La importancia de la realización de este trabajo radica en que la labor familiar de los huertos contribuye a la domesticación y conservación de las plantas nativas ya que fomenta la diversidad vegetal y un mejor manejo sostenible de los recursos genéticos *in situ*. Otra razón para realizar este trabajo es la ausencia de estudios de huerto familiares en el municipio de Zapotlán Estado de Hidalgo.

Objetivo general

Describir la composición florística, uso, estructura y manejo de los huertos familiares de Zapotlán, Hidalgo.

Área de estudio

Localización.

El municipio de Zapotlán se representa en el mapa del estado de Hidalgo con el número de la clave 082 según INEGI, como se muestra en la Figura 1. Por lo que concierne el municipio de Zapotlán de Juárez, representa el 0.73% de la superficie del estado. Colinda al norte con los municipios de San Agustín Tlaxiaca y Pachuca de Soto; al este con los municipios de Zempoala y Villa de Tezontepec, al sur con los municipios de Villa de Tezontepec y Tolcayuca; al oeste con el municipio de Tolcayuca (INEGI,1995). Zapotlán se ubica entre las coordenadas geográficas de 20°03 al norte, 19°55 al sur de latitud norte, al este 98°47, al oeste 98°55 de longitud oeste (INEGI, 1995).

Método

Revisión bibliográfica

Se recabo información sobre la localización geográfica, tipo de vegetación, clima, geología, división política, población, hidrología y mapas del área de estudio, al igual que se revisaron artículos etnobotánicos y artículos sobre el nuevo enfoque de la metodología etnobotánica en México, para realizar las entrevistas.

Selección del sitio de estudio

Para los fines de este trabajo se seleccionó el municipio de Zapotlán ya que presenta características favorables como son la cercanía entre Zapotlán y Pachuca, y su accesibilidad, ya que cuenta con carreteras y caminos. Además es de suma importancia realizar trabajos florísticos en esta zona ya que está sometida a una fuerte presión demográfica.



Figura 1. Localización de Zapotlán en Hidalgo.

Salidas de campo

Durante el desarrollo de este estudio se realizaron salidas de campo periódicas al municipio de Zapotlán, para seleccionar huertos, realizar entrevistas, efectuar colectas, recabar datos y hacer observaciones.

Selección de huertos

Los primeros recorridos de campo se hicieron para la selección de cinco huertos familiares en cada una de las tres comunidades principales del municipio. Se seleccionaron aquellos huertos que los habitantes de la comunidad consideraron como mejores, con base al tiempo que tiene el huerto y un número elevado de especies y en los que hubo disposición de la familia propietaria para colaborar con el estudio. A estos huertos se les enumeró del 1 al 15 y se les visitó periódicamente.

Introducción a la comunidad

Se establecieron relaciones personales con las distintas familias, y se procuró lograr la máxima confianza, este aspecto se consideró de gran importancia para poder garantizar la calidad y la veracidad de la información brindada por los habitantes (Gispert, 1979)

Entrevistas

Una vez identificados los informantes poseedores de los huertos, con las características óptimas para el estudio, se les entrevistó, de manera informal y estructurada (Hernández, 1985, Alexiades, 1996) acerca del conocimiento, manejo y uso de los huertos. La información obtenida en las entrevistas informales se registró en una libreta de campo (Navarro *et al*, 2000). Las entrevistas estructuradas se hicieron mediante la aplicación de los cuestionarios, previamente elaborados para garantizar la obtención de información socioeconómica y etnobotánica adecuada.

También se realizaron entrevistas en la presidencia municipal para la información socioeconómica y en los centros de salud.

Efectuar colectas.

Una parte importante de este estudio fue coleccionar ejemplares de las plantas a los que hicieron referencia los informantes en las entrevistas. La colecta se realizó de preferencia cuando el ejemplar se encontraba en floración o fructificación. Posteriormente se hizo la determinación taxonómica, la colecta se completó con fotografías (Gispert, 1979).

Todos los ejemplares se depositaron en el laboratorio de Etnobotánica del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Descripción de huertos

En las visitas se hicieron observaciones y se tomaron datos para hacer la descripción de los huertos.

Para los fines de este estudio la vegetación de los huertos se dividió en tres estratos: herbáceo, arbustivo y arbóreo. También se registraron las categorías antropogénicas a las cuales van a estar sometidas las plantas.

Comparación entre localidades

Se realizó, además una comparación entre las comunidades sobre el grado de conocimiento etnobotánico en relación con el número de especies útiles encontradas en cada una de las localidades.

Análisis de datos

Índices de similitud

Se aplicaron índices de similitud de Sorenson en cada uno de los tres estratos: herbáceo, arbustivo y arbóreo, para cada una de las posibles combinaciones de pares de huertos, los cuales se representaron gráficamente.

Cluster

Igualmente se realizó un análisis de Cluster para poder examinar mejor la composición de los huertos, agrupándolos en distintas clases dependiendo de su disimilitud.

Elaboración de listados

El listado florístico se elaboró con base en inventarios de los huertos familiares en estudio. Los listados florísticos también son la base para los datos sobre la riqueza florística (Gaytan, 2001).

Resultados

Tamaño de los huertos

El tamaño de los 15 huertos familiares es variado (9.5 a 2,000 m²), de esta manera el tamaño promedio de los huertos fue de 266 m² sin haberse hallado ningún patrón en ello. Lo anterior refleja la continua transformación a la que están sometidos los huertos, ya que el tamaño tan pequeño de la superficie destinada para ellos, nos muestra la transición de lo rural a lo urbano en la que el municipio se encuentra. Este fuerte cambio se cree que es propiciado por la cercanía de este municipio a Pachuca y México, por lo cual hay entrada de costumbres ciudadinas.

Descripción de los componentes espaciales de los huertos familiares

Con base en los datos proporcionados por los dueños de los huertos mediante las entrevistas, se reconocieron dos componentes espaciales: patio y huerto, los cuales se describieron con respecto a su ubicación en la casa. (Figura 2) (Tabla 1).

El patio es el espacio más próximo a la casa, y su propósito principal es el estético, el control de las plantas que crecen en los patios es estricto, ya que se encontraron sólo plantas con algún uso y ninguna maleza.

El huerto es el área productiva, y su principal propósito es el consumo de sus productos ya que sus plantas generalmente tienen valor alimenticio y su componente fundamental son las plantas herbáceas. La estructura y composición florística del huerto está dada principalmente por las preferencias personales.



Figura 2. Muestra los componentes espaciales patio (Izquierda) y huerto (derecha)

Tabla 1. Comparación entre los espacios huerto y patio del municipio de Zapotlán

Característica	Huerto	Patio
Persona que más lo atiende	Mujer	Mujer
Propósito del cultivo	Principalmente de alimento y forraje aunque presentan plantas de todos los usos antropogénicos	Principalmente de ornato y presentan plantas medicinales
Estrato predominante	Presenta los tres estratos biológicos	Presenta solamente el estrato herbáceo y arbustivo
Designación del nombre de las plantas	Conocen los nombres de todas las plantas	No conocen el nombre de algunas plantas principalmente las de uso ornamental
Contenedor de las plantas	Plantas sembradas en el suelo	Plantas sembradas principalmente en macetas aunque también hay plantas sembradas en el suelo.

Composición florística de los huertos en estudio

Se realizaron colectas de plantas para efectuar la determinación taxonómica y definir la composición florística de los huertos, teniendo como resultado que son agroecosistemas muy diversos, ya que se registraron un total de 215 especies vegetales con un promedio de 38 especies por huerto (Tabla 2). Dado el número de las especies presentes, puede considerarse a los huertos de estudio como un lugar idóneo para la conservación de germoplasma *in situ*.

Las especies registradas se encontraron distribuidas en 67 familias y 153 géneros. Siendo las familias mejor representadas Asteraceae, Rosaceae y Solaneaceae, mientras que el género que contó con el mayor número de especies fue *Prunus* y *Sedum*.

Tabla 2. Listado florístico por estrato, familia, nombre científico, nombre común, 1: número de huertos en donde se encuentra, uso y localización de las especies reportadas

Familia	Nombre científico	Nombre común	1	Usos	Localización
Estrato arbóreo					
anacardiaceae	<i>Schinus molle</i> L.	Pirul	8	Mágico Religiosa	Huerto
Bignoniaceae	<i>Jacaranda mimosifolia</i> D. Don	Jacaranda	3	Ornamental	Huerto
Caprifoliaceae	<i>Sambucus mexicana</i> Presl	Sauco	11	Medicinal	Huerto
Musaceae	<i>Musa paradisiaca</i> L.	Plátano	1	Alimento	Huerto
Lauraceae	<i>Persea americana</i> Mill.	Aguacate	3	Alimento	Huerto
Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i> L.	Guayabo	1	Alimento	Huerto
	<i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh.	Eucalipto	2	Ornamental	Huerto
Oleaceae	<i>Ligustrum japonicum</i> Thunb.	Trueno	2	Ornamental	Huerto
Oleaceae	<i>Fraxinus uhdei</i> (Wenzing) Lingelsheim.	Fresno	2	Ornamental	Huerto
Pinaceae	<i>Pinus sp.</i>	Pino	8	Ornamental	Huerto
Rosaceae	<i>Crataegus mexicana</i> Moc. Sess	Tejocote	2	Alimento	Huerto
	<i>Pyrus pumila</i> Mill.	Membrillo	1	Alimento	Huerto
	<i>Eriobotrya japonica</i> Thunb. Lindl	Níspero	1	Medicinal	Huerto
	<i>Prunus armeniaca</i> L.	Chabacano	5	Alimento	Huerto
	<i>Malus sylvestris</i> Mill	Manzana	2	Alimento	Huerto
	<i>Prunus domestica</i> L.	Ciruelo	6	Alimento	Huerto
	<i>Prunus persica</i> L. Batsch.	Durazno	10	Alimento	Huerto

	<i>Pyrus pumila</i> Mill.	Pera	7	Alimento	Huerto
Rutaceae	<i>Casimiroa edulis</i> Llave Lex.	Zapote blanco	2	Alimento	Huerto
	<i>Citrus aurantium</i> L.	Naranja	2	Alimento	Huerto
	<i>Citrus limon</i> L. Burm.	Limón	6	Alimento	Huerto
	<i>Citrus nobilis</i> Andr	Mandarina	1	Alimento	Huerto
Salicaceae	<i>Salix babilonica</i> L.	Sauce	3	Ornamental	Huerto
Estrato arbustivo					
Acanthaceae	<i>Justicia spicigera</i> Schl.	Muiche	2	Medicinal	Huerto
Agavaceae	<i>Agave sp.</i>	Magüey	3	Alimento	Huerto
	<i>Agave roezliana</i> Baker	Magüey Cimarrón	1	Medicinal	Huerto
	<i>Agave lechuguilla</i> Torrey.	Lechuguilla	1	Ornamental	Huerto
	<i>Dasyllirion acrotriche</i> Sch. Zucc.	Sotol	3	Ornamental	Huerto
Amaryllidaceae	<i>Agapanthus africanus</i> L. Hoffm.	Agapando	6	Ornamental	Huerto
	<i>Lilium candidum</i> L.	Lirio	2	Ornamental	Huerto
Apiaceae	<i>Foeniculum vulgare</i> L. Mill.	Hinojo	4	Medicinal	Huerto
Apocynaceae	<i>Nerium oleander</i> L.	Rosa Laurel	1	Ornamental	Huerto
Araceae	<i>Zantedeschia aethiopica</i> L. Spreng.	Alcatraz	8	Ornamental	Huerto
	<i>Xanthosoma robustum</i> Schott	Hoja elegante	4	Ornamental	Huerto
Balsaminaceae	<i>Impatiens balsamina</i> L.	Chino	8	Ornamental	Maceta
Bignoniaceae	<i>Podranea ricasoliana</i>	Colegiala	1	Ornamental	Maceta
Cactaceae	<i>Opuntia sp.</i>	Nopal	6	Alimento	Huerto
	<i>Peniocereus serpentinus</i>	Órgano	1	Cerco vivo	Huerto
	(Lag. & Rodr.) N.P.Taylor				

Cannaceae	<i>Canna edulis</i> Ker.	Platanillo	2	Ornamental	Huerto
Caprifoliaceae	<i>Viburnum opulus</i> L.	Bola de Nieve	1	Ornamental	Huerto
Commelinaceae	<i>Rhoeo spathacea</i>	Sin Nombre	1	Ornamental	Maceta
Compositae	<i>Dahlia</i> sp.	Ninfa	2	Ornamental	Huerto
Crassulaceae	<i>Kalanchoe</i> sp.	Coral	2	Ornamental	Maceta
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia pulcherrima</i> Willd.	Nochebuena	4	Ornamental	Maceta
	<i>Euphorbia pseudocactus</i> A. Berger	Espinazo de Pescado	1	Ornamental	Maceta
	<i>Euphorbia splendens</i> Bojer ex Hook.	Corona de Cristo	3	Ornamental	Maceta
Fabaceae	<i>Cassia florifunda</i> Cav.	Retama	2	Medicinal	Huerto
Geraniaceae	<i>Pelargonium peltatum</i> L. Her. ex Ait	Geranio	9	Ornamental	Maceta
	<i>Pelargonio</i> sp.	Bolita	12	Ornamental	Maceta
Lamiaceae	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Romero	5	Medicinal	Huerto
	<i>Myrtus communis</i> L.	Mirto	1	Medicinal	Huerto
Liliaceae	<i>Asparagus densiflorus</i> (Kunth) Jessop.	Espárrago	2	Ornamental	Maceta
Loganiaceae	<i>Buddleia cordata</i> HBK.	Tepozan	2	Medicinal	Huerto
Malvaceae	<i>Malvaviscus arboreus</i> Cav.	Manzanitas	1	Ornamental	Huerto
Myrtaceae	<i>Callistemon citrinus</i> , Skeels.	Escobillon	1	Ornamental	Huerto
Moraceae	<i>Ficus carica</i> L.	Higuera	11	Alimento	Huerto
Onagraceae	<i>Fuchsia</i> sp.	Aretillo	5	Ornamental	Maceta
Pittosporaeae	<i>Pittosporum tobira</i> (Thunb.) W.T.Aiton	Clavo	2	Ornamental	Huerta
Plumbaginaceae	<i>Plumbago scandens</i> L.	Plumbago	2	Ornamental	Huerto
Punicaceae	<i>Punica granatum</i> L.	Granada	6	Alimento	Huerto
Rosaceae	<i>Rosa</i> sp.	Rosa	14	Ornamental	Huerto

	<i>Rosa centifolia</i> L.	Rosa de Castilla	8	Ornamental	Huerto
	<i>Rubus michiganensis</i> L.H. Bailey	Zarzamora	2	Alimento	Huerto
	<i>Prunus serotina</i> Ehrh.	Capulin	2	Alimento	Huerto
Rubiaceae	<i>Gardenia jazminioides</i> Ellis.	Gardenia	1	Ornamental	Huerto
Rutaceae	<i>Ruta chalepensis</i> L.	Ruda	10	Medicinal	Huerto
Solanaceae	<i>Brugmansia arborea</i> L. Lagerh.	Floripondio	4	Ornamental	Huerto
	<i>Capsicum pubescens</i> Ruiz & Pav.	Chile manzano	1	Alimento	Huerto
	<i>Solanum dulcamara</i> L.	Gloria	1	Ornamental	Huerto
	<i>Cestrum nocturnum</i> L.	Huele de Noche	4	Ornamental	Huerto
Saxifragaceae	<i>Hydrangea macrophylla</i> DC.	Hortensia	2	Ornamental	Maceta
Verbenaceae	<i>Aloysia triphylla</i> L. Aert. Brett	Cedrón	7	Alimento	Huerto
	<i>Lantana camara</i> L.	Suegra y Nuera	1	Ornamental	Maceta
Vitaceae	<i>Vitis vinifera</i> L.	Vid	3	Alimento	Huerto
Estrato Herbáceo					
Liliaceae	<i>Northoscordum bivalve</i> (L.) Britt.	Estrella	2	Ornamental	Huerto
Acantaceae	<i>Beloperone guttata</i> Brand.	Pico de Guajolote	1	Ornamental	Maceta
	<i>Thunbergia alata</i> Bojer ex Sims.	Ojo de liebre	1	Ornamental	Maceta
Amaryllidaceae	<i>Hippeastrum</i> sp.	Azucena	4	Ornamental	Huerto
	<i>Hippeastrum</i> sp.	Fonógrafo	2	Ornamental	Maceta
Amaranthaceae	<i>Amaranthus hybridus</i> L.	Quintonil	4	Alimento	Huerto
Aizoaceae	<i>Mesembryanthemum crystalinum</i> L.	Cortina	4	Ornamental	Maceta
Apiaceae	<i>Coriandrum sativum</i> L.	Cilantro	3	Alimento	Huerto

	<i>Apium graveolens</i> L.	Apio	1	Alimento	Huerto
	<i>Anthurium</i> sp.	Antulio	1	Ornamental	Huerto
	<i>Daucus carota</i> L.	Zanahoria	1	Alimento	Huerto
Araceae	<i>Spathiphyllum floribundum</i> (Linden & André) N.E.Br.	Cuna de Moisés	2	Ornamental	Maceta
	<i>Philodendron scandens</i> K.Koch & Sello.	Teléfono		Ornamental	Patio
Araliaceae	<i>Hedera helix</i> L.	Hiedra	2	Ornamental	Huerto
	<i>Fatsia japonica</i>	Aralia	1	Ornamental	Huerto
Asteraceae	<i>Callistephus chinensis</i> (L.) Ness.	Margarita	2	Ornamental	Maceta
	<i>Artemisia vulgaris</i> L.	Ajenjo	2	Medicinal	Huerto
	<i>Aster novibelgii</i> L.	Estercita	2	Ornamental	Huerto
	<i>Calendula officinalis</i> L.	Mercadela	1	Ornamental	Huerto
	<i>Chrysanthemum indicum</i> L.	Crisantemo	4	Ornamental	Huerto
	<i>Helianthus annuus</i> L.	Girasol	1	Ornamental	Huerto
	<i>Lactuca sativa</i> L.	Lechuga	3	Alimento	Huerto
	<i>Matricaria chamomilla</i> L.	Manzanilla	3	Medicinal	Maceta
	<i>Senecio rowleyanus</i> H. Jacobsen	Rosario	1	Ornamental	Maceta
	<i>Sonchus oleraceus</i> L.	Lechuguilla	1	Ornamental	Huerto
	<i>Tagetes erecta</i> L.	Cempaxuchil	1	Mágico Religiosa	Maceta
	<i>Tanacetum paethenium</i> L. Sch.Bip.	Santa Maria	6	Mágico Religioso	Huerto
	<i>Gazania nivea</i> Less.	Rayo de Sol	2	Ornamental	Huerto
	<i>Helianthus annuus</i> L.	Girasol	1	Ornamental	Huerto
	<i>Dahlia coccinea</i> Cav.	Dalia	3	Ornamental	Huerto
Balsaminaceae	<i>Impatiens</i> sp.	Estrellita		Ornamental	Patio
Begoniaceae	<i>Begonia tuberosa</i> Lam.	Begonia	2	Ornamental	Huerto

Bignoniaceae	<i>Caladium bicolor</i> L.	Corazón de Jesús	1	Ornamental	Huerto
Boraginaceae	<i>Borago officinalis</i> L.	Borraja	1	Medicinal	Huerto
Brassicaceae	<i>Matthiola incana</i>	Alelia	2	Ornamental	Huerto
	<i>Brassica oleraceae</i> L.	Brócoli	5	Alimento	Huerto
	<i>Raphanus sativus</i> L.	Rábano	2	Alimento	Huerto
	<i>Brassica napus</i> L.	Nabo	1	Forraje	Huerto
Bromeliaceae	<i>Tillandsia usneoides</i> L.	Heno	1	Mágico Religiosa	Huerto
	<i>Cryptanthus</i> sp.	S/N	1	Ornamental	Patio
Cactaceae	<i>Aporocactus flagelliformis</i> (L.) Lem.	Junco	3	Cerco Vivo	Huerto
	<i>Cephalocereus senilis</i> Haw.	Viejito	1	Ornamental	Maceta
	<i>Heliocereus elegantissimus</i> Britt.	Nopalillo	3	Ornamental	Huerto
	<i>Pachycereus pringlei</i>	Cardon	1	Medicinal	Huerto
Caryophyllaceae	<i>Dianthus barbatus</i> L.	Clavellina	3	Ornamental	Maceta
Chenopodiaceae	<i>Beta vulgaris</i> L.	Betabel	4	Alimento	Huerto
	<i>Beta vulgaris</i> L.	Acelga	6	Alimento	Huerto
	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Epazote	3	Alimento	Huerto
	<i>Spinacea oleracea</i> L.	Espinaca	2	Alimento	Huerto
	<i>Teloxys graveolens</i> Willd. Weber	Epazote de zorrillo	1	Medicinal	Huerto
Commelinaceae	<i>Gibasis geniculata</i> (Jacq.) Rohweder	Velo de Novia	2	Ornamental	Maceta
	<i>Tradescantia pallida</i> (Rose) D.R.Hunt	Morada	2	Ornamental	Maceta
Crassulaceae	<i>Sedum moranense</i> HBK.	Chisme	1	Ornamental	Huerto
	<i>Sedum morganianum</i> E.Walther	Cola de Borrego	1	Ornamental	Maceta

	<i>Sedum pachyphyllum</i> Rose	Dedito de Dios	2	Ornamental	Maceta
	<i>Sedum praeatum</i> DC.	Siempreviva	4	Medicinal	Huerto
	<i>Echeverria derenbergii</i>	Oreja de Burro	2	Ornamental	Maceta
Cruciferae	<i>Brassica oleracea</i> L.	Col	4	Alimento	Huerto
	<i>Alyssum maritimum</i> (L.) Lam.	Panalillo	2	Ornamental	Maceta
Cucurbitaceae	<i>Cucurbita ficifolia</i> Bouche.	Chilacayote	2	Alimento	Huerto
	<i>Cucurbita pepo</i> , L.	Calabaza	6	Alimento	Huerto
	<i>Sechium edule</i> Jacq. Sw.	Chayote	4	Alimento	Huerto
	<i>Cucumis sativus</i> L.	Pepino	2	Alimento	Huerto
Cyperaceae	<i>Fimbristylis annua</i> (All.) Roem. & Schult.	Barba de indio	1	Ornamental	Maceta
Euphorbiaceae	<i>Cnidioscolus ureas</i> L. Arthur.	Ortiga	1	Medicinal	Huerto
	<i>Ephrbia</i> sp.	Espinazo de pescado	1	Ornamental	Maceta
Fabaceae	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Frijol	1	Alimento	Huerto
Geraniaceae	<i>Pelargonium</i> sp.	Malvon	2	Ornamental	Huerto
Iridaceae	<i>Gladiolus</i> sp.	Gladiola	2	Ornamental	Maceta
Lamiaceae	<i>Agastache mexicana</i> HBK.	Toronjil	2	Medicinal	Huerto
	<i>Origanum majorana</i> L.	Mejorana	1	Alimento	Huerto
	<i>Marrubium vulgare</i> L.	Marrubio	1	Medicinal	Huerto
	<i>Mentha pipenta</i> L.	Hierbabuena	9	Medicinal	Huerto
Liliaceae	<i>Allium sativum</i> L.	Ajo	2	Alimento	Huerto
	<i>Aloe vera</i> L.	Zábila	6	Medicinal	Huerto
	<i>Allium cepa</i> L.	Cebolla	3	Alimento	Huerto
	<i>Chlorophytum comosum</i> (Tumbh. Jaques)	Mala Madre	3	Ornamental	Maceta
Malvaceae	<i>Althea rosea</i> L. Cav.	Vara de San José	4	Ornamental	Maceta

	<i>Malva parviflora</i> L .	Malva	8	Alimento	Huerta
	<i>Urocarpidium limense</i> (L.) Krapov.	Malva china	1	Alimento y Forraje	Huerto
Marantaceae	<i>Maranta leuconera</i> E. Morren	Sapito	2	Ornamental	Maceta
Nyctaginaceae	<i>Bougainvillea glabra</i> Choisy.	Bugambilia	7	Ornamental	Huerto
	<i>Mirabilis jalapa</i> L.	Maravilla	1	Ornamental	Huerto
Oleaceae	<i>Jasminum humile</i> L.	Jazmín	6	Ornamental	Huerto
Onagracea	<i>Oenothera biennis</i> L.	Capa de San José	2	Ornamental	Patio
Oxalidaceae	<i>Oxalis corniculata</i> L.	Xocoyol	3	Ornamental	Huerto
Piperaceae	<i>Peperomia marmorata</i> Hook. f.	S/N	1	Ornamental	Patio
Plantaginaceae	<i>Plantago major</i> L.	Lante	2	Medicinal	Huerto
Poaceae	<i>Zea mays</i> L.	Maíz	5	Alimento	Huerto
	<i>Avena sativa</i> L.	Avena	1	Forraje	Huerto
	<i>Hordeum vulgare</i> L .	Cebada	1	Forraje	Huerto
Polygonaceae	<i>Rumex crispus</i> L.	Legua de vaca	1	Alimento	Huerto
Polypodiaceae	<i>Nephrolepis exaltata</i> (L.) Schott	Helecho espada	3	Ornamental	Maceta
	<i>Polypodium filix- max</i> L.	Helecho macho	1	Ornamental	Maceta
	<i>Adiantum capillus-verenis</i> (L.) Hook	Helecho Chino	2	Ornamental	Maceta
Portulacaceae	<i>Portulaca oleracea</i> L.	Verdolaga	3	Alimento	Huerto
Ranunculaceae	<i>Delphinium ajacis</i> L.	Conejito	1	Ornamental	Huerto
Rosaceae	<i>Fragaria</i> sp.	Fresa Silvestre	1	Alimento	Huerto
	<i>Rubus idaeus</i> L.	Frambuesa	1	Alimento	Huerto
Saxifragaceae	<i>Tradescantia fluminensis</i> Vell.	Paloma	4	Ornamental	Patio
Scrophulariaceae	<i>Antirrhinum majus</i> L .	Perritos	2	Ornamental	Huerto

Solanaceae	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	itomate	6	Alimento	Huerto
	<i>Physalis peruviana</i> L.	Tomate	2	Alimento	Huerto
	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Papa	1	Alimento	Huerto
Tropaeolaceae	<i>Tropaeolum majus</i> L.	Mastuerzo	2	Medicinal	Huerto
Urticaceae	<i>Pilea cadierei</i> Gagnep. & Guillaumin	Cáscara de Nuez	1	Ornamental	Maceta
Verbenaceae		Rosario	1	Ornamental	Maceta

Análisis de cluster

Se realizó un análisis de Cluster de cada uno de los componentes espaciales: huerto y patio, para poder examinar mejor su composición, agrupándolos en distintas clases dependiendo de su similitud, conforme a su composición florística. El análisis de cluster se realizó con el coeficiente de Sorensen, por medio del programa Multivariate Statistical Package (MVSP) versión 3.1 con base en una matriz básica de datos de presencia y ausencia de especies en cada huerto y con el procedimiento de agrupación UPGMA, en el cual los datos más cercanos a uno son los más similares.

Patio

En el patio se encontraron presentes sesenta y seis especies lo que representa el 30.69%. Al estudiar los resultados de este análisis se observó que no necesariamente los patios de las mismas comunidades son los que presentan una mayor similitud, ya que los patios de San Pedro y Acayuca son los que conforman el grupo más similar. Este resultado se podría atribuir a que las especies que se siembran en el patio son principalmente plantas de ornato las cuales se seleccionan dependiendo de los gustos y preferencias de los dueños (Figura 3).

Huerto

En este espacio se encontraron presentes ciento cuarenta y nueve especies. El grupo de huertos que presentó mayor similitud es el uno y dos de Zapotlán con un valor de 0.51, esta agrupación se da ya que presenta una gran cantidad de plantas similares, lo que podría deberse a que estos huertos presentan una superficie muy parecida ya que cuentan con 84 y 81 m² respectivamente.

Al analizar los resultado este análisis pudimos observar que a diferencia de los patios, los huertos que presentan las más altas similitudes si pertenecen a las mismas comunidades (Figura 4).

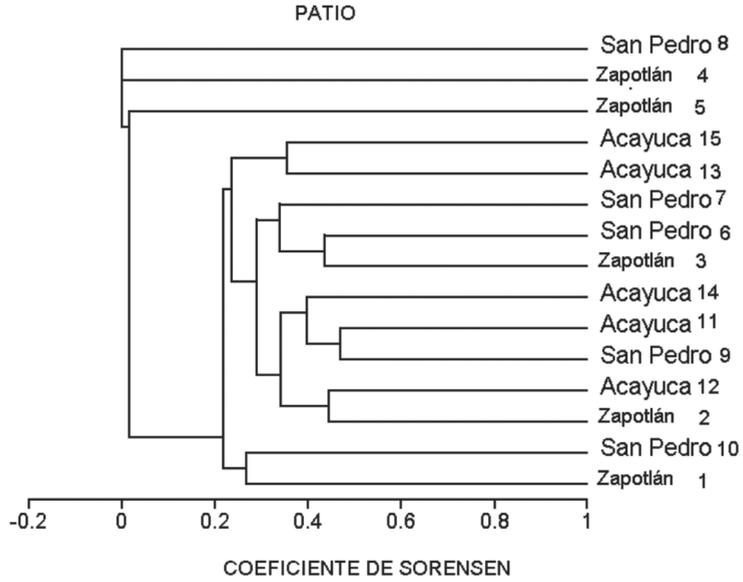


Figura 3. Dendrograma que muestra los grupos dependiendo de las especies encontradas en el patio.

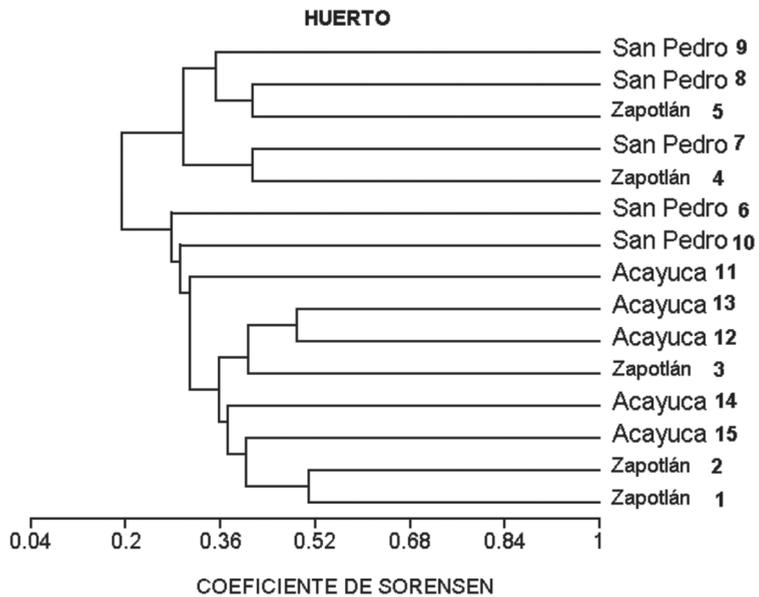


Figura 4. Dendrograma que muestra los grupos dependiendo de las especies encontradas en los huertos.

Por los resultados del análisis podemos mencionar que a pesar de encontrar una gran riqueza de especies, estas presentan una baja frecuencia, por lo que no hay una equivalencia entre las localidades, lo que se atribuye a que la gran mayoría de las plantas presentes en los huertos y patios esta sujeta a los gustos y necesidades particulares de cada unidad familiar.

Usos antropogénicos de las especies en los huertos

Desde el punto de vista antropogénico, las especies vegetales existentes en los huertos familiares pueden agruparse en varias categorías de uso, las cuales son una herramienta para conocer a la planta ya que denota una característica de ésta o de un grupo de plantas en relación con las demás (Maldonado, 1979).

Para analizar el uso de las especies, estas se clasificaron empleando las categorías propuestas por Hernández (1985), teniendo como resultado seis categorías de uso (Figura 5):

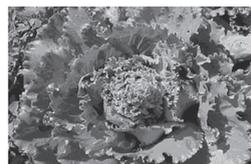
1. Ornamental
2. Alimento
3. Medicinal
4. Forraje
5. Cerco vivo
6. Mágico-religioso



a)



b)



c)



d)



e)



f)

Figura 5. Ejemplos de especies de plantas de cada categoría de uso registradas en los huertos. De izquierda a derecha: a) *Sechium edule* (Jacq.) Sw. (Alimento), b) *Brugmansia arborea* L. Lagert. (Ornamental), c) *Lactuca sativa* L. (Forraje), d) *Pachycereus marginatus* (De Candolle) Britton & Rose. (Cerco vivo), e) *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. (Mágico-religioso) y f) *Aloe vera* L. (Medicinal)

Número de especies por categoría de uso

Con base a la lista florística se cuantificó la distribución de las categorías de uso siendo el grupo de mayor diversidad de plantas el ornamental con 130 especies, lo que indica que los huertos familiares no solamente satisfacen necesidades alimentarias, sino que también tienen un valor estético, basado en los gustos de la familia, el segundo grupo más frecuente fue el de alimento, con 62 especies afirmando así que uno de los usos tradicionales más importantes del huerto es proveer alimentos a la familia, el tercer grupo en diversidad de especies fue el medicinal, con 32 especies, las cuales se cultivan para obtener recursos curativos, el cuarto grupo fue el de uso forrajero del que se contaron 12 especies, de las cuales algunas son arvenses y excedente de las plantas de uso alimenticio. Los grupos de usos cerco vivo y mágico-religioso obtuvieron los valores más bajos, con tres especies cada uno (Figura 6).

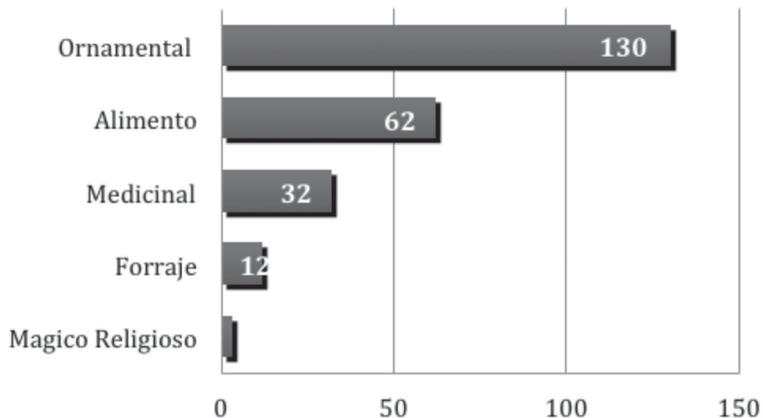


Figura 6. Numero de especies por categoría de uso.

Ornamentales

Como se puede observar, la proporción de especies destinadas a la alimentación o la medicina tradicional se ve empujadas ante la gran proporción de especies para ornato. La prevalencia de especies de plantas ornamentales en los huertos del municipio se puede atribuir a que las tres localidades, son eminentemente urbanas y de acuerdo con Drescher (1998) en estas regiones existe predilección hacia ese tipo de plantas.

Encontrar una gran cantidad de especies ornamentales en los huertos, se atribuye a un gran conocimiento del manejo de los vegetales ya que las plantas ornamentales requieren de mayor cuidado (Hernández, 2001).

Alimento

Se registro un total de sesenta y dos especies comestibles, con un periodo de crecimiento vegetativo y de reproducción diferente, lo que da como resultado que las personas dispongan de recursos alimenticios variados a lo largo del año lo cual es importante ya que las plantas complementan las dietas, con una buena aportación de minerales y vitaminas; ya que el calcio, hierro, tiamina, riboflavina y niacina, se encuentran en el 100% de las especies con uso alimenticio reportadas en los huertos de Zapotlán.

Medicinales

Los huertos analizados juegan un importante rol en el aporte de plantas medicinales que representan un recurso alternativo para apoyar la atención de las enfermedades más frecuentes en la región ya que al analizar la información obtenida sobre las plantas con este uso, se encontró que la mayoría son utilizadas para tratar enfermedades gastrointestinales como son el dolor de estómago y eliminar parásitos (Figura 7), las cuales son enfermedades muy comunes según los reportes del Centro de Salud municipal, lo cual reafirma la importancia de estas plantas para los habitantes de las comunidades para el tratamiento de estas.

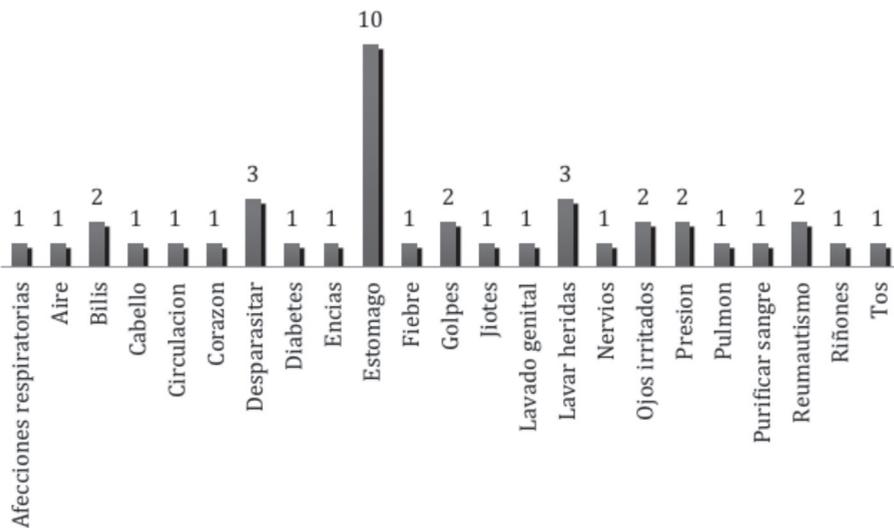


Figura 7. Número de plantas medicinales reportadas en los huertos del municipio de Zapotlán, para tratar distintas enfermedades.

Se calculó la distribución porcentual de las estructuras vegetales útiles de las plantas medicinales, teniendo como resultados que las mas frecuentes son las hojas, seguida por los tallos (Figura 8), lo que se atribuye a que el 70% de las plantas se administran por vía oral, es decir se ingieren en té, masticadas o en licuado para lo cual se recurre a estas estructuras, mientras que el 30% restante se administran localmente al aplicar o frotar las plantas ya sea directamente, en forma de cataplasma o mediante lavados empleando infusiones (Tabla 3).

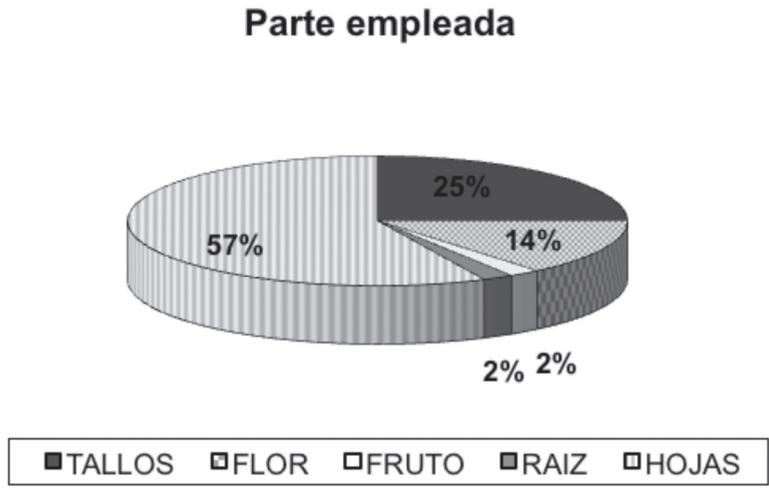


Figura 8. Relación porcentual de las estructuras útiles en las plantas medicinales.

Tabla 3. Lista florística de las especies con uso medicinal por nombre común, nombre científico, afección tratada, forma de uso, estructura útil y vía de administración

Nombre común	Nombre científico	Uso	Forma de uso	Estructuras vegetales	Vía de administración
Ajenjo	<i>Artemisia absinthium</i> L.	Desparasitar	Té	Hojas y tallos	Oral
Borraja	<i>Borago officinalis</i> L.	Fiebre eruptiva	Té	Hojas	Oral
Cedrón	<i>Aloysia triphylla</i> (L'Hert.) Britt.	Dolor de estómago	Té	Hojas y flores	Oral
Dedito de dios	<i>Sedum pachyphyllum</i> Rose.	Ojos irritados	Se utiliza el jugo el cual se coloca en el ojo	Hojas	Local
Epazote	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Desparasitar	Té	Hojas y tallo	Oral
Epazote de zorrillo	<i>Chenopodium graveolens</i> Will.	Desparasitar	Té	Hojas y tallos	Oral
Hierba buena	<i>Mentha piperita</i> L.	Dolor de estómago	té, con carbonato	Hojas	Oral
Hinojo	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	Dolor de estómago	Té	Hojas y tallo	Oral
Lante	<i>Plantago major</i> L.	Dolor de estómago	Té	Hojas y flores	Oral
Limón	<i>Citrus limon</i> (L.) Burm.	Bilis	Jugo de un limón después de un coraje	Fruto	Oral
Magüey	<i>Agave roezliana</i> Baker.	Reumatismo Golpes	Se cuece la penca y se coloca en la parte adolorida.	Penca	Local

Malva	<i>Malva parviflora</i> L.	Lavar heridas Dolor de estómago	Se pone en contacto con la herida té para dolor de estómago	Raíz Hojas y tallo	Local y oral
Manzanilla	<i>Matricaria chamomilla</i> L.	Dolor de estómago	Se prepara en té	Flores, hojas y tallo.	Oral
Marrubio	<i>Marrubium vulgare</i> L.	Bilis y el corazón	Té	Hojas y tallo	Oral
Mastuerzo	<i>Tropaeolum majus</i> L.	Quitar jiotos	Se coloca directamente en la piel	Flor	Local
Mejorana	<i>Origanum mejorana</i> L.	Dolor de estómago	Té	La planta seca	Oral
Mercadela	<i>Calendula officinalis</i> L.	Dolor de encías	Se mastica	Hojas	Oral
Mirto	<i>Myrtus communis</i> L.	Afecciones respiratorias	Té	Hojas	Oral
Muicle	<i>Justicia spicigera</i> Schl.	Purificar la sangre	Té	Hojas	Oral
Níspero	<i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl.	Para los riñones	Té	Hojas	Oral
Oreja de burro	<i>Echeverria gibbiflora</i> DC.	Para el pulmón	Se coloca en la espalda	Hojas	Local
Ortiga	<i>Urtica dioica</i> L.	Circulación y reumas Desinfecta heridas	Se tallan las partes adoloridas o infectadas con la ortiga	Hojas y tallo	Local
Pirul	<i>Schinus molle</i> L.	Limpias	Se pasa la planta sobre el cuerpo de la persona	Hojas y tallo	Local
Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Lavados genitales Evita la caída del cabello	Té	Con las hojas y tallo	Local
Rosa de Castilla	<i>Rosa centifolia</i> L.	Infecciones de ojos, conjuntivitis	Se prepara en té, se combina con epazote.	Pétalos	Oral

Ruda	<i>Ruta chalepensis</i> L.	Para la enfermedad del aire, Heridas	Como té para el aire. Se machaca y se aplica directamente para las heridas.	Flores Tallo y hojas	Oral y Local
Sábila	<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. F.	Golpes Diabetes	Se asa y se coloca en el golpe. -Se hace un licuado mezclándolo con nopal para la diabetes.	Hoja	Local y Oral
Santa María	<i>Tanacetum parthenium</i> L. Sch. Bip.	Dolor de estómago. Limpias	Se prepara en té, para el estomago. Para limpias se pasa la planta sobre el cuerpo de la persona.	Hojas, tallo y flores	Oral y Local
Saúco	<i>Sambucus mexicana</i> Presl.	Tos	Té	Hojas	Oral
Siempre viva	<i>Sedum prealtum</i> DC.	Presión	Se mastica la planta	Hojas y tallo	Oral
Tepozán	<i>Buddleia cordata</i> HBK.	Estómago	Té	Hojas	Oral
Toronjil	<i>Melissa officinalis</i> L.	Estómago y nervios	Té	Hojas	Oral
Zapote blanco	<i>Casimiroa edulis</i> Llave & Lex.	Presión	Té	Hojas	Oral

Forraje

Se obtuvo un registro de doce especies en esta categoría de uso presentes en trece de los quince huertos visitados. Las plantas utilizadas en esta fueron en su mayoría plantas que también se emplean como alimento, también se observó una tolerancia selectiva a algunas especies arvenses ya que estas no son concebidas como problema, por el contrario, representan un recurso importante para alimentar a los animales, lo que muestra como los campesinos tienden a aprovechar integralmente los recursos que tienen a su alcance (Figura 9).



Figura 9. Alimentación con malvas utilizadas como forraje para animales domésticos

Cerco vivo

Solo se reportaron tres especies empleadas como cerco vivo las cuales pertenecen al estrato herbáceo. Esta categoría de uso se encontró solo en cuatro de los quince huertos estudiados, esto se atribuye a que los huertos se encuentran dentro de la propiedad, la cual comúnmente está delimitada por una barda por lo que no es necesario colocar especies vegetales que formen una cerca.

Mágico-religioso

En los quince huertos visitados solo diez presentaron plantas en esta categoría de uso. Se obtuvo el reporte de tres especies, dos de las cuales son del estrato herbáceo y una del arbóreo

Se obtuvo información sobre el cempasúchil, especie presente en huertos de San Pedro, teniendo el uso de ofrenda al adornar altares y tumbas el día de muertos el cual se festeja el primero y el dos de noviembre. Así también se recabo información sobre Santa Maria la cual se encontró presente en varios huertos en las tres comunidades visitadas. El uso que se le da a esta planta es para limpieas de aire. Por ultimo se reporto el pirul el cual se encontró presente en huertos de todas las localidades del municipio y su uso es para realizar limpieas.

Usos múltiples

El 11.16% de las especies vegetales presentes en los huertos familiares de Zapotlán, reciben más de un uso antropogenico (Tabla 4).

Tabla 4. Especies de plantas reportadas con más de un uso.

Estrato	Nombre comun	Uso					
		O	A	M	F	MR	CV
HERBACEO	Acelga		X		X		
	Borraja	X		X			
	Dedito	X		X			
	Espinacas		X		X		
	Hierbabuena		X	X			
	Lechuga		X		X		
	Malva		X	X	X		
	Malva China		X		X		
	Mastuerzo	X		X			
	Mercadela	X		X			
	Quelite		X		X		
	Quintonil		X		X		
	Santa Maria	X		X		X	
	Siempre viva	X		X			
	Verdolaga		X		X		
ARBUSTIVO	Zábila	X		X			
	Magüey cimarrón	X		X			
	Nopal		X		X		
	Órgano	X					X
	Rosa de castilla	X		X			
ARBOREO	Tepozan	X		X			
	Limón		X	X			
	Pirul	X				X	
	Zapote blanco		X	X			

O: Ornamentales, A: Alimento, M: Medicinales, F: Forrajero, MR: Mágico-religioso y CV: Cerco vivo

Al examinar los datos se observó que la mayoría de las plantas sólo presentan dos usos siendo la combinación más frecuente la ornamental y medicinal con once especies, seguido por alimento y forraje con nueve. La categoría de alimento y medicinal presenta cuatro especies, mientras que el uso mágico-religioso y ornamental, mágico-religioso y medicinal, y cerco vivo y ornamental cuentan con una especie cada una de estas combinaciones. Sólo dos plantas presentan tres categorías de uso, la malva empleada como alimento, forraje y medicinal y la Santa María como medicinal, ornamental y mágico-religioso.

Estructura de la vegetación de los huertos

Se hicieron observaciones para determinar la estructura de la vegetación de los huertos estudiados, con lo que se realizó la descripción de la misma, encontrando que en los huertos se presentan dos tipos de estructuras: la horizontal y la vertical. La primera se refiere a la distribución espacial de las plantas en la superficie que comprende el huerto, la segunda hace referencia a los diferentes estratos que se establecen dentro del huerto considerando las alturas

Estructura vertical

El arreglo vertical de los huertos en el municipio está compuesto por tres estratos bien definidos: arbóreo, arbustivo y herbáceo (Figura 10). En el estrato arbóreo predominan frutales y se registraron sólo treinta especies, mientras que en el arbustivo se presentan cuarenta y cuatro especies, siendo el estrato herbáceo es el más diverso con ciento cuarenta y un especies (Figura 11).



Figura 10. Muestra los tres estratos presentes en el arreglo vertical de los huertos



Figura 11. Distribución porcentual de especies en cada uno de los estratos presentes en los huertos del municipio de Zapotlán.

Estructura horizontal

Se registró un arreglo horizontal en los huertos siete, ocho y nueve de San Pedro, cuatro y cinco de Zapotlán en hileras, (Figura 12) los huertos no mencionados no presentan ningún orden en la siembra de sus plantas. El arreglo espacial en todos los huertos no está relacionado con los estratos biológicos (arbóreo, arbustivo y herbáceo), ya que se orienta a partir de los criterios de cada familia, a la forma y el tamaño del huerto.

Índice de similitud

Los datos obtenidos en las entrevistas y salidas de campo fueron la base para la descripción de los huertos. Cada huerto se caracterizó por su composición florística y se cuantificó su similitud. Los resultados muestran que los huertos son más semejantes en el estrato arbóreo y arbustivo y difieren más en la composición florística del estrato herbáceo.

Los valores del índice de similitud de Sorensen entre las combinaciones posibles de pares de huertos en el estrato herbáceo son bajos, ya que los valores se ven concentrados entre 0.05 a 0.4, siendo el huerto cuatro de Zapotlán y el ocho de San Pedro los que presentan mayor parecido (0.47). El huerto cuatro de Zapotlán presenta una similitud nula (0) con los huertos seis y ocho de San Pedro, dos de Zapotlán y doce y trece de Acayuca (Figura 13).



Figura 12. Arreglo horizontal en hileras de uno de los huertos estudiados en la localidad de San Pedro, municipio de Zapotlán

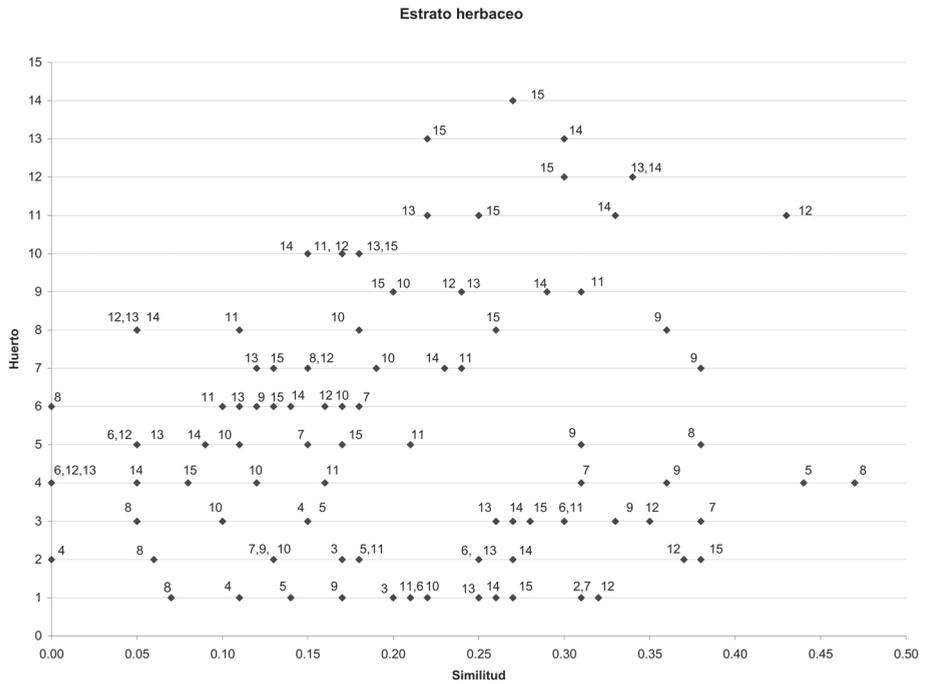


Figura 13. Relación de similitud entre los pares de huertos en el estrato herbáceo

En cuanto a los valores de similitud para el estrato arbustivo se presentan entre 0.2 a 0.6, los cuales son los más altos de los tres estratos. El huerto que presentó una menor similitud de 0.08, es el huerto nueve de San Pedro y el quince de Acayuca. En cuanto a los huertos que presentaron la más alta similitud fue el huerto trece de Acayuca y siete de San Pedro con un valor de 0.7 (Figura 14). Es importante mencionar que los huertos de menor y mayor similitud pertenecen a las mismas localidades.

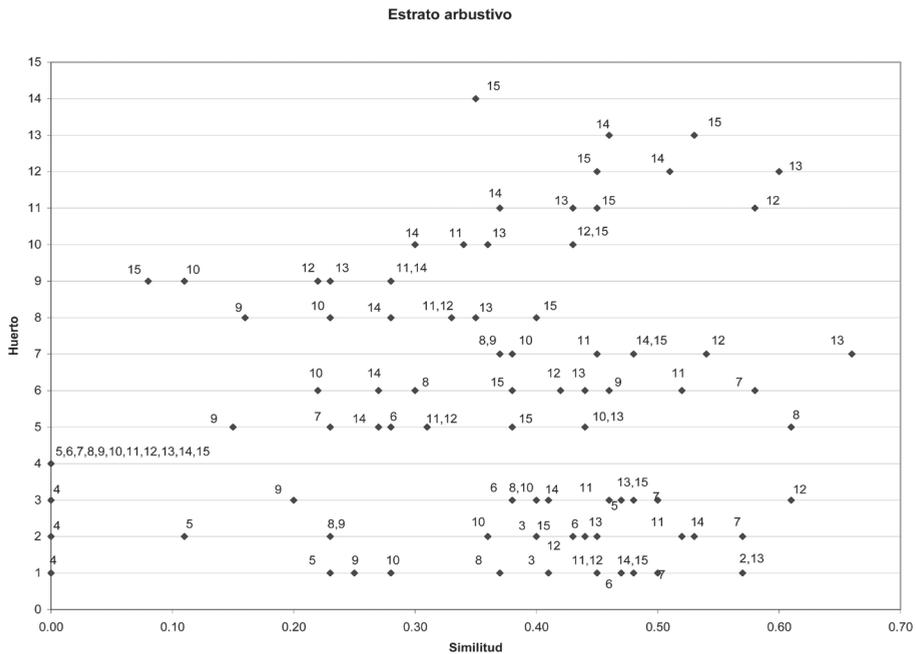


Figura 14. Relación de similitud entre los pares de huertos en el estrato arbustivo

Los valores de similitud para el estrato arbóreo se concentraron en el rango de 0.15 a 0.6. En este estrato se presentó una gran cantidad de huertos con una similitud nula, pero es el huerto siete de San Pedro el que presenta este valor nulo con cuatro de los cinco huertos de Acayuca. Por otro lado los huertos más similares con un valor de 0.66 fueron los huertos seis y ocho de San Pedro con los huertos uno de Zapotlán y trece de Acayuca respectivamente (Figura 15).

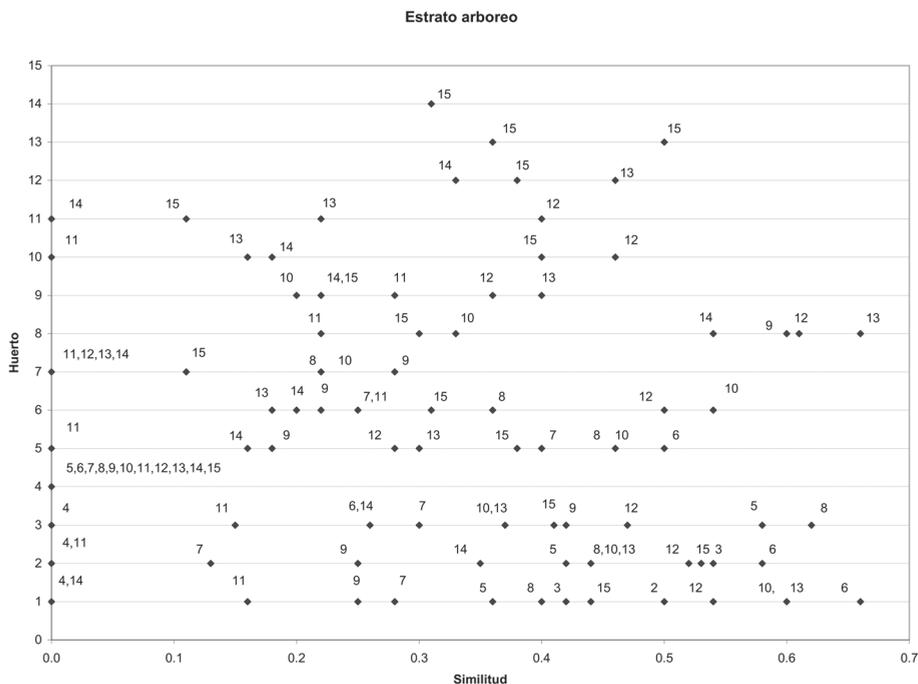


Figura 15. Relación de similitud entre los pares de huertos en el estrato arbóreo

Manejo de los huertos

Se observó que si bien cualquier miembro de la familia puede participar en el trabajo del huerto, la responsabilidad principal recae en las personas entrevistadas, así los resultados muestran que el 73% de los huertos estudiados en Zapotlán, Hidalgo son manejados por mujeres y el 27% por hombres.

Siembra

En los 15 huertos de Zapotlán se lleva a cabo la agricultura tradicional, ya que este sistema de producción se basa en conocimientos y prácticas que han sido desarrolladas a través de muchas generaciones.

Al realizar el cuestionario de actividades agrícolas se obtuvo información sobre la preparación de la tierra, el mes en que la gente acostumbra sembrar y la distancia que dejan entre las plantas. Teniendo como resultado que la mayoría de los huerteros acostumbran preparar la tierra para el cultivo con tierra de encino o de árbol (pirul), la cual ciernen y colocan en el huerto, sólo en un huerto utilizan tierra de monte la cual traen del municipio de Omitlán estado de Hidalgo.

Al preguntar sobre la fecha en que acostumbran sembrar, se encontró que para la mayoría de las especies no tienen un mes fijo, lo que se observó es que esperan a que pasen las heladas, las cuales pueden atrasarse o adelantarse pero generalmente a partir de febrero o marzo ya no se presentan. No obstante, para algunas especies los huerteros proporcionaron las fechas, o momentos astrales, de siembra: para la milpa en el mes de abril, las begonias las acostumbran plantar el 19 de marzo, las dalias en febrero, las rosas en el mes de marzo y los agapandos en luna llena.

Los resultados de la distancia entre planta y planta fueron entre los 20 y 50 cm. Pero para la mayoría de las especies los huerteros no tienen una distancia mínima o máxima para su cultivo. Solo la distancia de siembra para el maíz en todos los huertos que lo presentan es de cincuenta centímetros. También explicaron que el higo al tener mucha raíz, no deja crecer a las otras plantas por lo cual procuran sembrarlo separado.

Abono y fertilizantes

La mayor parte de los materiales empleados proviene del propio huerto, como el abono natural, que son compuestos orgánicos fundamentales en el mejoramiento de la fertilidad del suelo. Los terrenos destinados para el huerto familiar son abonados con frecuencia, ya que se requiere el máximo de fertilidad del suelo. Para esto es necesario colocar anualmente, o cada dos años, estiércol del ganado vacuno y/o caprino, el cual mejora la retención de agua. También se considera como abono importante la hojarasca y restos de comida de origen vegetal, estos mejoran las propiedades físicas y químicas de los suelos. También se registró el uso de el guano de gallina para el mejoramiento de la fertilidad del suelo, ya que es rico en algunos macro nutrientes como el nitrógeno (Gentile, 1997) el procedimiento para incorporarlo al terreno es formar una pequeña capa de cinco centímetros aproximadamente, después de esta tarea se debe de regar con frecuencia el suelo para favorecer la descomposición del material introducido.

Los fertilizantes químicos como Foliar para frutales y O₂ para la milpa solo se utilizan en el huerto 3 de San Pedro, ya que generalmente la fertilidad del suelo se mantiene con de forma orgánica: estiércol, residuos vegetales y hojarasca, los fertilizantes químicos se utilizan como ultimo recurso debido a sus altos costos.

Semillas y fumigantes

El origen de las semillas que componen los huertos es de varias fuentes, ya que las semillas se obtienen del propio huerto, del intercambio con los vecinos de la comunidad o bien de la compra de las semillas de la especie de interés. La cantidad de semilla sembrada no es fija ya que para la siembra de muchas especies

comestibles sólo tiran las semillas de los restos de los frutos que se usaron en la cocina, ejemplo: Jitomate.

En el caso de los fumigantes se observó que en la mayoría de los huertos no es utilizado, sólo en dos de ellos se emplea el fumigante Foley_{50E} que es un insecticida agrícola concentrado emulsionable; que tiene como ingrediente activo Paration metílico.

Riego

La disponibilidad del agua para el huerto proviene de las descargas de los lavaderos, de la casa que generalmente se encuentra cerca o dentro de ellos. Para esto se construyen canales para que el agua pueda ser aprovechada por la mayoría de las plantas.

Herramientas

La labranza del suelo es común y periódica en los huertos estudiados, esta labor se efectúa con varios instrumentos manuales, éstos son:

- Pico: Instrumento que sirve para aflojar la tierra.
- Azadón: Empleado para aflojar la tierra y eliminar maleza, también se le puede utilizar para hacer hoyos en donde se colocan las semillas.
- Pala: Sirve para colocar el abono.
- Rastrillo: Instrumento utilizado para limpiar el terreno.

Podas

Se realizan dos tipos de poda en los 15 huertos: una para eliminar ramas rotas o afectadas y el mejoramiento estético del huerto, la cual es llamada poda sanitaria, y la segunda de producción, que se realiza con el objetivo de que penetren los rayos solares a las plantas más pequeñas. No existe una fecha en particular para realizarla, ya que estas se efectúan cuando son requeridas.

Cosechas

Las cosechas son manuales y se realizan prácticamente durante todo el año.

Control de maleza

Los huerteros quitan el jégüite (maleza) para restarle competencia a los cultivos, haciéndolo solamente cuando la densidad de hierbas es alta.

Además de las especies cultivadas se encontraron trece especies arvenses, que representan el 6.04% de las especies presentes en los 15 huertos de estudio.

Tiempo de los huerteros

El manejo de los huertos se basa en los conocimientos tradicionales y un recurso indispensable es la disponibilidad de tiempo del dueño, ya que el éxito se perdería si no hay un cuidado continuo. De los quince huertos estudiados, sólo en cuatro (26.6%) los huerteros tienen otro oficio como costurera, comerciante y fotógrafo, los demás tienen como actividad principal el cuidado del huerto.

Edades de los huerteros

La mayoría de la gente poseedora de los huertos familiares en estudiados son personas jubiladas o amas de casa, que se encuentran en un rango de edad que va de los 48 a los 86 años. En promedio los huerteros de la comunidad de Acayuca son los que presentan mayor edad, 68 años. También se observa que estos huertos pertenecientes a personas de edad avanzada presentan mayor diversidad de especies ya que hay un aprovechamiento más integral del espacio, debido a su mayor conocimiento y experiencia.

Discusion

En el municipio de Zapotlán de Juárez, Hidalgo, existe un sistema de producción de subsistencia denominado Huerto, caracterizado por la utilización de numerosas especies agrícolas, cultivadas en diversos estratos, con la mínima aplicación de insumos, que se ubican cercanas a la casa-habitación y contiene plantas de diversos usos antropogénicos.

Los estratos que se presentan en el huerto familiar no se encuentran ordenados, sino que están mezclados y ubicados de acuerdo a las preferencias de cada familia.

El inventario de especies presentes en cada huerto permitió conocer que existen sesenta y dos especies comestibles, ciento treinta especies ornamentales y treinta y dos especies medicinales.

Esta investigación permitió conocer la biodiversidad conservada en los sistemas de producción y la recopilación del conocimiento local sobre su uso, manejo y conservación.

Esta variabilidad confiere características adecuadas para la conservación de recursos genéticos *in situ*. El huerto es tan rico en la cantidad de especies, tan completo y variado, que presenta características idóneas como lugar de conservación de germoplasma.

Se encontró que los productos del huerto para el uso alimenticio proveen a la familia de proteínas, vitaminas y minerales que mejoran la alimentación. Además, las plantas medicinales que se cultivan en él, son un componente básico para el tratamiento de algunas enfermedades comunes, ya que el municipio de Zapotlán sólo cuenta con tres centros de salud en los que hay siete enfermeras

y seis médicos, solamente para los 15,688 habitantes del municipio. Esto obviamente es insuficiente por lo que la gente se ve en la necesidad de buscar nuevas opciones para tratar sus enfermedades, o al menos las mas frecuentes, que son las gastrointestinales, las cuales son muy usuales en este municipio, de acuerdo a los reportes de consultas anuales que muestran los SSH.

