



UNIVERSIDAD DE MATANZAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



Propiedades químicas y microbiológicas de especies segetales presentes en la flora matancera



**Trabajo de Diploma en opción al título de
Ingeniero Agrónomo**

Autora: Dayne Amaro Sánchez

Tutores:

MSc. Lenia Robledo Ortega

MSc. Yunel Pérez Hernández

Julio, 2018



*El ser humano necesita aferrarse a una esperanza, buscar
en la propia ciencia una oportunidad de supervivencia,
y es justo buscarla y ofrecérsela.*

Fidel Castro

Declaración de Autoridad

Declaro que yo, **Dayne Amaro Sánchez**, soy la única autora de este Trabajo de Diploma, en calidad de lo cual autorizo a la Universidad de Matanzas a hacer uso del mismo con la finalidad que estime pertinente.

Firma

DEDICATORIA

A mis queridos padres Ambar Beatriz Sánchez Barceló y Alberto Amaro Ocasio, por ser el móvil de todas mis acciones y la mayor inspiración con que cuento en la vida, por tener el orgullo de encontrar en ellos mi mayor felicidad y el verdadero amor. Y a mis hermanos y sobrina por su apoyo y alegrar cada día de mi vida. A mi novio Yudrian Hurtado Rodríguez por brindarme su apoyo y dedicación incondicional durante todos mis años de estudio, para de esta manera llegar a ser un profesional.

AGRADECIMIENTOS

A mis queridos padres Ambar Beatriz y Alberto por brindarme su apoyo y dedicación incondicional durante todos mis años de estudio, por su tiempo, paciencia, estímulo, empuje, consejos, amor incondicional y sobre todo tenerme la suficiente confianza para dejarme tomar mis propias decisiones y alentarme a encontrar una solución cuando me equivocó.

A mi sobrina y hermanos por su apoyo, cariño incondicional y por alegrar cada día de mi vida.

A todo el claustro de profesores de la Facultad de Ciencias Agropecuarias que con su profesionalidad y dedicación han inculcado en mí el amor la Agronomía y además por darme las herramientas necesarias para la culminación de mis estudios.

Quisiera sin embargo, agradecer principalmente a un grupo de personas sin cuya colaboración no hubiese podido llegar hasta aquí:

A Enildo, Dania, Lenia y Yunel por brindarme su ayuda en todo lo que fuese necesario y por sus consejos, los cuales contribuyeron en gran medida a la culminación exitosa de mis estudios, quienes a pesar de las tantas molestias nunca dijeron que no.

En especial quiero agradecer a mis tutores Lenia y Yunel por su empeño, preocupación, dedicación, y paciencia y a quienes le debo verdaderamente el éxito de este trabajo.

A mis compañeros de aula, por todo lo que aprendí de cada uno, por todos los momentos irrepetibles que hemos compartidos y sin los cuales estos cinco años no hubiesen resultado divertidos; en especial a Lázaro, Miguel, Félix y Alejandro.

A la profesora Belkis que a pesar de que hoy se encuentre lejos contribuyó en un momento muy duro de mi vida con sus sabios consejos, a que hoy pudiera culminar exitosamente este trabajo.

A Yudrian, mi novio, mejor amigo, consejero y apoyo incondicional. Quien, junto a mi madre y mi padre, es el tercer pilar que me sostiene. Ninguna palabra sirve para expresar cuan agradecida estoy por todo lo que has hecho por mí. Gracias por la dedicación, generosidad, amor, consejos, motivación, apoyo incondicional, por estar siempre conmigo y haber sido mis alas para llegar hasta aquí.

Agradezco a Dios y todo aquel que de una forma u otra contribuyó al desarrollo de este trabajo.

¡A todos un millón de gracias!

OPINIÓN DEL TUTOR

La estudiante Dayne Amaro Sánchez, quien hoy defiende su tesis titulada, “Propiedades químicas y microbiológicas de especies segetales presentes en la flora matancera”, ha demostrado en disímiles tareas durante los cinco años de carrera que su principal valor, es el alto sentido interno de autoperfeccionamiento. Para Dayne cualquier tarea la más sencilla o la más difícil constituye un reto a cumplir bajo cualquier circunstancia, sin condiciones y con la más alta calidad ya que no observamos sus tutores ni profesores de la carrera, la tendencia al facilismo y a cumplir de forma mecánica. Logró sus resultados académicos, científicos y extensionistas con modestia y eficiencia, escuchaba siempre las orientaciones y entregaba los trabajos por encima de lo solicitado, porque en su actuar el autoperfeccionamiento de todas sus actividades y la exigencia personal fueron la máxima aspiración de su actuación diaria. La solidaridad hacia sus compañeros de aula, las excelentes relaciones con todos sus profesores y su educación formal, dejaban cada día en la facultad la alegría de saber que el Ministerio de la Agricultura o cualquier otra Entidad donde fuese ubicada laboralmente tendría un profesional que pondría de manifiesto la excelencia de la carrera..

La presencia de los diferentes compuestos identificados en la investigación son de interés en las industrias médico-farmacéutica y agropecuaria, así como fue comprobada para algunos entre ellos los obtenidos de *Bidens pilosa* y *Euphorbia heterophylla*, sus propiedades antioxidantes que sugieren un uso potencial hacia patologías en humanos y animales relacionadas con stress oxidativo. Los resultados de las pruebas fitoquímicas y microbiológicas realizadas, corroboran algunos de los usos tradicionales que tienen estas especies en infecciones provocadas por bacterias y parásitos; así como en el tratamiento de procesos inflamatorios.

Los resultados de la tesis demuestran que a pesar de que en sus primeros años de investigación no fue comprendido el motivo de utilizar la vegetación segetal, (lo que trajo a Dayne algunos sinsabores), la evaluación de las propiedades fitoquímicas, antioxidantes y antibacterianas de los extractos de hojas de las especies seleccionadas, presentes en la finca “Mery” ha logrado situar la importancia de este trabajo en el lugar que le corresponde,

Como tutores estamos satisfechos por el desempeño de la estudiante Dayne, seguros de la excelencia de su evaluación y le debemos a ella por las innumerables veces que no pudo mostrar sus esfuerzos como videoaficionada, que el tribunal, su familia y el resto del auditorio disfruten de lo que presentaremos.

Tutores:

MSc. Lenia Robledo Ortega

MSc. Yunel Pérez Hernández

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar las propiedades fitoquímicas, antioxidantes y antibacterianas de extractos de hojas de varias especies segetales presentes en el municipio de Coliseo. Las especies fueron seleccionadas en consideración a la abundancia en los campos de cultivo y los usos tradicionales. Las hojas de *Euphorbia heterophylla* L., *Momordica charantia* L., *Bidens pilosa* L., *Ageratum conyzoides* L. y *Blechum brownei* Jess., fueron lavadas y secadas en una estufa a 45°C y luego pulverizadas. Las extracciones se realizaron en etanol 90% y agua y las mezclas se filtraron y concentraron. Se determinaron las cantidades relativas de varias clases de metabolitos secundarios y se cuantificó el contenido de carbohidratos totales, azúcares reductores, proteínas solubles totales, fenoles solubles, ligados a la pared celular y totales. Se evaluó la actividad antimicrobiana contra cepas bacterianas Gram+ y una Gram- mediante la técnica de los pocillos. Como resultado de la caracterización fitoquímica se observó la presencia de terpenos, flavonoides, saponinas, esteroides, taninos, cumarinas y glucósidos cardiotónicos en extractos etanólicos y acuosos de las diferentes plantas evaluadas. Los contenidos elevados de polifenoles evidencian las potencialidades de estas especies como fuente de agentes antioxidantes para el desarrollo de la medicina y la industria alimentaria. El análisis microbiológico mostró un efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* y *Proteus* sp. Los extractos etanólicos de *A. conyzoides* L., *Bidens pilosa* L., *M. charantia* L. y *E. heterophylla* L. mostraron ser afectivos contra estos patógenos, lo cual puede estar relacionado con la presencia de taninos, saponinas y flavonoides en las muestras y sugieren un uso potencial de estas especies para el tratamiento de enfermedades infecciones tanto en humanos como en animales.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Problema científico e Hipótesis.....	2
1.2. Objetivo General.....	2
1.3. Objetivos Específicos.....	2
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Concepto e importancia ecológica de la vegetación segetal.....	4
2.2. Especies segetales comunes en Cuba.....	5
2.3. Ubicación taxonómica y caracteres botánicos de <i>Bidens pilosa</i> L., <i>Euphorbia heterophylla</i> L., <i>Momordica charantia</i> L., <i>Ageratum conyzoides</i> L., <i>Blechum brownei</i> , Jess.....	6
2.3.1. <i>Bidens pilosa</i> L.....	6
2.3.2. <i>Euphorbia heterophylla</i> L.....	7
2.3.3. <i>Momordica charantia</i> L.....	8
2.3.4. <i>A. conyzoides</i> L.....	10
2.3.5. <i>Blechum brownei</i> Juss.....	11
2.4. Usos etnobotánicos y potencialidades de <i>B. pilosa</i> L., <i>E. heterophylla</i> L., <i>M. charantia</i> L., <i>A. conyzoides</i> L. y <i>B. brownei</i> Juss.....	12
2.4.1. <i>Blechum brownei</i> Juss.....	12
2.4.2. <i>Bidens pilosa</i> L.....	12
2.4.3. <i>A. conyzoides</i> L.....	13
2.4.4. <i>Euphorbia heterophylla</i> L.....	14
2.4.5. <i>Momordica charantia</i> L.....	14
2.5. Los metabolitos secundarios. Propiedades fitoquímicas de especies segetales.....	15
2.6. Propiedades antimicrobianas de extractos de especies segetales.....	18
2.7. Actividades insecticida y antiparasitaria de extractos de especies segetales...	20
3. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. Selección y ubicación taxonómica de las especies.....	21
3.2. Preparación de los extractos vegetales.....	22
3.3. Análisis fitoquímico de los extractos.....	24
3.3.1. Análisis cualitativo de metabolitos secundarios.....	24
3.3.2. Contenido de carbohidratos solubles totales.....	25
3.3.3. Contenido de azúcares reductores.....	26
3.3.4. Contenido de proteínas solubles totales.....	26
3.3.5. Contenido de fenoles totales.....	26
3.4. Ensayo de actividad antimicrobiana.....	26
3.5. Diseño experimental y análisis estadístico.....	27

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
4.1. Nivel de conocimiento sobre las especies segetales en habitantes del poblado de Coliseo.....	28
4.2. Caracterización fitoquímica	29
4.2.1. Evaluación cualitativa de metabolitos secundarios.....	29
4.2.2. Contenido de metabolitos primarios.....	33
4.2.2.1. Carbohidratos solubles totales y azúcares reductores.....	33
4.2.2.2. Contenido de proteínas solubles totales	36
4.3. Contenido de polifenoles totales.....	37
4.4. Actividad antibacteriana de los extractos etanólicos	38
4.5. Valoración económica-ambiental del uso de los extractos de las especies segetales.....	43
5. CONCLUSIONES	44
6. RECOMENDACIONES	45
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
8. ANEXOS	56

1. INTRODUCCIÓN

Las especies segetales constituyen un grupo de plantas que crecen y se desarrollan asociadas a los cultivos, lo que afecta sus rendimientos (Capote y Berazaín, 1984). Históricamente, estas plantas fueron consideradas indeseables y son eliminadas de las áreas de cultivo cuando son detectadas por los agricultores. Sin embargo, estas especies tienen funciones ecológicas importantes dentro del agroecosistema, como servir de alimento y refugio a diversos polinizadores e insectos controladores de plaga (Kevan y Wojcik, 2011).

Entre las plantas de este tipo que abundan en los campos cubanos están el romerillo (*Bidens pilosa* L.), la celestina azul (*Ageratum conyzoides* L.) y el cundeamor (*Momordica charantia* L.), las cuales se consideran medicinales con numerosos usos y potencialidades para el desarrollo de la industria farmacéutica y el sector agropecuario. Estudios recientes avalan las propiedades antimicrobianas de estas especies frente a microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* (Lawal *et al.*; 2015; Cervantes *et al.*, 2017; Singh *et al.*, 2017).

Varias de estas especies presentan actividades biológicas importantes, que pueden ser utilizadas para el control de plagas y enfermedades que afectan a los cultivos agrícolas, así como a humanos y a animales (Shailajan, 2013; Silva *et al.*, 2014; Noumedem *et al.*, 2017). Estas propiedades biológicas están asociadas además, al perfil de metabolitos secundarios de cada especie en particular. Entre los principales compuestos encontrados están los flavonoides, los taninos, las saponinas y los terpenoides, los cuales fueron referidos como sustancias con diversas propiedades como antioxidantes, antimicrobiana, anticancerígenas, entre otras (Ojezele *et al.*, 2016; Yi *et al.*, 2016). La presencia de estas sustancias justifica el uso tradicional de las mismas, especialmente en el tratamiento de numerosas patologías (da Silva *et al.*, 2014; Prarthna *et al.*, 2014).

