

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL



CARACTERIZACIÓN DE EXTRACTOS DE HOJAS Y RAMAS DE
Eysenhardtia texana **Y EVALUACIÓN DE SU POTENCIAL**
ANTIMICROBIANO

Por:

PAULINA GUADALUPE NÚÑEZ MEJÍA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

CARACTERIZACIÓN DE EXTRACTOS DE HOJAS Y RAMAS DE *Eysenhardtia Texana* Y EVALUACIÓN DE SU POTENCIAL ANTIMICROBIANO

Por:

PAULINA GUADALUPE NÚÑEZ MEJÍA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Aprobada por el Jurado Examinador

Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez

Presidente

Dra. Irma Esther Dávila Rangel

Vocal

Dra. María Liliána Flores López

Vocal

Dra. Armando Robledo Olivo

Vocal

M.C. Pedro Carillo López
Coordinador de la División de Ciencia Animal

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

CARACTERIZACIÓN DE EXTRACTOS DE HOJAS Y RAMAS DE *Eysenhardtia Texana* Y EVALUACIÓN DE SU POTENCIAL ANTIMICROBIANO

Por:

PAULINA GUADALUPE NÚÑEZ MEJÍA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez
Asesor Principal Interno



Dra. María Liliaña Flores López
Asesor



Dra. Irma Esther Dávila Rangel
Asesor Principal Externo



Dra. Armando Robledo Olivo
Asesor

Saltillo, Coahuila, México
Diciembre, 2023

MANIFIESTO DE HONESTIDAD ACADÉMICA

La suscrita **Paulina Guadalupe Núñez Mejía**, alumna del programa docente de Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos, con matrícula **41181926** y autor de la presente tesis manifiesta que:

1. Reconozco que el plagio académico constituye un delito que está penado en nuestro país.
2. Las ideas, opiniones, datos e información publicadas por otros autores y que han sido incluidas en este trabajo, han sido debidamente citadas, reconociendo la autoría de la fuente original.
3. Toda información consultada ha sido analizada e interpretada por el suscrito y redactada según su criterio y apreciación, de tal manera que no se ha incurrido en el “copiado y pegado” de dicha información.
4. Reconozco la responsabilidad sobre los derechos del autor de los materiales bibliográficos consultados por cualquier vía y manifiesto no haber hecho mal uso de ellos.
5. Entiendo la función y el alcance de mi comité de asesoría está circunscrito a la orientación de guía respecto a la metodología de investigación realizada para el presente trabajo, así como el análisis e interpretación de los resultados obtenidos. Por lo tanto, eximo de toda responsabilidad relacionada al plagio académico a mi comité de asesoría y acepto que cualquier responsabilidad al respecto es únicamente mía.

ATENTAMENTE

Paulina Guadalupe Núñez M.

Paulina Guadalupe Núñez Mejía

Tesista

AGRADECIMIENTOS

Agradezco principalmente a **Dios** por permitirme lograr cada uno de mis objetivos, pues sin él nada de esto sería posible, ya que representa lo más importante en mi vida.

A mi **ALMA MATER** por abrirme las puertas a estas instalaciones, y permitirme el poder formarme académicamente, marcando mi vida de muchas maneras y que todas las experiencias que fueron parte importante de mi vida las haya vivido aquí.

A mi familia por ser el pilar más grande de mi vida, porque son quienes están siempre apoyándome en cada una de mis fases que pueden llegar a ser muy drásticas sin embargo nunca me han dejado sola.

A mi hermano **David Núñez** y mi cuñada **Rosa Imelda Ferretiz**, por creer en mí, y darme toda la confianza necesaria para poder estar aquí, por su apoyo económico que me brindaron durante toda mi carrera no sé qué hubiera hecho sin ustedes, jamás podré pagarles todo lo que hicieron por mí. Espero algún día poder encontrar las palabras para expresar mi agradecimiento hacia ustedes.

A mis padres **José Luis Núñez** y **Silvia Mejía** por permitirme volar, porque a pesar de lo difícil que fue para ellos me apoyaron, porque yo sin ustedes no sería la persona que soy ahora, siempre estaré agradecida con ustedes por poder dejar sus miedos a un lado y dejarme tomar mis propias decisiones.

A la **Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez** por brindarme todo su apoyo en este tiempo que forme parte de este proyecto, y darme las facilidades de trabajo para llevarlo a cabo.

A la **Dra. Irma Esther Dávila Rangel** por tenerme tanta paciencia, guiarme y orientarme en cada procedimiento, por preocuparse por mí cada vez que algo me pasaba durante el proceso, por convertirse en alguien muy importante en mi formación tanto académica como personal. Nunca encontraré las palabras suficientes para expresar mi agradecimiento hacia usted.

A la **Dra. María Liliana Flores López** por brindarme las facilidades en la recolección de material vegetal y su disposición para la finalización de mi proyecto de tesis.

Al **Dr. Armando Robledo Olivo** por brindarme su apoyo y gran disponibilidad para la conclusión de mi proyecto de tesis.

A la **Dra. Susana González Morales** por brindarme las facilidades para el desarrollo de actividades en el proyecto en el Departamento de Horticultura.

A mi amiga **Ivana Robles** por escucharme, entenderme y muchas veces soportarme, por ayudarme a nunca rendirme y ser mi mayor motivadora y paño de lágrimas, no tengo palabras para expresar mi agradecimiento hacia ti.

A mis primas **Gina Serna-Ross** y **Paulina Núñez (+)** por mostrarme siempre ese cariño hacia mi persona, y haber confiado en mí cuando les dije a donde me iría y haberme apoyado

con mi ficha, porque sé que desde donde este Paulina siempre estará orgullosa de mí, siempre estaré agradecida con ustedes.

A mi amigo **Homero Ibarra** por siempre apoyarme cuando más lo necesitaba y estar para mí, estaré eternamente agradecida contigo.

Por último, agradezco a mis amigos por siempre estar apoyándome y formar parte de esta gran aventura a los que están desde el comienzo de esta etapa y a los que están desde antes.

DEDICATORIA

A mi hermano Luis David Núñez Mejía quien confió en mi ciegamente, y por ser mi más grande ejemplo y por brindarme todo su apoyo siempre en mi vida. Por ser el hombre más excepcional que he conocido y ser como un segundo padre para mí. Gracias por nunca cuestionar mis decisiones y haberme apoyado desde el primer momento.

A mi cuñada Rosa Imelda Ferretiz Castillo quien siempre me dio ánimos y apoyo a mi hermano incondicionalmente en sus decisiones, viéndome como una hermana, siempre estaré agradecida contigo.

A mi madre, la Sra. Silvia Mejía Hernández quien siempre me apoyo en todas mis decisiones, aunque no me entendiera, por siempre estar presente y nunca dejarme sola, y que a pesar de sus costumbres me dejo volar, que siendo su niña pequeña y su más grande dolor de cabeza siempre hizo todo para guiarme y darme todos sus consejos.

A mi padre el Sr. José Luis Núñez Herrera quien es mi más grande confidente, por siempre apoyarme y demostrarme todo su amor, gracias por siempre acompañarme en mi camino y nunca dejarme sola.

A mi hermana Virginia Azucena Núñez Mejía quien es mi más grande apoyo y ejemplo, sin ti nunca hubiera llegado hasta donde estoy, por ser mi mayor compañera de vida y mostrarme que con amor y dedicación todo se puede y los sueños si se cumplen.

A Ana Laura Núñez Mejía quien es mi hermana mayor y ha sido siempre tan protectora conmigo, por siempre mostrarme su amor y verme siempre como si fuera su hija.

A mi hermana Karina Núñez Mejía quien me ha apoyado siempre y me ha seguido en cada una de las fases de mi vida, entendiéndome, aunque le costara trabajo.

A mi hermano José Juan Núñez Mejía y mi cuñada Adilene Sosa, quienes siempre fueron mis confidentes y me dieron los mejores consejos, convirtiéndose en una hermana para mí, por siempre alentarme y orientarme en decisiones difíciles y preocuparse por mí, por brindarme su apoyo emocional y económico en mi camino.

A mi hermano Omar Núñez Mejía quien siempre me ha mostrado que los sueños siempre se deben de seguir, que luchar por lo que queremos nos costara trabajo, pero siempre tendremos una recompensa.

A los padres y madres de mis sobrinos, por amarlos siempre, y haberlos traído a mi vida.

A mi hermano José Santiago Núñez Mejía quien espero algún día pueda cumplir su sueño al igual que yo, que al ser el más pequeño hemos crecido juntos, te he visto convertirte en este adolescente enorme con visiones diferentes, pero siempre serás él bebé de la casa.

A mis sobrinos Daniel, Michel, Katherine, Mason, Dylan, Arizbeth, Yassmin, Ana María, Alison, David, Emiliano, Valentina y Ariadne, quienes son mi motivación, y espero algún día poder ser su modelo a seguir, por enseñarme lo que es el amor incondicional en mi vida.

Definitivamente tengo una gran deuda con ustedes, quienes me han mostrado su apoyo en cada uno de los pasos de mi existencia, me han demostrado que el amor de una familia siempre será de los más puros que puedan existir, este logro no solo es mío, también es de ustedes, dado que siempre estuvieron presentes en cada paso de esta formación, los quiero tanto, siempre serán mi mayor motivación.

¡Gracias por tanto!

ÍNDICE DE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	I
DEDICATORIA	III
ÍNDICE DE GENERAL	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
ÍNDICE DE CUADROS	VIII
RESUMEN	1
ABSTRACT	3
1. INTRODUCCIÓN	5
1.1 Antecedentes	5
1.2 Justificación	8
1.3 Hipótesis	10
1.4 Objetivo General	10
1.5 Objetivos Específicos	10
2. REVISIÓN DE LITERATURA	11
2.1 Generalidades	11
2.2 Plantas medicinales de zonas áridas y semiáridas de México	12
2.3 Compuestos Bioactivos	13
2.4 <i>Eysenhardtia texana</i>	13
2.4.1 Clasificación taxonómica	15
2.4.2 Composición Química	16
2.5 Propiedades funcionales	18
2.5.1 Efecto antifúngico	18
2.5.1.1 <i>Fusarium oxysporum</i>	18
2.5.2 Efecto Antibacteriano	20
2.5.2.1 <i>Escherichia coli</i>	20
3. MATERIALES Y MÉTODOS	22
Etapa I Obtención y caracterización de extractos de <i>E. texana</i>	22
3.1 Reactivos	22
3.2 Materia prima	22

3.2.1	Análisis fisicoquímico	24
3.2.2	Obtención de extractos de <i>E. texana</i> mediante el método de agitación convencional	25
3.2.3	Rendimiento de extracto de <i>E. texana</i>	26
3.3	Contenido de fenoles totales (CFT)	26
3.4	Capacidad antioxidante	27
3.4.1	Capacidad antioxidante por el método del radical DPPH.....	27
3.4.2	Capacidad antioxidante por el método del radical ABTS.....	28
	Etapa II Efectividad antimicrobiana de <i>E. texana</i>	28
3.5	Reactivos	28
3.6	Actividad antifúngica de los extractos de <i>E. texana</i> en <i>F. oxysporum</i>	29
3.7	Actividad Antibacteriana en <i>E. coli</i>	30
3.8	Análisis estadísticos	32
4.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	33
	Etapa I Obtención y caracterización de extractos de <i>E. texana</i>	33
4.1	Análisis fisicoquímicos	33
4.2	Rendimiento de extractos de <i>E. texana</i>	35
4.3	Contenido de Fenoles Totales (CFT).....	36
4.4	Actividad Antioxidante por el método del radical DPPH	37
4.5	Capacidad antioxidante por el método del radical ABTS	38
	Etapa II Efectividad antimicrobiana de <i>E. texana</i>	40
4.6	Actividad antifúngica sobre <i>F. oxysporum</i>	40
4.7	Prueba antibacteriana sobre <i>E. coli</i>	42
5.	CONCLUSIONES	45
6.	PERSPECTIVAS	46
7.	REFERENCIAS	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Zonas áridas y semiáridas de México	11
Figura 2. <i>Eysenhardtia texana</i>	14
Figura 3. Distribución geográfica de <i>E. texana</i>	15
Figura 4. Arbusto de <i>Eysenhardtia texana</i>	16
Figura 5. <i>Fusarium oxysporum</i> en microscopio donde las esporas presentan la forma característica de media luna.....	19
Figura 6. Ubicación geográfica de punto de recolección de la planta <i>E. texana</i>	23
Figura 7. Proceso de secado, triturado y tamizaje de hojas y ramas	24
Figura 8. Proceso de Digestión de muestras (a) y determinación de proteínas (b).	25
Figura 9. Análisis de contenido de fibra cruda (a). Análisis de porcentaje de grasa (b) y Cenizas (c)	25
Figura 10. Reacciones de capacidad antioxidante en lector de microplacas	28
Figura 11. Prueba antifúngica de medio envenenado contra <i>F. oxysporum</i> (a) Autoclavado de material, (b) Agar y filtro PES, (c) Agitación de extracto en solvente, (d) y (e) Filtrado de extracto en agar, (f) Colocación de explante de <i>F. oxysporum</i> en medio envenenado.	30
Figura 12. Prueba de actividad antibacteriana. (a) Autoclavado de material, (b) Disolución de extracto en su solvente, (c) Llenado de cajas petri con medio inoculado con <i>E. coli</i> , (d) Discos impregnados en cada extracto (e), Colocación de discos con extracto y controles (f) Medición de inóculo comparando con escala de McFarland.	32
Figura 13. Contenido de fenoles totales en extractos de <i>E. texana</i> en diferentes solventes de extracción. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes, $p \leq 0.05$), valor promedio \pm desviación estándar.	37
Figura 14. Resultados de actividad antioxidante por el método de DPPH en extractos de <i>E. texana</i> . Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes, $p \leq 0.05$), valor promedio \pm desviación estándar.....	38
Figura 15. Resultados de actividad antioxidante por el método de ABTS en extractos de <i>E. texana</i> . Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes, $p \leq 0.05$), valor promedio \pm desviación estándar.....	40
Figura 16. Medio envenenado con los extractos de planta <i>E. texana</i> evaluados contra crecimiento de <i>F. oxysporum</i>	42
Figura 17. Prueba de difusión en disco de <i>E. texana</i> contra <i>E. coli</i> en diferentes concentraciones, en el centro de la caja se colocó un control positivo.	43

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Compuestos químicos de extracto metanol-diclorometano obtenido de partes aéreas de <i>E. texana</i>	17
Cuadro 2. Descripción de los tratamientos de extractos acuosos e hidroalcohólicos de <i>E. texana</i>	26
Cuadro 3. Análisis fisicoquímico de Hojas y Ramas de <i>E. texana</i>	34
Cuadro 4. Porcentaje de rendimiento de extractos de <i>E. texana</i>	35
Cuadro 5. Actividad antifúngica de extractos de <i>E. texana</i> contra <i>Fusarium oxysporum</i> . ..	41

RESUMEN

Eysenhardtia texana es una planta medicinal comúnmente conocida como “palo dulce”, se desarrolla de forma más común en el sur de Texas y en el norte de México en los estados de Coahuila y Tamaulipas. Es de particular uso dentro de la comunidad de los Kikapúes para tratar y aliviar problemas renales. En la actualidad, son escasas las investigaciones en esta especie vegetal, por lo que es necesario su estudio para conocer sus componentes, su capacidad antioxidante y efectividad biológica.