Se observo que continuamente se están introduciendo nuevas especies de interés estético principalmente.

Se encontró que en la mayoría de los huertos las mujeres son las que los manejan, una disposición espacial aparentemente azarosa de las plantas en la mayoría de los huertos de la zona se observa.

Se encontraron algunos factores que amenazan este sistema agrícola, uno de ellos es que las personas que se dedican a conservar el huerto son gente jubilada, y el poco interés de las nuevas generaciones a esta practica, otro factor es la poca disponibilidad de agua para mantener la producción ya que en este municipio solo se cuenta con este recurso cada tres días.

Conclusiones

Los huertos familiares son un sistema agroforestal muy utilizado y difundido en toda el área de estudio, no obstante no existe un patrón constante o definido de especies, ya que varían de acuerdo con las necesidades específicas de cada unidad familiar. El carácter comercial de los huertos de Zapotlán, Hidalgo, sé esta perdiendo ya que no es redituable el trabajo asignado al huerto con la venta, al igual que genera una gran presión el mercado de diferentes productos disponibles por lo que esta costumbre casi ha desaparecido, y la gente se ve obligada a utilizar su producción como forraje.

El número de especies encontradas en los huertos familiares de Zapotlán Hidalgo (215) es considerable, por lo que la investigación no mostró empobrecimiento o una disminución de la diversidad debido a la cercanía con la ciudad. Los huertos siguen cumpliendo una de sus funciones más importantes, que son generar productos de autoconsumo para la familia; asimismo, muchas de las especies que los componen tienen usos múltiples.

La contribución de los huertos a la producción global de alimentos se ignora, pero es muy importante en la seguridad alimentaría familiar, ya que en épocas de crisis económica, el huerto contribuye de manera importante a la subsistencia de las familias en las comunidades.

A pesar de haber realizado el trabajo de campo durante un ciclo anual completo, para poder conocer en su totalidad las especies que se manejan en el huerto familiar, habría que establecer el seguimiento de los huertos a través de varios años para entender como ocurre la incorporación de nuevas especies.

Bibliografía

- Alcorn, J.B. 1983. "El tel'om huasteco: presente pasado y futuro de un sistema de un sistema de silvicultura indígena". *Biótica*. 8 (3): 315-331.
- Alexiades, M. N. 1996. Collecting ethnobotanical data: an introduction to basic concepts and techniques. In: Alexiades M. N. (ed.). *Selected guidelines for ethnobotanical reseaech: afield manual*. Botanical Gorden. New York. P. 52-94.
- Dresher, A. 1998. Sistema de producción de huertos Africanos. Gerencia de los sistemas de producción y de las estrategias sostenibles para la seguridad del alimento. www.agroecology.org/cases/homegardens.htm
- Gaytan, A. C., H. Vibrans., H. Garza y M. Jiménez. 2001. Manejo de los huertos familiares periurbanos de San Miguel Tlaixpan. Edo de México, Bol. Soc. Bot. Mex. 63:39-62.
- Gentile, T.N. 1997. Tratado practico de horticultura familiar. Registro de depósito, Obra inédita numero 108296.
- Gispert, M., N. Diego, J. Jiménez, A. Gómez, J. Quintanilla y L. García. 1979. Un nuevo enfoque en la metodología etnobotánica en México. *IMEPLAM Medicina Tradicional, México* 2(7):41-52.
- Hernández, B. A. 2001. Uso y manejo de los huertos familiares en Huimanguillo, Tabasco. Tesis de licenciatura. Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. 57 p.
- Hernández, X. E. 1985. Exploración etnobotánica y su metodología, Xolocotzia. *Revista Geográfica Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo, México*. 1:163-188.
- Herrera, C., A. Gómez-Pompa, L. Cruz y J. Flores. 1993. Los huertos familiares mayas en X-uilub, Yucatán, México. Aspectos generales y estudio comparativo entre la flora de los huertos familiares y la selva. *Biótica*.1:19-36.
- INEGI, 1997. Cuaderno estadístico municipal de Zapotlán de Juárez, estado de Hidalgo. Gobierno del estado de Hidalgo. 133 p.
- Jiménez-Osorio, J., M. Ruanes y P. Montanez. 1999. Agrodiversidad de los solares de la península de Yucatán. Departamento de manejo y conservación de recursos naturales tropicales. Universidad Autónoma de Yucatán. *Gestión de Recursos Naturales* 14:30-40.
- Maldonado, K. 1979. Estudios Etnobiológicos. Definición, relación y métodos de la etnobiología. En: Barrera, A. (Ed.) *La etnobotánica: tres puntos de vista*

-
- y una perspectiva. Instituto de Investigaciones sobre Recursos Bióticos A. C. Xalapa, Veracruz, México. 7-11.
- Montes, J. y Y. Benítez. 1976. Los huertos familiares y su importancia desde el punto de vista etnobotánico. Escuela Nacional de Agricultura. Chapingo. México. 21 p.
- Navarro, M, B. Schmook, J. Martínez. 2000. Manejo Tradicional de Hubches en una Comunidad Maya de QuintanaRoo, Foresta Veracruzana 2(1):19-30.
- O.N.U y F.A.O. 2000. Mejorando la Nutrición A Través de Huertos y Granjas Familiares, Manual de Capacitación para Trabajadores de Campo en América Latina y el Caribe, Servicios de Programas de Nutrición, Dirección de Alimentos y Nutrición.(www.fao.org/DOCREo/V52905/v5290s00.htm#TopOfPage)
- Soemarwoto, O. and G. Conway. 1992. The Javanese home garden. Journal for Farming Systems Research-Extension 2(3): 95-118.
- Traversa, I., A. González, L. Gómez, J. López y R. Hernández. 1998. Los Huertos caseros de Zaachilo en Oaxaca, México. www.catie.ac.cr/informacion/RAF/rev28/arti2-a.htm.
- Xuluc, C. 1995. Caracterización del componente vegetal de los solares de la comunidad de Sacaba, Yucatán, México. Tesis de licenciatura. Mérida, Yucatán. 55 p.

CAPÍTULO II

Plantas Útiles de San Juan Solís, Municipio de San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo.

López Gutiérrez, B.N, Pérez Escandón, B.E.

Villavicencio Nieto, M.A.

Laboratorio de Etnobotánica.

Centro de Investigaciones Biológicas.

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Resumen

Este trabajo se realizó en San Juan Solís, San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo, donde la población es mestiza y la vegetación principal es matorral xerófilo y pastizal. Tiene como objetivo documentar el uso tradicional de las plantas, así como determinar la importancia de las especies utilizadas. Se hicieron entrevistas semiestructuradas y estructuradas aplicando un cuestionario a una muestra de la población, con esta base se hicieron colectas de las especies mencionadas e identificación de las mismas. Se registraron 162 especies de plantas útiles de las cuales se identificaron 144 especies que están distribuidas en 61 familias y 123 géneros, la familia y género mejor representados son Asteraceae y *Solanum*. Hierba es la forma de vida de uso más frecuente y las hojas son la parte vegetal más utilizada. Se registraron 12 categorías de uso donde la más frecuente es la medicinal, de la cual se obtuvieron 14 padecimientos ordenados en aparatos y sistemas, siendo el digestivo el más tratado por plantas medicinales y la vía de administración oral la más frecuente. De las especies registradas *Agave salmiana* var *salmiana*, seguido de *Myrtillocactus geometrizans* son las que presentan un mayor valor de uso. Por medio de este trabajo se puede afirmar que San Juan Solís es una comunidad con una elevada diversidad florística la cual la población aprovecha para su beneficio.

Palabras claves: San Agustín, Tlaxiaca, Hidalgo, valor de uso, etnobotánica, plantas útiles, entrevistas, Familias, géneros, especies, uso, NOM-059.

Introducción

Es importante tener una visión clara y sencilla de lo que es una investigación etnobotánica, la cual comprende el estudio e interpretación del conocimiento tradicional, la importancia de éste, así como el manejo y uso tradicional de las plantas por un grupo humano caracterizado por su propia cultura (Zamora y Barquín, 1997). La etnobotánica es una disciplina científica que aborda el estudio de las relaciones del hombre con su entorno vegetal desde el punto de vista biológico, histórico, social y cultural, bajo un enfoque de investigación multidisciplinaria. (Rendón Aguilar *et al.*, 2001).

Uso de la flora

La información sobre el uso tradicional de las plantas en México se encuentra dispersa en numerosas fuentes y es altamente variable en cuanto a su amplitud, detalle y orientación científica. Las plantas de México son utilizadas para fines muy diversos. Una proporción muy grande de ellas representa recursos de uso múltiple para las poblaciones humanas locales (Rendón Aguilar *et al.*, 2001).

En el estado de Hidalgo la mayoría de la población habita en el medio rural lo que facilita el contacto entre la naturaleza y la sociedad, así existe un amplio conocimiento tradicional de la flora. Sin embargo en la mayor parte del estado no se cuenta con estudios acerca de la importancia cultural y económica de la diversidad florística (Villavicencio y Pérez Escandón, 1995); este es el caso de comunidades como San Juan Solís, del municipio de San Agustín Tlaxiaca que no cuenta con antecedentes de estudios etnobotánicos.

Antecedentes

En cuanto a trabajos botánicos efectuados en el estado de Hidalgo, destaca el de Villada (1865) quien hizo un estudio florístico de varios municipios de la Sierra de Pachuca, en el cual se citan plantas vasculares y no vasculares y en algunos casos se dan usos y nombres populares (Zamora y Barquín, 1997). En su *Historia de las cosas de la Nueva España*, Sahagún (1997) describió la utilización de 250 especies de plantas de Tepeapulco y en las *Relaciones Geográficas* se citan especies de áreas ahora hidalguenses como Zempoala, Epazoyucan, Metztitlan, Mixquiahuala y Huejutla (Acuña, 1985,1986).

Ramírez (1936) reportó el uso de algunas especies vegetales del Valle del Mezquital; Sandoval (1997) y García (1981) estudiaron respectivamente las plantas de medicinales de Tulancingo y de la vertiente sur de la Sierra de Pachuca, Villavicencio Nieto y Pérez Escandón (2005) y Pérez Escandón *et al.* (2003) han hecho estudios acerca de la flora útil del estado.

De acuerdo con su uso, las plantas pueden ser clasificadas en diferentes categorías. Así por ejemplo, Hernández-Sandoval *et al.* (1991) encontraron 14 categorías de uso de las plantas en Tamaulipas; Toledo *et al.* (1995) clasificaron a las plantas utilizadas por indígenas del trópico húmedo de México en 30 categorías de uso, al igual que Pérez Escandón *et al.* (2003) en Hidalgo.

Monroy y Ayala (2003), obtuvieron información de 81 especies, donde los usos con mayor abundancia fueron el medicinal con un 51.8%, seguido del alimentario con un 35.8%. Las estructuras vegetales con mayor frecuencia de uso son las hojas y los tallos. Marín-Corba *et al.* (2005), revisaron la aplicabilidad y la utilidad del método del valor de uso y propusieron nuevas modificaciones con el objeto de contribuir a mejorar los métodos en etnobotánica cuantitativa.

Hernández *et al.* (2005), aplicaron 119 entrevistas en una población de 8,900 habitantes sobre plantas útiles en padecimientos gastrointestinales, de lo cual obtuvieron que la familia Asteraceae es la que presenta un mayor número de especies utilizadas para el tratamiento de estas enfermedades, de las respuestas obtenidas tuvieron variación en relación al género. Así, los hombres mencionaron un promedio de 4 especies, mientras que en el caso de las mujeres fueron 6 las especies que en promedio fueron mencionadas. En relación con la edad, los informantes que se encuentran entre los 60 y 90 años, son los que reconocen un mayor número de especies, sin embargo no se observó ninguna diferencia por género o edad dentro de la población en cuanto a uso de especies.

Hernández Muñoz (2005), en su estudio obtuvo un total de 165 especies, donde las familias mejor representadas por género y especie fueron las Asteraceae, seguidas de las Leguminosae y en cuanto a género mejor representado por especies se encontró *Gnaphalium*. De las 11 categorías de uso establecidas, la medicinal ocupó el primer sitio seguida por la ceremonial; se encontró que se emplea con mayor frecuencia la parte aérea, seguida de las hojas y la forma de vida con mayor frecuencia de uso fue la herbácea.

Paredes-Flores *et al.* (2007), obtuvieron información de 288 especies donde la familia con mayor número de especies útiles fue Poaceae seguida de Asteraceae. En cuanto a forma de vida la mayor parte correspondió a las herbáceas; se ubicaron 19 categorías para los usos que se designan a las especies donde las medicinales seguidas de las ornamentales y forrajeras ocupan los primeros sitios de frecuencia de uso. Las partes más utilizadas fueron las hojas seguidas de los frutos. En el número de plantas medicinales utilizadas para los diferentes aparatos y sistemas, en primer sitio se encontró que se utilizan más especies de plantas para tratar el aparato digestivo, seguido del músculo esquelético. En la localidad de San Juan Solís, no se encontraron registros de estudios sobre la diversidad florística ni usos de la misma, y este trabajo será el primero en documentar dicha información.

Justificación

Tomando en cuenta la alta diversidad florística presente en el Estado de Hidalgo y aunada a está la diversidad cultural, se buscan métodos mediante los cuales la información acerca del uso de las plantas por la población hidalguense pueda ser documentado y así que la información obtenida pueda servir de base para la solución de problemas que se pudieran presentar en el Estado.

En la mayor parte del estado de Hidalgo no se cuenta con estudios etnobotánicos, tal es el caso de la comunidad de San Juan Solís perteneciente al municipio de San Agustín Tlaxiaca. Esta comunidad es una zona importante, en la cual se puede realizar este tipo de estudios debido a que se localiza entre dos zonas fisiográficas: La Altiplanicie Mexicana y el Eje Neovolcánico Transversal.

Otra característica importante presente en la comunidad de San Juan Solís, es que en su territorio, se encuentra presente flora característica de Valle del Mezquital y flora característica del Valle de México. Siendo la comunidad de San Juan Solís una comunidad en proceso de urbanización ya que se ubica entre dos ciudades principales del estado de Hidalgo como es: Pachuca y Actopan; la población mestiza presente en la comunidad de San Juan Solís presenta una característica en la cual a un se encuentran arraigas sus costumbres y tradiciones.

Objetivo

Documentar el uso tradicional de las plantas en la comunidad de San Juan Solís, San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo, así como recabar y analizar la información acerca de su utilización.

Área de estudio

Localización

La comunidad de San Juan Solís, se localiza entre los paralelos 20° 10´ de latitud norte; 98° 56´ de longitud oeste y una altura promedio de 2,160 metros sobre el nivel del mar (INEGI, 1997) (Figura 1). De acuerdo al Censo General de Población y Vivienda del INEGI (2005), la comunidad tiene con una población total de 1,236 habitantes de los cuales 598 son hombres y 640 mujeres.

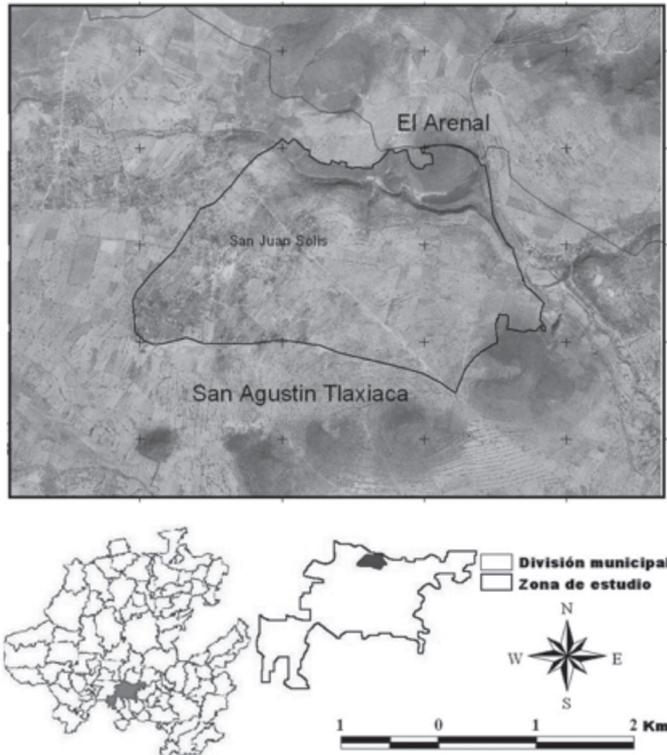


Figura 1. Localización de San Juan Solís, Municipio de San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo

Clima

Subtipo climático *BS k' w (w) i g w''*, que significa clima seco estepario, el menos seco de los *BS*, con un cociente P/T (precipitación/temperatura) mayor de 22.9; de régimen térmico templado, de verano fresco (*k'*) con una temperatura media anual entre 12°C y 18°C, temperatura media del mes más frío entre -3°C y 18°C y temperatura media del mes más caliente por debajo de 18°C; con oscilación anual de la temperatura isotermal (*i*) (menor de 5°C), marcha anual de la temperatura tipo Ganges (*g*) y canícula (*w''*). El régimen de lluvias es de verano (*w*) por lo menos diez veces mayor cantidad de lluvia en el mes más húmedo de la mitad cálida del año que en el mes más seco, y su porcentaje de lluvia invernal es menor al 5% de la total anual (*(w)*).

Subtipo climático *BS k' w (w) (i') g w''*, que significa clima seco estepario, el más seco de los *BS*, con un cociente P/T (precipitación/temperatura) menor de 22.9; de régimen térmico templado, de verano fresco (*k'*) con una temperatura

media anual entre 12°C y 18°C, temperatura media del mes más frío entre -3°C y 18°C y temperatura media del mes más caliente por debajo de 18°C; poca oscilación anual de la temperatura ((*i'*)), con un rango entre 5°C y 7°C, marcha anual de la temperatura tipo Ganges (*g*) y canícula (*w''*). El régimen de lluvias es de verano (*w*) por lo menos diez veces mayor cantidad de lluvia en el mes más húmedo de la mitad cálida del año que en el mes más seco, y su porcentaje de lluvia invernal es menor al 5% de la total anual ((*w*)) (Figura 2) (www.SEMARNAT.gob.mx).

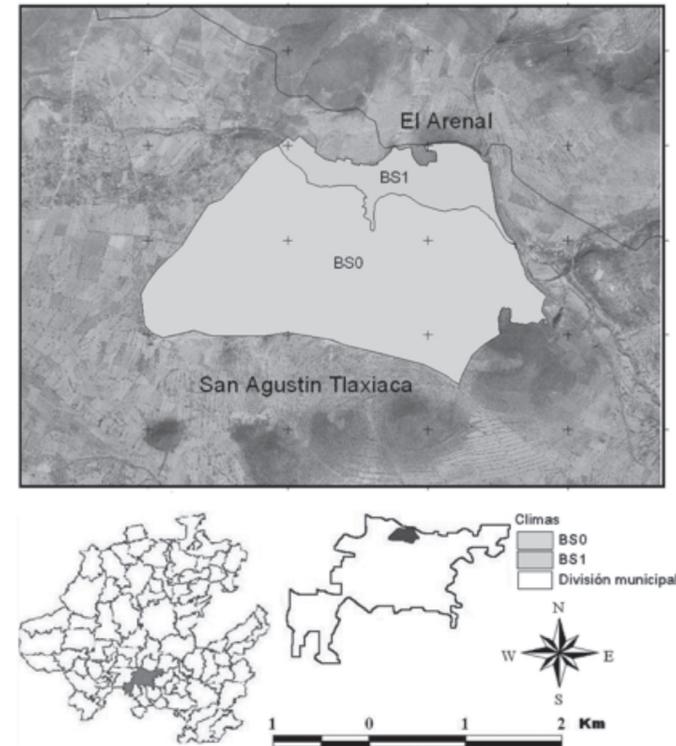


Figura 2. Tipos de climas presentes en la comunidad de San Juan Solís.

Tipos de vegetación

La definición y caracterización de los tipos de vegetación de San Juan Solís se llevó a cabo mediante observaciones realizadas en las salidas de campo. Se encontró que en San Juan Solís existen dos tipos de vegetación, matorral xerófilo y pastizal. El matorral xerófilo es un tipo de vegetación que ocupa la posición norte de la comunidad (Figura 3), ocupa aproximadamente la cuarta parte de la superficie de la comunidad. Se localiza en altitudes que van de los 2,160 a 2,300

metros sobre el nivel del mar; y su distribución coincide exactamente con el área de clima BS1, es una comunidad en la que el estrato arbustivo está dominado por *Dalea bicolor* var. *bicolor*, *Hechtia podantha*, *Buddleja perfoliata*, en este estrato se destacan individuos de porte arbóreo como *Yucca filifera*, *Schinus molle*, *Prosopis leavigata*, *Myrtillocactus geometrizans*.

El pastizal ocupa la mayor parte del área, en lo general es una comunidad fuertemente perturbada en la que se localiza el área urbana de San Juan Solís y en la que se encuentra la zona agrícola. Esta vegetación ocupa zonas más bien planas y su distribución coincide con el área con clima BS0. En esta comunidad se observaron especies como *Tithonia tubiformis*, *Artemisa absinthium*, *Parthenium bipinnatifidum*, *Chenopodium graveoens*, *Lamourouxia dasyantha*, *Silvia prostrata*, *Vicia faba*, *Zea mays* y *Cosmos bipinnatus*.

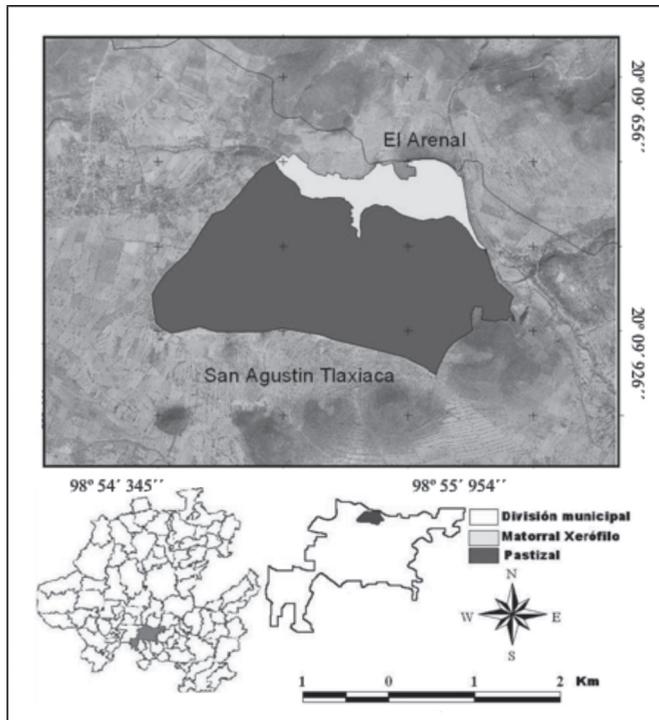


Figura 3. Tipos de vegetación presentes en San Juan Solís.

Método

Población y determinación del tamaño de la muestra

La población de estudio fueron los habitantes de 5 años de edad y más. Se tomó en cuenta a la población de estudio (N= 1236 habitantes), pero como no se contaba con una lista con el nombre de los habitantes para hacer la selección aleatoria de los elementos de la muestra, se hizo una segunda etapa, en la que se consideró el número de manzanas que componen a la comunidad (N= 32), se calculó una muestra representativa de estas manzanas y los elementos de esta muestra se seleccionaron al azar mediante una tabla de números aleatorios numerando las manzanas utilizando un plano de la comunidad. Así mismo se supuso que los habitantes de esta comunidad hacen uso del 20 % (p= 0.2) de las especies de plantas que componen la flora local, entonces la proporción complementaria fue de 80 % (0.8).

Para definir el tamaño de muestra se utilizó la siguiente fórmula (Yamane, 1967):

$$n = N z^2 p q / (N - 1) E^2 + p q z^2$$

Donde:

n= número de elementos de estudios necesarios

N= número de habitantes o de manzanas de la comunidad

Z= valor para el riesgo asumido (1.96 para $\alpha=0.05$)

p= valor de la proporción de la plantas usadas en la población (0.20)

q= valor de la proporción complementaria (0.80)

E= error (0.1)

Resultado: n=107 (habitantes)

Resultado: n= 18 (manzanas)

Entrevistas

Para definir cuáles son las especies de plantas que se utilizan en San Juan Solís, se hicieron dos tipos de entrevistas a los habitantes de la comunidad: entrevistas estructuradas e informales (Alexiades, 1996). Las entrevistas estructuradas se efectuaron por medio de un cuestionario previamente elaborado. Las entrevistas informales se hicieron a informantes clave, los cuales fueron seleccionados por recomendación de los mismos habitantes.

Recolecta, Herborización e Identificación

Posteriormente se llevó a cabo la recolección de las plantas útiles mencionadas en las entrevistas por los informantes en recorridos de campo o en las inmediaciones de las viviendas, fueron herborizadas e identificadas mediante claves dicotómicas.

Análisis de datos

Ya que se contó con toda la información recabada, se analizaron los cuestionarios, donde se obtuvo el número de especies utilizadas en San Juan Solís, su distribución en familias y géneros, tipos de hábitat donde se encuentran las especies de plantas útiles, forma de vida de las mismas, y las partes utilizadas. De igual manera se designaron categorías de uso para las plantas mencionadas por los habitantes. Las plantas medicinales se ordenaron en padecimientos los cuales fueron mencionados por los informantes, posteriormente se agruparon en aparatos y sistemas, con esta categoría de uso se obtuvo la vía de administración. De las plantas comestibles se clasificaron las partes utilizadas.

Valor de uso

Así mismo para determinar la importancia de cada especie para la comunidad de San Juan Solís, se obtuvo el valor de uso, mediante el método modificado por Monroy y Ayala (2003).

$$\text{Valor de uso} = \frac{\text{Número de entrevistas en las que se mencionó a la especie}}{\text{Total de entrevistas}} \times 100$$

Resultados

Distribución de las especies en familias y géneros.

En este estudio se encontró que en la comunidad de San Juan Solís se utilizan 162 etnoespecies de plantas de las cuales se identificaron 144 especies; estas especies se encuentran distribuidas en 61 familias y 123 géneros (Tabla 1). La lista de estas especies se muestra en el Anexo 1.

Tabla 1. Número de taxa útiles encontrados en San Juan Solís.

Taxa	Número
Familia	61
Género	123
Especie	144

Las familias mejor representadas por número de especies de plantas son: Asteraceae (26 especies), Solanaceae (10), Cactaceae (9), Fabaceae (6), Lamiaceae (5), Euphorbiaceae (4), Scrophulariaceae (4), Agavaceae (3), Amaranthaceae (3), Chenopodiaceae (3), Cruciferae (3), Mimosaceae (3), Nyctaginaceae (3), Rosaceae (3) (Tabla 2).

Tabla 2. Familias de plantas mejor representadas por número de especies útiles en San Juan Solís.

Familia	Número de Especies
Asteraceae	26
Solanaceae	10
Cactaceae	9
Fabaceae	6
Lamiaceae	5
Euphorbiaceae	4

Los géneros mejor representados por número de especies son: *Solanum* (5 especies), *Agave* (3), *Artemisia* (3), *Chenopodium* (3), *Opuntia* (3) (Tabla 3).

Tabla 3. Géneros de plantas mejor representados por número de especies utilizadas en San Juan Solís.

Género	Número de Especies
<i>Solanum</i>	5
<i>Agave</i>	3
<i>Artemisia</i>	3
<i>Chenopodium</i>	3
<i>Opuntia</i>	3

Distribución por hábitat

En cuanto a la distribución por hábitat de las plantas útiles detectadas en el área, se observó que la mayoría crece en matorral xerófilo y en calles y caminos, en cada caso se detectaron 68 especies, seguidas por las que crecen en huertos (45 especies), luego las que se desarrollan en parcelas (17 especies) y las localizadas en el río y la barranca (11 especies por categoría). En la Figura 4 se presentan estos resultados.

Forma de vida vegetal utilizada

La forma de vida vegetal más abundante en esta comunidad es la arbustiva ya que el tipo de vegetación predominante es el matorral xerófilo sin embargo, se observó que en el caso de las plantas útiles del área, la forma herbácea es la más frecuente usada con 108 especies, seguida por la arbustiva que sólo cuenta con 28 especies; los árboles y otras formas de vida, como la trepadora, son las de menor frecuencia (Figura 5).

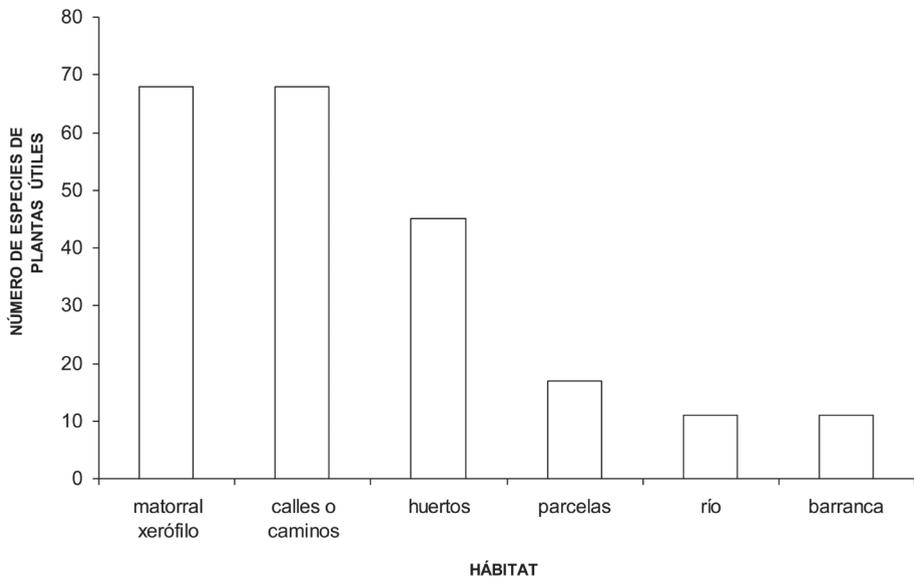


Figura 4. Distribución por hábitat de las especies de plantas útiles en San Juan Solís.

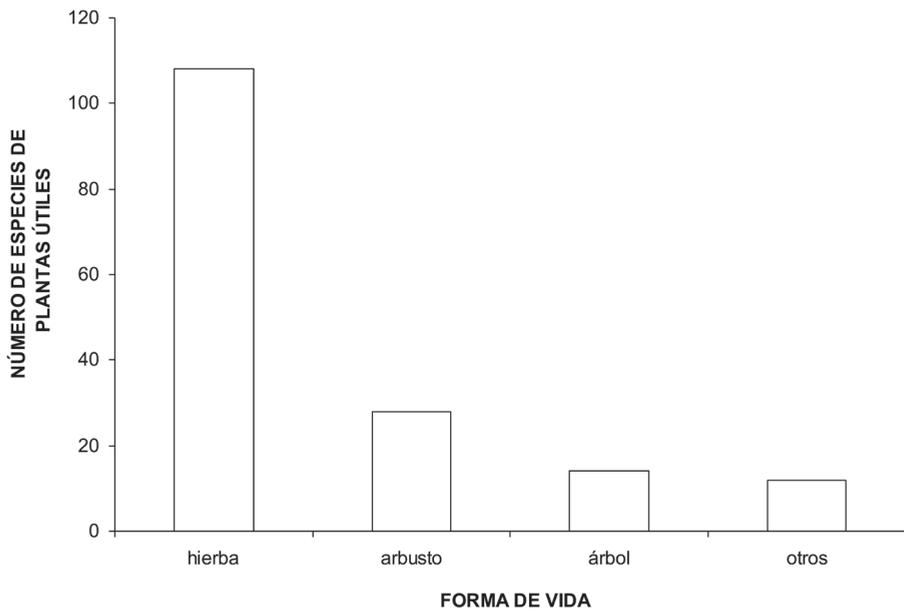


Figura 5. Frecuencia de forma de vida de las plantas útiles en San Juan Solís.

Parte vegetal utilizada

La parte vegetal que presenta la mayor frecuencia de uso por la población de San Juan Solís es la hoja, de 107 especies de plantas se emplea esta estructura la cual tiene varios usos como por ejemplo medicinal, forraje, construcción, ritual y combustible; en esta clasificación las flores son las estructuras vegetales que ocupan el segundo lugar, de 67 especies se utilizan las flores; los tallos (40 especies) y frutos (25) ocupan respectivamente los lugares tres y cuatro, de cinco o menos especies se emplean el resto de estructuras o productos vegetales como la savia (2 especies) (Figura 6).

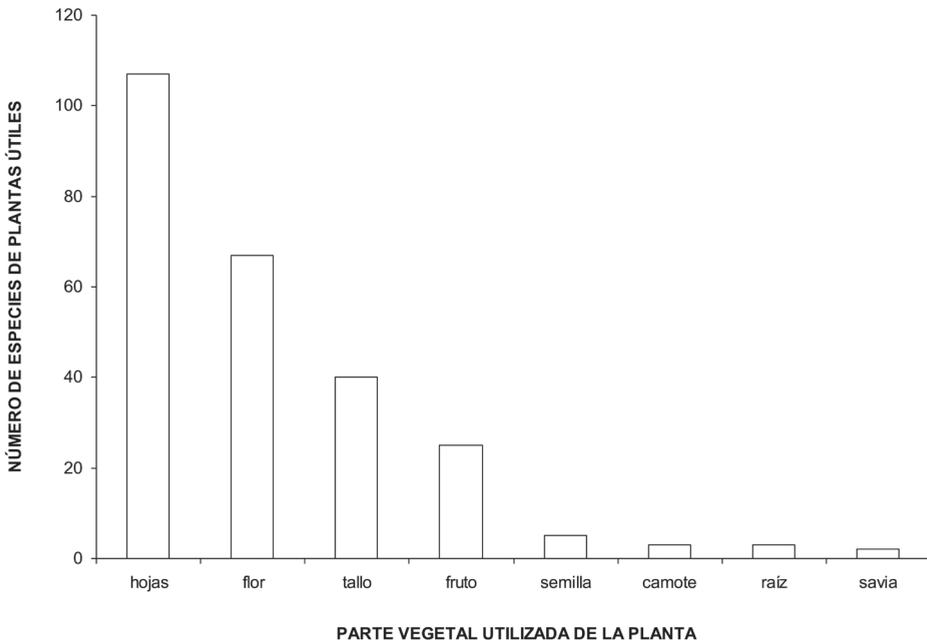


Figura 6. Frecuencias de las partes vegetales utilizadas en San Juan Solís.

Categorías de uso

De acuerdo al los diferentes usos que se les dan a las 162 especies de plantas en la comunidad de San Juan Solís se establecieron 12 categorías de uso (Figura 7).

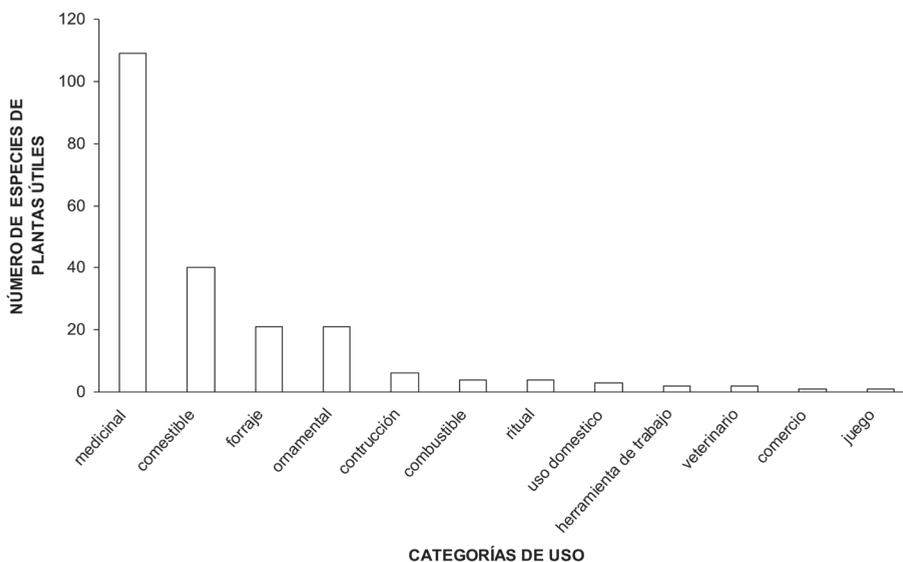


Figura 7. Categorías de uso de las plantas en San Juan Solís y número de especies en cada una.

Padecimientos tratados por especies medicinales

Se encontró que 64 padecimientos son atendidos con plantas medicinales, los nombres de estos padecimientos fueron asignados tal y como los informantes los mencionaron; de estos padecimientos en los que se emplea el mayor número de especies para su tratamiento son el dolor de estómago y los problemas de riñones, por el contrario entre los padecimientos en los que se emplea un menor número de especies de plantas para su tratamiento están el asma, provocar el parto y el tratamiento de las hemorroides. Los resultados se presentan en la Figura 8.

Padecimientos por aparatos y sistemas y otras categorías

Al hacer una clasificación de estos padecimientos por aparatos, sistemas y otras categorías como son afiliación cultural, afecciones en la piel, temperatura y analgésico en general, se encontró que en el que se emplea un mayor número de plantas para su tratamiento es el aparato digestivo con 37 especies, entre las cuales se encuentran *Marrubium vulgare*, *Lepidium virginicum*, *Sanvitalia procumbens* y *Brickellia veronicifolia* entre otras; la categoría de analgésico en general es la que cuenta con un menor número de especies de plantas (2 especies) que son *Zaluzania augusta* y *Dichondra argentea* (Figura 9).

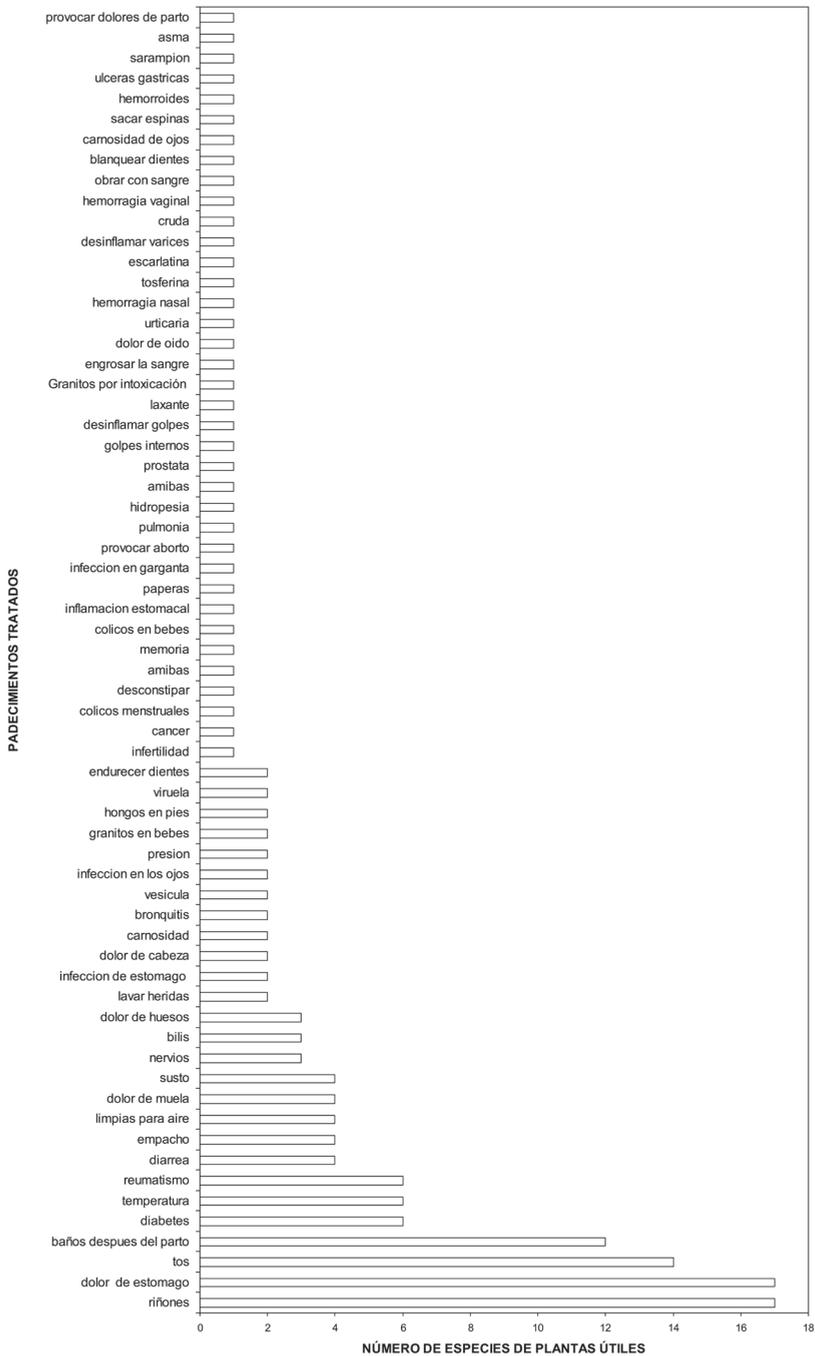


Figura 8. Frecuencia de uso de plantas medicinales por padecimientos.

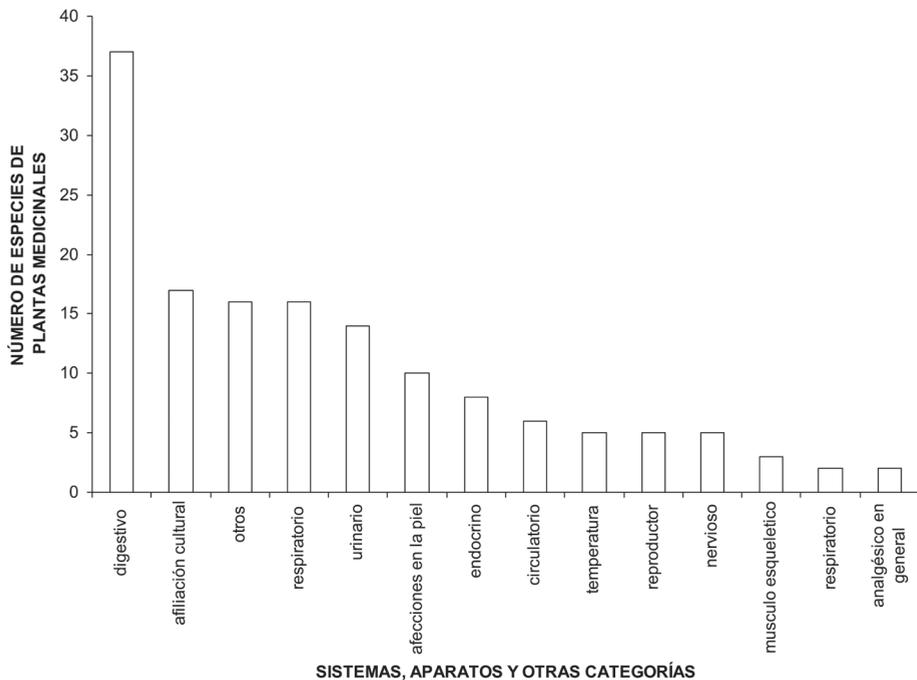


Figura 9. Número de especies de plantas medicinales por sistemas, aparatos y otras categorías.

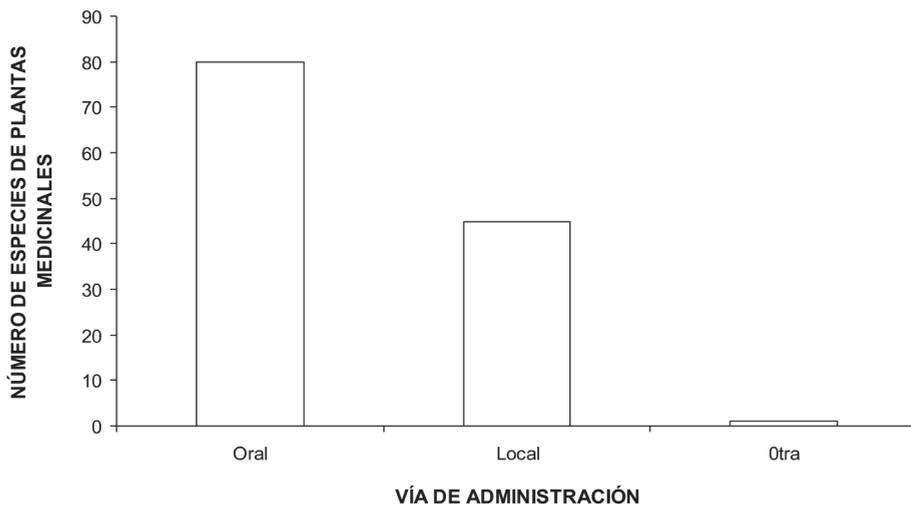


Figura10. Frecuencia de vía de administración por número de plantas medicinales.

Vía de administración de las especies medicinales

Con respecto a la vía de administración de las plantas medicinales en San Juan Solís, se encontró que la mayoría de las plantas son administradas por vía oral, seguida de la vía de administración local, que se emplean externamente, como por ejemplo untadas o frotadas, y solo *Artemisia klotzschiana* la cual debe ser olida se clasificó dentro de otra (Figura 10).

Parte vegetal consumida en especies comestibles.

En lo que se refiere a las plantas comestibles, se determinó que se aprovechan cinco diferentes partes de la planta, siendo la hoja la más consumida por la población, de 20 especies vegetales se consume este órgano, entre las cuales se encuentran *Erodium cicutarium*, *Chenopodium ambrosioides* y *Malva parviflora*; la parte menos utilizada como alimento es el camote contando únicamente con una especie que es *Solanum stoloniferum* (Figura 11).

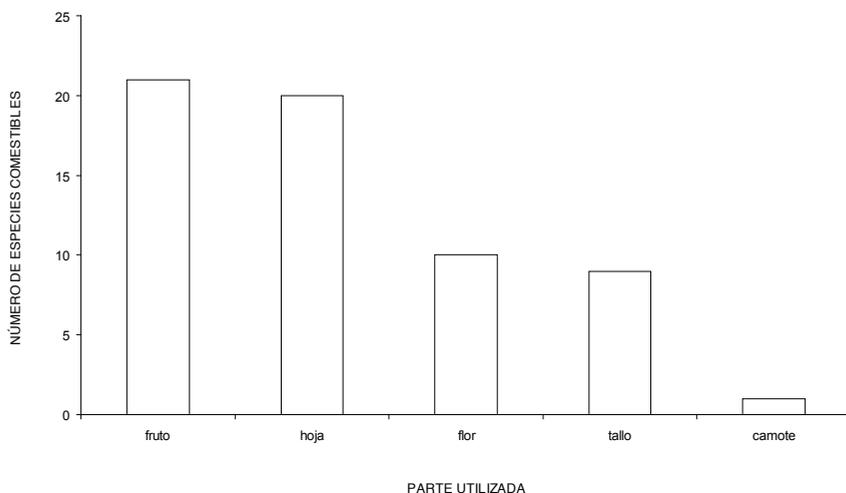


Figura 11. Número de especies de plantas comestibles por partes utilizadas.

Valor de uso

Al calcular el valor de uso de las 162 especies útiles mencionadas en San Juan Solís, se encontró que *Agave salmiana* var. *salmiana*, *Myrtillocactus geometrizans* y *Opuntia ficus-indica*, presentan un valor de uso mayor al 50%, siendo estas especies las de mayor importancia para la comunidad (Tabla 4).

Tabla 4. Especies de plantas útiles con mayor valor de uso en San Juan Solís.

Nombre común	Nombre científico	Valor de uso
Maguey Manso	<i>Agave salmiana</i> var. <i>salmiana</i>	58.80%
Garambullo	<i>Myrtillocactus geometrizans</i>	53.27%
Nopal blanco	<i>Opuntia ficus-indica</i>	52.34%
Piru	<i>Shinus molle</i>	39.25%
Sábila amarilla	<i>Aloe vera</i>	33.64%
Pesito	<i>Brickellia veronicifolia</i>	29.91%
Marrubio	<i>Marrubium vulgare</i>	24.30%
Ruda	<i>Ruta chalepensis</i>	23.36%
Quelite	<i>Chenopodium album</i>	19.63%
Verdolaga	<i>Portulacca oleracea</i>	19.63%
Pitaya	<i>Echinocereus cinerascens</i>	18.69%
Maíz	<i>Zea mays</i>	17.76%
Palmas	<i>Yucca filifera</i>	17.76%
Lechuguilla	<i>Agave lechuguilla</i>	16.82%
Tepozán	<i>Buddleja cordata</i>	15.89%

Especies consideradas en la Norma Oficial Mexicana NOM-059.

En la región de estudio se registraron tres especies consideradas bajo alguna categoría de riesgo por la Norma Oficial Mexicana NOM-059 (Tabla 5).

Tabla 5. Especies consideradas en la Norma Oficial Mexicana NOM-059.

Especies
Dasyilirion acrotriche
Selaginella lepidophylla
Erythrina coralloides

Discusión

Este estudio realizado en San Juan Solís, es el primero que se lleva a cabo dentro de esta comunidad, es la primera contribución al conocimiento acerca de la flora útil en esta zona. En este trabajo se obtuvo información acerca de las plantas que utiliza la población de esta comunidad, lo que incluye datos referentes a partes vegetales utilizadas, distribución, hábitat o tipo de vegetación, forma de

vida, vía de administración, enfermedad o aplicación y modo de empleo de las plantas utilizadas; estos datos son los mismos obtenidos en el Catalogo de Plantas útiles de la Sierra Norte de Puebla, México (Martínez Alfaro *et al.*, 1995), los datos recabados permiten conocer diferentes aspectos de las especies citadas, documentar este conocimiento tradicional y de esta forma contribuir a su difusión y preservación.

Se documentó el uso de 162 plantas en la comunidad de San Juan Solís, un número elevado si se compara con trabajos como el realizado por Monroy y Ayala (2003), donde se reportaron el uso de 81 especies útiles en una comunidad en el Estado de Morelos, México. Por otra parte, los resultados obtenidos en San Juan Solís son similares a los de Hernández Muñoz (2005), quien encontró un número similar de especies (165) en su trabajo acerca de la flora útil no maderable de la comunidad indígena Nuevo San Juan Parangaricutiro, Michoacán.

De las 162 especies obtenidas la familia mejor representada fue Asteraceae, al igual que en los trabajos de Barquín y Zamora (1991), Hernández Muñoz (2005) y Paredes-Flores *et al.*, (2007), los cuales son trabajos acerca de flora útil en general; lo mismo se encontró en trabajos realizados únicamente con plantas medicinales tal es el caso de Callejas Chávez (2006), Hernández *et al.* (2005) y Martínez Pérez (2007), estos resultados son un claro reflejo de la riqueza florística del país en la que esta familia es la más diversa (Rzedowski 1998; Villaseñor, 2003).

En San Juan Solís se observó que muchas de las necesidades que la gente cubre con el uso de las plantas, como el medicinal, alimentario, forraje, construcción, ornamental, uso personal o doméstico son las mismas que en otras comunidades del país, como los muestran los trabajos de Monroy y Ayala (2003), Hernández Muñoz (2005) y Paredes-Flores *et al.* (2007). De las 162 especies mencionadas en la comunidad de San Juan Solís, 109 fueron medicinales lo cual es un número elevado al compararlo con el estudio realizado por Hernández *et al.* (2005) en Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México, que al aplicar 119 entrevistas acerca de plantas medicinales obtuvo información de 44 especies.

En los trabajos de Barquín y Zamora (1991), Monroy y Ayala (2003), Hernández Muñoz (2005) y Paredes-Flores *et al.* (2007) al igual que en el presente estudio el uso medicinal es el que ocupa el primer lugar, esto puede seguir un mismo patrón debido a que en las diversas poblaciones lo principal es conservar la salud.

Respecto al uso de los órganos vegetales, se encontró que las hojas son las más utilizadas por la gente, lo cual coincide con lo encontrado por Toledo *et al.* (1995) y Callejas Chávez (2006); sin embargo, en Plomosas, Hidalgo (Martínez Pérez, 2007) ubica a las ramas en el primer sitio con mayor frecuencia de uso.

La vía de administración oral de las plantas medicinales es la más frecuente al igual que en el trabajo realizado en Plomosas, Hidalgo (Martínez Pérez, 2007),

y a diferencia del que se realizó en San Bartolo Tutotepec, Hidalgo (Callejas Chávez, 2006) donde la vía de administración más frecuente fue la local.

Al realizar una agrupación en aparatos y sistemas de los padecimientos tratados con las plantas medicinales, se obtuvo que el aparato digestivo ocupó el primer sitio en cuanto a número de especies de plantas empleadas para su tratamiento, al igual que en los trabajos realizados por Estomba *et al.* (2006), Callejas Chávez (2006), Martínez Pérez (2007), Paredes-Flores *et al.* (2007); esto es un reflejo de que las enfermedades digestivas son las más recurrentes en la población, esto se corroboró al analizar los datos del Centro de Salud de San Juan Solís donde se encontró que las enfermedades más frecuentemente atendidas en esa dependencia están relacionadas con el aparato digestivo.

Se observó una estrategia de uso múltiple del entorno vegetal de San Juan Solís por los habitantes de la comunidad, quienes usan y conocen plantas de los diferentes habitats reconocidos para la comunidad como: matorral xerófilo, barranca, río, calles, caminos, cultivos y huertos, de igual manera utilizan varias familias, géneros y especies de plantas aprovechando de estas todos los órganos vegetales a través de las diferentes épocas del año satisfaciendo así sus necesidades principales de medicina, comida y casa durante todo el año, esta técnica es la misma que describieron Toledo *et al.*, (2003) en su trabajo realizado en los bosques tropicales de México.

El hábitat del cual se extrae un mayor número de especies para su uso es el matorral xerófilo, dentro del cual se encuentran y utilizan especies enlistadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-059: *Selaginella lepidophylla*, *Erythrina coralloides* y *Dasylium acrotriche*, esta última con una importancia cultural muy elevada dentro de la población ya que forma parte de las principales ceremonias realizadas en la comunidad, siendo utilizada desde hace más de 50 años de manera intensiva en cierta época del año, tal ha sido el uso que le han dado a esta especie que siendo antes muy abundante en la comunidad, en el presente ya no se encuentra ahí, aun con este problema la gente no ha dejado sus tradiciones y cuando es necesaria esta especie deben salir a conseguirla a poblaciones cercanas.

Estas especies se localizan en un área definida, la cual cuenta además con muchas otras especies con alto valor de uso, donde puede haber posibilidades de definir áreas naturales protegidas y/o programas de rescate, protección, estudio; o propagación *in situ*.

Los resultados obtenidos de este estudio, pueden servir de base para contribuir a definir necesidades y prioridades de conservación dentro y fuera de la población estudiada. Proponer posteriores trabajos dentro de la comunidad, ya que estos muestran la importancia de la etnobotánica en la comunidad debido a que la gente cuenta con un amplio conocimiento e información acerca de la utilización de plantas el cual debe ser documentado.

Conclusiones

San Juan Solís es una comunidad con una elevada diversidad florística la cual la población aprovecha para su beneficio. Se registró el uso de 162 especies, de las cuales la familia Asteraceae es la mejor representada. El matorral xerófilo es el hábitat del cual se extraen un mayor número de especies para su uso. La forma de vida con mayor frecuencia de uso es la herbácea, así como la parte vegetal más utilizada es la hoja.

La población tiene una dependencia principal de la flora medicinal y así cubre sus necesidades básicas de salud siendo la digestiva la mayormente tratada y la vía de administración oral la más frecuente. De la categoría de uso de plantas comestibles el fruto es el que se consume con más frecuencia seguido de las hojas. Las especies con mayor importancia para la comunidad son *Agave salmiana* var. *salmiana*, *Myrtillocactus geometrizans* y *Opuntia ficus-indica*, esto determinado mediante el valor de uso de las especies.

Los resultados generados en esta investigación forman parte de la primera referencia de la flora útil de San Juan Solís y a partir de este trabajo se podrán realizar posteriores investigaciones. La flora que en San Juan Solís se encuentra provee de comida, alimento, casa y medicina a los habitantes, constituyendo uno de los recursos más importantes el cual debe ser cuidado.

Agradecimientos

Este estudio se realizó con apoyo del Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Hidalgo, dentro del proyecto “Diversidad Biológica del Estado de Hidalgo”. FOMIX HGO-2006-43761.

Bibliografía

- Acuña, R. 1985. Relaciones geográficas del siglo XVI: México. Tomo I. Universidad Nacional Autónoma de México, México, 400 pp.
- Acuña, R. 1986. Relaciones geográficas del siglo XVI: México. Tomo II. Universidad Nacional Autónoma de México, México, 316 pp.
- Alexiades, M.N. (Ed.).1996. Selected guidelines for ethnobotanical research: A field manual. The New York Botanical Garden, New York, 306 pp.
- Barquín López, M. P. y L. I. Zámora Martínez. 1991. Estudio etnobotánico de los municipios de Mineral del Monte y Mineral del Chico. Tesis Profesional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. México, D. F. 150 pp.

-
- Callejas Chávez, M. 2006. Flora medicinal de San Bartola Tutotepec, Hidalgo. Tesis de licenciatura en biología. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca. 166 pp.
- Estomba, D., Ladio, A. y Lozada, M. 2006. Medicinal wild plant knowledge and gathering patterns in a Mapuche community from North-western Patagonia. *Journal of Ethnopharmacology* 103: 109-119.
- García, R. 1981. Plantas medicinales de la vertiente sur de la sierra de Pachuca. Tesis profesional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México, 118 pp.
- Hernández Muñoz, S. 2005. Flora útil no maderable de la comunidad indígena Nuevo San Juan Parangaricutiro. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo. 89 pp.
- Hernández, T., M. Canales, J. Caballero, A. Durán y R. Lira. 2005. Análisis cuantitativo del conocimiento tradicional sobre plantas utilizadas para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales en Zapotitlána de las Salinas, Puebla, México. *Interciencia* 62(1): 1-38
- Hernández-Sandoval, L., C. González-Romo y F. González-Medrano. 1991. Plantas útiles de Tamaulipas, México. *Anales del Instituto de Biología de la Universidad Autónoma de México. Serie Botánica.* 62(1):1-38.
- INEGI. 1997. Cuadernos estadístico Municipal San Agustín Tlaxiaca Estado de Hidalgo. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.
- INEGI. 2005. Principales resultados por localidad, Hidalgo II Censo de población y vivienda, San Agustín Tlaxiaca. Aguascalientes.
- Marín-Corba, C. D. Cárdenas-López y S. Suárez. 2005. Utilidad del valor de uso en etnobotánica. Estudio en el departamento de Putumayo (Colombia). *Caldasia* 27 (1): 89-101. Martínez Alfaro, M. A., V. Evangelista O., M. Mendoza C., G. Morales G., G. Toledo O. y A. Wong L. 1995. Catálogo de plantas útiles de la Sierra Norte de Puebla, México. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.303 pp.
- Martínez Pérez, E. R. 2007. Plantas Medicinales de la comunidad de Plomosas, Municipio de Actopan, Hidalgo. Tesis de licenciatura en biología. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca. 193 pp.
- Monroy, R. y Ayala, I. 2003. Importancia del conocimiento etnobotánico frente al proceso de urbanización. *Etnobiología* 3: 79-92.
- Paredes-Flores, M., Lira R. y Dávila, P. 2007. Estudio etnobotánico de Zapotitlán Salinas, Puebla. *Acta Botánica Mexicana* 79: 13-61 (2007).

-
- Pérez-Escandón, B. E., M. A. Villavicencio Nieto y A. Ramírez A. 2003. Lista de las plantas útiles del estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado. Pachuca. 133 pp.
- Ramírez, L. A. 1936. Nota acerca del aprovechamiento de algunas plantas de importancia económica en la región del Valle del Mezquital, Hidalgo. *Anales del Instituto de Biología. México*, 8:8-115.
- Rendón Aguilar, B., Rebollar Domínguez, S., Caballero Nieto, J. y Martínez Alfaro, M. A. 2001. Plantas, cultura y sociedad, estudio sobre la relación entre seres humanos y plantas en los albores del siglo XXI. Universidad Autónoma Metropolitana. México, D. F. 315 pp.
- Rzedowski, J. 1998. Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. En: Ramamoorthy, T. P., R. Bye, A. Lot y J. Fa (Eds.) *Diversidad biológica de México, orígenes y distribución*. Instituto de Biología, UNAM. México, D.F. p. 129-145.
- Sahagún, B. 1997. *Historia general de las cosas de la Nueva España*. Editorial Porrúa, México, D.F. 1093 pp.
- Sandoval, A. 1997. Estudio etnobotánico de las plantas medicinales utilizadas en Tulancingo, Hgo. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, 120 pp.
- Toledo, V. M., B. Ortiz-Espejel, L. Cortés, P. Moguel, and M. D. J. Ordoñez. 2003. The multiple use of tropical forests by indigenous peoples in Mexico: a case of adaptive management. *Conservation Ecology* 7(3): 9.
- Toledo, V.M., A. I. Batis, R. Becerra, E. Martínez y C. H. Ramos. 1995. La selva útil: Etnobotánica cuantitativa de los grupos indígenas del trópico húmedo de México. *Interciencia*. 20(4): 177-186.
- Villada, M. 1865. Estudio sobre la flora de Pachuca, Mineral del Chico, Real del Monte y Barranca Honda. En: *Memoria de los trabajos ejecutados por la comisión científica de Pachuca*, México.
- Villaseñor, J. L. 2003. Diversidad y distribución de las Magnoliophyta de México. *Interciencia*. 28 (3): 1-9.
- Villavicencio Nieto, M. A. y Pérez Escandón, B. E. 2005. Guía de la flora útil de la Huasteca y la zona Otomí-Tepehua, Hidalgo I. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca. 171 pp.
- Villavicencio, M. A. y Pérez Escandón, B. E. 1995. *Plantas útiles del estado de Hidalgo*. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca. 125 pp.
- Yamane, T. 1967. *Elementary sampling theory*. Prentice- Hall. London. 405 pp.

Zamora Martínez, L. I. y Barquín López M. P. 1997. Estudio de la relación planta-hombre en los municipios de Mineral del Monte y Mineral del Chico, Estado de Hidalgo. Gobierno del estado de Hidalgo, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas IPN, Pachuca. 196 pp.
www.SEMARNAT.gob.mx

Anexo 1.

Lista de planta útiles de San Juan Solís, San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo.

Familia	Nombre Científico	Nombre Común	Categoría de uso	Parte utilizada
ACANTHACEAE				
	<i>Justicea spicigera</i> Schldl.	Muitle	Medicinal	Flor y hoja
AGAVACEAE				
	<i>Agave americana</i> Var. <i>picta</i> (Salm) Terca.	Maguey Meco	Medicinal y ornato	Hoja
	<i>Agave lechuguilla</i> Torr.	Lechuguilla	medicinal, ornato y uso domestico	Hoja y flor
	<i>Agave salmiana</i> Otto ex Salm var. <i>salmiana</i>	Maguey manso	Comestible, Medicinal ornamental, y combustible	Flor y hojas
	<i>Yucca filifera</i> Chab.	Palma	Comestible	Flor
ALLIACEAE				
	<i>Milla biflora</i> Cav.	Estrellita	Medicinal	Flor

ALOACEAE



Aloe saponaria Haw.

Sábila pintita
o naranjada

Medicinal

Hoja y flor



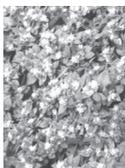
Aloe vera L.

Sábila
amarilla
o de cerro

Medicinal y
comestible

Hoja y flor

AMARANTHACEAE



*Alternanthera
caracasana* HBK.

Tianguis rojo

Medicinal

Camote



Amaranthus hybridus
L.

Quintonil

Comestible

Hoja

Gomphrena serrata L.

Flor del indio

Medicinal

Flor

ANACARDIACEAE



Shinus molle L.

Piru

Medicinal y
ritual

Hoja y tallo

ASTERACEAE

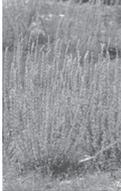
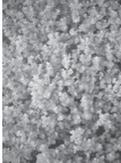


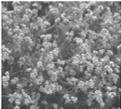
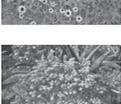
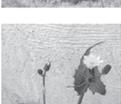
Artemisa absinthium
L.

