

Las cortezas de tallo de *Diphyssa americana* (Mill.) M. Sousa (Guachipilín) y su efecto antimicrobiano

The stem bark of *Diphyssa americana* (Mill.) M. Sousa (Guachipilín) and their antimicrobial effect

Francisco Javier Díaz-Trujillo¹ <https://orcid.org/0009-0003-9753-9394>

Cecilia Guadalupe Hernández-Tondopó¹ <https://orcid.org/0000-0002-6728-5018>

Iván de-la-Cruz-Chacón¹ <https://orcid.org/0000-0001-9908-6278>

Lorena Mercedes Luna-Cazáres^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-6209-9737>

¹ Laboratorio de Fisiología y Química Vegetal, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.

*Autor para la correspondencia: lorena.luna@unicach.mx

RESUMEN

Introducción: *Diphyssa americana* (Mill.) M. Sousa, es una planta de la familia Fabaceae, conocida como guachipilín, originaria de Mesoamérica y empleada en la medicina tradicional para tratar padecimientos gastrointestinales, respiratorios y de la piel.

Objetivo: evaluar la diversidad de metabolitos secundarios en extractos de cortezas de tallo y su efecto sobre diversos microorganismos.

Método: se obtuvieron tres extractos orgánicos (hexano, acetato de etilo, metanol) y uno acuoso de cortezas de tallo recolectadas en etapa vegetativa. La diversidad fitoquímica se evaluó mediante la identificación colorimétrica y de precipitación de grupos de metabolitos secundarios (MS). El efecto antimicrobiano se evaluó con la técnica de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) en microdilución frente a tres bacterias Grampositivas, cinco Gramnegativas y una levadura.

Resultados: los grupos de metabolitos secundarios identificados fueron: alcaloides, esteroides, flavonoides tipo flavona, glucósidos, lactonas sesquiterpénicas y saponinas. Los extractos más activos fueron el de metanol, acetato de etilo (AcOEt) y acuoso. Las bacterias más susceptibles a los extractos fueron *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomonas aeruginosa* ya que fueron inhibidas por los cuatro extractos. Las CIM variaron de 2.5 a 40 mg mL⁻¹. En *Salmonella* Typhi y *Shigella sonnei* se identificó el mayor efecto antimicrobiano con una CIM de 2.5 mg mL⁻¹.

Conclusiones: el extracto metanólico de *D. americana* mostró actividad de amplio espectro al inhibir a cinco de los nueve microorganismos evaluados, por lo que constituye un extracto con potencial biotecnológico.

Palabras clave: Guachepil; metabolitos secundarios; antibacteriano; planta medicinal.

ABSTRACT

Introduction: *Diphyssa americana* (Mill.) M. Sousa, known as guachipilín, is a plant of the Fabaceae family, native to Mesoamerica, used in traditional medicine to treat gastrointestinal, respiratory and skin ailments.

Objective: to evaluate the presence of secondary metabolite groups in *Diphysa americana* extracts and assess their impact on various microorganisms.

Method: three organic extracts (hexane, ethyl acetate, methanol) and one aqueous extract were obtained from stem bark collected during the vegetative stage. The phytochemical diversity was assessed through colorimetric identification and precipitation of secondary metabolite (SM) groups. The antimicrobial effect was evaluated using the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) technique in microdilution against three Gram-positive bacteria, five Gram-negative bacteria, and one yeast.

Results: the identified groups of secondary metabolites were: alkaloids, steroids, flavone-type flavonoids, glycosides, sesquiterpene lactones, and saponins. The most active extracts were methanol (MeOH), ethyl acetate (AcOEt) and aqueous. The bacterial strains tested, *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* were particularly susceptible to the extracts, as they were inhibited by all four extracts. The minimum inhibitory concentrations ranged from 2.5 to 40 mg mL⁻¹. *Salmonella typhi* and *Shigella sonnei* exhibited the highest antimicrobial effect, with an MIC of mg mL⁻¹.

The most active extracts were those obtained using methanol, ethyl acetate (AcOEt), and water. Among the bacterial strains tested, *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* were particularly susceptible to the extracts, as they were inhibited by all four extracts. The Minimum Inhibitory Concentrations (MICs) ranged from 2.5 to 40 mg/mL *Salmonella typhi* and *Shigella sonnei* exhibited the highest antimicrobial effect, with an MIC of 2.5 mg/mL

Conclusions: the methanolic extract of *D. americana* exhibited broad-spectrum inhibition against five out of the nine evaluated microorganisms, making it a biotechnologically promising extract.

Keywords: Guachepil; secondary metabolites; antibacterial; medicinal plant.