Por lo tanto, los objetivos de la presente investigación fueron: 1) Determinar la composición fisicoquímica de hojas y ramas de *E. texana*, 2) Obtener extractos de *E. texana* a través del método convencional de agitación, utilizando solventes hidroalcohólicos y solución acuosa, 3) Caracterizar extractos en función de variables de rendimiento y actividad antioxidante, y 4) Evaluar el efecto antimicrobiano de extractos de hojas y ramas de *E. texana* sobre cepas de interés farmacéutico y agronómico.

Los tratamientos se dividieron en acuosos e hidroalcohólicos (etanol:agua) de proporción 50:50 y 70:30 y se clasificaron de la siguiente forma: ramas acuoso (R-Ac), ramas hidroalcohólico, (R-HA50:50 y R-HA70:30), hojas acuoso (H-Ac) y hojas hidroalcohólico (H-HA50:50, H-HA 70:30).

En cuanto a los resultados, se presentaron diferencias significativas en el contenido de proteína con mayor concentración en hojas ($10.75 \pm 0.48\%$) con respecto a ramas ($4.02 \pm 0.58\%$). Por otra parte, los rendimientos de extracción más altos se observaron en los tratamientos H-HA50:50 con $15.17 \pm 0.86\%$ y en H-HA70:30 con $12.91 \pm 0.53\%$, siendo los de menor rendimiento todos los extractos de ramas. En cuanto al contenido de fenoles totales (CFT), se presentaron mayores valores en R-Ac, R-HA50:50 y R-HA70:30 con los siguientes resultados: 548.89, 554.04 y 598.68 mg ácido gálico (AG)/g extracto, respectivamente. Para la capacidad antioxidante por el método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), el extracto H-Ac presentó el mayor poder antioxidante con valores de CI_{50} de 32.36 mg/mL; mientras que, con el método de ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico), solo se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos de R-Ac ($CI_{50} = 84.0$ mg/mL) y H-HA70:30 ($CI_{50} = 38.5$ mg/mL), demostrando la influencia del solvente en la actividad antioxidante de los extractos de *E. texana*.

Respecto a las pruebas de efecto antimicrobiano, los extractos H-HA50:50, H-HA70:30 y R-HA70:30 inhibieron al 100% el crecimiento de *Fusarium oxysporum* en concentraciones desde 2000 mg/mL, en contraste con los acuosos. Por otra parte, los extractos de *E. texana* no presentaron actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli* en ninguna de las distintas concentraciones bajo estudio (0.2 - 100 mg/mL) en la prueba de difusión en disco.

En conclusión, esta investigación ofrece nuevos conocimientos sobre la composición y bioactividad de extractos de *E. texana*, mostrando resultados alentadores en el control de *F. oxysporum*, un hongo fitopatógeno que causa enfermedades en cultivos de importancia comercial ocasionando grandes pérdidas en la agricultura. Se requieren pruebas adicionales para estudiar su efecto antimicrobiano sobre cepas de interés clínico. Los resultados obtenidos apuntan hacia futuras investigaciones que podrían tener un impacto significativo en agricultura y en la industria farmacéutica.

Palabras clave: *Eysenhardtia texana*; Extractos; Capacidad antioxidante; Actividad antimicrobiana

ABSTRACT

Eysenhardtia texana is a medicinal plant commonly known as “palo dulce”, it grows most commonly in southern Texas and northern Mexico in the states of Coahuila and Tamaulipas. It is of particular use within the Kickapoo community to treat and relieve kidney problems. Currently, there is little research on this plant species, so its study is necessary to identify its components, its antioxidant capacity, and biological effectiveness.

Therefore, the objectives of the present investigation were to: 1) Determine the physicochemical composition of leaves and branches of *E. texana*, 2) Obtain extracts of *E. texana* through the conventional agitation method, using hydroalcohol solvents and aqueous solution, 3) Characterize extracts based on yield variables and antioxidant activity, and 4) Evaluate the antimicrobial effect of extracts from leaves and branches of *E. texana* on strains of pharmaceutical and agronomic interest.

The treatments were divided into aqueous and hydroalcohol (ethanol:water) proportions 50:50 and 70:30 and were classified as follows: aqueous branches (R-Ac), hydroalcoholic branches (R-HA50:50 and R-HA70:30), aqueous leaves (H-Ac) and hydroalcohol leaves (H-HA50:50, H-HA 70:30).

Regarding the results, there were significant differences in the protein content with a higher concentration in leaves ($10.75 \pm 0.48\%$) compared to branches ($4.02 \pm 0.58\%$). On the other hand, the highest extraction yields were observed in the H-HA50:50 treatments with $15.17 \pm 0.86\%$ and in H-HA70:30 with $12.91 \pm 0.53\%$, with the lowest yield being all the branch extracts. Regarding the content of total phenols (CFT), higher values were presented in R-Ac, R-HA50:50 and R-HA70:30 with the following results: 548.89, 554.04, and 598.68 mg gallic acid (GA)/g extract, respectively. For the antioxidant capacity by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method, the H-Ac extract presented the highest antioxidant power with IC_{50} values of 32.36 mg/mL; while, with the ABTS method (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), there were only significant differences between the treatments of R-Ac ($IC_{50} = 84.0$ mg/mL) and H -HA70:30 ($IC_{50} = 38.5$ mg/mL), demonstrating the influence of the solvent on the antioxidant activity of *E. texana* extracts.

Regarding the antimicrobial effect tests, the extracts H-HA50:50, H-HA70:30 and R-HA70:30 inhibited 100% the growth of *Fusarium oxysporum* in concentrations from 2000 mg/mL, in contrast to the aqueous extracts. On the other hand, *E. texana* extracts did

not present antimicrobial activity against *Escherichia coli* in any of the different concentrations under study (0.2 - 100 mg/mL) in the disk diffusion test.

In conclusion, this research offers new knowledge about the composition and bioactivity of *E. texana* extracts, showing encouraging results in the control of *F. oxysporum*, a phytopathogenic fungus that causes diseases in crops of commercial importance, causing great losses in agriculture. Additional tests are required to study its antimicrobial effect on strains of clinical interest. The results obtained point to future research that could have a significant impact on agriculture and the pharmaceutical industry.

Keywords: *Eysenhardtia texana*; Extracts; Antioxidant capacity; Antimicrobial activity

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

La medicina tradicional tiene sus orígenes en países como África, China e India, sus conocimientos son ancestrales y generacionales. En la actualidad, los usos y costumbres continúan vigentes en todo el mundo, puesto que está al alcance de todos en el aspecto económico, además cada localidad cuenta con sus especies endémicas con efectos terapéuticos principalmente conocidos por los antepasados. Sin embargo, muchas de las plantas medicinales que forman parte de la medicina tradicional, tienen escaso respaldo científico. El consumo de plantas con atributos medicinales se remonta posiblemente a 2 millones de años en África (Chifa, 2010). Esta práctica cobra relevancia a nivel mundial por su implementación local llegando a ser prioridad por organizaciones como: Organización Mundial para la Propiedad Intelectual (OMPI), Organización Mundial de la Salud (OMS), Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (ONUAA), entre otras.

De acuerdo con la OMS, la medicina tradicional es todo el conjunto de entendimiento, habilidades y hábitos fundamentados en teorías, creencias y pruebas indígenas de diferentes culturas, sean o no comprobables, usados para la conservación de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales (Chávez-Mejía et al., 2017). En las últimas décadas el interés por las terapias y remedios naturales ha incrementado en los países más desarrollados y el uso de plantas medicinales se encuentra en expansión.

México posee una gran historia etnomedicinal, cuyos orígenes se remontan a la época prehispánica con la escritura del Códice De la Cruz-Badiano, es considerada la primera obra sobre plantas medicinales en todo América luego de la invasión española (Chávez-Mejía et al., 2017). En México las personas indígenas suelen usar entre 5000 a 7000 especies de plantas que satisfacen diferentes necesidades tales como comida, medicina y usos como materiales de construcción (Camou-Guerrero et al., 2008). Además, el uso de las plantas medicinales en México se sustenta por los conocimientos, principalmente, de diversos grupos étnicos de cada localidad (Chávez-Mejía et al., 2017). La Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) menciona el registro del Instituto Mexicano del Seguro Social de 3,000 especies de plantas con atributos medicinales, de las

4,000 que se calcula que existen en México, y que representan el 15% del total de la flora mexicana y menciona que sólo se ha hecho análisis farmacológico del 5% del total de esas plantas (SEMARNAT, 2023).

El género *Eysenhardtia* es conocido por sus usos como planta medicinal para tratar diversos padecimientos tales como: trastornos urinarios, diabetes, estrés oxidativo, glicosilación de proteínas, infecciones microbianas, inflamación, malestar o dolor, contracciones musculares, o como modulador de la señalización celular o neuronal (García-Campoy et al., 2020). Este género comprende 14 especies, algunos de sus miembros, incluyendo *E. polystachya* y *E. texana* (Rivas-Morales, et al., 2009) han sido utilizadas en la medicina tradicional para el tratamiento de infecciones renales y de vejiga (Hernández-Martínez et al., 2019). *E. polystachya* es un árbol ampliamente utilizado en medicina tradicional mexicana como remedio herbal y es nativo del noreste México, especialmente de los estados de Nuevo León y Tamaulipas (Rivas-Morales, et al., 2009) *E. texana* también se conoce como madera de riñón debido a su uso para problemas renales y de vejiga. Es comúnmente conocida en el sur de Estados Unidos como el “riñón de Texas” y en el norte de México como “Palo dulce”(Rivas-Morales, et al., 2009). Siendo utilizada habitualmente por los indios Kikapú como infusiones de la hoja para tratar distintos padecimientos renales (Latorre et al., 1977).

Uno de los primeros estudios que evaluaron la efectividad antimicrobiana del género *Eysenhardtia* se realizó en 1997, en extracto metanólico de *E. polystachya* contra *Sarcina lutea*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*, demostrando su efecto inhibitor en las cepas estudiadas (Pérez G. et al., 1998). Algunos otros estudios han detectado la actividad antimicrobiana del género *Eysenhardtia* contra otras cepas vinculadas a infecciones urinarias como *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* (Rivas-Morales, et al., 2009; García-Campoy et al., 2020). Por otra parte, son escasos los estudios del control de fitopatógenos en este género, en particular se ha estudiado el efecto inhibitorio de *E. polystachya* contra *Fusarium oxysporum* (Xoca-Orozco et al., 2022). La propiedad antimicrobiana puede deberse a los diversos compuestos bioactivos presentes en *E. texana*, que poseen propiedades antioxidantes, de los

cuales se ha determinado que contienen flavononas de diferente estructura química (Wächter et al., 1999).

Es importante enfatizar sobre la gran diversidad de especies de plantas medicinales en México, muchas de ellas de gran uso en la población, pero con pocos estudios que avalan su actividad farmacológica, entre ellas *E. texana*. En este sentido, los aportes científicos de esta especie vegetal dan soporte para nuevos tratamientos de fármacos naturales. Por otra parte, en este proyecto se dio enfoque a otro posible uso de esta planta en el área de la agricultura para ser usado como un posible biofungicida.

1.2 Justificación

Las infecciones bacterianas en el ser humano representan un desafío a nivel mundial. Hoy en día uno de los principales problemas es el uso desmedido de medicamentos como los antibióticos, siendo un tema emergente por la OMS, ya que cada vez se requieren de dosis más altas o la búsqueda de nuevos medicamentos más agresivos para el control bacteriano. Debido a esto, la OMS favorece el uso de plantas medicinales como alternativa para el control de microorganismos patógenos en humanos.

En otro ámbito, la producción de frutas y hortalizas se puede ver afectada por el desarrollo de hongos fitopatógenos, lo cual genera que el agricultor use químicos fuertes para su control generando daños graves que provocan la erosión de los suelos. Además, el uso excesivo de éstos conlleva a que sean lixiviados hasta poder penetrar en los mantos acuíferos, pudiendo provocar cáncer tanto en personas que lo aplican y en los consumidores frecuentes de estos alimentos.

Dado lo anterior, es necesaria la búsqueda de nuevas opciones de tratamientos naturales, para el control de microorganismos en el sector salud y agronómico. Esto conlleva al estudio de plantas poco estudiadas como *E. texana*, para evaluar sus propiedades antioxidantes y su efectividad en el control de microorganismos patógenos o fitopatógenos. Lo que puede contribuir en proporcionar nuevas alternativas naturales que no causen daños en la salud humana.