Ajenjo

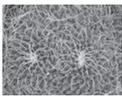
Medicinal

Hoja

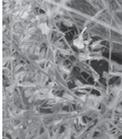
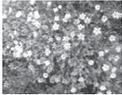
	<i>Artemisia klotzschiana</i> Besser.	Cola de Zorra	Medicinal	Hojas y tallo
	<i>Artemisia ludoviciana</i> ssp. <i>mexicana</i> (Willd.) Keck.	Estofiate	Medicinal	Hoja y Flor
	<i>Bidens odorata</i> Cav.	Rosa blanca	Forraje	Tallo, hoja y flor
	<i>Brickellia veronicifolia</i> (HBK.) Gray	Pesito	Medicinal	Hoja
	<i>Calendula officinalis</i> L.	Mercadera	Medicinal	Hoja y flor
	<i>Conyza filaginoides</i> (DC.) Hieron.	Simonillo	Medicinal	Flor, hojas y tallo
	<i>Cosmos bipinnatus</i> Cav.	Mirasol	Forraje y ornato	Hojas, tallo y raíz

	<i>Eupatorium espinosarum</i> Gray.	Hierba del aire	Medicinal y Forraje	Hoja
	<i>Gnaphalium conoideum</i> HBK.	Gordolobo	Medicinal	Hoja y flor
	<i>Haplopappus venetus</i> (HBK.) Blake.	Chemiza o popotillo	Medicinal	Hoja y flor
	<i>Heterotheca inuloides</i> Cass.	Árnica	Medicinal	Tallo, hojas, flor y tallo
	<i>Matricaria chamomilla</i> L.	Manzanilla	Medicinal	Flor, hoja y tallo
	<i>Montanoa tomentosa</i> . Cerv.	Zopatle	Medicinal	Hoja y flor
	<i>Parthenium bipinnatifidum</i> (Ort.) Rollins.	Confetillo	Medicinal	Flor
	<i>Sabazia humilis</i> Cass.	Xoto	Forraje	Hoja
	<i>Sanvitalia procumbens</i> Lam.	Ojo de gallo	Medicinal	Hoja y flor
	<i>Senecio salignus</i> DC.	Jarilla	Medicinal	Hoja y flor
	<i>Sonchus oleraceus</i> L.	Endivia	Medicinal, Comestible y forraje	Hoja

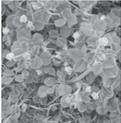
	<i>Tagetes lunulata</i> Ort.	Flor de angelito	Ornato	Flor
	<i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip.	Santa Maria	Medicinal	Hoja y flor
	<i>Taraxacum officinale</i> L.	Diente de león	Medicinal	Flor y hoja
	<i>Tithonia tubiformis</i> (Jacq.) Cass.	Girasol	Forraje	Tallo y flor
	<i>Zaluzania augusta</i> (Lag.) Sch. Bip.	Cashnashto o cenicilla	Medicinal	Hoja
	<i>Zaluzania triloba</i> (Ort.) Pers.	Limpia tuna o neyo	Medicinal	Hoja, tallo
	<i>Zinnia peruviana</i> (L.) L.	Miguelito	Ornato	Flor
BIGNONIACEAE				
	<i>Jacaranda mimosaeifolia</i> D. Don.	Jacaranda	Medicinal y ornato	Flor
	<i>Podranea ricasoliana</i> (Tanfani) Sprague.	Colegiala	Ornamental	Hoja, tallo y flor

BORAGINACEAE				
	<i>Borago officinalis</i> L.	Borraja	Medicinal	Hoja
BROMELIACEAE				
	<i>Hechtia podantha</i> Mez.	Huapilla	Medicinal y forraje	Hoja
	<i>Tillandsia usneoides</i> (L.) L.	Heno	Ornamental	Tallo
BUDDLEJACEAE				
	<i>Buddleja cordata</i> HBK.	Tepozan	Medicinal	Hoja y flor
	<i>Buddleja perfoliata</i> HBK.	Salvarreal	Medicinal	Hoja y flor
CACTACEAE				
	<i>Cylindropuntia imbricata</i> (Haw.) Knuth.	Cardon delgado o cagenchi	Medicinal, construcción	Raíz y tallo
	<i>Echinocereus cinerascens</i> (DC) Fôrst & Rumpl.	Pitaya	Comestible	Fruto, tallo y flor
	<i>Ferocactus latispinus</i> (Haw.) Br. & Rose.	Biznaga de borrachos	Comestible	Fruto
	<i>Mammillaria magnimamma</i> Haw.	Biznaga de chilitos	Comestible	Fruto

	<i>Marginatocereus marginatus</i> (DC) Backeberg var. <i>gemmatus</i> (Zucc.) Backeberg.	Organo	Construcción, medicinal y comestible	Tallo y fruto
	<i>Myrtillocactus geometrizans</i> (Mart.) Cons.	Garambullo	Comestible	Flor y fruto
	<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.	Nopal blanco	Medicinal	Tallo
	<i>Opuntia oligocantha</i> Forst.	Nopal de Xoconostle	Medicinal y comestible	Fruto
	<i>Opuntia streptacantha</i> Lem.	Nopal rojo	Comestible	Fruto
CAESALPINIACEAE				
	<i>Cassia tomentosa</i> Linn.	Retama fina	Ornato	Flor
	<i>Senna multiglandulosa</i> (Jacq.) Irwin & Barneby.	Retama corriente	Ornato	Flores
CAMPANULACEAE				
	<i>Diastatea micrantha</i> (H. B. K.) McVaugh.	Flor de cielo	Medicinal	Flor y hoja

	<i>Triodanis perfoliata</i> (L.) Nieuwl.	Hierba de la virgen	Medicinal	Hoja, flor y tallo
CARYOPHYLLACEAE				
	<i>Drymaria leptophylla</i> (Cham. & Schlecht.) Fenzl.	Hierba de la nube	Medicinal	Hoja y flor
CHENOPODIACEAE				
	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Epazote de comer	Comestible y medicinal	Hojas
	<i>Chenopodium album</i> L.	Quelite cenizo o quelite	Comestible y medicinal	Hoja
	<i>Chenopodium graveolens</i> (Will.) Weber.	Epazote de Zorrillo	Medicinal	Hojas
COMMELINACEAE				
	<i>Tinantia erecta</i> (Jacq.) Schlecht.	Hierba del pollo	Medicinal	Hoja
CONVOLVULACEAE				
	<i>Dichondra argentea</i> H. & B.	Oreja de ratón	Medicinal	Hoja
CRASSULACEAE				
	<i>Sedum pachyphyllum</i> Rose.	Dedo de dios	Medicinal	Savia

	<i>Sedum praealtum</i> DC.	Siempre viva	Medicinal	Hoja
CRUCIFERAE				
	<i>Brassica campestris</i> L.	Nabo	Comestible y forraje	Hojas y fruto
	<i>Eruca Sativa</i> Mill.	Jaramao o Canixolo	Forraje	Hoja y tallo
	<i>Lepidium virginicum</i> L.	Ajonjolincillo	Medicinal	Hoja, flor, tallo y fruto
CUCURBITACEAE				
	<i>Cucurbita pedatifolia</i> L.H. Bailey.	Calabacilla	Uso domestico	Fruto
	<i>Curcubita pepo</i> L.	Flor de calabaza	Comestible	Flores y fruto
EUPHORBIACEAE				
	<i>Croton pulcher</i> Muell. Arg.	Soliman	Medicinal	Tallo
	<i>Euphorbia serpyllifolia</i> Pers.	Golondrina	Medicinal	Hoja y flor

	<i>Jatropha dioica</i> Sesse ex Cerv. var. <i>dioica</i>	Sangre de grado	Medicinal	Raíz, tallo
	<i>Ricinus communis</i> L.	Higuerilla	Medicinal	Hoja
FABACEAE				
	<i>Dalea bicolor</i> H. & B. var. <i>bicolor</i>	Barba de chivo	Medicinal	Flor , hoja y tallo
	<i>Dalea minutifolia</i> (Rydb) Harás.	Limoncillo	Medicinal	Hoja
	<i>Erythrina coralloides</i> DC.	Colorin o pitol	Comestibles, ornato y ritual	Flor
	<i>Medicago polymorpha</i> L.	Trébol	Forraje	Tallo y hoja
	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Fríjol	Comestible	Fruto
	<i>Vicia faba</i> L.	Haba	Comestible	Fruto

GERANIACEAE



Erodium cicutarium
(L.)
L'Herit.

Alfilerillo

Comestible

Hoja

LAMIACEAE



Agastache mexicana
(HBK.) Lint & Epl.

Toronjil

Medicinal

Hoja

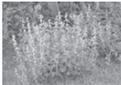


Mentha piperita L.

Hierbabuena

Medicinal

Hoja



Marrubium vulgare L.

Marrubio

Medicinal

Hoja



Rosmarinus officinalis
L.

Romero

medicinal

Hoja



Salvia leucantha Cav.

Cordón de
Jesús

Ornato

Flor

LOASACEAE



Mentzelia hispidia
Willd.

Pegarropa

Medicinal

Flor

LORANTHACEAE				
	<i>Phoradendron brachystachyum</i> (Oc.) Nuh.	Injerto de Huizache	Medicinal	Hoja y tallo
MALVACEAE				
	<i>Malva parviflora</i> L.	Malva	Comestible y Medicinal	Hoja y tallo
	<i>Sphaeralcea angustifolia</i> (Cav.) G. Don.	Vara de San José	Medicinal y veterinario	Hoja y flor
MARTYNIACEAE				
	<i>Proboscidea louisianica</i> (Mill.) Thell.	Toritos	Comestible	Fruto
MIMOSACEAE				
	<i>Acacia farnesiana</i> (L.) Will.	Huizache	Construcción, ornato, medicinal	Tallo y fruto
	<i>Mimosa lacerata</i> Rose	Shaishne o uña de gato	Construcción, uso domestico y combustible	Tallo
	<i>Prosopis leavigata</i> (H. & B.) Johnst.	Mezquite	Forraje, comestible y ornato	Fruto, tallo y hoja
MORACEAE				
	<i>Ficus carica</i> L.	Higo	Medicinal	Hoja

MYRTACEAE



Eucalyptus globulus
(H. & B.)

Eucalipto

Medicinal

Hoja



Psidium guajava L.

Guayaba

Medicinal

Hoja

NOLINACEAE



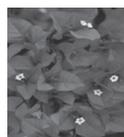
Dasylirion acrotriche
(Schiede) Zucc.

Sotol

Ritual y
comestible

Flor y hoja

NYCTAGINACEAE



Bougainvillea glabra
Choisy.

Buganvilla

Medicinal

Flor

Mirabilis glabrifolia
(Ort.)
I.M. Johnst.

Flor de santa
María

Medicinal

Flor, hoja



Mirabilis jalapa L.

Maravilla

Juego,
medicinal y
herramienta de
trabajo

Flor, hoja, tallo
y raíz

ONAGRACEAE



Lopezia racemosa Cav.
ssp. *racemosa*

Perilla

Medicinal

Hoja y flor

OXALIDACEAE



Oxalis corniculata L.

Xocoyol

Comestible

Hoja y tallo

PAPAVERACEAE				
	<i>Argemone ochroleuca</i> Sweet.	Chicalote	Medicinal	Flor y savia
PIPERACEAE				
	<i>Peperomia campyloptropa</i> Hill.	Pimienta	Comestible	Tallo y hoja
PLANTAGINACEAE				
	<i>Plantago major</i> L.	Lantel	Medicinal	Hoja
POACEAE				
	<i>Hordeum vulgare</i> L.	Cebada	Comercio, forraje	Fruto
	<i>Zea mays</i> L.	Maíz	Medicinal, forraje y comestible	Fruto, Hoja y tallo
POLYGONACEAE				
	<i>Polygonum aviculare</i> L.	Sanguinaria	Medicinal	Tallo , hoja y flor
	<i>Rumex obtusifolius</i> L.	Lengua de vaca	Comestible	Hoja
PORTULACACEAE				
	<i>Portulacca oleracea</i> L.	Verdolaga	Comestible	Hoja y tallo

PTERIDACEAE



Astrolepis lavéís
(M. Martens & Galeotti)
Mickel, comb.

Lecho

Ornato

Hoja

RESEDACEAE



Reseda luteola L.

Carricillo

Uso domestico

Tallo

RHAMNACEAE



Condalia mexicana
Schlecht.

Bindo

Comestible,
combustible

Fruto y tallo



Karwinskia humboldtiana
(Roem. & Schult.)
Zucc.

Capulincillo

Forraje y
combustible

Hoja y fruto

ROSACEAE



Amelanchier denticulata
(H.B K.) Koch.

Membrillo

Comestible

Fruto



Eriobotrya japonica
(Thumb.) Lindl.

Mispero

Medicinal

Fruto y hoja

RUBIACEAE

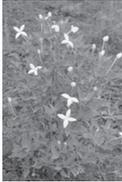
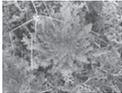


Rosa centifolia L.

Rosa de
castilla

Medicinal

Flor

	<i>Bouvardia longiflora</i> (Cav.) HBK.	Flor de san Juan	Ornato	Flor
	<i>Bouvardia ternifolia</i> (Cav.) Schlecht.	Trompetilla	Medicinal	Hoja y flor
RUTACEAE				
	<i>Casimiroa edulis</i> Llave & Lex.	Zapote	Medicinal	Hoja
	<i>Ruta chalepensis</i> L.	Ruda	Ritual y medicinal	Hoja, flor
SCROPHULARIACEAE				
	<i>Buchnera pusilla</i> HBK.	Cuatatapa blanca	Forraje	Semilla
	<i>Lamourouxia dasyantha</i> (Cham. & Schl.) Ernst.	Flor de muerto	Ornato	Flor
	<i>Maurandya antirrhiniflora</i> Humb. & Bonpl. ex Willd.	Huaninipilth o perrito	Medicinal	Hoja, flor y tallo
	<i>Silvia prostata</i> Benth.	Flor de tierra	Medicinal	Flor
SELAGINELLACEAE				
	<i>Selaginella lepidophylla</i> Hook & Grev.	Doradilla	Medicinal	Hoja y tallo

SOLANACEAE



Datura stramonium L. Toloache Medicinal Hoja y flor



Jaltomata procumbens
(Cav.)
J.L. Gentry. Depe Comestible Fruto



Nicotiana glauca
Graham. Gigante Medicinal Hoja



Nicotiana obtusifolia
Martens & Galeotii Tabaquillo Medicinal Hoja y flor

Physalis patula Mill. Jaltomates Comestible Fruto



Solanum cervantesii
Lag. Yopeda o lengua de perro Medicinal y comestible Fruto y hoja



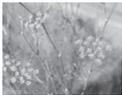
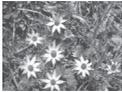
Solanum corymbosum
Jacq. Mazorquilla Veterinario Hoja



Solanum nigrescens
Mart. & Gal. Hierba mora Medicinal Hoja



Solanum rostratum
Dun. Duraznillo Medicinal Hojas y flor

	<i>Solanum stoloniferum</i> Schlecht.	Papa cimarrona	Comestible	Camote
UMBELLIFERAE				
	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	Hinojo	Medicinal	Hoja y flor
	<i>Eryngium carlinae</i> Delar.	Hierba del sapo o flor del sapo	Medicinal	Fruto y flor
URTICACEAE				
	<i>Urtica dioica</i> L.	Ortiga	Medicinal	Hoja
VERBENACEAE				
	<i>Aloysia triphylla</i> (L'Herit.) Britt.	Cedron	Medicinal	Hoja y flor
	<i>Lantana camara</i> L.	Flor de siete colores	Ornato	Flor
VITACEAE				
	<i>Vitis bourgaeana</i> Planch.	Uva cimarrona	Forraje	Fruto

CAPÍTULO III

Actividad biológica de plantas usadas para tratar cáncer y otros padecimientos en dos comunidades de Hidalgo, México

Villavicencio Nieto, M.A.

B.E. Pérez Escandón

E. Mendoza Pérez

J.E. Cortés Cabrera

V. Maldonado Lagunas¹

Laboratorio de Etnobotánica.

Centro de Investigaciones Biológicas.

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Instituto Nacional de Cancerología¹.

Resumen

En el estado de Hidalgo las plantas se usan para tratar una serie de padecimientos como el cáncer. El objetivo de este estudio fue determinar cuáles son las especies de plantas que se utilizan para el tratamiento del cáncer en Omitlán y Tepatepec. Por medio de entrevistas se encontró que en estas comunidades se usan quince especies de plantas para el tratamiento de ese problema, éstas son *Berberis moranensis* Hebenstr. & Ludw. (Berberidaceae), *Bidens odorata* Cav. (Asteraceae), *Geranium schiedeanum* Schl. (Geraniaceae), *Juniperus deppeana* Steud. (Cupressaceae), *Lopezia racemosa* Cav. *Penstemon roseus* (Sweet) G. Don (Scrophulariaceae), *Senecio salignus* DC. (Asteraceae), *Solanum rostratum* Dun. (Solanaceae), *Ambrosia psilostachya* DC. (Asteraceae), *Baccharis salicifolia* (Ruiz & Pavón) Pers. (Asteraceae), *Decatropis bicolor* (Zucc.) Radlk. (Rutaceae), *Jatropha dioica* Sessé ex Cerv. var. *dioica* (Euphorbiaceae), *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae), *Pinaropappus roseus* (Less) Less (Asteraceae), *Plumbago pulchella* Boiss. (Plumbaginaceae). Los extractos etanólicos de seis especies usadas para el cáncer de matriz se probaron en células HeLa, *P. pulchella* presentó los CI₅₀ más bajos, de 19.5, 1.5 y 1.0 µg/ml, siguió en actividad *J. deppeana* con

4.63 $\mu\text{g/ml}$ y luego *S. rostratum* con 127.5 $\mu\text{g/ml}$. La fracción 3 del extracto de *J. depeana* tuvo CI_{50} de 5.8, 0.79 $\mu\text{g/ml}$ a 24 y 48 hrs; la plumbagina obtenida de *P. pulchella* presentó CI_{50} de 4.6 y 0.44 $\mu\text{g/ml}$. La mayoría de las células expuestas a extractos o sustancias presentó vacuolas y un citoplasma reticulado, algunas mostraron una morfología apoptótica con núcleos fragmentados y protuberancias celulares. Los extractos de *B. odorata*, *D. bicolor* y *J. dioica* var. *dioica* no redujeron la viabilidad de las células HeLa. Once (73.3%) de los quince extractos presentaron actividad antibacteriana en cuando menos una cepa. El extracto más activo fue el de *P. pulchella*, presentó actividad en las tres cepas de bacterias incluidas en la prueba. Le siguió en actividad el extracto de *J. depeana*. Cinco de las quince especies mostraron toxicidad en *Artemia salina*, presentando una $\text{CL}_{50} \leq 100$ $\mu\text{g/ml}$; el extracto de *B. odorata* fue el que presentó la toxicidad más alta con una CL_{50} de 5.1226 $\mu\text{g/ml}$, le siguió *J. dioica* var. *dioica* y *L. racemosa* con CL_{50} de 7.056 y 9.113 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente. Trece (86.7%) de las quince especies de plantas incluidas en el estudio exhibieron actividad en por lo menos una de las pruebas, este elevado porcentaje de actividad confirma la importancia de seleccionar especies medicinales en la búsqueda de extractos bioactivos pues es más probable encontrarlos en esta clase de plantas. Los resultados ayudan a confirmar las propiedades medicinales que en Omitlán y Tepatepec atribuyen a estas plantas y las revelan como una fuente potencial de anticancerígenos y antibacterianos.

Palabras clave: Anticancerígenos, antibacterianos, extractos vegetales, Hidalgo, México.

Introducción

Los seres humanos dependen de las plantas para satisfacer sus necesidades de alimentación, construcción, medicina, entre otras (Schultes and von Reis, 1997). En México unas 5 000 especies de plantas tienen uso medicinal (Toledo, 1997). Para el estado de Hidalgo se han reportado 417 especies de plantas medicinales (Pérez Escandón *et al.*, 2003). En el ámbito mundial las plantas medicinales son empleadas para tratar toda una serie de padecimientos, entre los que se encuentran el cáncer y las enfermedades infecciosas (Agueta, 1994; Aguilar, 1994, 1998; Sumner, 2001).

Cáncer y plantas

El cáncer es la tercera causa de mortalidad mundial (Stehman *et al.*, 2003; The World Health Report, 2004) y el carcinoma del cuello de la matriz es la segunda neoplasia maligna más común entre las mujeres; cada año se diagnostican

aproximadamente 500 000 nuevos casos de este tipo de cáncer en todo el mundo (Moura *et al.*, 2002). En México los tumores (neoplasias) son la segunda causa de muerte (Argueta, 1994, INEGI, 2003a) al igual que en Hidalgo (INEGI, 2001) y en este estado, en esta categoría el cáncer del cuello del útero es la primera causa de defunción femenina (INEGI, 2003b).

En la medicina alopática las formas que principalmente se usan para tratar a pacientes con cáncer son la cirugía, las radiaciones y la quimioterapia (Stehman *et al.*, 2003) y los recursos invertidos en el combate de este padecimiento son cuantiosos, tan sólo en Estados Unidos la cifra asciende a 100 mil millones de dólares anuales (Moura *et al.*, 2002; U.S. Cancer Statistics Working Group, 2004), a pesar de lo cual, como se dijo, el cáncer es uno de los principales problemas de salud.

En la medicina tradicional en términos generales al cáncer se le considera como un padecimiento que se manifiesta con tumores, apóstemas, abscesos, ulceraciones, heridas y llagas rebeldes a los tratamientos y de difícil cicatrización; apóstema es un término utilizado para designar a cualquier tumor, aumento local de volumen o abultamiento (Mata Pinzón *et al.*, 1994). Algunos autores advierten que es necesario tener en cuenta que en este tipo de medicina el cáncer es una entidad pobremente definida (Cragg *et al.*, 1996) con dificultades para su diagnóstico en condiciones no tecnificadas (Sumner, 2001) ya que, por ejemplo, desórdenes como hinchazones o abscesos pueden ser descritos equivocadamente como crecimientos tumorales y por el contrario lo que se diagnostica como un absceso puede ser un tumor (Hostettmann and Marston, 1987). Esta conceptualización de la medicina tradicional no necesariamente coincide con la biomédica, pero Grace and Reeve (1996) proponen que se requiere ser sensitivos a las diferencias culturales, establecer líneas de comunicación y mantener respeto, pues es posible que las plantas usadas tradicionalmente para tratar cáncer pueden ser candidatas para estudios de citotoxicidad ya que se considera que las oportunidades de tener buenos resultados aumentan con este método de selección de plantas para estudio (Hostettmann and Marston, 1987).

En los diferentes sistemas de medicina tradicional del mundo uno de los procedimientos usados para el tratamiento del cáncer es el uso de plantas (Argueta, 1994; U.S. Congress, Office of Technology Assessment, 1990; Cassileth and Deng, 2004; Lee, 2004), práctica que se ha empleado ampliamente desde la antigüedad hasta hoy en día, ha pesar de haber sido vista con escepticismo (Cragg *et al.*, 1996; Sumner, 2001) debido en parte a las dificultades antes señaladas.

En China, desde hace siglos se emplea *Brucea javanica* Merr. (Simoroubaceae) para tratar la leucemia e *Isodon japonicus* Hara (Lamiaceae) para la atención de tumores del esófago (Lien and Li, 1987). Se reporta que en la medicina tradicional africana numerosas plantas han sido usadas contra tumores, como por ejemplo

Psorospermum febrifugum (Guttiferae) y *Maprounea africana* (Euphorbiaceae) (Hostettmann and Marston, 1987). En la República Mexicana un grupo amplio de plantas se usan tradicionalmente como antitumorales, entre las que se encuentran *Myroxylon balsamum* Harms (Leguminosae) y *Solanum verbascifolium* L. (Solanaceae) (Argueta, 1994).

De las plantas se han aislado sustancias vegetales antineoplásicas, entre las que destacan en forma señalada vinblastina, vincristina, podofilotoxina, paclitaxel y camptotecina. La vinblastina y vincristina son alcaloides que clínicamente se utilizan para el tratamiento de la leucemia infantil y el linfoma de Hodgkin, originalmente se aislaron de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don (Apocynaceae) o de *Vinca rosea* L. (Apocynaceae); la podofilotoxina es un lignano, un compuesto fenólico, encontrado en *Podophyllum peltatum* L. (Berberidaceae), esta sustancia que inhibe la mitosis de células con cáncer, es precursora de dos drogas semisintéticas usadas en quimioterapia: etoposido y teniposido, que se usan para tratar cáncer de pulmón y de testículo, así como leucemia y linfomas (Koulman *et al.*, 2004); el paclitaxel (taxol) se encontró naturalmente en la corteza de *Taxus brevifolia* Nutt. (Taxaceae), es activo en cáncer de seno, cerebro, lengua, endometrio y ovario (Duke, 1990); la camptotecina se aisló de *Camptotheca acuminata* Decne. (Nyssaceae), es un alcaloide que se utiliza clínicamente para tratar cáncer gástrico, rectal, de colón, vejiga, hígado, cabeza y cuello (Lee, 2004).

Enfermedades infecciosas y plantas

Las enfermedades infecciosas han afectado a los seres humanos a lo largo de la historia. El control de muchas enfermedades infecciosas de origen bacteriano se hizo posible con el uso de la penicilina y de otros productos antibióticos (Satcher, 1995). Sin embargo las bacterias desarrollaron resistencia y las infecciones se volvieron a encontrar en los primeros sitios como causa de mortalidad mundial (Mitscher, 1975). Desde entonces la situación se ha ido agravando pues han emergido enfermedades virales o bacterianas como el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida, SIDA, otras reemergieron como el cólera, la tuberculosis y la neumonía (Alleyn, 1996; Brandling-Bennet and Pinheiro, 1996; Fauci, 1998). En la medicina alopática el uso de antibióticos sigue siendo la terapia principal para el tratamiento de las enfermedades infecciosas, pero las infecciones son una de las primeras causas de muerte a nivel mundial (The World Health Report, 2004), en México ocupan el sexto lugar (INEGI, 2003a) y en Hidalgo el quinto sitio (INEGI, 2001, 2003b). El problema es tal que Cragg *et al.* (1997) consideraron a las enfermedades infecciosas como una de las principales amenazas para la seguridad de la especie humana. Por lo cual se considera necesario apoyar el desarrollo y validación de nuevos productos antibióticos (Fauci, 1998). Las plantas han sido utilizadas desde la antigüedad

para tratar enfermedades en las que están involucrados procesos infecciosos: en los documentos egipcios más antiguos ya se registra el uso como antisépticos del ajo, *Allium sativum* L. (Alliaceae) y la cebolla, *Allium cepa* L. (Alliaceae) (Elnima *et al.*, 1983, Sumner, 2001). Los Aztecas aplicaban jugo de maguey, *Agave atrovirens* (Agavaceae) en heridas para evitar que se infectaran (Davidson and Ortiz de Montellano, 1983).

Ante la necesidad de contar con nuevos productos antibióticos, desde 1970 se han evaluado las propiedades antibacterianas extractos de plantas (Mitscher *et al.*, 1972; Mitscher, 1975; Cáceres *et al.*, 1990; Hernández *et al.*, 2003; Alves *et al.*, 2000).

Cáncer, enfermedades infecciosas y plantas

En 1998 la Organización Mundial de la Salud reconoció que el 84% de los casos de ciertos tipos de cáncer son atribuibles a virus, bacterias y parásitos. Un ejemplo es el de *Helicobacter pylori*, una bacteria que produce inflamación de la membrana mucosa del estómago y por cuya causa se forman úlceras gástricas en el 20% de las personas infectadas, además de que este proceso infeccioso está asociado con el riesgo de desarrollar adenocarcinoma de estómago, un tipo de cáncer muy frecuente (Cassell, 1998).

En la medicina tradicional parece que también se reconoce una cierta relación entre cáncer y enfermedades infecciosas ya que, como se dijo, en la conceptualización de cáncer se incluyen términos como apostemas, abscesos, ulceraciones, heridas y llagas rebeldes a los tratamientos y de difícil cicatrización, procesos a los que puede haber infecciones asociadas (Burke, 1990). Incluso hay casos en los que una misma especie de planta se usa para tratar algún tipo de cáncer y para el tratamiento de padecimientos de origen microbiano o en los que puede haber infecciones; así *Prunella vulgaris* L. (Lamiaceae) se emplea contra el cáncer y para heridas e infecciones vaginales y en pruebas *in vitro* se han corroborado efectos citotóxicos y bactericidas de los extractos de la planta (Willard, 1999).

Necesidad de bioensayos

Zani *et al.* (1995), Hostettmann (1997) y Alves *et al.* (2000) consideraron que en vista del gran número de especies de plantas disponibles para estudio para descubrir compuestos nuevos de importancia es esencial el desarrollo de programas de evaluación de la actividad biológica de extractos de plantas. Uno de los problemas es contar con un bioensayo que debe ser suficientemente sensible para detectar sustancias activas que generalmente están presentes en pequeñas concentraciones en los extractos vegetales; simple, barato y rápido para probar un gran número de muestras, además conviene que sea un bioensayo

suficientemente amplio para incluir diversos mecanismos de acción, conocidos o no, a nivel celular, fisiológico, bioquímico y molecular; así se pueden evaluar extractos con un bioensayo general, descartar a los inactivos, continuar con los activos, separarlos o fraccionarlos y purificarlos, entonces los productos que hayan mostrado actividad serán candidatos para ser probados en sistemas más específicos, como por ejemplo en cultivos celulares.

Meyer *et al.* (1982), propusieron el uso de larvas de *Artemia salina* (Leach) (Crustaceae), un crustáceo pequeño de aguas salobres, como organismo de prueba en un bioensayo general para evaluar la actividad biológica de sustancias vegetales; los huevecillos de este organismo se pueden obtener fácilmente, eclosionan en 24 hrs en condiciones muy simples obteniéndose una gran cantidad de larvas en las cuales pueden aplicarse extractos, fracciones o sustancias puras para evaluar su actividad biológica mediante la cuantificación de la mortalidad producida; en la propuesta se consideró que si una determinada sustancia en una cierta concentración produce efectos farmacológicos y que esa misma sustancia en concentraciones más elevadas produce efectos tóxicos, entonces la toxicidad, medida como la mortalidad producida a un organismo simple, como *A. salina*, puede ser utilizada como criterio para la detección y evaluación de actividad biológica en extractos vegetales y guiar su separación o fraccionación y purificación (McLaughlin *et al.*, 1998).

Antineoplásicos y antibacterianos vegetales

Hoy en día la búsqueda de antineoplásicos y antibacterianos vegetales se lleva a cabo principalmente en países en desarrollo. Mans *et al.* (2000) reportaron los efectos citotóxicos que producen *in vitro* los extractos de aproximadamente 500 especies de la flora brasileña; Betancur-Galvis *et al.* (2002), encontraron que seis de diez especies de *Euphorbia* utilizadas en Colombia para tratar cáncer y tumores, presentaron citotoxicidad en HeLa y otras líneas celulares; Itheret *et al.* (2004) estudiaron once especies de plantas usadas popularmente en Tailandia para tratar cáncer, reportaron que *Dioscorea membranacea* Pierre ex Prain & Burkill (Dioscoriaceae) fue una de las especies que presentó citotoxicidad en células de carcinoma de pulmón LS-174T; Waizel-Bucay *et al.* (2003) aplicaron extractos de *Cuphea aequipetala* Cav. (Lythraceae), una de las hierbas del cáncer de México, en cultivos celulares y encontraron citotoxicidad ligera en la línea de células de cáncer de cérvix y nula en la de carcinoma nasofaríngeo y la de colon. En el estado de Hidalgo, México, López (2001) y López *et al.* (2002) estudiaron cinco especies de plantas empleadas popularmente para tratar cáncer y demostraron que el extracto etanólico crudo de follaje de *Cupressus lusitanica* Klotzsch. (Cupressaceae) produce citotoxicidad en un panel de líneas celulares cancerígenas y que la muerte celular es por apoptosis, el proceso activo de muerte

celular dirigido por activación de genes, el cual se encuentra disminuido en distintos tipos de cáncer (Albert *et al.*, 1998).

En lo que respecta a estudios recientes para la búsqueda de antibacterianos vegetales, Cáceres *et al.* (1990) evaluaron la actividad antimicrobiana de 16 especies de plantas del Caribe usadas popularmente para el tratamiento de infecciones y observaron que los extractos de *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae) presentaron efectos antimicrobianos; en 1999 Hammer *et al.* investigaron 52 especies de plantas que crecen en Australia y comprobaron que los aceites esenciales de *Cymbopogon citratus* (Graminae), *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) inhibieron el crecimiento de las diez cepas bacterianas incluidas en el estudio; en Cuba, Hernández Díaz y Rodríguez Jorge (2001), determinaron que los extractos de dos especies de *Ocimum* (Lamiaceae) mostraron actividad antibacteriana en cepas Gram positivas y Gram negativas; Holetz *et al.* (2002) exploraron la actividad antibacteriana de 13 especies vegetales usadas en Brasil en contra de problemas infecciosos y encontraron que *Piper regnellii* (Piperaceae) fue una de las plantas con mayor actividad en *Staphylococcus aureus*; Coelho de Souza *et al.* (2004) realizaron un estudio etnobotánico en el sur de Brasil, reportaron 149 especies medicinales, de las cuales 49 son para combatir enfermedades infecciosas y de éstas seleccionaron a las 18 de mayor uso para evaluar su efecto antibacteriano, doce fueron activas entre las que se encontró *Chaptalia nutans* (L.) Polak (Asteraceae); en Zapotitlán de las Salinas, Oaxaca, México Hernández *et al.* (2003) encontraron 44 especies de plantas medicinales usadas para problemas gastrointestinales, pusieron a prueba la actividad antibacteriana de ocho especies y encontraron que la más activa fue *Turnera diffusa* (Willd.) ex Schult. (Turneraceae).

A partir de la propuesta de Meyer *et al.* (1982), *A. salina* ha sido utilizada por muchos grupos de investigación para explorar extractos de plantas de diferentes regiones para detectar compuestos secundarios con actividad biológica relevante, así, Alves *et al.* (2000) llevaron a cabo un estudio de exploración de 60 especies de la flora brasileña en la búsqueda de compuestos útiles para el control de enfermedades tropicales, para lo cual efectuaron bioensayos usando *A. salina*; encontraron que el 10% de las especies presentaron mortalidad significativa en ese organismo, estas especies vegetales se seleccionaron para posteriormente aislar e identificar sustancias activas. Actualmente los ensayos en *A. salina* se consideran una herramienta útil para la evaluación preliminar de la toxicidad de extractos de plantas, la detección de distintos tipos de actividad biológica y para aislar e identificar sustancias vegetales bioactivas.

Planteamiento del problema y justificación

Dado que el cáncer y las enfermedades infecciosas son dos de las principales causas de mortalidad mundial, ante la necesidad de contar con nuevas sustancias antineoplásicas y antinfectivas, considerando que se propone que las plantas superiores son una fuente potencial, de esa clase de sustancias; la flora del estado de Hidalgo ofrece amplias posibilidades de hallazgo de sustancias bioactivas, debido a su diversidad florística estimada en unas 4 000 especies vegetales (Villavicencio *et al.*, 1998) a la que se encuentra asociado un amplio conocimiento tradicional como lo evidencian las 417 especies de plantas medicinales reportadas, la mayoría de las cuales se emplean para padecimientos digestivos y respiratorios posiblemente relacionados con infecciones, así como para tratar heridas y llagas; problemas, como ya se dijo, con posible relación entre infecciones y cáncer, además de que específicamente para este último padecimiento se registra el uso de unas veinte especies de plantas (Pérez Escandón *et al.*, 2003), con base en éstos y otros argumentos, en el laboratorio de etnobotánica del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo se decidió desarrollar un proyecto que cuenta entre sus fines evaluar la bioactividad de la flora medicinal del estado, con énfasis en la actividad citotóxica y antibacteriana, a fin de contribuir a la resolución de la problemática planteada con la validación del uso tradicional de las plantas y el hallazgo potencial de moléculas bioactivas. Una de las estrategias para llevar a cabo el proyecto es la selección de comunidades o municipios, recabar información acerca del conocimiento, manejo y uso de la flora local y después hacer la evaluación de la actividad biológica de especies selectas.

En este marco, se decidió escoger a Omitlán y a Tepatepec, Hidalgo para llevar a cabo el presente estudio para la búsqueda de antineoplásicos y antibacterianos vegetales. La selección se basó en que no existen antecedentes de esta clase de estudios en el área.

Objetivo general

Determinar cuáles son las especies de plantas usadas en Omitlán y Tepatepec Hidalgo para el tratamiento del cáncer, tumores, apostemas, abscesos, ulceraciones, heridas y llagas rebeldes a los tratamientos y de difícil cicatrización, recabar información acerca de su conocimiento, manejo y uso, así como evaluar su actividad biológica.

Método

Entrevistas

Se hicieron entrevistas semiestructuradas y estructuradas a habitantes de Omitlán y Tepatepec para saber cuáles son las especies de plantas que usan para tratar al cáncer, tumores, apostemas, abscesos, ulceraciones, heridas y llagas de difícil cicatrización, características de las plantas, lugares dónde crecen, época de floración, padecimientos tratados, partes utilizadas, modo de empleo y otros usos.

Colectas

Con base en la información obtenida en las entrevistas y solicitando la colaboración de los informantes se llevó a cabo la colecta por triplicado de las especies de plantas detectadas. Las muestras se prensaron, secaron e identificaron por medio de claves (Rzedowski y Rzedowski, 2001). Un tanto de los ejemplares se depositó como referencia en el herbario del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y en el Laboratorio de Etnobotánica de la misma institución. También se colectaron muestras de las especies para la obtención de extractos para realizar las pruebas programadas.

Preparación de extractos etanólicos

Las muestras vegetales colectadas se secaron al aire a temperatura de laboratorio y las ramas, con tallos y hojas, se trituraron en un molino eléctrico. Se pesaron 50 gr de cada muestra y se extrajeron en Soxhlet durante ocho horas, utilizando 200 ml de etanol absoluto. Para determinar la concentración de los extractos se pesó el residuo obtenido después de evaporar a sequedad una muestra de volumen conocido. Los extractos se almacenaron en refrigeración a 0°C.

Obtención de fracciones

El extracto etanólico de *J. deppeana* se fraccionó mediante cromatografía en placa preparativa de gel de sílice de 20x20x0.25 cm, eluyendo con etanol. Al revelar el cromatograma con la luz de una lámpara UV se observaron tres bandas o fracciones, se calcularon los R_f's, las fracciones se rasparon por separado y se extrajeron con etanol, después

Citotoxicidad

Para llevar a cabo las pruebas de citotoxicidad se seleccionaron a las especies de plantas usadas en la zona de estudio para tratar al cáncer de matriz. Para Omitlán estas especies fueron *Juniperus deppeana*, *Solanum rostratum* y *Bidens odorata* y para Tepatepec *Plumbago pulchella*, *Decatropis bicolor* y *Jatropha dioica* var. *dioica*.

Para evaluar la citotoxicidad de los extractos etanólicos de estas plantas, así como la fracción obtenida de una de las especies activas y un compuesto, se siguió el método empleado por López *et al.* (2002) en el que se utilizó un cultivo de la línea celular de cáncer cérvico uterino HeLa mantenido en medio DMEM (Dulbecco's Modified Tagle Médium) suplementado con 10% de suero fetal bovino, en una atmósfera húmeda con 5% de CO₂ a 37°C. En las pruebas se utilizaron placas de 96 pozos, en donde se sembraron 5000 células HeLa por pozo, en 100 µl de medio con 10% de suero fetal bovino, éstas se trataron con los extractos etanólicos de las plantas en diferentes concentraciones (0.05-2.0 µl extracto/100 µl de medio); la fracción de *J. deppeana* y la sustancia pura se ensayaron en concentraciones de 1.0 a 6.0 µg/ml. Los cultivos fueron incubados en las condiciones mencionadas y a diferentes tiempos, 12, 24 y 48 hs, se determinó la citotoxicidad mediante la estimación de la viabilidad celular con la técnica de cristal violeta, para lo cual las células se fijaron con etanol al 70% durante cinco minutos, luego a cada pozo se añadió cristal violeta al 1% disuelto en agua, diez minutos después se agregó ácido acético al 33%, se midió la absorbancia a 570 nm (DO₅₇₀) en un lector de ELISA. Las pruebas se realizaron con seis a siete concentraciones por triplicado en tres experimentos independientes.

Con los datos obtenidos al medir la DO₅₇₀ se calculó el porcentaje de viabilidad como 100B/A donde A y B fueron los valores promedio de DO₅₇₀ de las células no tratadas y tratadas respectivamente. Con los valores porcentuales de viabilidad celular y los de las concentraciones probadas se elaboraron gráficas concentración-efecto, sobre las curvas obtenidas se estimó la concentración inhibitoria 50% (CI₅₀), que se definió como la concentración de los extractos, fracciones y sustancias que redujo la viabilidad de las células tratadas al 50% respecto de la de las células no tratadas.

Asimismo, para detectar cambios citológicos, los cultivos se observaron en un microscopio invertido Zeiss y se fotografiaron usando una película Kodak Plus X-Pan.

Actividad antibacteriana

Para determinar la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de las plantas registradas, se empleó el método de inoculación por estría propuesto por Mitscher *et al.* (1972) y modificado por Cáceres *et al.* (1990). Para la prueba

se utilizaron las siguientes cepas de bacterias: *Escherichia coli* ATCC 53868, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Salmonella typhimurium* que fue aislada en el Laboratorio de Genética Microbiana del Departamento de Microbiología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, las cuales fueron mantenidas en agar Muller Hinton en refrigeración. Se tomó una muestra de estas bacterias con un asa microbiológica para ser reactivadas y preparar los inóculos para la prueba. La muestra de cada bacteria se sembró en 25 ml de Caldo de Soya Trypticasa Difco previamente esterilizado en autoclave. Estos inóculos se incubaron en una estufa a 37°C por 24 hs, al cabo de este tiempo se midió la turbidez de los inóculos a 540 nm en un espectrofotómetro UV-Vis Janway 6405 la turbidez se ajustó con Caldo Soya Trypticasa estéril al estándar del nefelómetro MacFarland 0.5 que representa 10^8 ufc/ml (unidades formadoras de colonias/mililitro).

En cajas de Petri de 6 cm de diámetro se prepararon placas de agar Muller Hinton conteniendo los extractos etanólicos en diluciones seriadas dobles a 250, 500 y 1000 $\mu\text{g/ml}$, para lo cual en un matraz erlenmeyer se mezcló una cantidad determinada del extracto en cuestión con el medio de cultivo a 45°C para dar la concentración deseada, luego se vertieron 5 ml de la mezcla en cada caja de Petri. Cada caja se consideró una réplica, preparándose tres réplicas por concentración. También se prepararon testigos positivos y negativos por triplicado. El medio de cultivo de los testigos positivos contenía 30 $\mu\text{g/ml}$ de tetraciclina, el testigo negativo se preparó sólo con el medio de cultivo. La inoculación se efectuó de la siguiente forma. Con un asa microbiológica se tomó una muestra de cada inóculo que se sembró por estría en la superficie del agar siguiendo un patrón radial, de tal forma que cada caja de Petri tenía tres estrías, una estría por bacteria. Las cajas se incubaron a 37°C por 24 hs. Al cabo de ese tiempo las cajas se observaron y se determinó la actividad antibacteriana de los extractos en forma semicuantitativa empleando una escala de 0 a 3, los valores se asignaron en forma inversa tomando en cuenta la intensidad del crecimiento bacteriano en las estrías de los testigos; así, en las estrías del testigo negativo se observó el máximo de crecimiento bacteriano al cual se le asignó el valor 0, mientras que en las estrías del testigo positivo, con antibiótico, hubo inhibición del crecimiento, a lo que se asignó el valor 3. Los resultados se expresaron como: 0 inactivo, 1 parcialmente activo, 2 activo, 3 muy activo.

Toxicidad en *Artemia salina*

Las pruebas de toxicidad se realizaron con larvas de *Artemia salina*, siguiendo el método de Meyer *et al.* (1982) y McLaughlin *et al.* (1998). Se utilizó una solución acuosa de NaCl 1% con pH 7.5 a 8.0. A 45°C se evaporó un volumen conocido de cada extracto etanólico, al residuo se le añadió la cantidad necesaria de solución salina para obtener una mezcla acuosa del residuo etanólico a una

concentración de 2 mg/ml, a partir de la cual se hicieron las diluciones necesarias con la solución salina para llevar a cabo la prueba. Los huevecillos o quistes de *A. salina* se adquirieron en un criadero de peces, éstos se pusieron a eclosionar en la solución salina contenida en un vaso de precipitado de un litro, manteniendo la temperatura entre 28 y 30°C, con oxigenación e iluminación constantes lo cual se logró utilizando un calentador y una bomba para acuario y un foco de 75 watts encendido. En estas condiciones los huevecillos eclosionaron en aproximadamente 24 hrs, las larvas recién emergidas fueron las que se utilizaron en cada prueba, la cual se desarrollo de la siguiente manera. En un tubo de ensayo de 5 ml se puso 1.0 ml del extracto preparado previamente, después, con una pipeta Pasteur se colocaron diez larvas de *A. salina*, el volumen se ajustó a 3.0 ml con la solución salina; cada tubo se consideró una réplica, preparándose cinco réplicas por concentración ensayada; inicialmente cada extracto se probó en tres concentraciones: 10, 100 y 1000 $\mu\text{g/ml}$. Los testigos negativos se prepararon de la misma manera, pero a éstos no se les adicionaron extractos. Los tubos destapados se colocaron en una gradilla la cual se colocó cerca del foco encendido; 24 hrs después, a simple vista se contó el número de larvas sobrevivientes en cada tubo, por diferencia se calculó el número de larvas muertas por tubo y se calculó el porcentaje de mortalidad con la fórmula $100B/A$, en donde A fue el número de larvas muertas en el testigo y B el número de larvas muertas en el experimental con extracto. Dependiendo del porcentaje de mortalidad obtenido en esta primera prueba y siguiendo el método de McLaughlin *et al.* (1998), cada extracto se probó en dos concentraciones más seleccionando de entre las siguientes: 5, 25, 50, 500, 2000 $\mu\text{g/ml}$, esto se hizo para probar cada extracto en cinco concentraciones y contar con cinco datos, que es el número mínimo requerido para aplicar el programa con el que se efectuó el siguiente calculo. Con los datos de mortalidad obtenidos al probar cinco concentraciones por extracto se calculó la concentración del extracto a la cual se produjo la muerte del 50% de las larvas de *A. salina*, es decir la concentración letal cincuenta o CL_{50} con límites de confianza de 95%, esto se hizo con el método Probit, empleando el programa SPSS 12.0. Se consideró que los extractos produjeron toxicidad en *A. salina* cuando presentaron una $CL_{50} \leq 100 \mu\text{g/ml}$ (Alves *et al.*, 2000).

Resultados y discusión

Especies de plantas usadas para tratar el cáncer

Se encontró que en Omitlán se utilizan ocho especies de plantas para tratar cáncer, tumores, apostemas, abscesos, ulceraciones, heridas y llagas, las especies son, *Berberis moranensis* Hebenstr. & Ludw. (Berberidaceae), *Bidens odorata* Cav. (Asteraceae), *Geranium schiedeanum* Schl. (Geraniaceae), *Juniperus deppeana*

Steud. (Cupressaceae), *Lopezia racemosa* Cav. *Penstemon roseus* (Sweet) G. Don (Scrophulariaceae), *Senecio salignus* DC. (Asteraceae), *Solanum rostratum* Dun. (Solanaceae); mientras que en Tepatepec se emplean siete especies de plantas, que son *Ambrosia psilostachya* DC. (Asteraceae), *Baccharis salicifolia* (Ruiz & Pavón) Pers. (Asteraceae), *Decatropis bicolor* (Zucc.) Radlk. (Rutaceae), *Jatropha dioica* Sessé ex Cerv. var. *dioica* (Euphorbiaceae), *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae), *Pinaropappus roseus* (Less) Less (Asteraceae), *Plumbago pulchella* Boiss. (Plumbaginaceae).

Citotoxicidad

Se encontró que los extractos de *J. deppeana*, *S. rostratum* y *P. pulchella* redujeron la viabilidad de las células HeLa, lo que significa que produjeron citotoxicidad. Respecto de *J. deppeana* como se muestra en a Figura 1, la pérdida de viabilidad se presentó a partir de la primera concentración del extracto en los tres tiempos medidos, 12, 24 y 48 hrs. El tratamiento de 12 hrs produjo un decremento menor de la viabilidad, el efecto máximo se alcanzó en la concentración del extracto de 2 $\mu\text{l}/100 \mu\text{l}$ de medio, mientras que a 24 y 48 hrs el decremento fue mayor desde la primera concentración en donde la viabilidad se redujo al 39%, en el tratamiento de 24 hrs la reducción máxima de la viabilidad fue de 29%, este efecto se alcanzó al aplicar 0.1 μl del extracto y luego se mantuvo estable; a 48 hrs la viabilidad se redujo al 10% con 0.4 μl del extracto y en adelante se estabilizó.

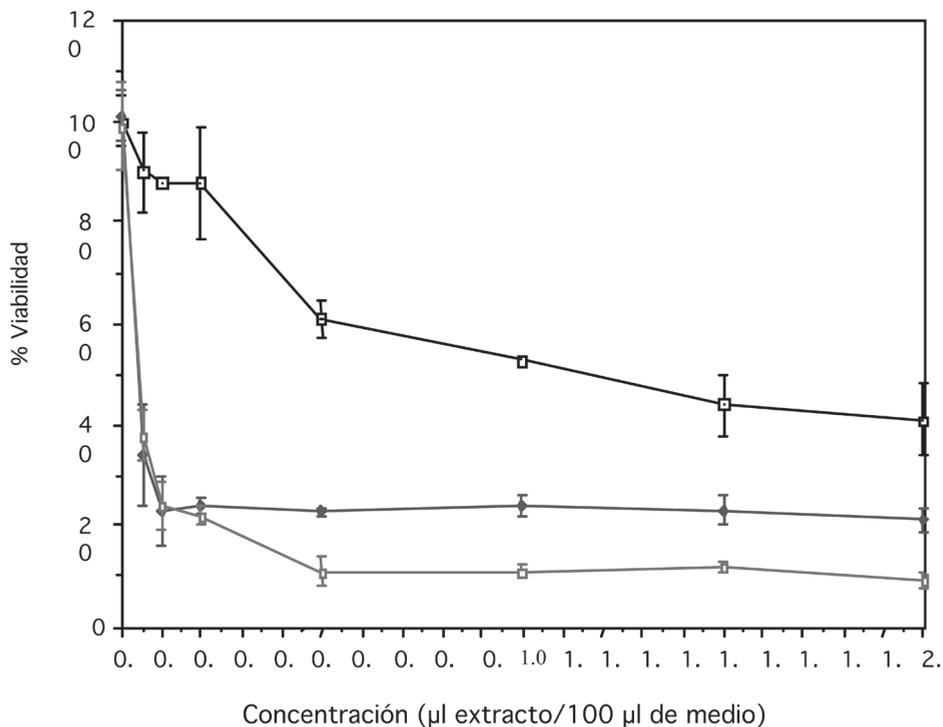


Figura 1. Viabilidad porcentual de células HeLa expuestas a distintas concentraciones del extracto etanólico de *Juniperus deppeana* durante 12 (□), 24 (◆) y 48 (◼) horas. Cada punto es el valor promedio obtenido en tres experimentos independientes por triplicado. Las barras representan la desviación estándar.

El extracto etanólico de *S. rostratum* en términos generales también causó pérdida de viabilidad de las células HeLa (Figura 2), no obstante que en el tratamiento de 12 hrs las tres primeras concentraciones mostraron un incremento de la viabilidad, pero a partir de 0.5 µl, se presentó la reducción, la cual llegó al 80% con 2 µl; el tratamiento de 24 hrs produjo un decremento lineal con las primeras dos concentraciones, un ligero incremento con 0.2 y 0.5 µl y nuevamente una reducción de la viabilidad hasta alcanzar el 39% con 2 µl. El decremento de la viabilidad con el tratamiento de 48 hrs fue sostenido llegando a 40% con 2 µl del extracto.

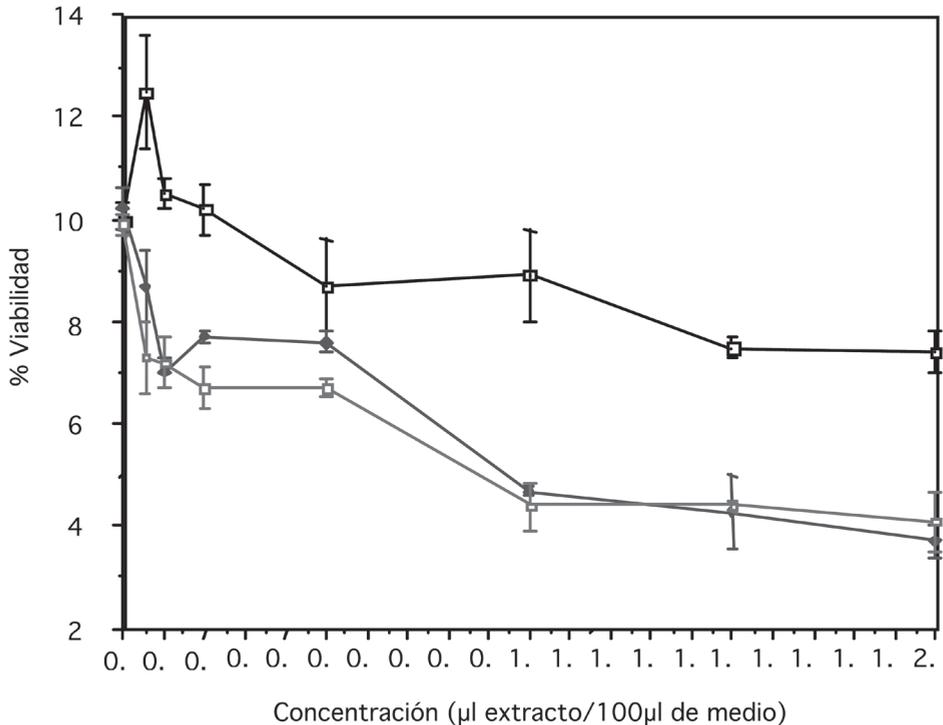


Figura 2. Viabilidad porcentual de células HeLa expuestas a distintas concentraciones del extracto etanólico de *Solanum rostratum* durante 12 (□), 24 (◆) y 48 (◼) horas. Cada punto es el valor promedio obtenido en tres experimentos independientes por triplicado. Las barras representan la desviación estándar.

El extracto de *P. pulchella* redujo la viabilidad celular, como se muestra en a Figura 3, en el tratamiento de 12 hrs la pérdida de viabilidad se presentó a partir de segunda concentración del extracto con un decremento lineal hasta 62% de viabilidad, el efecto máximo, 52%, se alcanzó en la concentración del extracto de 2 µl/100 µl de medio. A 24 y 48 hrs el decremento de la viabilidad fue mayor, decreció linealmente hasta el 37% con 2 µl de extracto, a partir de ahí la viabilidad se mantuvo relativamente constante hasta alcanzar el 29%. En los tres casos la pérdida de viabilidad celular dependió de la concentración del extracto y del tiempo de exposición.

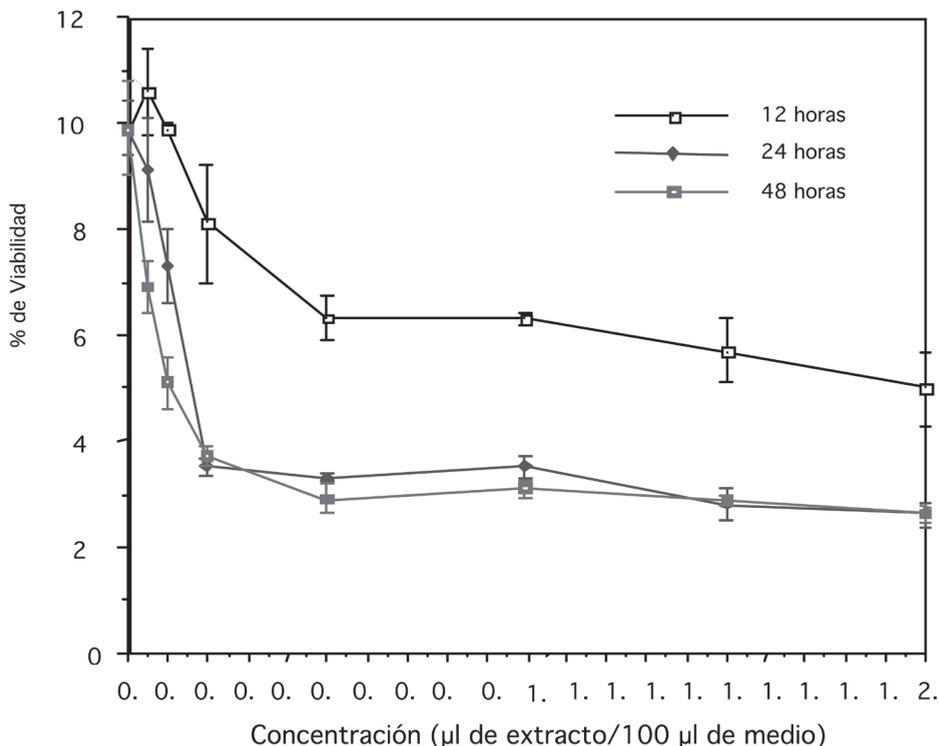


Figura 3. Viabilidad porcentual de células HeLa expuestas a distintas concentraciones del extracto etanólico de *Plumbago pulchella* durante 12 (□), 24 (◆) y 48 (■) horas. Cada punto es el valor promedio obtenido en tres experimentos independientes por triplicado. Las barras representan la desviación estándar.

Los extractos de *B. odorata*, *D. bicolor* y *J. dioica* var. *dioica* no redujeron la viabilidad de las células HeLa.

A partir de las curvas dosis-efecto obtenidas (Figuras 1, 2, 3) se calcularon las CI_{50} . Los resultados se presentan en la Tabla 1, en la cual se observa que el extracto de *P. pulchella* presentó los CI_{50} más bajos, de 19.5, 1.5 y 1.0 $\mu\text{g/ml}$, es decir que éste fue el más citotóxico de los seis extractos ensayados, siguió en actividad *J. deppeana* con 4.63 $\mu\text{g/ml}$ y luego *S. rostratum* con 127.5 $\mu\text{g/ml}$.

Tabla 1. CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$) de los extractos y fracciones vegetales a la que se reduce al 50% la viabilidad de las células HeLa. Las cifras son el promedio de tres experimentos con seis a siete concentraciones por triplicado. nd: no determinada, ne: no ensayada.

Extracto o fracción de:	CI_{50} $\mu\text{g/ml}$		
	12 hrs	24 hrs	48 hrs
<i>Bidens odorata</i>	nd	nd	nd
<i>Decatropis bicolor</i>	nd	nd	nd
<i>Jatropha dioica</i> var. <i>dioica</i>	nd	nd	nd
<i>Juniperus deppeana</i>	240.5	4.63	4.63
<i>Plumbago pulchella</i>	19.5	1.5	1.0
<i>Solanum rostratum</i>	nd	142.5	127.5
Fracción 3 de <i>J. deppeana</i>	ne	5.8	0.79
Plumbagina	ne	4.6	0.66

Puesto que el extracto de *J. deppeana* produjo citotoxicidad, se decidió fraccionarlo para rastrear la actividad. Se obtuvieron tres fracciones siendo la 3 la mayoritaria ($R_f = 0.28$), por lo que se optó por ensayarla en cultivos de células HeLa para comprobar si ésta era la que produjo el efecto citotóxico.

Se encontró que la fracción 3 ($R_f = 0.28$) de *J. deppeana* produjo una reducción de la viabilidad celular. Como se observa en la Figura 4, esta reducción fue dependiente de la concentración y del tiempo de exposición. En el tratamiento de 24 hrs se observó un decremento continuo de la viabilidad hasta llegar a 48% con 0.6 μl fracción/100 μl medio, la concentración más alta ensayada. En el tratamiento de 48 hrs la viabilidad se redujo hasta 20% con 0.3 μl fracción/100 μl medio, desde donde se mantuvo estable. Las CI_{50} de la fracción se presentan en la Tabla 1, donde se observa que los valores son de los mismos órdenes de magnitud que los del extracto completo a 24 y 48 hrs, por lo que se supuso que el compuesto contenido en la fracción 3, le confiere las propiedades citotóxicas a *J. deppeana*.

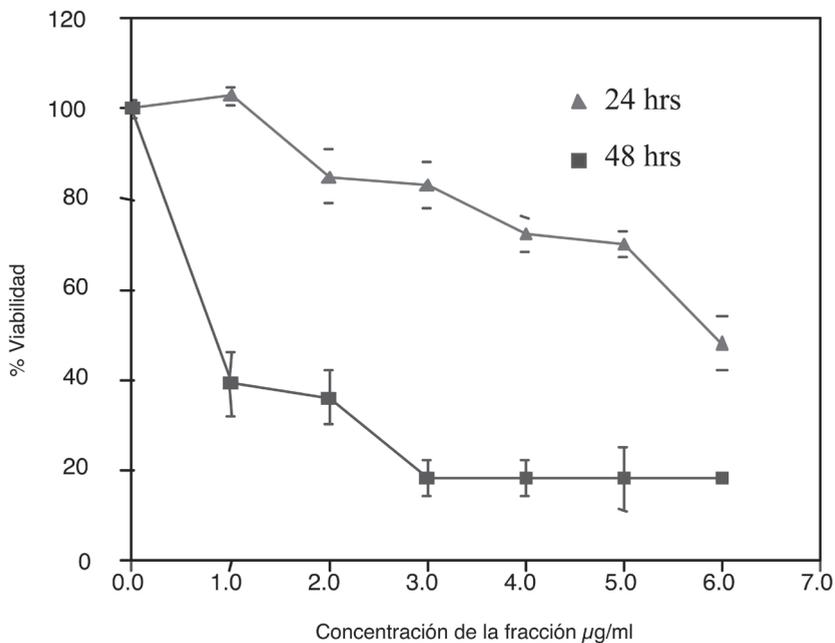


Figura 4. Viabilidad porcentual de células HeLa expuestas a distintas concentraciones de la fracción 3 de *Juniperus deppeana* durante 24 (\blacktriangle) y 48 (\blacksquare) horas. Cada punto es el valor promedio obtenido en tres experimentos independientes por triplicado. Las barras representan la desviación estándar.

En el extracto de *P. pulchella* cristalizó una sustancia que se identificó como plumbagina, que se ensayó en cultivos de células HeLa para comprobar si ésta era la que produjo el efecto citotóxico.

Se encontró que la plumbagina produjo una reducción de la viabilidad celular. Como se observa en la Figura 5, esta reducción fue dependiente de la concentración y del tiempo de exposición. La pérdida de viabilidad se presentó desde la primera concentración en los dos tiempos, 24 y 48 hrs. En el tratamiento de 24 hrs se observó un decremento continuo de la viabilidad hasta llegar a 40% con 6 $\mu\text{g/ml}$, la concentración más alta ensayada. En el tratamiento de 48 hrs la viabilidad se redujo a partir de la primera concentración hasta el 18% desde donde se mantuvo estable hasta la última concentración ensayada. Las CI_{50} de la plumbagina se presentan en la Tabla 1 donde se observa que los valores son de los mismos ordenes de magnitud que los del extracto completo a 24 y 48 hrs, por lo que se supuso que la plumbagina le confiere las propiedades citotóxicas a *P. pulchella*.