Recibido: 06/05/2024

Aceptado: 27/11/2024

Introducción

El uso de la vegetación para curar enfermedades es tan antiguo como el ser humano. Actualmente, se estima que el 88% de la población de todos los países recurre a las plantas medicinales para atender sus necesidades básicas de atención médica.⁽¹⁾ En las plantas existe una amplia gama de compuestos químicos llamados metabolitos secundarios, que son los que las hacen útiles como agentes terapéuticos, se pueden encontrar en toda la planta o solo en una de sus estructuras.^(2,3,4)

Las investigaciones en el campo de las plantas medicinales van dirigidas a la búsqueda de compuestos químicos a través de la obtención de extractos utilizando diversos solventes y técnicas de extracción para determinar el potencial bioactivo,^(5,6) debido que se ha incrementado la resistencia antibacterina, aunado a lo anterior la producción de nuevos antibióticos ha disminuido,^(7,8) lo que sitúa a las plantas como un valioso arsenal de sustancias biológicamente activas, ya sea como fitoterapéuticos o de materia prima para la industria farmacéutica.⁽⁹⁾

Entre las especies empleadas como medicinales en México y Centroamérica está el árbol *D. americana*, cuyo nombre vernáculo más común es Guachipilín que deriva

del náhuatl *cuauchipilín* y que significaría chipilín arbóreo. También se le conoce en Chiapas, México como Tzuscui (lengua zoque) y Canté (lengua tojolabal y tzeltal). En México, los pobladores en algunas comunidades del estado de Chiapas utilizan las hojas y el tallo de la planta como agentes medicinales;⁽¹⁰⁾ y en países de Centroamérica como Guatemala y Costa Rica son utilizadas las hojas y la corteza en decocción para tratar afecciones gastrointestinales (diarreas), respiratorias (tos y catarro), dérmicas, heridas, picaduras y mordeduras de serpientes.⁽¹¹⁻¹⁷⁾

De esta especie existen pocos estudios sobre sus propiedades biológicas, es en la década de los 90 un grupo de investigadores en Guatemala realizaron pruebas *in vitro* de algunas plantas medicinales, entre ellas el Guachipilín, cuyos extractos etanólicos, de acetona y hexano de hojas y cortezas inhibieron el crecimiento de *Escherichia coli*, *Salmonella Typhi*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*,⁽¹³⁻¹⁹⁾ En tanto que las hojas maceradas con etanol al 50% inhibieron a *Neisseria gonorrhoeae*.⁽²⁰⁾

Este trabajo tuvo como finalidad evaluar la riqueza de metabolitos secundarios y el efecto de los extractos de cortezas de Guachipilín sobre diversos microorganismos.

Métodos

La identificación taxonómica del ejemplar recolectado de *D. americana* fue realizada por el Dr. Miguel Ángel Pérez Farrera curador del Herbario Eizi Matuda (HEM) del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. Para ello se ingresaron ejemplares

herborizados a la colección y uno de ellos quedó registrado con el número 46033 y con el nombre común de Guachipilín.

Recolecta

Se recolectaron las cortezas del tallo de un árbol sano y en etapa vegetativa en septiembre de 2019, se deshidrataron a temperatura ambiente y a la sombra para posteriormente pulverizarlas.

Obtención de extractos orgánicos

Se pesaron 40 g de corteza de tallos que se colocaron en una bolsa de papel filtro para su extracción en el equipo Soxhlet. Los metabolitos se extrajeron con disolventes orgánicos de polaridad creciente, primero con hexano (H, Baker®) seguido de acetato de etilo (AcOEt, Baker®) y de metanol (MeOH, Baker®). La extracción con cada disolvente se realizó durante 8 horas por tres ocasiones, una vez terminada la extracción, se eliminó el solvente a presión reducida en un rotaevaporador, a temperaturas de 69 °C (H), 77°C (AcOEt) y 65°C (MeOH). Los extractos se almacenaron en frascos ámbar a temperatura ambiente, hasta su uso.

Obtención de extractos acuosos

Para la obtención de extractos acuosos (EA), se pesaron 100 g de la muestra vegetal y se añadieron 400 mL⁻¹ de agua destilada, la mezcla se llevó a ebullición hasta evaporar aproximadamente un 25 % de agua, posteriormente se filtró y dejó secar a temperatura y luz ambiente, después se almacenó en un frasco ámbar.

Identificación de grupos de metabolitos secundarios

Las pruebas colorimétricas y de precipitación para identificar los grupos de metabolitos secundarios de los extractos se llevaron a cabo siguiendo los métodos modificados de Domínguez,⁽²¹⁾ Plummer,⁽²²⁾ Miranda-Martínez⁽²³⁾ y Salem et al.⁽²⁴⁾ Los resultados se expresaron mediante un sistema de intensidad de reacción con el siguiente criterio: reacción intensa (+++), reacción media (++), reacción ligera (+) y reacción negativa (-).