A pesar de las potencialidades que presentan estas especies como fuente de metabolitos secundarios de interés farmacéutico y agropecuario, se desconocen las propiedades fitoquímicas de las plantas que crecen y se

desarrollan en los campos cubanos, lo cual es importante considerar, ya que la interacción genotipo-ambiente puede variar la expresión de estos compuestos en las plantas y sus posibles aplicaciones.

Problema científico:

Se desconocen las propiedades fitoquímicas, antioxidantes y antibacterianas de especies segetales presentes en la finca “Mery”, del municipio Cárdenas, provincia de Matanzas.

Hipótesis:

El estudio de las propiedades fitoquímicas, antioxidantes y antibacterianas de extractos de especies segetales presentes en la finca “Mery”, provincia Matanzas; permitirá tener una valoración de las potencialidades que presentan las mismas, para su uso en el tratamiento de diferentes patologías asociadas al estrés oxidativo y en infecciones bacterianas que afectan a humanos y animales.

Objetivo general:

Evaluar las propiedades fitoquímicas, antioxidantes y antibacterianas de extractos de hojas de *Bidens pilosa* L., *Euphorbia heterophylla* L., *Momordica charantia* L., *Ageratum conyzoides* L. y *Blechum brownei* Juss., presentes en la finca “Mery” del municipio Cárdenas, en la provincia de Matanzas.

Objetivos específicos:

- Caracterizar fitoquímicamente los extractos acuosos y etanólicos de hojas de *Bidens pilosa* L., *Euphorbia heterophylla* L., *Momordica charantia* L., *Ageratum conyzoides* L. y *Blechum brownei* Juss.

- Determinar las propiedades antioxidantes de extractos de hojas de *B. pilosa* L., *E. heterophylla* L., *M. charantia* L., *A. conyzoides* L. y *Blechum brownei* Juss., mediante la cuantificación de los fenoles totales.
- Evaluar las propiedades antibacterianas de extractos etanólicos de hojas de *B. pilosa* L., *E. heterophylla* L., *M. charantia* L., *A. conyzoides* L. y *Blechum brownei* Juss., frente a cepas bacterianas Gram + y Gram -.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Concepto e importancia ecológica de la vegetación segetal

Para cualquier país la diversidad de especies, los genes que ellos contienen y los ecosistemas donde viven, son parte de su patrimonio natural. Se reconoce entre los valores principales de la biodiversidad, el intrínseco, el económico, el ecológico y el espiritual (Berovides y Gerhart, 2007).

Entre las diversas formaciones vegetales se encuentran la vegetación segetal y ruderal, la primera se entiende por aquella que se encuentra asociada a los cultivos y que ocasionan afectaciones considerables a los mismos en la competencia por el espacio, la luz, el agua, los minerales, entre otros factores ambientales. La vegetación ruderal es la vegetación urbana que crece sobre amontonamientos de minerales u otros materiales análogos, sobre calles, tejados, orillas de muros, etc. (Capote y Berzaín, 1984).

En los últimos años se han manifestado con más fuerza en Cuba las invasiones biológicas, por lo que la implementación de planes relacionados con las mismas, está contemplada en la Estrategia Nacional para la Diversidad Biológica y Plan de Acción en la República de Cuba y el actual Programa 2009-2013 del Centro Nacional de Áreas Protegidas. Se incluyen acciones como la identificación, el monitoreo, el control y la mitigación de impactos, y aunque existen trabajos relativos al manejo y control de invasoras, muchas de ellas necesitan estudios para su implementación y utilización con otros fines (Oviedo *et al.*, 2012).

Las especies segetales y ruderales incluyen especies comunes que no son consideradas cultivos de interés y logran su supervivencia a partir de soportar numerosas acciones antrópicas, por las adaptaciones reproductivas, la cantidad de semillas y la plasticidad de sus órganos.

Los agricultores prestan mucha atención a la vegetación segetal ya que las mismas tienen efectos negativos sobre actividades del ser humano, como los costos por su manejo para mantener las poblaciones a un nivel que no reduzca el rendimiento del cultivo, no interfieran con las actividades de los humanos, ni

causen repulsión a la vista. A pesar de estos problemas, estas especies por el contrario, aportan beneficios como el uso tradicional de algunas en la medicina tradicional, como alimento para el hombre o sus animales, como ornamentales, sirven de alimento y refugio a los animales silvestres, reducen la presión del suelo y aumentan el control natural de las plagas (Koch, 1990).

Uno de los usos más generalizados es el empleo de plantas completas o parte de éstas, en la terapia natural y tradicional; así como la importancia que tienen en la cultura de los pueblos, la cual está presente en todas las épocas y naciones. Las especies segetales constituyen una fuente potencial de fármacos con posibilidades terapéuticas; sin embargo, debido al desconocimiento de las mismas, no se emplea esta fuente inagotable de recursos en la vida cotidiana de las personas (Mortimer, 1984,1999).

2.2 Especies segetales comunes en Cuba

Existen numerosas especies referidas como segetales (también invasoras) en las áreas rurales de la provincia de Matanzas y de Cuba. A continuación se muestra un listado de las más representativas (Tabla 1).

Tabla 1. Especies segetales presentes en la flora cubana (Capote y Berazaín, 1984; Oviedo, 2012).

Familia	Especie	Nombre común
<i>Asteraceae</i>	<i>Bidens pilosa</i> L.	Romerillo
<i>Asteraceae</i>	<i>Parthenium hysterophorus</i> L.	Escoba amarga
<i>Cruciferaeae</i>	<i>Lepidium virginicum</i> L.	Mastuerzo
<i>Cucurbitaceae</i>	<i>Momordica charantia</i> L.	Cundeamor
<i>Papaveraceae</i>	<i>Argemone mexicana</i> L.	Cardo santo
<i>Acanthaceae</i>	<i>Blechum brownei</i> Juss	Mazorquilla
<i>Plantaginaceae</i>	<i>Plantago major</i> L.	Llantén
<i>Phytolaccaceae</i>	<i>Petiveria alliacea</i> L.	Anamú
<i>Verbenaceae</i>	<i>Bouchea prismatica</i> (L.) Kuntze	Verbena cimarrona

<i>Amaranthaceae</i>	<i>Amaranthus viridis</i> L.	Bledo blanco
<i>Poaceae</i>	<i>Sorghum halepense</i> (L.) Pers.	Cañuela
<i>Poaceae</i>	<i>Echinochloa colona</i> (L.) Link	Metabravo
<i>Asteraceae</i>	<i>Ageratum conyzoides</i> L.	Celestina azul
<i>Asteraceae</i>	<i>Vernonia cinerea</i> (L.) Less.	Machadita
<i>Poaceae</i>	<i>Brachiaria extensa</i> Chase.	Gambutera
<i>Portulacaceae</i>	<i>Portulaca oleracea</i> L.	Verdolaga
<i>Euphorbiaceae</i>	<i>Euphorbia heterophylla</i> L.	Hierba lechosa
<i>Asteraceae</i>	<i>Emilia sonchifolia</i> (L) DC.	Clavel chino

2.3. Ubicación taxonómica y caracteres botánicos de *Bidens pilosa* L., *Euphorbia heterophylla* L., *Momordica charantia* L., *Ageratum conyzoides* L., *Blechum brownei*, Jess.

2.3.1. Romerillo blanco

Nombre científico: *Bidens pilosa* L. var. *Radiata* Sch. (Roig, 2012).

Ubicación Taxonómica:

Reino: Plantae

División: Spermatophyta

Subdivisión: Magnoliophytina

Clase: Magnoliatae

Subclase: Asteridae

Orden: Asterales

Familia: *Asteraceae*

Género: *Bidens*

Especie: *Bidens pilosa* L.

Hábitat y distribución: es una yerba anual silvestre muy común en toda Cuba, en campos, márgenes de los ríos, colinas calcáreas, terrenos yermos y cultivados, y en los tejados de teja española. A veces se cultiva en los patios por sus propiedades medicinales. La especie existe, además, en las otras Antillas Mayores, muchas de las Antillas Menores, las Bermudas, la América tropical continental y en los trópicos del Viejo Mundo (Roig, 2012).

Descripción botánica: es una planta lampiña o algo pubescente, de 3 a 10 dm de altura, más o menos ramificada. Las hojas son opuestas y las más altas alternas, pecioladas, 3-divididas, sus segmentos de ovals a lanceolados, de 2 a 8 cm de largo, aserrados, agudos o acuminados, las superiores a veces no divididas (Figura 1A). La planta presenta una raíz típica o pivotante (Figura 1C).



Figura 1. Plantas de *Bidens pilosa* L. A: agrupación de plantas, B: inflorescencia en capítulo, C: raíces. Fuente: Dayne Amaro Sánchez. 2018.

La inflorescencia es un capítulo con flores tubulares y radiadas (Figura 1B). El involucro es campanulado, aproximadamente de 8 mm de alto, sus brácteas exteriores oblongo-lineales, por lo común más cortas que las interiores. El receptáculo es plano o casi plano y pajizo. Los radios, cuando existen, son blancos, neutros de 1 a 2 cm de largo, 2-3 lobados. Las flores del disco son fértiles, sus corolas tubulares, 5-dentadas. Las anteras son enteras o diminutamente sagitadas en la base. Ramas del estilo con puntas cortas o azeznadas. Aquenios planos, columnar-fusiformes, desiguales, los interiores más largos, que el involucro. Vilano de 2 a 4 aristas amarillas, barbudas hacia la parte baja (Roig, 2012).

2.3.2. Hierba lechosa

Nombre científico: *Euphorbia heterophylla* L. (Roig, 2012; Cerdeira y Voll, 1980).

Ubicación Taxonómica:

Reino: Plantae

División: Spermatophyta

Subdivisión: Magnoliophytina

Clase: Magnoliatae
Orden: Euphorbiales
Familia: *Euphorbiaceae*
Género: *Euphorbia*
Especie: *Euphorbia heterophylla* L.

Hábitat: es común en los campos cultivados, forma cayos grandes tanto en áreas de cultivos como en las guardarrayas.

Descripción botánica: el porte es erguido de hasta 50 cm. La raíz es pivotante (Figura 2C). El tallo hueco, glabrescente y con abundante látex blanquecino. Las hojas son mayormente alternas y de varias formas, de ahí su nombre específico (hetero-fila) pálidas en el envés (Figura 2A). Mayormente oblongo a lanceolada a aovada. A veces lobuladas o enteras. La inflorescencia es a menudo roja o blancuzca, en la base. En fruto es una cápsula tricoca (Figura 2B). Una planta puede producir más de 100 semillas. Su forma de propagación es por semillas.



Figura 2. Plantas de *Euphorbia heterophylla* L. A: Tallo y hojas de la planta, B: frutos en tricoca, C: raíces. Fuente: Dayne Amaro Sánchez. 2018.

2.3.3. Cundeamor

Nombre científico: *Momordica charantia* L. (Roig 2012)

Ubicación taxonómica:

Reino: Plantae

División: Spermatophyta

Subdivisión: Magnolophytina

Clase: Magnoliatae

Subclase: Dillenidae

Orden: Cucurbitales

Familia: *Cucurbitaceae*

Género: *Momordica*

Especie: *Momordica charantia* L.

Hábitat y distribución: es una planta trepadora silvestre común en toda la Isla, en terrenos yermos y cultivados, llanos o de mediana elevación. Está presente en otras Antillas Mayores y Menores, en la América tropical continental y en los trópicos del viejo mundo.

Descripción botánica: enredadera herbácea, trepadora o postrada con tallos delgados, más o menos pubescentes, de 1 a 8 m de longitud, con zarcillos simples, filiformes y opuestos a las hojas (Figura 3 A y B). Hojas delgadas de contornos reniformes, de 4 a 12 cm de ancho lampiñas, los lóbulos dentados, los peciolo delgados de 3 a 6 cm de largo. Las flores son amarillas unisexuales, solitarias o agrupadas.



Figura 3. Plantas adultas de *Momordica charantia* L. A: plantas con hojas, B: zarcillos, C: fruto. Fuente: Dayne Amaro Sánchez. 2018.

El pedúnculo de las flores con una bráctea oval, entera, acorazonada en o debajo del medio. Las flores son pistiladas con el cáliz y corola semejantes a los de las estaminadas, un ovario unilocular con tres placentas. Los óvulos numerosos, horizontales, el estilo delgado y 3 estigmas. El fruto es amarillo, tuberculado, cilíndrico e indehisciente (Figura 3C). Semillas planas de 12 a 16 mm de largo (Roig, 2012).

2.3.4. Celestina azul

Nombre científico: *Ageratum conyzoides* L. (Roig, 2012; Zelaya, 2012).

Ubicación taxonómica

Reino: Plantae

División: Spermatophyta

Subdivisión: Magnoliophytina

Clase: Magnoliatae

Subclase: Asteridae

Orden: Lamiales

Familia: *Asteraceae*

Género: *Ageratum*

Especie: *Ageratum conyzoides* L.