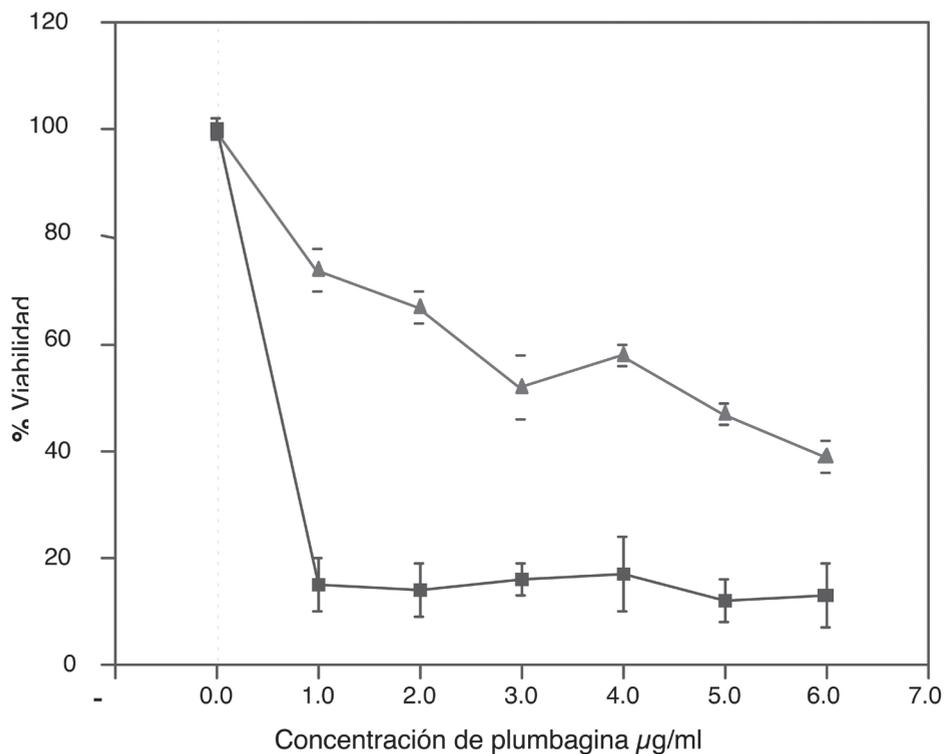


Figura 5. Viabilidad porcentual de células HeLa expuestas a distintas concentraciones de la plumbagina durante 24 (▲) y 48 (■) horas. Cada punto es el valor promedio obtenido en tres experimentos independientes por triplicado. Las barras representan la desviación estándar.

En la Figura 6 se presentan las imágenes obtenidas al microscopio de los cultivos de las células HeLa testigo expuestas al vehículo (etanol) (A) y al exponer el cultivo a la fracción 3 de *J. depeana* durante 24 hrs a una concentración de 0.3 (B) y de 0.6 µl fracción/100 µl medio (C), en ambas imágenes se observan células con forma redonda y en la última algunas con núcleos fragmentados y protuberancias celulares.

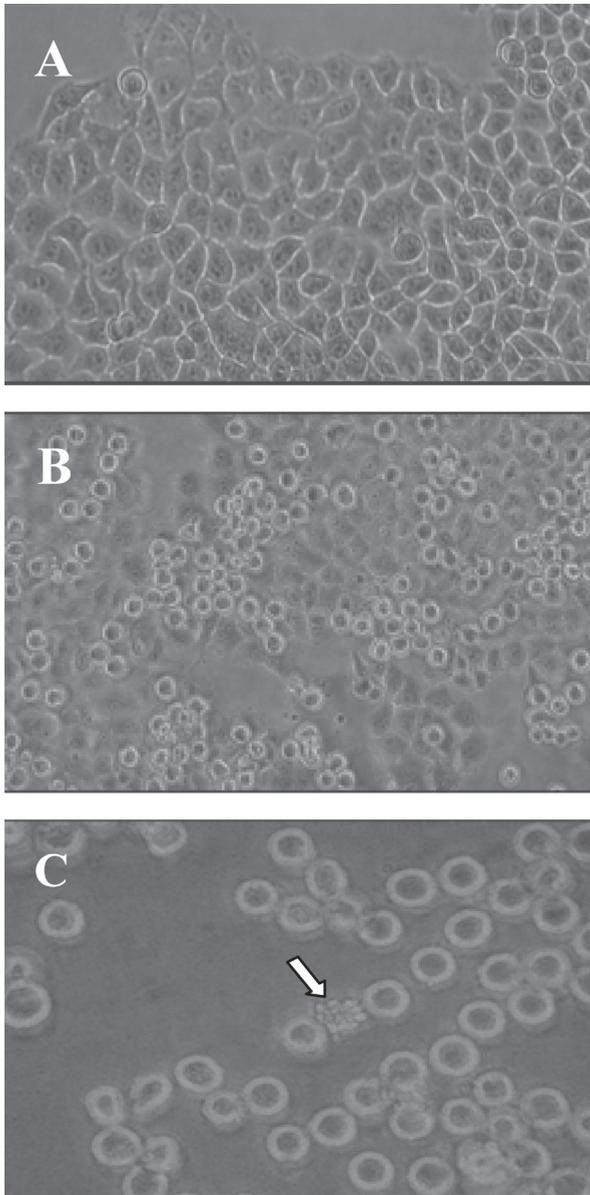


Figura 6. Células HeLa expuestas al vehículo (A) o a la fracción 3 de *Juniperus deppeana* a una concentración de 0.3 (B) o 0.6 μl fracción/100 μl medio por 24 hrs (C). La flecha blanca muestra en C una célula con morfología apoptótica. Las imágenes son representativas de tres experimentos independientes. Aumento original A y B 10x; C 40x.

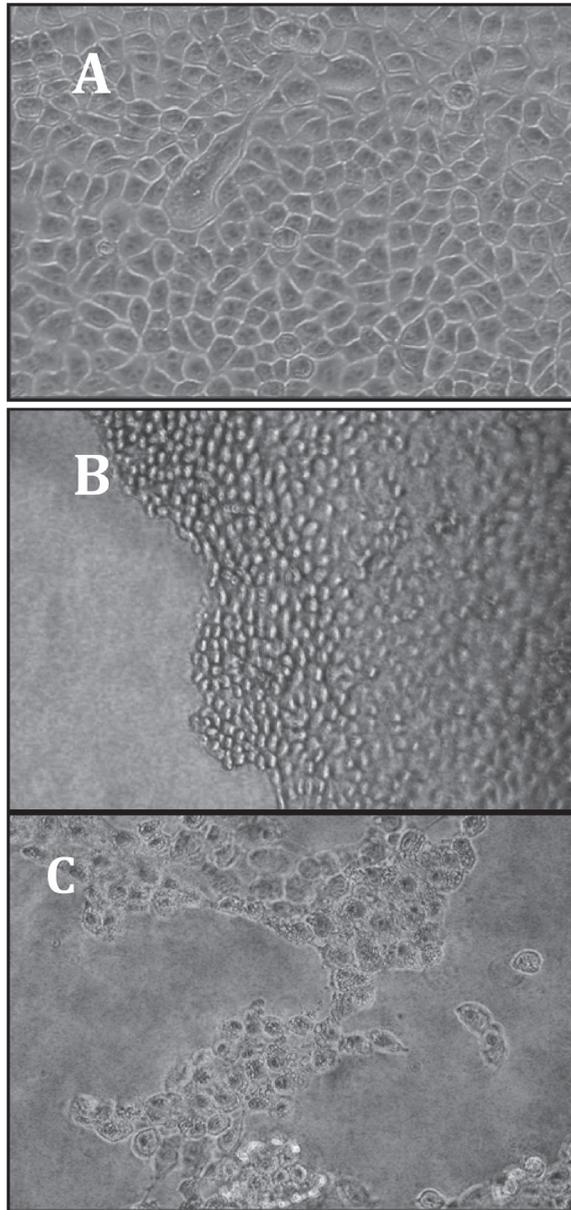


Figura 7. Células HeLa expuestas al vehículo (A) o a la plumbagina a una concentración de 2.0 $\mu\text{g/ml}$ por 24 hrs (B) o 5.0 $\mu\text{g/ml}$ por 24 hrs (C). Las flechas blancas muestran en C células con morfología apoptótica. Las imágenes son representativas de tres experimentos independientes. Aumento original A y B 10x; C 20x.

En la Figura 7 se presentan las imágenes obtenidas al microscopio de los cultivos de las células HeLa testigo expuestas al vehículo (etanol) (A) al exponer el cultivo a la plumbagina a una concentración de 2 $\mu\text{g/ml}$ durante 24 hrs, las células el contacto con el sustrato y formaron una capa parecida a un epitelio (B). Al tratar el cultivo con la plumbagina a una concentración de 5 $\mu\text{g/ml}$ durante 24 hrs, la mayoría de las células presentó vacuolas y un citoplasma reticulado y algunas mostraron una morfología apoptótica (C) con núcleos fragmentados y protuberancias celulares.

Las características morfológicas observadas en las células HeLa tratadas, sugieren que la citotoxicidad producida por los extractos etanólicos de *J. deppeana*, *S. rostratum*, los de *P. pulchella*, la fracción 3 y la plumbagina es por apoptosis. Sin embargo, para comprobar este efecto sería necesario realizar otro tipo de pruebas como la tinción de núcleos con bromuro de etidio para observar si se condensan y fragmentan y la técnica de TUNEL para detectar fragmentación de ADN, características que se presentan en el proceso apoptótico (Albert *et al.*, 1998).

Los resultados acerca de los efectos citotóxicos en células HeLa de los extractos de *J. deppeana*, de *S. rostratum* y de *P. pulchella* ayudan a validar el uso popular de estas plantas para el tratamiento del cáncer de matriz.

Este es el primer reporte acerca del efecto citotóxico de *J. deppeana*; al comparar la CI_{50} obtenida a 48 hrs con el extracto de esta planta en células HeLa con el valor reportado en otras especies vegetales, se encontró que la cifra (4.63 $\mu\text{g/ml}$) fue unas quince veces menor que la encontrada por Betancur-Galviz *et al.* (2002) con el extracto de *Euphorbia arenaria* (74.6 $\mu\text{g/ml}$). Por otra parte, otras especies de *Juniperus* ya se utilizaban en Roma en el siglo I dC. para detener el crecimiento de tumores (Koulman *et al.*, 2004) y en la actualidad ya se ha comprobado la citotoxicidad en distintas líneas celulares de tumores humanos de extractos y sustancias de *J. bermudiana* (Cole *et al.*, 1977), *J. phoenicea* (Carines *et al.*, 1980), *J. sabina* (San Feliciano *et al.*, 1990), *J. przewalskii* (Wang *et al.*, 2002) y *J. communis* (Bayazit, 2004). También es el primer reporte de la citotoxicidad de *B. odorata*, *D. bicolor*, *J. dioica* var. *dioica*, *P. pulchella* y *S. rostratum*. En el género *Solanum* se han reportado especies como *S. crinitum* y *S. jabrense* cuyos alcaloides fueron citotóxicos (Esteves-Souza *et al.*, 2002).

Actividad antibacteriana

Los resultados obtenidos en la prueba se presenta en la Tabla 2 en donde se observa que once (73.3%) de los quince extractos presentaron actividad antibacteriana en cuando menos una cepa. El extracto más activo fue el de *P. pulchella* ya que presentó actividad en las tres cepas de bacterias incluidas en la prueba. Le siguió

en actividad el extracto etanólico de *J. deppeana*. En la Figura 8 se observan el efecto producido por el extracto de *B. moranensis* que sólo presentó actividad en *S. aureus*. *S. typhimurium* fue la bacteria más resistente ya que sólo los extractos *P. pulchella* y de *J. deppeana* fueron activos.

Tabla 2. Actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de las especies de plantas estudiadas. Los resultados se expresaron como: 0 inactivo, 1 parcialmente activo, 2 activo, 3 muy activo.

Extractos etanólicos de:	<i>E. coli</i>			<i>S. aureus</i>			<i>S. typhimurium</i>		
	concentración de los extractos etanólicos $\mu\text{g/ml}$								
	250	500	1000	250	500	1000	250	500	1000
<i>Ambrosia psilostachya</i>	0	0	1	0	0	3	0	0	0
<i>Baccharis salicifolia</i>	0	0	0	3	3	3	0	0	0
<i>Berberis moranensis</i>	0	0	0	0	1	3	0	0	0
<i>Bidens odorata</i>	0	1	3	0	0	0	0	0	0
<i>Decatropis bicolor</i>	0	0	0	0	0	2	0	0	0
<i>Geranium schiedeanum</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Jatropha dioica</i> var. <i>dioica</i>	0	0	1	0	0	2	0	0	0
<i>Juniperus deppeana</i>	0	1	2	1	3	3	0	0	2
<i>Lopezia racemosa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Marrubium vulgare</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0
<i>Penstemon roseus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pinaropappus roseus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Plumbago pulchella</i>	1	3	3	3	3	3	1	2	2
<i>Senecio salignus</i>	0	0	2	0	2	3	0	0	0
<i>Solanum rostratum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0

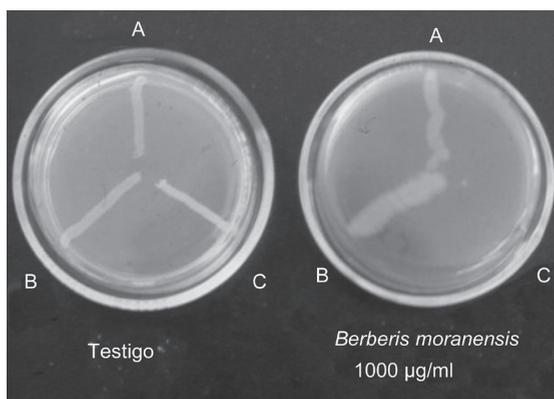


Figura 8. Efecto en el crecimiento bacteriano producida por el extracto etanólico de *Berberis moranensis* (1000 $\mu\text{g/ml}$) en *Escherichia coli* (A), *Salmonella typhimurium* (B), *Staphylococcus aureus* (C), en comparación con el testigo negativo.

Los resultados ayudan a confirmar las propiedades medicinales que los habitantes de Omitlán y Tepatepec atribuyen a estas plantas y las revelan como una fuente potencial de antibacterianos de origen vegetal.

Los extractos etanólicos de *P. pulchella* y *J. deppeana* fueron los más activos en la prueba de actividad antibacteriana y los que produjeron la mayor citotoxicidad en células HeLa. Para poder entender una posible relación entre estos efectos, por ejemplo sería conveniente comprobar si los principio activos citotóxico, aislados de esta planta, además presentan actividad antibacteriana. En este estudio no fue posible realizar estas pruebas antibacterianas.

Se encontraron antecedentes de efectos antimicrobianos de algunas de las especies de plantas estudiadas. Los extractos de *B. moranensis* presentaron actividad en *Proteus vulgaris* y *Shigella disinteriae* (Lucas Jiménez, 1981); los de *J. deppeana* en *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Mycobacterium smegmatis* (Clark, 1990) y los de *S. salignus* en *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans* (Cáceres, 1987).

Toxicidad en *Artemia salina*

Los valores de CL_{50} (concentración letal cincuenta) obtenidos al ensayar los extractos etanólicos de las especies de plantas estudiadas se presentan en la Tabla 3 en donde se observa que los extractos de cinco de las quince especies mostraron toxicidad en *Artemia salina*, presentando una $CL_{50} \leq 100 \mu\text{g/ml}$. El extracto de *B. odorata* fue el que presentó la toxicidad más alta en *A. salina* con el valor de CL_{50} más bajo de $5.1226 \mu\text{g/ml}$, le siguió en toxicidad *J. dioica* var. *dioica* y *L. racemosa* con CL_{50} de 7.056 y $9.113 \mu\text{g/ml}$ respectivamente.

B. odorata, *J. dioica* var. *dioica* y *L. racemosa* pudieran ser especies interesantes para investigar a futuro pues fueron las más tóxicas en *A. salina*, la posibilidad sería que la investigación se encaminara que sus extractos podrían ser probados empleando otros bioensayos para la detección de propiedades farmacológicas más específicas o que los extractos se separaran teniendo como guía el ensayo con *A. salina* para obtener el principio activo que luego se probaría con otros modelos.

Tabla 3. CL₅₀ y límites de confianza 95% de los extractos etanólicos de las plantas usadas en Omitlán y Tepatepec Hidalgo para el tratamiento del cáncer, probados en larvas de *Artemia salina* en un rango de concentración de 5 a 2000 µg/ml.

Extractos etanólicos de:	CL ₅₀ (µg/ml)	Límites de confianza 95%
<i>Ambrosia psilostachya</i>	1088.095	940.974 – 1260.254
<i>Baccharis salicifolia</i>	516.347	422.448– 624.236
<i>Berberis moranensis</i>	615.291	477.248-796.273
<i>Bidens odorata</i>	5.123	0-25.476
<i>Decatropis bicolor</i>	565.023	491.354 – 648.333
<i>Geranium schiedeanum</i>	59.857	53.099-68.148
<i>Hamelia patens</i>	555.797	442.255 – 692.333
<i>Jatropha dioica</i> var. <i>dioica</i>	7.056	nd
<i>Juniperus deppeana</i>	1331.250	988.208-1826.627
<i>Lopezia racemosa</i>	9.113	0-16.247
<i>Marrubium vulgare</i>	38.093	0 – 67.644
<i>Penstemon roseus</i>	1114.966	nd
<i>Pinaropappus roseus</i>	158.927	129.764 – 193.629
<i>Plumbago pulchella</i>	14.965	11.142– 24.187
<i>Senecio salignus</i>	200.433	110.358-393.908
<i>Solanum rostratum</i>	512.677	374.362-728.448

nd = no determinados

Conclusiones

Al encontrar que los extractos etanólicos de tres de las seis especies de plantas utilizadas en Omitlán y Tepatepec Hidalgo para tratar cáncer de matriz presentan *in vitro* citotoxicidad en células HeLa ayuda a validar el uso tradicional de estas plantas.

Se encontró que los extractos etanólicos de once de estas quince especies vegetales mostraron actividad antibacteriana, así que con los resultados se contribuye a confirmar las propiedades medicinales que los informantes atribuyen a estas plantas.

La prueba con *A. salina* fue útil para definir mejor la bioactividad de los extractos y a delinear futuras investigaciones en estas especies vegetales.

Trece (86.7%) de las quince especies de plantas incluidas en el estudio exhibieron actividad en por lo menos una de las pruebas, este elevado porcentaje de actividad confirma la importancia de seleccionar especies medicinales en la búsqueda de extractos bioactivos pues es más probable encontrarlos en esta clase de plantas.

Agradecimientos

Este estudio se realizó con apoyo del Programa Institucional de Investigación de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo Proyecto Antibacterianos e insecticidas vegetales de cinco regiones de Hidalgo UAE-DIP-ICBI-AAB 06.

Bibliografía

- Aguilar, A., J.R. Camacho, P. Jacquez y M. E. López. 1994. Plantas medicinales del herbario IMSS. México. 218 pp.
- Aguilar, A., J.R. Camacho., S. Chino-Vargas, P. Jácquez-Rios, M.E. López Ma. E. 1998. Plantas medicinales del herbario IMSS México. 167 pp.
- Albert, B., D. Bray, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts and P. Walter. 1998. Essential cell biology. Garland Publishing, Inc. New York. 710 pp.
- Alleyne, G.A. 1998. Emerging diseases – what now. Emerging Infectious Diseases 4(3):498-500.
- Alves, T.M.A., A. Fonseca Silva, M. Brandão, T.S. Grandi, E.F.A. Smânia, A. Smânia and C.L. Zani. 2000. Biological screening of brazilian medicinal plants. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 95(3): 367-373.
- Argueta, A. (Coord.). 1994. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. 3 Vols. Instituto Nacional Indigenista, México D. F. 1786 pp.
- Bayazit, V. 2004. Cytotoxic effects of some animal and vegetable extracts and some chemicals on liver and colon carcinoma and myosarcoma. Saudi Medicine Journal 25(2):156-163.
- Betancur-Galvis, L.A., G.E. Morales, J.E. Forero and J. Roldan. 2002. Cytotoxic and antiviral activities of Colombian medicinal plant extracts of *Euphorbia* genus. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Río de Janeiro. 97(4):541-546.
- Brandling-Bennett, A.D. and F. Pinheiro. 1996. Infectious diseases in Latin America and the Caribbean: are they really emerging and increasing?. Emerging Infectious Diseases 2(1):59-61.
- Burke, J. 1990. Infección de heridas. Prevención y control. En: Ballinger, W. (Ed.). Traumatología. Interamericana. México, D.F. p. 698-707.
- Cáceres, A. 1987. Screening of antimicrobial activity of plants populary used in Guatemala for the treatment of dermato mucosal diseases. Journal of Ethnopharmacology 20(3):223-237.

-
- Cáceres, A., C. Morales, L.M. Girón y M.C. Navarro. 1990. Demostración de la actividad antimicrobiana de algunas especies vegetales usadas popularmente como medicinales en la cuenca del Caribe. *Ciencia y Tecnología* 81-87.
- Carines, D.A., O. Ekundayo and G.I. Kingston. 1980. Lignans from *Juniperus phoenicea*. *Journal of Natural Products* 43:495-497.
- Cassell, G.H. 1998. Infections causes of chronic inflammatory diseases and cancer. *Emerging Infectious Diseases* 4(3):475-487.
- Cassileth, B.R. and G. Deng. 2004. Complementary and alternative therapies for cancer. *The Oncologist* 9:80-89.
- Clark, A.M. 1990. Antimicrobial proprieties of heartwood, bark,sap wood and leaves of *Juniperus* species. *Phytotherapy Research* 4(1):15-19.
- Coelho de Souza, G., A.P.S. Haas, G.L. Poser, E.E.S. Schapoval and E. Elisabetsky. 2004. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* 90:135-143.
- Cole, J.R., B. Tammami and J. Torrance. 1977. Antitumor agent from *Juniperus bermudiana*. *Phytochemistry* 1100-1103.
- Cragg, G.M., J.E. Simon, J.G. Jato and K.M. Snader. 1996. Drug discovery and development at the National Cancer Institute: potential for new pharmaceutical crops. In: J. Janick (Ed.) *Progress in new crops*. ASHS Press. Arlington. p. 554-560.
- Cragg, G.M., D.J. Newman and K.M. Snader. 1997. Natural products in drug discovery and development. *Journal of Natural Products* 60:52-60.
- Davidson, J.R. and B.R. Ortiz de Montellano. 1983. The antibacterial properties of an aztec wound remedy. *Journal of Ethnopharmacology* 8:149-161.
- Duke, J.A. 1990. Promising phytomedicinals. In: Janick, J. and J.E. Simon (Eds.). *Advances in new crops*. Timber Press. Portland. p. 491-498.
- Elnima, E.I., S.A. Ahmed, A.G. Mekkawi and J.S. Mossa. 1983. The antimicrobial activity of garlic and onion extracts. *Pharmazie* 38:747-748.
- Esteves-Souza, A., T.M. Sarmiento da Silva, C.C. Fernandes Alves, M.G. de Carvalho, R. Braz-Filho and A. Echevarria. 2002. Cytotoxic activities against Ehrlich carcinoma and human K562 leukaemia of alkaloids and flavonoids from two *Solanum* species. *Journal of Brazilian Chemical Society* 13(6):838-842.
- Fauci, A. 1998. New and reemerging diseases: The importance of biomedical research. *Emerging Infectious Diseases* 4(3):374-378.

-
- Grace, N.E. and M.E. Reeve. 1996. Traditional healers and global surveillance strategies for emerging diseases: closing the gap. *Emerging Infectious Diseases* 2(4):351-353.
- Hammer, K.A., C.F. Carson and T.V. Riley. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology* 86:985-990.
- Hernández Díaz, L. y M. Rodríguez Jorge. 2001. Actividad antimicrobiana de plantas que crecen en Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 2:44-47.
- Hernández, T., M. Canales, J.G. Avila, A. Duran, J. Caballero, A. Romo de Vivar y R. Lira. 2003. Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. *Journal of Ethnopharmacology* 88:181-188.
- Holetz, F.B., G.L. Pessini, N.R. Sanches, D.A. García Cortez, C.V. Nakamura and B.P. Dias Filho. 2002. Screening of some plants used in to the Brazilian folk medicine for the treatment in infectious diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 97(7):1027-1031.
- Hostettmann, K. 1997. Strategy for the biological and chemical evaluation of plant extracts. *International conference on biodiversity and bioresources: conservation and utilization. Thailand.* p. 23-27.
- Hostettmann, K. and A. Marston. 1987. Plants used in African traditional medicine. In: Steiner, R.P. (Ed.). *Folk medicine. The art and the science.* American Chemical Society. Washington. p. 111-124.
- INEGI. 2001. Estadísticas vitales. Cuaderno N° 4. Hidalgo. 197 p.
- INEGI. 2003a. Anuario estadístico de los Estados Unidos Mexicanos. 721 p.
- INEGI. 2003b. Anuario estadístico. Hidalgo. 739 p.
- Itheret, A., P.J. Houghton, E.G. Amooqueye, P.J. Burke, J.H. Sampson and A. Raman. 2004. *In vitro* cytotoxic activity of Thai medicinal plants used traditionally to treat cancer. *Journal of Ethnopharmacology* 90:33-38.
- Koulman, A., W.J. Quax, and N. Pras. 2004. Podophyllotoxin and related lignans produced by plants. In: Ramawat, K.G. (Ed.). *Biotechnology of medicinal plants.* Science Publishers Inc. Enfield. p. 9-36.
- Lee, K. H. 2004. Current developments in the discovery and design of new drug candidates from plant natural products leads. *Journal of Natural Products* 67:273-283.
- Lien, E.J. and W.Y. Li. 1987. Anticancer chinese drugs: structure-activity relationships. In: Steiner, R.P. (Ed.). *Folk medicine. The art and the science.* American Chemical Society. Washington. p. 111-124.

-
- López, L. 2001. Inducción de apoptosis en células HeLa por extractos de *Cupressus lindleyi* Klotzsch. Tesis de maestría. Facultad de Ciencias, UNAM. 35 pp.
- López, L., M.A. Villavicencio, A. Albores, M. Martínez, J. de la Garza, J. Meléndez-Zajgla y V. Maldonado. 2002. *Cupressus lusitanica* (Cupressaceae) leaf extract induces apoptosis in cancer cells. *Journal of Ethnopharmacology* 80:115-120.
- Lucas Jiménez, M.T. 1981. Investigación de alcaloides en *Berberis moranensis* Hebernst. & Ludw. Tesis de licenciatura. Facultad de Química, UNAM. México, D.F. 35 pp.
- Mans, D.R.A., A.B. de Rocha and G. Schwartzmann. 2000. Anti-cancer drug discovery and development in Brazil: targeted plant collection as rational strategy to acquire candidate anti-cancer compounds. *The Oncologist* 5:185-198.
- Mata Pinzón, S.D., M.A. Marmolejo, J.A. Tascón, M. Zurita, Y. Galindo y G.I. Lozano. 1994. Diccionario enciclopédico de la medicina tradicional mexicana I y II. Instituto Nacional Indigenista. México, D.F. 917 pp.
- McLaughlin, J.L., L.L. Rogers and J.E. Anderson. 1998. The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug Information Journal* 32:513-524.
- Meyer, B.N., N.R. Ferrigni, J.E. Putman, L.B. Jacobsen, D.E. Nichols and J.L. McLaughlin. 1982. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica* 45:31-34.
- Mitscher, L.A., R.P. Leu, M.S. Bathala, W.N. Wu and J.L. Beal. 1972. Antimicrobial agents from higher plants. I. Introduction, rationale and methodology *Lloydia* 35(2):157-165.
- Mitscher, L.A. 1975. Antimicrobial agents from higher plants. *Recent Advances in Phytochemistry* 9:243-282.
- Moura, MD., J.S. Silva, R.G. Oliveira, M.F.F. Diniz and J.M. Barbosa-Filho. 2002. Natural products reported as potential inhibitors of uterine cervical neoplasia. *Acta Farmáutica Bonaerense* 21(1):67-74.
- Pérez Escandón, B.E., M.A. Villavicencio y A. Ramírez Aguirre. 2003. Lista de las plantas útiles del estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca. 127 pp.
- Rzedowski Calderón de, G. y J. Rzedowski. 2001. Flora Fanerogámica del Valle de México. CONABIO. Instituto de Ecología A.C. Pátzcuaro. 1406 pp.
- San Feliciano, A., J.M. Miguel del Corral, M. Gordaliza and A. Castro. 1990. Lignans from *Juniperus sabina*. *Phytochemistry* 29:1135-1138.
- Satcher, D. 1995. Emerging infections: getting ahead of of the curve. *Emerging Infectious Diseases* 1(1):1-6.

-
- Schultes, R.E. and S. von Reis. 1997. Ethnobotany. Evolution of a discipline. Dioscorides Press. Portland. 414 p.
- Stehman, F.B., P. Rose, B. Greer, M. Roy, M. Plante, M. Penalver, A. Jhingran, P. Eifel, F. Montz and J.T. Wharton. 2003. Innovations in the treatment of invasive cervical cancer. *Cancer* 98(9):2052-2065.
- Sumner, J. 2001. The natural history of medicinal plants. Timber Press. Portland. 235 pp.
- The World Health Report 2004. World Health Organization. Geneva. 96 pp.
- Toledo, V.M. 1997. New paradigms for a new ethnobotany: reflections on the case of Mexico. In: Schultes, R.E. and S. von Reis (Eds.). Ethnobotany. Evolution of a discipline. Dioscorides Press. Portland. p. 75-88.
- U.S. Cancer Statistics Working Group. 2004. United States cancer statistics: 2001 incidence and mortality. Atlanta (GA): Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention and National Cancer Institute.
- U.S. Congress, Office of Technology Assessment. 1990. Unconventional Cancer Treatments. OTA-H-405. U.S. Government Printing Office. Washington. 297 pp.
- Villavicencio, M.A., B.E. Pérez Escandón y A. Ramírez Aguirre. 1998. Lista florística del estado de Hidalgo. Recopilación bibliográfica. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca. 147 p.
- Waizel-Bucay, J., G. Martínez-Porcayo, M.L. Villarreal-Ortega, D. Alonso-Cortés y A. Pliego-Castañeda. 2003. Estudio preliminar etnobotánico, fitoquímico, de la actividad citotóxica y antimicrobiana de *Cuphea aequipetala* Cav. (Lythraceae). *Polibotánica*, 15:99-108.
- Wang, W.S., E.W. Li and Z.J. Jia. 2002. Terpenes from *Juniperus przewalskii* and antitumor activities. *Pharmazie* 57(5):343-345.
- Willard, T. 1999. Edible and medicinal plants of the Rocky Mountains and neighbouring territories. Wild Rose College. Calgary. 278 pp.
- Zani, C.L., P.P.G. Chaves, R. Queiroz, A.B. de Oliveira, J. Cardoso, A.M.G. Anjos and T.S.M. Grandi. 1995. Brine shrimp lethality as a prescreening system for anti-*Trypanosoma cruzi* activity. *Phytomedicine* 2(1):47-50.

CAPÍTULO IV

Actividad Antibacteriana en *Staphylococcus aureus* de Plantas Medicinales Usadas en Los Cides, Tepeapulco, Hidalgo.

Reyes Silva, J.A.

Gordillo Martínez, A.J.

Pérez Escandón B.E.

Villavicencio Nieto, M.A.

Laboratorio de etnobotánica.

Centro de Investigaciones Biológicas.

Centro de Investigaciones Químicas.

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Resumen

En este estudio se encontró que en el estado de Hidalgo hay municipios con alta incidencia de “Infecciones Respiratorias Agudas”, como Tepeapulco. En este trabajo se seleccionó a Los Cides, una comunidad del municipio con el objetivo de documentar el uso de las plantas para padecimientos respiratorios y evaluar la actividad antibacteriana de los extractos vegetales en cepas certificadas ATCC y nativas de *Staphylococcus aureus*. Por medio de entrevistas se detectaron a las especies vegetales empleadas para el tratamiento de esos problemas; los extractos se ensayaron en cultivos de *S. aureus* con el método de difusión en disco sobre placas con medio de cultivo. También se ensayaron siete antibióticos convencionales para detectar cepas resistentes. Se encontró que en Los Cides emplean trece especies de plantas para tratar tos, bronquitis, dolor de garganta y otros problemas respiratorios; las especies son *Chenopodium graveolens*, *Tillandsia macdougallii*, *Senecio salignus*, *Helianthemum glomeratum*, *Eryngium carlinae*, *Schinus molle*, *Gnaphalium oxyphyllum* var. *oxyphyllum*, *Gentiana spathacea*, *Buddleia cordata* ssp. *cordata*, *Pleopeltis polylepis*, *Gnaphalium viscosum*, *Polypodium plebeium* y *Dalea minutifolia*. El extracto de *Gnaphalium oxyphyllum* var. *oxyphyllum* fue el más activo en *S. aureus*, con 800 µg/ml

produjo zonas de inhibición de 23.8 mm y 24 mm en las cepas certificadas ATCC y nativa 1; le siguió en actividad *Dalea minutifolia* con 16.6 mm en la cepa ATCC y *Tillandsia macdougallii* con 14.6 mm en las cepas nativa 1. En otra prueba seis extractos seleccionados tuvieron un efecto de inhibición en todas las cepas bacterianas a 800 $\mu\text{g/ml}$ mientras que las seis cepas mostraron resistencia a uno o cuatro de los antibióticos. Los resultados contribuyen a corroborar las propiedades medicinales que los pobladores del área atribuyen a estas plantas y ayudan a validar su uso tradicional.

Palabras clave: Hidalgo, Los Cides, Infecciones Respiratorias Agudas, *Staphylococcus aureus*, cepas ATCC, cepas nativas.

Introducción

Las infecciones transmisibles entre humanos figuran como una de las principales causas de muerte, son las responsables del 30% de todas las defunciones que ocurren en el mundo. Entre estas enfermedades se encuentran aquellas ocasionadas por agentes infecciosos que afectan a distintos sistemas y aparatos como el digestivo y el respiratorio (Who, 2006). En este último caso influyen las infecciones respiratorias agudas que son un grupo de padecimientos como laringitis, faringoamigdalitis, sinusitis, bronquitis, neumonía e influenza, entre otras, causado por cierto tipo de virus y de bacterias (López, 2003).

A nivel mundial las “Infecciones Respiratorias Agudas” se mantienen como un grupo importante de afecciones que ocasionan un impacto socioeconómico considerable, particularmente en países en desarrollo en donde son la causa del 45% de todas las defunciones, en su atención se invierten recursos médicos cuantiosos, y representan un motivo frecuente de incapacidad laboral y escolar (Sáenz, 1997; Batista y Cañizares, 1998; OMS, 2000).

En México, las “Infecciones Respiratorias Agudas” ocupan el primer lugar en la lista de las 20 principales causas de enfermedades según datos de la Secretaría Servicios de Salud. En el país las entidades federativas con mayor incidencia de estas infecciones son en orden de importancia son: Tlaxcala, Puebla, Estado de México, Querétaro, Distrito Federal e Hidalgo (INEGI, 2006). En el estado de Hidalgo estas infecciones también están en el primer sitio en la lista de las 20 principales causas de enfermedad con 792 707 casos registrados en el año 2005 (SSA, 2006).

Las enfermedades incluidas en las “Infecciones Respiratorias Agudas” son causadas por virus y bacterias; los microorganismos más frecuentes asociados a estos padecimientos son *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Staphylococcus aureus* (Fernández et al., 2003; Villasusa et al., 2006). *S.*

aureus es una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa, se reconoce como un patógeno importante de enfermedades infecciosas en el hombre, causa folículos, abscesos, sepsis, infección en heridas, síndrome del choque tóxico, meningitis, endocarditis, osteomielitis, envenenamiento alimentario y neumonía. (Ingraham e Ingraham, 1998; Bartelt, 2000).

En la medicina alopática las infecciones bacterianas se tratan principalmente con antibióticos de origen microbiano o sintético (Peláez y Genillound, 2004) y a pesar de que estos productos constituyen las prescripciones médicas más frecuentes, este tipo de infecciones ocupan un lugar preponderante como causa de enfermedad. Esto se debe al incremento de la resistencia bacteriana (Fernández *et al.*, 2003)

Al clasificar a las plantas medicinales de acuerdo a los padecimientos o sistemas para los cuales se utilizan, en distintos estudios etnobotánicos se ha encontrado que la primera categoría, por el número de especies de plantas medicinales empleadas, corresponde al sistema digestivo y el sistema respiratorio ocupa del segundo al cuarto lugar, según la región estudiada; este patrón de uso se ha observado en diferentes partes del mundo.

El hecho de que el sistema digestivo y respiratorio ocupan un lugar preponderante en esta categorización y considerando que las enfermedades que se encuentran entre las más frecuentes son transmisibles e infecciosas, entonces determina el patrón de selección y uso tradicional de las plantas y fundamenta farmacológicamente su posible efecto antimicrobiano, lo que representa un soporte a la idea del potencial que tienen las plantas como fuente de sustancias activas en microorganismos y de que efectivamente representan una alternativa viable en la búsqueda de nuevos productos antimicrobianos.

Antecedentes

La exploración del potencial antimicrobiano de las plantas la iniciaron Mitscher *et al.*, (1972) y Mitscher (1979) lo que dio origen a una línea de investigación en diferentes países que ha consistido en seleccionar especies de plantas medicinales y exponer varias cepas de bacterias o una sola cepa a los extractos obtenidos de esas plantas para evaluar la inhibición del crecimiento bacteriano. El resultado es que hasta ahora permite reconocer a las plantas por su actividad antimicrobiana dado por su contenido en terpenoides, fenoles, alcaloides y otras sustancias (Cowan *et al.*, 1999; Hammer *et al.*, 1999; Iwu *et al.*, 1999). Estos trabajos se llevan a cabo en Sudán (Awatif *et al.*, 2001), en el Caribe (Caceres *et al.*, 1990), en Brasil (Alves *et al.*, 2000), Cuba (Hernández Díaz y Rodrigues Jorge, 2001) y México (Hernández *et al.*, 2003), entre otras regiones.

Justificación

Las infecciones respiratorias agudas representan un problema de salud mundial, nacional y estatal (INEGI, 2006). Uno de los principales microorganismos asociados a estas enfermedades, es *S. aureus* patógeno emergente, en ocasiones multirresistente, cuyas infecciones se comportan como enfermedades que se han incrementado rápidamente cubriendo mayores extensiones geográficas (Cruz *et al.*, 2006); Ante esta situación es necesario intensificar la búsqueda de métodos más eficaces para atender este tipo de afecciones.

La medicina tradicional ofrecen alternativas de tratamiento para las infecciones respiratorias, en particular las plantas medicinales (Martínez, 2000). Para estos problemas existen diferentes soluciones y una de estas es tomar en cuenta el conocimiento botánico tradicional que tienen algunas poblaciones como la del estado de Hidalgo. En este estado se ha reportado el uso de 461 especies de plantas medicinales y las que son empleados para el sistema respiratorio ocupan el tercer lugar (Pérez Escandón *et al.*, 2003). Estas cifras indican la importancia que tiene la flora medicinal para la atención de dichos problemas de salud, que prevalecen en la región y que están catalogados como “Infecciones Respiratorias Agudas” que como ya se mencionó ocupan una de las primeras causas de enfermedad (SSA, 2006).

Algunas regiones del estado de Hidalgo no han sido estudiadas desde el punto de vista etnobotánico, tampoco se ha evaluado las propiedades farmacológicas de la gran mayoría de las plantas medicinales registradas, en especial sus efectos antibacterianos. Sin embargo los resultados obtenidos en los escasos trabajos llevados a cabo en la entidad son una evidencia de que la flora estatal es una fuente potencial de antimicrobianos. (Villagómez-Ibarra *et al.*, 2001).

Es importante conocer el tipo de plantas se utilizadas en las comunidades para tratar infecciones respiratorias y evaluar sus propiedades antimicrobianas, para reunir evidencias de que las plantas son o no de utilidad para ayudar a la resolución de problemas frecuentes de salud. Además es necesario verificar que las plantas medicinales con sus principios activos, son una alternativa al uso de los antibióticos de origen microbiano y de la resistencia que han generado. Este trabajo se inscribe en esta línea, para realizarlo se propuso seleccionar un municipio de Hidalgo con alta incidencia de “Infecciones Respiratorias Agudas” y una de sus comunidades con el fin de hacer una aproximación acerca de la utilidad de la flora local en relación al problema de salud prevalente en el área. A través de la evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos de las plantas medicinales de interés, se eligió a *Staphylococcus aureus* como organismo de prueba, bajo la consideración de que por ser una de las bacterias

frecuentemente aisladas en las “Infecciones Respiratorias Agudas”, y resulta ser un buen indicador de la eficiencia de las plantas para tratar el conjunto de infecciones que afectan el sistema respiratorio.

Objetivos general

Documentar el uso de plantas medicinales para el tratamiento de “Infecciones Respiratorias Agudas” en una comunidad de un municipio de Hidalgo con alta incidencia de estos padecimientos y evaluar la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de estas especies.

Metodo

Selección del área de estudio

Para tener una mejor idea acerca de la distribución estatal de la incidencia de las “Infecciones Respiratorias Agudas” se solicitó información en los Servicios Coordinados de Salud del estado relativa al número de casos de estas infecciones por municipio. Se proporcionó información relativa al año 2005 y con estos datos y tomando en cuenta la población total por entidad municipal, se calculó el porcentaje de población afectada por municipio. Luego se elaboró un mapa señalando los municipios del estado en donde más del 50% de la población se vio afectada por las “Infecciones Respiratorias Agudas”. Para realizar este estudio se seleccionó a uno de estos municipios y luego a una de sus comunidades (SSA, 2003).

Entrevistas

Para determinar cuáles son las plantas que se utilizan en la comunidad de estudio seleccionada para el tratamiento de “Infecciones Respiratorias Agudas” se hicieron entrevistas estructuradas por medio de un cuestionario previamente elaborado al 10% de los habitantes de esta comunidad, la cual es una muestra representativa de la población total. (Alexiades, 1996).

También se preguntó cuáles son las plantas que utilizan para el tratamiento de la tos, bronquitis y otros problemas respiratorios; los nombres comunes, características de la planta, si es una hierba, arbusto, árbol, enredadera, en qué lugar crece, qué parte de la planta se emplea, forma de preparación y de administración, época de floración, recolecta y observaciones.

Colectas e identificación del material vegetal

Se realizaron salidas de campo en compañía de habitantes de la comunidad para recolecta por triplicado las muestras de las especies de plantas mencionadas en

las entrevistas las cuales fueron herborizadas e identificadas por medio de claves (Rzedowski y Rzedowski, 2001). Un duplicado de los ejemplares se depositó en el herbario del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Cada colecta fue geoposicionada para tener una referencia del lugar y tipo de vegetación y poder procesar los datos en el programa de Sistemas de Información Geográfica (ArcView Gis 3.2). También se colectaron muestras de alrededor de 0.5 kg de las partes vegetales utilizadas para ser utilizadas en la obtención de los extractos.

Obtención de los extractos etanólicos

Las muestras vegetales recolectadas se secaron a temperatura de laboratorio (18 – 23°C), posteriormente fueron troceadas con unas tijeras de podar. Para realizar las extracciones en un Soxhlet se colocaron 70 gr. de cada muestra con 200 ml de etanol absoluto durante 8 hrs. El volumen de los extractos se redujo por evaporación en un rotavapor, la concentración de cada extracto se calculó pesando el residuo obtenido después de evaporar una muestra de volumen conocido.

Ensayos de actividad antibacteriana en *S. aureus* ATCC 6538 y cepas nativas

Para determinar la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de las especies de plantas registradas se hicieron antibiogramas por el método de difusión en agar. Esta prueba consiste en inocular un cultivo bacteriano sobre la superficie del agar Müeller-Hinton y colocar discos de papel filtro impregnados con extractos de las plantas (Díaz *et al.*, 2003). En los dos primeros ensayos se utilizó *S. aureus* ATCC 6538 y nativa 1 mantenidas en refrigeración en agar Müeller-Hinton.

Para preparar el inóculo del cultivo se tomó una muestra con un asa microbiológica y se sembró por estría en cajas de Petri con agar Müeller-Hinton, las cajas se incubaron a 37°C durante 18 hrs. Al pasar este tiempo se seleccionaron de tres a cuatro colonias que se tomaron con el asa microbiológica y se sembraron en 25 ml de Caldo de Soya Trypticase, este cultivo se incubó a 37°C durante 24 hrs. Al terminar el tiempo de incubación se determinó la turbidez del cultivo midiendo la absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro UV-Vis Janway 6405, la turbidez se ajustó con el medio líquido de Caldo Soya Trypticase esterilizada al patrón 0.5 de la escala de McFarland que equivale a una concentración de 1.5×10^8 ufc/ml (unidades formadoras de colonias por mililitro) en la cual el cultivo está en una fase de crecimiento exponencial, la escala de McFarland es muy común en análisis clínicos microbiológicos (Díaz *et al.*, 2003).

El inóculo se sembró por estría en una caja de Petri de 6 cm de diámetro con agar Müeller-Hinton, que es el medio de cultivo recomendado por la FDA (Food and Drug Administration). Para las pruebas de sensibilidad de antibacterianos, un

se sumergió un hisopo previamente esterilizado en el inóculo, presionándolo en las paredes del recipiente para eliminar el exceso de líquido y se aplicó sobre el agar en todas las direcciones. Cada extracto vegetal se preparó en seis concentraciones, 25, 50, 100, 200, 400 y 800 $\mu\text{g/ml}$: De cada concentración se aplicaron 20 μl en un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro esterilizado; también se preparó un testigo positivo con una solución de tetraciclina 30 $\mu\text{g/ml}$, sustancia que actúa como bacteriostático en cepas Gram positivas y Gram negativas (Rodríguez *et al.*, 1998) y un testigo negativo con 20 μl de etanol. Los discos se secaron dentro del gabinete de seguridad biológica y se colocaron en un arreglo circular sobre la superficie del agar, el disco del testigo positivo quedó en el centro de la caja. Cada caja se consideró una réplica preparando tres réplicas por extracto. Las cajas se incubaron a 37°C durante 18-24 hrs, al cabo de ese tiempo se observó si alrededor de cada disco se había formado una zona de inhibición del crecimiento bacteriano y de ser así, el diámetro de ésta se midió con una regla graduada en milímetros. En estos ensayos se seleccionaron algunas de las especies de plantas más activas y sus extractos se ensayaron a una sola concentración de 800 $\mu\text{g/ml}$ en las cepas de *S. aureus* ATCC y las cinco nativas utilizando este mismo método.

Correlación actividad antibacteriana vs frecuencia de mención

Para determinar si las especies de plantas con mayor frecuencia de mención habían sido más activas en las cepas de *S. aureus* ATCC y nativa 1, los datos se analizaron con la prueba de correlación de Pearson con el programa SPSS 15.0.

Exudados faríngeos y cultivo de esputo para obtener cepas de *S. aureus* nativas

Para realizar esta parte del trabajo se pidió el apoyo a cinco personas de la comunidad que estuvieran enfermas de las vías respiratorias a quienes se les tomó una muestra de esputo ya que es la muestra más utilizada para el diagnóstico de infecciones del aparato respiratorio tanto superior como el inferior. Las muestras se tomaron en las primeras horas del día estando las personas en ayunas. Antes de la recolección las personas se enjuagaron la boca con solución salina o agua templada para reducir al mínimo la contaminación con saliva, luego en un recipiente estéril se recogió el esputo tras una expectoración profunda. Las muestras se colocaron en una hielera e inmediatamente se transportaron al laboratorio de etnobotánica, puesto que una permanencia breve a temperatura ambiente puede provocar la pérdida de algunos de los agentes etiológicos de infecciones del aparato respiratorio, por sobrecrecimiento de la microbiota saprofita (Díaz *et al.*, 2003). A partir de estas muestras se obtuvieron cinco cepas nativas de *Staphylococcus aureus*.

Pruebas bioquímicas para identificación de *Staphylococcus aureus*

De cada esputo se tomó una muestra con un hisopo estéril y con éste se hizo un frotis en agar 110 selectivo para el aislamiento de *Staphylococcus*, el cual se incubó a 37°C durante 24 hrs. Al cabo de este tiempo se seleccionó una colonia con la que se procedió a realizar la prueba de la coagulasa que permite diferenciar *Staphylococcus aureus*, que es coagulasa, positivo. Otras especies del género *Staphylococcus*, son coagulasa negativos. Sólo *Staphylococcus intermedius* y *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* dan positiva esta prueba, aunque estas especies son de origen animal y no se aíslan de seres humanos (Díaz *et al.*, 2003).

Esta prueba se realiza siguiendo la técnica en tubo, que detecta coagulasa libre y ligada. Uno de los posibles mecanismos de acción de la coagulasa se basa en la reacción de una enzima extracelular bacteriana, la procoagulasa, con un factor activador presente en el plasma de conejo similar a la protombina. Esta reacción da lugar a un complejo análogo a la trombina, la coagulasa propiamente dicha, que a su vez reacciona con el fibrinógeno dando lugar a un coágulo de fibrina en ausencia de Ca. (Díaz *et al.*, 2003).

Para hacer la prueba de la coagulasa en tubo de ensayo se colocaron 0.5 ml de EDTA (Ácido Etilendiamino Tetraacético) en donde se resuspendió la colonia aislada de los cultivos de esputo, los tubos se incubaron a 37°C y se observaron a 2 y 4 hrs. La prueba es positiva para *S. aureus* si se toma un coágulo que no puede ser resuspendido por agitación. En la pruebas negativas el medio continúa líquido (Díaz *et al.*, 2003).

Determinación de la sensibilidad de *S. aureus* a antibióticos

Esta prueba también utilizó el método de difusión en agar. Determinó la sensibilidad de una cepa de *S. aureus* ATCC y de las cinco cepas nativas ante la presencia de siete antibióticos convencionales, los cuales son recomendados por la FDA y el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) de los Estados Unidos de América para el tratamiento de infecciones provocadas por bacterias Gram Positivas como *S. aureus*. Cada antibiótico se probó a la concentración que recomienda la FDA y la NCCLS, los antibióticos y las concentraciones en µg/ml entre paréntesis fueron: ampicilina (10) dicloxacilina (10), cefotaximina (30), cefuroxima (30) ceftriaxona (10) sulfametoxazol (30), bencipenicilina (10). Estos antibióticos fueron proporcionados en forma de medicamento por la Delegación del Instituto Mexicano del Seguro Social, IMSS. Estos medicamentos se prepararon en solución acuosa a diferentes concentraciones tales que en 20 µl tuvieran la cantidad deseada y se colocaron en los discos que posteriormente fueron secados a temperatura ambiente y puestos sobre el agar Müeller-Hinton. Las cajas se incubaron a 37°C durante 18-24 hrs, al cabo de ese tiempo se observó si alrededor de cada disco se había formado una zona de inhibición del

crecimiento bacteriano y de ser así, el diámetro de ésta se midió con una regla graduada en milímetros. Estos resultados se interpretaron dentro de categorías de sensibilidad, de acuerdo con los diámetros de las zonas de inhibición producidas por estas sustancias las cuales se utilizan como criterio en las pruebas de análisis clínicos. Las categorías se muestran en la Tabla 1 y fueron tomadas de (Díaz *et al.*, 2003). Esta prueba se hizo para determinar la resistencia de las cepas de *S. aureus* nativas y comparar los resultados con los obtenidos con los extractos.

Tabla 1. Interpretación de la zona de inhibición de los antibacterianos más utilizados a categorías de sensibilidad.

Antibiótico ($\mu\text{g}/\text{disco}$)	Diámetro de la zona de inhibición mm			
	R	I	MS	S
Ampicilina (10)	<28	-	-	>29
Dicloxacilina (10)	<28	-	-	>29
Cefotaxima (30)	<14	-	15-22	>23
Cefuroxima (30)	<14	-	15-22	>23
Ceftriaxona (10)	<14	-	15-22	>23
Sulfametoxazol (30)	<10	11-15	-	>16
Bencipenicilina (10)	<14	15.16	-	>17

Resistente (R), intermedio (I), moderadamente sensible (MS) o sensible (S)

Resultados

Área de estudio seleccionada

El análisis de los datos en el estado de Hidalgo permitió detectar en el año 2005 para diez municipios en los que más del 50% de la población resultó afectada con “Infecciones Respiratorias Agudas”. A estos se les clasificó como regiones con alta incidencia en estos problemas de salud. En esta categoría los municipios con la menor incidencia fueron Eloxochitlán y Mineral de la Reforma con 50.1 y 50.8% respectivamente; Molango tuvo la mayor incidencia con 59%, seguido por Metepec con 58.8% y Mixquiahuala con 57.1%; municipios como Tepeapulco tuvieron una incidencia intermedia, con un 55.7%. Este último fue el municipio que se eligió para realizar este estudio por su cercanía a Pachuca para

poder transportar con más facilidad el material vegetal y bacteriano. Dentro del municipio de Tepeapulco se seleccionó a la comunidad de Los Cides, que es una de las comunidades con alta incidencia de “Infecciones Respiratorias Agudas”. La decisión para escoger este sitio además se basó en que hubo interés y buena disposición de las autoridades locales y de los habitantes para efectuar el trabajo.

Los Cides es una comunidad perteneciente a Tepeapulco, Hidalgo; está ubicada al pie del cerro El Xihuingo (Figura 1) y se localiza a unos 14 km al NE de la cabecera municipal; entre las coordenadas 19°48'18" latitud norte y 98°31'25" longitud oeste. De acuerdo con los datos del XII Censo General de Población y Vivienda, la localidad cuenta con una población de 1080 personas. Durante los recorridos de campo se definieron los tipos de vegetación que predominan en la comunidad, siendo estos el bosque de pino-encino, bosque de encino y matorral xerófilo (Figura 2).

LOS CIDES



Figura 1. Ortofoto de la comunidad de Los Cides, en donde se muestra su ubicación, poligonal y camino de recolecta.

UBICACION DE PLANTAS MEDICINALES

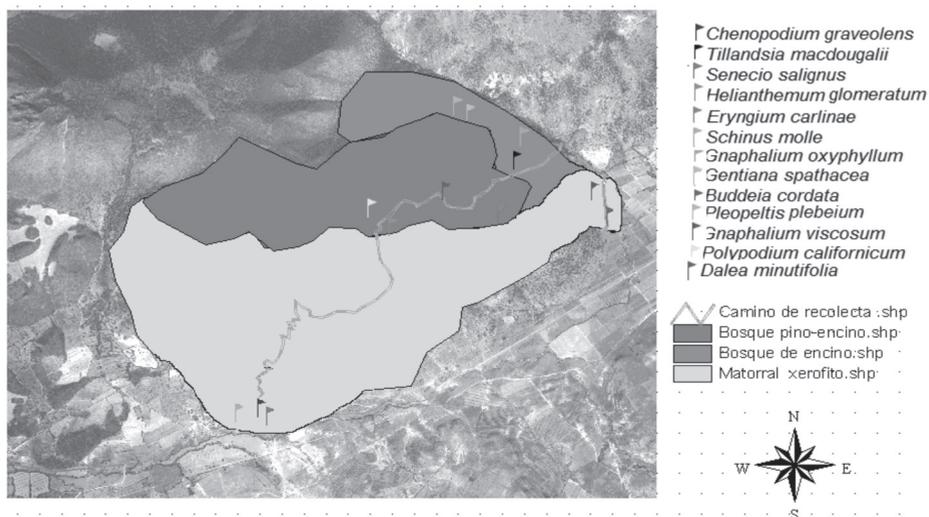


Figura 2. Ubicación de las plantas medicinales en los 3 distintos tipos de vegetación que se localiza cerca de Los Cides.

Información obtenida en las entrevistas acerca de plantas utilizadas en Los Cides para Infecciones Respiratorias

Con base en la información obtenida al analizar cada uno de los cuestionarios se encontró que en la comunidad de Los Cides utilizan trece especies de plantas para tratar infecciones respiratorias. En la tabla 2 se presenta la lista de estas especies de plantas con información relativa al nombre científico, nombre común; forma de preparación, parte utilizada y número de menciones. Se observó que todas las especies de plantas se utilizan en forma de infusión, que las ramas son las partes vegetales más usadas, seguidos de las flores y de los frutos (Figura 3); también se puede observar que *Chenopodium graveolens* fue la especie con más menciones (77 menciones), seguido por *Gnaphalium viscosum* (66) y después *Polypodium plebeium* (57), seis especies tuvieron entre 5 y 20 menciones y tres especies se mencionaron una sola vez, éstas fueron *Senecio salignus*, *Schinus molle* y *Gentiana spathacea*, en la Figura 4 se presenta la frecuencia de mención de estas plantas.

Tabla 2. Lista de plantas utilizadas tradicionalmente para tratar infecciones respiratorias en Los Cides, Tepeapulco, Hidalgo.

Especies	Nombre común	Forma de preparación	Parte que se utiliza	Número de Menciones
<i>Chenopodium graveolens</i> Willd.	Epazote de zorrillo	Infusión	Ramas	77
<i>Tillandsia macdougallii</i> L.B. Smith	Flor de nochebuena	Infusión	Flor	19
<i>Senecio salignus</i> DC.	Jarilla	Infusión	Flor, ramas	1
<i>Helianthemum glomeratum</i> Lag.	Santa Marta	Infusión	Ramas	20
<i>Eryngium carlinae</i> Delar	Hierba del sapo	Infusión	Ramas, flor	5
<i>Schinus molle</i> L.	Pirul	Infusión	Frutos	1
<i>Gnaphalium oxyphyllum</i> DC. var. <i>oxyphyllum</i>	Hierba del puerco	Infusión	Ramas	3
<i>Gentiana spathacea</i> H.B.K.	Flor de hielo	Infusión	Flor, ramas	1
<i>Buddleia cordata</i> H.B.K. ssp. <i>cordata</i>	Tepozán	Infusión	Ramas	5
<i>Pleopeltis polylepis</i> (Roem. ex Kze.) Moore	Hierba de la cierva	Infusión	Ramas	11
<i>Gnaphalium viscosum</i> H.B.K.	Gordolobo	Infusión	Flor, ramas	66
<i>Polypodium plebeium</i> Schldtl.	Canahuala	Infusión	Ramas	57
<i>Dalea minutifolia</i> (Rydb.) Harms	Hierba de la serpiente	Infusión	Ramas	10

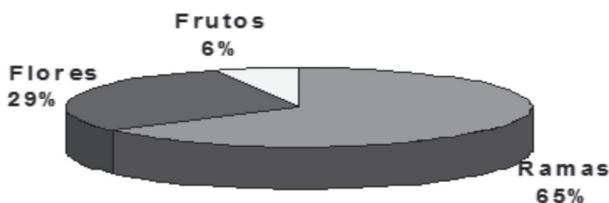


Figura 3. Frecuencia de uso de las distintas partes de las plantas utilizadas en Los Cides para el tratamiento de infecciones respiratorias.

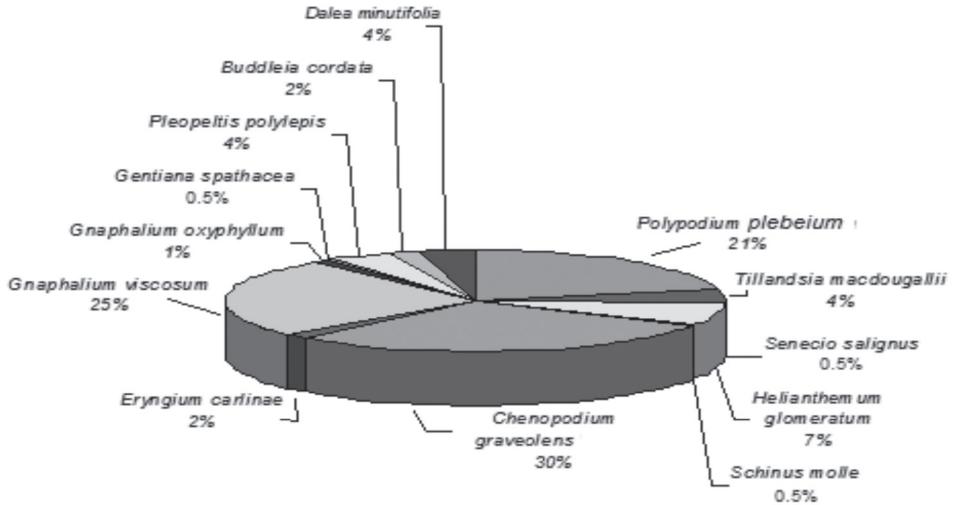


Figura 4. Frecuencia de mención de las plantas utilizadas en Los Cides para el tratamiento de infecciones respiratorias.

***Chenopodium graveolens* Willd. (Epazote de zorrillo) (Figura 5).**

Características botánicas: Hierba anual, erguida, glandulosa, muy olorosa, de 20 a 80 cm de alto; tallo simple o ramificado, a veces rojizo; hojas ovadas u oblongas, de 2 a 6 cm de largo por 1 a 3 cm de ancho, flores sésiles en la bifurcación de las ramas laterales y en una sola terminal en el extremo de cada una de las ramas laterales (Rzedowski y Rzedowski, 2001)

Ubicación: Ampliamente distribuida en la parte baja y media del cerro de Xihuingo, en matorral xerófilo, a una altitud de 2550 m.

Uso medicinal y modo de empleo: Para la tos y la garganta irritada. Se toma una ramita con hojas y tallos, se hace en infusión, se toma por las noches ya que se considera una planta caliente, esta planta se puede combinar con gordolobo.



Figura 5. *Chenopodium graveolens* Willd

***Tillandsia macdougallii* L. B. Smith (Flor de noche buena) (Figura 6).**

Características botánicas: Planta acaule, de 15 a 20 (40) cm de alto, incluyendo la inflorescencia: hojas numerosas, arrosetadas, de 10 a 25 cm de largo, inflorescencia simple y polística, elipsoide, de 8 a 17 (20) cm (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Ubicación: Se encuentra en la parte alta del cerro el Xihuingo en el bosque de encino a una altitud de 2729, esta planta crece como epífita de árboles de encino.

Uso medicinal y modo de empleo: Para la gripe, tos, dolor de pecho y bronquitis. La parte que se utiliza es la flor, la cual se machaca y se deja secar y esta se hace en infusión se puede tomar por las mañanas y por las noches.



Figura 6. *Tillandsia macdougallii* L. B. Smith

***Senecio salignus* DC. (Jarilla) (Figura 7).**

Características botánicas: Arbusto de 1 a 2 m de alto, glabro a ligeramente tomentuloso, comúnmente bastante ramificado y algo frondoso, hojas sésiles o subpecioldas, angostamente lanceoladas u oblongo-lanceoladas, de 1.5 a 9 cm de largo; inflorescencia paniculado-racemosa; cabezuelas radiadas, bastantes numerosas, de 7 a 10mm de alto (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Ubicación: Ampliamente distribuida en las faldas del cerro el Xihuingo, en el Matorral xerófilo, también se encuentra en terrenos baldíos de la localidad a una altitud de 2517 msnm.

Uso medicinal y modo de empleo: Para dolor de la garganta. Se toma una pequeña rama con flores y se hace en infusión, se hacen gárgaras y el líquido se arroja, se puede hacer por las mañanas y por las tardes, esto se hace con la infusión caliente.



Figura 7. Senecio salignus DC.

***Helianthemum glomeratum* Lag. (Santa Marta) (Figura 8).**

Características botánicas: Planta delgada, perenne, algo subfruticosa, erecta, de 15 a 50 (60) cm de alto, hojas alternas, pero a menudo aglomeradas en los extremos de las ramillas tiernas, pecíolos de 0.5 a 1 mm de largo, flores por lo general dimórficas (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Ubicación: Se encuentra en la parte alta del cerro el Xihuingo a una altitud de 2996 m, se encontró en bosque de pino-encino, principalmente en zonas abiertas.

Uso medicinal y modo de empleo: Para la gripe tos y dolor de estómago. Se prepara en infusión los tallos y las hojas, se debe tomar tres veces al día en caso de tos y para el dolor de estómago se toma antes de cada comida o cuando se presenta el dolor.



Figura 8. Helianthemum glomeratum Lag.

***Eryngium carlinae* Delar. f. (Hierba del sapo) (Figura 9)**

Características botánicas: Planta perenne, glabra, por lo general baja, acaule, a veces caulescente y entonces decumbrente a erecta, de 5 a 50 cm de alto, hojas basales en rosetas densa, sobre pecíolos alados, envainadores en la base, hasta de 2 cm de largo, inflorescencia cimosa, en ocasiones repetidamente ramificada, cabezuelas pedunculadas, de color azul, violeta o blancas (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Ubicación: Distribuida entre 2925 y 3000 m de altitud, en bosque de encino-pino.

Uso medicinal y modo de empleo: Para calmar la tos, dolor de estómago y diarrea. Se toma en infusión las flores y las hojas, se puede tomar como agua de tiempo.



Figura 9. *Eryngium carlinae* Delar. f.

***Schinus molle* L. (Pirul) (Figura 10).**

Características botánicas: Árbol perennifolio, hasta de 15 m de alto, muy ramificado, ramas colgantes, ramillas y brotes glabrescentes; hojas imparipinnadas, de 10 a 30 cm de largo, flores unisexuales; pétalos glabros, verde-amarillentos en las flores masculinas, verde-blanquecinos en las femeninas fruto en forma de drupa, pequeño, carnososo durante su desarrollo, seco en la madurez y de color rojo (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Ubicación: Ampliamente distribuidos en matorral xerófilo, principalmente en las zonas bajas del cerro el Xihuingo, se encontró a un altitud de 2520 m.