La presente investigación tiene impacto en los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la Agenda 2030 de la Organización de las Naciones Unidas (ONU), principalmente con el tercer objetivo “Salud y Bienestar”, dado que se busca encontrar alternativas que puedan atacar enfermedades que afectan a la humanidad.

Dentro de los Programas Nacionales Estratégicos (PRONACES), el presente proyecto está relacionado con los objetivos de “Salud” y “Sistemas Socioecológicos y Sustentabilidad” ya que busca proporcionar a través del uso de plantas con potencial de uso medicinal un impacto económico.

Debido a la importancia de los problemas de salud asociados a las infecciones causadas por bacterias y el uso excesivo de pesticidas tales como los fungicidas, en el presente trabajo se plantea el estudio del perfil fitoquímico y efectividad biológica de extractos de hoja y rama de *E. texana* obtenidos mediante agitación convencional utilizando solventes de diferente polaridad, para su posible uso medicinal y agroindustrial.

1.3 Hipótesis

Al menos un extracto de *Eysenhardtia texana* presentará actividad antimicrobiana sobre cepas de interés farmacéutico (*Escherichia coli*) y/o agronómico (*Fusarium oxysporum*) en función de su perfil fitoquímico y efectividad biológica.

1.4 Objetivo General

Caracterizar extractos de hojas y ramas de *Eysenhardtia texana* y evaluar su potencial antimicrobiano contra cepas de interés farmacéutico y agronómico.

1.5 Objetivos Específicos

1. Determinar la composición fisicoquímica de hojas y ramas de *E. texana*
2. Obtener extractos de *E. texana* a través del método convencional de agitación, utilizando solventes hidroalcohólicos y solución acuosa.
3. Caracterizar extractos de *E. texana* en función de variables de rendimiento y actividad antioxidante.
4. Evaluar el efecto antimicrobiano de extractos de hojas y ramas de *E. texana* sobre cepas de interés farmacéutico y agronómico.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Generalidades

2.1.1 Zonas áridas y semiáridas de México

Las zonas áridas y semiáridas de México presentan una gran biodiversidad de plantas, las cuales presentan características particulares y adaptables a la indisposición del recurso de agua, altas y bajas temperaturas e intrusión salina, entre otras. Las zonas áridas y semiáridas representan un 41% del total de la biodiversidad de plantas que existen en el territorio de México (Andrade-Bustamante et al., 2017).

En las zonas áridas y semiáridas de México (Figura 1) están incluidos los estados de Chihuahua, Sonora, Coahuila, Zacatecas y San Luis Potosí. Estas zonas presentan limitada precipitación, amplia diversidad vegetal arbustiva, semiarbustiva y herbácea siendo adaptativas a las condiciones marginales de aridez (Iñiguez Rojas, 2013).

Debido a la fisiografía, hidrología y edafología del clima árido se han creado condiciones desfavorables para el desarrollo de muchas especies vegetales. Estas condiciones de zonas áridas y semiáridas han obligado a las plantas a desarrollar adaptaciones, que les han permitido afrontar largos períodos de escasez de agua, impulsando su adaptación y activando sus defensas para enfrentar estas adversidades (Andrade-Bustamante et al., 2017).

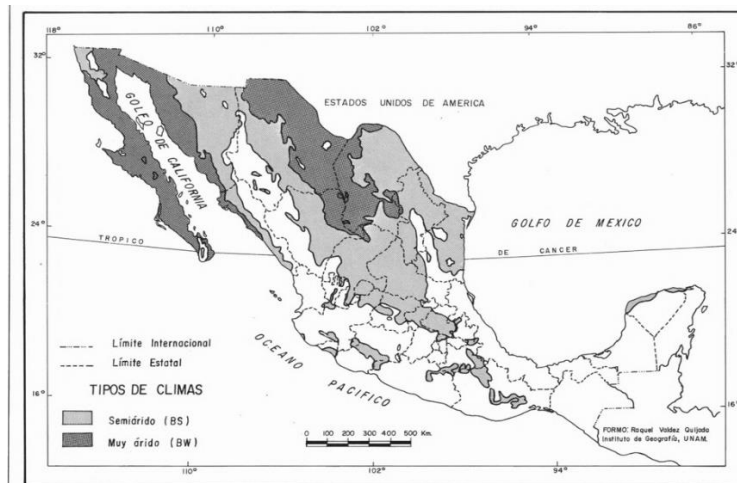


Figura 1. Zonas áridas y semiáridas de México

Referencia (Hernández & García, 1997).

En las zonas áridas y semiáridas de México se encuentran alrededor de 6,000 especies de plantas, de las cuales el 50% de ellas son endémicas. Las especies de plantas de estas

zonas presentan características de desarrollo de adaptaciones morfológicas, fisiológicas y estratégicas biológicas como la producción de metabolitos secundarios (MS) (Andrade-Bustamante et al., 2017).

La utilización de estas plantas de zonas áridas y semiáridas de México ha llevado a la población al aprovechamiento de éstas con fines medicinales, entre otros usos.

2.2 Plantas medicinales de zonas áridas y semiáridas de México

México ocupa el segundo lugar, después de China, en plantas inventariadas para uso medicinal (SEMARNAT, 2023). A diferencia de las zonas del sur y centro de México en donde predomina el conocimiento ancestral de muchas plantas medicinales, en las zonas áridas y semiáridas se conoce un menor número, posiblemente en parte por el acceso a ellas y por las condiciones climáticas extremas, que impide el desarrollo de más especies vegetales. Aunque de forma general los estudios que evalúan la actividad farmacológica son escasos (González-Medrano, 2012).

Las especies de plantas más conocidas de las zonas áridas y semiáridas de México de las regiones de Chihuahua, Coahuila, Sonora y Tamaulipas son: *Jatropha dioica*, *Flourensia cernua*, *Turnera diffusa*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Euphorbia antisiphilitica* Zucc, *Larrea tridentata* Cov, *Lippia graveolens*, *Opuntia* spp., *Agave* ssp., *Punica granatum* L., *Eysenhardtia texana*, *Prosopis* spp, *Lippia* spp, *Opuntia acanthocarpa*, *Gnaphalium oxipayllium*, *Matricaria recutita*, *Ruta graveolens*; muchas de ellas tienen propiedades antimicrobianas, antifúngicas, anticancerígenas, anti-inflamatorias y antioxidantes. Estas propiedades se deben a que son ricas en metabolitos secundarios dependiendo del género, especie y de la fecha de recolección, pueden contener diferentes clases químicas y concentraciones en distintas partes de las plantas (González-Medrano, 2012).

En México el uso de las plantas medicinales se da desde el tiempo previo a la conquista y han sido utilizadas como recursos terapéuticos. Estudios taxonómicos han permitido identificar 11 000 especies de plantas medicinales a nivel mundial (Villarreal-Ibarra et al., 2014) Sin embargo, son necesarios más estudios para conocer con mayor amplitud sus actividades farmacológicas e inclusive otras propiedades distintas al enfoque medicinal.

Las plantas de zonas áridas y semiáridas poseen mecanismos bioquímicos de defensa contra depredadores como insectos o herbívoros, estrés biótico o abiótico, que son conferidos por la producción de los metabolitos secundarios (MS) (Andrade-Bustamante et al., 2017).

2.3 Compuestos Bioactivos

Las plantas sintetizan una enorme cantidad de MS discrepando considerablemente entre especies e historia evolutiva. Denominándose secundarios debido a que no son esenciales para el desarrollo de la planta y no todas las plantas producen los mismos MS en la misma concentración, ni en las mismas formas químicas. Éstos pueden clasificarse en grupos diferentes como fenoles, terpenos, alcaloides y compuestos nitrogenados (Vilela et al., 2011).

Los compuestos bioactivos pueden estar unidos a otros tipos de compuestos y formar glucósidos o heterósidos en las plantas. Pueden ser identificados y caracterizados en diferentes partes de la planta, como tallos, hojas, flores, raíces, semillas y frutos. La extracción de los compuestos bioactivos de la materia vegetal puede ser de diversas maneras, por componentes químicos, ultrasonido, siendo las técnicas clásicas como la extracción soxhlet, maceración e hidrodestilación las más comunes (Azmir et al., 2013).

En los últimos tiempos, los compuestos bioactivos han sido de gran importancia en diversas áreas como la alimenticia, cosmética, agronómica y farmacéutica debido a sus propiedades antimicrobianas, antioxidantes, anticancerígenas y antiparasitarias, pues al ser fuentes de origen natural, son biocompatibles y biodisponibles para el ser humano. Aunado a esto, la búsqueda de nuevos tratamientos para diversos padecimientos, la problemática en el sector agrícola respecto a pérdidas de cultivos por fitopatógenos, la erosión de suelos debido a uso desmedido de fertilizantes y pesticidas químicos, son unas de las principales necesidades para la búsqueda o incremento de investigaciones en plantas poco exploradas que pueden ser ricas en compuestos bioactivos.

2.4 *Eysenhardtia texana*

Eysenhardtia texana es un arbusto expansivo también conocido como “riñón de Texas” o “Palo dulce”, el cual crece en los suelos calcáreos del sur de Texas y en norte de México en regiones como Tamaulipas y Coahuila. Generalmente, mide 2 a 3 m de altura, sus

hojas miden de 3 a 9 cm de largo, con 15 a 47 hojuelas en su mayoría por ramificación de 5 a 15 mm de largo (Figura 2) (Wächter et al., 1999).

El género *Eysenhardtia* posee una corona y hojas alternas, compuestas, pinnadas, folíolos elípticos y resinas aromáticas. Su corteza se caracteriza por ser áspera y escamosa con una coloración oscura en el exterior y marrón rojizo en el interior; presenta inflorescencias en racimos puntiagudos lobulados con corola blanca (García-Campoy et al., 2020)



Figura 2. *Eysenhardtia texana*

Fuente: (García-Campoy et al., 2020).

El género *Eysenhardtia* se encuentra en las zonas norte de México como son: Coahuila, Nuevo León, Durango, Chihuahua, Tamaulipas, Sinaloa, Sonora, zonas centro como Guanajuato, Colima, San Luis Potosí, Hidalgo, Jalisco, Querétaro, Zacatecas, y zonas sur destacando, Estado de México, Tlaxcala, Chiapas, Oaxaca, Puebla, Morelos y Guerrero. También, se encuentra en el sureste de Estados Unidos (Figura 3) (García-Campoy et al., 2020).

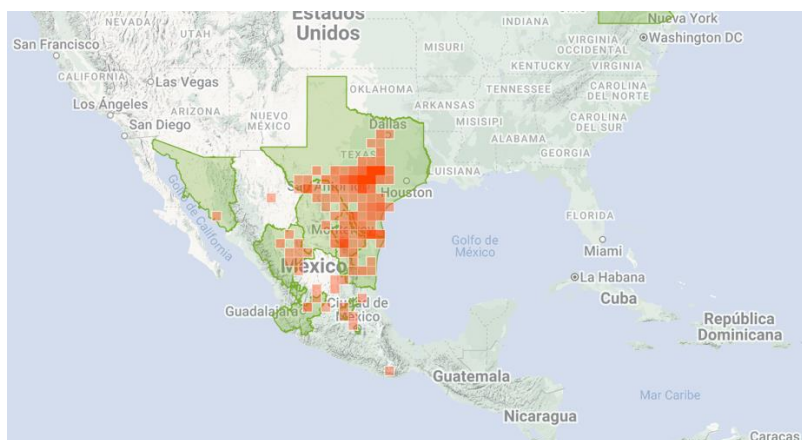


Figura 3. Distribución geográfica de *E. texana*

Fuente: Naturalista (2023)

En la actualidad, es poca la evidencia que muestra la composición y propiedades de *E. texana*. Se ha evaluado su acción antimicrobiana, antioxidantes y su moderado efecto anti proliferativo (Rivas-Morales, et al., 2009; Suárez-Camacho, 2023). Por otra parte, existen estudios realizados en su mismo género, pero en diferentes especies como *E. platycarpa*, *E. adenostylis* y *E. polystachya* (Bernabé-Antonio et al., 2015, 2021; Jiménez-Ferrer et al., 2008).

Una de las especies más estudiadas de este género es *E. polystachya*, en la cual se ha demostrado la presencia de polifenoles e isoflavonas con actividad citotóxica moderada contra las líneas celulares KB (Pérez-Gutiérrez et al., 2016). Otro estudio de un extracto de metanol y agua de la corteza de *E. polystachya* mostró potencial antioxidante, efectos hipoglucemiantes e inhibición de la formación de productos finales de glicación avanzada (Campoy et al., 2018). Además, ha sido estudiada por sus propiedades antidiabéticas, antibacterianas y antioxidantes (Hernández-Martínez et al., 2019).

2.4.1 Clasificación taxonómica

Reino: Plantae
 Phylum: *Tracheophyta*
 Clase: *Magnoliopsida*
 Orden: *Fabales*
 Familia: *Fabaceae*

Especies: *E. adenostylis*, *E. drummondii*, *E. platycarpa*, *E. punctata*, *E. subcoriacea*, *E. cobriformis*, *E. reticulata*, *E. orthocarpa*, *E. polystachya*, *E. texana*, *E. angustifolia*, *E. spinosa*, *E. peninsularis*, *E. amorphoides*.

Nombres comunes en México: Cuate (Jal.), Coatillo (Pue.), Coatl (l. náhuatl), Cohuatli, Cuatle (Oax.), Lanaé (l. chontalpa, Oax.), Palo cuate, Rosilla (Sin.), Palo dulce (Sin., Mex., Hgo (García-Campoy et al., 2020) . En la Figura 4, se presenta un espécimen de *E. texana* recolectada para este proyecto, donde se aprecia su tamaño y grosor.