Pruebas de inhibición bacteriana

Bacterias

Las bacterias Gramnegativas utilizadas fueron: *Salmonella* Typhi (ATCC 6539), *Shigella dysenteriae* (ATCC 29026), *Shigella sonnei* (ATCC 25931), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) y *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883); las Grampositivas ensayadas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) y *Bacillus subtilis* (ATCC 6051) y la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (NRRL-Y-2043).

Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)

La determinación de la CIM de los extractos sobre las bacterias se realizó por el método de microdilución seriada en medio de cultivo líquido,⁽²⁵⁾ para ello se preparó una solución madre a 96 mg mL⁻¹ de cada extracto que se disolvió en dimetilsulfóxido (DMSO, Sigma®) al 6 %.

A la par se prepararon placas de cultivos de 96 pocillos (Brandplates®) estériles en una campana de flujo laminar de la siguiente manera, en todos los pocillos se depositaron 100 µL de caldo Müeller-Hinton y en el primero 100 µL de la solución madre, a partir de éste primer pocillo se transfirieron 100 µL al segundo y de esta misma forma a los pocillos posteriores para obtener diluciones seriadas. Del último

pocillo se desecharon 100 μL . Después se añadió a cada pocillo 10 μL de solución de resazurina (Sigma®) y 10 μL de inóculo microbiano de un subcultivo de cinco a seis horas estandarizado a 0.5 de turbidez microbiana en la escala de McFarland (cerca de 1.5×10^8 unidades formadoras de colonias por mililitro [UFC mL^{-1}] ^(26,27)). De esta manera las concentraciones de prueba fueron de 40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125, 0.1562, 0.0781, 0.03090 y 0.0195 mg mL^{-1} .

Las evaluaciones se realizaron por duplicado y en cada ensayo se incluyeron tres controles: el positivo con gentamicina a 1 mg mL^{-1} (Sigma®), de crecimiento microbiano y el de esterilidad del extracto.

Las placas se incubaron aeróbicamente a $36^\circ\text{C} \pm 1$ por 18 horas, al finalizar el periodo de incubación se observó la coloración de cada mezcla el color rosa indicó crecimiento y el azul inhibición del crecimiento bacteriano, el primer pocillo en la serie en presentar una coloración azul fue considerado como el valor de la CIM para cada microorganismo.

Resultados

Grupos de metabolitos secundarios

Los glucósidos fueron los únicos MS presentes en todos los extractos, con intensidad baja en los extractos de hexano y acetato de etilo, intensidad media para el metanólico y alta para el acuoso. Las lactonas sesquiterpénicas, flavonoides de tipo flavona y saponinas estuvieron presentes en los extractos de acetato, metanol y acuoso con intensidad variable (figura 1).