Uso medicinal y modo de empleo: Para la bronquitis, tos y gripa. La parte que se utiliza son los frutos maduros (rojos) se pone a hervir una pequeña ramita con los frutos, y se toma por las mañanas, y por las noches solamente media taza.



Figura 10. *Schinus molle* L.

***Gnaphalium oxyphyllum* DC. var. *oxyphyllum* (Hierba del puerco) (Figura 11).**

Características botánicas: Hierba anual o perenne hasta 60 cm de alto, hojas en roseta basal y caulinares o solamente caulinares, la roseta basal generalmente seca e inconspicua durante la floración (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Ubicación: Ampliamente distribuida en la zona montañosa más húmeda del cerro Xihuingo (norte) en bosques de encino, se encontró en altitud de 2707 m.

Uso medicinal y modo de empleo: Para la tos, el cáncer, se utiliza la planta en forma de infusión, y se toma por las noches o cuando se presentan molestias.



Figura 11. *Gnaphalium oxyphyllum* DC. var. *oxyphyllum*.

***Gentiana spathacea* H.B.K. (Flor de hielo) (Figura 12).**

Características botánicas: Planta herbácea perenne, ascendente o erecta, hasta de 1 (2) m de alto, hojas sésiles, lanceoladas a anchamente ovadas, hasta de 8 cm de largo y 3 cm de ancho, redondeadas a acuminadas en el ápice, flores densamente agrupadas en conjuntos cimosos bracteados terminales y a menudo también solitarias o por pocas en las axilas de la hojas superiores (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Ubicación: Distribuida en la parte montañosa de la localidad Los Cides, principalmente en el bosque de pino- encino.

Uso medicinal y modo de empleo: Para tratar problemas como la gripe, y tos. La planta se toma en infusión, tanto las hojas como la flor.



Figura 12. *Gentiana spathacea* H.B.K.

***Buddleia cordata* H.B.K. ssp. *cordata* (Tepozán) (Figura 13).**

Características botánicas: Planta con el envés de las hojas provisto de pelos estrellados aplicados y pelos estrellados laxos, grandes, candelabriformes; corola amarillenta, generalmente con un toque anaranjado en la garganta, flores blancas o marillentas, campanuladas; cáliz tomentoso, coroloa de 3 a 4 mm de largo con lóbulos más largos que el tubo (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Ubicación: Se encuentra distribuida en matorral xerófilo de la zona

Uso medicinal y modo de empleo: Para la gripe, tos, reumas e insomnio. Se toma en infusión de las hojas las cuales se tienen que dejar secar, se puede tomar a cualquier hora del día.



Figura 13. *Buddleia cordata* H.B.K. ssp. *cordata*

***Pleopeltis polylepis* (Roem. ex Kze.) Moore (Lengua de la cierva) (Figura 14).**

Características botánicas: Planta epífita o rupícola, con rizoma cespitoso de 3 mm de diámetro, con escamas basipeltadas, deltoide-ovadas de 2 a 3.5 mm de largo por 0.5 a 1 mm de ancho, ápice agudo con el margen entero a ligeramente eroso, fronde de 6 a 30 cm de largo, peciolo 1/5 a 1/3 más pequeño que la lámina, haz con escamas peltadas, escamas del envés densas, imbricadas. (Arreguin-Sánchez *et al.*, 2004)

Ubicación: Se distribuye ampliamente en la parte norte del cerro el Xihuingo, en bosque de encino, principalmente en las partes más húmedas del bosque, se encontró en una altitud de 2719 m.

Uso medicinal y modo de empleo: Se prepara en forma de infusión para el dolor de pecho y tos. Se utiliza toda la planta.



Figura 14. *Pleopeltis polylepis* (Roem. ex Kze.) Moore

***Gnaphalium viscosum* H.B.K. (Gordolobo) (Figura 15).**

Características botánicas: Hierba anual o bianual de 20 a 80 cm de alto, tallos simples o ramificados, densamente hojosos; hojas estrechamente sagitadas, inear-lanceoladas, o raras veces oblongeoladas, de 1.5 cm de largo y de 1 a 5mm de ancho; inflorescencia glomerular simple o corimbosa; cabezuelas anchamente acampanadas (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Ubicación: Especie ampliamente distribuida a las faldas del cerro el Xihuingo, en matorral xerófilo y en el lugar de la comunidad, en una altitud de 2557m.

Uso medicinal y modo de empleo: Para el resfriado común y la tos, se prepara en infusión las ramas y las flores, se puede combinar con epazote de zorrillo, se recomienda tomar por las noches ya que es considerada como planta caliente.

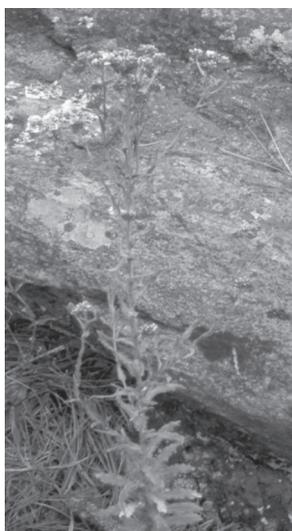


Figura 15. *Gnaphalium viscosum* H.B.K.

***Polypodium plebeium* Schltdl. (Calaguala) (Figura 16).**

Características botánicas: Plantas terrestres o epifitas, con escamas lineares, muy esparcidas sobre la lámina, menores de 1mm de largo y el margen entero a levemente ondulado, esporas monoletes, vista proximal de 40 a 43 μ m de ancho, vista lateral de 41 a 43 μ m de largo por 30 a 32 μ m de profundidad. (Arreguin-Sánchez *et al.*, 2004).

Ubicación: Esta especie se distribuye en la parte norte del cerro Xihuingo, principalmente bajo las copas de árboles de encinos y pinos, se encontró a una altitud de 3000 m.

Uso medicinal y modo de empleo: Para calmar la tos, resfrió y pulmonía. Se toma en infusión, sola o con gordolobo.



Figura 16. *Polypodium plebeium* Schlttdl.

***Dalea minutifolia* (Rydb.) Harás (Hierba de la serpiente) (Figura 17).**

Características botánicas: Plantas arbustiva, de 50 a 80 cm de alto; tallo ramificado, ramas glabras, densamente glanduloso-tuberculadas, hojas de 5 mm de largo, raquis glabro, foliolos 7 a 9, oblongoelados u obovados, de 2mm de largo por 1 mm de ancho; flores dispuestas en espigas subsésiles terminales, de 1 a 1.5 cm de largo por 1 mm de ancho (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Ubicación: Se encontró en hábitat de bosque de pino-encino, en la parte noreste del cerro Xihuingo, en una altitud de 2974m.

Uso medicinal y modo de empleo: Para la tos, gripa se toma en infusión y para las mordeduras de una serpiente se aplica en la parte afectada.



Figura 17. *Dalea minutifolia* (Rydb.)

En cuanto a la distribución de estas especies por tipo de vegetación, se encontró que *S. salignus*, *Ch. graveolens*, *S. molle*, *G. viscosum* y *B. cordata* crecen principalmente en matorral xerófilo, en tanto que *T. macdougallii*, *H. glomeratum*, *E. carlinae*, *G. oxyphyllum*, *G. spathacea*, *P. polylepis*, *P. plebeium* y *D. minutifolia* crecen en bosque de encino y pino- encino. En la tabla 3 se presentan los datos de colecta y de los tipos de vegetación.

Tabla 3. Datos de los sitios de colecta de las especies de plantas utilizadas en Los Cides para infecciones respiratorias.

Especies	Coordenadas		Altitud Msnm	Tipo de vegetación
	Norte	Oeste		
<i>Chenopodium graveolens</i>	19°48'19.57"	98°31'12.37"	2500	Matorral xerófilo
<i>Tillandsia macdougallii</i>	19°49'40.52"	98°30'08.73"	2729	Bosque encino
<i>Senecio salignus</i>	19°48'16.32"	98°31'10.46"	2517	Matorral xerófilo
<i>Helianthemum glomeratum</i>	19°49'06.99"	98°30'46.35"	2996	Bosque pino- encino
<i>Eryngium carlinae</i>	19°49'15.32"	98°30'17.60"	2925	Bosque pino- encino
<i>Schinus molle</i>	19°48'21.02"	98°31'15.85"	2520	Matorral xerófilo
<i>Gnaphalium oxyphyllum</i> var. <i>oxyphyllum</i>	19°49'47.48"	98°30'17.60"	2707	Bosque encino
<i>Gentiana spathacea</i>	19°49'52.58"	98°29'34.35"	2719	Bosque encino
<i>Buddleia cordata</i> ssp. <i>cordata</i>	19°49'03.79"	98°29'34.35"	2546	Matorral xerófilo
<i>Pleopeltis polylepis</i>	19°49'52.58"	98°29'34.35"	2719	Bosque encino
<i>Gnaphalium viscosum</i>	19°49'52.58"	98°29'34.88"	2557	Matorral xerófilo
<i>Polypodium plebeium</i>	19°49'11.02"	98°30'47.91"	3002	Bosque pino- encino
<i>Dalea minutifolia</i>	19°49'17.10"	98°30'29.14"	2974	Bosque pino- encino

Ensayos de actividad antibacteriana en *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Al probar los extractos etanólicos de las trece especies de plantas en *S. aureus* ATCC 6538 se encontró que en once de los extractos, (76.9%) produjeron zonas de inhibición del crecimiento de esta bacteria en por lo menos la concentración más alta probada. Los resultados se presentan en la tabla 4 en la que también se observa que cuatro extractos presentaron inhibición en todas las concentraciones ensayadas. El extracto de la especie que produjo la mayor zona de inhibición fue el de *G. oxyphyllum* var. *oxyphyllum*, en la concentración más alta de 800 mg/ml, presentó una zona de inhibición de 23.8 mm, similar a la de la tetraciclina, le siguieron en actividad *D. minutifolia*, *E. carlinae* y *G. viscosum*. El extracto de *S. molle* produjo inhibición a partir de 50 µg/ml, seguido por *S. salignus*, *G. spathacea* y *P. polylepis*, *P. plebeium* y *T. macdougallii* exhibieron inhibición sólo en la concentración más alta; los extractos de dos de las especies de plantas no fueron activos, los de *B. cordata* y *H. glomeratum*.

Tabla 4. Actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de las especies de plantas ensayadas en *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, las cifras son el promedio de tres réplicas de los diámetros de las zonas de inhibición (mm).

Especies	Extracto µg/ml						Tetraciclina
	25	50	100	200	400	800	
<i>Chenopodium graveolens</i>	-	-	-	-	8.0	12.3	19.0
<i>Tillandsia macdougallii</i>	-	-	-	-	-	14.0	24.3
<i>Senecio salignus</i>	-	-	-	2.6	8.6	11.0	19.3
<i>Helianthemum glomeratum</i>	-	-	-	-	-	-	22.2
<i>Eryngium carlinae</i>	8.3	9.0	9.6	10.0	12.6	16.6	22.0
<i>Schinus molle</i>	-	8.0	9.0	9.3	12.3	11.3	22.0
<i>Gnaphalium oxyphyllum</i> var. <i>oxyphyllum</i>	12.6	13.6	13.6	14.6	17.6	23.8	25.0
<i>Gentiana spathacea</i>	-	-	-	-	5.3	6.7	22.0
<i>Buddleia cordata</i> ssp. <i>cordata</i>	-	-	-	-	-	-	22.0
<i>Pleopeltis polylepis</i>	-	-	-	-	2.6	8.0	24.0
<i>Gnaphalium viscosum</i>	8.0	8.3	8.9	11.0	14.0	15.0	25.0
<i>Polypodium plebeium</i>	-	-	-	-	-	5.3	20.0
<i>Dalea minutifolia</i>	8.3	9.0	9.6	11.6	12.6	16.6	23.3

- sin inhibición

En la Figura 18 se presentan en forma gráfica los resultados obtenidos en los extractos vegetales en *S. aureus* ATCC 6538 en relación a la determinación del tamaño de las zonas de inhibición. Se observan líneas de tendencia que indican que el efecto inhibitorio del crecimiento bacteriano, medido como el diámetro de las zonas de inhibición, fue proporcional a la concentración de los extractos lo que sugiere que la magnitud de la inhibición es dependiente de la concentración de las sustancias probadas.

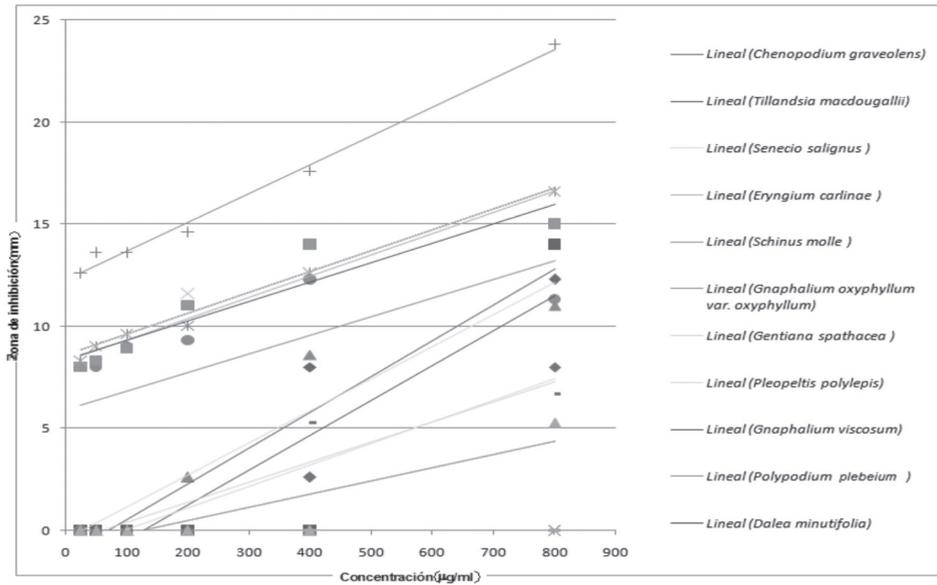


Figura 18. Zonas de inhibición del crecimiento de *S. aureus* ATCC 6538 producidos por los extractos de las especies de plantas estudiadas.

El efecto producido por el extracto de *Gnaphalium oxyphyllum* var. *oxyphyllum* se muestra en la Figura 19, en donde se observa que desde la concentración más baja tuvo un efecto de inhibición en las bacterias y el diámetro de los halos fue creciendo al aumentar la concentración.

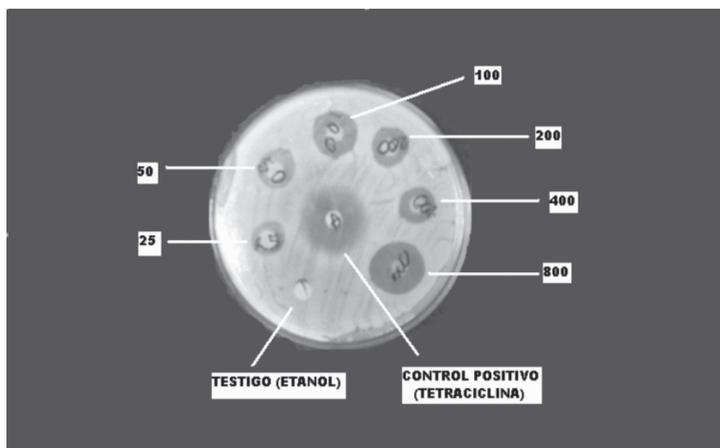


Figura 19. Halos de inhibición causados por el extracto de *Gnaphalium oxyphyllum* var. *oxyphyllum* en *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 a diferentes concentraciones (µg/ml).

Porcentaje del efecto de inhibición en la cepa ATCC

Para calcular el porcentaje del efecto de inhibición relativa (PIR) respecto al control positivo, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ efecto de inhibición} = \frac{\text{X diám. zona inhib. del extracto}}{\text{X diám. zona inhib. control positivo}} \times 100$$

Los resultados se muestran en la tabla 5, se puede observar que ocho de las trece plantas (63.53%) tuvieron más del 50% del efecto de inhibición. *Gnaphalium oxyphyllum* var. *oxyphyllum* tiene un efecto de inhibición de 50.4% a 25 µg/ml y a 800 µg/ml tiene un efecto de 95.2% con respecto al control positivo y *Eryngium carlinae* fue el segundo que obtuvo el porcentaje mayor con respecto al control positivo con 75.45%, a 800, µg/ml seguida por *Chenopodium graveolens* con 64.7% a 800µg/ml. Cuatro plantas (*Schinus molle*, *Eryngium carlinae*, *Gnaphalium viscosum* y *Gnaphalium oxyphyllum* var. *oxyphyllum*) alcanzaron más de 50% a una concentración de 400 µg/ml.

Tabla 5. Porcentaje de inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 con respecto al antibiótico, de los extractos de las especies estudiadas.

Especies	Extracto µg/ml					
	25	50	100	200	400	800
<i>Chenopodium graveolens</i>	-	-	-	-	42.10	64.70
<i>Tillandsia macdougallii</i>	-	-	-	-	-	57.61
<i>Senecio salignus</i>	-	-	-	13.47	44.55	56.99
<i>Helianthemum glomeratum</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Eryngium carlinae</i>	37.70	40.90	43.60	45.50	57.27	75.45
<i>Schinus molle</i>	-	36.30	40.90	42.20	51.36	55.90
<i>Gnaphalium oxyphyllum</i> var. <i>oxyphyllum</i>	50.40	54.40	54.40	58.40	70.40	95.20
<i>Gentiana spathacea</i>	-	-	-	-	19.16	30.40
<i>Buddleia cordata</i> ssp. <i>cordata</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Pleopeltis polylepis</i>	-	-	-	-	10.80	33.30
<i>Gnaphalium viscosum</i>	30.0	33.0	35.60	44.0	56.0	60.0
<i>Polypodium plebeium</i>	-	-	-	-	-	26.5
<i>Dalea minutifolia</i>	35.63	38.62	41.20	49.78	54.07	71.24

- sin inhibición

Pruebas bioquímicas para identificación de *Staphylococcus aureus* (Prueba de la coagulasa)

La prueba de la coagulasa de los cinco cultivos de esputo fue positiva ya que se observó la formación de un coágulo que no se pudo resuspender por agitación (Figura 20).

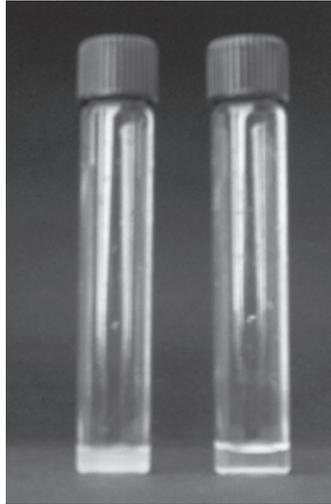


Figura 20. Prueba de la coagulasa, positiva tubo de la izquierda con un coágulo, tubo de la derecha testigo.

Ensayos de actividad antibacteriana en la cepa nativa número 1.

Los resultados de la actividad antibacteriana en la cepa nativa número 1 se muestra en la tabla 6 donde se observa que diez extractos etanólicos de las plantas presentaron zonas de inhibición con distintos diámetros. Los datos obtenidos son el promedio de tres réplicas. El extracto de *Ganaphalium oxyphyllum* var. *oxyphyllum* fue el que presentó la mayor zona de inhibición de 24 mm a la concentración de 800 µg/ml, *Tillandsia macdougallii* fue el segundo extracto con mayor actividad con un zona de inhibición de 14.6 mm a 800 µg/ml seguida por *Dalea minutifolia* con una zona de 14.3 mm con una concentración de 800 µg/ml. *H. glomeratum*, *P. polylepis* y *B. cordata* ssp. *cordata* fueron inactivas.

Tabla 6. Actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de las especies de plantas ensayadas en la cepa nativa número 1 de *Staphylococcus aureus*, las cifras son el promedio de tres réplicas de los diámetros de las zonas de inhibición (mm).

Especies	Extracto µg/ml						Tetraciclina
	25	50	100	200	400	800	
<i>Chenopodium graveolens</i>	-	-	-	-	8.6	9.6	21.0
<i>Tillandsia macdougallii</i>	-	-	-	-	-	14.6	27.0
<i>Senecio salignus</i>	-	-	-	-	8.0	9.0	21.0
<i>Helianthemum glomeratum</i>	-	-	-	-	-	-	22.2
<i>Eryngium carlinae</i>	-	-	-	-	7.3	10.0	14.0
<i>Schinus molle</i>	-	-	-	8.0	8.0	9.0	18.0
<i>Gnaphalium oxyphyllum</i> var. <i>oxyphyllum</i>	13.0	13.0	13.3	14.6	17.8	24.0	25.0
<i>Gentiana spathacea</i>	-	-	-	-	4.6	7.3	28.6
<i>Buddleia cordata</i> ssp. <i>cordata</i>	-	-	-	-	-	-	24.3
<i>Pleopeltis polylepis</i>	-	-	-	-	-	-	21.5
<i>Gnaphalium viscosum</i>	-	-	-	-	10.5	12.0	24.1
<i>Polypodium plebeium</i>	-	-	-	-	-	8.0	18.0
<i>Dalea minutifolia</i>	7.3	7.6	8.6	9.6	10.6	14.3	23.3

sin inhibición

En la figura 21 se presentan en forma gráfica los resultados obtenidos al probar los extractos vegetales en *S. aureus* cepa nativa número 1 en relación a la determinación del tamaño de las zonas de inhibición, se observan líneas de tendencia que indican que el efecto inhibitorio del crecimiento bacteriano, medido como el diámetro de las zonas de inhibición, fue proporcional a la concentración de los extractos lo que sugiere que la magnitud de la inhibición es dependiente de la concentración de las sustancias probadas; también se observa que a 25 mg/ml sólo dos extractos tuvieron actividad, fueron los de *D. minutifolia* y *G. oxyphyllum*.

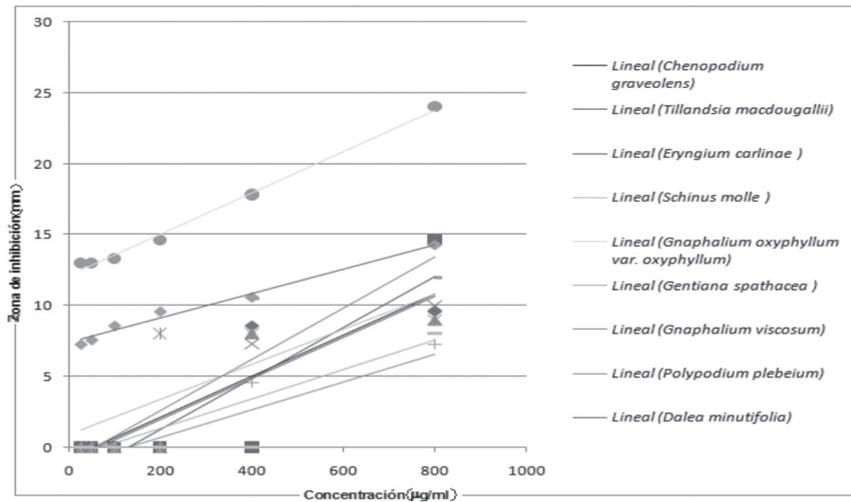


Figura 21. Zonas de inhibición del crecimiento de *S. aureus* cepa nativa número 1 producidos por los extractos de las especies de plantas estudiadas. Líneas de tendencia —.

En la figura 22 se observan las zonas de inhibición del crecimiento de *S. aureus* cepa nativa número 1 causados por el extracto de *Gnaphalium oxyphyllum* var. *oxyphyllum* a diferentes concentraciones. Se puede observar que al incrementar la concentración del extracto, el diámetro de las zonas de inhibición aumenta, mientras que el testigo negativo (con etanol) no presenta ninguna zona de inhibición.

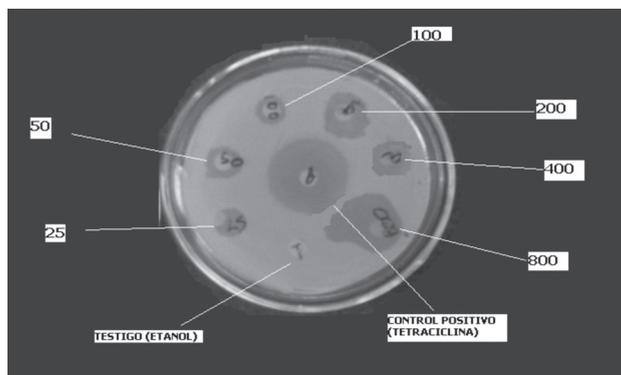


Figura 22. Zonas de inhibición del crecimiento de *S. aureus* cepa nativa número 1 causadas por el extracto de *Gnaphalium oxyphyllum* var. *oxyphyllum*, a diferentes concentraciones en µg/ml.

Porcentaje del efecto de inhibición en la cepa nativa número 1

Se calculó el porcentaje del efecto de inhibición relativa (PIR) respecto al control positivo, con la fórmula ya mencionada. Los resultados se muestran en la tabla 7, donde se puede observar que seis de las trece plantas (46.15%) tuvieron más de 50% del efecto de inhibición. *Gnaphalium oxyphyllum* var. *oxyphyllum* tiene un efecto de inhibición de 53.2% a 50µg/ml y a 800 µg/ml tiene un efecto de 96% con respecto al control positivo, el extracto de *Eryngium carlinae* presentó un porcentaje de inhibición de 71.4% a 800 µg/ml seguida por *Dalea minutifolia* con 61.3% a 800,µg/ml. Dos plantas, *Tillandsia macdougalli* y *Schinus molle*, alcanzaron porcentajes de inhibición de 50% o más a una concentración de 800 µg/ml. Ocho especies presentaron menos de 50% de inhibición.

Tabla 7. Porcentaje de inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* cepa nativa número 1 con respecto al antibiótico, de los extractos de las especies estudiadas.

Especies	Extracto µg/ml					
	25	50	100	200	400	800
<i>Chenopodium graveolens</i>	-	-	-	-	33.10	45.26
<i>Tillandsia macdougallii</i>	-	-	-	-	-	54.00
<i>Senecio salignus</i>	-	-	-	-	38.0	42.8
<i>Helianthemum glomeratum</i>	-	-	-	-	-	40.4
<i>Eryngium carlinae</i>	-	-	-	-	52.14	71.4
<i>Schinus molle</i>	-	36.30	40.90	44.4	44.4	50.0
<i>Gnaphalium oxyphyllum</i> var. <i>oxyphyllum</i>	52.0	52.0	52.2	58.4	71.2	96.0
<i>Gentiana spathacea</i>	-	-	-	-	16.0	25.5
<i>Buddleia cordata</i> ssp. <i>cordata</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Pleopeltis polylepis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Gnaphalium viscosum</i>	30.0	33.0	35.60	44.0	43.5	49.7
<i>Polypodium plebeium</i>	-	-	-	-	-	44.4
<i>Dalea minutifolia</i>	31.3	32.6	36.9	41.2	45.49	61.37

- sin inhibición

Correlación actividad antibacteriana vs. frecuencia de mención

Al determinar la correlación entre la actividad antibacteriana de los extractos y la frecuencia de mención de las especies de plantas utilizadas en Los Cides para Infecciones Respiratorias Agudas (tabla 2) en cuanto a la cepa de *S. aureus* ATCC se encontró que no existe ninguna correlación ($r = -0.019$, $r^2 = 0.0004$). En la cepa de *S. aureus* nativa 1 no se encontró ($r = 0.025$, $r^2 = 0.0006$).

Ensayos de la actividad antibacteriana de los extractos de especies de plantas seleccionadas en las cepas de *S. aureus* ATCC y nativas

Para realizar esta prueba se seleccionaron los extractos de seis de las especies de plantas que habían sido más activas en *S. aureus* ATCC y nativa número 1, estas fueron *Gnaphalium oxyphyllum*, *Chenopodium graveolens*, *Tillandsia macdougallii*, *Gnaphalium viscosum*, *Dalea minutifolia* y *Eryngium carlinae*. Los extractos se probaron a una sola concentración 800 µg/ml.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 8 y la figura 23 en donde se puede observar que todos los extractos de las plantas tuvieron un efecto de inhibición en todas las cepas bacterianas, el extracto de *Gnaphalium oxyphyllum* var. *oxyphyllum* produjo la zona de inhibición mayor de 24.0 mm de diámetro en la cepa nativa número 5. De hecho esta cepa, la nativa 2 y la ATCC fueron las más sensibles a los extractos vegetales, en ella se observaron las mayores zonas de inhibición. Las cepas nativa número 1, 3 y 4 fueron las menos sensibles con las zonas de inhibición de menor diámetro.

Tabla 8. Actividad antibacteriana en *Staphylococcus aureus* cepas ATCC 6538 y nativas de los extractos etanólicos, 800 µg/ml, de seis especies de plantas. Cada cifra es el promedio de tres réplicas de los diámetros en mm de las zonas de inhibición.

Especies	<i>Staphylococcus aureus</i>					
	ATCC 6538	Nativa 1	Nativa 2	Nativa 3	Nativa 4	Nativa 5
<i>Chenopodium graveolens</i>	2.3	2.3	9.3	8.6	5.3	9.6
<i>Tillandsia macdougallii</i>	14.0	7.6	7.6	7.3	5.3	14.6
<i>Eryngium carlinae</i>	16.6	7.6	11.6	9.3	8.0	10.0
<i>Gnaphalium oxyphyllum</i> var. <i>oxyphyllum</i>	23.8	4.6	19.0	8.0	5.3	24.0
<i>Gnaphalium viscosum</i>	15.0	7.6	17.6	7.3	8.6	12.0
<i>Dalea minutifolia</i>	16.6	8.0	13.3	7.3	8.0	14.3
Antibiótico	20.0	22.3	16.6	9.0	21.0	19.3
Testigo	-	-	-	-	-	-

sin inhibición

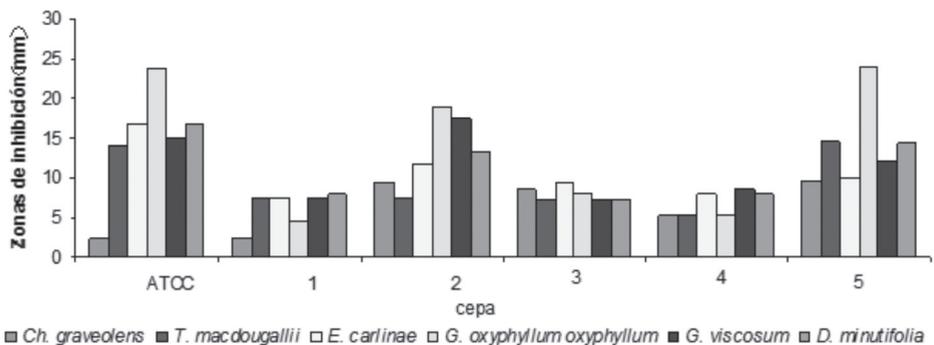


Figura 23. Zonas de inhibición en mm producidas por los extractos etanólicos de las plantas usadas en Los Cides para Infecciones Respiratorias Agudas en las cepas de *S. aureus* ATCC y nativas.

Determinación de la sensibilidad de *Staphylococcus aureus* a antibióticos.

Los resultados de la prueba se presentan en la tabla 9 en la que se observa que sólo tres de los siete antibióticos presentaron zonas de inhibición en todas las cepas de *S. aureus* de un diámetro tal que las cepas pudieron ser consideradas de moderadamente sensibles (MS) a sensibles (S). El antibiótico más activo fue sulfametoxazol ya que las seis cepas fueron sensibles al mismo; por el contrario, todas las cepas fueron resistentes a dicloxacilina. La cepa menos sensible fue la nativa 5 ya que fue resistente a cuatro antibióticos, ampicilina, dicloxacilina, cefuroxina y bencilpenicilina, y la más sensible fue la ATCC 6538 ya que sólo fue resistente a un antibiótico.

Tabla 9. Actividad antibacteriana en *Staphylococcus aureus* cepas ATCC 6538 y nativas de siete antibióticos. Cada cifra es el promedio de tres réplicas de los diámetros en mm de las zonas de inhibición.

Antibióticos	<i>Staphylococcus aureus</i>					
	ATCC 6538	Nativa 1	Nativa 2	Nativa 3	Nativa 4	Nativa 5
Ampicilina	30 (S)	0 (R)	13 (R)	15 (R)	8 (R)	0 (R)
Dicloxacilina	24 (R)	27 (R)	28 (R)	20 (R)	24 (R)	0 (R)
Cefotaxima	30 (S)	23 (S)	22 (MS)	24 (S)	23 (S)	23 (S)
Cefuroxima	22 (MS)	0 (R)	30(S)	25 (S)	25 (S)	0 (R)
Ceftriaxona	20 (MS)	27 (S)	22 (MS)	20 (MS)	20 (MS)	23 (S)
Sulfametoxazol	30 (S)	27 (S)	22 (S)	24 (S)	24 (S)	17 (S)
Bencilpenicilina	30 (S)	0 (R)	14 (R)	9 (R)	11 (R)	0 (R)

Resistente (R), intermedio (I), moderadamente sensible (MS) o sensible (S)

Discusión

Diez de los 84 municipios de Hidalgo fueron definidos como regiones con alta incidencia de Infecciones Respiratorias, estos municipios están ubicados en diferentes zonas ecológicas y climáticas (Toledo y Ordoñez, 1998), Lolotla, Moloango y parte de Agua Blanca se localizan en la zona ecológica templado húmeda con clima A y C; Metepec y Eloxochitlan en la zona templado subhúmeda, clima C y Mixquiahuala, Tula, Atotonilco de Tula, Mineral de la Reforma en la zona árida y semiárida clima B; Tepeapulco está en esta última zona y en la templada subhúmeda. Dadas estas diferencias, sería difícil considerar al clima como uno de los principales factores de la incidencia de estos problemas respiratorio. Además, el reconocimiento de esta problemática puede ser la base para otros trabajos de investigación similares a éste.

La información acerca de las especies de plantas empleadas en Los Cides para problemas respiratorios así como colecta de estas especies se realizó de manera dirigida, es decir teniendo como base una metodología etnobotánica ya que por otro método es probable que se hubieran detectado plantas del área usadas con otros fines.

Extractos etanólicos de las plantas.

En diversos estudios, los extractos etanólicos de diferentes especies de plantas usadas con fines medicinales han demostrado gran inhibición del crecimiento bacteriano (Habtemarian y Macpherson., 2000; Basile *et al.*, 2005; Eldeen *et al.*, 2005; Deng *et al.*, 2006; Lu *et al.*, 2007) lo que demuestra que los extractos etanólicos arrastran las sustancias activas de las plantas y sirven para hacer ensayos como los realizados en este trabajo, además el etanol, al probarlo como testigo, no causó inhibición del crecimiento de las bacterias estudiadas.

Información obtenida en las entrevistas acerca de plantas utilizadas en Los Cides, para Infecciones Respiratorias

Una de las especies usadas en Los Cides para Infecciones Respiratorias es *Ch. graveolens*, existen antecedentes de uso para dolor de estómago, nervios, dolor de pecho y pulmonía (Aguilar y Zolla, 1982; González Elizondo *et al.*, 2004; Pérez Escandón *et al.*, 2003); otras especies de la familia Chenopodiaceae como *Chenopodium ambrosioides* L. se utilizan como desparasitantes (Aguilar y Zolla., 1982; Lara y Márquez 1996).

El uso de *Tillandsia macdougallii* no se había reportado para Infecciones Respiratorias; otras especies de *Tillandsia* se utilizan en México como remedio para la tos y la bronquitis, entre otras están *T. achyrostachys* var. *stenolepis*, *T.*

erubescens var. *erubescens*; *T. makoyana*, *T. prodigiosa* y *T. ventanaensis* (Agra *et al.*, 2007; Andrighetti-Frohner *et al.*, 2005; González Elizondo *et al.*, 2004; Morrow and Wheeler, 1950). Tampoco hay antecedentes del uso de *S. salignus* ni de *H. glomeratum* para tratar este tipo de problemas de salud.

Respecto a la genero de *Eryngium*, no se encontraron antecedentes de uso para tratar problemas de Infecciones Respiratorias, pero se ha reportado que otras especies del género se utilizan para la tos, como es el caso de *E. beecheyanum* y *E. lemmonii* (González-Elizondo *et al.*, 2004).

En lo que corresponde a *Schinus molle*, no se encontraron antecedentes del uso de esta especie para Infecciones Respiratorias, así que esta podría ser una de las primeras referencias respecto a este uso; otros autores reportan el empleo de esta planta para limpias, sustos, aire, dolor de dientes, nubes en los ojos y dolor de estómago (Aguilar y Zolla, 1982; González Elizondo *et al.*, 2004; Pérez Escandón *et al.*, 2003).

Gnaphalium oxyphyllum var. *oxyphyllum* es otra de las especies empleadas en Los Cides para Infecciones Respiratorias para estos mismos padecimientos en otras regiones de la República Mexicana, donde se utiliza principalmente para la tos (González Elizondo *et al.*, 2004).

El uso de *G. spathacea* y de *P. polylepis* para problemas respiratorios ya había sido reportado para otros municipios del estado de Hidalgo (Pérez-Escandón *et al.*, 2003). Pero no se reporta el uso de *B. cordata* var. *cordata* para el tratamiento de estas enfermedades.

En Durango la infusión de *Gnaphalium viscosum* y epazote de zorrillo (*Chenopodium graveolens*) se toma para la tos (González-Elizondo *et al.*, 2004). No se ha reportado el uso de *P. plebeium* para el tratamiento de Infecciones Respiratorias, se utiliza para piquetes de insectos, irritación de la piel, heridas, calentura, baño a parturientas, bilis, dolores reumáticos, dolor de espalda: tres especies de la familia de las Polypodiaceae se utilizan para el asma, resfríos, pulmonía y bronquitis (Standley, 1920; Pérez Escandón *et al.*, 2003). En cuanto a *D. minutifolia* se ha reportado que en otros municipios de Hidalgo como El Arenal, Epazoyucan, Pachuca, Zapotlán y Zempoala esta especie se emplea para dolor de pecho y la tos (Pérez Escandón *et al.*, 2003).

Ensayos de actividad antibacteriana en *Staphylococcus aureus* cepas ATCC 6538 y nativa 1

En los años recientes la producción de nuevos antibióticos ha disminuido de forma considerable y ha surgido como un problema de consecuencias impredecibles la resistencia de bacterias, virus, hongos y protozoarios (Cowan, 1999; Díaz, 2003), para resolver este problema contra estos agentes infecciosos, una alternativa son las plantas ya que contienen moléculas bioactivas novedosas (Ávila *et al.*,

2006), como se comprobó en este trabajo de investigación, donde se encontró que once de las trece especies de plantas que se utilizan en Los Cides, Tepeapulco, Hidalgo, presentaron actividad antibacteriana en *S. aureus* en cepas ATCC y nativas. Esto apoya la primera hipótesis propuesta debido a que se comprobó los extractos etanólicos de las especies de plantas encontradas contienen sustancias que inhibieron el crecimiento bacteriano.

En este estudio *Gnaphalium oxyphyllum* var. *oxyphyllum* fue la planta que presentó la mayor actividad en las cepas de *S. aureus* tanto ATCC como nativas (Tabla 4, 6, 8) lo que revela que esta especie es una fuente potencial contra agentes infecciosos. En experimentos realizados anteriormente por otros autores se encontró que también tiene actividad antibacteriana en *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella thyphimurium* *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli*, pero en extractos preparados con otros disolventes como hexano, cloroformo, acetato de etilo y metanol (Villagómez-Ibarra *et al.*, 2001; Rojas *et al.*, 2000); se ha reportado que *G. oxyphyllum* var. *oxyphyllum* contiene terpenos, flavonoides, glucósidos y compuestos poliacetilénicos (González Elizondo *et al.*, 2004), pero no se tiene registrado ningún trabajo sobre la actividad antibacteriana en cepas nativas.

Siguieron en actividad *D. minutifolia*, *E. carlinae* y *G. viscosum*. La actividad antibacteriana de *D. minutifolia* no había sido investigada, pero si existen estudios de otras especies del género, como *Dalea spinosa*, en las que se ha reportado actividad antibacteriana en cepas multirresistentes de *S. aureus*. (Belofsky *et al.*, 2006).

En cuanto a *Eryngium carlinae*, el extracto fue más activo en la cepa ATCC que en la nativa 1 pues en la primera produjo zonas de inhibición en todas las concentraciones y en la segunda presentó inhibición sólo en dos concentraciones, 400 y 800 µg/ml; aparentemente este es el primer reporte en lo que respecta a la actividad antibacteriana de *E. carlinae*.

En este trabajo el extracto de *Gnaphalium viscosum* presentó actividad inhibitoria del crecimiento de *S. aureus* ATCC 6538 en todas las concentraciones probadas, además presentó una leve actividad en la cepa nativa 1 de *S. aureus*; se ha reportado que esta especie vegetal exhibió actividad antibacteriana en *S. aureus*, *B. cereus*, *E. faecalis*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *E. coli*, y hongos como *Candida albicans* (Villagómez-Ibarra *et al.*, 2001; Rojas *et al.*, 2000). En otras especies del género *Ganaphalium* como *G. inornatum*, y *G. liebmanni* se ha encontrado actividad antibacteriana en cepas de *S. aureus*. Las especies de este género contienen cresol y mucílago que actúan como antisépticos (Aguilar y Zolla, 1982), es posible que la inhibición del crecimiento en *S. aureus*, mostrada en éste y otros estudios por *G. viscosum* se deba a su contenido en estos compuestos.

En relación a *Schinus molle*, los extractos de este árbol presentaron actividad en las cepas de *S. aureus* ATCC y nativa 1 siendo más activo en la primera con zonas de inhibición en cinco concentraciones, en la segunda mostró actividad en tres concentraciones; en otros estudios también se ha encontrado efecto antibacteriano de esta planta en *E. coli*, *S. aureus* y *S. typhimurium*. (Pérez *et al.*, 1994; Márquez *et al.*, 1999).

En lo que respecta al extracto de *Tillandsia macdougallii*, causó inhibición en la concentración más alta en ambas cepas de *S. aureus*, esta especie de planta no cuenta con antecedentes de estudio como antibacteriano.

El extracto de *Chenopodium graveolens* causó actividad antibacteriana en la cepa ATCC y nativa 1 de *S. aureus*, también se ha reportado que tiene actividad en otros microorganismos y en *S. aureus* meticilina resistente (Hernández *et al.*, 2000; Heninrich *et al.*, 1998; Kakuko *et al.*, 2004).

En este trabajo los extractos de *Senecio salignus* y *Polypodium plebeium* presentaron actividad antibacteriana en las dos cepas de *S. aureus*, la cual fue ligeramente mayor en la cepa ATCC que en la nativa 1; no existen otros reportes de actividad antibacteriana de estas especies de plantas.

En lo que respecta a *Helianthemum glomeratum*, Barbosa (2006) reportó que tuvo actividad antimicrobiana con el protozoario *Giardia lamblia* y no existen reportes de actividad antibacteriana; *Buddleia cordata* ssp. *cordata* se reporta como una especie con actividad amebicidica (Rodríguez-Zaragoza *et al.*, 1999) pero tampoco existen reportes de actividad en bacterias.

Ensayos de actividad antibacteriana de extractos de especies de plantas seleccionadas en *Staphylococcus aureus* cepas ATCC 6538 y nativas

El hecho de que los extractos etanólicos de las seis especies de plantas seleccionadas que se emplean en Los Cides para Infecciones Respiratorias hayan causado determinada inhibición del crecimiento en todas las cepas de *S. aureus*, representa un resultado significativo, ya que comprueba que las especies de plantas de uso medicinal son una alternativa eficaz para el tratamiento de problemas de salud que prevalecen en la región, clasificada en este trabajo como una de las de alta incidencia de Infecciones Respiratorias. Por otra parte, no se encontraron otros estudios que hayan tenido este enfoque. Además estos resultados son aún más importantes si se tiene en cuenta que los extractos de estas plantas inhibieron el crecimiento de cepas de *S. aureus* que inclusive fueron resistentes a tres de los siete antibióticos probados como fue el caso de las cepas nativas 2, 3 y 4 o resistentes a cuatro antibióticos como las cepas 1 y 5. Este resultado apoya la hipótesis propuesta acerca de que los extractos de las plantas empleadas en la localidad inhibirían el crecimiento de las cepas bacterianas resistentes. Ahora bien, este efecto inhibitorio podría ser de interés, puesto que las cepas de *S.*

aureus resistentes, en especial a meticilina, son un problema de salud mundial, en particular como causantes de infecciones intrahospitalarias (Cowan, 1999), por lo que el hallazgo de agentes anti infecciosos como estos extractos vegetales, abre nuevas posibilidades para el control de dichas bacterias.

Este trabajo sirve de modelo para estudiar otras regiones de Hidalgo con alta incidencia de Infecciones Respiratorias. Es, *G. oxiphyllum* var. *oxyphyllum* la especie más interesante además para investigar a futuro ya que fue la que presentó mayor actividad en las diferentes cepas de *S. aureus*, además es necesario investigar en especies como *D. minutifolia* y *E. carlinae* ya que no existe referencias acerca de la posible actividad antibacteriana de estas plantas.

Conclusiones

En Hidalgo existen regiones en las que más del 50% de la población es afectada por “Infecciones Respiratorias Agudas”, una de éstas regiones es el municipio de Tepeapulco.

En Los Cides, una de las comunidades de este municipio, *Staphylococcus aureus* es una bacteria asociada a estas Infecciones Respiratorias; las cepas nativas de esta bacteria son resistentes a distintos antibióticos convencionales.

Una alternativa eficaz y disponible para los habitantes de la comunidad es el empleo de plantas medicinales empleadas en el área para el tratamiento de problemas respiratorios. Estas plantas contienen sustancias que pueden ser obtenidas con disolventes como el etanol. Estos extractos son capaces de inhibir en pruebas *in vitro* el crecimiento de las cepas de *S. aureus* nativas, los resultados, que apoyan la primera hipótesis propuesta, contribuyen a corroborar las propiedades medicinales que los pobladores del área atribuyen a estas plantas y ayudan a validar su uso tradicional.

Aún cuando las cepas nativas de *S. aureus* son resistentes a varios antibióticos, su crecimiento fue inhibido por los extractos vegetales. Este efecto apoya la segunda hipótesis y corrobora la idea de que las plantas medicinales son una fuente potencial de sustancias bioactivas cuya aplicación puede ser un apoyo en la resolución de problemas de salud prevalentes como el de las Infecciones Respiratorias Agudas.

Este estudio se sustenta en el conocimiento tradicional de las plantas medicinales y sus resultados son una evidencia de que la herbolaria tradicional mexicana es importante en la búsqueda de nuevos compuestos antibacterianos.

Agradecimientos

Al CONACYT Hidalgo en el proyecto “Helmitos parásitos de los vertebrados y calidad ambiental del lago de Tecocomulco, Hidalgo”, Financiado por FOMIX Hidalgo-2005-CO1-1.

Apoyado por FOMIX Hidalgo proyecto Plantas medicinales y hongos de Hidalgo: aprovechamiento sustentable y conservación como estrategias para mejorar la calidad de vida. 151064.

Bibliografía

- Agra, M.F., Baracho, G.S., Nurit, K., Basilio, I.J.L.D., y Coelho, V.P.M. 2007. Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* 111 (2):383-395.
- Aguilar, C., A. y Zolla, C. 1982 Plantas Tóxicas de México, México, IMSS. 271 pp.
- Alexiades, M.N. 1996. Selected guidelines for ethnobotanical research: a field manual. The New York Botanical Garden. New York. 306 pp.
- Alves, T.M.A., Fonseca Silva, A., Brandão, M., Grandi, T.S., Smânia, E.F.A., Smânia, A. and Zani, C.L. 2000. Biological screening of brazilian medicinal plants. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 95(3): 367-373.
- Andrighetti-Frohner, C.R., Sincero, T.C.M., da Silva, A.C., Savi, L.A., Gaido, C.M., Bettega, J.M.R., Mancini, M. y Farias, M.R. 2005 Antiviral evaluation of plants from Brazilian Atlantic Tropical Forest. *Fitoterapia* 76 (3):374-378.
- Ankli., Sticher, O. y Heinrich, M. 1999. Medical ethnobotany of the yucatec Maya: Healers consensus as quantitative criterion. *Economic Botany* 53(2):144-160.
- Arreguín-Sánchez, M. L., R. Fernández-Nava y D. L. Quiroz-García. 2004. Pteridoflor del valle de México. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. México, D.F. 917 pp.
- Ávila, L., Baquero, E., Viña, A. y Murillo, E., 2006. Actividad antibacteriana de *Diplostephium tolimense* Cuatrec. (Asteraceae) frente a *Staphylococcus aureus*. *Vital, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia, Medellín-Colombia* 1:55-60.

-
- Awatif, A. E., Almogboul, A.Z., Elfath, A.O. y Mahgoub, E. 2001. Sudanese plants used in folkloric medicine screening for antibacterial activity. Part X. *Fitoterapia* 72: 810-817.
- Barbosa, E., Calzada, F. y Campos, R. 2006. Antigiardial activity of methanolic extracts from *Helianthemum glomeratum* Lag. and *Rubus coriifolius* Focke in suckling mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 108 (3): 395-397.
- Bartelt, A. M. 2000. Diagnostic bacteriology a study guide. F.A. Davis Company. 53-54.
- Basile, A., Ferrara, L., Pezzo, M. D., Mele, G., Sorbo, S., Bassi, P. y Montesano, D. 2005. Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extract from *Paullinia cupana* Mart. *Journal of Ethnopharmacology*. 102 (1):32-36.
- Batista, M. R., y Cañizares, F. P. 1998. Las infecciones respiratorias agudas: un problema siempre emergente. *Revista Médica Cubana* 11(2): 63-66.
- Belofsky, G. Carreno, R. Lewis, K. Ball, A. Casadei, G. y Tegos, G. P. 2006. Metabolites of the "Smoke tree" *Dalea spinosa*, potentiate Antibiotic Activity against multidrug-resistant. *Journal of Natural Products*. 69 (2): 261-264.
- Bermúdez, A. y Velásquez, D. 2002. Etnobotánica médica de una comunidad campesina del estado de Trujillo, Venezuela: un estudio preliminar usando técnicas cuantitativas. *Revista de la Facultad de Farmacia* 44: 2-6.
- Bustos-Martínez, J. A., Hamdan-Partida, A., Gutiérrez-Cárdenas., M. 2006. *Staphylococcus aureus*: **la reemergencia de un patógeno en la comunidad**. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. México, D.F.
- Cáceres, A., Morales, C., Girón, L.M. y Navarro, M.C. 1990. Demostración de la actividad antimicrobiana de algunas especies vegetales usadas popularmente como medicinales en la cuenca del Caribe. *Ciencia y Tecnología* 81-87.
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12(4): 564-582.
- Cruz, C., Castañeda, E. 2006. *Staphylococcus aureus*, su éxito como patógeno y las implicaciones de la resistencia a los antimicrobianos. *Revista de Medicina de la Universidad Industrial de Santander. Medicas UIS* 19:27-39
- Deng, Jing., Zhang, Dai-zun y Yang, Wen-Jing. 2006., An in vitro experiment on the antimicrobial effects of ethanol extract from *Salvia miltiorrhiza* Bunge on several oral pathogenic microbes. *Journal of Stomatology*, 15 (2): 210-212.

-
- Díaz, R., C. Gamazo, I. López-Goñi (eds.). 2003. Manual Práctico de Microbiología. Másson. Barcelona. 216 pp.
- Eldeen, I. M.S., Elgorashi, E. E. y Van Staden, J. 2005. Antibacterial, anti-inflammatory, anti-cholinesterase and mutagenic effects of extracts obtained from some trees used in South African traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 102 (3):457-464.
- Estomba, D. Ladio, A. y Lozada, M. 2006. Medical wild plant knowledge and gathering patterns in a Mapuche community from North-western Patagonia. *Journal of Ethnopharmacology* 103: 109-119.
- Fernández R. F., López H. J, Ponce M. L M, Machado B. C. 2003 Resistencia bacteriana. *Revista Cubana de Medicina Militar* 44-48.
- González Elizondo, M., López Enrique, I. L., González Elizondo, S. y Tena Flores, J.A. 2004. Plantas medicinales del estado de Durango y zonas aledañas. CIIDIR Durango. Instituto Politécnico Nacional. Durango. 209 pp.
- Habtemariam, S. and Macpherson, A. M. 2000. Cytotoxicity and antibacterial activity of ethanol extract from leaves of a herbal drug, boneset (*Eupatorium perfoliatum*). *Phytotherapy Rresearch*. 14 (7): 575-577.
- Hammer, K.A., Carson, C.F. y Riley, T.V. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology* 86: 985-990.
- Heinrich, M., Ankli, A., Frei, B., Weimann, C. y Sticher, O. 1998. Medicinal Plants in México: healers' consensus and cultural importance. *Social Science and Medicine* 47(11): 1859-1871.
- Hernández, N. E., Tereschuk, M. L. y Abdala, L. R . 2000. Antimicrobial activity of flavonoids in medicinal plants from Tafí del Valle (Tucumán, Argentina). *Journal of Ethnopharmacology*. 73 (1-2): 317-322.
- Hernández Díaz, L. y Rodríguez Jorge, M. 2001. Actividad antimicrobiana de plantas que crecen en Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 2: 44-47.
- Hernández, T., Canales, M., Avila, J.G. Duran, A., Caballero, J., Romo de Vivar, A. y Lira, R. 2003. Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. *Journal of Ethnopharmacology* 88: 181-188.
- Ingraham, J.L. e Ingraham, C.A. 1998. Introducción a la microbiología. Ed. Reverté. Barcelona. 751 pp.
- INEGI. 2006 Cuadernos estadísticos, Mujeres y Hombres 215 pp.
- Iwu, M.M., Duncan, A.R. y Okunji, C.O. 1999. New antimicrobials of plant origin. In: Janick, J. (Ed.). *Perspectives on new crops and new uses*. ASHS Press. Alexandria p. 457-462.

-
- Kakuko, Y., Fumiko, A., Ariaki, N., Hikaru, O., Lozada-Pérez, L., López-Villafranco, E., Estrada, E., Aguilar, A. y Reyes-Chilpa, R. 2004. Antibacterial activity of crude extracts from Mexican medicinal plants and purified coumarins and xanthenes. *Journal of Ethnopharmacology* 97 (2): 293-299.
- Kala, C.P. 2005. Ethnomedicinal botany of the Apatani in the Eastern Himalayan region of India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 1: 11-18.
- Lara, O. and Márquez, A. 1996. Plantas medicinales de México. Composición, uso y actividad biológica, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. 131 pp.
- López R. F. 2003. Epidemiología. Enfermedades transmisibles y crónicas degenerativas. Manual Moderno. México, D. F. 353 pp.
- Loredo-Medina, O. L., Rodríguez-Chávez, J.M. y Ramos-Espinosa, M.G. 2002. Aprovechamiento de recursos vegetales en una localidad de la Reserva de la Biosfera Mariposa Monarca, Michoacán, México. *Etnobiología* 2: 32-60.
- Lu, Y., Liu, R., Sun, C., Pan, y., 2007. An effective high-speed countercurrent chromatographic method for preparative isolation and purification of mollugin directly from the ethanol extract of the Chinese medicinal plant *Rubia cordifolia*. *Journal of Separation Science*, 30 (9): 1313-1317.
- Martínez, P. I. 2000. Las Plantas Medicinales. *Revista Cubana* 16(1): 66.
- Márquez C, Lara F, Esquivel R y Mata R. 1999. Plantas Medicinales de México II. Composición, usos y actividad biológica. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 178 pp.
- Mitscher, L.A., Leu, R.P., Bathala, M.S., Wu, W.N. y Beal, J.L. 1972. Antimicrobial agents from higher plants. I. Introduction, rationale and methodology. *Lloydia* 35(2): 157-165.
- Mitscher, L.A. 1975. Antimicrobial agents from higher plants. *Recent Advances in Phytochemistry* 9: 243-282.
- Morrow, M.B. y Wheefeler, E.C. 1950. Mold fungi in the etiology of respiratory allergic diseases. XIV. Fungi in aerobiological populations; the fungus flora of *Tillandsia* species. (Ball and Spanish moss). *Annals of Allergy* 8 (6): 761-764.
- OMS. 2000 Boletín de medicamentos esenciales. Organización Mundial de la Salud p. 1-28.
- OMS. 2001. Estrategia mundial de la OMS de contención de la resistencia a los antimicrobianos. Resumen

-
- OPS. 2004. *Staphylococcus aureus* meticilina resistente. Organización Panamericana de la Salud. Monte Video, Uruguay p. 2-7.
- Peláez, F. y Genilloud, O. 2004. Nuevos fármacos basados en productos naturales de origen microbiano. En: Avendaño, C. y Tamargo, J. (eds.) Nuevos Avances en Medicamentos. Madrid España. 487 pp.
- Pérez, C. y Anesini, C. 1994. *In vitro* antibacterial activity of Argentine folk medicinal plants against *Salmonella typhi*. Journal of Ethnopharmacology 44(1): 41-46.
- Pérez Escandón, B. E., Villavicencio Nieto. M. A. y Ramírez, Aguirre. A. 2003. Lista de las plantas útiles del estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca. 133 pp.
- Rodríguez-Zaragoza, S., Ordaz, C., Avila, G., Muñoz, J, L., Arciniegas, A., Romo de Vivar, A. 1999 *In vitro* evaluation of the amebicidal activity of *Buddleia cordata* H.B.K. (Loganiaceae) on several strains of *Acanthamoeba*. Journal of Ethnopharmacology 66 (3): 327-334.
- Rodríguez, R.M.A., González-Piñera, G. J., Barreto, P.J., Lim, A. N., Areu, A. y Pardo, N.A. 1998. Tetraciclina. Acta Médica 8 (1): 75-79.
- Rojas, G., Levaro, J., Tortoriello, J. y Navarro, V. 2000. Antimicrobial evaluation of certain plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of respiratory diseases Journal of Ethnopharmacology 74 (1): 97-101.
- Rzedowski Calderón de, G. y J. Rzedowski. 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. CONABIO. Instituto de Ecología A.C. Pátzcuaro. 1406 pp.
- Sáenz, S. T. 1997. Manejo de las infecciones respiratorias agudas (IRA) en una comunidad Kaqchiquel de Guatemala. Revista Panamericana de Salud Pública 1(4): 259-265.
- Saldaña, G., Paiva de Lucena. R. F., y Paulino de Alburquerque, U. 2005. Knowledge and use of medicinal plants by local specialists in an region of Atlantic Forest in the state of Pernambuco (Northeastern Brazil). Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine 1(9): 1-8.
- Secretaria de Salud de Hidalgo. 2003. Información Estadística Proporcionada por la Secretaria de Salud de Hidalgo Pachuca, Hidalgo. (Comunicación personal)
- SSA. Salud: México 2006. Información para la rendición de cuentas. 245 pp
- Standley, F.C., 1920. Trees and Shrubs of México. Contr. U.S. National Museum Contribution. 23 (1-5) Reimpreso (1982) por J. Cramer Vaduz. 1721 pp.
- Villagómez-Ibarra, J.R., Sánchez, M. Espejo, O. Zuñiga-Estrada, A. Torres-Valencia, J. M. y Joseph-Nathan, P. 2001. Antimicrobial activity of three Mexican *Gnaphalium* species. Fitoterapia 72 (6): 692-694.

- Villasusa, P. I., Martínez, M. I. y Álvarez, G. N. 2006 Prevalencia de bacterias potencialmente patógenas en la nasofaringe de niños sanos de un círculo infantil de Ciudad de La Habana. *Revista Cubana Medicina Tropical* 58 (3): [Http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=50375-0762006000300002](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=50375-0762006000300002)
- WHO. 2006. Working together for health 2006 World Health Organization. Geneva.
- Yasunaka, K., Abe, F., Nagayama, A., Okabe, H., Lozada-Pérez, L., López-Villafranco, E., Muñiz, E.E. y Reyes-Chilpa, R. 2005. Antibacterial activity of crude extracts from Mexican medicinal plants and purified coumarins and xanthones. *Journal of Ethnopharmacology* 97 (2): 293-299.

CAPÍTULO V

Bioactividad de aceites esenciales de siete especies de plantas medicinales de Lamiaceae.

Cortes Méndez, F.H

Pérez Escandón, B.E.

Villavicencio Nieto, M.A.

Laboratorio de Etnobotánica.

Centro de Investigaciones Biológicas.

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Resumen

México es un país con una gran diversidad de especies vegetales, un gran porcentaje de las mismas son mencionadas como medicinales. En el estado de Hidalgo destaca el uso de *Agastache mexicana* ssp. *mexicana*, *Agastache mexicana* ssp. *xolocotziana*, *Cunila lythrifolia*, *Dracocephalum moldavica*, *Satureja mexicana*, *Hesperozygis marifolia* y *Poliomintha longiflora*. Estas siete especies son ampliamente utilizadas para tratar infecciones gastrointestinales y respiratorias. El presente estudio se realizó con la finalidad de validar el uso medicinal tradicional atribuido a estas especies de Lamiaceas y de explorar su espectro de actividad biológica.

Los resultados indican que los aceites esenciales de las siete especies presentaron actividad antibacteriana, *P. longiflora* resultó ser la especie con mayor actividad. La prueba de toxicidad en *A. salina* reveló que los aceites de las siete especies son potencialmente tóxicos, dependiendo de la concentración. Por otro lado, los ensayos para comprobar la actividad insecticida, demostraron que *S. mexicana* y *H. marifolia*, son especies con importante actividad biológica en *D. melanogaster* y *S. zeamais*. La identificación de los aceites esenciales por CG/EM demostró la presencia de carvacrol (100%) en *P. longiflora*; pulegona (28.7%), mentona (47.9%) y el 1-metil-4-(1-metiletil)-ciclohexanol (23.2%) en *S. mexicana* y pulegona (31.8%), p-mentona (13.3%) y neo-mentol (54.7%) en *H. marifolia*.

Los aceites esenciales de las siete especies de Lamiaceas presentaron amplia actividad biológica. La acción curativa de las plantas estudiadas, probablemente se debe a su actividad antibacteriana.

Palabras clave: Lamiaceae, Bioactividad, Hidalgo, México.

Introducción

Descripción de la familia Lamiaceae

Las especies de esta familia son frecuentemente odoríferas, plantas herbáceas, anuales o perennes, subarborescentes o rara vez arbóreas; de tallos generalmente cuadrangulares; hojas simples, opuestas o verticiladas, rara vez compuestas, casi siempre sin estípulas; inflorescencias cimosas, generalmente contraídas formando verticilastros pauci o multifloros, agrupados en epicastros, pseudoracimos o cabezuelas, en ocasiones en panículas, con menos frecuencia las flores solitarias y axilares, hermafroditas, sésiles o pediceladas; cáliz persistente, regular o bilabiado; corola simpétala; fruto formado por cuatro mericarpios lisos o reticulados (Hutchinson, 1979; Cronquist, 1981; Rzedowski y Rzedowski, 2001).

En México, la familia Lamiaceae incluye 27 géneros en seis tribus y unas 512 especies (Ramamoorthy *et al.*, 1998), aunque Villaseñor (2003) encontró que la familia ocupa el 8° lugar entre las de mayor número de especies nativas en la flora de México, con 530 especies en 30 géneros. Lamiaceae es una familia muy diversa, la información sobre su utilización en medicina tradicional se encuentra dispersa sin que hasta la fecha se hayan hecho esfuerzos por reunirla y sistematizarla, a pesar de la importancia que tiene en la industria, y la medicina (por la cantidad de aceites aromáticos que posee y son extraídos) y poco se sabe sobre la toxicología de sus especies medicinales (Domínguez y Castro, 2002).

***Agastache mexicana* (Kunth) Linton & Epling ssp. *mexicana* Bye, Linares & Ramamoorthy (Figura 1).**

Es una planta herbácea, perenne, muy aromática al estrujarse; mide 1 m de alto; de tallos cuadrangulares, erectos, casi glabros; hojas simples, opuestas, pecioladas, limbo lanceolado a ovado-lanceolado, ápice agudo, borde aserrado-crenado, alcanzan hasta 10 cm de largo, de base cuneada o redondeada, pubescente en ambas caras; inflorescencia en racimos terminales interrumpidos, en forma de verticilos laxos, interruptos; cáliz ligeramente bilabiado, tubular; corola de color rojizo-morado, el tubo angosto en la parte cubierta por el cáliz y ensanchándose en la parte superior, labio superior plano, el inferior trilobulado; estambres exsertos; mericarpios de color pardo oscuro. Florece de Julio a Octubre. La especie es

cultivada y también crece silvestre. Crece a una altitud de 1700-3800 m. La especie es nativa de México (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

El género posee unas 30 especies que se distribuyen desde Asia hasta Norteamérica, en México cuenta con unas 13 especies (Ramamoorthy *et al.*, 1998). El género esta dividido en dos secciones, la sección *Agastache* y la sección *Brittonastrum*, a la cual pertenecen las dos especies aquí estudiadas: *A. mexicana* ssp. *mexicana* y *A. mexicana* ssp. *xolocotziana* (Aguirre, 2003).