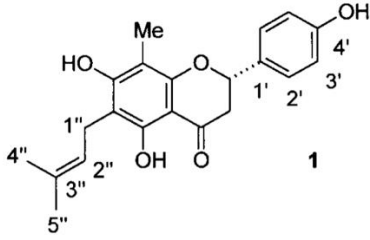
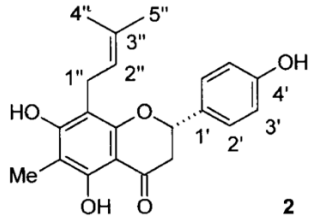


Figura 4. Arbusto de *Eysenhardia texana*.

2.4.2 Composición Química

La planta *E. texana* ha sido poco estudiada, por lo que la información sobre su composición química es limitada. A la fecha solo se tiene registro de un estudio en extracto de metanol-diclorometano (Cuadro 1) obtenido de las partes aéreas de la planta en donde se aislaron dos compuestos bioactivos del tipo flavonoide (Wächter et al., 1999).

Cuadro 1. Compuestos químicos de extracto metanol-diclorometano obtenido de partes aéreas de *E. texana* (Wächter et al., 1999).

Compuesto Químico	Estructura
4,5,7-trihidroxi-8-metil-6- (3-metil-[2butenil])- (2s) flavanona (1)	 <p style="text-align: center;">1</p>
4,5,7-trihidroxi-8-metil-6- (3-metil-[2butenil])- (2s) flavanona (2)	 <p style="text-align: center;">2</p>

Adaptado de Wächter et al. (1999).

Se conocen pocos estudios que hacen referencia a la composición fisicoquímica de *Eysenhardtia*, las especies más estudiadas han sido aquellas para uso forrajero. Un estudio detalla la composición de distintos árboles forrajeros, entre ellos *E. polystachya*, apreciadas como leguminosas arbóreas con alto potencial forrajero para ser incorporadas a los sistemas silvopastoriles, las cuales además de proveer de alimento como forraje y frutos de buena calidad, proveen confort con su sombra a los animales, ofrecen beneficios ambientales como la captura de carbono, así como protección y mejora del suelo, además de mostrar valores nutricionales y digestibilidad superiores a la mezcla de gramíneas con arvenses, encontrando en esta especie un contenido nutricional de proteína cruda de 15.75%, cenizas 7.47% y fibra cruda 19.72% (Pérez-Olivera, et al., 2022).

El análisis fisicoquímico puede variar de acuerdo con las épocas del año. Esto lo demostró un estudio sobre especies de uso forrajero, entre ellas *E. adenostylis* realizado en temporada seca (abril) y temporada de lluvia (octubre), en donde se reportó un contenido de proteína cruda de 19% y 15.8%, para fibra cruda neutra 43.3% y 61.4% y para ceniza de

6.8% y 6.8%, respectivamente (Jiménez-Ferrer et al., 2008). Por otra parte, en *E. texana* se ha demostrado un contenido de proteína de 12.73%, grasa 20.20% y ceniza 5.31% en hojas (Suárez-Camacho, 2023).

Los análisis fisicoquímicos son un soporte para evaluar el contenido nutricional en especies vegetales que pueden ser usadas para forraje o para el ser humano.

2.5 Propiedades funcionales

2.5.1 Efecto antifúngico

La población en general, el ganado y los cultivos pueden ser afectados por los hongos fitopatógenos por igual (Redondo-Blanco et al., 2020). Los hongos intervienen en el deterioro de los alimentos, viéndose afectadas sus características físicas y organolépticas (Quéro et al., 2019). Una de las propiedades de los hongos que les permiten desarrollarse de manera efectiva y sobrevivir a ciertas condiciones es la producción de esporas; debido a esto, las industrias han desarrollado métodos físicos y químicos para su eliminación o control (Dijksterhuis, 2019). Por otra parte, existen especies que producen micotoxinas las cuales afectan el 25% de los cultivos mundiales comprometiendo la salud del ser humano. Las micotoxinas producidas por *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* han sido asociadas a tumores hepáticos y renales, producción de radicales libres, y otros efectos (Redondo-Blanco et al., 2020).

Una alternativa natural frente a la problemática del desarrollo de especies fúngicas en cultivos y alimentos, son los compuestos bioactivos obtenidos a partir de extractos vegetales, como los compuestos fenólicos que pueden impedir su desarrollo y crecimiento (Redondo-Blanco et al., 2020).

2.5.1.1 *Fusarium oxysporum*

El hongo *Fusarium oxysporum* comprende a más de 100 especies específicas de la cepa, distribuidas a nivel mundial (Gordon, 2017).

F. oxysporum se transmite a los suelos cultivados y los no cultivados alrededor del mundo en diferentes climas. Este género contiene especies no patógenas y patógenas en plantas y en humanos. Las cepas patógenas de plantas muestran un marchitamiento de las hojas o el pudrimiento de las raíces en cultivos de campo (Edel-Hermann & Lecomte, 2019).

En el hombre y animales de laboratorio se han registrado infecciones de córnea posteriores a traumas por los hongos del género *Fusarium*, siendo la especie *F. solani* las más recurrente en estas infecciones, aunque también se registra a *F. oxysporum* (Arbeláez-Torres, 2000).

F. oxysporum es una de las especies de hongos de mayor importancia en la agricultura debido a su capacidad como fitopatógeno, su propiedad de atacar una gran diversidad de plantas hospedantes y por ocasionar grandes pérdidas de cultivos con repercusiones económicas (Arbeláez-Torres, 2000).

Las esporas producidas por *F. oxysporum* se dividen en macroconidias, microconidias y clamidosporas (Gordon, 2017) (Figura 5).

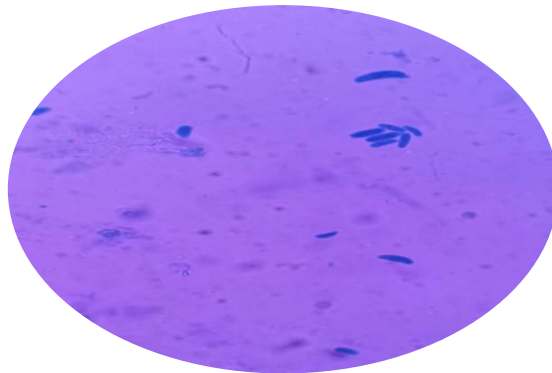


Figura 5. *Fusarium oxysporum* en microscopio donde las esporas presentan la forma característica de media luna.

En la identificación del género *Fusarium*, así como de la especie *F. oxysporum*, se presentan algunas dificultades, ya que se pueden observar variaciones en las características de las colonias y tamaño de esporas del hongo (Arbeláez-Torres, 2000). *F. oxysporum* es comúnmente identificado por el pudrimiento de raíces y los tejidos corticales que provoca su crecimiento, generando tejidos descolorados los cuales se transforman en manchas necrófilas de color marrón o negro que terminan en la pudrición de la planta (Edel-Hermann & Lecomte, 2019). La especie de *F. oxysporum* es saprofito, capaz de detener el crecimiento de varias especies vegetales y pueden sobrevivir durante largos periodos en la materia orgánica.

Pueden incluso invadir el sistema vascular, provocando marchitez y desecación (Agrios, 1998).

El principal manejo de marchitamiento por *Fusarium* es la fumigación del suelo y los cultivos. Los biocidas de amplio espectro son utilizados para fumigación del suelo antes de su plantación, principalmente el bromuro de metileno dado a que es el más rentable y amigable con el medio ambiente; sin embargo, una opción más ecológica es el empleo de extractos de plantas con actividad antifúngica.

2.5.2 Efecto Antibacteriano

2.5.2.1 *Escherichia coli*

La *E. coli* es un bacilo gram negativo anaerobio facultativo perteneciente a la familia Enterobacteriaceae. Dicha bacteria ataca el intestino del humano colonizando al nacimiento, esta bacteria es considerada como un microorganismo floral, existen cepas que llegan a ser patógenas y dañinas en diversos cuadros clínicos como la diarrea (Rodríguez-Ángeles, 2002).

Dependiendo el desarrollo de patogenicidad y cuadro clínico, las cepas de *E. coli* que son causantes de diarrea se clasifican en seis grupos: enterotoxigénica, enterohemorrágica (también llamadas como productoras de toxina Vero o toxina semejante a Shiga), enteroinvasiva, enteropatógena, enteroagregativa y adherencia difusa (Rodríguez-Ángeles, 2002).

Las cepas de *E. coli* se pueden encontrar en los alimentos que han sido contaminados de diferentes maneras, de esta forma pueden distribuirse en la población en general siendo de importancia la población infantil, adultos mayores y personas inmunodeprimidas al ser más susceptibles a esta bacteria (Hannaoui et al., 2010). Existe medicamentos que sirven para su control; sin embargo, la OMS recomienda la búsqueda de nuevas alternativas para el manejo de cepas bacterianas que son resistentes a medicamentos de amplio espectro. Una de las opciones ante esta situación es el uso de plantas medicinales o la terapia dirigida por medio del uso de compuestos bioactivos extraídos de plantas. Algunos estudios señalan que *E. texana* tiene propiedades antimicrobianas; sin embargo, se ha reportado para *E. coli* que la capacidad de inhibición es limitada (Rivas-Morales, et al., 2009)

En base a la gran biodiversidad en México principalmente de zonas áridas y semiáridas la cual es de vital importancia explorar nuevos principios de compuestos

bioactivos, en plantas de uso medicinal. La presente investigación tiene como objetivo la caracterización de extractos de hojas y ramas de *E. texana* en su función fisicoquímica, compuestos bioactivos, actividad antifúngica y antibacteriana.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación fue realizada en las instalaciones del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos en el Laboratorio de Fermentaciones y Biomoléculas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) en Buenavista, Saltillo Coahuila México. Dicho proyecto consta de dos etapas las cuales se describen a continuación: Etapa I: Obtención y caracterización de extractos de *E. texana*; y Etapa II: Efectividad antimicrobiana de *E. texana*.

Etapa I Obtención y caracterización de extractos de *E. texana*

3.1 Reactivos

Cada uno de los reactivos utilizados en la presente investigación fueron grado analítico. Para la disolución de los reactivos, se empleó agua destilada y/o etanol al 99%. La determinación de proteína se utilizó la mezcla digestora ácido bórico 2.2% (v/v) e indicador mixto de Fermont (México) y ácido sulfúrico marca Jalmek (México); en la determinación de grasas se utilizó éter de petróleo marca Jalmek (México); en la determinación de fibra cruda se usó acetona concentrada, ácido sulfúrico 0.255 N e hidróxido de sodio 0.3130 N marca Jalmek (México); para la prueba de fenoles totales se usaron los reactivos de Folin-Ciocalteu (FC) (Merk, Suiza), carbonato de sodio (Na_2CO_3) y ácido gálico marca Sigma (Japón); para la determinación de capacidad antioxidante se utilizó: DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) y persulfato de potasio marca Sigma (Japón).

3.2 Materia prima

La recolección de planta (*E. texana*) se llevó a cabo en el mes de octubre del 2022, en las coordenadas geográficas de 25°34'47"N 101°04'46"W en Saltillo, Coahuila (Figura 6). La planta fue recolectada de manera que las hojas fueran de color verde y el tallo se encontrara en buen estado.



Figura 6. Ubicación geográfica de punto de recolección de la planta *E. texana*.

Una vez separadas las hojas y las ramas se colocaron en bolsas de papel previamente etiquetadas y con orificios para permitir un mayor secado. Las bolsas se colocaron en una estufa (BIOBASE-EL 10A, China) a 45°C hasta peso constante (Figura 7). Una vez que las plantas estuvieron secas se retiraron de la estufa, se separaron algunas hojas que quedaron unidas a las ramas y se molieron en licuadora (Osterizer, USA) a baja velocidad, posteriormente se realizó un tamizaje en malla No. 20, y se almacenaron en bolsas de papel estraza, protegiéndolas de la luz y a temperatura ambiente para su posterior uso.



Figura 7. Proceso de secado, triturado y tamizaje de hojas y ramas

3.2.1 Análisis fisicoquímico

El análisis fisicoquímico de hojas y ramas de *E. texana* se realizó mediante las metodologías recomendadas por el Método Oficial de Análisis (AOAC, 1990). La humedad se determinó por gravimetría en una estufa (BIOBASE-EL 10A, China) a 60°C. El contenido de cenizas se evaluó por incineración en una mufla (Jieruier SX-4-10, China) a 550°C. El contenido de proteína cruda se llevó a cabo por el método Micro Kjendahl (Figura 8) con un factor de conversión de 6.25. La determinación de grasas se realizó por gravimetría mediante el método de Soxhlet (Figura 9). Todas las pruebas se realizaron por triplicado.



Figura 8. Proceso de Digestión de muestras (a) y determinación de proteínas (b).



Figura 9. Análisis de contenido de fibra cruda (a). Análisis de porcentaje de grasa (b) y Cenizas (c)

3.2.2 Obtención de extractos de *E. texana* mediante el método de agitación convencional

Para la obtención de extractos se siguió la metodología de Guía-García et al. (2021), con algunas modificaciones. Se pesaron 11.5 g de muestra seca (hojas y ramas por separado), a los cuales se añadieron 125 mL de cada una de las soluciones (acuosas, e hidroalcohólicas 50:50 y 70:30). Posteriormente, se llevaron a un shaker (Innova 44 Incubador, New Brunswick Scientific Co., Inc., Edison, NJ, EUA), con agitación a 150 rpm por 24 h a temperatura ambiente. Cada tratamiento se llevó a cabo por triplicado (Cuadro 2).

Luego del tiempo de extracción, los extractos crudos fueron filtrados y concentrados utilizando un rotavapor (IKA RV 10, China), a temperatura de 98°C para extractos acuosos

y 75°C para los extractos hidroalcohólicos. Posteriormente, se llevaron a secar a 45°C en estufa y, por último, fueron almacenados en envases de vidrio previamente etiquetados con tapa de rosca y, finalmente, se colocaron en refrigeración hasta su uso cubriéndolos de la luz.

Cuadro 2. Descripción de los tratamientos de extractos acuosos e hidroalcohólicos de *E. texana*.