Hábitat: se desarrolla en suelos de mal drenaje interno por lo que es profusa en terrenos húmedos, sin llegar al aniego.

Descripción botánica: planta de porte erguido y ramificado. La raíz es pivotante y muy ramificada. El tallo cilíndrico, pubescente y hojoso. Las hojas son aovadas y obtusas en el ápice, redondeadas a obtusas en la base y pelosas (Figura 4A) y presenta una raíz típica o pivotante (Figura 4D).

La inflorescencia es un corimbo formado por muchos capítulos azules (Figura 4B). El fruto es un aquenio negro de 2 mm con un vilano blanco (Figura 4C). Puede producir numerosas semillas y su transporte se facilita mediante el vilano que es transportado por el viento.

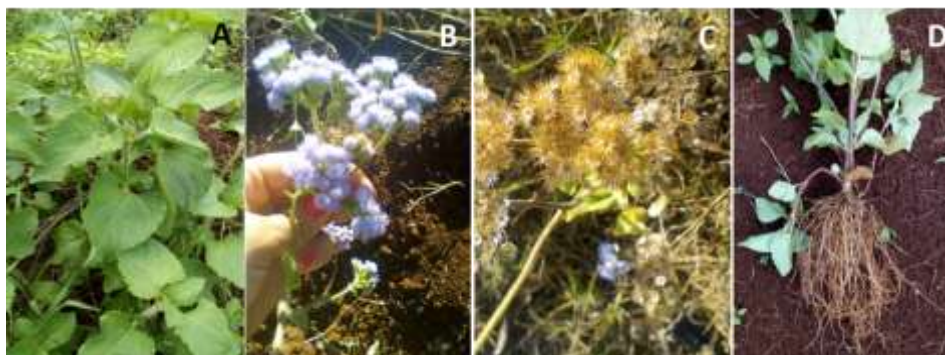


Figura 4. Plantas de *Ageratum conyzoides* L. A: Planta adulta, B: inflorescencia, C: frutos y D: raíces. Fuente: Dayne Amaro Sánchez. 2018.

2.3.5. Mazorquilla

Nombre científico: *Blechum brownei* Juss. (Roig, 2012).

Ubicación taxonómica

Reino: Plantae

División: Spermatophyta

Subdivisión: Magnoliophytina

Clase: Magnoliatae

Subclase: Asteridae

Orden: Lamiales

Familia: *Acanthaceae*

Género: *Blechum*

Especie: *Blechum brownei* Juss.

Hábitat y distribución: es una planta muy común en terrenos yermos y cultivados, a lo largo de los caminos, bajo los árboles, en lugares de poca o mediana elevación. Abunda en los terrenos calcáreos. Se halla también en Puerto Rico y demás Antillas Mayores, algunas de las Antillas Menores y en la América tropical continental (Roig, 2012).

Descripción botánica: planta anual, puberulenta, erecta o ascendente, ramificada con las ramas delgadas. Hojas aovadas, delgadas, pecioladas, obtusas y estrechas en la base (Figura 5). Flores pequeñas en densas espigas terminales, sus grandes brácteas foliáceas, con venas pinnadas. El cáliz 5-partido y con sus segmentos aleznado-lineales. La corola es blanquecina, un poco más largas que las brácteas, con un tubo delgado poco expandido en la parte superior y un limbo extendido. Presenta cuatro estambres didínamos y sus celdas son paralelas. El ovario presenta pocos o numerosos óvulos en cada cavidad del ovario y el estilo con el ápice aleznado. El fruto es una cápsula oblonga y las semillas son orbiculares (Roig, 2012).



Figura 5. *Blechum brownei* Juss. A: plantas adultas. B: planta con flores.
Fuente: Dayne Amaro Sánchez. 2018.

2.4. Usos etnobotánicos y potencialidades de *B. pilosa* L., *E. heterophylla* L., *M. charantia* L., *A. conyzoides* L. y *B. brownei* Juss

2.4.1. *Blechum brownei* Juss.

La mazorquilla es utilizada con fines medicinales y se emplean las hojas, las flores y la planta entera. En Santiago de las Vegas y en otros lugares de Mayabeque (Cuba), la utilizan como un diurético potente (Roig, 2012) y para afecciones de la vesícula (Barreras y Achong, 1989).

En Martinica las hojas son empleadas en decocción como enmenagoga (Longuefosse y Nossin, 1996). También el cocimiento de toda la planta para la irritación digestiva, para lo cual se toma como agua común (Sedane, 1988). En Panamá los indios guaymíes usan la decocción de esta planta como antiemético (Joly *et al.*, 1987) y los indios Teribe la decocción de las hojas contra la amebiasis (Gupta *et al.*, 2005).

2.4.2. *Bidens pilosa* L.

Es una planta nativa de América del Sur y en la actualidad está diseminada por todo el mundo, principalmente en las regiones tropicales y subtropicales (Oliveira *et al.*, 2004). La planta entera se utiliza en forma de pasta para uso externo o en decocciones o infusiones para uso interno. En países como Perú se emplea para diferentes enfermedades como la fiebre aftosa, la angina de

pecho, la diabetes, los trastornos menstruales, la hepatitis, la laringitis y las inflamaciones internas y externas. La decocción de la raíz se utiliza para la hepatitis alcohólica y la mezcla de las hojas machacadas con agua para tratar dolores de cabeza. La hoja se hace una bola y se aplica en el dolor de muelas. Las hojas secadas al sol se maceran con aceite de oliva para hacer cataplasmas para heridas y laceraciones. La infusión de las flores se usa para tratar el malestar estomacal por intoxicación con alimentos (Narud, 2012).

En la actualidad el romerillo se emplea para la inflamación, la hipertensión, las úlceras, la diabetes y las infecciones. En América del Sur, se considera una planta de uso seguro, ya que en estudios realizados con animales no se reportan efectos tóxicos hasta la fecha. Estudios específicos de toxicología no evidencian un efecto tóxico en dosis de hasta 1 g/kg de peso corporal en ratones (Narud, 2012; Muñoz, 2014).

Entre las propiedades medicinales de esta especie se citan su uso como antidiabético (Chien *et al.*, 2009), antitumoral (Kwiecinski *et al.*, 2008), antimicrobiano (Deba *et al.*, 2008) y antioxidante (Krishnaiah *et al.*, 2011). En varios trabajos las hojas de *B. pilosa* L. se observaron propiedades promisorias para combatir la malaria (Kumari *et al.*, 2009).

En estudios recientes realizados por Cunha *et al.* (2016), se evidenció un efecto protector contra la mucositis intestinal en ratones, con el uso de formulaciones a partir de hojas de *B. pilosa* L. Los resultados mostraron un aumento en la longitud de las microvellosidades intestinales y una disminución de los procesos inflamatorios y de la peroxidación lipídica, lo que indicó la presencia de compuestos antioxidantes en esta especie, que redujeron los niveles de especies reactivas del oxígeno implicadas en la oxidación de los lípidos de membrana y en la inflamación.

2.4.3. *A. conyzoides* L.

La celestina azul se utiliza para numerosos remedios en diferentes partes del mundo. Las hojas presentan diversas propiedades como analgésica, antiespasmódica, antiinflamatoria, antipirética y purgante. Se emplea para el tratamiento de heridas producidas por cortes y para tratamiento de parásitos intestinales. La planta entera se usa en forma de infusión contra la diarrea y

cuando se producen cólicos por flatulencia, entre otros usos (Barboza *et al.*, 2009).

En África central el uso más común de las hojas es para la cura de heridas producidas por arma blanca, quemaduras y el tratamiento de neumonía (Durodola, 1977). En la India se utiliza como bactericida (Borthakur y Baruah, 1987). Otros autores refirieron la actividad antitumoral de esta planta (Momesso *et al.*, 2009; Albuquerque *et al.*, 2011).

Shirwaikar *et al.* (2003) determinaron el efecto gastroprotector del extracto etanólico de *A. conyzoides* L. en ratones. La actividad protectora alcanzó un valor del 89% en condiciones *in vivo*, la cual fue relacionada con las propiedades antioxidantes del extracto.

En trabajos más recientes se describen propiedades biológicas importantes en esta planta como antibacteriana (Odeleye *et al.*, 2014), antifúngica (Morais *et al.*, 2014), antiparasítica (Teixeira *et al.*, 2014), antiinflamatoria (Moura *et al.*, 2005) y citotóxica (Adetutu *et al.*, 2012).

2.4.4. *Euphorbia heterophylla* L.

En el este de África esta especie se utiliza para el tratamiento de enfermedades como la gonorrea y para acelerar el saneamiento de las heridas (Edeoga *et al.*, 2005). También se utiliza como purgante (Erden *et al.*, 1999), agente lactogénico (Dokosi, 1998) y como cura para la migraña y las verrugas (Falodun *et al.*, 2003; Falodun y Agbakwuru, 2004). El látex se utiliza para el envenenamiento de peces y como insecticida (Rodríguez *et al.*, 1974).

En estudios biológicos previos se refirió la actividad antibacteriana de las hojas de *E. heterophylla* L. (Okoli *et al.*, 2009), así como las actividades antiinflamatorias (Falodun *et al.*, 2006) y curativas (Omale y Emmanuel, 2010).

2.4.5. *Momordica charantia* L.

El cundeamor es una de las especies vegetales con un mayor potencial como hipoglucemiante. Procede de la India, donde se utiliza ampliamente en la medicina popular para el tratamiento de la diabetes. Se emplean sus frutos, aunque también se utilizan las semillas, las hojas y toda la planta. Otras propiedades que se le atribuyen son antihelmíntica, antimalárica, antiviral y

antitumoral sobre distintos tipos de cáncer. En la India, además, se considera que tiene propiedades abortivas, anticonceptivas, laxantes, entre otras afecciones (López, 2006; Espinosa-Moreno *et al.*, 2016).

2.5. Los metabolitos secundarios. Propiedades fitoquímicas de especies segetales

Las plantas producen numerosos compuestos orgánicos derivados del metabolismo primario denominados metabolitos secundarios. Estos compuestos, a diferencia de los metabolitos primarios, no tienen una función directa en procesos vitales como la fotosíntesis, la respiración celular, la síntesis de proteínas, el transporte de solutos y la asimilación de nutrientes (Olivoto *et al.*, 2017). La síntesis de un metabolito secundario específico no se observa en todas las especies del reino de las plantas, sino que es restringido o una o a pocas especies (Taiz y Zeiger, 2010).

La importancia de los metabolitos secundarios tardó mucho tiempo en aclararse. El avance de la tecnología, en especial la secuenciación y la edición de genes del genoma de diferentes especies, permitió dilucidar las funciones de estos compuestos (Woo *et al.*, 2015; Bortesi y Fischer, 2015).

Hoy se conoce con seguridad las funciones importantes, pero no vitales, de estos compuestos; tales como la protección contra hongos, insectos y bacterias patógenas; proporcionar características atractivas a los polinizadores como color, hedor y sabor y en la dispersión de las semillas. También actúan como componentes químicos principales en la competencia planta-planta y en la simbiosis planta-microorganismo. Sin embargo, los mismos metabolitos que potencian el desarrollo de las plantas, pueden también hacer indeseables a estas especies para el consumo humano (Olivoto *et al.*, 2017).

La producción de los metabolitos secundarios al igual que muchos otros caracteres cuantitativos de las plantas, depende de la interacción genotipo – ambiente; por lo cual las variaciones de los elementos meteorológicos como la temperatura, la humedad y las características del suelo, pueden afectar notablemente el perfil metabólico de las plantas etc. (Gurung *et al.*, 2011).

Los compuestos fenólicos son el grupo más extenso dentro de los metabolitos secundarios de origen vegetal. Los polifenoles tiene diversas funciones en las plantas y cuando son incorporados a la dieta humana o animal, pueden modular la actividad de diferentes enzimas e interferir en mecanismos de señalización de diversos procesos celulares. Sus propiedades antioxidantes justifican muchos de sus efectos beneficiosos (Quiñones *et al.*, 2012; Chahar y Sharma, 2017).

Existen varias clases y subclases de polifenoles que se definen en función del número de anillos fenólicos que poseen y de los elementos estructurales que presentan los mismos. Los principales grupos de polifenoles son: los ácidos fenólicos, los estilbenos, los lignanos, los alcoholes fenólicos y los flavonoides.

Los flavonoides constituyen la subclase más abundante y a su vez se agrupan en flavonoles, flavonas, flavononas, isoflavonas y antocianidinas (Quiñones *et al.*, 2012). Estos compuestos desempeñan un papel importante en la biología vegetal, ya que responden a la luz y controlan los niveles de las auxinas reguladoras del crecimiento y el proceso de diferenciación de las plantas. Otras funciones incluyen la acción antifúngica y bactericida, la capacidad para fijar metales como el hierro y el cobre, así como conferir coloraciones llamativas a las flores, lo que puede contribuir a la polinización (Martínez-Flórez *et al.*, 2002).