Localización geográfica en México: Se puede encontrar en climas cálidos, semicálidos, y templados. En el Distrito Federal, Estado de México, Michoacán, Morelos, Jalisco, Puebla, Querétaro, Tlaxcala, Veracruz, Durango, Zacatecas e Hidalgo (en los municipios de Tepeapulco, Mineral del Monte, Mineral del Chico, Omitlán, Huasca, Acaxochitlán, Tulancingo y Atotonilco el Grande). Crece en bosques de coníferas, de encino y pino-encino con clima templado y frío, aunque no es muy abundante (Martínez, 1979; Linares *et al.*, 1988; Argueta, 1994a; Aguilar *et al.*, 1996; Rzedowski y Rzedowski, 2001; Villavicencio *et al.*, 2002; Aguirre, 2003).



Figura 1. *Agastache mexicana* (Kunth) Linton & Epling ssp. *mexicana* Bye, Linares & Ramamoorthy.

***Agastache mexicana* (Kunth) Linton & Epling ssp. *xolocotziana* Bye, Linares & Ramamoorthy (Figura 2).**

Es una planta herbácea, perenne, muy aromática al estrujarse; de tallos cuadrangulares de hasta un metro de alto, erectos, casi glabros; hojas pecioladas limbo lanceolado a ovado-lanceolado, ápice agudo, aserrado-crenado, alcanzan hasta 10 cm de largo, de base cuneada o redondeada, pubescente en ambas caras; inflorescencia terminal, en forma de verticilos laxos, interrumpidos; cáliz ligeramente bilabiado, tubular; corola blanco-amarillenta, el tubo angosto en la parte cubierta por el cáliz y ensanchándose en la parte superior, labio superior plano, el inferior trilobulado; estambres exsertos; mericarpios de color pardo oscuro. Florece de Julio a Octubre. La especie es cultivada y crece a una altitud de 1700–3800 m. La especie es nativa de México (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Localización geográfica en México: Se distribuye en el Centro de la República, en las montañas del Eje Volcánico, en los estados de Michoacán, México, Morelos, Distrito Federal, Jalisco, Puebla, Querétaro, Guanajuato, Tlaxcala, Veracruz, Zacatecas e Hidalgo (en los municipios de Pachuca de Soto, Tepeapulco, Mineral del Monte, Mineral del Chico, Omitlán, Huasca, Acaxochitlán, Tulancingo y Atotonilco el Grande). Crece en bosques de coníferas, de encino y pino-encino con clima templado y frío, aunque no es muy abundante (Chávez, 1986; Linares *et al.*, 1988; Aguilar *et al.*, 1996; Rzedowski y Rzedowski, 2001; Villavicencio *et al.*, 2002; Aguirre, 2003).



Figura 2. *Agastache mexicana* (Kunth) Linton & Epling ssp. *xolocotziana* Bye, Linares & Ramamoorthy

***Cunila lythrifolia* Benth. (Figura 3).**

Planta subarborescente o herbácea, perenne; tallos erectos y fuertes, muy ramificados, hasta de 2 m de alto, pubescentes; hojas pecioladas, limbo ovado a lanceolado, ápice acuminado-agudo, borde aserrado, base cuneada o redondeada; inflorescencia en forma de conjuntos espiciformes compactos axilares y terminales, cilíndricos; brácteas lineares, ubicadas en la base de las flores; flores pequeñas; cáliz tubular, pubescente, con puntitos resinosos; corola azulosa, blanca o morado-azulosa, labio superior plano y extendido, el inferior trilobulado; estilo saliente del tubo de la corola; mericarpios ovoides de color amarillento, apiculados en el ápice. Florece de Octubre a Noviembre. Es una especie nativa de México. Se le encuentra a una altitud de 899–3500 m. (Rzedowski y Rzedowski, 2001). Esta especie pertenece a un género americano con unas 20 especies. México cuenta con el mayor número de especies (10) de este género, que cualquier otra parte del mundo (Ramamoorthy *et al.*, 1998).

Localización geográfica en México: Se le encuentra en zonas templadas del centro del país, en bosques de coníferas, encino-pino, en bosques de *Abies*, *Quercus* y mesófilo de montaña. Fuera del Valle se localiza en los estados de México, Veracruz, Puebla, Jalisco, Guerrero, Morelos, Distrito Federal e Hidalgo (en los municipios de Pachuca, Tepeapulco, Omitlán y Mineral del Monte) (Standley, 1982; Linares *et al.*, 1988; Argueta, 1994a; Barrios y Medina, 1996; Rzedowski y Rzedowski, 2001; Villavicencio *et al.*, 2002) comparada con otras especies del género, es considerada de amplia distribución en el país (Ramamoorthy *et al.*, 1998).



Figura 3. *Cunila lythrifolia* Benth.

***Dracocephalum moldavica* L. (Figura 4).**

Hierba anual, erecta, de unos 0.5-0.6 m de alto, aromática al estrujarse; glabra o escasamente pilosa, tallo cuadrangular; hojas simples, opuestas, oblongas a lanceoladas, con el borde aserrado-crenado, base cuneada, peciolada; inflorescencia en verticilastros; flores axilares, hermafroditas; brácteas en forma de hojas; cáliz unido tubuloso, dentado; corola unida, tubulosa, azul-violáceo; fruto de cuatro mericarpios glabros. Planta nativa de Eurasia. Florece de Agosto a Octubre. La especie es cultivada en México (Linares *et al.*, 1988; Villavicencio *et al.*, 2002).

Localización geográfica en México: Se puede localizar en los estados de Puebla, México, Distrito Federal, Coahuila, Nuevo León, Durango, Zacatecas, San Luis Potosí, Colima e Hidalgo (Omitlán, Huasca, Acaxochitlán, Tulancingo y Atotonilco el Grande) (Linares *et al.*, 1988; Villavicencio *et al.*, 2002).



Figura 4. *Dracocephalum moldavica* L.

***Hesperozygis marifolia* (Briq.) Epl. (Figura 5).**

Arbusto de hasta 2 m de altura; tallos leñosos, cuadrangulares; hojas simples, opuestas, orbicular-ovadas, tomentulosas, blancas, de ápice agudo, margen entero, base cuneada, con pecíolo corto; sus ramas son pubescentes con apariencia ceniza; inflorescencia cúlula axilar de 1 a 3 flores, en pares; flores hermafroditas, zigomorfas; cáliz sinsépalo, tubular, con 5 dientes iguales, piloso

afuera, la garganta barbada; corola simpétala, bilabiada, el labio superior erecto, emarginado, el labio inferior hendido, el tubo igual o más largo que el cáliz; ovario súpero. Esta planta es nativa de México (Linares *et al.*, 1990; García, 1994). Esta especie pertenece a un género totalmente americano (García, 1994). Crece a una altitud de 1250-2050 m.

Localización geográfica en México: Esta especie se distribuye en las zonas áridas del norte y centro de México, se puede encontrar en los estados de Jalisco, Nuevo León, San Luis Potosí e Hidalgo (Valle del Mezquital) (Martínez, 1979; Linares *et al.*, 1990; García, 1994; Ramamoorthy *et al.*, 1998).



Figura 5. *Hesperozygis marifolia* (Briq.) Epl.

***Poliomintha longiflora* A. Gray (Figura 6).**

Arbusto de cerca de 30 cm de alto; tallos leñosos; hojas de 5 a 10 mm de largo, enteras, ovales a ampliamente ovadas, redondeadas u obtusas en el ápice, canescentes tomentulosas en el envés, con pelos simples, el haz verde, corola de 2.5 a 3.5 de largo; flores rojas o rosas a moradas, con tres hendiduras, el tubo igual o más largo que el cáliz (Standley, 1920-26). Pertenece a un género que se caracteriza por tener cáliz tubular simétrico, cuyos dientes reflejos ocluyen en el orificio y la corola anular, este género está compuesto de cinco especies, todas ellas representadas en el norte de México (Ramamoorthy *et al.*, 1998). Posee hojas opuestas con un gran número de glándulas aromáticas, su floración aparece en primavera y crece a altitudes de 800-2800 m (Alanis y Foroughbakhch, 2004).

Localización geográfica en México: Se distribuye en Coahuila, Nuevo León e Hidalgo (Martínez, 1979; Standley, 1920-26; Alanis y Foroughbakhch, 2004). Las poblaciones naturales de *Poliomintha longiflora*, crecen en suelos delgados y pedregosos con pendientes hasta del 40%, son parte de las comunidades de matorral submontano y bosque de encinos (Alanis y Foroughbakhch, 2004).

***Satureja mexicana* (Benth.) Briq. (Figura 7).**

Arbusto que alcanza hasta 1 m de alto. Las ramas presentan pequeños grupos de pelos; con hojas de 1 cm de largo, pecioladas, anchamente ovoides, agudas en el ápice y redondeadas en la base, serruladas, glabras; flores en falsos verticilios pauci-multifloros, laxos o densos; flores rojo-anaranjadas, numerosas, tubulares, de 2 a 3.5 cm de longitud; cáliz tubular de 6 mm de largo; corola tubular pubescente, recta o curvada, cinco veces más larga que el cáliz. Florece de Mayo a Julio (Conzatti y Lucio, 1981; Standley, 1920-26; Villavicencio y Pérez, 1995). Crece a una altitud de 780-2645 m.

Localización geográfica en México: Se distribuye de Hidalgo a Guerrero, Oaxaca y Veracruz. El ejemplar tipo es de Santa Maria Regla, Hidalgo y se le puede encontrar en la parte noreste de Ixmiquilpan, Hidalgo. Habita en bosques de *Juniperus* (Conzatti y Lucio, 1981; Standley, 1920-26; Villavicencio y Pérez, 1995).



Figura 6. *Poliomintha longiflora* A. Gray

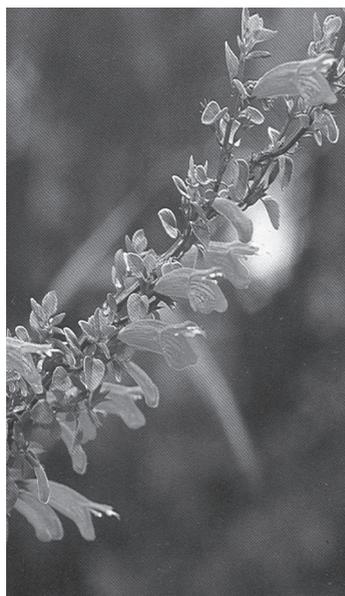


Figura 7. *Satureja mexicana* Benth

Antecedentes

Una de las características más distintivas de Lamiaceae son los terpenos que se encuentran en las glándulas de varios miembros de la familia. Los contenidos de estas glándulas son responsables de los olores aromáticos y propiedades organolépticas de las plantas (Esquivel *et al.*, 1996; Domínguez *et al.*, 2002), y como consecuencia, algunos miembros de la familia son usados en medicina tradicional y en la preparación de alimentos en varias partes del mundo, incluyendo México (Esquivel *et al.*, 1996). A algunas especies se les atribuye propiedades antibacterianas y antivirales, por la composición química de sus aceites esenciales, constituidos principalmente por compuestos fenólicos y monoterpenos (Ríos, 1987).

La familia ha sido sujeta a intensos estudios orientados al aislamiento de varios tipos de compuestos y su bioactividad. Especies de diferentes géneros como son *Agastache* (Majarrez y Mendoza, 1966; Romo de Vivar, 1985; Bye *et al.*, 1987; Contreras, 1987; Holm *et al.*, 1989; Aguirre, 2003; Estrada *et al.*, 2004), *Poliomintha* (Lewis y Friedrich, 1990), *Hesperozygis* (García, 1994), *Cunila* (Majarrez y Mendoza, 1966; Romo de Vivar, 1985; Hernández, 1987b; Ochoa, 1987), *Ajuga*, *Ocimum* (Jacobson, 1989), *Salvia* (Hernández, 1987a; Ríos, 1987; Torres, 1988; Macías y Galindo, 2001), *Marrubium* (Saleh y Glombitza, 1989), *Hedeoma* (Romo, 2000), *Mentha* (Cruz, 2000), *Thymus* (Lugo, 2005), *Scutellaria*, *Stachys*, *Rhabdosia*, *Teucrium*, *Leonorus*, *Ballota* y *Coleus*, entre otros, que han sido estudiadas con este fin (Esquivel *et al.*, 1996).

Se ha concluido que la familia Lamiaceae es una fuente importante de sustancias bioactivas (García, 1994). Estos estudios han conducido al aislamiento de un gran número de metabolitos secundarios como esteroides, flavonoides, iridioides, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos y sesterpenos (Esquivel *et al.*, 1996), que presentan una amplia gama de actividad biológica. La familia es considerada como pobre en alcaloides (Kuklinski, 2000).

Se ha estudiado cerca del 15% de las especies del género *Salvia* (Esquivel *et al.*, 1996), identificándose compuestos como el 1,8- Cineol (17.4%), el β -Cariofileno (11.2%) y el Ciclofenqueno (10.3%) en *Salvia tomentosa* (Zeki *et al.*, 2001). En el mismo género se han aislado esteroides y flavonoides en las partes aéreas, también triterpenos derivados del lupano, oleanano, dammarano y esqueletos de ursano, compuestos fenólicos, un gran número de diterpenoides del grupo del labdano, clerodano, abiedano y pimarano, entre muchos otros compuestos secundarios que han demostrado actividad antibiótica, antialimentaria, insecticida, actividad tripanosomal, citotóxica, antitumoral de cáncer humano, antileucémicas, fitohormonal, antipirética, diurética, cardiovascular, sedante,

hepatóxica, alelopática. Propiedades útiles en la industria de los alimentos, los cosméticos y los medicamentos (Méndez, 1985, Hernández, 1987a; Ríos, 1987; Ochoa, 1987; Torres, 1988; Esquivel *et al.*, 1996).

Mentha spicata y *M. pulegium* contienen pulegona, mentona y carvona en sus aceites esenciales y ambas presentan actividad insecticida sobre *D. melanogaster* (Franzios *et al.*, 1997). En *Coleus forskohlii*, se aisló la forskolina un agente antihipertensivo, antiasmático y antitusivo (Martínez, 1997).

Algunas especies del género *Origanum* se caracterizan por la existencia de diferentes compuestos químicos respecto al contenido y composición de los aceites esenciales (Ali Gianni *et al.*, 2001). Se han aislado algunos neoclerodanos de especies del género *Scutellaria* de México (Esquivel *et al.*, 1996). *Thymus vulgaris*, presentó considerable actividad antibacteriana debida al carvacrol, además, presenta un gran número de compuestos como monoterpenos, sesquiterpenos, flavonoides, aldehídos, entre otros (Lugo, 2005). Los componentes de *Marrubium vulgare* presentaron actividad Schistosomal, sobre *Schistosoma mansoni* y *S. haematobium* (Saleh y Glombitza, 1989). *Hedeoma piperita*, presentó actividad antialimentaria sobre *Sitophilus zeamais*, debido a la presencia de pulegona (Romo, 2000), mientras que *Mentha rotundifolia* presentó actividad antialimentaria e insecticida sobre el mismo organismo, pero debido al óxido de piperitenona (Cruz, 2000).

El género *Agastache* esta definido químicamente por la presencia de metil chavicol, estragol y limoneno (Estrada *et al.*, 2004). De *A. pallidiflora* se aislaron los flavonoides caemferol-3rhamnosidos y quercetina-3rhamnosidos, caemferol-3-galactosido, diosmetin 7-glucosido y acetina 7-glucosido (Chang *et al.*, 1979), y de *A. foeniculum*, se obtuvo limoneno, metil chavicol, metil eugenol, germacreno y β -cariofileno (Holm *et al.*, 1989).

Los principales componentes del aceite esencial de Toronjil (*A. mexicana*) fueron 46.7% de mentona, 39.8 de pulegona y 6.5% de limoneno. En un análisis de la fracción neutra se encontró alcanfor, β -felandreno, limoneno, α -felandreno y borneol, sin embargo, no mencionan cual subespecie es (Majarrez y Mendoza, 1966; Romo de Vivar, 1985).

Los componentes mayoritarios de los aceites esenciales, resultaron ser el metil chavicol en la subespecie *mexicana* con un 86.78%, limoneno y linalool, y en la subespecie *xolocotziana*, 80.07% de pulegona, mentona e isopulegona (Aguirre, 2003; Estrada *et al.*, 2004). Las fracciones no polares son diferentes, el extracto hexánico permitió la identificación de 11 productos en la subespecie *mexicana* y 40 en la subespecie *xolocotziana* (Aguirre, 2003; Estrada *et al.*, 2004).

Mientras que los extractos polares resultaron ser similares en composición, predominando el ácido ursólico y compuestos de estructura flavonoide, siendo la acetina, la flavona más abundante en ambas plantas (Aguirre, 2003).

En *A. mexicana* ssp. *xolocotziana* los componentes mayoritarios son la isopulegona, pulegona, α -terpineno, y β -cimeno. En la flor, la isopulegona, la pulegona, el citronelal, linalool y el acetato de bornilo y en el follaje, la isopulegona, la pulegona el citronelal, el acetato de linalilo y bornilo, linalool y pineno (Contreras, 1987).

Entre los componentes comunes entre *A. mexicana* ssp. *mexicana* y la subespecie *xolocotziana*, se encuentran la isopulegona, pulegona, mentona, limoneno, β -terpineol, α -felandreno, linalool, geraniol, neral, camfeno, salicilato de metilo, β -sitosterol, acetato de linalilo, α -tuyeno, sabineno, eugenol, guayacol, α -terpineol, β -bisaboleno, α -bisaboleno, β -pineno, α -pineno, flavonoides y acacetina-7-o-glucosido (Chávez, 1986; Contreras, 1987; Martínez *et al.*, 1995).

Entre los componentes no comunes que sólo se encuentran en la subespecie *xolocotziana*, están el citronelal, acetato de bornilo, crisina, pratol, clerodano y breviflorina y óxido de linalilo; y en la subespecie *mexicana*, la pelargondina, cianidina, caenferol, quercitina, geraniol, tuyeno, estragol, antranilato de metilo, tuyona y mentona (Chávez, 1986; Contreras, 1987). Bye *et al.*, (1987) mencionan a la breviflorina, un clerodano tipo diterpeno, crisina, pratol y el acetato de bornilo, como compuestos comunes en ambas subespecies.

De los 28 constituyentes presentes en el aceite esencial de *Cunila polyantha*, los monoterpenoides mentona (63%) y pulegona (14%), el sesquiterpeno β -cariofileno (4.5%) y el acetato de 3-octanilo (3%) fueron los más abundantes (Ciccio y Poveda, 1999). Entre los principales componentes de los aceites esenciales del Poleo de Cerro (*Cunila lythrifolia*) se encuentran óxido de linalool con un 27%, linalool con un 13.8%, β -ionona con un 24.3% y citronelilo con un 11% (Romo de Vivar, 1985). Presenta terpenos como el ácido oleanólico, el ácido ursólico, el 2- α -hidroxi-ursólico, ácido 2-epi-torméntico y el ácido maslinico, también como el sesquiterpeno, clovandiol, el esterol, β -sitosterol y la flavona, acacetina (Argueta, 1994a; Alonso *et al.*, 1999).

Hesperozygis marifolia representa un gran potencial para la industria de la extracción de aceites esenciales, ya que su aroma se asemeja al de la menta de la cual se extrae el mentol, compuesto muy importante para la industria farmacéutica. (Linares *et al.*, 1990). De su análisis fitoquímico se aislaron e identificaron 3 naftoquinonas, dos de las cuales se encuentran descritas como Duniona y α -Duniona y de la mezcla de ácidos triterpenicos, el ácido ursólico y oleanólico, de las partes aéreas se aisló la flavona 5-O-desmetilnobiletina (García, 1994).

De *Poliomintha incana* se identificaron 20 componentes en sus aceites esenciales, siendo la pulegona (77%) la de mayor porcentaje (Lewis y Friedrich, 1990). Estudios bioquímicos de *Poliomintha longiflora* han demostrado la importancia de esta planta como saborizante y como fuente promisoría de

actividades antioxidantes (Alanis y Foroughbakhch, 2004). Zheng y Wang (2001) encontraron que *P. longiflora* presenta la concentración más alta de compuestos fenólicos de entre 39 diferentes plantas analizadas, revelando así que es fuente potencial de compuestos fenolicos.

Justificación

Una necesidad es confirmar científicamente las propiedades que popularmente se le atribuyen a las plantas así como la seguridad de su utilización, en particular, de aquellas especies con un valor de uso mayor para la comunidad y que además se empleen en el tratamiento de problemas de salud prevaecientes en la localidad (Davidson y Ortiz, 1983; Ricker y Daly, 1998). Tal es el caso de las plantas medicinales seleccionadas para llevar a cabo el presente estudio: *Agastache mexicana* ssp. *mexicana*, *Agastache mexicana* ssp. *xolocotziana*, *Cunila lythrifolia*, *Satureja mexicana*, *Dracocephalum moldavica*, *Hesperozygis marifolia* y *Poliomintha longiflora*. Estas especies se comercializan y usan ampliamente en la región, en padecimientos digestivos y respiratorios de posible origen infeccioso (Pérez *et al.*, 2003).

De hecho, las enfermedades infecciosas, que se encuentran entre las principales causas de mortalidad mundial (WHO, 2004) y nacional (INEGI, 2003), ocupan en Hidalgo el segundo lugar como causa de mortalidad, en especial las infecciones digestivas (INEGI, 2001).

Se necesita contar con nuevos productos antibióticos. Al respecto se considera que las plantas son una fuente de sustancias con actividad antimicrobiana. Así, es que se decidió investigar a estas especies de Lamiaceae pues de acuerdo a los usos tradicionales y a su contenido en aceites esenciales, constituidos por sustancias potencialmente bioactivas (Buchbauer *et al.*, 1993). La detección de la actividad antibacteriana sería una de las evidencias para confirmar las propiedades terapéuticas que popularmente se atribuyen a estas plantas.

Se tomó la decisión de determinar si los aceites esenciales de las especies seleccionadas para este estudio, presentan actividad insecticida, otros aspectos que refuerzan esta idea son que se ha observado que el follaje de estas siete especies de Lamiaceae en general no presentan señales de depredación (Villavicencio y Pérez, Comunicación Personal), lo que puede ser una evidencia de que contienen sustancias que en condiciones naturales repelen a los herbívoros (Mckey, 1979; Herrera y Pellmyr, 2002).

Tampoco se ha investigado la toxicidad de los aceites esenciales de las plantas, objeto de este estudio, por lo que se creyó pertinente hacer su evaluación preliminar mediante la determinación de la mortalidad producida por los aceites en larvas de *Artemia salina*.

Muchas especies que son utilizadas en medicina tradicional pueden producir reacciones adversas a sus consumidores, sin embargo, poco se sabe de la toxicología de las Lamiaceas medicinales incluso, se ha reportado que algunas pueden causar la muerte como *Mentha pulegium*, *M. piperita*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* y *Satureja macrostema*, por lo tanto, su toxicidad debe ser evaluada debido al uso tan extenso que muchas de ellas presentan (Domínguez y Castro, 2002).

Ante la importancia en la medicina tradicional de la región de estas siete especies de plantas, la escasez de estudios acerca de ellas y dado su potencial de contener sustancias antibacterianas e insecticidas se decidió evaluar su actividad biológica y avanzar en la separación de los principios activos. Los resultados pudieran contribuir a confirmar la importancia de estas especies, a fomentar su uso y a despertar el interés por su conservación.

Objetivo general

Evaluar la actividad biológica de los aceites esenciales de siete especies de Lamiaceas medicinales utilizadas en la región centro-sur de Hidalgo.

Método

Recolecta de material vegetal.

La colecta de *Cunila lythrifolia*, se llevo a cabo en Pueblo Nuevo, en el municipio de Mineral del Chico, en el mes de Noviembre de 2003 y en Julio y Agosto de 2004.

El resto de los ejemplares y material vegetal se compraron en el mercado de Actopan (Hidalgo), debido a que las poblaciones silvestres están sujetas a aprovechamiento económico. *A. mexicana* ssp. *mexicana*, *A. mexicana* ssp. *xolocotziana* y *Dracocephalum moldavica* provienen de San Andrés y la Magdalena, Actopan, Hgo. y *Hesperozygis marifolia*, *Poliomintha longiflora* y *Satureja mexicana* provienen de Agua Florida, Ixmiquilpan, Hgo.

Obtención de aceites esenciales.

La obtención de aceites esenciales de flores y de follaje a partir de cada una de las especies se realizó mediante la técnica de destilación por arrastre de vapor (Domínguez, 1979), para este proceso de extracción se utilizaron 250 gr de planta fresca, de cada especie se obtuvieron aceites esenciales de hojas y tallos juntos, así como de flores por separado, esto se realizó para determinar si en las flores se concentran los aceites esenciales y el posible componente activo, así como ocurrió en *Hedeoma piperitum* (Romo, 2000).

Se obtuvo un destilado (fase acuosa) de 350 ml que se recibe en un matraz Erlenmeyer de 1000 ml, este destilado se colocó en un embudo de separación para ser extraído con 50 ml de éter etílico, previamente purificado por destilación, el proceso se repitió cuatro veces, las fases orgánicas se juntaron en un matraz Erlenmeyer donde se le adicionó 10 gr de sulfato de sodio anhidro para secarlo; la fase orgánica se filtró con papel Whatman no. 42 y posteriormente la mayor parte del disolvente se evaporó a presión reducida (1 bar) y 35°C en un rotavapor Büchi R-124, la mezcla se transfirió a un vial pesado previamente, que se calentó a baño María para evaporar el resto del disolvente, el residuo es el aceite esencial de la planta, cuya cantidad se calculó por diferencia de peso del vial. Este procedimiento se llevó a cabo para cada una de las siete especies estudiadas.

La etapa anterior se desarrolló tantas veces como fue necesario, hasta reunir las cantidades suficientes para llevar a cabo cada una de las pruebas y análisis. Para tener una caracterización en cuanto a contenido de aceites esenciales de cada especie, se calculó el rendimiento porcentual de los aceites esenciales extraídos con la fórmula siguiente:

$\% \text{ de aceite esencial} = (\text{peso del aceite esencial obtenido} / \text{peso de la muestra}) \times 100$

Ensayos de Actividad Antibacteriana.

Para detectar la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de follaje de las siete especies de Lamiaceae, se utilizó el método propuesto por Kirby-Bauer (1966) modificado. Se seleccionaron las siguientes cepas bacterianas Gram positivas, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y Gram negativas, *Escherichia coli* ATCC 53868 y *Salmonella typhimurium* (esta última aislada en el del Departamento de Microbiología del Laboratorio de Genética Microbiana de la Escuela Nacional de Ciencias biológicas del IPN).

Se eligió *Staphylococcus aureus* por su capacidad de producir trastornos a nivel de tracto respiratorio y *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* por producir problemas gastrointestinales (Stanier *et al.*, 1996; Joklik *et al.*, 1998; Brooks *et al.*, 1999) y por su disponibilidad.

Las cepas se mantienen en Agar Mueller-Hinton en refrigeración. A partir del cultivo de las bacterias se tomó un inóculo con un asa microbiológica y se sembró por estría en cajas petri con agar Mueller-Hinton Bioxon, las cuales se incubaron a 37°C durante 24 hrs, al cabo de ese tiempo se seleccionaron cinco colonias, se tomaron con un asa microbiológica y se sembraron en 25 ml de Caldo Soya Trypticaseina Difco, este nuevo cultivo se incubó a 37°C durante 24 hrs, luego se determinó la turbidez de los cultivos midiendo la absorbancia a 540 nanómetros (nm) en un espectrofotómetro UV-Vis Janway 6405, la turbidez se ajustó previamente con el Caldo Soya Trypticaseina estéril, al patrón 0.5 en

la escala de McFarland que equivale a una concentración de 1.5×10^8 ufc/ml, unidades formadoras de colonias por mililitro, a la cual el cultivo está en fase de crecimiento exponencial que es la recomendada para llevar a cabo estas pruebas (Díaz *et al.*, 2003).

La escala de McFarland relaciona la turbidez de unos patrones de sulfato bórico, que se obtienen al mezclar cloruro de bario al 1% con ácido sulfúrico al 1% con el número de bacterias presentes en la muestra (Díaz *et al.*, 2003). Se utilizan Agar Mueller-Hinton Bioxon, Caldo Soya Trypticaseina Bacto y Agar Soya Trypticaseina Bioxon, como medios para la conservación de cepas y para los ensayos de actividad antibacteriana, se prepararon siguiendo las instrucciones del fabricante, se esterilizan en autoclave a 120°C , durante 15 min. y se someten a prueba de esterilidad incubando a 37°C durante 24 hrs.

Las cepas se mantienen en refrigeración en Agar Soya Trypticaseina en medio inclinado y se resembraron cada mes en el mismo medio, bajo las mismas condiciones.

Una vez que se ajusta la suspensión celular, dentro de los 15 minutos siguientes se sumerge un hisopo estéril dentro del matraz, se toma el inóculo y se realiza la siembra sobre 3 cajas Petri para cada cepa bacteriana, con Agar Mueller-Hinton, con 7 pozos (de 6 mm de diámetro, por aproximadamente 0.5 cm de profundidad) previamente perforados con un horador estéril, deslizando el hisopo en tres direcciones sobre la totalidad de la superficie del agar para asegurar la siembra masiva de la cepa y el crecimiento uniforme. Se dejan reposar las cajas Petri de 5 a 10 minutos para que el inóculo se absorbiera sobre la superficie del agar.

Se colocan cinco concentraciones ($1200 \mu\text{g}$, $600 \mu\text{g}$, $300 \mu\text{g}$, $150 \mu\text{g}$ y $75 \mu\text{g}$ por cada $20 \mu\text{l}$ /pozo) de soluciones hexánicas con base a referencias bibliográficas, preparadas con aceites esenciales de follaje de cada una de las 7 especies de Lamiaceas estudiadas, un control positivo Tetraciclina, 1 mg/ml (De Feo *et al.*, 2003) y un control negativo (hexano, $20 \mu\text{l}$ /pozo) como testigos, para determinar si el disolvente residual tendría algún efecto antibacteriano.

Se dejaron reposar dentro de la campana de flujo laminar para eliminar el disolvente y permitir que los aceites se difundan a través del agar. Se incubaron a 37°C durante 24 hrs, después del periodo de incubación se observó la presencia o ausencia de halos de inhibición causados por los aceites esenciales de follaje, antibiótico y disolvente sobre cada una de las cepas probadas; estos se midieron con un vernier y los resultados se expresaron en mm del diámetro del halo de inhibición (Bauer *et al.*, 1966).

Ensayos de toxicidad sobre *Artemia salina*.

Las pruebas de toxicidad fueron llevadas a cabo *in vitro* usando nauplios (larvas) de la pulga de agua (*A. salina*), siguiendo el método de Meyer *et al.* (1982) y McLaughlin *et al.* (1998).

En un tubo de ensayo de 5 ml se colocó 1 ml de las concentraciones de aceite preparadas previamente, para cada una de las siete especies probadas, con una pipeta Pasteur se colocaron 10 nauplios de *Artemia salina* y el volumen de cada tubo se ajustó a 3 ml (1 ml de solución salina más 1 ml de solución salina con 10 nauplios y 1 ml de solución salina con aceites esenciales), cada tubo se consideró una réplica, preparándose cinco réplicas por concentración ensayada; inicialmente cada aceite se probó en tres concentraciones de 10, 100 y 1000 µg/ml, con base a referencias bibliográficas. Los testigos negativos se prepararon de la misma manera, pero a éstos no se les adicionan los aceites.

Los tubos destapados se colocan en una gradilla cerca del foco encendido; 24 hrs después, a simple vista se contó el número de larvas que se encontraban nadando (sobrevivientes), por diferencia se calculó el número de larvas muertas por tubo y se calculó el porcentaje de mortalidad con la siguiente fórmula:

$$100 B/A$$

Donde:

A: número de nauplios vivos en el testigo

B: número de nauplios vivos en el experimental

Dependiendo del porcentaje de mortalidad obtenido en esta primera prueba y siguiendo el método de McLaughlin *et al.* (1998), cada aceite se probó en dos concentraciones más, de 0.1 y 1.0 µg/ml, esto se hizo para probar cada uno de los aceites esenciales de follaje de las siete especies en cinco concentraciones, que es el número mínimo de datos requerido para que el programa SPSS 12.0 pueda realizar el análisis.

Los resultados obtenidos de las pruebas sobre *A. salina*, fueron analizados mediante una regresión lineal en Probit del Programa SPSS 12.0, usando los datos de supervivencia para calcular la concentración letal 50 (CL₅₀), con límites de confianza de 95%. La CL₅₀ es la concentración de un compuesto a la cual mueren el 50% de los individuos bajo estudio (McLaughlin *et al.*, 1998). Se consideró que los aceites esenciales de follaje produjeron toxicidad en *A. salina* cuando presentaron una CL₅₀ < 100 µg/ml (Alves *et al.*, 2000).

Ensayos sobre *Drosophila melanogaster*.

Para evaluar la actividad insecticida, los aceites esenciales de follaje se ensayaron en *Drosophila melanogaster* cepa silvestre (*Canton-S*) tomada de un cultivo que se mantiene en el Laboratorio de Etnobotánica del Centro de Investigaciones Biológicas, donada por el M. en C. Juan Carlos Gaytan Oyarzún, Laboratorio de Genética, CIB, UAEH.

Para hacer el ensayo, con unas gotas de éter se anestesiaron adultos de *D. melanogaster*, se colocaron cuatro individuos (sin sexar) en un tubo de ensayo de 3 ml al que se le colocó un tapón de hule espuma; uno o dos minutos después, las moscas se recuperaron de la anestesia.

Luego, en una balanza analítica se pesaron cinco cantidades de aceites esenciales de follaje: 0.3, 0.5, 1, 1.5 y 2 mg, para esto se tomaron alícuotas con un capilar con la punta estirada, el cual se pesó en la balanza previamente tarada (calibrada), cada muestra se colocó por capilaridad en un extremo de una tira de papel filtro de 0.5 x 5.0 cm y de inmediato se introdujeron en los tubos con los insectos.

Se consideró que los aceites se volatilizaron por lo que las concentraciones probadas fueron 0.1, 0.17, 0.3, 0.5 y 0.7 mg/ml de aire, cada concentración se probó por triplicado, para *S. mexicana* y *H. marifolia* se ensayaron dos concentraciones más: 0.1 y 0.005 mg (0.03 y 0.016 mg/ml de aire, respectivamente), debido a que los datos obtenidos en las cinco concentraciones eran muy altos y similares y el programa no los analizaba.

Se registró el tiempo al cual los insectos sufrían el efecto de caída repentina (“nock out”) u otra alteración de su comportamiento (movimientos de limpieza, nerviosismo, etc.) y se determinó el número de insectos muertos en 20 minutos, con estos datos se calculó el porcentaje de mortalidad con la misma fórmula empleada en *A. salina*. Con los porcentajes de mortalidad obtenidos, se realizó un análisis de varianza, para saber si se presentó un efecto experimental o no (Little y Hill, 1983), y una prueba de rango múltiple de Duncan para saber en que tratamientos hay diferencias (Little y Hill, 1983).

Después se obtuvieron las CL_{50} con el método de Probit. Este procedimiento se llevó a cabo con los aceites totales de las siete especies estudiadas, también se realizó con los aceites esenciales de flores de sólo dos especies (*Agastache mexicana* ssp. *mexicana* y *Satureja mexicana*), debido a la escasez de los aceites de flores en las otras cinco especies.

Ensayo sobre *Sitophilus zeamais*.

Los aceites esenciales de follaje también se ensayaron en adultos del gorgojo del maíz, *Sitophilus zeamais*, tomados de un cultivo que se mantiene en el Laboratorio de Etnobotánica del Centro de Investigaciones Biológicas de la UAEH. Seleccionado con base en su disponibilidad, por su facilidad de manejo y por su bajo costo de cultivo.

Los aceites esenciales de follaje se ensayaron al 0.5%, para lo que se preparó una dieta artificial que tenía como base harina de maíz (0.5 gr) y avena finamente molida (0.5 gr) a la cual se le adicionaron 0.0025 gr de aceites esenciales de follaje, pesados por medio de un capilar, se mezclaron perfectamente, para obtener los aceites restantes en el capilar, se tomaron unas gotas de éter etílico (previamente destilado) con el capilar, que también se vertieron a la mezcla y se dejó evaporar el disolvente, se le agregaron unas gotas de agua destilada a la mezcla y con esta pasta se prepararon pastillas sólidas (7 x 5 mm), que se cocieron en una parrilla de calentamiento sobre una caja Petri de cristal, únicamente para evaporar el agua destilada.

El testigo se preparó de igual forma, pero únicamente con éter etílico, también se dejó evaporar el disolvente. Con estas pastillas se hicieron ensayos de alimentación obligada en este insecto, se colocó una pastilla testigo en cinco cajas petri y una con aceites en cinco cajas petri de 6 cm de diámetro, a las cuales se introdujeron 5 adultos de *Sitophilus zeamais* (sin sexar), cada caja petri se consideró una réplica.

La actividad insecticida se evaluó mediante la determinación del consumo alimenticio y mortalidad producida. El consumo alimenticio se evaluó 24 hrs después contabilizando las excretas producidas por los insectos, empleando un microscopio estereoscópico; el promedio de éstas se usó para el cálculo del Índice de Actividad Alimentaria (IAA) con la siguiente fórmula:

$$IAA = 100 - [(X \text{ exp} / X \text{ test}) 100]$$

Donde:

X exp: consumo del experimento

X test: consumo del testigo

Se evaluó la mortalidad contando el número de insectos muertos. El porcentaje de mortalidad se obtuvo dividiendo el número de insectos muertos por tratamiento entre el número total de insectos incluidos en el mismo tratamiento. La mortalidad corregida (MC) se calculó utilizando la fórmula de Abbott (Abbott, 1925), la cual se presenta a continuación:

$$MC = (Y - X/100 - X) 100$$

Donde:

Y: Porcentaje de mortalidad del tratamiento

X: Porcentaje de mortalidad del testigo

Separación de los aceites esenciales.

Una vez comprobada la bioactividad de los aceites esenciales de follaje, se procedió a fraccionarlos, los aceites esenciales totales se aplicaron a un cromatofolio de 1.0 x 5.0 cm con gel de sílice de 60 nm de diámetro de partícula de 0.25 mm de espesor con indicador a 254 nm como fase estacionaria, como fase móvil se usó una mezcla de benceno-cloroformo (1:1), después de hacer la cromatografía el cromatofolio se observó bajo luz ultravioleta de longitud de onda larga y corta, apreciándose claramente los componentes de los aceites, a los cuales se les midió el tiempo de retención o Rf (Distancia que recorrió la fase móvil/distancia que recorrió el compuesto), esto para darnos una idea de que tan compleja era la composición de cada aceite esencial.

Con esta información se procedió a la separación de las bandas, únicamente de la especie que presentó mayor actividad antibacteriana. Para lo cual se utilizó una placa preparativa de gel de sílice de 22 nm de diámetro de partícula y de 20 x 20 x 0.25 cm, con indicador ultravioleta, a la cual se aplicaron 90 mg de aceite esencial de *Poliomintha longiflora*, eluyéndolos en hexano (previamente destilado), después se evaporó el disolvente contenido en la placa y se observó bajo luz ultravioleta visualizándose así las bandas existentes a las cuales se les midió el Rf correspondiente.

El aislamiento de estas bandas se llevó a cabo raspándolas y colocándolas por separado en matraces, donde se les agregó 50 ml de éter etílico (destilado) y filtrándolas con papel filtro Whatman no. 42, por último se evaporó el éter a baño María, obteniéndose de esta forma las bandas purificadas por separado.

Actividad antibacteriana de las bandas.

Cada una de las bandas obtenidas en la cromatografía en placa gruesa de *P. longiflora*, se probó por triplicado a una concentración de 500 µg/pozo sobre *S. aureus* ATCC 6538 (Gram +) y *S. typhimurium* (Gram -), del mismo modo que se probaron los aceites esenciales de follaje en el ensayo de actividad antibacteriana, para determinar en cual banda se encuentra la actividad, solo se probaron en estas bacterias puesto que la cantidad del compuesto de cada banda era insuficiente para probarlo en las tres cepas bacterianas.

Resultados

Rendimiento de los aceites esenciales.

En la tabla 1 se muestra la especie, el órgano utilizado, la cantidad de material utilizado, la cantidad y rendimiento de los aceites esenciales obtenidos de cada una de las especies estudiadas. Y como se puede observar en *A. mexicana* ssp. *mexicana*, se obtuvieron los mayores rendimientos de aceites en flores y *D. moldavica* presentó el mayor rendimiento de aceites esenciales en follaje.

En cinco de las siete especies, se obtuvo un mayor rendimiento de los aceites esenciales en flores que en follaje. Debido a que no fue posible obtener la suficiente cantidad de flores de *H. marifolia* para realizar una destilación, no se obtuvieron valores de rendimiento de aceites en flores. *C. lythrifolia* presentó un bajo rendimiento de aceites esenciales en flores (menor al obtenido en follaje). *A. mexicana* ssp. *mexicana*, *A. mexicana* ssp. *xolocotziana*, *C. lythrifolia*, *S. mexicana* y *P. longiflora* presentaron rendimientos de follaje del 0.02%, mientras que *H. marifolia* presentó un rendimiento de 0.04% y *D. moldavica* con un 0.25%, presentó el rendimiento más alto, si lo comparamos con las otras 6 especies.

Tabla 1. Rendimiento en porcentaje de los aceites esenciales de cada una de las especies por órganos.

Lista de especies	Órgano	Muestra fresca (grs)	Aceite esencial (grs)	Rendimiento (%)
<i>Agastache mexicana</i> ssp. <i>mexicana</i>	Tallos-Hojas	100	0.01975	0.02
	Flores	21	0.157	0.74
<i>Agastache mexicana</i> ssp. <i>xolocotziana</i>	Tallos-Hojas	100	0.02041	0.02
	Flores	7.5	0.054	0.72
Cunila lythrifolia	Tallos-Hojas	100	0.01916	0.02
	Flores	100	0.00947	0.01
Dracocephalum moldavica	Tallos-Hojas	100	0.2508	0.25
	Flores	6.5	0.0227	0.34
Satureja mexicana	Tallos-Hojas	100	0.01978	0.02
	Flores	53.4	0.1674	0.31
Hesperozygis marifolia	Tallos-Hojas	100	0.04301	0.04
	Flores	-----	-----	-----
Poliomintha longiflora	Tallos-Hojas	100	0.02394	0.02
	Flores	16	0.0710	0.44

(-) No presenta valores, debido a la escasez de flores para obtener los aceites esenciales.

Ensayos de actividad antibacteriana.

El método de Bauer (1966) fue modificado debido a que no se observaba algún efecto utilizando sensidiscos impregnados con los aceites, ya que no fue posible obtener una buena difusión de los aceites de los discos de papel filtro hacia el medio, por lo que se tuvieron que hacer pozos en el medio de cultivo. Los resultados obtenidos en los bioensayos de la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de follaje de las siete especies de Lamiaceae estudiadas se presentan en las tablas 2, 3 y 4.

Tabla 2. Actividad antibacteriana de los aceites esenciales de follaje de las siete especies de Lamiaceae sobre *E. coli* ATCC 53868. Las cifras representan el diámetro (mm) de las zonas de inhibición, cada una es el valor promedio de tres réplicas.

Especies	Concentración µg/ml					Tetraciclina 1000 µg/ml	Testigo
	150	300	600	1200	2400		
<i>Agastache mexicana</i> ssp. <i>mexicana</i>	-	7.0	7.6	8.3	10.3	15.6	-
<i>Agastache mexicana</i> ssp. <i>xolocotziana</i>	-	-	8.3	9.3	10.0	12.0	-
<i>Cunila lythrifolia</i>	-	-	5.6	6.0	9.0	10.0	-
<i>Dracocephalum moldavica</i>	13.0	16.3	17.6	19.6	22.3	12.3	-
<i>Satureja mexicana</i>	8.0	9.6	12.3	13.3	14.3	10.0	-
<i>Hesperozygis marifolia</i>	7.0	9.0	9.3	12.0	13.0	12.3	-
<i>Poliomintha longiflora</i>	7.6	9.6	10.6	13.3	16.3	15.6	-

(-) Sin inhibición.

En la tabla 2 se presentan los resultados que se obtuvieron al ensayar estos aceites en *E. coli* ATCC 53868, se encontró que todos los aceites presentaron actividad antibacteriana, al comparar entre especies y contra el antibiótico, ya que produjeron zonas de inhibición de distintos diámetros. Dependiendo de la concentración de aceites, se observa que los aceites esenciales de follaje de *D. moldavica*, seguido de *P. longiflora*, *S. mexicana* y *H. marifolia*, produjeron las zonas de inhibición de mayor diámetro, incluso algunas de estas fueron más grandes que los que produjo el antibiótico (Tetraciclina). El testigo no presentó actividad inhibitoria sobre *E. coli*.

En la tabla 3 se presentan los resultados que se obtuvieron al ensayar los aceites esenciales de follaje de las siete especies de Lamiaceae en *Salmonella typhimurium*, se encontró que todos los aceites presentaron actividad antibacteriana, debido a que produjeron zonas de inhibición de distintos diámetros, dependiendo de la concentración probada de aceites, se observa que los aceites esenciales de follaje de *H. marifolia*, seguida de *P. longiflora*, produjeron las zonas de inhibición de mayor diámetro, en las dos concentraciones más altas e incluso estas fueron más grandes que las que produjo el antibiótico. Sólo la subespecie *xolocotziana* y *D. moldavica*, no obtuvieron halos más grandes que el antibiótico. El testigo no presentó actividad inhibitoria sobre *S. typhimurium*.

Tabla 3. Actividad antibacteriana de los aceites esenciales de follaje de las siete especies de Lamiaceae sobre *S. typhimurium*. Las cifras representan el diámetro (mm) de las zonas de inhibición, cada una es el valor promedio de tres réplicas.

Especies	Concentración µg/ml					Tetraciclina 1000 µg/ml	Testigo
	150	300	600	1200	2400		
<i>Agastache mexicana</i> ssp. <i>mexicana</i>	7.0	7.6	7.6	8.6	10.6	10.3	-
<i>Agastache mexicana</i> ssp. <i>xolocotziana</i>	-	-	7.3	7.6	8.0	11.0	-
<i>Cunila lythrifolia</i>	-	-	-	-	13.3	10.0	-
<i>Dracocephalum</i> <i>moldavica</i>	-	-	9.0	9.0	9.0	15.3	-
<i>Gardoquia mexicana</i>	8.6	9.6	11.0	11.0	12.3	8.0	-
<i>Hesperozygis marifolia</i>	9.0	9.0	9.3	15.0	18.0	11.3	-
<i>Poliomintha longiflora</i>	8.0	10.0	11.0	14.3	14.6	13.3	-

- Sin inhibición.

En la tabla 4 se presentan los resultados que se obtuvieron al ensayar los aceites de las siete especies de Lamiaceae en *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, se encontró que todos los aceites presentaron actividad antibacteriana ya que produjeron zonas de inhibición de distintos diámetros, dependiendo de la concentración probada de aceites. Se observa que los aceites esenciales de follaje de *P. longiflora*, produjeron las zonas de inhibición de mayor diámetro, en las dos concentraciones más altas, seguida de *S. mexicana* y *H. marifolia*, aunque en este caso, los halos no fueron mayores a los producidos por el antibiótico (Tetraciclina) debido a que la cepa bacteriana resultó ser muy sensible, produciéndose así,

grandes halos de inhibición del antibiótico. El testigo no presentó actividad inhibitoria sobre *Staphylococcus aureus*.

Ensayos de toxicidad sobre *Artemia salina*.

Los resultados de la mortalidad que presentaron los aceites esenciales de follaje de las siete especies de Lamiaceae ensayadas en *Artemia salina*, se presentan en la tabla 5 en donde seis de estas especies mostraron porcentajes elevados de mortalidad sobre *A. salina* (tabla 5) y que los aceites de *P. longiflora* produjeron los valores más altos, seguida de *H. marifolia* y *D. moldavica*, esto demuestra la potente toxicidad presente en estas plantas. Los valores de la concentración letal 50 (CL_{50}) se obtuvieron mediante una regresión lineal en Probit del programa SPSS 12.0, usando los datos de supervivencia. Los valores de toxicidad calculados, revelan que los aceites de *P. longiflora* presentaron la mayor toxicidad con una CL_{50} de 3.69286 mg/ml, seguida de *H. marifolia* con un valor de la CL_{50} de 3.88581 mg/ml, los demás valores de la CL_{50} se muestran junto con los Límites de Confianza en la tabla 6.

Tabla 4. Actividad antibacteriana de los aceites esenciales de follaje de las siete especies de Lamiaceae sobre *S. aureus* ATCC 6538. Las cifras representan el diámetro (mm) de las zonas de inhibición, cada una es el valor promedio de tres réplicas.

Especies	Concentración $\mu\text{g/ml}$					Tetraciclina 1000 $\mu\text{g/ml}$	Testigo
	150	300	600	1200	2400		
<i>Agastache mexicana</i> ssp. <i>mexicana</i>	-	-	7.6	9.6	11.6	36.0	-
<i>Agastache mexicana</i> ssp. <i>xolocotziana</i>	7.0	7.0	8.0	10.0	11.0	32.0	-
<i>Cunila lythrifolia</i>	-	7.0	8.0	8.3	9.3	32.0	-
<i>Dracocephalum</i> <i>moldavica</i>	-	-	8.0	8.0	10.3	33.0	-
<i>Gardoquia mexicana</i>	9.0	10.0	10.6	12.3	12.6	34.3	-
<i>Hesperozygis marifolia</i>	9.3	10.0	10.6	11.6	12.3	34.3	-
<i>Poliomintha longiflora</i>	8.0	10.0	10.3	12.3	13.3	39.3	-

- Sin inhibición.

Tabla 5. Porcentaje de mortalidad (promedio de muestras por triplicado) producida en *Artemia salina* por los aceites esenciales de follaje de las siete especies de Lamiaceae.

Lista de especies	Concentraciones µg/ml				
	0.1	1	10	100	1000
<i>Agastache mexicana</i> ssp. <i>mexicana</i>	0	2	100	100	100
<i>Agastache mexicana</i> ssp. <i>xolocotziana</i>	2	8	70	70	100
<i>Cunila lytrhifolia</i>	4	8	16	100	100
<i>Dracocephalum moldavica</i>	2	10	100	100	100
<i>Satureja mexicana</i>	2	6	10	78	100
<i>Hesperozygis marifolia</i>	4	10	100	100	100
<i>Poliomintha longiflora</i>	6	12	100	100	100

Los aceites esenciales de follaje de seis (86%) de las siete especies estudiadas mostraron valores de $CL_{50} < 100$ mg/ml, por lo que fueron considerados como tóxicos en *A. salina*, de acuerdo con el criterio previamente establecido (Zani *et al.*, 1995; Alves *et al.*, 2000); debido a la elevada toxicidad que presentaron estas seis especies seguirán siendo organismos importantes de estudios futuros.

Tabla 6. CL_{50} y Límites de Confianza de 95% de los aceites esenciales de follaje de las siete especies de Lamiaceae probados en *A. salina*.

Lista de especies	CL_{50} mg/ml	Límites de Confianza de 95%	
		Bajo	Alto
<i>Poliomintha longiflora</i>	3.692	2.66592	5.71777
<i>Hesperozygis marifolia</i>	3.885	2.81964	5.96511
<i>Dracocephalum moldavica</i>	4.029	2.95685	6.00651
<i>Agastache mexicana</i> ssp. <i>mexicana</i>	4.137	-----	-----
<i>Cunila lytrhifolia</i>	33.283	21.49201	81.90573
<i>Agastache mexicana</i> ssp. <i>xolocotziana</i>	53.019	24.70616	120.43004
<i>Satureja mexicana</i>	251.055	97.64517	187.89852

no determinado.

Más aún, si se hubiera considerado una $CL_{50} < 1000$ mg/ml como criterio de toxicidad, como lo hizo (Alkofahi *et al.*, 1989), entonces resultaría que el 100% de las plantas incluidas en el estudio serían tóxicas, aunque ambos criterios son aceptados un valor de CL_{50} bajo representa mayor toxicidad.

Ensayos sobre *Drosophila melanogaster*.

Entre los efectos que se observaron en los individuos de *D. melanogaster* expuestos a los aceites esenciales, se observaron desordenes como movimientos de limpieza y nerviosismo, caídas repentinas o efecto de Knock out. El efecto de Knock out se presentó dentro de los primeros 20 segundos de exposición en 6 especies, únicamente *Satureja mexicana* no presentó este efecto Knock out, la razón se desconoce. González y Rovalo (1984) atribuyeron los desordenes en el comportamiento de las moscas a un efecto tóxico de los aceites esenciales sobre el sistema nervioso.

En la tabla 7 se encuentran los resultados de los aceites esenciales de follaje probados sobre *D. melanogaster* que muestra un efecto experimental producido por los tratamientos, siendo las diferencias significativas (Anova, $p < 0.05$).

Tabla 7. Mortalidad porcentual producida en *D. melanogaster* por los aceites esenciales de follaje de las siete especies de Lamiaceae estudiadas. Valores promedio \pm Error estándar de tres réplicas.

Lista de especies	Concentraciones (mg/ml de aire)				
	0.1	0.17	0.3	0.5	0.7
<i>Satureja mexicana</i>	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a
<i>Hesperozygis marifolia</i>	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a
<i>Agastache mexicana</i> ssp. <i>xolocotziana</i>	33.33 \pm 8.3bc	83.33 \pm 8.3a	83.33 \pm 8.3ab	91.66 \pm 8.3ab	100 ^a
<i>Dracocephalum moldavica</i>	66.66 \pm 8.3ab	83.33 \pm 8.3a	83.33 \pm 8.3ab	91.66 \pm 8.3ab	100 ^a
<i>Agastache mexicana</i> ssp. <i>mexicana</i>	33.33 \pm 8.3bc	83.33 \pm 16.7a	83.33 \pm 16.7ab	83.33 \pm 16.7abc	91.66 \pm 8.3ab
<i>Cunila lyrthifolia</i>	0 \pm 0.0c	0 \pm 0.0b	25 \pm 14.4bc	33.33 \pm 8.3bcd	58.33 \pm 22abc
<i>Poliomintha longiflora</i>	0 \pm 0.0c	0 \pm 0.0b	0 \pm 0.0c	0 \pm 0.0d	0 \pm 0.0c

En cada columna los valores con una letra en común no son significativamente diferentes ($p < 0.05$), de acuerdo con la Prueba de Rango Múltiple de Duncan (Little y Hill, 1983). En una columna, las letras resultantes de la prueba de rango múltiple de Duncan (tabla 7), nos indican que tratamientos fueron diferentes entre sí (letras diferentes) y cuales no (letras iguales), ya que el análisis de varianza sólo reveló un efecto experimental general en este ensayo, pero no en que concentraciones y entre que especies.

Se encontró que los aceites esenciales de follaje de *S. mexicana* mostraron la mayor actividad insecticida, ya que presentaron una CL_{50} de 0.01438 mg/ml de aire (Tabla 8), le siguió en actividad *A. mexicana* ssp. *mexicana* con una CL_{50} de 0.02586 mg/ml de aire; los aceites de *P. longiflora* no presentaron actividad insecticida.

Tabla 8. Valores de la CL_{50} y los Límites de Confianza, para cada una de las siete especies probadas sobre *D. melanogaster*.

Lista de especies	CL_{50} mg/ml de aire	Límites de Confianza de 95%	
		Bajo	Alto
Satureja mexicana	0.01438	***	***
<i>Agastache mexicana</i> ssp. <i>mexicana</i>	0.02586	-1.0405	0.19889
<i>Hesperozygis marifolia</i>	0.02995	-0.06985	0.05356
<i>Dracocephalum moldavica</i>	0.11740	-0.08727	0.21676
<i>Agastache mexicana</i> ssp. <i>xolocotziana</i>	0.16216	0.02987	0.27008
<i>Cunila lythrifolia</i>	0.61460	0.45040	1.37692
<i>Poliomintha longiflora</i>	-----	-----	-----

Sin actividad * Sin valores

Los aceites esenciales de las flores de estas dos especies produjeron 100% de mortalidad en las cinco concentraciones probadas (tabla 9).

Tabla 9. Porcentaje de mortalidad producida en *D. melanogaster* por los aceites esenciales de las flores de dos especies de Lamiaceae. Las cifras son el valor promedio de tres réplicas por concentración.

Lista de especies	Concentraciones (mg/ml de aire)				
	0.1	0.17	0.3	0.5	0.7
<i>Agastache mexicana</i> ssp. <i>mexicana</i>	100	100	100	100	100
<i>Satureja mexicana</i>	100	100	100	100	100

No se calculo la CL_{50} para esta última prueba, debido a que los cinco valores son iguales y la regresión lineal de Probit del Programa SPSS 12.0 no analiza estos valores.

Ensayos sobre *Sitophilus zeamais*.

Se encontró que hubo un consumo alimenticio diferencial entre los tratamientos, los adultos de *S. zeamais* que recibieron la dieta con aceites esenciales de follaje produjeron un menor número de excretas con respecto a los insectos que recibieron la dieta sin aceites, es decir, que los primeros consumieron menos alimento que los segundos, al procesar los datos se obtuvieron elevados Índices de Actividad Antialimentaria (IAA), en los tratamientos con aceites (tabla 10); al analizar los datos se encontró que las diferencias de consumo fueron estadísticamente significativas (Análisis de Varianza de una clasificación por Rangos de Kruskal-Wallis $p < 0.02$. Siegel, 2001), con lo que se pudo concluir que los aceites esenciales de follaje de las especies de Lamiaceae inhibieron la alimentación de *S. zeamais*.

Al comparar los datos entre los tratamientos (tabla 10) se encontró que el consumo alimenticio de los insectos tratados con los aceites de *A. mexicana* ssp. *xolocotziana* fue menor que el consumo del resto de los tratamientos y en éste se obtuvo el mayor índice de actividad antialimentaria; seguida en actividad antialimentaria por los aceites de *H. marifolia* y *P. longiflora*, y después los aceites de *A. mexicana* ssp. *mexicana*, *D. moldavica*, *S. mexicana* y *C. lythrifolia*.

Por otra parte, los aceites esenciales de follaje de tres de las siete especies de Lamiaceae estudiadas produjeron mortalidad significativa en *S. zeamais* (Análisis de Varianza de una clasificación por Rangos de Kruskal-Wallis, $p < 0.05$, Siegel, 2001). *S. mexicana* presentó la mayor Mortalidad Corregida (MC) con un 68%, seguida de *H. marifolia* con 32% y de *P. longiflora* con 28%, el resto de los aceites no produjo mortalidad (tabla 10). Puesto que los aceites de *S. mexicana* fueron los que produjeron la mayor mortalidad (68%) y una actividad antialimentaria elevada (67.90%), se consideró que ésta fue la especie con más actividad insecticida en *S. zeamais*.

Tabla 10. Índice Actividad Antialimentaria (IAA) y porcentaje de Mortalidad Corregida (MC), obtenidos al ensayar los aceites esenciales de follaje al 0.5% sobre *Sitophilus zeamais*, para cada una de las especies estudiadas.

Lista de especies	IAA	MC
<i>Agastache mexicana</i> ssp. <i>mexicana</i>	67.22±4.1	0±0.0
<i>Dracocephalum moldavica</i>	67.22±7.4	0±0.0
<i>Satureja mexicana</i>	67.90±9.9	68±17.0
<i>Cunila lythrifolia</i>	69.93±5.0	0±0.0
<i>Poliomintha longiflora</i>	70.60±6.0	28±11.3
<i>Hesperozygis marifolia</i>	71.95±3.9	32±6.9
<i>Agastache mexicana</i> ssp. <i>xolocotziana</i>	89.86±3.4	0±0.0

Valores promedio ± Error Estándar de cinco réplicas.

Revisión de ejemplares de herbario.

De la consulta de ejemplares realizada en el Herbario Nacional MEXU se logró obtener la siguiente información acerca de las siete especies de Lamiaceae incluidas en el estudio. Se presenta el nombre de la especie, entidad federativa y número de ejemplar; en lo que se refiere a Hidalgo se presenta el municipio de colecta y el número de ejemplar.

A. mexicana ssp. *mexicana*: D.F., 838103; Guanajuato, 963978; Hidalgo, (Apan, 116384; Actopan, 26796; San Miguel Regla, 252866; Tepeapulco, 257144; Zacualtipán, 1050824; Zimapán, 61850); México, 265602; Michoacán, 389327; Morelos, 55560; Puebla, 838104; Querétaro, 493545; San Luis Potosí, 484857; Tlaxcala, 808111 y Veracruz, 641666.

A. mexicana ssp. *xolocotziana*: Hidalgo, (Tulancingo, 70013); México, 838102 y Puebla, 781443.

C. lythrifolia: D.F., 803711; Hidalgo, (Huasca de Ocampo, 909527; El Chico, 1152124; Zimapán, 878225); Jalisco, 734119; México, 817656; Morelos, 702075; Querétaro, 826434; Tlaxcala, 808111 y Veracruz, 730103.

D. moldavica: D.F., 270517 México, 838120 y Puebla, 696291.

H. marifolia: Guanajuato, 766101; Hidalgo, (Cardonal, 516523; Nicolás Flores, 623098; Zimapán, 602589); Querétaro, 57727 y S. L. P., 27479. En el Herbario se observaron ejemplares de *H. marifolia* aún identificados como *Poliomintha marifolia* de S. L. P., 4076S.

-
- P. longiflora*: Coahuila, 28005; Nuevo León, 814095; Querétaro, 10298; Tamaulipas, 489715; Zacatecas, 334245. No se encontró ejemplar de *P. longiflora* proveniente del estado de Hidalgo, depositado en el Herbario Nacional MEXU. Al cotejar el ejemplar colectado en Hidalgo para el presente estudio con los ejemplares depositados en el Herbario Nacional MEXU, se corroboró la identidad taxonómica de *Poliomintha longiflora*.
- S. mexicana*: Guanajuato, 692103; Guerrero, 946030; Hidalgo, (Huasca de Ocampo, 1049065; Mezquitlán, 995276; Mezquititlán, 489369; Orizabita, 398090; Tolantongo, 59282; Zimapán, 308837); Oaxaca, 1049840; Querétaro, 558295 y Veracruz, 4882.

Discusión

Rendimiento de los aceites esenciales.

El rendimiento de los aceites esenciales varía de una especie a otra y entre la misma especie también hay variación del rendimiento de aceites (De Feo, *et al* 2003), pero la gran diferencia en los aceites de las subespecies de *Agastache*, solo se explica debido a una mala separación de los mismos en la etapa de la fase acuosa, lo que se podría extender a las otras especies.

Ensayo de actividad antibacteriana.

Las infecciones microbianas producen altos riesgos para la salud debido a la resistencia o multiresistencia bacteriana a los antibióticos que continuamente aparecen (Alves *et al.*, 2000; Hernández *et al.*, 2003; Awal *et al.*, 2004). Investigadores de todo el mundo están muy ocupados buscando potentes remedios contra las enfermedades infecciosas a través del descubrimiento de nuevos y efectivos agentes quimioterapéuticos presentes en plantas, bacterias y organismos marinos (Awal *et al.*, 2004).

En este contexto, resalta la importancia de las plantas medicinales investigadas, ya que las siete especies mostraron actividad antibacteriana en las tres cepas utilizadas, lo que las revela como una fuente potencial de agentes antiinfecciosos, además de que sólo se cuenta con un antecedente de actividad antibacteriana de *C. lythrifolia*, realizado con extractos (Rojas *et al.*, 2001), pero para las otras seis especies no se tiene registrado ningún trabajo sobre actividad antibacteriana, tóxica o insecticida.