Hojas/ Ramas	Tipo de extracto	Denominación
Hojas	Acuoso	H-Ac
	HA 50:50	H-HA50:50
	HA 70:30	H-HA70:30
Ramas	Acuoso	R-Ac
	HA 50:50	R-HA50:50
	HA 70:30	R-HA70:30

Descripción de tratamientos para diferente órgano de la planta en sus solventes. H: Hoja; R: Ramas; Ac: extracto acuoso HA: extracto Hidroalcohólico en proporciones etanol: agua 50:50 y 70:30.

3.2.3 Rendimiento de extracto de *E. texana*.

En la evaluación de las variables de rendimiento se empleó la metodología propuesta por Guía-García et al., (2021) empleando la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{M_{ef}}{M_{is}} \times 100 \quad (\text{Ec 1})$$

donde Mef= Masa de extracto obtenido y Mis=Masa inicial de la muestra seca usada para procesar la extracción.

3.3 Contenido de fenoles totales (CFT)

El CFT se llevó a cabo mediante el método colorimétrico de Folin–Ciocalteu (FC) adaptado a microplaca de Müller et al. (2010). Se pesaron 20 mg de cada extracto de *E. texana* y se disolvieron bajo agitación hasta completa homogenización en 5 mL del respectivo solvente (esta mezcla se utilizó para las determinaciones de DPPH y ABTS). Después, se

tomaron 20 μL de cada solución obtenida y se mezclaron con 100 μL de una solución diluida del reactivo de FC (1:10, v/v en agua destilada) en una microplaca de 96 pocillos, la cual se agitó suavemente y se dejó reaccionar por 5 min. En cada muestra se añadieron 75 μL de Na_2CO_3 (7.5 %, p/v en agua destilada), y se agitó suavemente, se mantuvo por 30 min bajo condiciones de oscuridad. Posteriormente, se leyó la absorbancia a 750 nm en un lector de microplacas (BIOBASE-EL 10A, Jinan, SHG, China). Los datos se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto (mg AG/g extracto), comparando los resultados con una curva de calibración de ácido gálico.

3.4 Capacidad antioxidante

3.4.1 Capacidad antioxidante por el método del radical DPPH

Para esta determinación se siguió la metodología descrita por Charles-Rodríguez et al. (2020). De la solución descrita previamente, se tomaron 25 μL y se colocaron en una microplaca de 96 pocillos mezclándose suavemente con 200 μL de solución DPPH (1.20 mg de reactivo, en etanol absoluto). La reacción se mantuvo a temperatura ambiente por 30 min y se cubrió de la luz. Pasado el tiempo, se midió la absorbancia a 520 nm en un lector de microplaca y se registraron los resultados, empleando etanol absoluto como, control. En los resultados se empleó la ecuación del porcentaje de actividad neutralizante del radical DPPH (% RSA = radical scavenging activity):

$$\% \text{ RSA} = \frac{Abs_{Control} - Abs_{Muestra}}{Abs_{Control}} \times 100 \text{ (Ec 2)}$$

donde $Abs_{Control}$ = absorbancia del control, $Abs_{Muestra}$ = absorbancia de la muestra. La capacidad antioxidante se expresó como CI_{50} mg/mL (concentración del extracto que causa el 50% de RSA). Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

3.4.2 Capacidad antioxidante por el método del radical ABTS

La actividad antioxidante por el método de ABTS se realizó por medio de la metodología adaptada de Guía-García et al. (2021). La solución de ABTS se preparó a una concentración de 7 mM en agua destilada y se mezcló con una solución de persulfato de potasio (2.45 mM); la mezcla se mantuvo a 4°C durante 14-16 h en condiciones de oscuridad. La solución se ajustó con etanol absoluto al 20% (v/v) a una absorbancia de 0.700 ± 0.010 a 750 nm. Posteriormente, se agregaron 10 μ L de cada muestra diluida a una microplaca de 96 pocillos y se mezclaron con 200 μ L de la solución ABTS, las mezclas se mantuvieron durante 10 min en condiciones de oscuridad y luego se midió la absorbancia a 750 nm (Figura 11). El control utilizado fue el solvente de cada extracto. Los resultados se calcularon usando la ecuación descrita para el ensayo DPPH (Ec 2). Todos los experimentos se llevaron a cabo por triplicado.



Figura 10. Reacciones de capacidad antioxidante en lector de microplacas

Etapa II Efectividad antimicrobiana de *E. texana*

3.5 Reactivos

Para la prueba de actividad antifúngica se usó Agar Papa Dextrosa (PDA por sus siglas en inglés) adquirido en TM MEDIA (India); en la prueba de actividad antibacteriana se usó Agar Bacteriológico marca BD Bioxon (México), en la prueba de McFarland se utilizaron cloruro de bario y ácido sulfúrico marca JalmeK (México). Todos los reactivos utilizados son grado analítico.

3.6 Actividad antifúngica de los extractos de *E. texana* en *F. oxysporum*

Esta prueba fue llevada a cabo con el hongo *F. oxysporum* (no. de ascensión MT001892), proporcionada por el Centro de Investigación Científica de Yucatán, México (CICY). El hongo fue incubado a $30^{\circ}\text{C} \pm 2$ por un periodo de 7 días para utilizarse posteriormente.

Se empleó la técnica de medio envenenado propuesta por Zabka et al., (2011) con modificaciones. Se prepararon los extractos de *E. texana* a cuatro concentraciones: 0, 2000, 6000 y 8000 mg/L, suspendidos primero en 10 mL de su solvente de extracción, filtrados por membrana PES de $0.45\mu\text{m}$ con diámetro de 25 mm y disueltos en un volumen final de disolución en PDA estéril. En el centro de cada caja petri se colocó un explante del hongo de 0.4 mm y se incubaron a $30^{\circ}\text{C} \pm 2$. El experimento se detuvo cuando los controles mostraron la invasión total, se realizaron tres repeticiones por cada tratamiento. Finalmente se midieron los halos de inhibición para determinar el porcentaje (%) de inhibición, aplicando siguiente ecuación:

$$\% \text{ de Inhibición} = \frac{DC - DT}{DC} \times 100 \text{ (Ec 3)}$$

donde *DC* corresponde al diámetro del control y *DT* es el diámetro de los tratamientos a distintas concentraciones.

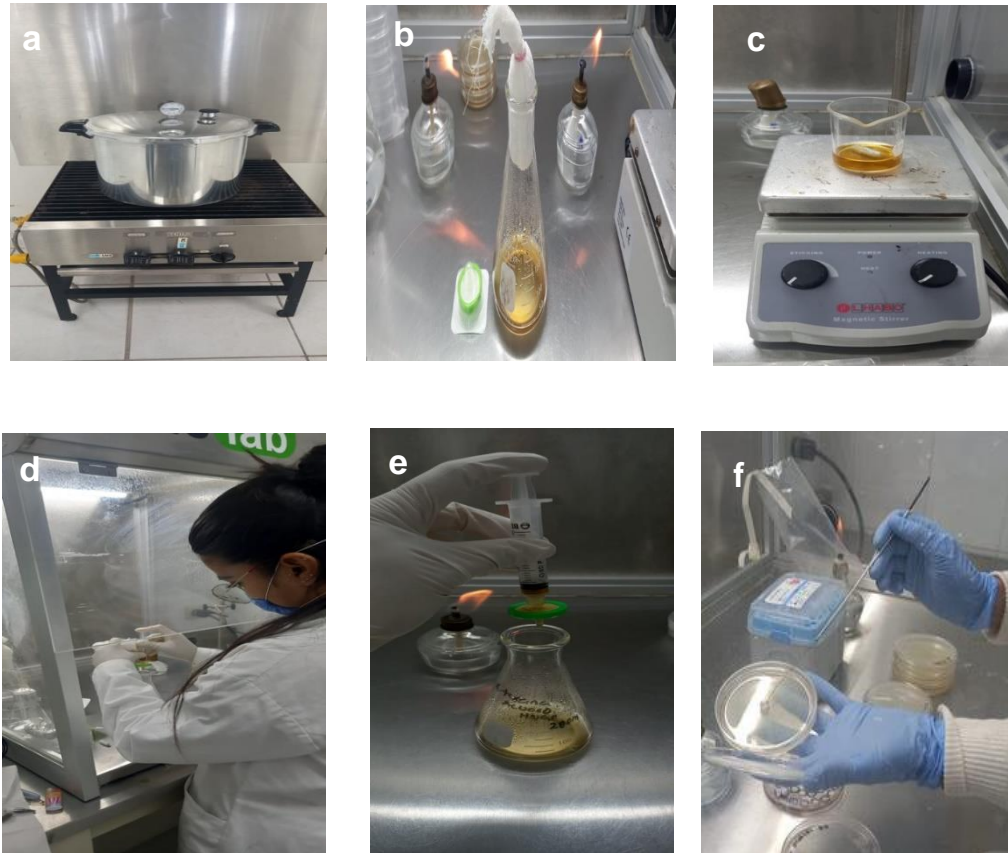


Figura 11. Prueba antifúngica de medio envenenado contra *F. oxysporum* (a) Autoclavado de material, (b) Agar y filtro PES, (c) Agitación de extracto en solvente, (d) y (e) Filtrado de extracto en agar, (f) Colocación de explante de *F. oxysporum* en medio envenenado.

3.7 Actividad Antibacteriana en *E. coli*

La prueba fue llevada a cabo con la cepa bacteriana de *E. coli*, proporcionada por el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) de Saltillo, Coahuila, México. La bacteria se incubó a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 h hasta su posterior uso. Los extractos de *E. texana* fueron evaluados en cinco concentraciones (0.5, 1.0, 1.5, 2.0 y 3.0 mg/mL) partiendo de una solución madre. Esta prueba se realizó siguiendo la metodología propuesta por Mostafa et al. (2018) con algunas modificaciones. Se preparó una solución madre (filtrada en membrana PES 0.45 μm) de 10 mg/mL para cada uno de los extractos, posteriormente se hicieron las concentraciones antes mencionadas y se disolvieron en su solvente de extracción. Se utilizó un control negativo de cada solvente y un control positivo de amoxicilina. Para determinar la cantidad

de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) inoculadas en cada uno de los tratamientos, se usó la escala de McFarland. En una caja con inóculo de *E. coli* se añadieron 5 mL de NaCl homogenizado con un ángulo de vidrio estéril para posteriormente hacer diluciones seriadas de 1/10, 1/100 y 1/1000, que fueron medidas en un espectrofotómetro donde se obtuvieron lecturas adecuadas en la disolución de 10^{-2} , en comparación con la escala McFarland correspondía a 3×10^8 UFC.

El agar bacteriológico fue preparado en matraces Erlenmeyer de 150 mL en condiciones de esterilización (Figura 13), se agregó el inóculo de la bacteria en el agar una vez que éste tenía una temperatura agradable al tacto, para posteriormente depositarlo en cajas petri y esperar hasta su solidificación, luego se colocaron discos de 0.5 cm de diámetro alrededor de la caja petri previamente impregnados de los extractos de diferentes concentraciones mencionadas anteriormente. Las cajas petri fueron incubadas a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 h para evaluar el halo de inhibición.

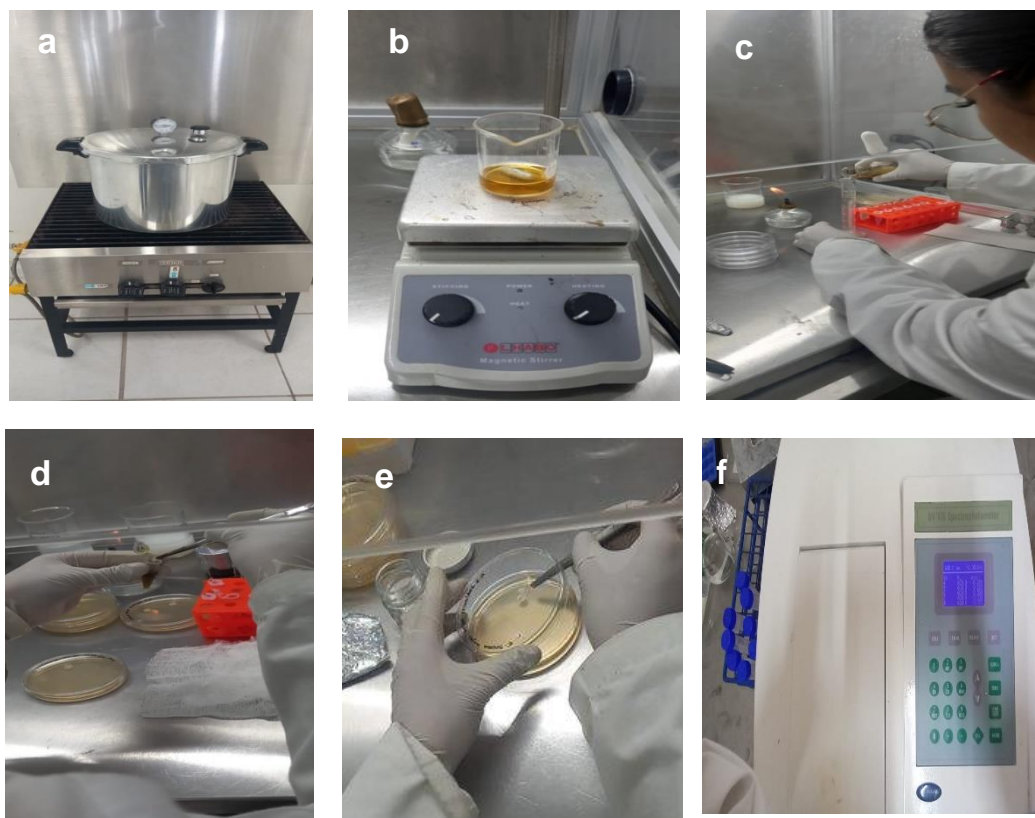


Figura 12. Prueba de actividad antibacteriana. (a) Autoclavado de material, (b) Disolución de extracto en su solvente, (c) Llenado de cajas petri con medio inoculado con *E. coli*, (d) Discos impregnados en cada extracto (e), Colocación de discos con extracto y controles (f) Medición de inóculo comparando con escala de McFarland.