Los alimentos contienen generalmente una mezcla compleja de polifenoles. Además, numerosos factores medioambientales como la luz, el grado de maduración o el grado de conservación, pueden afectar al contenido total de polifenoles. La exposición a la luz es uno de los principales condicionantes para determinar el contenido de la mayoría de los polifenoles (Quiñones *et al.*, 2012).

Las cumarinas también tienen importancia terapéutica relacionada con las propiedades citotóxica (Thakur *et al.*, 2015) y antibacteriana (Widelski *et al.*, 2009). Los ácidos fenólicos simples como el ácido cafeico, el gálico y el clorogénico están formados por un anillo de benceno, un grupo carboxilo y uno o más grupos hidroxilos en la molécula, lo que le confiere propiedades antioxidantes y la posibilidad de ser utilizadas en el tratamiento y prevención de

un grupo numeroso de patologías asociadas con el estrés oxidativo (Espinosa *et al.*, 2015; Heleno *et al.*, 2015).

Los taninos representan un grupo de compuestos de gran importancia en la defensa de las plantas (Adamczyk *et al.*, 2013). Los herbívoros evitan el consumo de plantas o partes de éstas que tienen concentraciones elevadas de taninos. Estos compuestos interactúan con proteínas lo que provoca la inactivación de las mismas (Zungu y Downs, 2015). Esta propiedad es lo que relaciona a estas sustancias con las propiedades antibacterianas y antifúngicas de algunas plantas.

Numerosos trabajos describen las propiedades fitoquímicas de especies segetales, muchas de las cuales tienen un potencial elevado para la industria farmacéutica, médica, alimenticia y agropecuaria (Okunade, 2002; Cortés-Rojas *et al.* 2013). Los constituyentes químicos que se refieren a estas plantas dependen de numerosos factores, como el genotipo, el ambiente, la edad fisiológica de la planta y el propio método de detección, los cuales pueden variar la composición fitoquímica de la planta. En la Tabla 2 se muestran algunos resultados relacionados con estudios fitoquímicos en especies segetales.

Tabla 2. Composición fitoquímica de especies segetales.

Especie / órgano	Metabolitos	Autor (es)
<i>B. pilosa</i> L. / Hoja	Poliacetilenos, derivados del ácido cumárico, diterpenos, taninos, saponinas, esteroides, carotenoides, aceites esenciales y flavonoides.	Bairwa <i>et al.</i> (2010)
<i>B. pilosa</i> L. / Hoja	Terpenos, aceites esenciales, taninos, polisacáridos, fenoles, aminoácidos, ácido ascórbico.	Arthur <i>et al.</i> (2012)
<i>B. pilosa</i> L./ Hoja, tallo, raíz	Compuestos fenólicos, flavonoides.	Cortés-Rojas <i>et al.</i> (2013)
<i>B. pilosa</i> L./ Hoja, tallo, raíz	Alcaloides, flavonoides, taninos y saponinas.	da Silva <i>et al.</i> (2014)

<i>B. pilosa</i> L./ Hoja	Alcaloides, flavonoides, glucósidos, taninos, saponinas, terpenoides, esteroides.	Lawal <i>et al.</i> (2015)
<i>A. conyzoides</i> L.	Alcaloides, flavonoides, benzofuranos y terpenoides.	Okunade (2002)
<i>A. conyzoides</i> L.	Sesquiterpenos, triterpenos, esteroides, flavonoides, cumarinas, taninos y alcaloides.	Nour <i>et al.</i> (2010) y Bosi <i>et al.</i> (2013)
<i>E. heterophylla</i> L.	Alcaloides, taninos, glucósidos cardiotónicos.	Edeoga <i>et al.</i> (2005)
<i>E. heterophylla</i> L.	Alcaloides, taninos, glucósidos cardiotónicos, saponinas.	Fred-Jaiyesimi y Abo (2010)
<i>M. charantia</i> L.	Taninos, antocianinas, cumarinas, emodinas, glucósidos cardiotónicos, antraquinonas, alcaloides, terpenos, saponinas, flavonoides.	Prarthna <i>et al.</i> (2014)
<i>M. charantia</i> L.	Flavonoides, alcaloides, cumarinas, saponinas, glucósidos cardiotónicos.	Cervantes <i>et al.</i> (2017)
<i>Blechum pyramidatum</i> (Lam.)	Taninos, saponinas y fitoesteroles	De Padua y Lugo (1981)

2.6. Propiedades antimicrobianas de extractos de especies segetales

Las plantas vegetales ofrecen múltiples potencialidades y beneficios al hombre, ya que numerosos estudios *in vitro* avalan el efecto antibacteriano y antifúngico de extractos de diferentes partes de las plantas.

Los mayoría de los trabajos analizan el efecto inhibitorio de extractos vegetales frente a bacterias Gram positivas como cepas del género *Staphylococcus*, mientras que entre las Gram negativas más utilizadas están *Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp. y *Klebsiella* sp. La Tabla 3 muestra un resumen de la evaluación de diferentes extractos vegetales de especies

segetales, frente a microorganismos patógenos que afectan a los humanos y los animales.

Tabla 3. Actividad antimicrobiana de extractos de especies segetales.

Especie	Microorganismos	Autor (es)
<i>B. pilosa</i> L. (hoja)	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ashafa y Afolayan (2009); da Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>B. pilosa</i> L. (hoja)	<i>S. aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Shigella sp.</i> , <i>Salmonella arizonae</i> , <i>S. typhi</i> , <i>S. typhimurium</i>	Lawal <i>et al.</i> (2015)
<i>B. pilosa</i> L. (hoja)	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Candida albicans</i>	Singh <i>et al.</i> (2017)
<i>A. conyzoides</i> L. (hojas)	<i>S. aureus</i> , <i>Staphylococcus saprophyticus</i> , <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Klebsiella sp.</i>	Ezeonwumelu <i>et al.</i> (2017)
<i>A. conyzoides</i> L. (hojas)	<i>Didymella bryoniae</i>	Fiori <i>et al.</i> (2000)
<i>E. heterophylla</i> L.	<i>Staphylococcus albus</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. typhi</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> y <i>Aspergillus niger</i>	Fred-Jaiyesimi y Abo (2010)
<i>M. charantia</i> L.	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumoniae</i>	Cervantes <i>et al.</i> (2017)
<i>M. charantia</i> L.	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Candida albicans</i>	Azuero <i>et al.</i> (2016)
<i>M. charantia</i> L.	<i>Mycosphaerella fijiensis</i> Morelet. (hongo patógeno)	Morales <i>et al.</i> (2011)

2.7. Actividades plaguicida y antiparasitaria de extractos de especies segetales

Las plantas segetales son fuente de agentes fitoquímicos controladores de plagas y parásitos que afectan tanto a cultivos agrícolas como a humanos y animales (Tabla 4).

Tabla 4. Actividades plaguicida y antiparasitaria de especies segetales.

Especie	Plaga / parásito	Autor (es)
<i>B. pilosa</i> L. (hoja)	<i>Culex quinquefasciatus</i>	Singh <i>et al.</i> (2017)
<i>B. pilosa</i> L. (hoja)	<i>Plasmodium falciparum</i>	Noumedem <i>et al.</i> (2017)
<i>A. conyzoides</i> L.	Insecticida	Ming (1999)
<i>A. conyzoides</i> L. (metoxiflavona)	Insecticida	Moreira <i>et al.</i> (2007)
<i>A. conyzoides</i> L.	<i>Pediculus humanus capitis</i> (insecto parásito)	Shailajan (2013)
<i>A. conyzoides</i> L.	<i>Leucoptera coffeella</i> , <i>Solenopsis invicta</i> , <i>Macrosiphum rosae</i> (insectos plagas de cultivos)	Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>E. heterophylla</i> L.	<i>Macrosiphum rosae</i> y <i>Atta sexdens rubropilosa</i> (insectos plagas de cultivos)	Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>M. charantia</i> L.	<i>Cryptocaryon irritans</i> , <i>Neobenedenia melleni</i> , <i>Melia azedarach</i> (protozoos)	Fernández (2003)

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en los laboratorios pertenecientes al Centro de Estudios Biotecnológicos (CEBIO) de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Matanzas, Cuba. La misma se dividió en tres etapas fundamentales:

- Etapa 1. Evaluación del conocimiento sobre la importancia de las especies segetales, selección y ubicación taxonómica de las especies.
- Etapa 2. Preparación de los extractos vegetales.
- Etapa 3. Evaluación de las propiedades fitoquímicas, de las potencialidades antioxidantes y la actividad antibacteriana de los extractos vegetales.

3.1. Selección y ubicación taxonómica de las especies

En la primera etapa se realizaron entrevistas a una muestra de 50 habitantes de diferentes edades, del poblado de Coliseo perteneciente al municipio Cárdenas, provincia de Matanzas. El objetivo de las mismas fue determinar el nivel de conocimiento, sobre las especies segetales y ruderales comunes en el territorio, los usos tradicionales que tienen las mismas y las que son utilizadas con mayor frecuencia. Con esta información y los datos sobre presencia / ausencia de las especies segetales más abundantes en las áreas de cultivo, se realizó la selección de cinco de las mismas en la finca “Mery” en la localidad de Coliseo (Figura 6).

Las especies seleccionadas fueron las siguientes: el romerillo (*Bidens pilosa* L.), la hierba lechosa (*Euphorbia heterophylla* L.), la mazorquilla (*Blechum brownei* Juss.), el cundeamor (*Momordica charantia* L.) y la celestina azul (*Agentum conyzoides* L.). La identificación taxonómica de las mismas se realizó por especialistas del Jardín Botánico de Matanzas, a partir del análisis de los caracteres morfológicos *in situ*, con muestras presentes en el herbario de dicha entidad y se verificó con la información de herbarios digitales pertenecientes a la colección del Jardín Botánico de Nueva York (New York Botanical Garden, 1966), Estados Unidos. Además, se herborizó un ejemplar de cada especie y se entregó al herbario “Hermanos León” del JBM (Figura 7, Anexos 1 y 2).



Figura 6. Entrevista a habitantes de Coliseo (A) y vista de la finca “Mery” donde se realizaron las colectas de las plantas para las evaluaciones químicas y microbiológicas (B). Fuente: Dayne Amaro Sánchez.

La colecta del material vegetal se realizó en el mes de marzo de 2018 entre 9:00 y 11:00 am. Se seleccionaron hojas de plantas adultas que no presentaban síntomas de enfermedades o ataque de plagas, las cuales se trasladaron hacia el CEBIO para la preparación de los extractos.

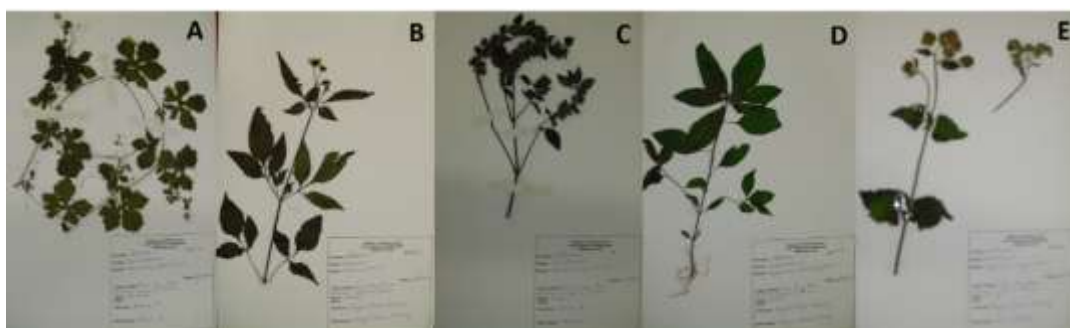


Figura 7. Ejemplares herborizados y entregados al herbario del JBM. *Momordica charantia* L. (A), *Bidens pilosa* L. (B), *Blechum brownei* Juss. (C), *Euphorbia heterophylla* L. (D) y *Agentum conyzoides* L. (E). Fuente: Dayne Amaro Sánchez.

3.2. Preparación de los extractos vegetales

En la Figura 8 se muestra el esquema general de trabajo correspondiente a las etapas 2 y 3 de la investigación.