Al igual que las siete especies aquí estudiadas, otras especies de la familia Lamiaceae han mostrado tener actividad biológica sobre microorganismos patógenos del hombre, apoyando así varios usos tradicionales (Aligiannis *et al.*, 2001; Elegami *et al.*, 2001; Tabanca *et al.*, 2001; Mímica *et al.*, 2004). Sin

embargo, algunas especies de esta misma familia, como *Salvia micella*, han resultado ser inactivas en *E. coli* y *S. typhimurium* (Morales *et al.*, 2004).

En diversos estudios, los aceites esenciales de las especies de Lamiaceas, presentan una fuerte inhibición del crecimiento bacteriano (Ríos, 1987; Alves *et al.*, 2000; Tabanca *et al.*, 2001; Horváth *et al.*, 2002; De Feo *et al.*, 2003; Mímica *et al.*, 2004), y en México varias de estas especies son ampliamente utilizadas para tratar infecciones gastrointestinales (Hernández *et al.*, 2003), como es el caso de las especies objeto de esta investigación. En lo que respecta a los aceites esenciales de *P. longiflora*; Zheng y Wang (2001) reportaron elevados contenidos de compuestos fenólicos y que los aceites esenciales ricos en este tipo de compuestos poseen niveles altos de actividad antimicrobiana (Aligiannis *et al.*, 2001; De Feo *et al.*, 2003) es posible que la inhibición del crecimiento en *E. coli*, *S. aureus* y *S. typhimurium* mostrado por los aceites de *P. longiflora*, se deba a su contenido en estos compuestos fenólicos.

Los resultados presentados en las tablas 2, 3, y 4, son similares a los obtenidos por Khan *et al.* (2001a, b, c, d y e), que reportaron que *S. aureus*, *S. typhimurium* y *E. coli* resultaron ser susceptibles a los extractos de las plantas medicinales que probaron. En la evaluación antibacteriana, se obtuvieron halos de inhibición más grandes con los aceites esenciales de follaje de *P. longiflora*, *H. marifolia*, *S. mexicana*, *D. moldavica*, *A. mexicana* ssp. *mexicana* y *A. mexicana* ssp. *xolocotziana* sobre *E. coli*; y de *P. longiflora*, *H. marifolia*, *S. mexicana*, *A. mexicana* ssp. *mexicana* y *A. mexicana* ssp. *xolocotziana* sobre *S. aureus*, que los obtenidos por Zeki *et al.*, 2001, con los aceites esenciales de *Salvia tomentosa*, probados a una concentración de 30 µl/disco.

Los aceites esenciales de follaje de *D. moldavica* fueron los que produjeron las mayores zonas de inhibición, y esto solo ocurrió en *E. coli*; por la magnitud del diámetro de la zona de inhibición seguidos por los aceites de *P. longiflora*, *H. marifolia* y *S. mexicana* que presentaron la mayor actividad antibacteriana en la cepa, *E. coli* resulto ser, aparentemente, la más susceptible a los aceites esenciales de follaje de las siete especies.

Si bien, se encontró que todos los aceites inhibieron el crecimiento de las tres cepas bacterianas utilizadas, la susceptibilidad de estos microorganismos fue diferencial. Las bacterias Gram negativas, *E. coli* y *S. typhimurium* resultaron ser más susceptibles a los aceites esenciales de follaje que la bacteria Gram positiva, *S. aureus*, las mayores zonas de inhibición se obtuvieron en las dos bacterias Gram negativa, especialmente en *E. coli*, en donde inclusive los aceites esenciales de follaje de *D. moldavica* produjeron las zonas de inhibición de mayor diámetro del estudio (22.3 mm).

Los resultados obtenidos van de acuerdo con Rojas *et al.* (2001) que reportan que los extractos de *C. lythrifolia* presentaron actividad antibacteriana mínima

inhibitorias a una concentración superior a los 5 mg/ml sobre *E. coli* y *S. aureus*, aunque aquí se reporta actividad a una concentración de 15 mg/ml y 60 mg/ml, respectivamente.

Estos resultados fueron diferentes a los encontrados por otros autores quienes reportaron mayor susceptibilidad a compuestos vegetales de las bacterias Gram positivas (Torres, 1988; Alves *et al.*, 2000; Ebi y Kamalu, 2001; Elegami *et al.*, 2001; De Feo *et al.*, 2003; Hernández *et al.*, 2003). Así, estas especies de Lamiaceae serían más útiles para tratar infecciones ocasionadas por bacterias Gram negativas, o por lo menos para problemas causados por *E. coli* y *S. typhimurium*.

Se debe tomar en cuenta que el tamaño de los diámetros de las zonas de inhibición son diferentes para cada compuesto y que las propiedades de difusión y solubilidad de cada compuesto en el medio Mueller-Hinton son diferentes, debido a las propiedades hidrofílicas de los mismos, ya que no permite su fácil difusión hacia el medio de cultivo. Este es uno de los problemas que se enfrentan al trabajar con aceites esenciales y cultivos bacterianos (Bauer *et al.*, 1966; Alves *et al.*, 2000), además, es razonable suponer que hay diferencias sensitivas a los compuestos de acuerdo a la constitución de la envoltura celular y permeabilidad de la células bacterianas (De Feo *et al.*, 2001).

Puesto que los aceites esenciales de las siete especies de plantas estudiadas mostraron actividad antibacteriana, se considera que los resultados vienen a reforzar la importancia de la información etnomedicinal para la investigación de actividad biológica (Alves *et al.*, 2000), en el combate contra las infecciones y en la búsqueda de nuevos medicamentos (Asres *et al.*, 2001).

Artemia salina.

Este es el primer reporte acerca de la toxicidad en *Artemia salina* de los aceites esenciales de follaje de estas siete especies de Lamiaceae. Estas especies mostraron fuerte toxicidad con concentraciones menores a la reportada por Awal *et al.* (2004) en *Cassia alata* y por Hernández, (2004) con *Pentalinon andrieuxii*.

Además, el porcentaje (86%) de especies tóxicas en *A. salina* fue mayor que el establecido por Zani *et al.* (1995) quienes encontraron toxicidad en *A. salina* en el 10% de las 52 especies de Asteraceae que estudiaron y por Alves *et al.* (2000) quienes también hallaron toxicidad en el 10% de las 60 especies vegetales ensayadas.

El elevado porcentaje de especies vegetales tóxicas en *A. salina*, revela a estas plantas como una fuente de moléculas bioactivas, por tanto, los aceites esenciales podrían ser estudiados en otros modelos experimentales, por ejemplo podrían ser probados en cultivos de líneas celulares cancerígenas ya que se ha encontrado correlación positiva entre toxicidad en *A. salina* y citotoxicidad en diversas líneas celulares (Awal *et al.*, 2004).

Drosophila melanogaster.

Esta es la primera vez que se evalúa la actividad insecticida de los aceites esenciales de follaje estas siete especies de Lamiaceae en la mosca de la fruta, en donde se encontró que seis de las especies fueron muy activas ya que mostraron bajos valores de la CL_{50} , en este caso la actividad podría deberse a la presencia de pulegona, isopulegona y mentona en los aceites, sin embargo, sería necesario purificar a estas sustancias y comprobar que son los principios activos. Por otra parte, como los aceites esenciales de flores de *A. mexicana* ssp. *mexicana* y de *S. mexicana* tuvieron una mayor actividad insecticida que los aceites de follaje, esta diferencia de actividad quizá se debe a que en las flores hay una mayor cantidad de aceites y probablemente del principio activo como fue el caso de *Santolina chamaecyparissus* (Brunke et al., 1993), y de *Hedeoma piperita* (Romo, 2000).

Se considera que los aceites esenciales follaje de estas especies de Lamiaceae presentaron un importante efecto fumigante en *D. melanogaster*, esto queda de manifiesto si se toma en cuenta que el efecto se evaluó en 20 minutos en comparación con otros autores que han evaluado efectos en 24 hrs (González y Rovalo, 1984) y 72 horas (Park y Shin, 2005).

Sitophilus zeamais.

Anteriormente, no se habían ensayado los aceites esenciales de follaje de estas especies de Lamiaceae en *Sitophilus zeamais*; en esta ocasión se hizo con el objetivo de buscar actividad insecticida, lo cual en primer lugar se efectuó mediante la determinación del consumo alimenticio y el cálculo de la actividad antialimentaria lo que se logró aplicando los aceites esenciales de follaje en una dieta artificial y evaluando su consumo, como lo recomienda Rhoades (1979).

En este caso el 100% de los aceites exhibieron índices de actividad antialimentaria elevada, esto contrasta con el bajo porcentaje de especies con efecto insecticida que hallaron Rodríguez y Lagunes (1992) quienes encontraron que de las 108 plantas seleccionadas de acuerdo con su disponibilidad en el medio, sólo 11 (10%) presentaron efectos insecticidas.

Esta marcada diferencia probablemente se deba a que cuando se hacen estudios de actividad biológica de plantas silvestres seleccionadas al azar, se pueden encontrar principios activos en el 10% de las especies, pero cuando la selección se basa en el uso popular, particularmente en el uso medicinal se han encontrado actividad farmacológica y principios activos en el 100% de las especies así seleccionadas (Estrada y Quezada, 1995). Siguiendo este mismo criterio Miyazawa et al. (1998, 1999, 2004) han encontrado actividad insecticida en plantas usadas en la medicina tradicional China.

Los aceites de cuatro de las especies estudiadas solo inhibieron la alimentación de *S. zeamais* y las otras tres especies provocaron mortalidad lo que sugiere

que los compuestos vegetales ocasionaron un efecto tóxico fumigante y/o por contacto (Guillen, 1996; Rodríguez y Djair, 1998; Silva, 2001).

En cuatro de las especies estudiadas se detectó la presencia de pulegona, isopulegona y mentona, esto fue en *A. mexicana* ssp. *mexicana* y *xolocotziana*, *S. mexicana* y *H. marifolia*. Chávez (1986) y Aguirre (2003) ya habían encontrado estas sustancias en las dos especies de *Agastache*; Majarrez y Mendoza (1966) reportaron que la subespecie *mexicana* contiene 39.85% y 46.75%, respectivamente de pulegona y mentona.

Lewis y Friedrich (1990) detectaron la presencia de pulegona (77%) en *Poliomintha incana*, es posible que la actividad insecticida de las cuatro especies citadas al principio del párrafo, se deba a que contienen estos terpenos y por lo menos la pulegona ha mostrado actividad insecticida en *S. zeamais* (Romo, 2000). Ahora bien, la diferencia de actividad insecticida entre las cuatro especies seguramente se debe a que las concentraciones de los compuestos, depende de la especie y de otros factores fisiológicos (Mabry y Gill, 1979).

Los resultados obtenidos acerca de la actividad insecticida de estos productos naturales cobra más importancia si se considera que los productos químicos sintéticos han sido eficientes, sin embargo, su uso ha provocado la presencia de altos niveles de residuos en los alimentos, desequilibrio biológico debido a la eliminación de enemigos naturales, contaminación ambiental, intoxicación de las personas y surgimiento de poblaciones de insectos resistentes, entre otros efectos (Rodríguez y Djair, 1996; 1998).

Entre las investigaciones que se desarrollan en la actualidad, tendiendo a mejorar el ambiente y la calidad de vida, destacan aquellas encaminadas a reducir el uso de plaguicidas (Arata, 1984; González y Rovalo, 1984), en donde las plantas han provisto alternativas potenciales a los insecticidas más usados que causan resistencia, así como daños a la salud humana y al medio (Rodríguez y Lagunes, 1992; Rodríguez y Djair, 1996; Miyazawa *et al.*, 2004). Además, *S. zeamais* es una de las principales plagas del maíz almacenado en México (Rodríguez y Lagunes, 1992), por lo que las investigaciones sobre la actividad biológica de diversos compuestos orgánicos de origen vegetal, sobre el comportamiento y metabolismo de estos insectos, ofrecen un futuro promisorio (González y Rovalo, 1984).

Actividad antibacteriana de las bandas y Cromatografías.

El carvacrol, presenta amplia actividad antibacteriana (Ultee *et al.*, 1998; Menéndez y Pavón, 1999; Ultee *et al.*, 2000; Kunle *et al.*, 2003; Burt *et al.*, 2005) y reportada actividad insecticida (Isman *et al.*, 2001), componente que le confiere la alta actividad antibacteriana a *P. longiflora*, debido a que se encuentra en el 100% de sus aceites esenciales de follaje.

La pulegona presenta mayor actividad insecticida sobre *D. melanogaster* que la mentona, pero mezcladas, presentan mayor actividad (Franzios *et al.*, 1997). Esta podría ser la causa por la cual la subespecie *xolocotziana* sea más activa que la subespecie *mexicana*, sobre *D. melanogaster*, y posiblemente sobre *S. zeamais*, ya que en los aceites esenciales de follaje de la subespecie *xolocotziana* se presentan ambos componentes en sus aceites, en grandes cantidades (Aguirre, 2003; Estrada *et al.*, 2004), y aunque Chávez (1986), Contreras (1987) y Martínez *et al.* (1995) reportan ambos compuestos en los aceites de la subespecie *mexicana*, no reportan en qué porcentaje se encuentra y Estrada *et al.* (2004) no reportan la presencia de estos dos componentes en los aceites esenciales.

Hay una relación entre la actividad de *A. mexicana* ssp. *xolocotziana* sobre *S. zeamais*, ya que obtuvo el mayor índice de Actividad Antialimentaria, y presenta el mayor porcentaje de pulegona entre sus aceites esenciales 80.07% (Aguirre, 2003), esto coincide con los resultados de Romo (2000), puesto que la pulegona resultó ser efectiva sobre *S. zeamais* al inhibir su alimentación, esto mismo debió ocurrir con la actividad presentada por *S. mexicana* y *H. marifolia*; y posiblemente el carvacrol presente en *P. longiflora* fue el componente activo que actuó sobre *Sitophilus zeamais*.

Conclusiones

Los resultados confirman y validan el uso medicinal tradicional atribuido a las siete especies de Lamiaceas, la acción curativa de las plantas estudiadas, probablemente se debe en parte, a su actividad antibacteriana, lo que apoya la primera hipótesis propuesta.

Se demostró que los aceites esenciales de follaje de las siete especies presentan actividad antibacteriana (a diferentes grados dependiendo de la concentración), sobre las cepas de *Escherichia coli* ATCC 53868, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Salmonella typhimurium*, que son potenciales agentes causantes de infecciones respiratorias y gastrointestinales, lo que apoya la segunda hipótesis.

Se confirmó que los aceites esenciales de follaje de estas especies de plantas mostraron actividad insecticida en *Drosophila melanogaster* y *Sitophilus zeamais*, con lo cual se apoya la tercera hipótesis propuesta y se amplían las posibilidades de aplicaciones de los productos de estas plantas.

Los aceites esenciales de follaje de *A. mexicana* ssp. *mexicana*, *A. mexicana* ssp. *xolocotziana*, *D. moldavica*, *S. mexicana* y *H. marifolia*, presentan un efecto insecticida sobre los adultos de la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, en forma fumigante dependiendo del contenido de pulegona en sus aceites esenciales, el efecto de Knock out y la mortalidad se presentan en el tiempo, según la concentración de aceites utilizadas.

Los aceites esenciales de follaje de las siete especies de Lamiaceae presentan un alto grado de toxicidad sobre individuos de *Artemia salina*, lo que las hace especies adecuadas para continuar con su estudio sobre toxicidad o en otros bioensayos (e. g. citotoxicidad).

P. longiflora, pudiera ser la especie más interesante para investigar a futuro, sí bien no presentó actividad insecticida sobre *D. melanogaster*, fue la segunda especie más activa sobre *E. coli*, *S. typhimurium* y *S. zeamais*, además de ser la especie más activa sobre *S. aureus* y *A. salina*.

Es necesario profundizar en el estudio de especies como *Satureja mexicana* y *Hesperozygis marifolia*, ya que se cuenta con escasa información sobre estas especies, que también resultaron ser plantas con prometedora actividad biológica.

Este es el primer estudio de actividad biológica y químico de *Satureja mexicana*.

La pulegona le confiere actividad insecticida a la subespecie *xolocotziana*, *Satureja mexicana* y *Hesperozygis marifolia*.

Los resultados obtenidos apoyan la idea que dentro de la familia Lamiaceae es posible encontrar especies que contengan sustancias bioactivas útiles para el hombre.

Una sola especie vegetal presenta una variedad de actividades biológicas diversas que no se detectaran, a menos que se realicen los ensayos adecuados.

La variación de la actividad entre especies por ensayo, posiblemente se deba a la presencia y la mezcla de los componentes presentes en los aceites esenciales de follaje y a las respuestas fisiológicas del insecto.

El conocimiento tradicional de las plantas medicinales es una guía segura y confiable en el estudio y la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos, por lo tanto, es necesario continuar su investigación, a fin de conocer nuevos efectos y conocer los componentes responsables de su actividad biológica. Este estudio es una contribución al conocimiento de la herbolaria tradicional mexicana.

Agradecimientos

Este estudio se realizó con apoyo del Programa Institucional de Investigación de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo Proyecto Antibacterianos e insecticidas vegetales de cinco regiones de Hidalgo UAE-DIP-ICBI-AAB 06.

Bibliografía

- Abbott, W. S. 1925. A Method of Computing the effectiveness of an Insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 18: 262-267.
- Aguilar, C. A., J. R. Camacho P., S. Chino V., P. Jacquez R., M. E. López y H. Cruz. 1996. Plantas Medicinales del Herbario del IMSS: Cuadros Básicos por Aparatos y Sistemas del Cuerpo Humano. Instituto Mexicano del Seguro Social. México, D. F. 218 p.
- Aguirre, H. A. 2003. Estudio Fitoquímico y Farmacológico de *Agastache mexicana* ssp. *mexicana* y *Agastache mexicana* ssp. *xolocotziana*. Tesis de Maestría. Instituto de Recursos Naturales. Colegio de PostGraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 122 p.
- Alanis, F. G. J. y R. Foroughbakhch. 2004. Los Estudios Etnobotánicos como Fundamento para Nuevos Recursos Alimentarios: La Potencialidad del “Orégano de Nuevo León” *Poliomintha longiflora* Gray, en el Norte de Nuevo León, México. V Congreso Regional en Ciencias de los Alimentos. En: <http://www.uanl.mx/publicaciones/respyn/especiales/ee-1-2004/44.htm>
- Aliigiannis, N., E. Kalpoutzakis, S. Mitaku y I. B. Chinou. 2001. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two *Origanum* Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 4168-4170.
- Alkofahi, A., J. K. Rupprecht, J. E. Anderson, J. L. McLaughlin, K. L. Mikolajczak y B. A. Scott. 1989. Search for New Pesticides from Higher Plants. En: Arnason, J. T., J. R. Philogène y P. Morand (eds.). *Insecticides of Plant Origin*. American Chemical Society. Washington, D. C. p. 25-43.
- Alonso, M. C., F. Lara O., B. Esquivel R. y R. Mata. 1999. Plantas Medicinales de México II. Instituto de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 178 p.
- Alves, T. M. A., A. Fonseca S., M. Brandão, T. S. Mesquita G., E. F. A. Smânia, A. Smânia J. y C. Leomar. 2000. Biological Screening of Brazilian Medicinal Plants. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 95 (3): 367-373.
- Arata, A. A. 1984. El Uso de Plaguicidas en la Agricultura y la Salud Pública. El punto de Vista de la Ecología Humana. *Folia Entomológica* 63: 83-101.
- Argueta, A. (Coord.). 1994a. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. 3 Vols. Instituto Nacional Indigenista. México, D. F. 1786 p.
- Asres, K., F. Bucar, S. Edelsbrunner, T. Kartnig, G. Höger y W. Thiel. 2001. Investigations on Antimycobacterial Activity of Some Ethiopian Medicinal Plants. *Phytotherapy Research* 15: 323-326.

-
- Awal, M. A., A. Nahar, M. Shamim H., M. A. Bari, M. Rahman y M. E. Haque. 2004. Brine Shrimp Toxicity of Leaf and Seed Extracts of *Cassia alata* Linn. and Their Antibacterial Potency. *Journal of Medical Science* 4 (3): 188-193.
- Barrios, R. M. A. y J. M. Medina C. 1996. Estudio florístico de la Sierra de Pachuca. Instituto Politécnico Nacional. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. D. F. 140 p.
- Bauer, A. W., M. M. Kirby, J. C. Sherris y M. Turck. 1966. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. *The American Journal of Clinical Pathology* 45 (4): 493-496.
- Brooks, G. F., J. S. Butel y S. A. Morse. 1999. Microbiología Médica. Manual Moderno. México, D. F. 899 p.
- Brunke, E. J., F. J. Hammersmidt y G. Schmaus. 1993. Flower Scent of Some Traditional Medicinal Plants. En: Teranishi, R., R. G. Buttery y H. Sugisawa (eds.). Bioactive Volatile Compounds from Plants. American Chemical Society. Washington. p. 282-296.
- Buchbauer, G., W. Jäger, L. Jirovetz, J. Ilmberger y H. Dietrich. 1993. Therapeutic Properties of Essential Oils and Fragrances. En: Teranishi, R., R. G. Buttery y H. Sugisawa (eds.). Bioactive Volatile Compounds from Plants. American Chemical Society. Washington. p.159-165.
- Burt, S. A., R. Vlieland, H. P. Haagsman y E. J. A. Veldhuizen. 2005. Increase in Activity of Essential Oil Components Carvacrol and Thymol Against *Escherichia coli* O157:H7 by Addition of Food Stabilizers. *Journal of Food Protection* 68 (5): 919-926. En: <http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/2005/00000068/00000005/art00004>
- Bye, R., E. Linares, T. P. Ramamoorthy, F. García, O. Collera, G. Palomino y V. Corona. 1987. *Agastache mexicana* subsp. *xolocotziana* (Lamiaceae). A New Taxon from Mexican Medicinal Plants. *Phytología* 62 (3): 156-163.
- Chang, H. C., A. Ulubelen y T. J. Mabry. 1979. Chemistry of *Agastache*. Part I: Flavonoids of *Agastache pallidiflora*. *Revista Latinoamericana de Química* 10: 136-138.
- Chávez, C. C. Y. 1986. Propagación Vegetativa de Toronjil Morado (*Agastache mexicana* (HBK) Lint & Epling) y Toronjil Blanco (*Agastache* sp.) por Esquejes de Tallo, Bajo Condiciones de Invernadero. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 127 p.
- Ciccio, J. F. y L. J. Poveda. 1999. Volatile Constituents of *Cunila polyantha* (Lamiaceae) from Costa Rica. A Rich Source of Menthone. *Rev. Biol. Trop.*

-
- Set. 47 (3): 377-379. En: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003477441999000300010&lng=es&nrm=iso. ISSN 0034-7744.
- Contreras, T. B. 1987. Metabolitos Secundarios Aislados de Toronjil Blanco (*Agastache* sp.). Tesis de Licenciatura. Universidad Femenina de México. México, D. F. 72 p
- Conzatti, C. y S. Lucio C. 1981. Flora Sinóptica Mexicana. Instituto Politécnico Nacional. México, D. F. 335 p.
- Cronquist, A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press. The New York Botanical Garden. New York. p. 924-927.
- Cruz, B. M. 2000. Actividad Insecticida en *Sitophilus zeamais* (Coleoptera) de Aceites Esenciales de *Mentha rotundifolia* (Labiatae). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca. 64 p.
- Davidson, J. R. y B. R. Ortiz. 1983. The Antibacterial Properties of an Aztec Wound Remedy. *Journal of Ethnopharmacology* 8: 149-161.
- De Feo, V., M. Bruno, B. Tahiri, F. Napolitano y F. Senatore. 2003. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils from *Thymus spinulosus* Ten. (Lamiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 3849-3853.
- Díaz, R., C. Gamazo e I. López-Goñi (eds.). 2003. Manual Práctico de Microbiología. Masson. Barcelona. 216 p.
- Domínguez, V. G. y A. E. Castro R. 2002. Usos Medicinales de la Familia Labiatae en Chiapas, México. *Etnobiología* 2: 19-31.
- Domínguez, X. A. 1979. Métodos de Investigación Fitoquímica. Limusa. México, D. F. 281 p.
- Ebi, G. C. y T. N. Kamalu. 2001. Phytochemical and Antimicrobial Properties of Constituents of "Ogwu Odenigbo", a Popular Nigerian Herbal Medicine for Typhoid Fever. *Phytotherapy Research* 15: 73-75.
- Elegami, A. A., A. Z. Almagboul, M. E. A. Omer y M. S. El Tohami. 2001. Sudanese Plants Used in Folkloric Medicine: Screening for Antibacterial Activity. Part X. *Fitoterapia* 72: 810-817.
- Esquivel, B., J. S. Calderón, A. A. Sánchez, T. P. Ramamoorthy, E. A. Flores y R. M. Domínguez. 1996. Recent Advances in Phytochemistry and Biological Activity of Mexican Labiatae. *Revista Latinoamericana de Química* 24 (2): 44-64.

-
- Estrada, L. E. y N. Quezada. 1995. Chamanismo y Plantas Medicinales. *En*: Estrada, L. E. (Editor). *Lecturas para el Diplomado Internacional Plantas Medicinales de México*. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco. p. 29-39.
- Estrada, R. R., E. Aguirre H., A. García A., M. Soto H., E. Linares, R. Bye, G. Heinze y M. Martínez V. 2004. Comparative Chemical Composition of *Agastache mexicana* subsp. *mexicana* and *A. mexicana* subsp. *xolocotziana*. *Biochemical Systematics and Ecology* 32: 685-694.
- Franzios, G., M. Mirosou, E. Hatzia Apostolou, J. Kral, Z. G. Scouras y P. Mavragani. 1997. Insecticidal and Genotoxic Activities of Mint Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45 (7): 2690-2694.
- García, C. M. M. L. 1994. Estudio Fitoquímico de *Hesperozygis marifolia* (Labiatae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 71 p.
- González, A. M. E. y M. Rovalo. 1984. Acción Insecticida del Aceite Esencial de la Barreta *Helietta parvifolia* (Gray) Benth. sobre la Mosca Mexicana de la Fruta *Anastrepha ludens* (Loew). *Biótica* 9 (1): 65-74.
- Guillén, T. R. M. 1996. Volátiles de *Aristolochia orbicularis* su Efecto como Alomona en Dos Especies de Insectos de Importancia Económica. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 53 p.
- Hernández, A. J. M. 1987a. Estudio Fitoquímico de *Salvia semiatratha*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 55 p.
- Hernández, A. J. M. 1987a. Estudio Fitoquímico de *Salvia semiatratha*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 55 p.
- Hernández, S. J. 1987b. Estudio Fitoquímico de Dos Plantas Medicinales Mexicanas: *Cunila lytrhifolia* y *Lepechinia caulescens* (Labiatae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 95 p.
- Hernández, S. U. 2004. Evaluación Biológica de los Extractos de la Raíz de *Pentalinon andrieuxii* Muell. Arg. (Apocynaceae) en *Artemia salina* Leach. Tesis de Licenciatura. Universidad del Valle de México. México, D. F. xx p.
- Hernández, T., M. Canales, J. G. Ávila, A. Duran, J. Caballero, A. Romo de Vivar y R. Lira. 2003. Ethnobotany and Antibacterial Activity of Some

-
- Plants Used in Traditional Medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (México). *Journal of Ethnopharmacology* 88: 181-188.
- Herrera, C. M. y O. Pellmyr (eds.). 2002. Plant-Animal Interactions. An Evolutionary Approach. Blackwell Science. Oxford. 313 p.
- Holm, Y., I. Nykänen y R. Hiltunen. 1989. Composition of the Essential Oil of *Agastache foeniculum*. *Planta Medica* 55:104.
- Horváth, G., B. Kocsis, L. Botz, J. Németh y L. Szabó. 2002. Antibacterial Activity of *Thymus* Phenols by Direc Bioautography. *Acta Biologica Szegediensis* 46 (3-4): 145-146.
- Hutchinson, J. 1979. The Families of Flowering Plants. Otto Koeltz Science Publishers. Koenigstein. 968 p.
- INEGI. 2001. Estadísticas Vitales. Hidalgo. Cuaderno no. 4. Aguascalientes. 179 p.
- INEGI. 2003. Anuario Estadístico de los Estados Unidos Mexicanos. Cuaderno no. 4. Aguascalientes. 721 p.
- Isman, M. B., A. J. Wan y C. M. Passreiter. 2001. Insecticidal Activity of Essential Oils to the Tobacco Cutworm, *Spodoptera litura*. *Fitoterapia* 72 (1): 65-68. En: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=11163945&dopt=Abstract
- Jacobson, M. 1989. Botanical Pesticidas. Past, Present and Future. En: Arnason, J. T., J. R. Philogène y P. Morand (eds.). 1989. Insecticides of Plant Origin. American Chemical Society. Washington, D. C. p. 1-10.
- Joklik, W. K., H. P. Willett, D. B. Amos y C. M. Wilfert. 1998. Zinsser Microbiología. Panamericana. Buenos Aires. 1696 p.
- Khan, M. R., M. Kihara y A. D. Omoloso. 2001a. Antimicrobial Activity of *Bidens pilosa*, *Bischofia javanica*, *Elmerillia papuana* and *Sigesbekia orientalis*. *Fitoterapia* 72: 662-665.
- Khan, M. R., M. Kihara y A. D. Omoloso. 2001b. Antimicrobial Activity of *Cassia alata*. *Fitoterapia* 72: 561-564.
- Khan, M. R., M. Kihara y A. D. Omoloso. 2001c. Antimicrobial Activity of *Clematis papuasica* and *Nauclea obversifolia*. *Fitoterapia* 72: 575-578.
- Khan, M. R., M. Kihara y A. D. Omoloso. 2001d. Antimicrobial Activity of *Psychotria microlabastra*. *Fitoterapia* 72: 818-821.
- Khan, M. R., M. Kihara y A. D. Omoloso. 2001e. Antimicrobial Activity of *Symplocos cochinchensis*. *Fitoterapia* 72: 825-828.
- Kuklinski, C. 2000. Farmacognosia. Omega. Barcelona. 515 p.
- Kunle, O., J. Okogun, E. Egamana, E. Emojevwe y M. Shok. 2003.

-
- Antimicrobial Activity of Various Extracts and Carvacrol from *Lippia multiflora* Leaf Extract. *Phytomedicine* 10 (1): 59-61. En: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=12622465&dopt=Abstract
- Lewis, E. J. y E. C. Friedrich. 1990. The Essential Oil of *Poliomintha incana*. *Planta Medica* 56 (2): 224-226.
- Linares, E., R. Bye y B. Flores. 1990. Tes Curativos de México. Cuadernos del Instituto de Biología 7. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 125 p.
- Linares, M. E., B. Flores P. y R. Bye. 1988. Selección de Plantas Medicinales de México. Limusa. México, D. F. 125 p.
- Little, T. M. y F. J. Hills. 1983. Métodos Estadísticos para la Investigación en la Agricultura. Trillas. México, D. F. 270 p.
- Lugo, G. C. 2005. Actividad Antibacteriana e Inhibición de la Propulsión Intestinal Inducida del Extracto Metanólico de *Thymus vulgaris* Linee (Lamiaceae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 54 p.
- Mabry, T. J. y J. E. Gill. 1979. Sesquiterpene Lactones and Other Terpenoids. En: Rosenthal, G. A. y D. H. Janzen (eds.). Herbivores. Their Interaction with Secondary Plant Metabolites. Academic Press. New York. p. 501-538.
- Macías, F. A. y J. C. G. Galindo, 2001. Terpenoides Alelopaticos: Estructuras, Actividad y Aplicaciones. En: Anaya, A. L., F. Espinosa G. y R. Cruz O. (Coords.). Relaciones Químicas entre Organismos: Aspectos Básicos y Perspectivas de su Aplicación. Plaza y Valdés Editores. Instituto de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. p. 137-162.
- Majarrez, A. y V. Mendoza. 1966. The Volatile Oils of *Agastache mexicana* (Benth) Epling and *Cunila lythrifolia* Benth. *Perfumery and Essential Oil Record* 57: 561.
- Martínez, A. M. A., V. Evangelista O., M. Mendoza V., G. Morales G., G. Toledo O. y A. Wong L. 1995. Catálogo de Plantas Útiles de la Sierra Norte de Puebla, México. Cuadernos del Instituto de Biología 27. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 303 p.
- Martínez, L. P. E. 1997. Bioensayos Preliminares para el Estudio de Plantas Medicinales. Tesis de Licenciatura. Universidad Femenina de México. Escuela Químico-Farmacéutico-Biólogo. México, D. F. 66 p.
- Martínez, M. 1979. Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas

-
- Mexicanas. Fondo de Cultura Económica. México, D. F. 1220 p.
- Mckey, D. 1979. The Distribution of Secondary Compounds within Plants. *In*: Rosenthal, G. A. y D. H. Janzen (eds.). *Herbivores. Their Interaction with Secondary Plant Metabolites*. Academic Press. New York. p. 55-134.
- McLaughlin, J. L., L. L. Rogers y J. E. Anderson. 1998. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals. *Drug Information Journal* 32: 513-524.
- Méndez, H. J. J. 1985. Estudio Fitoquímico de *Salvia keerlli*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 44 p.
- Menéndez, R. A. y V. Pavón G. 1999. *Plecthranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. *Revista Cubana Planta Medica* 3 (3): 110-15. En: http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol4_3_99/f0106399.gif&imgrefurl=http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol4_3_99/pla06399.htm&h=263&w=259&sz=3&tbnid=yijGNo0Lj7YJ:&tbnh=107&tbnw=105&hl=es&start=4&prev=/images%3Fq%3Dcarvacrol%26hl%3Des%26lr%3D
- Meyer, B. C., N. R. Ferrigni, J. E. Putnam, L. B. Jacobsen, D. E. Nichols y J. L. McLaughlin. 1982. Brine Shrimp a Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica* 45 (1): 31-34.
- Mimica, D. N., B. Bozin, M. Sokovic y N. Simin. 2004. Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) Essential Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 2485-2489.
- Miyazawa, M., K. Yoshio, Y. Ishikawa y H. Kameoka. 1998. Insecticidal Alkaloids Against *Drosophila melanogaster* from *Nuphar japonicum* DC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46 (3): 1059-1063.
- Miyazawa, M., M. Fukuyama, K. Yoshio, T. Kato y Y. Ishikawa. 1999. Biologically Active Components Against *Drosophila melanogaster* from *Podophyllum hexandrum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47 (12): 5108-5110.
- Miyazawa, M., T. Tsukamoto, J. Anzai y Y. Ishikawa. 2004. Insecticidal Effect of Phthalides and Furanocoumarins from *Angelica acutiloba* Against *Drosophila melanogaster*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (14): 4401-4405.
- Morales, C., S. Pérez G., M. A. Zavala S., C. Pérez G. y H. Ponce. 2004. Actividad Antidiarreica de *Salvia micella*. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 35 (4): 5-9.
- Ochoa, G. J. J. 1987. Estudio Fitoquímico de *Salvia rhyacophila*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de

-
- México. México, D. F. 43 p.
- Park, I-K. y S. Ch. Shin. 2005. Fumigant Activity of Plant Essential Oils and Components from Garlic (*Allium sativum*) and Clove Bud (*Eugenia caryophyllata*) Oils Against the Japanese Termite (*Reticulitermes speratus kolbe*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 53: 4388-4392.
- Pérez, E. B. E., M. A. Villavicencio y A. Ramírez. 2003. Lista de las Plantas Útiles del Estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca. 133 p.
- Ramamoorthy, T. P., R. Bye, A. Lot y J. Fa. (eds.). 1998. Diversidad Biológica de México, Orígenes y Distribución. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 791 p.
- Rhoades, D. F. 1979. Evolution of Plant Chemical Defense Against Herbivores. *En*: Rosenthal, G. A. y D. H. Janzen (eds.). *Herbivores. Their Interaction with Secondary Plant Metabolites*. Academic Press. New York. p. 718.
- Ricker, M. D. y C. Daly. 1998. Botánica Económica en Bosques Tropicales. Diana. México, D. F. 293 p.
- Ríos, G. M. Y. 1987. Aislamiento y Determinación Estructural de los Metabolitos Secundarios Presentes en *Salvia longystyla* (Labiatae) y *Chrysactinia mexicana* (Compositae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 91 p.
- Rodríguez, H. C. y A. Lagunes. 1992. Plantas con Propiedades Insecticidas. Resultados de Pruebas Experimentales en Laboratorio, Campo y Granos Almacenados. *Revista Agroproductividad* 1: 17-25.
- Rodríguez, H. C. y J. Djair. 1996. Toxicidad de Extractos Acuáticos de Meliaceae en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 42: 14-22.
- Rodríguez, H. C. y J. Djair. 1998. Uso de Índices Nutricionales para Medir el Efecto Insecticida de Extractos de Meliaceas sobre *Spodoptera frugiperda*. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 48: 11-18.
- Rojas, G., J. Lévaro, J. Tortoriello y V. Navarro. 2001. Antimicrobial Evaluation of Certain Plants Used in Mexican Traditional Medicine for Treatment of Respiratory Diseases. *Journal of Ethnopharmacology* 74: 97-101.
- Romo de Vivar, A. 1985. Productos Naturales de la Flora Mexicana. Limusa. México, D. F. 220 p.
- Romo, G. C. 2000. Aceites Esenciales de *Hedeoma piperitum* (Labiatae) con Actividad Insecticida en *Sitophilus zeamais* (Coleoptera). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca. 59 p.

-
- Rzedowski, G. C. de, J. Rzedowski. 2001. Flora Fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología, A. C. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro. 1406 p.
- Saleh, M. M. y K. Glombitza. 1989. Volatil Oil of *Marrubium vulgare* and Its Anti-Schistosomal Activity. *Planta Medica* 55: 105.
- Siegel, S. 2001. Estadística No Paramétrica. Trillas. México, D. F. 344 p.
- Silva, A. G. 2001. Las Plantas como Fuente de Insecticidas. En: Rodríguez, H. C. (editor). Memorias del II Simposio Internacional y VII Nacional sobre Substancias Vegetales y Minerales en el Combate de Plagas. Colegio de Posgraduados. Sociedad Mexicana de Entomología. Querétaro. p. 75-80
- Standley, P. C. 1920-1926. Trees and Shrubs of México. U. S. National Museum Contribution. Vol. 23. Parts I-V. Reimpreso (1982) por J. Cramer. Vaduz. 1721 p.
- Stanier, R. Y., J. L. Ingraham, M. L. Wheelis y P. R. Painter. 1996. Microbiología. Reverté. Barcelona. 750 p.
- Tabanca, N., N. Kirimer, B. Demirci, F. Demirci y K. Hüsnü. 2001. Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils of *Micromeria cristata* subsp. *phrygia* and the Enantiomeric Distribution of Borneol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 4300-4303.
- Torres, B. M. L. 1988. Contribución Fitoquímica de la Raíz de *Salvia reptans* Jacq., Estudio Microbiológico de sus Metabolitos Secundarios. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuatitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 98 p.
- Ultee A., L. G. M. Gorris y E. J. Smid. 1998. Bactericidal Activity of Carvacrol Towards the Food-Borne Pathogen *Bacillus cereus*. *Journal of Applied Microbiology* 85 (2): 211-218. En: <http://www.ingentaconnect.com/content/bsc/jam/1998/00000085/00000002/art00467>
- Ultee A., A. Slump, G. Steging y E. J. Smid. 2000. Antimicrobial Activity of Carvacrol Toward *Bacillus cereus* on Rice: *Journal of Food Protection* 63 (5): 620-624. En: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=10826719&dopt=Abstract
- Villaseñor, J. L. 2003. Diversidad y Distribución de las Magnoliophyta de México. *Interciencia* 28 (3): 1-9.
- Villavicencio, N. M. A. y B. E. Pérez. 1995. Plantas Útiles del Estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca. 125 p.
- Villavicencio, N. M. A., B. E. Pérez y A. Ramírez. 2002. Plantas Útiles del Estado de Hidalgo II. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca. 247 p.

-
-
- Zani, C. L., P. P. G. Chaves, R. Queiroz, A. B. De Oliveira, J. E. Cardoso, A. M. G. Anjos y T. S. M. Grandi. 1995. Brine Shrimp Lethality Assay as a Pre-screening System for Anti-*Trypanosoma cruzi* Activity. *Phytomedicine* 2 (1): 47-50.
- Zeki, H. M., N. Ulku K. y Z. Ulvi, 2001. Antibacterial Activity of *Salvia tomentosa* Essential Oil. *Fitoterapia* 72: 829–831.
- Zheng, W. y S. Y. Wang. 2001. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 5165-5170.

CAPÍTULO VI

Composición química, actividad antibacteriana de los aceites esenciales y morfología glandular de tres especies medicinales de Lamiaceae.

Garrido González, M.

Pérez Escandón, B.E.

Villavicencio Nieto, M.A.

Laboratorio de Etnobotánica.

Centro de Investigaciones Biológicas.

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Resumen

El presente trabajo describe el estudio químico y biológico de tres muestras de plantas medicinales pertenecientes a la familia Lamiaceae. Esta ocupa el tercer lugar de las familias mejor representadas en el estado de Hidalgo. Por ser aromáticas se considera que tienen aceites esenciales que le podrían conferir su actividad medicinal. Para realizar este estudio se seleccionaron individuos de tres especies de *Poliomintha longiflora*, *Hesperozygis marifolia* y *Satureja mexicana*; con el objetivo de conocer la composición química, evaluar la actividad antibacteriana y conocer la morfología glandular. Los aceites y fracciones que presentaron mayor actividad se analizaron por CG EM. La actividad antibacteriana se evaluó mediante el método de dilución en caldo en *Salmonella thyphimurium*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*; determinándose la CMI y CMB. Para conocer la estructura de las moléculas activas se realizaron RMN ¹H y RMN ¹³C. La morfología glandular se determinó mediante fotografías que se obtuvieron por microscopía electrónica de barrido y microscopía óptica.

Por medio de la CG EM se determinó que en *P. longiflora* el componente mayoritario fue carvacrol, en *H. marifolia* neo-mentol y en *S. mexicana* es la cis- 5-metil-2-(1metiletil)-ciclohexanona. La que presentó mayor actividad antibacteriana fue *P. longiflora* con una CMI y CMB de 200 µg/ml, tanto en

bacterias Gram positivas como en Gram negativas. De la separación de los aceites de *P. longiflora* se obtuvo una sola fracción activa la cual al analizar en CG EM, RMN ¹H y RMN ¹³C; se concluyó que se encontraba compuesta por timol y carvacrol, pero este último en mayor cantidad. En cuanto a la morfología glandular de las tres especies se observó que existen diferencias entre las hojas y flores de cada especie; esto podría ser útil para el aislamiento de metabolitos secundarios, ya que probablemente al ser diferentes las glándulas puedan contener principios activos diferentes. Los resultados de este trabajo contribuyen a validar el uso tradicional de las especies estudiadas.

Palabras clave: Composición Química, Actividad Antibacteriana, Medicinales, Lamiaceae, Aceites Esenciales, Morfología Glandular.

Introducción

Medicina tradicional y medicina alternativa

La mayoría de las veces se emplea medicina tradicional y medicina alternativa como sinónimos pero no son lo mismo. Se entiende por medicina tradicional como aquella que incluye diversas prácticas de salud, incorporando medicinas elaboradas a base de plantas, animales y/o minerales como tratamiento, diagnóstico o prevención de enfermedades. Éste tipo de práctica está basada en las necesidades que tienen los individuos para tratar diversos padecimientos a los que se encuentran expuestos (Hernández y col, 2003).

Por otro lado, el término medicina alternativa es usado para referirse a las prácticas que no son parte de las tradiciones de un lugar, sin embargo la población las puede adoptar (WHO, 2002).

En la gran mayoría de los países en desarrollo los individuos recurren al uso de la medicina tradicional para solucionar sus problemas de salud. Sin embargo, en los pueblos rurales la práctica de ésta es su única alternativa para recuperar la salud, por ejemplo, en Ghana, Mali, Nigeria y Zambia más del 60% de niños cuando tienen fiebres altas son tratados en sus casas con plantas medicinales, en India el 65% de su población solamente se trata con medicina tradicional y en muchos países asiáticos se promueve ampliamente su empleo (WHO, 2005).

Sin embargo, en la actualidad esta práctica no es sólo de los países subdesarrollados o en vías de desarrollo. Muchos países desarrollados han comenzado a explorar la medicina tradicional con la finalidad de encontrar nuevos tratamientos terapéuticos que puedan ser usados para las enfermedades que están apareciendo o para tratar a las ya existentes pero que con el paso del tiempo se han hecho más resistentes a los tratamientos disponibles en el mercado (WHO, 2005).

La medicina tradicional ha jugado un papel muy importante en la práctica medicinal de México a lo largo del tiempo (Soto y Sousa, 1995), cerca del 25 % de la población depende del uso de plantas medicinales. La medicina tradicional mexicana emplea una gran variedad de plantas para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales, específicamente diarreas infecciosas. Este tipo de enfermedades son la principal causa de muerte en áreas rurales. El uso de la medicina tradicional es una de las primeras alternativas para el tratamiento de enfermedades debido a que muchos fármacos son muy caros o las localidades no tienen acceso a ellos, y en la gran mayoría de las veces los microorganismos se hacen resistentes a la acción de éstos (Hernández y col, 2003).

Uso tradicional de las plantas

En la población mexicana el empleo de las plantas es muy amplio y esto se debe a que posee una flora medicinal muy extensa. Se estima que existen alrededor de 7000 especies de plantas útiles, representando entre la tercera y quinta parte de las plantas vasculares. Un estudio realizado revela que las hierbas son más utilizadas que los arbustos y los árboles. El empleo de la flora constituye un factor importante en nuestra cultura, las plantas son fundamentales para el desarrollo social y económico del país ya que proporcionan una gran cantidad de beneficios, tales como ayudar a recuperar la salud, en la alimentación, la agricultura, en fiestas o celebraciones religiosas, para la ornamentación, contra plagas, etc. (Villavicencio Nieto y Pérez Escandón, 1995).

En México el uso de las plantas es diverso, se tiene conocimiento que el mayor número de especies conocidas son utilizadas con fines medicinales y aproximadamente el 60 % de los habitantes utilizan con frecuencia a las plantas medicinales para tratar diversos padecimientos. En segundo lugar son las que se emplean como alimento, seguido de otros usos tales como combustible, materias para construcción, instrumentos, utensilios, sombras, cercas vivas y materiales para elaboración de artesanías (Aguilar Rendón y col, 2001).

El uso de plantas para tratar diferentes enfermedades es un reflejo de la situación de la población. La gran mayoría recurre a los remedios vegetales debido a que no cuenta con los recursos para poder acceder a diversos medicamentos, de modo que es frecuente encontrar una lista grande de especies que pueden ser utilizadas para una misma enfermedad.

Las familias botánicas con mayor número de especies medicinales y comestibles son Asteraceae, Leguminosae, Arecaceae, Solanaceae, Euphorbiaceae, Cactaceae y Lamiaceae (Aguilar-Rendón y col, 2001).

En los últimos estudios realizados en el estado de Hidalgo se ha encontrado que existen 611 especies de plantas útiles (127 familias y 393 géneros), siendo el medicinal el más frecuente. De éstas, la familia Lamiaceae ocupa el tercer

lugar de las plantas mejor representadas en la flora medicinal del estado (Pérez-Escandón, Villavicencio Nieto y Ramírez, 2003).

Al clasificar a las plantas medicinales del estado de Hidalgo de acuerdo con los aparatos, sistemas del cuerpo humano y afecciones tratadas, considerando el número de especies que se emplea en cada categoría, se encontró que las de mayor uso son las que tratan enfermedades del aparato digestivo y enfermedades del sistema respiratorio. Las partes de las plantas que más se emplean para diversas enfermedades en orden descendentes son las ramas, hojas, tallos, flores, frutos, raíces y semillas. La forma más frecuente de utilizar las plantas es haciendo una infusión que se suministra oralmente (Pérez Escandón, Villavicencio Nieto y Ramírez, 2003).

Desde mediados del siglo XIX la fitoquímica ha impulsado el estudio de las propiedades medicinales que se les atribuye a las plantas, y a pesar de que esta práctica había perdido el interés de la industria farmacéutica por la aparición de la síntesis de moléculas con actividad biológica, en la actualidad se ha vuelto a recobrar para estudiar el conocimiento médico popular en la búsqueda de nuevos principios activos para tratar enfermedades (Aguilar Rendón y col, 2001).

Descripción de Lamiaceae

Familia con plantas herbáceas, anuales, subarborescentes o rara vez arbóreas; tallo generalmente cuadrangular; hojas opuestas o verticiladas, simples o rara vez compuestas, casi siempre sin estípulas; inflorescencias cimosas, generalmente contraídas formando verticilastros pauci o multifloros, agrupados en espicastos, pseudoracimos o cabezuelas, en ocasiones, con menos frecuencia las flores solitarias y axilares; flores hermafroditas, zigomorfas, sésiles o pediceladas; cáliz persistente, 5-dentado, regular o bilabiado; corola simpétala, hipogínea, tubular con 4 ó 5 lóbulos, limbo frecuentemente bilabiado; cóncavo, entero o bipartido, el inferior trilobulado; estambres 4, didínamos a veces 2, con o sin estaminodios, anteras biloculares o uniloculares, frecuentemente divergentes, de deshiscencia longitudinal; disco nectarario casi siempre presente, ovario súpero, bicarpelar tetralocular, lóbulos anátropos, uno de cada lóculo, estilo por lo general ginobásico, estigma bifido, fruto formado por cuatro mericarpios lisos y reticulados, persistentes dentro del cáliz, rara vez unidos en pares. Es una familia compuesta aproximadamente por 200 géneros y 3500 especies que se encuentran distribuidas en el mundo (Rzedowsky y Rzedowsky, 2001).

En el estado de Hidalgo, la familia Lamiaceae tiene una gran variedad de especies, entre ellas se encuentran *Poliomintha longiflora*, *Hezperozigys marifolia* y *Satureja mexicana*.

Poliomintha longiflora

Arbusto de aproximadamente 30 cm de alto (Figura 1); tallos leñosos; hojas de 5 a 10 mm de largo, enteras, ovales a ampliamente ovadas, redondeadas u obtusas en el ápice, canecentes tomentulosas en el envés, con pelos simples, el haz verde, corola de 2.5 a 3.5 de largo: flores rojas o rosas a moradas, con tres hendiduras, el tubo igual o más largo que el cáliz (Standley, 1982) Pertenece a un género que se caracteriza por tener cáliz tubular simétrico, cuyos dientes reflejos ocluyen en el orificio y la corola anular. Este género está compuesto de cinco especies, todas ellas representadas en el norte de México (Ramamoorthy y col, 1998). Posee hojas opuestas con un gran número de glándulas aromáticas, su floración aparece en primavera y crece a altitudes de 800-2800 m (Cortés, 2005). Se distribuye en los estados de Coahuila, Nuevo León e Hidalgo (Martínez, 1979; Standley, 1982; Cortés, 2005). Las poblaciones naturales de *Poliomintha longiflora* crecen en suelos delgados y pedregosos con pendientes hasta del 40 %, son parte de las comunidades de matorral submontano y bosque de encino (Cortés, 2005).



Figura 1. *Poliomintha longiflora* A. Gray

Hesperozygis marifolia

Arbusto de hasta 2 m de altura (Figura 2); tallos leñosos, cuadrangulares; hojas simples, opuestas, orbiculaovadas, tomentulosas, blancas, de ápice agudo, margen entero, base cuneada, con peciolo corto; sus ramas son pubescentes con

apariencia ceniza; inflorescencia címula axilar de una a tres flores en pares; flores hermafroditas, zigomorfas; cáliz sinsépalo, tubular, con cinco dientes iguales, piloso afuera, la garganta barbada; corola simpétala, bilabiada, el labio superior erecto, emarginado, el labio inferior hendido, el tubo igual o más largo que el cáliz, ovario súpero. Esta planta es nativa de México (Linares y col, 1990; García, 1994). Crece a una altitud de 1250-2050 m.

Esta especie se distribuye en las zonas áridas del norte y centro de México, se puede encontrar en los estados de Jalisco, Nuevo León, San Luis Potosí e Hidalgo (Valle del Mezquital) (Cortés, 2005).



Figura 2. *Hesperozygis marifolia* (Briq.) Epl.

Satureja mexicana

Arbusto que alcanza hasta 1 m de alto (Figura 3). Las ramas presentan pequeños grupos de pelos; con hojas de un cm de largo, pecioladas, anchamente obovadas, agudas en el ápice y redondeadas en la base, serruladas, glabras; flores en falsos verticilios pauci-multifloros, laxos o densos; flores rojo-naranjadas, numerosas, tubulares, de 2 a 3.5 cm de longitud, cáliz tubular de 6 mm de largo; corola tubular pubescente, recta o curvada, cinco veces más larga que el cáliz (Villavicencio Nieto y Pérez Escandón, 2006). Crece en una altitud de 780-2645 m. Se distribuye en los estados de Hidalgo a Guerrero, Oaxaca y Veracruz. El

ejemplar tipo es de Santa María Regla, Hidalgo y se puede encontrar en la parte noreste de Ixmiquilpan, Hidalgo, habita en bosques de *Juniperus* (Cortés, 2005).

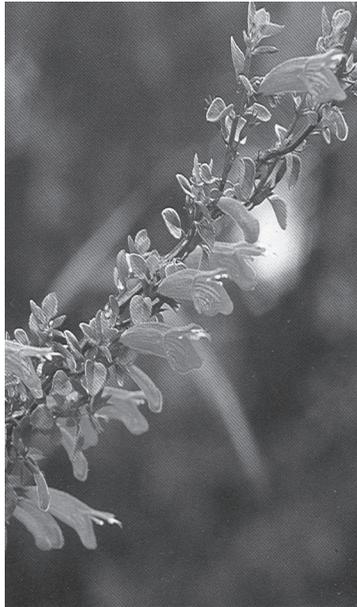


Figura 3. *Satureja mexicana* (Benth.) Briq.

Antecedentes

Muchas especies de Lamiaceae han sido investigadas por su alto contenido de aceites esenciales, los cuales son ampliamente usados en preparaciones farmacéuticas, perfumería y cosméticos (Ascesao y col, 1999).

Aceites esenciales

Los AE son considerados como metabolitos secundarios volátiles que producen las plantas (Nguefack y col, 2004) generalmente le confieren un aroma agradable. También se denominan AEs aquellos que se obtienen a partir de arrastre con corriente de vapor, asimismo se les puede llamar esencias.

Los aceites esenciales son generalmente líquidos a temperatura ambiente, pero a bajas temperaturas algunos pueden solidificar; algunos son prácticamente incoloros o ligeramente amarillos; son menos densos que el agua e insolubles en ella; son lipófilos y solubles en disolventes orgánicos apolares tales como el hexano y éter etílico; poseen índices de refracción altos y presentan actividad óptica. Los aceites esenciales se encuentran en vegetales superiores, concretamente en ciertas

familias de Angiospermas entre las cuales se encuentran Lamiaceae, Lauraceae, Asteraceae, Myrtaceae y Rutaceae (Evans, 2000). Estos metabolitos secundarios volátiles se pueden obtener de diferentes partes de la planta: raíz, fruto, leño, flores y hojas (Domínguez, 1979).

La presencia de estas sustancias en los individuos de distintas especies de las plantas es fundamental ya que realizan funciones específicas interviniendo en la polinización, ejerciendo un efecto de atracción sobre ciertos insectos polinizadores, además de que actúan como defensa frente al ataque de parásitos e insectos (Evans, 2000).

Todos contienen un principio activo propio, pero al ser mezclas de compuestos, la mayoría de las veces son comunes a numerosas especies (Albado y col, 2001). Las sustancias presentes se pueden clasificar en terpenoides y no terpenoides. Los primeros son compuestos que proceden de la condensación del isopreno y pueden tener o no oxígeno. Aquellos que no tienen oxígeno son hidrocarburos (monoterpenos, sesquiterpenos) que pueden ser aromáticos o alifáticos. Los que contienen oxígeno son llamados terpenos con función alcohol, fenol, aldehído, cetona, éter, éster o peróxido. Los no terpenoides pueden ser sustancias alifáticas (hidrocarburos y sustancias oxigenadas), también suelen ser sustancias volátiles aromáticas, derivados cumarínicos, derivados del fenilpropano, sustancias con estructura $C_6 - C_1$, nitrogenadas y con azufre (Evans, 2000).

Las aplicaciones de los aceites esenciales son diversas, se emplean tanto en la industria alimentaria, de limpieza, perfumería, así como en la industria farmacéutica por las propiedades farmacológicas que posee (Domínguez, 1979).

Las acciones farmacológicas son variadas, se utilizan por vía tópica e interna. Las más frecuentes son:

- Antiséptica. La presenta frente a microorganismos Gram positivos y Gram negativos y también en hongos. El poder antiséptico puede variar dependiendo de la estructura que presente la molécula, es decir aquellas que tienen grupos fenólicos presentan un alto poder antiséptico, los que tienen función alcohol se dice que su poder antiséptico es medio, y los de función cetona tienen un poder bajo.
- Antiespasmódico. Ayuda a disminuir los espasmos gastrointestinales e incrementa las secreciones gástricas.
- Sedantes. Se emplean en estados de nerviosismo y ansiedad.
- Acción irritante. Algunos aumentan la circulación capilar y epidérmica produciendo enrojecimiento, otros actúan como cicatrizantes y vulnerarios (ayudan a sanar heridas y llagas).
- Analgésico. Al aplicarse por vía tópica ya que disminuyen el dolor muscular, de articulaciones y también se emplean como antiinflamatorio (Evans, 2000).

Aislamiento de compuestos activos

A partir de que se descubrieron los microbios y se observó que las plantas tienen un alto potencial para combatirlos, se consideró la posibilidad de que se constituyen por principios activos a los cuales se les atribuye una cierta actividad antimicrobiana.

En décadas pasadas la búsqueda de nuevos agentes anti-infecciosos propició que una gran cantidad de grupos de investigadores en el campo de la etnofarmacología se interesaran en la separación y purificación de los principios que confieren una determinada actividad biológica en las plantas (Ríos y Recio, 2005).

El aislamiento y purificación de los principios activos que contienen las plantas y a los cuales se les atribuye su uso en la medicina tradicional no es algo nuevo, esta práctica se ha realizado desde tiempo atrás, en 1805 Sertüner aisló la morfina del opio y en 1820 Pelletier y Caventou aislaron la quinina y la cinchonina de la corteza de quina, en 1829 Leroux aisló la salicina del sauce (Fox y Whitesell, 2000).

El estudio químico de las sustancias que contienen las plantas ha evolucionado con el paso de los años ya que no sólo basta con conocer que átomos constituyen las sustancias sino que se deseaba saber cómo es su conectividad y determinar así la estructura (Romo de Vivar, 2006).

Los investigadores continuaron estudiando los productos naturales, siendo la rama de los sesquiterpenos la que más aportaciones ha dado, también se puede incluir a los monoterpenos (Romo de Vivar, 2006).

Para la purificación de los compuestos se pueden emplear diversas técnicas, la cromatografía es un método adecuado para separar componentes de mezclas complejas. Ésta es usada para obtener componentes individuales puros de una mezcla y también para determinar la composición de estos compuestos. En la cromatografía las moléculas se distribuyen entre dos fases distintas, y la separación se efectúa por la diferencia de solubilidad de ciertos componentes en una fase. Existen diferentes tipos de cromatografía entre ellas se pueden mencionar la cromatografía en fase estacionaria, fase móvil, de gases y de líquidos (Fox y Whitesell, 2000).

Actividad antibacteriana

El estudio de las plantas como agentes antimicrobianos puede proporcionar información específica acerca de la actividad de éstas y que se puede comprobar mediante un análisis fitoquímico (Ríos y Recio, 2005).

En todo el mundo los microorganismos son frecuentemente la causa de ciertas enfermedades, presentándose de esta forma un fuerte problema público (Coelho y col, 2003).

A nivel mundial las estadísticas muestran que las enfermedades infecciosas son una de las principales causas de muerte. En México las principales enfermedades que se presentan en diferentes edades son las infecciones respiratorias agudas y las gastrointestinales. En Hidalgo también en los primeros lugares se encuentran las que afectan a las vías respiratorias y las que causan problemas gastrointestinales (SSA, 2005).

Afortunadamente el número de enfermedades infecciosas que afectan a las vías respiratorias es enorme ya que una sola bacteria es capaz de producir diferentes enfermedades y con esto perjudicar varios órganos en el cuerpo humano. *Streptococcus pneumoniae* puede causar faringitis, laringitis, neumonía lobar entre otras, *Staphylococcus aureus* es causante de faringitis, neumonía lobar y sinusitis (Alonso-Urmeneta y col, 2003).

Dentro de los padecimientos gastrointestinales causados por bacterias se puede hablar de infecciones intestinales, que son las enfermedades más comunes en el hombre, entre las que se encuentran diarreas causadas por *Escherichia coli* o enteritis que la propicia *Salmonella typhimurium*. Afortunadamente los desórdenes causados son por tiempo corto y responden a muchos tratamientos pero no siempre es de esta forma (Lewis y Elvin-Lewis, 1997).

Las bacterias que propician las enfermedades no tienen la misma sensibilidad al ser expuestas a diferentes agentes antibacterianos, como los antibióticos. La evaluación de esta sensibilidad ayuda a seleccionar el compuesto adecuado para tratar las enfermedades infecciosas causadas por bacterias. Existen diferentes pruebas para determinar esta sensibilidad, pero las más utilizadas son aquellas que se basan en el enfrentamiento *in vitro* de las bacterias a distintas concentraciones del agente Alonso-Urmeneta y col, 2003).

La sensibilidad que pueden presentar las bacterias a un compuesto determinado está dada por la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB).

Se puede definir a la CMI como la mínima concentración de antibiótico que inhibe el crecimiento de las bacterias, los métodos más utilizados para esta determinación son los de dilución, los cuales se pueden realizar en medio sólido (dilución en agar) o en medio líquido (dilución en caldo). Si se realizan subcultivos de los tubos donde se encontró la CMI y después de incubarlo durante 18-24 horas se puede encontrar la CMB que es la mínima concentración a la cual el agente mata a todas las bacterias (Alonso-Urmeneta y col, 2003).

Efecto sinérgico y antagónico

Se considera que hay tres tipos de actividad biológica una de ellas se presenta cuando dos o más compuestos están juntos en una mezcla y su interacción no produce ningún efecto en la actividad biológica que presentan, la otra posibilidad

es que al combinar las sustancias se produzca una mayor actividad que la que tiene los compuestos en mezclas menos complejas o puros a este efecto se le conoce como sinergismo y por último el antagonismo se presenta cuando la combinación de las sustancias separadas produce un menor efecto que el que se tiene en la mezcla más compleja de las que proviene (Philogène y col, 2005).

Morfología glandular

Se han realizado estudios en cuanto a la morfología glandular de los órganos vegetativos de diversas especies de esta familia, y se ha observado que algunos pueden presentar o no glándulas sobre la superficie y que en estas glándulas se encuentran contenidos los aceites esenciales (Ascensão y col, 1999).

La morfología glandular se puede observar mediante el uso de la microscopía electrónica de barrido y también mediante el empleo de microscopía óptica (Ascensão y col, 1999).

Justificación

El número de muertes anuales en el mundo a causa de enfermedades infecciosas es verdaderamente alarmante. Datos encontrados en el reporte de los estudios estadísticos del año 2005 realizados por la Organización Mundial de la Salud muestran que unas de las principales causas de muerte en el mundo son las enfermedades infecciosas respiratorias y gastrointestinales y esto se debe, a que las partes más sensibles de ataques bacterianos son: las vías respiratorias y el sistema digestivo. Por estos motivos, la sociedad de hoy en día demanda nuevas alternativas terapéuticas con moléculas conocidas o novedosas que posean propiedades farmacológicas potentes y efectivas para erradicar diversas enfermedades sobre todo las infecciosas. Debido a lo mencionado anteriormente es de gran importancia encontrar moléculas adecuadas para sanar o aliviar aquellas enfermedades que las aquejan. El estudio de los aceites esenciales de *Poliomintha longiflora*, *Hesperozy gismarifolia* y *Satureja mexicana* que pertenecen a la familia Lamiaceae caracterizada por su gran empleo en la medicina tradicional del estado en el estado de Hidalgo podría ser una buena alternativa, ya que son plantas abundantes en la entidad y que la población las emplea para tratar diversas enfermedades infecciosas.

Por otro lado, el estudio de la composición química y biológica de estas tres especies ayudaría a validar su uso en la medicina tradicional en el estado de Hidalgo y así corroborar que contribuyen en el tratamiento de enfermedades infecciosas.