3.8 Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos de hojas y ramas de *E. texana* en análisis fisicoquímico, actividad antioxidante y actividad antifúngica fueron analizados mediante el análisis de varianza (ANOVA) utilizando el software INFOSTAT. Se realizó la comparación de medias usando el método de Tukey, las diferencias entre los tratamientos en $p < 0,05$ se consideraron significativas.

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

Etapa I Obtención y caracterización de extractos de *E. texana*

4.1 Análisis fisicoquímicos

En el Cuadro 3 se presentan los resultados del análisis fisicoquímico de las hojas y ramas de *E. texana*. El porcentaje (%) de grasa fue mayor en hojas en contraste con las ramas. En un estudio reportado por Suárez-Camacho, (2023) , se observó un mayor contenido en % grasa de $20.20 \pm 1.78\%$ en hojas y en ramas de $1.60 \pm 0.20\%$ en *E. texana*. Estas diferencias pueden deberse al mes de recolección y a la etapa fenológica que atraviesa la planta; es decir, durante la senescencia en otoño, ocurre la removilización de nutrientes y energía desde sus hojas hacia otras partes de la planta, esto hace que la planta tenga nutrientes disponibles en órganos jóvenes de la planta vía floema (Maillard et al., 2015) En este contexto, es posible que algunas plantas acumulen reservas energéticas adicionales en sus ramas antes de la caída de las hojas. Las reservas energéticas se encuentran normalmente en tres formas: carbohidratos, proteínas y lípidos. De ellos, los lípidos son la fuente de energía más eficiente (Thompson et al., 1998).

La humedad obtenida de hoja y rama fue de $2.85 \pm 0.55\%$ y $2.76 \pm 0.09\%$, respectivamente, y no presentaron diferencias entre ambos órganos de la planta. Siendo similares a lo encontrado en *R. microphylla* con humedad en hojas $2.2 \pm 0.9\%$, la similitud se pudiera atribuir a las características de desarrollo de la planta y a las condiciones de secado utilizadas (Dionicio Concepción, 2020).

Cuadro 3. Análisis fisicoquímico de Hojas y Ramas de *E. texana*.

Parámetros evaluados	Hojas (% peso seco)	Ramas (% peso seco)
Grasa (%)	16.1 ± 9.1 ^(a)	7.93 ± 3.4 ^(a)
Humedad (%)	2.85 ± 0.95 ^(a)	2.76 ± 0.17 ^(a)
Proteína (%)	10.75 ± 0.83 ^(a)	4.02 ± 1.0 ^(b)
Cenizas (%)	8.00 ± 0.35 ^(a)	7.02 ± 0.65 ^(a)
Fibra cruda (%)	36.8 ± 13.3 ^(a)	32.4 ± 6.1 ^(a)
Carbohidratos totales (%)	26.5 ± 8.2 ^(a)	44.9 ± 10.3 ^(a)

Valor promedio ± desviación estándar (n = 3); los valores de la misma columna seguidos por letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

Respecto al contenido de proteínas, se obtuvo una mayor concentración en hojas con $10.75 \pm 0.48\%$ en comparación con ramas. Estos resultados son similares con lo reportado por Suárez-Camacho (2023) quien reporta un contenido de $12.73 \pm 0.81\%$ proteínas en extractos de hojas de *E. texana*. Esto posiblemente se debe a que la mayor parte del nitrógeno que es movilizado de las hojas procede de las proteínas, mientras que el nitrógeno que se transloca desde ramas, raíces y tallo proviene en su mayor parte de la fracción soluble (M. Agustí, 2012). Otros autores han reportado contenidos de proteína más altos en *E. polystachya* de 15.55% y en *E. adenostylis* de 19% en mes de abril y de 15.8% en octubre, respectivamente (Jiménez-Ferrer et al., 2008). La estación del año en que se encuentra la planta para ser recolectada es un factor importante que nos indica que puede haber diferencias en la caracterización fisicoquímica (Grusak & Ars, 2001).

En cuanto al contenido de fibra en hoja (36.8%) y en rama (32.4%) en *E. texana* no se presentaron diferencias; sin embargo, fueron mayores a lo reportado por (Pérez-Olivera, et al., (2022) en *E. polystachya* con 19.72% en follaje. Pero similares a lo reportado por Domínguez-Gómez et al., (2012) con un contenido de fibra de 34% *E. texana*. Se puede apreciar que el contenido de fibra puede variar en función de la especie vegetal. Respecto al contenido de cenizas, estudios en *E. polystachya* y *E. texana* reportan un porcentaje de cenizas de 7.47% y de 7.0% , respectivamente, similares a los valores reportados en esta investigación (Méndez-Villazana, 2006; Pérez-Olivera, et al., 2022) . El contenido de cenizas representa la cantidad de minerales inorgánicos en la materia vegetal. Estos minerales

desempeñan funciones estructurales en macromoléculas, son parte de reacciones enzimáticas como cofactores, participan en el proceso osmótico y proporcionan un equilibrio a nivel intracelular y extracelular (Grusak & Ars, 2001)

En el contenido de carbohidratos totales, las ramas presentaron valores de $44.9 \pm 10.3\%$ y las hojas de $26.5 \pm 8.2\%$. Las ramas presentan un mayor contenido posiblemente debido a la traslocación de nutrientes esenciales de reserva, como los carbohidratos que están presentes en las hojas movilizados hacia toda la planta. La fotosíntesis en las plantas es el primer paso para la producción de carbohidratos y su concentración está en función de condiciones ambientales y etapas fenológicas, la reserva de carbohidratos es necesaria para afrontar situaciones de estrés como la sequía (Martínez-Trinidad et al., 2013)

4.2 Rendimiento de extractos de *E. texana*

El Cuadro 4 muestra los rendimientos de los extractos de *E. texana*, obteniéndose mayores porcentajes de rendimiento en extractos de hojas H-HA 50:50 con $15.17 \pm 0.86\%$ y H-HA 70:30 con un $12.91 \pm 0.53\%$, los cuales fueron mayores con respecto a los extractos de ramas.

Cuadro 4. Porcentaje de rendimiento de extractos de *E. texana*.

Tratamiento	Hojas/Ramas	%Rendimiento
H-Ac	Hojas	$11.1 \pm 1.29^{(b)}$
H-HA50:50		$15.17 \pm 0.86^{(a)}$
H-HA70:30		$12.91 \pm 0.53^{(ab)}$
R-Ac	Ramas	$7.78 \pm 0.43^{(c)}$
R-HA50:50		$8.47 \pm 0.06^{(c)}$
R-HA70:30		$7.59 \pm 1.33^{(c)}$

Valor promedio \pm error estándar (n = 3); los valores de la misma columna seguidos por letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

Un estudio reportado por Bernabé-Antonio et al., (2021) en *E. platycarpa* de células en suspensión mostraron un contenido de biomasa en peso seco de 18.62 g/L, equivalente a 0.0018% siendo menor a los detectados en el presente estudio debido a la naturaleza de la muestra. Por otro lado, Suárez-Camacho, (2023) reportó un rendimiento máximo de $56.25 \pm 4.23\%$ en extracto acuoso de hojas y un mínimo de $14.31 \pm 3.62\%$ en extracto etanólico de ramas de *E. texana*. Las diferencias en rendimiento con respecto a este estudio pueden deberse al método de concentración de los extractos empleado, obtenidos por dos metodologías, extractos acuosos e hidroalcohólicos por liofilización y los extractos etanólicos por evaporador rotatorio Suárez-Camacho, (2023).

Por otra parte, en plantas de zonas áridas como *Lasiocereus rupicola* y *L. fulvus*, Ortega & Yovanny, (2022), reportaron en extractos hidroalcohólicos un rendimiento de 6.60% en el tallo de la planta en ambas especies, siendo similares a los rendimientos obtenidos en este estudio en los extractos de ramas.

Otra investigación reportada por Chafla-Molina, (2023) muestra un rendimiento en extractos etanólicos en *Bidens pilosa* y *Erngium foetidum*, las cuales tuvieron dos temporadas de recolección con rendimientos de 0.24% en mayo para *B. pilosa* y 0.14% para *E. foetidum*, variando considerable con la temporada de noviembre en la cual se obtuvo un 1.3% para *B. pilosa* y un 0.21% para *E. foetidum*. Los factores que pueden intervenir en la diferencia de sus porcentajes de rendimiento pueden ser: género, especie, tiempo de recolección de la planta, el clima y su lugar de origen.

4.3 Contenido de Fenoles Totales (CFT)

En la Figura 13 se presentan los resultados de la prueba de CFT en los extractos de hojas y ramas de *E. texana* en diferentes solventes de extracción. En los extractos de R-HA 70:30, R-HA50:50 y R-Ac se observaron mayores CFT con valores de 598.68, 554.04 y 548.89 mg AG/g extracto, respectivamente, sin presentar diferencias entre ellos. Los extractos de Hojas presentaron un menor CFT en particular en el tratamiento de H-Ac con 265.56 mg AG/g extracto, los cuales presentaron diferencias significativas entre sí. En este caso, los extractos de ramas presentaron diferencias contra los extractos de hojas. Aunque no existe un reporte de CFT en *E. texana*, sus concentraciones pueden ser comparadas con la especie *E. polystachya*. En la cual diversos autores han reportado

contenidos desde 1.55 mg AG/g biomasa en planta de 6 meses de edad (Bernabé-Antonio et al., 2015); 15.6 ± 0.2 mg AG/mL extracto (Xoca-Orozco et al., 2022) ; y 856.50 ± 13.53 mg AG/mL extracto en metanol:agua Gutiérrez y Báez 2014). Las diferencias pueden deberse a diversos factores tales como la edad de la planta. En el estudio por Bernabé-Antonio et al., (2015), el medio ambiente, estación del año en que es recolectada, diferencias en la producción de los extractos, así como los solventes utilizados, influyeron en el CFT.

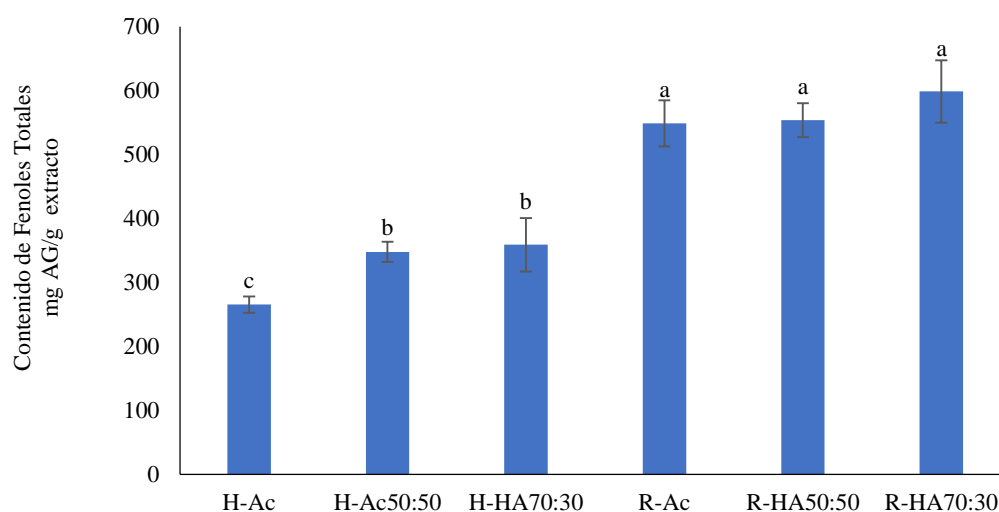


Figura 13. Contenido de fenoles totales en extractos de *E. texana* en diferentes solventes de extracción. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes, $p \leq 0.05$), valor promedio \pm desviación estándar.

4.4 Actividad Antioxidante por el método del radical DPPH

En la Figura 14 se muestran los resultados de la prueba de radicales libres por el método de DPPH en extractos de *E. texana*. El extracto acuoso de hojas (H-Ac) de *E. texana* presentó una mayor actividad antioxidante por DPPH con valores de CI_{50} de 32.36 mg/mL. Este resultado puede asociarse a la presencia de pigmentos y otros compuestos bioactivos solubles en agua y que pudieran estar presentes en las hojas de *E. texana*. Dado a que el

DPPH puede disolverse en medios orgánicos en los cuales se miden compuestos poco polares, como el agua, se observó una mayor cantidad de radicales libres en los extractos acuosos de *E. texana*.

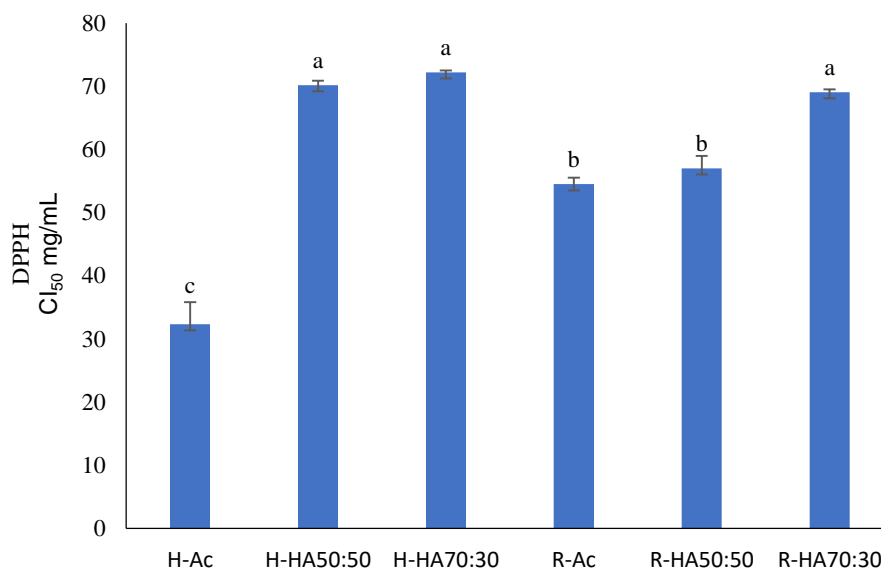


Figura 14. Resultados de actividad antioxidante por el método de DPPH en extractos de *E. texana*. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes, $p \leq 0.05$), valor promedio \pm desviación estándar.