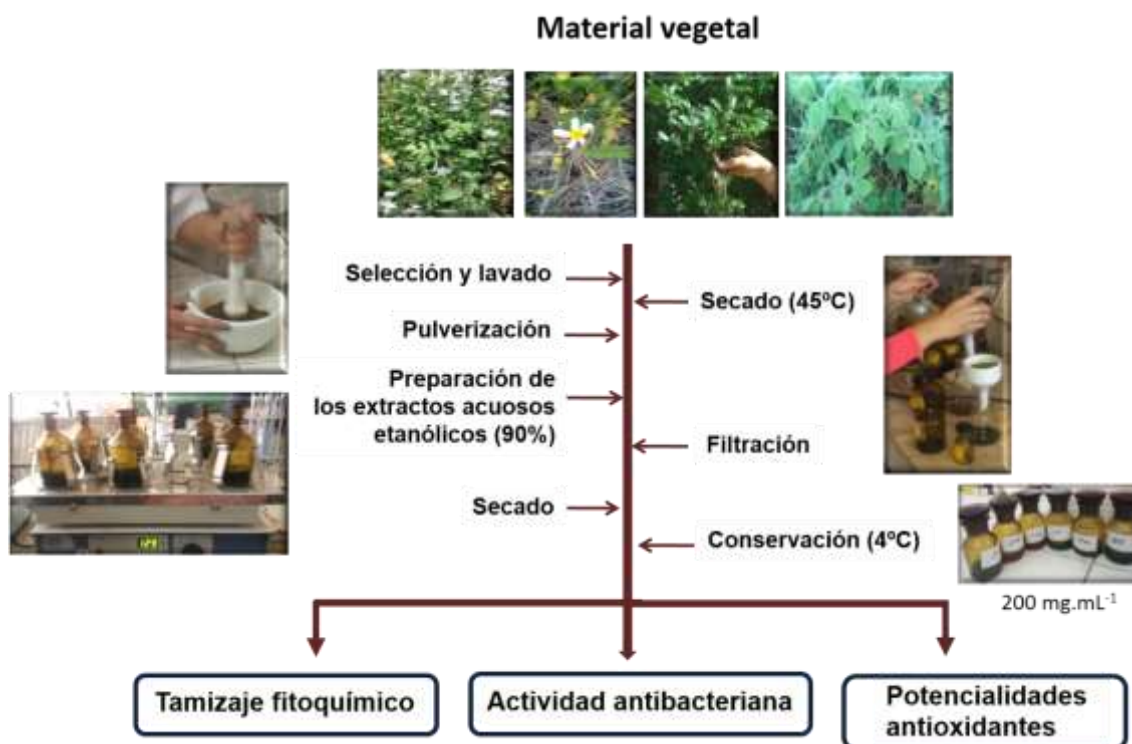


Figura 8. Esquema general de trabajo (etapas 2 y 3).

Las hojas colectadas fueron lavadas con agua destilada para eliminar el polvo y posteriormente se procedió al secado en una estufa (Boxun) a 45°C. Las hojas secas fueron trituradas en un mortero hasta pulverizar.

Se mezclaron 5 g de polvo de los tallos secos con 100 mL de cada solvente (etanol 90% y agua) en erlenmeyers de 250 mL con tapones de algodón, y se colocaron en agitación sobre una zaranda orbital (HDL® APPARATTUS) a 160 rpm por 24 h. Los extractos se conservados a 4°C para los ensayos fitoquímicos posteriores (García *et al.*, 2016).

El ensayo de actividad antibacteriana se realizó con 100 g de polvo de hoja disueltos en 500 mL de etanol (90%). La mezcla se colocó en agitación (160 rpm) por 24 h, se filtró el sobrenadante y se colectó en un recipiente ámbar. El sólido se volvió a homogenizar 250 mL de etanol al 90% y se colocó en iguales condiciones durante otras 24 h. El sobrenadante se filtró con dos capas de papel de filtro y se adicionó al sobrenadante colectado previamente. El mismo se deshidrató en una estufa a 35°C hasta obtener un sólido seco que fue almacenado para el ensayo de actividad antibacteriana.

3.3. Análisis fitoquímico de los extractos

3.3.1. Análisis cualitativo de los metabolitos secundarios

Para la determinación de los metabolitos secundarios se utilizó la metodología descrita por Chigodi *et al.* (2013):

Prueba para flavonoides: se adicionó 1 mL de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ a 100 mg de extracto y posteriormente se agregó igual volumen de HCL 0,1 mol.L⁻¹. La presencia de un color amarillo en la disolución indicó la presencia de flavonoides.

Prueba para terpenoides: se mezclaron 100 mg de extracto con 1 mL de cloroformo y a continuación se adicionaron 2 mL de H₂SO₄ concentrado. La coloración rojo-pardo en la interfase indicó la presencia de terpenoides.

Prueba para antocianinas: se mezclaron 100 mg de extracto con 3 ml de agua destilada y posteriormente se adicionó 1 mL de HCL 2 mol.L⁻¹ y disolución amoniacal 2 mol.L⁻¹ a 1 mL de la mezcla anterior. La presencia de un color rosado-rojo que se torna azul-violeta indicó la presencia de antocianinas.

Prueba para taninos: se mezclaron 100 mg de cada extracto con 2 mL de agua destilada y la mezcla se calienta en baño María. Posteriormente se filtró y al sobrenadante se adicionaron dos gotas de disolución de cloruro férrico al 1% en metanol (1:1). La presencia de taninos se identificó mediante la formación de un color verde oscuro en la disolución.

Prueba para antraquinonas: se mezclaron 200 mg de cada extracto con 3 mL de HCL al 10% y la mezcla se calentó a 100°C durante 3 minutos en baño María. Posteriormente la mezcla se filtró y el sobrenadante se dejó enfriar a temperatura ambiente. Seguidamente se adicionaron igual volumen de CHCl₃ al filtrado y a continuación unas gotas de disolución de amonio al 10% y se volvió a calentar la mezcla. La formación de una coloración rosada indicó la presencia de antraquinonas.

Prueba para glucósido cardiotónico: se mezclaron 200 mg de cada extracto con 5 mL de agua destilada. La mezcla se agitó vigorosamente y luego se filtró. Se tomaron 3 mL del sobrenadante y se adicionaron 2 mL de ácido

glacial acético que contiene una gota de disolución de cloruro férrico al 1%. A la mezcla se adicionó cuidadosamente 1 mL de H₂SO₄ concentrado por las paredes del tubo de ensayo. La presencia de desoxiazúcares característicos de los compuestos cardiotónicos, se observó por la formación de un anillo pardo en la interfase junto a un anillo púrpura por debajo.

Prueba para saponinas: se mezclaron 100 mg de cada extracto con 3 mL de agua destilada, se agitó vigorosamente y posteriormente la mezcla se calentó a 100°C. La formación de espuma o una mezcla cremosa con pequeñas burbujas muestra la presencia de saponinas.

Prueba para flobataninos: se mezclaron 100 mg de cada extracto con 3 mL de agua destilada. La mezcla se agitó y posteriormente se filtró. El sobrenadante se mezcló con una disolución de HCL al 2% y se calentó a 100°C. La presencia de flobataninos se determinó por la formación de un precipitado rojo.

Prueba para esteroides: se mezclaron 100 mg de cada extracto con 3 mL de CHCl₃ y luego se agitó la mezcla. Posteriormente se adicionaron 2 mL de H₂SO₄ concentrado cuidadosamente por los lados del tubo de ensayo. La formación de un color rojo en la capa superior y una coloración verde fluorescente en la capa de H₂SO₄ indicó la presencia de esteroides en el extracto.

Prueba para cumarinas: se mezclaron 100 mg de cada extracto con 3 mL de agua destilada. La mezcla se agitó y posteriormente se filtró. Se adicionó 1 mL de NaOH al 10% a un mililitro del filtrado. La formación de una coloración amarilla indicó la presencia de cumarinas en la muestra.

El contenido de los metabolitos se determinó de manera cualitativa a través del sistema no paramétrico de cruces (MINSAP, 1997):

Contenido: (+++ = abundante, ++ = moderado, + = bajo, - = ausencia).

3.3.2. Contenido de carbohidratos solubles totales

El contenido de carbohidratos en las muestras se determinó colorimétricamente mediante el método del fenol-sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956),

con el uso de la D-glucosa como azúcar patrón. Las muestras fueron leídas a una absorbancia de 490 nm y las concentraciones expresadas en $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ a partir de la curva patrón.

3.3.3. Contenido de azúcares reductores

El contenido de azúcares reductores se determinó por el método del ácido dinitrosalisílico y se empleó la D-glucosa (Sigma) como azúcar patrón (Miller, 1959). La absorbancia se midió a una longitud de onda de 456 nm.

3.3.4. Contenido de proteínas solubles totales

El contenido proteico se determinó colorimétricamente mediante el método descrito por Lowry *et al.* (1951), con el uso de albúmina de suero bovino (BSA) como patrón. Los valores de absorbancia se obtuvieron a 750 nm y las concentraciones ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) se determinaron mediante la curva patrón.

3.3.5. Contenido de fenoles totales

La extracción de los fenoles solubles se realizó en 10 volúmenes de metanol. Las muestras fueron homogenizadas y centrifugadas a 10 000 rpm. El precipitado se resuspendió en $\text{NaOH } 2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ para la extracción de los fenoles ligados a las paredes celulares, neutralizándose en igual volumen de $\text{HCl } 2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (Gurr *et al.*, 1992). Para determinar la concentración de fenoles se utilizó el ácido clorogénico ($0,05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) como patrón y los valores de absorbancia fueron leídos a 725 nm. A partir de los valores obtenidos de concentración de fenoles solubles y ligados a pared se calcularon las concentraciones de fenoles totales.

3.4. Ensayo de actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos se evaluó frente a la bacteria Gram positiva: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y las bacterias Gram negativa *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus* sp. y *Klebsiella pneumoniae*. El ensayo se realizó con el uso del método de difusión en pocillos (Pérez *et al.*, 1990).

Las cepas bacterianas fueron rejuvenecidas previamente sobre medio Agar Cerebro de Corazón a 37°C. Se inoculó el medio Agar Mueller- Hinton con células de turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de Mc Farland con el uso de un hisopo estéril. Los pocillos fueron realizados con la ayuda de un horador estéril de 8 mm de diámetro y se les adicionaron 100 µL (200 mg.mL⁻¹) de cada extracto. Las placas fueron incubadas toda la noche a 37°C.

Se empleó como control negativo la disolución hidroalcohólica y como controles positivos los antibióticos Amikacina (30 µg) para las bacterias Gram negativas y Cefalexina (30 µg) para la cepa Gram positiva de *S. aureus*. La actividad antibacteriana se obtuvo a partir del diámetro de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano. Se realizaron tres réplicas por cada experimento (Parekh y Chanda, 2006).

3.5. Diseño experimental y análisis estadístico

La determinación cualitativa de los metabolitos secundarios se realizó por triplicado. Las lecturas de absorbancia para las cuantificaciones de carbohidratos totales, azúcares reductores, proteínas solubles totales y compuestos polifenólicos también se realizaron por triplicado.

Los datos fueron procesados con el paquete estadístico Statgraphic plus 5.1 sobre Windows. Se determinó el ajuste a una Distribución Normal mediante la prueba de Bondad de Ajuste Kolmogorov-Smirnov y la Homogeneidad de Varianza mediante las Pruebas de Bartlett (Sigarroa, 1985). En los casos en que los datos cumplieron los requisitos exigidos se procesaron mediante ANOVA de clasificación simple y para la comparación de medias se utilizó la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan. Para los datos que no cumplieron con estas premisas se realizó la Prueba de Kruskal-Wallis y la Prueba de Rangos Múltiples de Student-Newman-Kwels (SNK) para la comparación de medias entre tratamientos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Nivel de conocimiento sobre las especies segetales en habitantes del poblado de coliseo

El análisis de las entrevistas realizadas a los pobladores de Coliseo, evidenció que las especies segetales de mayor conocimiento general son: el romerillo, la lechosa, el cundeamor, la escoba amarga y la verdolaga (Figura 9). Estas plantas fueron reconocidas por todos los grupos etarios, mientras que especies como el cardosanto, el anamú y el bledo blanco fueron reconocidas también por los diferentes grupos pero en menor porcentaje. En el caso de la celestina, el clavel chino, el mastuerzo y la verbena, solamente los grupos de mayor edad manifestaron conocerlas.

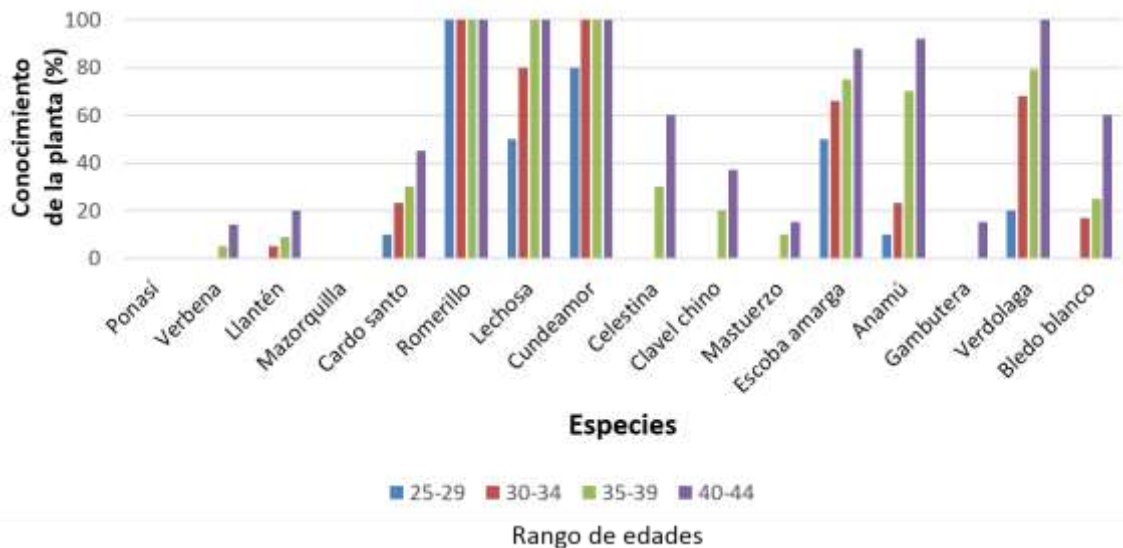


Figura 9. Porcentaje de individuos (en grupos) que manifestaron conocer diferentes especies segetales.