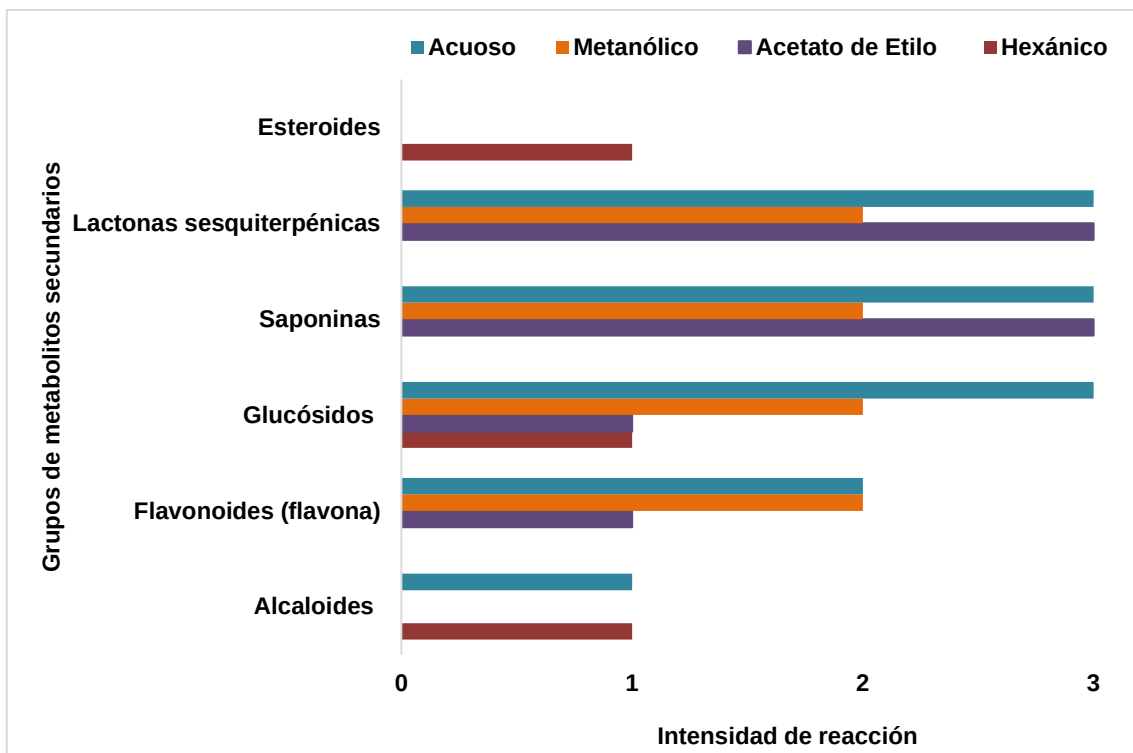


Fig. 1- Metabolitos secundarios en las cortezas de *D. americana*. Intensidad de reacción: 1: baja; 2: media; 3: alta.

Los alcaloides se observaron en dos extractos (hexánico y acuoso) y los esteroides solo en el extracto hexánico, ambos MS en baja intensidad (figura 1). El extracto con mayor diversidad de metabolitos fue el acuoso con cinco grupos: alcaloides, flavonoides de tipo flavona, glucósidos, saponinas y sesquiterpénlactonas.

Efecto inhibitorio de los extractos sobre los microorganismos

Todos los extractos de las cortezas del tallo de *D. americana* tuvieron efecto inhibitorio (tabla 1), el extracto metanólico sobre todos los microorganismos evaluados (ocho bacterias y la levadura), seguido del acuoso que impidió el crecimiento de siete bacterias y la levadura.

Se observó que la mayor potencia inhibitoria correspondió a los extractos de acetato de etilo y al metanólico (tabla 1), el primero sobre *S. Typhi* (figura 2) y el segundo frente a *S. sonnei* ambos a 2.5 mg/mL⁻¹, estos fueron los valores más bajos de todo el trabajo experimental. Por otro lado, también se observó efecto inhibitorio del extracto hexánico a 20 y 40 mg mL⁻¹ (figura 3), sin embargo, fue el único que no impidió el crecimiento de *S. cerevisiae*.

Tabla 1- Valores de CIM de extractos de cortezas (mg/mL⁻¹)

Extracto hexánico								
S.	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S. sonnei</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. Typhi</i>	<i>K. pneumoniae</i>	S.
20	20	40	-	-	-	-	-	-
Extracto acetato de etilo								
20	10	-	10	5	10	2.5	5	-
Extracto metanólico								
5	40	2.5	5	20	5	20	40	10
Extracto acuoso								
10	10	10	5	5	10	-	20	5

Mientras que el extracto de AcOEt inhibió a *K. pneumoniae* y *S. aureus* a 5 mg mL⁻¹, a esta misma concentración el extracto metanólico inhibió a *B. subtilis*, *S. epidermidis* y *S. cerevisiae*, y el acuoso a *S. aureus*, *B. subtilis* y *S. dysenteriae*.

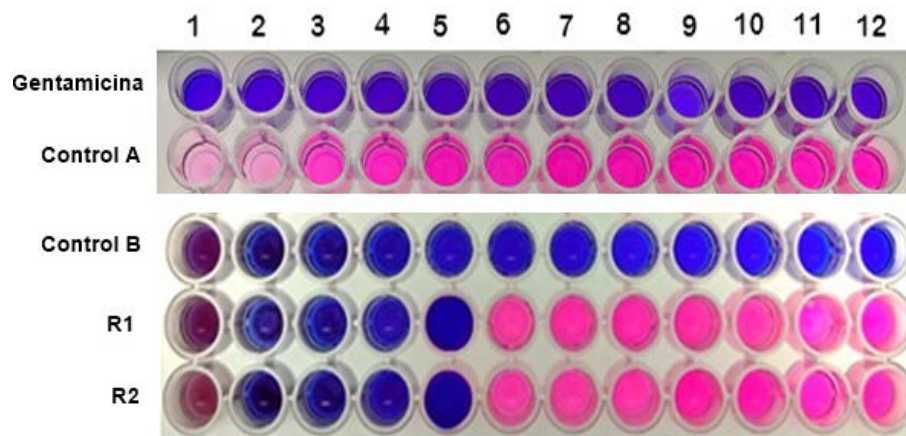


Fig. 2- Actividad antibacteriana de los extractos de acetato de etilo de *D. americana* frente a *Salmonella* Typhi. Control A: control de crecimiento; Control B: control de esterilidad del extracto; R1 y R2: repeticiones 1 y 2. Concentraciones (mg mL^{-1}): 1=40; 2=20; 3=10; 4=5; 5=2.5; 6=1.25; 7=0.625; 8=0.3125; 9=0.1562; 10=0.0781; 11=0.03090; 12=0.0195.