Un estudio similar en *E. texana*, mostró una menor capacidad antioxidante que los detectados en la presente investigación, ya que reportaron valores de CI_{50} de 52.32 ± 0.91 mg/mL en extracto acuoso de ramas (Suárez-Camacho, 2023). Otro estudio en *E. polystachya* por Gutierrez & Baez (2014), presentó menor potencial antioxidante ya que detectaron un valor de CI_{50} por el método de DPPH de 90.34 mg/mL para extracto de corteza en metanol:agua (1:1). Estos resultados demuestran la influencia del solvente utilizado en la extracción sobre la actividad antioxidante.

4.5 Capacidad antioxidante por el método del radical ABTS

En la Figura 15 se presentan los resultados de la capacidad antioxidante de los extractos de *E. texana* por el método de ABTS. El análisis estadístico de ABTS en *E. texana* solo mostró diferencias significativas entre los tratamientos de R-Ac ($CI_{50} = 84.0$ mg/mL) y

H-HA70:30 ($CI_{50} = 38.5$ mg/mL), presentando una mayor capacidad antioxidante los extractos HA, considerando que el ABTS puede medir compuestos lipofílicos, midiendo mayores absorbancias en medio alcohólico. Suárez-Camacho (2023) presentó un valor de CI_{50} de 74.88 ± 0.23 mg/mL en extracto acuoso de hojas, similar a los obtenidos en el presente estudio, pero en diferente órgano vegetal.

En un estudio realizado en *E. polystachya* por Gutierrez & Baez. (2014) en extractos de corteza en metanol-agua el contenido de ABTS fue de 98.34 CI_{50} mg/mL, fue mayor a lo reportado en este estudio, posiblemente se debe a las diferencias de especie, tipo de solvente de extracción o el órgano de la planta empleada.

Otro estudio realizado en *E. polystachya* por Pérez-Gutiérrez et al. (2016) en donde usaron extractos de corteza en metanol: agua (1:1) y, posteriormente, realizaron sub-extractos en solventes de metanol, hexano y acetona usando diferentes concentraciones, obtuvieron un contenido máximo de ABTS de 49.5 ± 4 nM, en donde posiblemente al realizar sub-extracciones disminuyó el contenido de antioxidantes en la muestra. De acuerdo con los estudios previamente mencionados, existen diferencias que se pueden atribuir a las especies vegetales, el clima, los solventes de extracción y/o a los órganos vegetales empleados como corteza, hojas o ramas (Pérez-Gutiérrez et al., 2016).

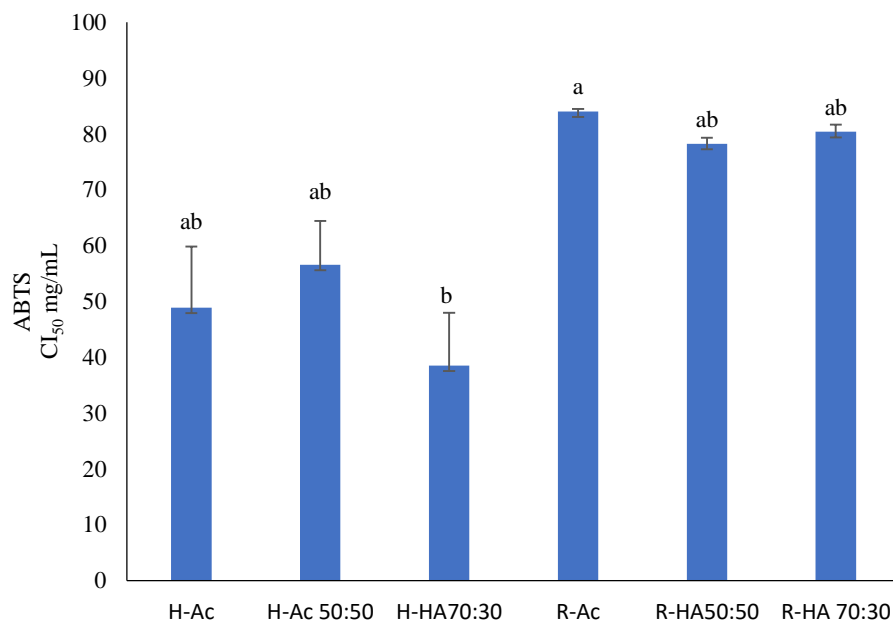


Figura 15. Resultados de actividad antioxidante por el método de ABTS en extractos de *E. texana*. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes, $p \leq 0.05$), valor promedio \pm desviación estándar.

Etapa II Efectividad antimicrobiana de *E. texana*

4.6 Actividad antifúngica sobre *F. oxysporum*

En el Cuadro 5 se presentan los resultados de la prueba de actividad antifúngica de los extractos de la *E. texana* en porcentaje de inhibición en diferentes concentraciones.

En los extractos H-Ac y R-Ac en todas sus concentraciones (2000, 6000 y 8000 mg/mL) presentaron un porcentaje de inhibición del 0.0% comparados con el control positivo. Los tratamientos a base de los extractos R-HA70:30 y H-HA70:30 lograron una inhibición arriba del 99%, mientras que los extractos H-HA50:50 y R-HA50:50 presentaron un porcentaje de inhibición mayor a 70%.

Cuadro 5. Actividad antifúngica de extractos de *E. texana* contra *Fusarium oxysporum*.

Tratamiento	Concentración (mg/mL)	% inhibición	Grupo estadístico
Control		0	c
R-Ac	2000	0	c
	6000	0	c
	8000	0	c
R-HA50:50	2000	73	bc
	6000	95	ab
	8000	70	c
R-HA70:30	2000	100	a
	6000	99	a
	8000	100	a
H-Ac	2000	0	c
	6000	0	c
	8000	0	c
H-HA 50:50	2000	100	a
	6000	93	ab
	8000	94	A b
H-HA70:30	2000	100	a
	6000	100	a
	8000	99	a

Valor promedio \pm error estándar (n = 3); los valores de la misma columna seguidos por letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

En estudios realizados con extracto hidroalcohólico de *E. polystachya* reportados por Xoca-Orozco et al., (2022) no se presentó inhibición del crecimiento de *Fusarium* sp. No existen reportes sobre el efecto antifúngico de *E. texana*, pero los resultados pueden compararse con especies de su mismo hábitat, las cuales crecen en las mismas condiciones y que han sido evaluadas contra el mismo hongo fitopatógeno. Tal es el caso de un estudio realizado con extractos etanólicos de *Myrtillocactus geometrizans*, Guía-García et al., (2021) los cuales presentaron una inhibición del 100% a concentraciones de 6000 mg/mL sobre el crecimiento de *F. oxysporum*

Los resultados presentados en este proyecto indican que los tratamientos lograron disminuir la proliferación del hongo con éxito como se puede apreciar en la Figura 16, esto puede ser de gran aporte para el desarrollo de biofungicidas que ayuden a mitigar las grandes pérdidas de producción agrícolas provocadas por *Fusarium*.

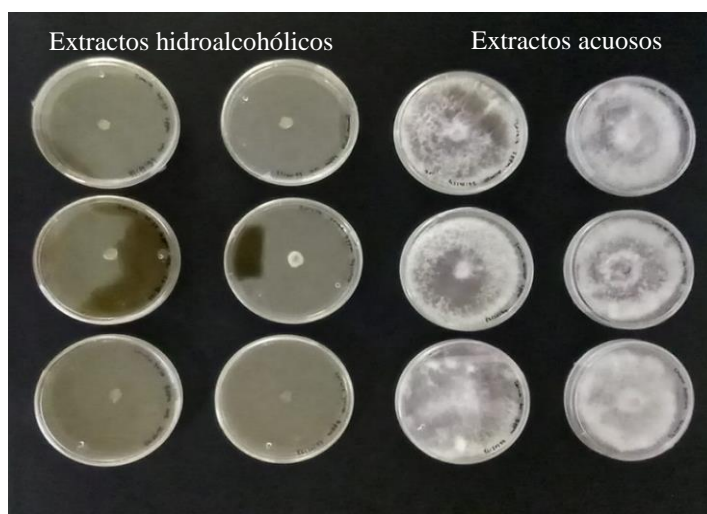


Figura 16. Medio envenenado con los extractos de planta *E. texana* evaluados contra crecimiento de *F. oxysporum*.

4.7 Prueba antibacteriana sobre *E. coli*

En la Figura 17 se muestran resultados obtenidos en la prueba antibacteriana de *E. coli*, los cuales son considerados como no detectados (ND) en todas las concentraciones que fueron evaluadas en comparación con un control positivo de gentamicina y un control negativo de agua destilada.

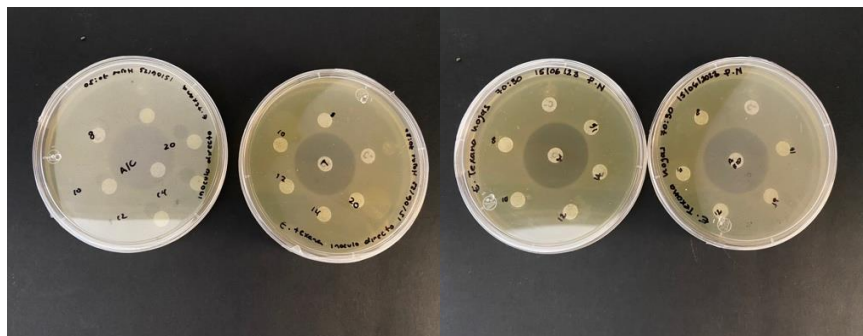


Figura 17. Prueba de difusión en disco de *E. texana* contra *E. coli* en diferentes concentraciones, en el centro de la caja se colocó un control positivo.

Existen muy pocos estudios basados en *E. texana* contra *E. coli*, sin embargo, según un estudio probado por Rivas-Morales, et al., (2009) en extractos metanólicos de *E. texana* se obtuvo que *E. coli* no pudo ser inhibida. En un estudio de Narváez-Mastache et al., (2008) realizados por Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se observó, que *E. polystachya* posee una CMI de 1.56 $\mu\text{g/mL}$ contra *E. coli*. En otro estudio realizado en extracto de metanol-diclorometano obtenido de las partes aéreas *E. texana*, se aislaron flavononas, estos compuestos mostraron actividad contra *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. Rivas-Morales, et al., (2009); Wächter et al., (1999) Por otro lado, García-Campoy et al. (2020) obtuvieron efecto antimicrobiano en extractos metanólicos de *E. polystachya* y *E. texana* donde fueron mitigadas nueve cepas de bacterias y una levadura vinculadas a infecciones urinarias, tales como: *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *K. pneumoniae*, *E. aerogenes*, *P. aeruginosa*, *S. marcescens*, *S. aureus*, *S. epidermidis* y *C. albicans*; mostrando que *E. texana* tiene una actividad antimicrobiana limitada, en cambio *E. polystachya* mostró una acción antimicrobiana más amplia. García-Campoy et al., (2020). -

Un estudio donde se evaluaron extractos metanólicos de *E. polystachya* y *E. texana* se demostró que esta última tiene efecto contra *S. epidermidis* a una concentración de 1565 $\mu\text{g/mL}$ y para *E. polystachya* contra la misma cepa en 390 $\mu\text{g/mL}$ (Rivas-Morales, et al., (2009). Esto indica que existen diferencias de actividad biológica entre las especies puesto que *E. texana* demostró efectividad en una dosis mucho más elevada en comparación con *E. polystachya*. De acuerdo con los estudios previamente mencionados, *E. texana* presenta una actividad limitada, es decir, es efectiva contra ciertas cepas patógenas mientras que con otras no lo es. Este comportamiento pudiera deberse a la capacidad antioxidante y al contenido de fenoles totales presentes en los extractos, que intervienen en el efecto

antifúngico y antibacteriano; sin embargo, no logra ser suficiente para algunos patógenos como se ha mencionado anteriormente.

5. CONCLUSIONES

- Se realizó la caracterización fisicoquímica de extractos de hojas y ramas de *E. texana*, los cuales presentaron un interesante contenido de proteína, fibra cruda, grasas, humedad, cenizas y carbohidratos, semejantes con otras especies del género *Eysenhardtia*.
- En la presente investigación se obtuvieron extractos acuosos e hidroalcohólicos de hojas y ramas de la planta de *E. texana*, utilizando el método convencional de agitación, obteniendo mayor porcentaje de rendimiento en extractos hidroalcohólicos de hojas, vinculándose a la afinidad de sus compuestos bioactivos a la polaridad del solvente.
- Se determinó el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante de los extractos de *E. texana*, predominando los extractos hidroalcohólicos. EL CFT fue mayor en todos los extractos de ramas en contraste con los de hojas. En capacidad antioxidante para ABTS y DPPH el resultado es consistente para ambos, en el extracto de ramas 70:30.
- La actividad antimicrobiana de los extractos de *E. texana* fue selectiva, ya que mostró actividad inhibitoria del 100% en los extractos hidroalcohólicos contra *F. oxysporum*; sin embargo, no se presentó actividad inhibitoria contra *E. coli*.

6. PERSPECTIVAS

El presente trabajo muestra resultados alentadores sobre el efecto biofungicida de extractos de *E. texana*, con posibles beneficios para el sector agrícola. Sin embargo, se requieren ampliar los estudios para generar mayor conocimiento. Por otra parte, para su potencial antibacteriano, es importante realizar estudios con otras cepas clínicamente relevantes, a fin de definir el espectro de acción de *E. texana*.