El análisis del conocimiento relativo a los distintos usos que tienen estas especies, mostró que solo en los casos del romerillo y la hierba lechosa los entrevistados sabían algunos usos generales más importantes (Figura 10). En el resto de las especies vegetales o no conocían sus utilidades o muy pocos manifestaron conocer algunas propiedades de plantas como por ejemplo el anamú, el mastuerzo y el llantén.

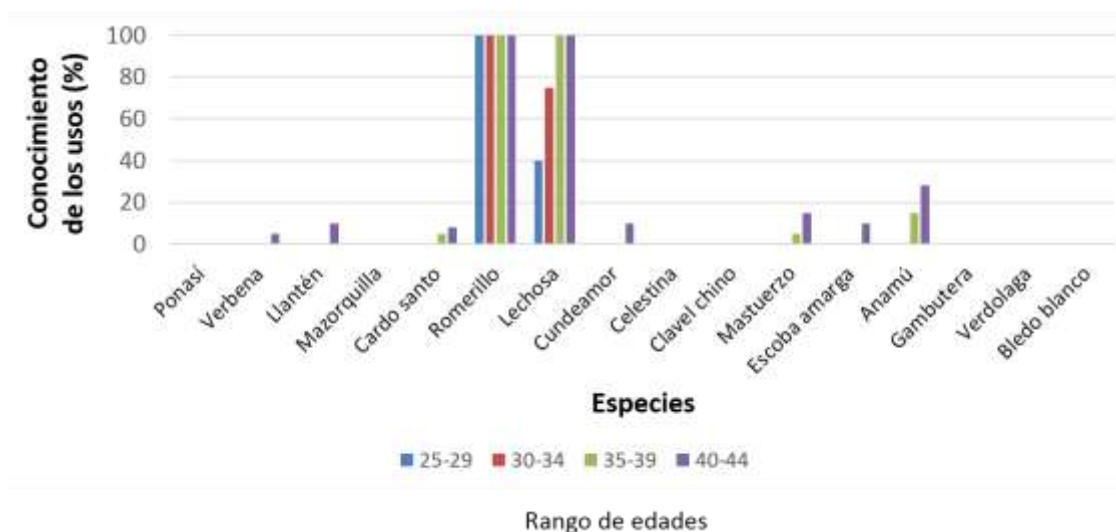


Figura 10. Porcentaje de individuos (en grupos) que manifestaron conocer los usos generales de las especies segetales.

4.2. Caracterización fitoquímica

4.2.1. Evaluación cualitativa de metabolitos secundarios

La evaluación cualitativa de flavonoides, terpenos y antocianinas en extractos acuosos y etanólicos de *B. brownei* Juss., *E. heterophylla* L., *B. pilosa* L., *A. conyzoides* L. y *M. charantia* L., se observan en la Tabla 5. Los metabolitos mejores representados fueron los terpenos, seguidos de los flavonoides. En el caso de las antocianinas solo se detectaron en el extracto etanólico de *B. brownei* Juss. y en bajos contenidos. Los terpenos se observaron en mayores proporciones en los extractos de romerillo, celestina y cundeamor; mientras que la presencia de los compuestos flavonoides fue similar en todas las especies, a excepción del cundeamor y el romerillo donde se observó una mayor representación. En el caso de estos últimos compuestos, el etanol resultó ser un mejor solvente que el agua, lo cual puede estar asociado con la polaridad diferentes que existe entre ambos líquidos.

Los resultados obtenidos en la presente investigación están en correspondencia con otros autores quienes refirieron la presencia de compuestos flavonoides y terpenos en *B. pilosa* L. (Arthur *et al.*, 2012; Cortés-Rojas *et al.*, 2013; da Silva *et al.*, 2014; Yi *et al.*, 2016), en *M. charantia* L.

(Prarthna *et al.*, 2014; Cervantes *et al.*, 2017) y en *A. conyzoides* L. (Nour *et al.*, 2010; Bosi *et al.*, 2013).

Tabla 5. Evaluación cualitativa de flavonoides, terpenos y antocianinas, en extractos acuosos y etanólicos de hojas de *B. brownei* Juss., *E. heterophylla* L., *B. pilosa* L., *A. conyzoides* L. y *M. charantia* L.

Especies / extractos	Metabolitos		
	Flavonoides	Terpenos	Antocianinas
<i>B. brownei</i> Juss.			
Acuoso	+	++	-
Etanólico	++	++	+
<i>E. heterophylla</i> L.			
Acuoso	+	++	-
Etanólico	++	++	-
<i>B. pilosa</i> L.			
Acuoso	++	+++	-
Etanólico	+++	++	-
<i>A. Conyzoides</i> L.			
Acuoso	+	+++	-
Etanólico	+	+++	-
<i>M. charantia</i> L.			
Acuoso	++	+++	-
Etanólico	+++	+++	-

Contenido: +++ = abundante, ++ = moderados, + = bajo, - = ausencia

La presencia de compuestos flavonoides y terpenos en varios órganos de la planta, debe estar relacionado con la funciones biológicas importantes que poseen los mismos para la planta (Mohammed y Abbas, 2016).

La presencia de flavonoides en hojas de *B. pilosa* L., sugiere un uso potencial de los extractos de esta especie en patologías humanas y animales asociadas con el estrés oxidativo, como el cáncer y procesos inflamatorios, ya que estos compuestos mostraron una fuerte actividad antioxidante (Usunomena y Paulinus, 2016; Yi *et al.*, 2016). Esta propiedad se debe a la capacidad de estos compuestos de reducir las especies reactivas del oxígeno, mediante la donación de electrones o la transferencia de átomos de hidrógeno (Nazhad *et al.*, 2014).

Los flavonoides también inhiben la síntesis de prostaglandinas, por lo cual estas sustancias pueden tener un potencial elevado como agentes antiinflamatorios (Alcaraz y Ferrandiz, 1987; Serafini *et al.*, 2010).

En la Tabla 6 se observan los resultados de tamizaje fitoquímico para los metabolitos esteroides, saponinas y taninos, en las diferentes especies evaluadas. Las saponinas y los esteroides se observaron en todas las especies a excepción de *A. conyzoides* L., donde no se detectó la presencia de esteroides. Estas sustancias solamente estuvieron presentes en los extractos etanólicos y en niveles bajos. Los taninos, por el contrario, se observaron en ambos extractos y en todas las especies, a excepción de *B. brownei* Juss. donde no se detectaron en el extracto acuoso de hojas.

Tabla 6. Evaluación cualitativa de esteroides, saponinas y taninos en extractos acuosos y etanólicos de hojas de especies segetales.

Especie / extractos	Metabolitos		
	Saponinas	Taninos	Esteroides
<i>B. brownei</i> Juss.			
Acuoso	-	-	-
Etanólico	+	+	+
<i>E. heterophylla</i> L.			
Acuoso	-	+	-
Etanólico	++	+	+
<i>B. pilosa</i> L.			
Acuoso	-	+	-
Etanólico	+	+	+
<i>A. Conyzoides</i> L.			
Acuoso	-	+	-
Etanólico	+	+	-
<i>M. charantia</i> L.			
Acuoso	-	+	-
Etanólico	+	+	+

Contenido: +++ = abundante, ++ = moderados, + = bajo, - = ausencia

Los resultados obtenidos coinciden con otros estudios fitoquímicos similares con las especies evaluadas. La presencia de saponinas y taninos fue referida en extractos de *B. pilosa* L. (da Silva *et al.* 2014), *E. heterophylla* L. (Fred-Jaiyesimi

y Abo, 2010) y *M. charantia* L. (Prarthna *et al.*, 2014; Cervantes *et al.*, 2017); mientras que en *A. conyzoides* L. se detectó la presencia de taninos y esteroides (Bosi *et al.*, 2013).

La presencia de taninos y saponinas en estos extractos puede indicar un uso potencial de estas especies en el tratamiento de trastornos intestinales como la diarrea y la disentería, debido a las propiedades que tienen estos compuestos de eliminar las cepas bacterianas patógenas (Bajai, 2001).

La evaluación cualitativa de cumarinas, glucósidos cardiotónicos, antraquinonas y flobataninos, en los extractos acuosos y etanólicos de las plantas estudiadas, mostró solamente la presencia de cumarinas y glucósidos cardiotónicos en todas las especies a excepción de *B. pilosa* L., donde no se detectaron estos últimos compuestos (Tabla 7).

Tabla 7. Evaluación cualitativa de cumarinas, glucósidos cardiotónicos, antraquinonas y flobataninos en extractos acuosos y etanólicos de hojas de especies segetales.

Especie / extractos	Metabolitos			
	Cumarinas	Glucósidos cardiotónicos	Antraquinonas	Flobataninos
<i>B. brownei</i> Juss.				
Acuoso	+	+	-	-
Etanólico	-	+	-	-
<i>E. heterophylla</i> L.				
Acuoso	++	++	-	-
Etanólico	++	++	-	-
<i>B. pilosa</i> L.				
Acuoso	+	-	-	-
Etanólico	-	-	-	-
<i>A. Conyzoides</i> L.				
Acuoso	+	+	-	-
Etanólico	-	++	-	-
<i>M. charantia</i> L.				
Acuoso	++	++	-	-
Etanólico	+	+++	-	-

Contenido: +++ = abundante, ++ = moderados, + = bajo, - = ausencia

Los mayores contenidos de cumarinas y glucósidos cardiotónicos se obtuvieron en *E. heterophylla* L. y *M. charantia* L. Por otra parte, no se detectaron contenidos apreciables de antraquinonas ni flobataninos en ninguno de los extractos analizados.

En concordancia con los resultados obtenidos en la presente investigación, Cervantes *et al.* (2017) refirieron la presencia de cumarinas y glucósidos cardiotónicos en extractos etanólicos de *M. charantia* L. De manera similar, Fred-Jaiyesimi y Abo (2010) detectaron glucósidos cardiotónicos en *E. heterophylla* L., mientras que no observaron antraquinonas. da Silva *et al.* (2014) tampoco refirieron la presencia de antraquinonas en extractos etanólicos de *B. pilosa* L.

En trabajos de caracterización fitoquímica con *M. charantia* L. también se observó la presencia de cumarinas y glucósidos cardiotónicos y no se refirió la presencia de flobataninos. Por el contrario, estos autores detectaron antraquinonas en los extractos de esta especie, lo cual pudiera estar relacionado con factores importantes como la interacción genotipo-ambiente, el estadio fisiológico de la planta, el momento de la cosecha y la técnica utilizada para la extracción y detección de dichos compuestos, entre otros (Cervantes *et al.*, 2017).

Las cumarinas detectadas en el extracto etanólico de hojas *M. charantia* L. y *E. heterophylla* L., pueden tener valor farmacológicos, ya que la naturaleza fenólica de estas sustancias le confieren propiedades antibacterianas contra patógenos Gram positivos y Gram negativos (Basile *et al.*, 2009).

4.2.2. Contenido de metabolitos primarios

4.2.2.1. Carbohidratos solubles totales y azúcares reductores

La Figura 11 muestra el contenido de carbohidratos solubles totales en extractos acuosos y etanólicos de especies segetales seleccionadas. En la misma se observa una mayor concentración de carbohidratos totales en el extracto acuoso de *E. heterophylla* L. (22,99 mg.mL⁻¹), seguido de los extractos

acuosos de *B. pilosa* L. (13,75 mg.mL⁻¹), *B. brownie* Juss. (13,30 mg.mL⁻¹) y el extracto etanólico de *M. charantia* L. (13,04 mg.mL⁻¹).