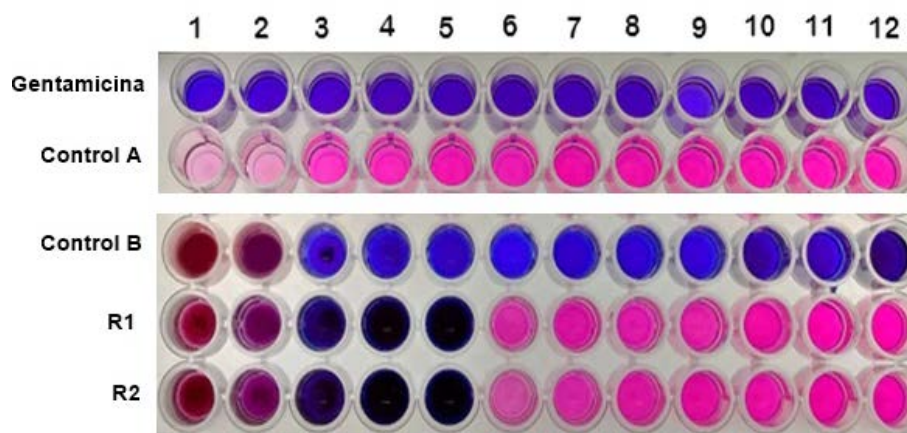


Fig. 3- Actividad antibacteriana de los extractos de acetato de etilo de *D. americana* frente a *S. sonnei*. Control A: control de crecimiento; Control B: control de esterilidad del extracto; R1 y R2: repeticiones 1 y 2. Concentraciones (mg mL^{-1}): 1=40; 2=20; 3=10; 4=5; 5=2.5; 6=1.25; 7=0.625; 8=0.3125; 9=0.1562; 10=0.0781; 11=0.03090; 12=0.0195.

Discusión

Para establecer el potencial antimicrobiano de *D. americana*, planta que se emplea en la medicina tradicional para tratar infecciones gastrointestinales, respiratorias y dermatomucosas,^(11,28,29) se identificaron los grupos químicos de metabolitos secundarios y la potencia y el espectro antimicrobiano de extractos orgánicos y acuosos de las cortezas de tallo.

Los extractos de cortezas de tallo contienen alcaloides, esteroides, glucósidos, lactonas sesquiterpénicas, saponinas y flavonoides de tipo flavona, los que pueden obtenerse de acuerdo al tipo de disolvente empleado, por ejemplo, las lactonas, saponinas, glucósidos y flavonoides pueden extraerse con disolventes de mediana o polaridad alta, en tanto que los esteroides solo se encuentran en disolventes no polares como el hexano, mientras que el acuso (mayor polaridad) es capaz de extraer diversos compuestos químicos. En esta investigación, en las cortezas se identificaron seis tipos de MS en diferentes intensidades e reacción ello explicaría las diferencias en las actividades antimicrobianas detectadas.

El extracto de AcOEt y el de MeOH inhibieron el crecimiento de *S. Typhi* y de *S. sonnei* con una CIM de 2.5 mg mL⁻¹. El efecto sobre la primera especie también lo demuestra el extracto etanólico de hojas de esta planta, reportado por Cáceres et al.^(13,14), pero con una CIM del doble (5 mg mL⁻¹). Otras especies del mismo género muestran también potencial antibacteriano, el extracto etanólico de corteza de *D. minutifolia*, inhiben a *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*, a 50 mg mL⁻¹ sobre las dos primeras y 100 mg mL⁻¹ a las dos últimas, este efecto inhibitorio reportado por Avellaneda-Saucedo et al.⁽⁶⁾ coincide con los de esta investigación para las mismas cepas bacterianas, pero con valores de CIM más bajos (5 a 40 mg mL⁻¹). Estos estudios se realizaron con material recolectado en meses diferentes,

así como en condiciones experimentales distintas, sin embargo confirma la propiedad antimicrobiana de especies del género.