7. REFERENCIAS

- Agrios, G. M. (1998). Fitopatología . *Uthea, Balderas, México*, 838.
- Andrade-Bustamante, G., Manelik García-López, A., Cervantes-Díaz, L., Aíl-Catzim, C. E., Borboa-Flores, J., & Rueda-Puente, E. O. (2017). *Estudio del potencial biocontrolador de las plantas autóctonas de la zona árida del noroeste de México: control de fitopatógenos* *Study of the autochthonous plants as a potential biocontroller in the northwest area of Mexico: control of phytopathogens* (Vol. 49, Issue 1).
- Arbeláez-Torres, G. (2000). *ALGUNOS ASPECTOS DE LOS HONGOS DEL GENERO Fusarium Y DE LA ESPECIE Fusarium oxysporum* *Some aspects of Fusarium genus and the Fusarium oxysporum species*.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Bernabé-Antonio, A., Antonio, F., Toral, L.-D., Salcedo-Pérez, E., Santacruz-Ruvalcaba, F., Maldonado-Magaña, A., & Cruz-Sosa, F. (2015). *INDUCCIÓN DE CALLO Y CULTIVO DE CELULAS EN SUSPENSIÓN DE Eysenhardtia polystachya* *PARA LA PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS ANTIURULITIASICOS*.
- Bernabé-Antonio, A., Sánchez-Sánchez, A., Romero-Estrada, A., Meza-Contreras, J. C., Silva-Guzmán, J. A., Fuentes-Talavera, F. J., Hurtado-Díaz, I., Alvarez, L., & Cruz-Sosa, F. (2021). Establishment of a cell suspension culture of *Eysenhardtia platycarpa*: Phytochemical screening of extracts and evaluation of antifungal activity. *Plants*, 10(2), 1–23. <https://doi.org/10.3390/plants10020414>
- Camou-Guerrero, A., Reyes-García, V., Martínez-Ramos, M., & Casas, A. (2008). Knowledge and use value of plant species in a rarámuri community: A gender perspective for conservation. *Human Ecology*, 36(2), 259–272. <https://doi.org/10.1007/s10745-007-9152-3>
- Campoy, A. H. G., Gutierrez, R. M. P., Manriquez-Alvirde, G., & Ramirez, A. M. (2018). Protection of silver nanoparticles using *Eysenhardtia polystachya* in peroxide-induced pancreatic β -cell damage and their antidiabetic properties in zebrafish. *International Journal of Nanomedicine*, 13, 2601–2612. <https://doi.org/10.2147/IJN.S163714>
- Chafila-Molina, L. A. (2023). *Evaluacion in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de Bidens pilosa y Erngium foetidum* (Vol. 55, pp. 110–119).
- Charles-Rodríguez, A. V., Rivera-Solís, L. L., Martins, J. T., Genisheva, Z., Robledo-Olivo, A., González-Morales, S., López-Guarin, G., Martínez-Vázquez, D. G., Vicente, A. A., & Flores-López, M. L. (2020). Edible films based on black chia (*Salvia hispanica* L.) seed mucilage containing *Rhus microphylla* fruit phenolic extract. *Coatings*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/coatings10040326>
- Chavez-Mejia, M., White-Olascoaga, L., Moctezuma-Pérez, S., Herrera-Tapia, F., & . (2017). *Prácticas curativas y plantas medicinales: un acercamiento a la etnomedicina de San Nicolás, Mexico*. *Cuadernos Geográficos*, 56, 26–47. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=17152020002>
- Chifa, C. (2010). La perspectiva social de la medicina tradicional. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 9(4), 242–245.
- Dijksterhuis, J. (2019). Fungal spores: Highly variable and stress-resistant vehicles for distribution and spoilage. *Food Microbiology*, 81, 2–11. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.11.006>

- Dionicio Concepción, O. (2020). *Obtención de extractos de hojas de agrillo (Rhus microphylla) mediante proceso óhmico y su caracterización fisicoquímica. Tesis para obtener el grado de Licenciado en Biotecnología. Universidad Interserrana del Estado de Puebla Ahuacatlán. Ahuacatlán, Pue.*
- Dominguez-Gómez, T. G., Ramirez-Lozano, R. G., Estrada-Castillon, A. E., Scott-Morales, L. M., Rodriguez-Gonzalez, H., & Socorro-Alvarado, M. del S. (2012). *Importancia nutrimental en plantas forrajeras del matorral espinoso tamaulipeco.*
- Edel-Hermann, V., & Lecomte, C. (2019). Current status of fusarium oxysporum formae speciales and races. *Phytopathology*, *109*(4), 512–530. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-18-0320-RVW>
- García-Campoy, A., García, E., & Muñoz-Ramírez, A. (2020). Phytochemical and pharmacological study of the eysenhardtia genus. In *Plants* (Vol. 9, Issue 9, pp. 1–33). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/plants9091124>
- González-Medrano, F. (2012). *Las zonas áridas y semiáridas de México y su vegetación.*
- Gordon, T. R. (2017). Fusarium oxysporum and the Fusarium Wilt Syndrome. *Annual Review of Phytopathology*, *55*, 23–39. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-095919>
- Grusak, M. A., & Ars, U. (2001). *Plant Macro- and Micronutrient Minerals. 1972*, 1–5.
- Guía-García, J. L., Charles-Rodríguez, A. V., López-Romero, J. C., Torres-Moreno, H., Genisheva, Z., Robledo-Olivo, A., Reyes-Valdés, M. H., Ramírez-Godina, F., García-Osuna, H. T., & Flores-López, M. L. (2021a). Phenolic composition and biological properties of rhus microphylla and myrtillocactus geometrizans fruit extracts. *Plants*, *10*(10). <https://doi.org/10.3390/plants10102010>
- Gutierrez-Pérez, R. M., & Baez-García, E. (2014). Evaluation of antidiabetic, antioxidant and antiglycating activities of the Eysenhardtia polystachya. *Pharmacognosy Magazine*, *10*(38), 404–418. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.133295>
- Hannaoui, E., Villalobos, L., Martínez, R., Maldonado, A., Hagel, I., & Bastardo, J. (2010). Escherichia coli diarreogénica asociada a casos de diarrea aguda en. In *Invest Clin* (Vol. 51, Issue 4).
- Hernández, M., & García, E. (1997). Geografía y Desarrollo. *Revista Del Colegio Mexicano de Geografía*, *15*, 5–16.
- Hernández-Martínez, Á. R., Molina, G. A., Rodríguez-Torres, A., Ledesma-Mendoza, B., Del Real, A., Barroso-Flores, J., & Estevez, M. (2019a). Fluorescence decay rate of selected compounds from Eysenhardtia polystachya extracts and their viability as biosensors. *Materials Science and Engineering C*, *104*(April), 109978. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109978>
- Iñiguez Rojas, L. (2013). *La producción de rumiantes menores en las zonas áridas de Latinoamérica* (Vol. 1).
- Jiménez-Ferrer, G., López-Carmona, M., Nahed-Toral, J., Ochoa-Gaona, S., & De Jong, B. (2008). Árboles y arbustos forrajeros de la región norte-tzotzil de Chiapas, México Fodder trees and shrubs of the north-tzotzil region of Chiapas, Mexico. In *Vet. Méx* (Vol. 39, Issue 2).
- Latorre, D. L., Latorre, F. A., Dolores, L., & Latorre, F. A. (1977). *Plants Used by the Mexican Kickapoo Indians Published by : Springer on behalf of New York Botanical Garden Press Stable URL : http://www.jstor.org/stable/4253858 Plants used by the Mexican Kickapoo Indians ' . 31*(3), 340–357.
- M. Agustí. (2012). *Citricultura* (2da ed.). Ediciones Mundi-Prensa.

- Maillard, A., Diquélou, S., Billard, V., & Laîné, P. (2015). *Leaf mineral nutrient remobilization during leaf senescence and modulation by nutrient deficiency*. 6(May), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00317>
- Martínez-Trinidad, T., Plascencia-Escalante, F. O., & Islas-Rodríguez, L. (2013). Relationship Between Carbohydrates and Vitality in Urban Trees. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, XIX(3), 459–468. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2012.03.016>
- Mendez-Villazana, J. C. (2006). *Calidad Nutritional de Arboles y Arbustos con potencial Forrajero para Rumiantes del Altiplano Potosino*.
- Mostafa, A. A., Al-Askar, A. A., Almaary, K. S., Dawoud, T. M., Sholkamy, E. N., & Bakri, M. M. (2018). Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(2), 361–366. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.02.004>
- Narváez-Mastache, J. M., Novillo, F., & Delgado, G. (2008). Antioxidant aryl-prenylcoumarin, flavan-3-ols and flavonoids from *Eysenhardtia subcoriacea*. *Phytochemistry*, 69(2), 451–456. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.07.019>
- Ortega, B. A., & Yovanny, H. (2022). *ESTUDIO FARMACONOSTICO DEL EXTRACTO ETANOLICO DEL TALLO DE Lasiocereus rupicola y Lasiocereus fulvus PROCEDENTES DEL DISTRITO DE AKKAUCA EN LA PROVINCIA DE YAUYOS EN EL DEPARTAMENTO DE LIMA*. <https://orcid.org/0000-0001-7309-4683>
- Pérez G., R. M., Vargas S., R., Pérez G., S., & Zavala S., M. (1998). Antiuroliothatic activity of *Eysenhardtia polystachya* aqueous extract on rats. *Phytotherapy Research*, 12(2), 144–145. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199803\)12:2<144::AID-PTR202>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199803)12:2<144::AID-PTR202>3.0.CO;2-H)
- Pérez-Gutierrez, R. M., Garcia-Campoy, A. H., & Muñoz-Ramirez, A. (2016). Properties of Flavonoids Isolated from the Bark of *Eysenhardtia polystachya* and Their Effect on Oxidative Stress in Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus in Mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9156510>
- Pérez-Olivera, A. F., Gómez-Ramos, B., Salinas-Melgoza, V., Luis, J., Pérez-Negrón, N., Guadalupe, M., Nuncio-Ochoa, J., & García-Guzmán, J. M. (2022). PRODUCCIÓN Y VALOR NUTRICIONAL DE FORRAJE EN UN SISTEMA SILVOPASTORIL DE CLIMA TEMPLADO SUBHÚMEDO [PRODUCTION AND NUTRITIONAL VALUE OF FORAGE IN A SILVOPASTORIL SYSTEM OF TEMPERATE SUBHUMID CLIMATE]. In *Artículo de Investigación Revista Mexicana de Agroecosistemas* (Vol. 9, Issue S1).
- Quéro, L., Girard, V., Pawtowski, A., Tréguer, S., Weill, A., Arend, S., Cellière, B., Polsinelli, S., Monnin, V., van Belkum, A., Vasseur, V., Nodet, P., & Mounier, J. (2019). Development and application of MALDI-TOF MS for identification of food spoilage fungi. *Food Microbiology*, 81, 76–88. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.05.001>
- Redondo-Blanco, S., Fernández, J., López-Ibáñez, S., Miguélez, E. M., Villar, C. J., & Lombó, F. (2020). Plant phytochemicals in food preservation: Antifungal bioactivity: A review. *Journal of Food Protection*, 83(1), 163–171. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-19-163>
- Rivas-Morales, C., Oranday-Cardenas, M. A., Verde-Star, M. J., Rubio, M. E. M., Ortiz, E. J. M., & Garza-Gonzalez, E. (2009). Activity of extracts from two *Eysenhardtia* species against microorganisms related to urinary tract infections. *British Journal of Biomedical Science*, 66(2), 1–2. <https://www.researchgate.net/publication/26700642>

- Rodríguez-Angeles, G. (2002). PRINCIPALES CARACTERISTICAS Y DIAGNOSTICO DE GRUPOS PATOGENOS DE ESCHERICHIA COLI. *Salud Publica de Mexico*, 44(5), 464–475. <http://www.insp.mx/salud/index.html>
- SEMARNAT. (2023). <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/plantas-medicinales-de-mexico>
- Suaréz-Camacho, F. (2023). *PERFIL FITOQUÍMICO Y POTENCIAL BIOACTIVO DE EXTRACTOS DE HOJA Y RAMA DE Eysenhardtia texana*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Thompson, J. E., Froese, C. D., Madey, E., & Smith, M. D. (1998). *LIPID METABOLISM DURING PLANT SENESCENCE*. 37(2).
- Vilela, A. E., González-Paleo, L., & Ravetta, D. A. (2011). *Metabolismo secundario de plantas leñosas de zonas áridas: mecanismos de producción, funciones y posibilidades de aprovechamiento*.
- Villarreal-Ibarra, E. C., García-López, E., Antonio López, P., Jesús Palma-López, D., Del, L., Lagunes-Espinoza, C., Freddy Ortiz-García, C., & Oranday-Cárdenas, A. (2014). *PLANTAS ÚTILES EN LA MEDICINA TRADICIONAL DE MALPASITO-HUIMANGUILLO, TABASCO, MÉXICO USEFUL PLANTS IN TRADITIONAL MEDICINE AT MALPASITO-HUIMANGUILLO, TABASCO, MEXICO* (Vol. 37). México.
- Wächter, G. A., Hoffmann, J. J., Furbacher, T., Blake, M. E., & Timmermann, B. N. (1999). *Antibacterial and antifungal flavanones from Eysenhardtia texana*.
- Xoca-Orozco, L. A., Cortez-Fonseca, K., Luna-López, C., Hernández-Mendoza, G., Flores-Sierra, J. de J., Chacón-López, M. A., & Aguilera-Aguirre, S. (2022). Inhibición in vitro de hongos fitopatógenos utilizando extractos de muérdago mexicano (*Psittacanthus calyculatus*). *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 9(3). <https://doi.org/10.19136/era.a9n3.3431>
- Zabka, M., Pavela, R., & Gabrielova-Slezakova, L. (2011). Promising antifungal effect of some Euro-Asiatic plants against dangerous pathogenic and toxinogenic fungi. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(3), 492–497. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4211>