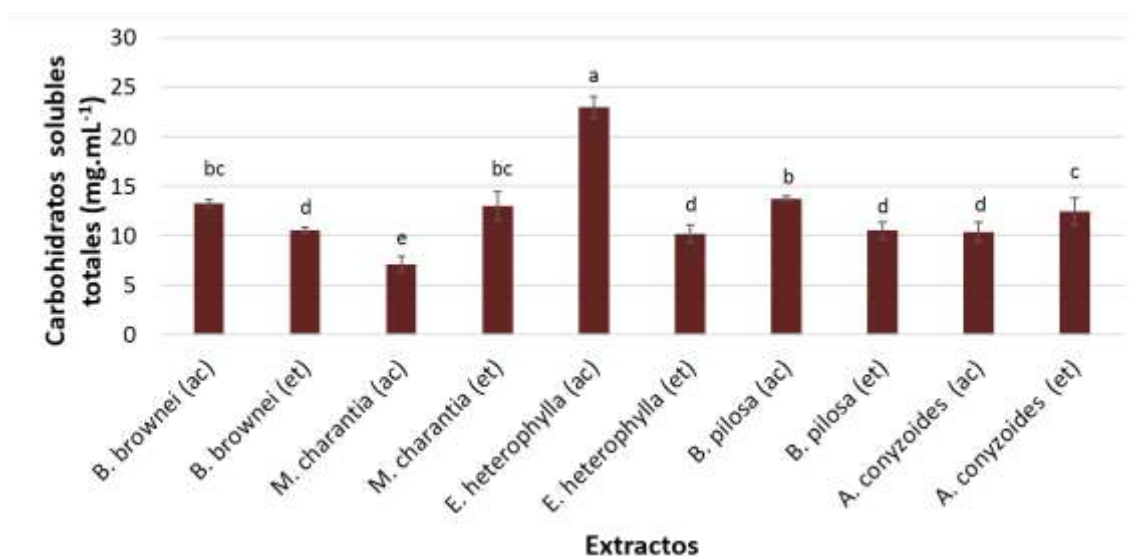


Figura 11. Contenido de carbohidratos solubles totales en extractos acuosos y etanólicos de hojas de especies segetales. Letras diferentes indican diferencias significativas entre extractos según Prueba Kruskal-Wallis ($P \leq 0,05$).

Los resultados coinciden con algunos estudios realizados por varios investigadores quienes observaron la presencia de carbohidratos en extractos de *E. heterophylla* L. (Keerthana *et al.*, 2014) y *M. charantia* L. (Vijayanand y Sanjana, 2017).

El contenido de azúcares reductores en los distintos extractos evaluados se muestra en la Figura 12. Los mayores valores fueron observados en el extracto acuoso de *E. heterophylla* L. (12,45 mg.mL⁻¹) y etanólico de *M. charantia* L. (8,08 mg.mL⁻¹). En el resto de los extractos los valores fueron similares.

Los azúcares son compuestos energéticos esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Sin embargo, también son esenciales en la síntesis de numerosos compuestos antioxidantes, los cuales protegen a las plantas de las especies reactivas del oxígeno que se producen durante la respiración aerobia. Por lo tanto, los azúcares constituyen el punto de partida para la producción de sustancias detoxificadoras, las cuales son responsables de la actividad biológica

y el uso de muchas plantas con fines farmacológicos, alimenticios y agronómicos (Asada, 1999; Tesfay *et al.*, 2010).

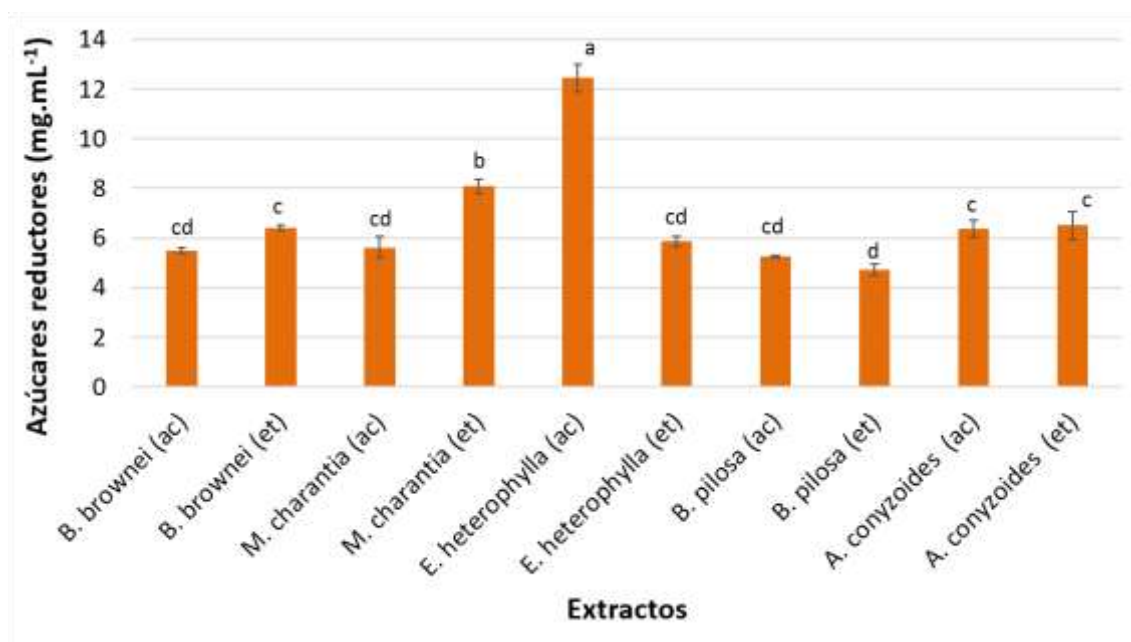


Figura 12. Contenido de azúcares reductores en extractos acuosos y etanólicos de hojas de especies segetales. Letras diferentes indican diferencias significativas entre extractos según Prueba Kruskal-Wallis ($P \leq 0,05$).

Los azúcares simples como la glucosa son los iniciadores primarios de la síntesis de compuestos antioxidantes como los carotenoides y el ácido ascórbico (Tsfay *et al.*, 2010). De acuerdo con estos últimos autores, la glucosa también produce esqueletos carbonados para la síntesis de aminoácidos como la cisteína, la glicina y el glutamato, los cuales constituyen la base para la formación del compuesto antioxidante glutatión.

La presencia elevada de carbohidratos y azúcares reductores en el extracto acuosos de *E. heterophylla* L. puede ser un resultado importante, ya que esta planta se utiliza en la alimentación del conejo, por lo que constituye una vía para incorporar alimentos ricos en compuestos energéticos.

La cuantificación de azúcares reductores en los extractos estudiados también es importante, ya que estas sustancias interfieren en la extracción de saponinas, las cuales son de gran interés comercial para la industria farmacéutica (Guerra *et al.*, 2001).

4.2.2.2. Contenido de proteínas solubles totales

El contenido de proteínas solubles totales se muestra en la Figura 13. Los mayores valores correspondieron al extractos acuoso de *E. heterophylla* L. (20,16 mg.mL⁻¹), seguido del extracto acuoso de *M. charantia* L. (15,76 mg.mL⁻¹), el extracto acuoso de *A. conyzoides* L. (9,84 mg.mL⁻¹) y el extracto etanólico de *E. heterophylla* L. (9,66 mg.mL⁻¹).

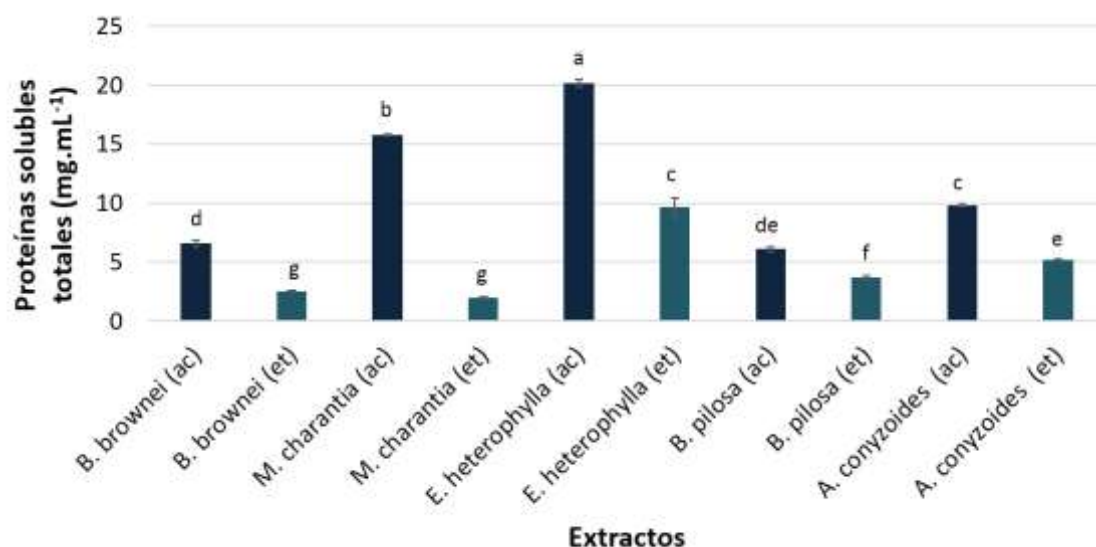


Figura 13. Contenido de proteínas solubles totales en extractos acuosos y etanólicos de hojas de especies segetales. Letras diferentes indican diferencias significativas entre extractos según Prueba Kruskal-Wallis ($P \leq 0,05$).

En estudios sobre caracterización fitoquímica de metabolitos primarios en *E. heterophylla* L., se observó la presencia de proteínas solubles en valores aproximados de 7 mg.g⁻¹ (Keerthana *et al.*, 2014). Las concentraciones altas de proteínas solubles totales en el extracto acuoso de *E. heterophylla* L., puede contribuir a la nutrición de animales como el conejo y otros relacionados. De manera general, los valores obtenidos para carbohidratos solubles totales, azúcares reductores y proteínas solubles totales, además de contribuir a la caracterización bioquímica de estas especies; son de gran importancia, ya que plantas como *B. pilosa* L. son ingeridas en forma de jugos o de infusión en Cuba y en otros países, para el tratamiento de diferentes patologías (Cano y Volpato, 2004; Hsu *et al.*, 2009; Dharmananda, S. 2013).

4.3. Contenido de polifenoles totales

La Figura 14 muestra el contenido de polifenoles totales en las distintas especies estudiadas. Los valores más elevados se observaron en *B. pilosa* L. (35,32 mg.g⁻¹) y *E. heterophylla* L. (33,44 mg.g⁻¹).

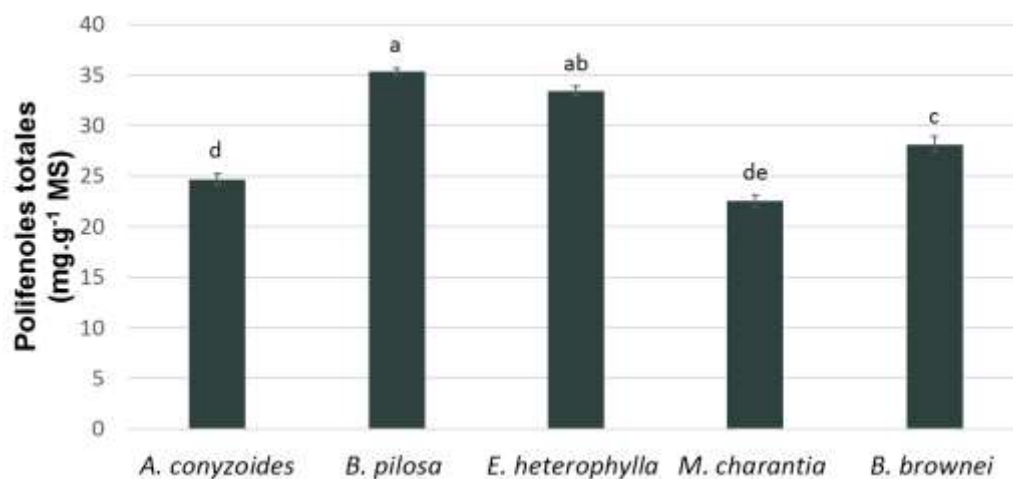


Figura 14. Contenidos de polifenoles totales de hojas de *B. brownei* Juss., *E. heterophylla* L., *B. pilosa* L., *A. conyzoides* L. y *M. charantia* L. Letras diferentes indican diferencias significativas entre extractos según Prueba de Rangos Múltiples de Tukey ($P < 0,05$).

Los resultados están en correspondencia con los obtenidos por Singh *et al.* (2017) quienes determinaron en hojas de *B. pilosa* L., concentraciones elevadas de compuestos polifenólicos (72 mg.g⁻¹) de equivalentes de ácido gálico. De manera similar, Mohamed *et al.* (2014) refirieron contenidos de polifenoles en hojas y raíces de esta especie de 52,67 mg.g⁻¹ y 15,56 mg.g⁻¹, respectivamente.

En trabajos relacionados, Mesa-Vanegas *et al.* (2015) observaron contenidos notables de polifenoles en extractos etanólicos y metanólicos de hojas de *A. conyzoides* L., con valores similares a los obtenidos en la presente investigación de 24,79 mg.g⁻¹ y 24,93 mg.g⁻¹, respectivamente. Nasrin (2013) refirió en esta especie valores de polifenoles totales en extractos metanólicos de tallos de 38,125 mg.g⁻¹ equivalentes de ácido gálico. Keerthana *et al.* (2014) determinaron la concentración de polifenoles totales en *E. heterophylla* L. y refirieron valores de 8,24 mg.g⁻¹. En estudios similares realizados con *M.*

charantia L. también se obtuvieron valores notables de compuestos polifenólicos (14,28 mg.g⁻¹) equivalentes de ácido gálico (Chahar y Sharma, 2017).