El mayor efecto lo mostraron los extractos de MeOH, H₂O y AcOEt, que no permitieron el crecimiento de nueve, ocho y siete microorganismos, respectivamente, los cuales además presentaron saponinas y lactonas sesquiterpénicas como MS en común, incluso con las mismas intensidades de reacción (figura 1). Este tipo de moléculas tiene un reconocido potencial antimicrobiano, lo que podría explicar el espectro de actividad observado.^(30,31) Varios de estos MS están relacionados con la alteración de la membrana plasmática con mecanismos específicos, por ejemplo, el efecto inhibitorio de las saponinas se atribuye a que interactúan con los lípidos de las membranas celulares alterando su permeabilidad o provocando lisis celular,^(32,33) en tanto que las lactonas sesquiterpénicas se unen a los grupos sulfhidrilo y amino de las proteínas de las membranas⁽³⁴⁾ y alteran la pared celular bacteriana,⁽³⁵⁾ otras actúan sobre los centros activos de las proteínas.⁽³⁶⁾

Los extractos de las cortezas de tallo tienen la capacidad de inhibir a los microorganismos evaluados, en concentraciones diferentes, lo que posiblemente se deba a la composición de los extractos, ya que diferentes MS pueden establecer sinergia de moléculas, ya que algunas, al trabajar en conjunto, facilitan su interacción y biodisponibilidad,^(37,38) efecto que ha sido referido no solo para la actividad antimicrobiana, sino también para otras actividades biológicas.^(39,40)

Es de destacar el efecto inhibitorio de los extractos de metanol, acetato de etilo y acuoso frente a la levadura *S. cerevisiae*, a concentraciones de 5 a 10 mg mL⁻¹, ya que hasta la fecha no existen reportes de este tipo para el Guachipilín ni para otras especies del género *Diphyssa*. Tal actividad es de relevancia ya que en las últimas

décadas la incidencia de infecciones producidas por esta levadura es amplia, produciendo afecciones cutáneas hasta sistémicas del torrente sanguíneo y órganos vitales.⁽⁴¹⁾ *S. cerevisiae* presenta varios rasgos de virulencia; al respecto, *Diezmann y Dietrich*⁽⁴²⁾ mencionan su capacidad de sobrevivir al estrés oxidativo, así como a altas temperaturas.

Conclusiones

Los extractos orgánicos de polaridad creciente y el extracto acuoso de la corteza del tallo de *D. americana* (Guachipilín) tienen potencial antimicrobiano in vitro frente a bacterias que causan enfermedades respiratorias y gastrointestinales, y frente a la levadura que causa infecciones cutáneas. El extracto metanólico es el de más amplio espectro, ya que inhibió a cinco de los nueve microorganismos ensayados y, por ende, el de mayor potencial para futuros estudios encaminados al aislamiento, elucidación y caracterización de los compuestos responsables de la actividad.

Referencias bibliográficas

1. Organización Mundial de la Salud (OMS). Centro Mundial de Medicina Tradicional de la OMS. [Internet]. 2024. [citado 27 de febrero 2024]; Disponible en: <https://www.who.int/initiatives/who-global-traditional-medicine-centre/about-us>
2. Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty L, Martínez-Meléndez A, Cruz-López F. Los metabolitos secundarios como agentes antimicrobianos. *biologiaysociedad* [Internet]. 22 de junio de 2023 [citado 27 de febrero de 2024];6(12):33-40. Disponible en: <https://biologiaysociedad.uanl.mx/index.php/b/article/view/94>

3. Ocegueda S EM, y Koleff P. Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica. Biodiversitas 2005;62:12-25. Disponible en: <https://portalacademico.cch.unam.mx/materiales/prof/matdidac/sitpro/exp/quim/quim2/quimilvallejo/1plantasutilizadas.pdf>
4. Balarezo GL. Plantas medicinales: Una farmacia natural para la salud pública. Paideia XXI 2018;6(7):159-170. Disponible en: <https://revistas.urp.edu.pe/index.php/Paideia/article/view/1606/1480>
5. Rosales-López C, Arnáez-Serrano E, Moreira- González I, Garro-Monge G, Agüero-Hernández AL, Jiménez-Quesada K, *et al.* Investigaciones en plantas con potencial bioactivo. TM [Internet]. 9 de septiembre de 2019 [citado 27 de febrero de 2024];32(9):Pág 12-21. Disponible en: https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/4621
6. Avellaneda-Saucedo S, Rojas H NM, Cuéllar C A y Fonseca J R.M. Actividad antibacteriana de *Diphyssa minutifolia* Rose. Revista Cubana de Plantas Medicinales 2005;10(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962005000200004&script=sci_arttext
7. Fernández Riverón F, López Hernández J, Ponce Martínez LM, Machado Betarte C. Resistencia bacteriana. Rev Cub Med Mil [Internet]. 2003 [citado 27 de febrero de 2024]; 32(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572003000100007&lng=es.
8. Oromí J. Resistencia bacteriana a los antibióticos. Medicina integral: Medicina preventiva y asistencial en atención primaria de la salud [Internet]. 2000 [citado 27 de febrero de 2024]; 36(10), 367-370. Disponible en:

<https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-resistencia-bacteriana-losantibioticos-10022180>

9. Esquivel-Gutiérrez E, Noriega-Cisneros R, Bello-González M, Saavedra-Molina A y Salgado-Garciglia R. Plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana con propiedades antidiabéticas y antihipertensivas. *Biológicas* [Internet] 2012 [citado 27 de febrero de 2024]; 14(1), 45-52. Disponible en:

<https://www.biologicas.umich.mx/index.php?journal=biologicas&page=article&op=view&path%5B%5D=125&path%5B%5D=124>

10. Farrera-Sarmiento O. y Orantes-García C. Plantas útiles multipropósitos en una comunidad del área de influencia de las reservas de la biosfera La Sepultura y El Ocote, Chiapas, México. *Lacandonia* 2015; 9(1): 37-44.