La morfología glandular de las especies puede ser variada, es decir las glándulas que tienen las hojas no necesariamente debe ser igual a las que contienen

las flores, esto es de gran interés ya que al ser diferentes podría significar que contienen diferentes tipos de aceites y compuestos, es por ello que el estudio de la morfología glandular resulta de interés.

Objetivo

Conocer la composición química de los aceites esenciales de *P. longiflora*, *H. marifolia* y *S. mexicana*, así como, evaluar su actividad antibacteriana en seis cepas bacterianas y contribuir a validar su uso en la medicina tradicional del estado de Hidalgo.

Método

Colecta

Para esta investigación se adquirieron individuos frescos de *P. longiflora*, *H. marifolia* y *S. mexicana* en la plaza de Actopan, Hidalgo, dichas especies se trajeron de “La Florida” lugar que pertenece al municipio de Cardonal, Hgo. Cuidando siempre que el origen de la muestra vegetal fuera silvestre o semicultivada. Esto se logró mediante preguntas realizadas a las personas que vendieron las muestras. La confirmación taxonómica de las especies se realizó empleando la clave de Standley (1982).

Obtención de aceites esenciales

Para la obtención de los AEs se utilizó una mezcla de materia vegetal que contenía tallos, hojas y flores de cada muestra, las cuales se secaron a la sombra para evitar cambios en los metabolitos secundarios. La técnica empleada fue la de destilación por arrastre de vapor (Figura 4) (Domínguez, 1979).



Figura 4. Obtención del aceite esencial por destilación con arrastre de vapor.

Para extraer el aceite esencial, se utilizó una muestra de 500 g que fue pesada en una balanza granataria. De esta se obtuvo un destilado acuoso de 750 ml, colectado en un matraz Erlenmeyer de 1000 ml, dicho destilado se colocó en un embudo de separación para ser extraído con 15 ml de éter etílico, el proceso se repitió 7 veces. Posteriormente se secó la fase orgánica total con 8 g de sulfato de sodio anhidro; se filtró mediante el uso de papel Whatman No. 42. Se procedió a evaporar la mayor parte del disolvente a una presión reducida de 1 bar a 30 °C en un rotavapor Büchi R-124. El evaporado se transfirió a un vial que fue pesado previamente, donde se calentó a una temperatura de 30° C para eliminar el resto del disolvente, la cantidad de aceite esencial extraído se calculó por diferencia de peso del vial. Para conocer el contenido de los aceites esenciales de cada especie, se calculó el rendimiento empleando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ AEs} = (\text{Peso del aceite esencial obtenido} / \text{Peso de la muestra}) 100$$

Este procedimiento se aplicó a cada una de las especies.

Separación de los componentes de los aceites esenciales

La separación de los componentes de los aceites esenciales totales de las tres especies: *P. longiflora*, *H. marifolia* y *S. mexicana* se realizó en una placa preparativa de gel de sílice de 2 mm de espesor, en donde se colocó 0.08 g de aceite esencial total y se corrió con una mezcla de benceno: cloroformo 1:1 en una cámara cromatográfica (Figura 5), se dejó que el disolvente se evaporara de la placa y la identificación de las bandas se realizó por exposición a la luz ultravioleta de longitud de onda larga y corta. Una vez identificadas las bandas se rasparon y se sumergieron en 15 ml de éter, se filtraron en un papel Whatman no. 42, el filtrado se secó con 5 g de sulfato de sodio anhidro y el éter que contenía la muestra se evaporó a una temperatura de 30°C, la fracción del aceite esencial se colectó en un vial previamente pesado, el rendimiento de la fracción del aceite esencial se calculó empleando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ AEs fraccionado} = (\text{Peso de la fracción obtenida} / \text{Peso de aceite total}) 100$$

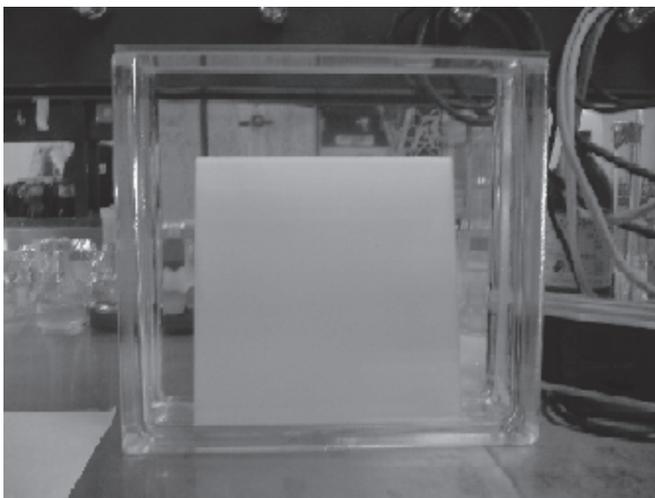


Figura 5. Separación de los aceites esenciales por cromatografía en placa.

Composición química

Una vez que se obtuvieron los aceites esenciales totales de *P. longilora*, *H. marifolia* y *S. mexicana* y sus fracciones, se analizó su composición química, inyectando el aceite esencial de cada especie a un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas marca Hewlett Packard, modelo 5890 serie II, se trabajó en una columna capilar de 5% metilfenilsilicón de 30 m de largo por 1.25 mm de diámetro interno por 0.25 μm de espesor de la fase estacionaria y como fase móvil se empleó gas helio con flujo de 1.0 ml/min, a una temperatura de 250°C.

Se utilizó un gradiente de temperatura, siendo la temperatura inicial de la columna de 70°C y sostenida durante dos minutos, seguida de un incremento de 10°C/min, hasta alcanzar una temperatura de 120°C, manteniendo esta temperatura durante 4 minutos, con una energía de ionización de 70 eV, la técnica empleada es la de ionización por impacto electrónico.

Ensayo de la Actividad Antibacteriana

Para evaluar la actividad antibacteriana de los aceites esenciales totales y de las fracciones de cada especie se utilizó el método de dilución en caldo. Las cepas Gram positivas utilizadas fueron *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Staphylococcus pneumoniae*, las Gram negativas fueron *Escherichia coli* ATCC 53868, *Salmonella typhimurium* y *Haemophilus influenzae*; *Salmonella typhimurium* se aisló en el laboratorio de Genética Microbiana del departamento de microbiología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN.

Haemophilus influenzae y *Staphylococcus pneumoniae* fueron aisladas en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la UNAM. También se utilizó una cepa de *Staphylococcus aureus* aislada en el laboratorio de etnobotánica en la UAEH. Estas cepas se eligieron ya que causan afecciones en el sistema respiratorio y gastrointestinal. Las cepas se mantuvieron en refrigeración a 4°C en AMH.

Se tomó el inóculo con un asa microbiológica y se sembró por estría en una caja Petri con AMH y se incubó a 37 °C durante 24 hr, una vez transcurrido ese tiempo se tomó una ufc con una asa y se resembró en un tubo de ensayo que contenía 3 ml de Caldo de Soya Triptica y se incubó nuevamente a 37°C durante 24 hr.

Se determinó la turbidez de los cultivos midiendo la absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro UV- visible 6405, la turbidez fue ajustada previamente con el caldo soya triptica estéril, al patrón 0.5 de la escala de McFarland la cual equivale a una concentración de 1.5×10^8 ufc/ml (unidades formadoras de colonias por mililitro), a la cual el cultivo se encuentra en fase de crecimiento exponencial recomendada para realizar estas pruebas (Díaz y col, 2003).

La escala de McFarland relaciona la turbidez de unos patrones de sulfato bórico, que proceden de la mezcla que contiene una solución de cloruro bórico al 1% con ácido sulfúrico al 1% y el número de bacterias presente en la muestra (Díaz y col, 2003). Las pruebas se hicieron en un gabinete de seguridad biológica (Figura 6).

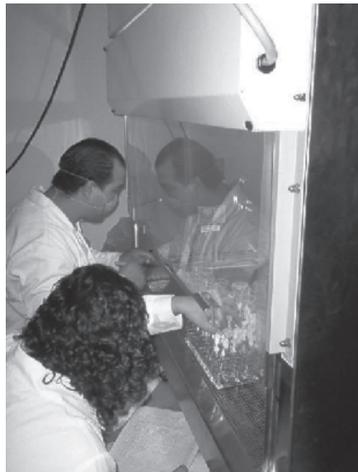


Figura 6. Actividad antibacteriana de los aceites esenciales.

Evaluación de los aceites esenciales totales

Para conocer la CMI de los aceites totales, éstos se mezclaron con Caldo de Soya Tripticasa previamente esterilizado, que contenía dimetil sulfóxido (DMSO) 0.05% para lograr una mejor dilución de los aceites, posteriormente se empleó la técnica de dilución en caldo (Díaz y col, 2003), se pesó en un capilar previamente pesado 0.672 g de aceite y se diluyó en un tubo de ensaye que contenía 8.4 ml de Caldo de Soya Tripticasa estéril en la cual tenía una concentración de 1600 µg/ml, para preparar las concentraciones subsecuentes se tomó 4.2 ml con una pipeta graduada y se llevó a un volumen de 8.4 ml, esto se repitió hasta tener un intervalo de concentraciones desde 12.5 hasta 1600 µg/ml.

De cada una de estas concentraciones se tomó 0.2 ml y se colocó en un tubo de ensaye en donde se adicionó 0.8 ml de Caldo de Soya Tripticasa que contenía bacterias para obtener un volumen total de 1 ml (cada concentración se realizó 5 veces), este caldo fue preparado con 24 ml de caldo y 1 ml de bacterias para obtener un volumen total de 25 ml.

Para evaluar la CMB se colocó mediante siembra por extensión en placa 1 ml del contenido del tubo que no mostró crecimiento bacteriano en una caja Petri que contenía 4 ml de AMH previamente esterilizado, cada concentración se hizo por duplicado, se incubó a 37°C durante 24 hr, una vez transcurrido este tiempo se pudo determinar la CMB.

Como testigo positivo se empleó el medio bacteriano y como testigo negativo se utilizó una solución de clorhidrato de tetraciclina al 0.5% la cual se disuelve en el Caldo Soya Tripticasa.

Este procedimiento se aplicó a las seis cepas bacterianas y se ensayaron en los aceites totales de las tres especies.

Evaluación de las fracciones de los aceites totales

Para obtener la CMI de las fracciones de los aceites esenciales totales se siguió con la técnica de dilución en caldo (Díaz y col, 2003), pesándose 0.0020 g del aceite esencial fraccionado en un capilar previamente tarado en una balanza analítica y se diluyó en 1.4 ml de Caldo Soya Tripticasa y así se obtuvo una concentración de 1600 µg/ml, de la cual se tomó un volumen de 0.7 ml y se adicionó 0.7 ml de caldo para obtener una concentración de 800 µg/ml, de una dilución semejante se obtuvo la concentración de 400 µg/ml. De estas diluciones se tomó 0.02 ml y se colocó en un tubo Durman y se adicionó 0.08 ml de medio bacteriano que fue preparado como ya se mencionó anteriormente, el ensayo de cada concentración se realizó cinco veces. Se incubaron a 37°C durante 24 hr, una vez transcurrido este tiempo se tomó 0.1 ml de los tubos que no presentaron crecimiento y se colocó mediante siembra por extensión en placa en una caja Petri que contenía 4 ml de AMH y se incubó a 37°C durante 24 hr.

Se utilizó como medio positivo el medio bacteriano y como testigo negativo una solución al 0.5 % de clorhidrato de tetraciclina.

En este caso el procedimiento se repitió para las fracciones de las tres especies, *P. longiflora* se evaluó en las seis cepas bacterianas pero *H. marifolia* y *S. mexicana* sólo se ensayaron en dos cepas bacterianas *S. tipymurium* y *H. influenzae* y a concentraciones de 1600 y 800 µg/ml ya que no se contaba con la cantidad de muestra requerida.

Evaluación del efecto sinérgico y antagónico de los componentes de las fracciones de los aceites esenciales de las tres especies

Para comprobar el efecto que causan la mezcla de los componentes de las diferentes fracciones que constituían el aceite esencial de cada especie, una vez obtenidas las fracciones, se procedió a hacer todas las mezclas posibles y se evaluó su actividad antibacteriana por el método de dilución en caldo (Díaz y col, 2003).

Caracterización espectroscópica de las fracciones activas

La caracterización espectroscópica de las fracciones activas se realizó por RMN ^1H y ^{13}C , para el análisis de protón se utilizó la cantidad de 10 mg diluidos en CDCl_3 , para el de ^{13}C se emplearon 100 mg diluidos en CDCl_3 .

Morfología glandular de las tres especies

Se realizó empleando muestras frescas de hojas y flores de las tres especies. Fueron colocadas sobre una cinta adhesiva de grafito, posteriormente fueron recubiertas con una capa delgada de oro para mejorar la conductividad y tener mejores imágenes de las mismas. Se utilizó un microscopio electrónico de barrido marca JEOL modelo 6300 con un alcance de 300,000 magnificaciones, tamaño del área de incidencia del haz de electrones (spot size) de 10^{-2} a 10^{-5} amp., resolución de 25 Kv, equipado con un detector de energía retrodispersiva de rayos X (EDS), para realizar microanálisis semicuantitativo elemental en las muestras de análisis (Figura 7).

Una vez preparadas las muestras se procedió a observarlas en el SEM a diferentes magnificaciones, la medición se realizó directamente en el microscopio. Las imágenes de la estructura de las muestras, se tomaron de la parte superior, media, inferior y horizontal tanto de las flores como de las hojas.

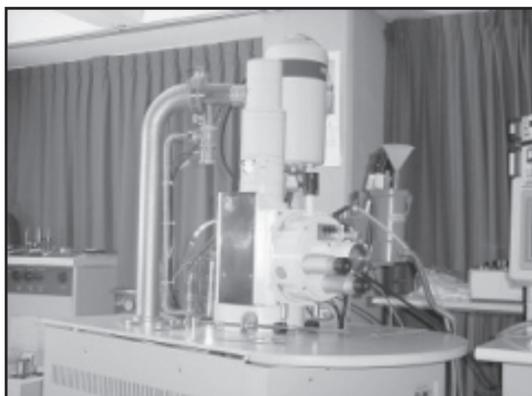


Figura 7. Equipo de microscopia electrónica de barrido

Las imágenes de microscopia óptica, se obtuvieron en un microscopio Olympus BX41 con una resolución de 23X/1.25 Oil Ph3, con lente intermedio; las fotografías fueron procesadas con un software Image-ProPlus ver. 4.5.1.22 para Windows 98, de la compañía Media Cybernetics, Inc.

Resultados

Obtención de aceites totales

En la Tabla 1 se presentan los resultados de la cantidad y rendimiento de los aceites obtenidos de *P. longiflora*, *H. marifolia* y *S. mexicana*. Se puede observar que *P. longiflora* es la que presentó mayor rendimiento, en comparación con las otras dos especies.

Tabla 1. Rendimiento en porcentaje de los aceites totales de cada una de las especies.

Especie	Muestra g	Aceite Esencial g	Rendimiento %
<i>P. longiflora</i>	500	1.3549	0.27
<i>H. marifolia</i>	500	0.3674	0.07
<i>S. mexicana</i>	500	0.1258	0.03

Separación de los aceites esenciales

De los aceites esenciales de *P. longiflora* después de ser separados por cromatografía en placa preparativa se obtuvieron tres fracciones, el rendimiento de cada fracción obtenida con respecto a los aceites totales y los Rf de cada

fracción son mostrados en la Tabla 2. Como se puede observar la fracción dos es la mayoritaria para esta especie con un rendimiento de 88.47%.

Tabla 2. Rendimiento y Rf de la separación en placa preparativa de los aceites totales de *P. longiflora*.

P. longiflora			
Fracción	Peso	Rendimiento %	Rf
1	0.0420	4.29	0.37
2	0.8670	88.47	0.60
3	0.0705	7.19	0.91

Los aceites esenciales totales de *H. marifolia* arrojaron tres fracciones al ser separados empleando una mezcla de disolventes de hexano:cloroformo 1:1, el rendimiento y el Rf de cada fracción de esta separación es mostrado en la Tabla 3. Se puede observar que la fracción 1 es la mayoritaria.

Tabla 3. Rendimiento y Rf de la separación en placa preparativa de los aceites totales de *H. marifolia*.

H. marifolia			
Fracción	Peso	Rendimiento %	Rf
1	0.0602	39.814	0.41
2	0.0245	16.20	0.68
3	0.0195	12.90	0.83

Cuatro fracciones fueron obtenidas de la separación por cromatografía en placa preparativa de los aceites esenciales de *S. mexicana*. Los resultados de la cantidad de cada fracción con respecto a la cantidad a separar y los Rf son mostrados en la Tabla 4. La fracción mayoritaria para esta especie fue la fracción cuatro.

Tabla 4. Rendimiento y Rf de la separación en placa preparativa de los aceites totales de *S. mexicana*.

S. mexicana			
Fracción	Peso	Rendimiento %	Rf
1	0.0042	5.25	0.17
2	0.0084	10.50	0.44
3	0.0166	21.25	0.62
4	0.0337	63.36	0.90

Composición química

Aceites esenciales totales

La composición química de los aceites esenciales de *P. longiflora* se obtuvo por comparación del espectro obtenido a partir de un análisis en el Cromatógrafo de Gases, mostrando cuatro señales de cada una de los cuales se obtuvo el EM y para su identificación cada espectro se comparó en la base de datos del CG, los datos obtenidos a partir de este estudio son mostrados en la Tabla 5, en la que se observa que el componente mayoritario corresponde al carvacrol que mostró un tiempo de retención de 10.49 y una abundancia relativa de 83.438%.

Tabla 5. Compuestos volátiles de los aceites esenciales totales de *P. longiflora* identificados por CG EM.

Compuesto	Datos del espectro de masas ^a	Tiempo de Retención	Abundancia Relativa %
Timol	135, 150, 91, 77, 115, 107, 65, 51, 55, 67, 105, 121, 133, 94	10.36	12.88
Carvacrol	135, 150, 91, 107, 77, 115, 65, 51, 55, 108, 74, 87, 95, 122, 133, 148	10.49	83.438
<i>trans</i> -cariofileno	79, 91, 93, 69, 77, 50, 55, 105, 133, 120, 109, 161, 148	12.42	3.674

^a Iones de mayor fragmentación, el pico base es el primero de la lista, otros iones en orden decreciente de abundancia.

El cromatograma de los aceites esenciales de *H. marifolia* presentó cuatro señales, los EM de cada señal se compararon con los de la base de datos del equipo. Los datos que se obtuvieron se muestran en la Tabla 6 en donde se observa que el compuesto en mayor proporción es el neo-mentol con un tiempo de retención de 8.52 min y una abundancia relativa de 73.355%.

Los aceites esenciales de *S. mexicana* presentaron un cromatograma en el cual se observaron tres señales, los EM de cada señal se compararon con los de la base de datos del equipo, los datos que se obtuvieron son mostrados en la Tabla 7, se puede observar que el compuesto mayoritario es *cis*-5-metil-2-(1-metiletil)-ciclohexanona con un tiempo de retención de 9.00 min y una abundancia relativa de 47.932%.

Tabla 6. Compuestos volátiles de los aceites esenciales totales de *H. marifolia* identificados por CG EM.

Compuesto	Datos del espectro de masas ^a	Tiempo de Retención	Abundancia Relativa %
alfa-terpinoleno	71, 55, 93, 69, 80, 121, 83, 96, 57, 136, 107, 109	7.37	4.194
Mentona	112, 55, 69, 139, 97, 84, 81, 154, 59, 121, 107, 149, 125	8.15	8.427
neo-mentol	71, 55, 81, 95, 67, 138, 53, 123, 83, 109, 97, 112, 139, 125, 156	8.52	76.355
Pulegona	81, 67, 109, 152, 82, 53, 69, 55, 95, 137, 91, 107, 119, 124	9.42	11.024

^a Iones de mayor fragmentación, el pico base es el primero de la lista, otros iones en orden decreciente de abundancia.

Tabla 7. Compuestos volátiles de los aceites esenciales totales de *S. mexicana* identificados por CG EM.

Compuesto	Datos del espectro de masas	Tiempo de Retención	Abundancia Relativa %
Mentona	112, 69, 56, 139, 154, 95, 154, 121, 136, 156	9	47.932
1-metil-4(1-metiletil)-ciclohexanol	71, 81, 95, 55, 67, 123, 138, 109, 85, 99	9.38	23.397
Pulegona	81, 67, 152, 137, 52, 57, 119, 105	10.38	28.771

^a Iones de mayor fragmentación, el pico base es el primero de la lista, otros iones en orden decreciente de abundancia.

Composición de las fracciones activas de los aceites de *P. longiflora*

En el caso de *P. longiflora* se obtuvieron tres fracciones y la composición química de la fracción activa se obtuvo al comparar los espectros de masas de las señales del cromatograma obtenido con los de la base de datos del equipo (Anexos 11), la información del espectro para la fracción es presentada en la Tabla 8, se puede observar que la fracción se encuentra compuesta por timol y carvacrol, este último en mayor proporción con un tiempo de retención de 10.48 min y una abundancia relativa de 86.667%.

Tabla 8. Compuestos volátiles de la fracción activa de *P. longiflora* identificados por CG EM.

Compuesto	Datos del espectro de Masas ^a	Tiempo de Retención	Abundancia Relativa %
Timol	135, 150, 91, 77, 115, 107, 65, 51, 55, 67, 105, 121, 133, 94	10.352	13.333
Carvacrol	135, 150, 91, 107, 77, 115, 51, 55, 108, 74, 95, 122, 133, 148	10.48	86.667

^a Iones de mayor fragmentación, el pico base es el primero de la lista, otros iones en orden decreciente de abundancia.

Actividad antibacteriana

Actividad antibacteriana de los aceites totales

Los resultados que se obtuvieron al evaluar los aceites esenciales totales de las tres especies de Lamiaceae son presentados en la Tabla 9. Se observa que dos de ellos, inhibieron a dos cepas bacterianas.

Tabla 9. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) en $\mu\text{g/ml}$, de los aceites esenciales totales de tres especies de Lamiaceae.

Especie	<i>Escherichia coli</i>		<i>Salmonella thyphimurium</i>		<i>Haemophilus influenzae</i>		<i>Staphylococcus pneumoniae</i>		<i>Staphylococcus aureus</i> ¹		<i>Staphylococcus aureus</i> ²	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>P. longiflora</i>	400	400	200	0	200	200	400	400	400	400	400	1600
<i>H. marifolia</i>	0	0	200	0	800	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. mexicana</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

¹certificada, ² aislada.

Los aceites esenciales de *P. longiflora* fueron los que mostraron mayor actividad ya que en todas las cepas presentaron CMI y CMB, tanto en las bacterias Gram positivas como en las Gram negativas. *H. influenzae* (Figura 8) registró la menor CMI y CMB, con un valor de 200 $\mu\text{g/ml}$; este valor fue el mismo para los dos casos. En otros casos los aceites presentan valores de CMI y CMB de 400 $\mu\text{g/ml}$ como en *S. pneumoniae* (Figura 9).

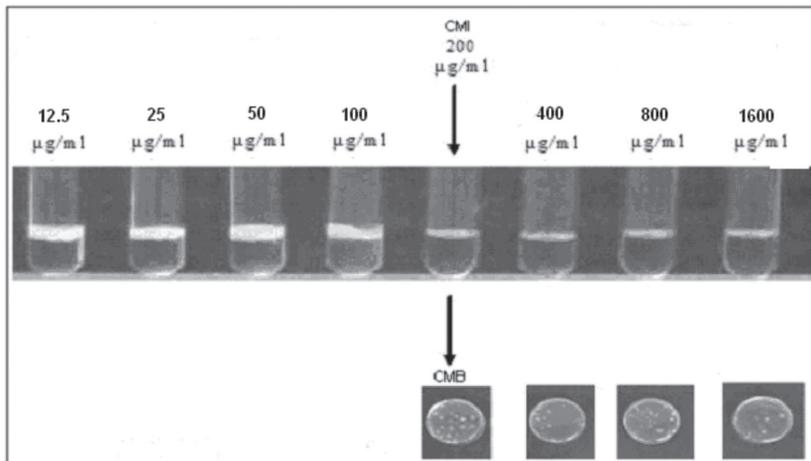


Figura 8. Actividad antibacteriana de los AEs totales de *P. longiflora* en *H. influenzae*

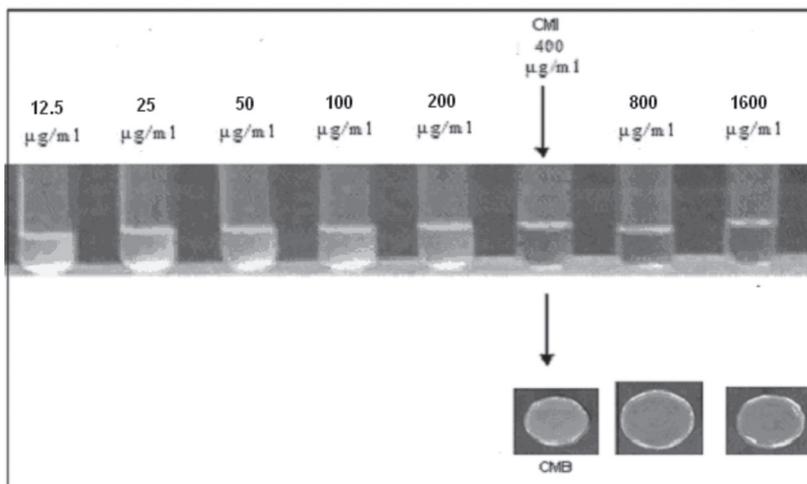


Figura 9. Actividad antibacteriana de los AEs totales de *P. longiflora* en *S. pneumoniae*

Los AEs de *H. marifolia* sólo presentaron CMI para dos cepas Gram negativas: *S. thyphimurium* y *H. influenzae*, los valores fueron de 200 y 800 µg/ml respectivamente. Los resultados de *S. thyphimurium* son mostrados en la Figura 10.

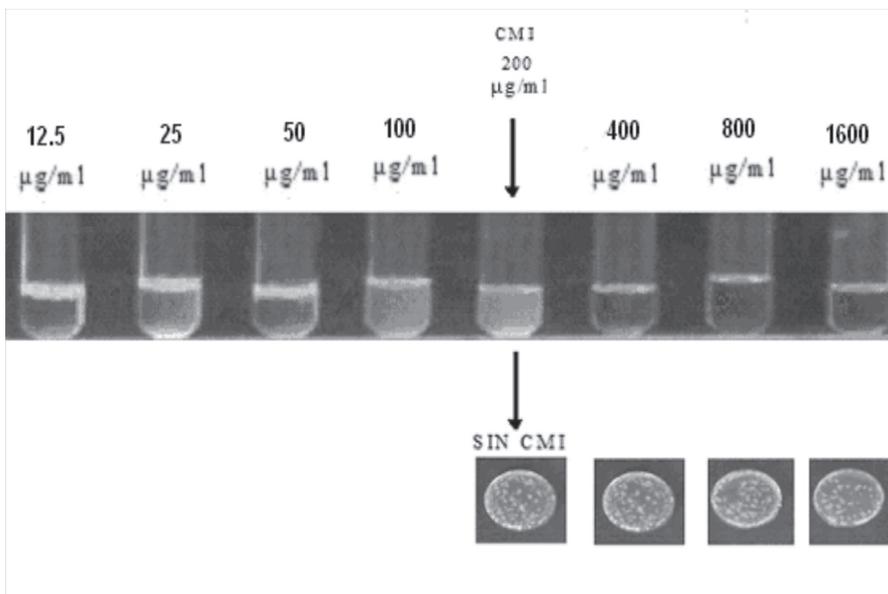


Figura 10. Actividad antibacteriana de los AEs totales de *H. marifolia* en *S. typhimurium*.

En el caso de los AEs de *S. mexicana* no mostraron actividad en ninguna cepa bacteriana por el método de dilución en caldo.

Actividad antibacteriana de las fracciones de los aceites esenciales de las tres especies.

Una vez evaluada la actividad antibacteriana de los aceites totales de cada especie se procedió a fraccionarlos y a analizar la actividad sobre el crecimiento bacteriano.

Se encontró que para *P. longiflora* de las tres fracciones obtenidas sólo la fracción dos mostró CMI y CMB, el intervalo de concentraciones a las que se ensayó fue de 1600 a 400 µg/ml, los resultados son mostrados en la Tabla 10.

Se puede observar que *S. typhimurium*, que no había presentado CMB, después de fraccionarlos presentó CMB con un valor de 400 µg/ml, no se observó actividad en *E. coli* ni en *S. aureus* certificada. También en *S. aureus* aislada ahora mostró CMB de 400 µg/ml.

Tabla 10. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) en $\mu\text{g/ml}$, de las fracciones de los aceites esenciales totales de *P. longiflora*.

Fracción	<i>Escherichia coli</i>		<i>Salmonella thyphimurium</i>		<i>Haemophylus influenzae</i>		<i>Staphylococcus pneumoniae</i>		<i>Staphylococcus aureus</i> ¹		<i>Staphylococcus aureus</i> ²	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	400	400	400	400	800	1600	0	0	400	400
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

¹certificada, ² aislada.

En el caso de las fracciones de los aceites esenciales de *H. marifolia* sólo se probó en dos cepas bacterianas que se seleccionaron por que los aceites totales habían presentado actividad en ellas, esto se debió a que la cantidad de las fracciones era muy poca. Se probó a dos concentraciones de 1600 y 800 $\mu\text{g/ml}$.

Los resultados de la actividad son mostrados en la Tabla 11. Se puede observar que la fracción 3 presentó CMB de 1600 $\mu\text{g/ml}$ para las dos cepas bacterianas escogidas.

Tabla 11. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) en $\mu\text{g/ml}$, de las fracciones de los aceites esenciales totales de *H. marifolia*.

Fracción	<i>Salmonella thyphimurium</i>		<i>Haemophylus influenzae</i>	
	CMI	CMB	CMI	CMB
1	0	0	0	0
2	1600	0	1600	0
3	1600	1600	1600	1600

Los aceites esenciales totales de *S. mexicana* no habían mostrado actividad, pero al obtener las fracciones y al evaluar su actividad antibacteriana en dos cepas que fueron escogidas debido a que como el componente mayoritario es el mismo que el que presentó *H. marifolia*, se encontró que las fracciones activas eran la uno y la dos. Estos resultados son mostrados en la Tabla 12.

Tabla 12. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) en $\mu\text{g/ml}$, de las fracciones de los aceites esenciales totales de *S. mexicana*.

Fracción	<i>Salmonella typhimurium</i>		<i>Haemophilus influenzae</i>	
	CMI	CMB	CMI	CMB
1	800	0	800	800
2	800	0	800	1600
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0

La actividad de los aceites esenciales de las tres especies y sus fracciones se compararon con un testigo positivo (una solución de clorhidrato de tetraciclina) y se observó que efectivamente inhibió el crecimiento bacteriano y al mismo tiempo causó efecto bactericida. También se colocó un testigo negativo, el cual fue el medio bacteriano en el que se observó crecimiento bacteriano.

Efecto sinérgico y antagónico de los componentes de las fracciones en la actividad antibacteriana

Puesto que se obtuvo una baja actividad antibacteriana para los aceites de *H. marifolia* y *S. mexicana*, se decidió hacer una mezcla de las fracciones para ver cómo influían sus componentes en la actividad.

Para *H. marifolia*, se observó que sólo las fracciones uno y dos presentaban actividad antibacteriana, pero al hacer la mezcla de las fracciones se notó que la CMI para la mezcla de la fracción uno y dos fue de 800 $\mu\text{g/ml}$ para *S. typhimurium*, en la mezcla de las fracciones uno y tres se observó lo mismo, en la mezcla de la fracción dos y tres no presentó actividad.

Tabla 13. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) en $\mu\text{g/ml}$, de la combinación de las fracciones de los aceites esenciales totales de *H. marifolia*.

Fracción	<i>Salmonella typhimurium</i>		<i>Haemophilus Influenzae</i>	
	CMI	CMB	CMI	CMB
1 y 2	800	0	0	0
1 y 3	800	0	0	0
2 y 3	0	0	0	0

Al igual que los aceites totales, al evaluar la actividad antibacteriana de la mezcla de las fracciones se colocó un testigo negativo de clorohitrato de tetraciclina que no presentó crecimiento bacteriano y un testigo positivo que presentó crecimiento bacteriano.

Caracterización espectroscópica

La fracción dos de los aceites esenciales de *P. longiflora* se caracterizó espectroscópicamente mediante RMN de ^1H y ^{13}C se obtuvo un espectro en cada caso, en donde se observa claramente que las señales se ven dobles pero una de ellas se desplaza un poco más que la otra, esto indica que se tienen dos compuestos uno de ellos es el timol y el otro es el carvacrol. En la figura 11 se muestra el espectro de RMN de ^1H a 400 MHz para la mezcla de los compuestos **1** y **2**.

Para el compuesto **1** se observó una señal doble ($J= 7.0$ Hz) en 1.25 ppm correspondiente a los metilos del grupo isopropilo (H-8 y H-9), una señal simple para H-10a en 2.24 ppm, una señal héptuple ($J= 7.0$ Hz) en 2.84 ppm que se asignó a H-7, una señal simple ancha a 4.95 ppm debida al protón del OH, una señal doble en 6.59 ppm que corresponde del H-6, una señal doble ($J= 1.0$ Hz) en 6.71 ppm característico de un acoplamiento orto de H-4, y una señal doble ($J= 1.0$ Hz) en 7.11 ppm característica de un acoplamiento orto de H-3.

En el caso del compuesto **2** se observa una señal doble ($J= 7.0$ Hz) en 1.24 ppm correspondiente a los metilos del isopropilo (H-8a y H-9a), una señal simple a 2.29 ppm característica de H-10a, una señal septuple ($J= 7.0$ Hz) a 3.21 ppm que indica el desplazamiento de H-7a, una señal simple a 5.04 ppm que corresponde al protón del OH, una señal doble en 6.71 ppm que corresponde del H-6a, una señal doble ($J= 1.0$ Hz) en 6.71 ppm característico de un acoplamiento orto de H-4a, y una señal doble ($J= 1.0$ Hz) en 7.06 ppm característica de un acoplamiento orto de H-3a.

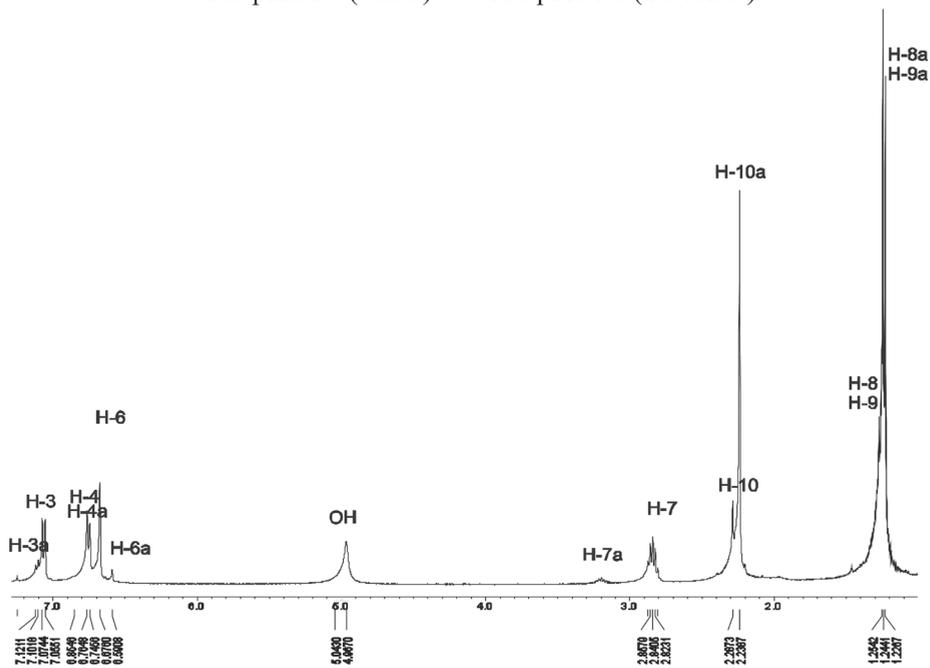
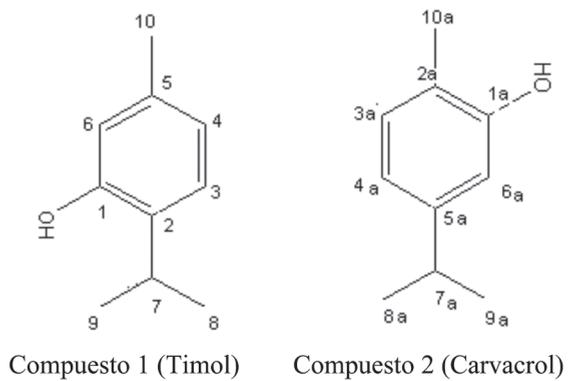


Figura 11. Espectro de RMN de ^1H de la mezcla de compuestos 1 y 2 en CDCl_3

En la Figura 12 se muestra el espectro de RMN de ^{13}C .

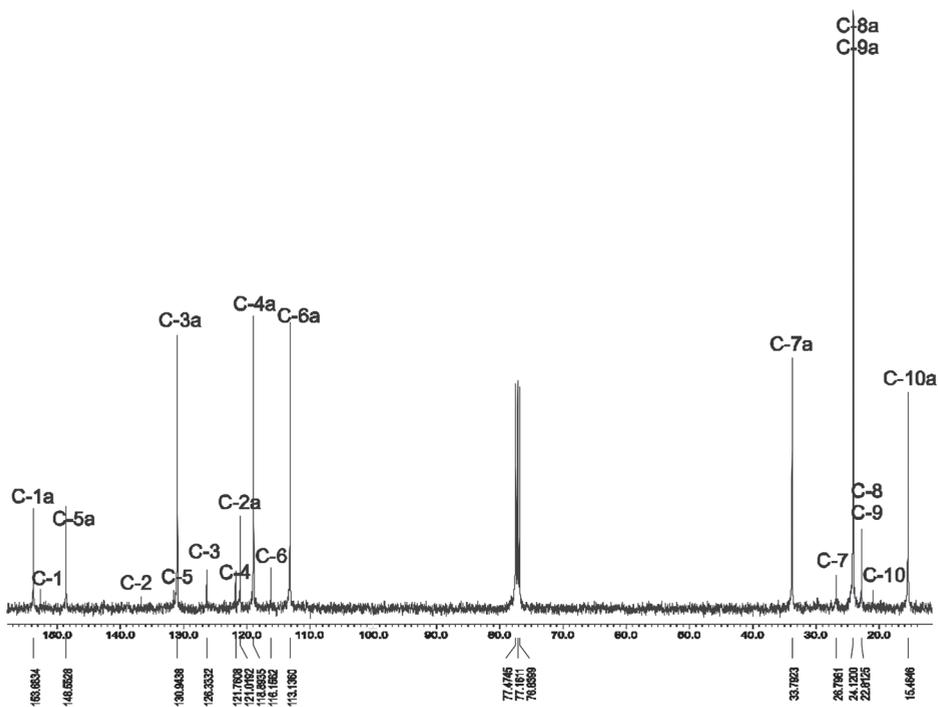
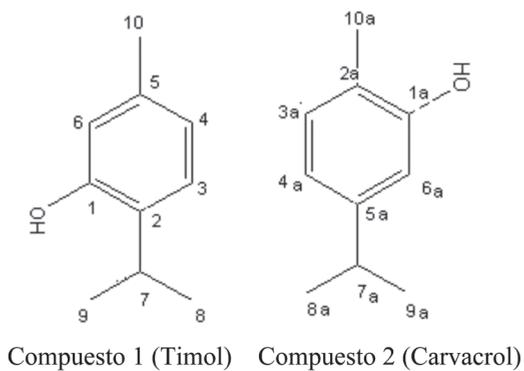


Figura 12. Espectro de RMN de ^{13}C mezcla de compuestos 1 y 2 en CDCl_3

Morfología glandular de las tres especies

El análisis de microscopía electrónica de barrido para las hojas de *P. longiflora* mostró que se tuvo un gran número de glándulas, parecidas a las glándulas de las flores. En las flores se encontraron en menor proporción, pero presentan vellosidades, en cambio la hoja mostró una superficie lisa (Anexo 12).

Las hojas de *H. marifolia* en el envés presentó vellosidades y no fue posible distinguir de forma adecuada las glándulas en donde se supone se encontraban los aceites, sin embargo, en el haz se pudo observar fácilmente estas glándulas. En el caso de las flores presentó en menor cantidad pero también se logró encontrar dichas glándulas (Anexo 13).

Las hojas de *S. mexicana* muestran pequeñas vellosidades en el envés, mientras que en las flores y en el haz se pueden observar las glándulas (Anexo 3) .

Discusión

Rendimiento de los aceites esenciales

La variación del contenido de los principios activos entre distintas especies de plantas es algo muy común (De Feo y col, 2003), por lo que se explica que las tres especies de plantas consideradas en este estudio, *P. longiflora* fue la especie que presentó mayor contenido de aceites esenciales, seguida de *H. marifolia* y en último lugar *S. mexicana*.

El rango de rendimiento de aceites esenciales encontrados en las especies estudiadas, que va de 0.03 a 0.27%, se ubica dentro de los parámetros de rendimiento de este tipo de sustancias en plantas aromáticas (Domínguez, 1979). Este intervalo de rendimiento de los AEs es similar al de especies como *P. lentiscos* en la que éste fue de 0.39 a 0.32% (Barra y col, 2007).

Composición química de los Aceites Esenciales

En cuanto a *P. longiflora* se encontró que el componente mayoritario es carvacrol, no se encontraron antecedentes de estudios de esta especie que reporte la presencia de este compuesto.

En los AEs de *H. marifolia* el compuesto mayoritario es neo-mentol, no se han realizados estudios de la composición química de esta especie.

Los aceites esenciales de *S. mexicana* se encuentran constituidos principalmente por mentona, pero también se encuentran en cantidad considerable pulegona y 4-isopropil-1metilciclohexanol. De la composición química de los AEs de esta especie tampoco se tienen antecedentes.

Ensayo de la actividad antibacteriana

Se encontró que de las tres especies de Lamiaceae estudiadas la que presentó mayor actividad fue *P. longiflora*, seguida de *H. marifolia* pero no fue tan significativa su actividad.

En el caso de *S. mexicana* no se encontró actividad por el método de dilución en caldo.

Estos resultados son de importancia ya que se ha reportado que ha aumentado la resistencia de los microorganismos a un gran número de antibióticos usados para tratar las enfermedades causadas por *E. coli*, *S. thiphymurium*, *S. aureus*, *H. influenzae* y *S. pneumonidae*. Por estas razones es necesario encontrar nuevas moléculas que sirvan para tratar las enfermedades infecciosas; una excelente alternativa serían las encontradas en el aceite esencial de *P. longiflora*, en la que se destaca que en dos cepas presentaron valores bajos de CMI de 200 $\mu\text{g/ml}$ y fueron activos tanto en bacterias Gram positivas y Gram negativas, ambas características coinciden con una de las propuestas de Lewis y Ausubel (2006) quienes sugieren que una planta con potencial antibacteriano debería exhibir valores bajos de CMI y ser activa por lo menos en bacterias Gram positivas.

Los resultados corroboran que efectivamente los AEs tienen propiedades antibacterianas como las presentadas por otras especies pertenecientes a la familia Lamiaceae.

Estos resultados contribuyen a validar el uso de esta especie en la medicina tradicional del Estado de Hidalgo.

Actividad antibacteriana, separación e identificación de los aceites esenciales de la especie más activa

Se ha reportado que un alto porcentaje de aceites esenciales presentan propiedades antimicrobianas (Cowan, 1999; De Feo y col, 2003). De la separación de los AEs de la muestra que presentó la mayor actividad, se obtuvieron tres fracciones, sin embargo, sólo la fracción dos resultó ser activa en *S. thiphymurium*, *S. aureus* (aislada), *H. influenzae* y *S. pneumonidae* ya que presentó CMI y CMB en las cuatro cepas bacterianas.

Al realizar el análisis de la composición por CG EM de la fracción activa se observó que se encontraba compuesta de timol y carvacrol. Estudios realizados por Coelho de Souza y colaboradores en el 2003 se encontró que especies que contienen timol y carvacrol presentan actividad antibacteriana ante un número considerable de cepas bacterianas causantes de diversas enfermedades. Algunos muestran que probablemente estos compuestos actúan en los ácidos grasos que conforman la membrana de la célula, modificando su permeabilidad, destruyéndola y dejando pasar del medio extracelular al intracelular protones y iones grandes, causando con esto la muerte de las bacterias (Cristani y col, 2007). En pruebas

de difusión en agar, de 5 a 15 μ l de carvacrol adquirido comercialmente presentó actividad antibacteriana en cepas Gram negativas y Gram positivas tales como *E. coli* y *S. typhimurium* y *S. aureus* respectivamente (Sivropoulou y col, 1996; Dorman y Deans, 2000; Horváth y col, 2002); comparativamente el timol fue más activo (Sivropoulou y col, 1996; Horváth y col, 2002). El carvacrol 0.75 mmol/L presentó inhibición completa del crecimiento de *Bacillus cereus* (Ultee y col, 1998).

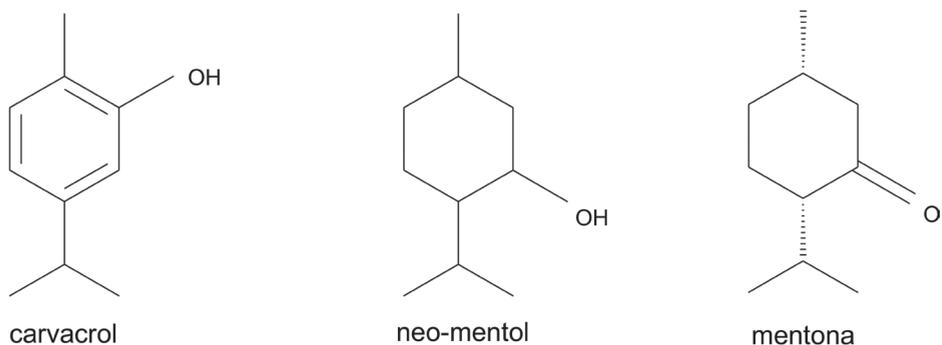
En cuanto a *P. longiflora* se encontró que el componente mayoritario es carvacrol (83.438%), un componente minoritario fue el timol (12.88%). Resultados similares se han encontrado en otras especies de Lamiaceae como *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (carvacrol 79.58%, timol 2.45%) y *O. dictamnus* (carvacrol 62.44%, timol 0.44%) (Sivropoulou y col, 1996). En los cromatogramas de *P. longiflora* ambos compuestos presentaron tiempos de retención cercanos lo que complicó su separación por cromatografía en placa y en líquidos, estas técnicas se llevaron a cabo pero no se presentan los resultados pues no se logró la separación de ambos componentes. Sin embargo si se identificaron estas sustancias mediante el empleo de RMN. Este tipo de espectroscopia ha probado ser de utilidad en la cuantificación e identificación de componentes individuales en extractos crudos (Rivero-Cruz y col, 2006).

Se han realizado estudios en los que se demuestra que los extractos de $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_2\text{-Cl}_2$ (1:1) presentan alta toxicidad en *Artemia salina* (Déciga-Campos y col, 2007).

Relación estructura actividad de los componentes mayoritarios

En los aceites esenciales se observó que el de mayor actividad fue el de *P. longiflora*, compuesto principalmente por carvacrol, seguido de los de *H. marifolia* constituidos principalmente por neo-mentol y los aceites de *S. mexicana* principalmente formados por cis- 5-metil-2-(1-metiletil)-ciclohexanona.

Este fenómeno se puede explicar debido a que el carvacrol tiene un grupo fenol y este tipo de compuestos que presentan una gran actividad antiséptica (Romo de Vivar, 2006). La baja actividad de *H. marifolia* se puede atribuir al neo-mentol que sólo contiene un grupo OH unido a un cicloalcano, la casi nula actividad de *S. mexicana* se explica por la presencia de la cis-5-metil-2-(1-metiletil)-ciclohexanona que por ser una cetona cíclica tiene menor actividad que los otros dos anteriores (Figura 13) (Romo de Vivar, 1985). Esto también fue observado por Veldhuizen y colaboradores en el 2006, en donde encontraron que el OH de un anillo aromático le confería al carvacrol una alta actividad antibacteriana en bacterias Gram positivas y Gram negativas en comparación con otros derivados que no lo contenían.



INCREMENTO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Figura 13. Relación estructura-actividad.

Efecto sinérgico y antagónico en la actividad antibacteriana de los AEs de *H. marifolia*

Los AEs de *H. marifolia* presentaron casi nula actividad antibacteriana, por lo que se decidió hacer la separación del aceite y evaluar la actividad antibacteriana de sus fracciones y de las mezclas de las fracciones. En los ensayos con *S. thyphimurium* y *H. influenzae*, se logró tener un ligero aumento de la actividad, pero no significativo. Estos resultados son de importancia ya que se puede observar que la presencia de determinadas moléculas puede favorecer o inhibir la actividad de otras que podrían conferirle una determinada actividad a los extractos de las plantas (Philogéne y col, 2005).

Morfología glandular de flores y hojas de las tres especies

La presencia de glándulas es necesaria en las plantas, ya que la gran mayoría contiene metabolitos secundarios con algún interés (Holetz y col, 2002). Las tres especies estudiadas muestran glándulas que reafirman la existencia de aceites esenciales en sus flores y hojas.

En cuanto a *P. longiflora* las glándulas de las flores y hojas son muy parecidas y no muestran diferencias excepto por su tamaño. Para observar las glándulas en la flor para tener un tamaño semejante se aumentó 800 veces, la de la hoja se tuvo que aumentar 900 veces; por lo que la glándula de la flor es de mayor tamaño que la de la hoja. En la flor las glándulas se encuentran sobre la superficie y las de la hoja se encuentran inmersas en ella (Anexo 4).

Las glándulas encontradas en las flores y hojas de *H. marifolia* si presentan diferencia, en relación a su tamaño, las de la flor son más pequeñas y circulares, mientras que las de la hoja que son elípticas, en este caso el aumento fue de 1000 veces. Ambos tipos de glándulas se observaron sobre la superficie (Anexo 4).

En las hojas y flores de *S. mexicana* no se encuentran diferencias significativas, pero si tienen una ligera diferencia en su tamaño, las dos son elípticas; las de la flor se encuentran sobre la superficie y las de la hoja inmersas en la superficie. Fueron observadas con un aumento de 900 veces (Anexo 4).

Conclusiones

De las tres especies estudiadas, *P. longiflora* presentó el mayor rendimiento de AEs extraídos con un valor de 0.27%.

Debido a la presencia de los AEs en estas muestras se tuvo actividad antimicrobiana, ya que se encuentran constituidos principalmente por terpenos aromáticos que le confieren la actividad que presentan y pueden ser útiles para tratar enfermedades causadas por diferentes tipos de microbios.

P. longiflora mostró actividad en las seis cepas bacterianas. Esta actividad se atribuye a la presencia de timol y carvacrol que contiene la fracción dos de los AEs, se encontró que existe una mayor cantidad de carvacrol en relación al timol, estos compuestos se caracterizaron por RMN.

Los resultados validan el uso de *P. longiflora* en la medicina tradicional del estado de Hidalgo.

El timol y carvacrol son monoterpenos fenólicos conocidos y que se han aislado de muchas especies que conforman la familia Lamiaceae. Actualmente se está empezando a explorar estas moléculas para buscar nuevas alternativas terapéuticas, debido a que presentan otro tipo de actividad biológica además de la antibacteriana, por ejemplo, se pueden emplear como antioxidantes (Zheng y Whang, 2001). Por este motivo, *P. longiflora* es un buen modelo para realizar múltiples estudios.

Se demostró que la presencia de determinadas moléculas en los aceites esenciales y sus interacciones que tengan entre ellas pueden conferirle o quitarle al aceite una determinada actividad por lo que el profundizar en este estudio sería algo muy útil y relevante.

Se observó la morfología glándulas de las flores y hojas de las tres especies encontrándose que existen diferencias en cuanto a tamaño, en el caso de *H. marifolia* también en la forma.

La existencia de glándulas en las flores y hojas contribuye a validar la presencia de los aceites esenciales y permite establecer si existe alguna relación entre la cantidad de glándulas presentes en una especie y el rendimiento de los aceites. En

el caso de *P. longiflora* se observó mayor cantidad de glándulas tanto en las hojas y flores, por lo que tal vez se justifique la mayor cantidad de aceite extraído en comparación con las otras dos especies.

Agradecimientos

Este estudio se realizó con apoyo del Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Hidalgo, dentro del proyecto “Diversidad Biológica del Estado de Hidalgo”. FOMIX HGO-2006-43761.

Bibliografía

- Aguilar Rendón, B., Rebollar Domínguez, S., Caballero Nieto, J., Martínez Alfaro, A. 2001. Plantas, cultura y sociedad, estudio sobre la relación entre seres humanos y plantas en albores del siglo XXI. UAM-Iztapalapa-SEMARNAT. México. 85-100 pp.
- Albado, P. E., Saez, F. G., Gabriel, A. S. 2001. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). Rev. Med. Hered. 12: 16-19.
- Alonso-Urmeneta, B., Bengoechea, J.A., Díaz, R., Gamazo, C., García, I., Hernández, S., Leiva, S., López-Goñi, I. Marrodán, T., Martínez, G., Orteiza, M. C., Romero, I., Rubio, M., Velasco, J., y Vitas, a. 2003. Manual Práctico de microbiología. MASSON. Segunda edición. Tercera reimpresión. España. 141-145 pp.
- Ascensao, L., Mota L., Castro M. De M. 1999. Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: Morphology, distribution and histochemistry. Annals of Botany 84: 437-447.
- Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P. Y Angioni, A. 2007. Characterization of the volatile constituents in the essential oil of *Pistacia lentiscos* L. from different origins and its antifungal and antioxidant activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55(17): 7093-7098.
- Coelho de Souza, G., Haas, A. P. S., Poser, G. L., Schapoval, E. E.S. and Elisabetsky, E. 2004. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. Journal of Ethnopharmacology 90:135-143.
- Cortés, F. 2005. Bioactividad de aceites esenciales de siete especies de plantas medicinales de Lamiaceae de la región centro-sur de Hidalgo. Tesis de

-
- Licenciatura en biología. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 124 p.
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12(4): 564-582.
- Cristani, M., D' Arrigo, M., Mandalari, G., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Micieli, D., Venuti, V., Bisignano, G., Saija, A., and Trombetta D. 2007. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 6300-6308.
- Décigo-Campos, M., Rivero-Cruz, I., Arriaga-Alba, M., Castañeda-Coral, G., Angeles-López, G. E., Navarrete, A., Mata, R. 2007. Acute toxicity and mutagenic activity of Mexican plants used in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*. 110: 334-342.
- De Feo, V., M. Bruno, B. Tahiri, F. Napolitano y F. Senatore. 2003. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from *Thymus spinulosus* Ten. (Lamiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 3849-3853.
- Díaz, R., Gamazo, C., y López-Goñi, I. 2003. Manual práctico de microbiología. Masson. Barcelona. 216 pp
- Domínguez, X. A. 1979. Método de investigación fitoquímica. Limusa. México D. F. 281 pp.
- Dorman, H.J.K. y deans, S.G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology* 88: 308-316.
- Evans, W. C. 2000. Farmacognosia. Omega. España. 134-143 pp.
- Fox, M. A. and Whitesell, J. K. 2000. Química Orgánica. Pearson educación. Segunda edición. México. 155-223 pp.
- García, C. M. M. L. 1994. Estudio fitoquímico de *Hesperozygis marifolia* (Labiatae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 71 pp.
- Hernández, T., M. Canales, J. G. Ávila, A. Duran, J. Caballero, A. Romo de Vivar y R. Lira. 2003. Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (México). *Journal of Ethnopharmacology* 88: 181-188.
- Holetz, F.B., Pessini, G. L., Sanches, M.R., García Cortez, D.A., Nakamura, C.V. and Dias Filho, B. P. 2002. Screening of some plants used in the Brazilian Folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 97(7):1027-1031.

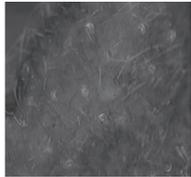
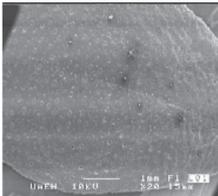
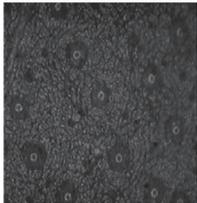
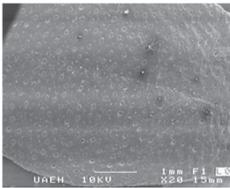
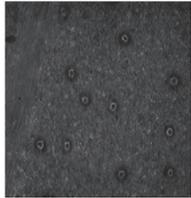
-
- Horváth, G.H., Kocsis, B., Botz, I. Németh, J. y szabó, L. 2002. Antibacterial activity of *Thymus* phenols by direct bioautography. Proceedings of the 7th Hungarian Congress on Plant Physiology 145-146.
- Lewis, W. H., Elvin-Lewis, P. E. 1997. Medical Botany "Plants affecting man's health". Wiley-Interscience Publication. Primera edición. UEA. 135p.
- Linares, E., R. Bye y B. Flores. 1990. Tes Curativos de México. Cuadernos del Instituto de Biología 7. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 125.
- Martínez, M. 1979. Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas. Fondo de Cultura Económica. México, D.F. 1220 pp.
- Nguefack, J. Budde, B. B., y Jakobsen M. 2004. Five essential oils from aromatic plants of Cameroon: their antibacterial activity and ability to permeabilize the cytoplasmic membrane of *Listeria innocua* examined by flow cytometry. Letters in Applied Microbiology. 39, 395-400
- Pérez Escandón, B. E., Villavicencio Nieto, M.A. y Ramírez Aguirre A. 2003. Lista de plantas útiles del Estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo, Pachuca. 3-17 pp.
- Philogène, B. J. R., Regnault, Roger C., and Vincent, C. 2005. Biopesticides of planta origin. Intercept. Hampshire. 59-63.
- Ramamoorthy, T. P., Bye, A. Lot y J. Fa. (eds). 1998. Diversidad Biológica de México, Orígenes y Distribución. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 791 p.
- Ríos, J. L., Recio, M. C. 2005. Medicinal Plants and antimicrobial activity. Journal of Ethnopharmacology. 100 (2005) 80-84.
- Romo de Vivar, A. 1985. Productos Naturales de la Flora Mexicana. Limusa. México D. F. 220 pp.
- Romo de Vivar, A. 2006. Química de la flora mexicana. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- Rzedowski, G.C. y Rzedowski, J. 2001. Flora fanerogámica del valle de México. Instituto de Ecología, A.C. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro. 624 y 625 pp.
- Soto, N. J. C. Y M. Sousa, S. 1995. Plantas Medicinales de la Cuenca del Río Balsas. Cuadernos del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 198 p.
- SSA, 2005. Sistema único de información para la Vigilancia Epidemiológica/ Dirección General de Epidemiología.
- Standley, P. C. 1982. Trees and Shrubs of México. U.S. National Museum Contribution. Vol. 23. 1721 p.

-
- Veldhuizen, E. J. A., Tjeerdsma-Van Bokhoven, J. L. M., Zweijtzer, C., Burt, S. A., and Haagsman H. P. 2006. Structural requirements for the antimicrobial activity of carvacrol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 1874-1879.
- Villavicencio Nieto, M. A., y Pérez Escandón, B. E. 1995. *Plantas útiles del Estado de Hidalgo I*. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca. 127 pp.
- Villavicencio Nieto, M. A., y Pérez Escandón, B. E. 2006. *Plantas útiles del Estado de Hidalgo III*. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Recopilación bibliografica. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca. 237 pp.
- WHO, 2002. WHO Traditional medicine strategy 2002-2005. World Health Organization. Geneva. 7-17 pp.
- WHO. 2005. *The World Health Report*. World Health Organization. Geneva.
- Zheng, W., and Wang, S. Y. 2001. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 5165-5170.

ANEXO 1

Familia: Lamiacea
Género: Poliomintha
Especie: longiflora
Clasificador: (A. Gray)



Parte de la planta	Microscopía electrónica de barrido	Microscopía óptica
FLOR		
HOJA ENVÉS		
HOJA HAZ		

Imágenes de flor, envés y haz de la hoja de *P. longiflora* tomadas con un microscopio electrónico de barrido con un aumento de 20 y 120 veces, las de microscopía óptica con un aumento de 27X.

ANEXO 2

Familia: Lamiaceae
Género: *Hesperozygis*
Especie: *marifolia*
Clasificador: (Briq.) Epl.



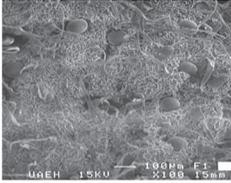
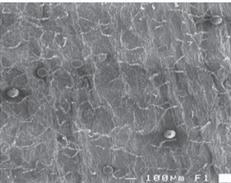
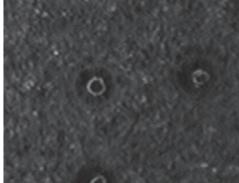
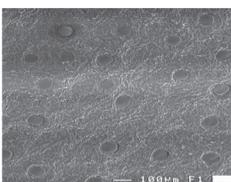
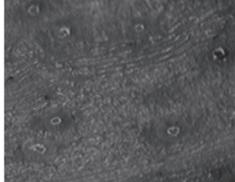
Parte de la planta	Microscopía electrónica de barrido	Microscopía óptica
FLOR		
NO DISPONIBLE		
HOJA ENVÉS		
HOJA HAZ		

Imágenes de flor, envés y haz de la hoja de *H. marifolia* tomadas con un microscopio electrónico de barrido con un aumento de 120, 200 y 350 veces, la de microscopía óptica con un aumento de 27X

ANEXO 3

familia: Lamiacea
Género: *Satureja*
Especie: *mexicana*
Clasificador: (Benth.) Briq.)



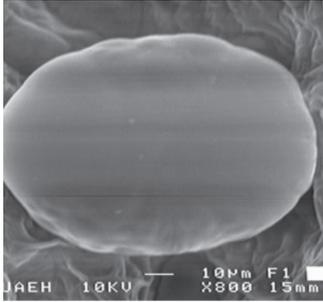
Parte de la planta	Microscopía electrónica de barrido	Microscopía óptica
FLOR		
HOJA ENVÉS		
HOJA HAZ		

Imágenes de flor, envés y haz de la hoja de *S. mexicana* tomadas con un microscopio electrónico de barrido con un aumento de 50, 80 y 100 veces, las de microscopía óptica con un aumento de 27X.

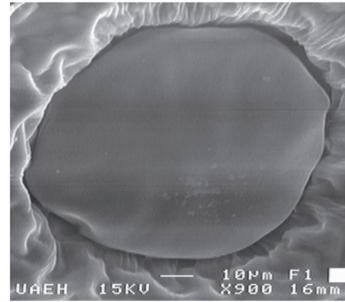
ANEXO 4

P. longiflora

Flor

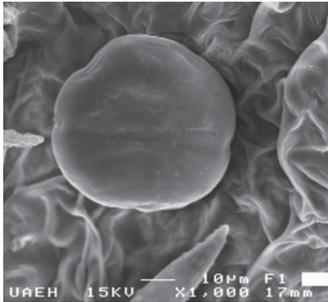


Hoja

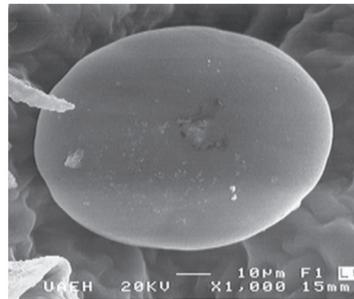


H. marifolia

Flor



Hoja

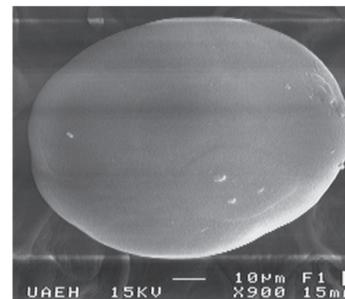


S. mexicana

Flor



Hoja



Glándulas de *P. longiflora*, *H. marifolia*, *S. mexicana* observadas en microscopia electrónica de barrido, aumentadas 800, 900, 1000 veces.

**Flora útil de Hidalgo. Avances en la documentación
y evaluación de la actividad biológica I,**

se diseñó en formato electrónico en la Dirección de Ediciones
y Publicaciones con el apoyo de la Imprenta Universitaria y la Dirección
de Tecnologías Web y Webometría de la Universidad Autónoma
del Estado de Hidalgo, en el mes de julio de 2022.