11. Soler Z. N y López NM. Interpretación ambiental de INBioparque, La Finca (Costa Rica) [serie en internet]. 2014 [citado 25 septiembre 2023]. Disponible en: <https://ddd.uab.cat/record/131585>.

12. Urbina Cruz FM, Pinto Ruíz R, Guevara Hernández F, Medina Jonapá F J y Hernández López A. *Diphsya americana* (Mill.) M. Sousa. En: Palma García, J. M. y Torres Rivera, J. A. (Compiladores). Recursos arbóreos y arbustivos tropicales II para una ganadería bovina sustentable. Red Temática de Sistemas Agroforestales de México-The Nature Conservancy México-Colegio Mexicano de Agroforestería Pecuaria A.C.-Universidad de Colima. México; 2020. p. 43-47.

13. Caceres A, Cano O, Samayoa B, Aguilar L. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against enterobacteria. *J Ethnopharmacol.* 1990 [citado 28 de febrero de 2024]; 30(1):55-73. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S037887419090017N?via%3Dihub>

14. Cáceres A, Samayoa B, Fletes L. Actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de infecciones. Guatemala, DIGI/USAC.

Cuadernos de Investigación. 1990 [citado 28 de febrero de 2024]; 4(90): 41-42.

Disponible en: https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/02/879019/actividad-antibacteriana-de-plantas-usadas-en-guatemala-para-el_w0IT0sD.pdf

15. Cáceres A, López BR, Girón MA, Logemann H. Actividad antimicótica de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de dermatofitosis. Revista Mexicana de Micología 1991 [citado 28 de febrero de 2024]; 7: 21-28. Disponible en:

<https://www.scientiafungorum.org.mx/index.php/micologia/article/view/772/955>

16. Cáceres A, Álvarez AV, Ovando AE, Samayoa BE. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases. 1. Screening of 68 plants against gram-positive bacteria. J Ethnopharmacol. 1991 [citado 28 de febrero de 2024];

31(2):193-208. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S037887419190005X?via%3Dihub>

17. Cáceres A, López BR, Girón MA, Logemann H. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. 1. Screening for antimycotic activity of 44 plant extracts. J Ethnopharmacol. 1991 [citado 28 de febrero de 2024];

31(3):263-76. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874191900112?via%3Dihub>

18. Cáceres A, Figueroa L, Taracena AM, Samayoa B. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases. 2: Evaluation of activity of 16 plants against gram-positive bacteria. J Ethnopharmacol. 1993 [citado 28 de febrero de 2024]; 39(1):77-82. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0378874193900538?via%3Dihub>
19. Cáceres A, Fletes L, Aguilar L, Ramirez O, Figueroa L, Taracena AM, Samayoa B. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 3. Confirmation of activity against enterobacteria of 16 plants. J Ethnopharmacol. 1993 [citado 28 de febrero de 2024]; 38(1):31-8. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/037887419390076H?via%3Dihub>
20. Cáceres A, Menéndez H, Méndez E, Cohobón E, Samayoa BE, Jauregui E, Peralta E, Carrillo G. Antigonorrhoeal activity of plants used in Guatemala for the treatment of sexually transmitted diseases. J Ethnopharmacol. 1995 [citado 28 de febrero de 2024]; 48(2):85-8. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/037887419501288O?via%3Dihub>
21. Domínguez XA. Métodos de investigación fitoquímica. México: Editorial Limusa; 1973.
22. Plummer DT. Bioquímica práctica. 2ª edición. Colombia: Editorial McGraw Hill Latinoamericana; 1981.
23. Miranda-Martínez M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba: Universidad de La Habana; 2002.

24. Salem M ZM, Gohar YM, Camacho LM, El Shanhorey N A y Salem A.Z.M. Antioxidant and antibacterial activities of leaves and branches extracts of *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth against nine species of pathogenic bacteria. African Journal of Microbiology Research 2013 [citado 25 septiembre 2023];7(5):418-426. Disponible en:

<https://pdfs.semanticscholar.org/f6fb/fd28a2fd8b606806a62b7e36ddbfb89194cb/b.pdf>

25. Sarker SD, Nahar L, Kumarasamy Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. Métodos 2007;42(4):321-324. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1046202307000096>

26. Cona TE. Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. Revista Chilena de Infectología 2002;19(Supl. 2):77-81.

Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0716-10182002019200001&script=sci_arttext&lng=en

27. Andrews JM y Howe RA. BSAC standardized disc susceptibility testing method. The Journal of antimicrobial Chemotherapy 2011;66 (12): 2726-2757.

Disponible en: <https://academic.oup.com/jac/article/66/12/2726/695827?login=true>

28. Arnason T, Uck F, Lambert J, Hebda R. Maya Medicinal Plants of San Jose Succotz, Belize. Journal of Ethnopharmacology 1980;2:345-364. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874180810166>

29. Gupta MP, Santana AI, Espinosa A. Plantas Medicinales de Panamá; s/f. [acceso 28/agosto/2022] Disponible en:
<https://www.oas.org/es/sedi/femcidi/pubs/Libro%20de%20Plantas%20Medicinal%20de%20Panama.pdf>
30. Cowan MM. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews* 1999;12(4):564-582. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC88925/>
31. Salazar-Gómez A, Ontiveros-Rodríguez JC, Pablo-Pérez SS, Vargas-Díaz ME y Garduño-Siciliano L. The potential role of sesquiterpene Lactones isolated from medicinal plants in the treatment of the metabolic syndrome. *South African Journal of Botany* 2020;135:240-251. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7493762/>
32. Díaz-Puentes LN. Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos. Una revisión. *RET. Revista de estudios transdisciplinarios* 2009;1(2): 32-55. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/pdf/1792/179214945004.pdf>
33. Vélez-Terranova M, Campos-Gaona R, Sánchez-Guerrero G. Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal. *Tropical and subtropical Agroecosystems* 2014;17: 489-499. Disponible en:
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93935728004>
34. Ramos G, Frutos P, Giráldez FJ, Mantecón AR. Los compuestos secundarios de las plantas en la nutrición de los herbívoros. *Archivos de Zootecnia*

1998;47(180): 597-620. Disponible en:

<https://www.redalyc.org/pdf/939/93935728004.pdf>

35. Chadwick M, Trewin H, Gawthrop F. y Wagstaff C. Sesquiterpenoids Lactones: Benefits to plants and people. International Journal of Molecular Sciences 2013;14(6):12780-12805. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/14/6/12780>

36. Marcano D. y Hasegawa M. Fitoquímica Orgánica. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela: Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico 2002, p. 588.

37. Álvarez-Martínez FJ, Barraón-Catalán E, Herranz-López M, y Micol V. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. Phytomedicine 2021[citado 01 marzo 2024]; 90, 153626. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944711321001690>

38. Tomás-Menor L, Barraón-Catalán E, Segura-Carretero A, Martí N, Saura D, Menéndez J. A, Joven J y Micol V. The Promiscuous and Synergic Molecular Interaction of Polyphenols in Bactericidal Activity: An Opportunity to Improve the Performance of Antibiotics?, Phytotherapy research 2015[citado 01 marzo 2024]; 29, 466–473, Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ptr.5296>

39. Maestre-Pacheco AE, Contreras-Martínez OI, y Angulo-Ortiz AA. Actividad antibacteriana de extractos de *Oxandra longipetala* R.E.Fr. (yaya morena) frente a algunas bacterias de interés clínico. Revista Cubana de Plantas Medicinales

2022;27(2):1148-1163. Disponible en:

<https://revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/1148/495>

40. Gómez-Parrales CA, Carbay-Uyaguari YA, Sorroza-Ochoa L, y Rivera-Intriago L. Sinergia de combinaciones de extractos vegetales para el control de vibriosis en sistema productivo de camarón (*Litopenaeus vannamei*). Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas 2019;2(3),91-98. Disponible en:

<https://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA/article/view/188/246>

41. Souza-Goebel C, De Mattos-Oliveira F. y Severo LC. Infección por *Saccharomyces cerevisiae*. Revista Iberoamericana de Micología 2013; 30 (3): 205-208. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1130140613000235>

42. Diezmann S, Dietrich FS. *Saccharomyces cerevisiae*: population divergence and resistance to oxidative stress in clinical, domesticated and wild isolates.

PLoS One. 2009;4(4):e5317. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005317>

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Miguel Ángel Pérez Farrera curador del Herbario Eizi Matuda (HEM) del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas por la identificación de la especie estudiada.

Contribución de los autores

Conceptualización, metodología, revisión de resultados y redacción de los borradores:

Lorena Mercedes Luna-Cazáres.

Trabajo experimental: Francisco Javier Díaz-Trujillo.

Desarrollo experimental y apoyo en la redacción de borradores: Cecilia Guadalupe

Hernández-Tondopó.

Revisión del borrador final: Iván de la Cruz Chacón.