Los contenidos notables de polifenoles en las hojas de especies evaluadas, sugieren un uso potencial de las mismas en el tratamiento de patologías asociadas al estrés oxidativo en humanos y animales, ya que estos compuestos mostraron una fuerte correlación con la actividad antioxidante (Cortés-Rojas *et al.*, 2013; Keerthana *et al.*, 2014; Mesa-Vanegas *et al.*, 2015; Singh *et al.*, 2017).

Los compuestos polifenólicos tienen funciones importantes en la reducción de las especies reactivas del oxígeno (Chahar y Sharma, 2017). Estos radicales atacan y modifican un rango amplio de macromoléculas que tienen funciones vitales a nivel celular como las enzimas, los ácidos nucleicos (ácido desoxirribonucleico y ácido ribonucleico) y los lípidos de membranas. Esto provoca cambios en las propiedades biológicas de estos compuestos y un mal funcionamiento a nivel celular, lo cual puede iniciar o exacerbar el desarrollo de patologías humanas como el cáncer, las enfermedades neurodegenerativas, los procesos inflamatorios, las enfermedades cardiovasculares y el envejecimiento, entre otros (Ikpeme *et al.*, 2014; Mohammed y Abbas, 2016).

Las naturaleza antioxidante de los compuestos fenólicos también sugiere un uso potencial de *B. pilosa* L., como fuente de sustancias útiles como aditivo en productos de industrias alimentarias (Goudoum *et al.*, 2016; Falowo *et al.*, 2017). Las propiedades reductoras de los fenoles permiten inhibir la formación de radicales libres y/o interrumpir los procesos de autoxidación que ocurren en las carnes almacenadas (Falowo *et al.*, 2014). Estos compuestos también pueden actuar como preservante de los alimentos ya que pueden degradar la membrana citoplasmática de los microorganismos que afectan la calidad de las carnes (Kim *et al.*, 2013; Radha-Krishnan *et al.*, 2014).

4.4. Actividad antibacteriana de los extractos etanólicos

La actividad antibacteriana del extracto etanólico se evaluó frente a bacterias Gram positiva y Gram negativa (Tabla 8). De manera general, los mejores resultados se obtuvieron frente a *Proteus* sp. y *Staphylococcus aureus*. En el caso de *E. coli* solo se observó una actividad baja en los extractos de *H.*

heterophylla L. y *B. brownie* Juss.; mientras que frente a *Klebsiella* sp. no hubo actividad antibacteriana.

Tabla 8. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de hojas diferentes especies segetales frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus* sp. y *Klebsiella* sp.

Controles / Extractos	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	DZI (mm)	± EE	DZI (mm)	± EE
Cefalexina (Gram +)	23,10 ^a	0,58	-	-
Amikacina (Gram -)	-	-	13,4 ^a	0,87
Disolución hidroalcohólica	1,00 ^d	0,33	0,00	0,00
<i>Blechum brownei</i> Juss.	9,67 ^{bc}	0,33	2,67 ^b	0,57
<i>Momordica charantia</i> L.	10,33 ^{bc}	0,57	0,00	0,00
<i>Euphorbia heterophylla</i> L.	11,33 ^b	0,88	4,00 ^b	0,33
<i>Bidens pilosa</i> L.	8,66 ^c	0,33	0,00	0,00
<i>Ageratum conyzoides</i> L.	8,30 ^c	0,66	0,00	0,00

Controles / Extractos	<i>Proteus</i> sp.		<i>Klebsiella</i> sp.	
	DZI (mm)	± EE	DZI (mm)	± EE
Cefalexina (Gram +)	-	-	-	-
Amikacina (Gram -)	14,67 ^a	1,45	13,12	0,57
Disolución hidroalcohólica	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Blechum brownei</i> Juss.	9,33 ^{cd}	1,05	0,00	0,00
<i>Momordica charantia</i> L.	7,67 ^d	1,80	0,00	0,00
<i>Euphorbia heterophylla</i> L.	6,00 ^e	1,73	0,00	0,00
<i>Bidens pilosa</i> L.	12,00 ^{abc}	1,15	0,00	0,00
<i>Ageratum conyzoides</i> L.	14,33 ^{ab}	1,20	1,00	0,33

DZI: diámetro de la zona de inhibición. Los datos representan medias de tres réplicas. Letras diferentes indican diferencia significativa según Prueba de Rangos Múltiples de Duncan ($P \leq 0,05$).

La actividad antibacteriana frente a la bacteria Gram positiva *S. aureus* evidenció una mayor inhibición con el antibiótico Cefalexina, el cual se utilizó como control positivo. Entre los extractos, los mejores resultados se obtuvieron con *E. heterophylla* L., *M. charantia* L. y *B. brownie* Juss. En el caso de la actividad frente a la bacteria Gram negativa *Proteus* sp., los resultados fueron superiores a los observados contra *S. aureus*; ya que el control positivo

(Amikacina) mostró valores similares de halos de inhibición en comparación con los extractos etanólicos de *E. heterophylla* L., *M. charantia* L. y *B. brownei* Juss. El valor más bajo de actividad antibacteriana se obtuvo con el extracto de *E. heterophylla* L. (Figura 15).

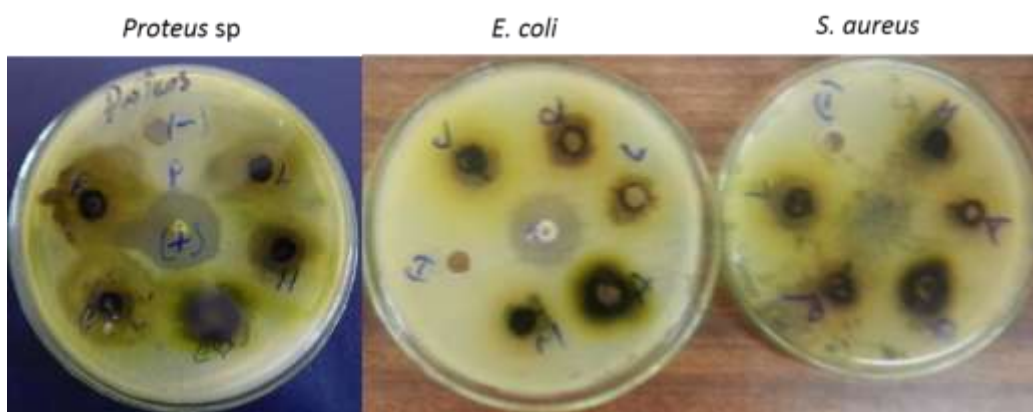


Figura 15. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de hojas de *Bidens pilosa* L., *Euphorbia heterophylla* L., *Momordica charantia* L., *Ageratum conyzoides* L. y *Blechum brownei* Juss. frente a *E. coli*, *S. aureus* y *Proteus* sp.

Los resultados obtenidos coinciden con los referidos por otros autores. Singh et al. (2017) observaron una actividad antibacteriana notable de extractos de *B. pilosa* L. contra *S. aureus* y *E. coli*, con valores de inhibición superiores para la cepa Gram negativa. Lawal et al. (2015) refirieron un efecto similar contra *S. aureus*, *E. coli* y otras bacterias Gram negativas como *Salmonella typhi*, *Salmonella orizonae* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Ezeonwumelu et al. (2017) refirieron también actividades antibacterianas de extractos de hojas de *A. conyzoides* L. contra diferentes cepas como *S. aureus*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus cereus*, entre otras. Contrario a los resultados obtenidos en la presente investigación, estos autores observaron un efecto inhibitorio contra *Klebsiella* sp.

En estudios similares se observó un efecto inhibitorio de extractos de *E. heterophylla* L. contra *Proteus mirabilis* y *E. coli* (Fred-Jaiyesimi y Abo, 2010). Sin embargo, estos autores refirieron también una actividad antibacteriana contra *Klebsiella pneumoniae* que no fue observada en el presente estudio; pero contrariamente, no obtuvieron resultados frente a *Staphylococcus aureus*. Esto

puede estar relacionado con diferencias genéticas y morfofisiológicas de las cepas utilizadas, así como en la composición fitoquímica de los extractos.

Cervantes *et al.* (2017) también coinciden con los resultados de la presente investigación. Estos autores obtuvieron actividades antibacterianas potentes con extractos etanólicos de *M. charantia* L. frente a *S. aureus* y no observaron un efecto inhibitorio frente a *E. coli*. Por el contrario, refirieron una actividad inhibitoria frente a *K. pneumoniae*. De igual forma, Azuero *et al.* (2016) describieron propiedades antibacterianas de extractos etanólicos de hojas de *M. charantia* L. frente a *S. aureus* y *E. coli*, con un mayor efecto inhibitorio frente a esta última. Estudios relacionados demostraron que otros órganos como las semillas de esta planta tienen actividad antibacteriana frente a *S. aureus*, *E. coli* y *S. typhi* (Jabeen y Khanum, 2017).

Los mecanismos que justifican la actividad antibacteriana están relacionados con la presencia de los diferentes tipos de metabolitos detectados en los extractos analizados. Estos mecanismos incluyen cambios en las propiedades físico-químicas de la membrana celular y la interferencia con procesos metabólicos esenciales en los microorganismos patógenos (Surh, 2003). Entre los metabolitos secundarios que pudieran estar relacionados con la actividad antibacteriana están los taninos, los flavonoides, las saponinas y los terpenos (Scalbert, 1991; Cowan, 1999; da Silva *et al.*, 2014; Lawal *et al.*, 2015).

Las saponinas debido a su naturaleza surfactante, pueden interactuar con las membranas biológicas (membrana citoplasmática) y alterar la solubilidad y semi-permeabilidad de la misma, lo que provoca la salida de componentes celulares (Zwane *et al.*, 2011). Los flavonoides pueden afectar el crecimiento microbiano por inhibición de la biosíntesis de ácidos nucleicos y otros procesos metabólicos; mientras que las sustancias de naturaleza terpenoide pueden interferir con la síntesis de los componentes de las membranas biológicas (Nayak *et al.*, 2010).

Los taninos y los compuestos fenólicos pueden inhibir el crecimiento bacteriano, debido a la capacidad que tienen estas sustancias de formar complejos con proteínas solubles extracelulares y con la pared celular de las

bacterias, lo que provoca la muerte de los microorganismos (Cowan, 1999). Los taninos también pueden disminuir la actividad de enzimas bacterianas, mediante la quelatación de iones imprescindibles para la función catalítica de estas proteínas (Ojezele *et al.*, 2016).

Los resultados obtenidos indican un uso potencial del extracto etanólico de hojas de *B. brownei* Juss., *E. heterophylla* L., *B. pilosa* L., *A. conyzoides* L. y *M. charantia* L. para el tratamiento de enfermedades infecciosas de la piel provocadas por *S. aureus* (Collier, 1998). La actividad antibacteriana de los extractos analizados, unido al contenido de compuestos antioxidantes como los polifenólicos y en particular los flavonoides; también indican las potencialidades de estas especies para el tratamiento de patologías asociadas al estrés oxidativo, como los procesos inflamatorios en humanos y animales (Gasque, 2015). En el caso particular de *B. brownei* Juss., los resultados obtenidos en la presente investigación constituyen los primeros de su tipo, a partir del estudio bibliográfico realizado en idioma inglés y español.

Las propiedades químicas y biológicas de los extractos estudiados corroboran algunos de los usos etnobotánicos que tienen las especies segetales investigadas. La actividad antibacteriana observada de los extractos de *Bidens pilosa* L., *A. conyzoides* L. y *E. heterophylla* L., pueden justificar los usos tradicionales de estas plantas en procesos infecciosos bacterianos. De manera similar, las propiedades antiparasitarias atribuidas a *B. brownei* Juss., *A. conyzoides* L. y *M. charantia* L., pueden estar relacionadas con la presencia de taninos y saponinas en los extractos, los cuales pueden afectar la actividad de las proteínas y afectar las membranas biológicas.

Los usos tradicionales de *B. pilosa* L. y *A. conyzoides* L. en procesos inflamatorios y para el saneamiento de heridas, puede estar en relación con las propiedades antioxidantes de estas plantas, debido a la presencia de compuestos polifenólicos y flavonoides que detoxifican los tejidos dañados de las especies reactivas del oxígeno. En el caso particular de *B. pilosa* L., estos resultados son importantes ya que en estudios de toxicidad realizados a esta especie, no se reportaron efectos adversos en concentraciones de hasta 1 g/kg

de peso corporal en ratones, lo cual indica su empleo de manera segura aún en cantidades elevadas (Muñoz, 2014).

4.5. Valoración económica-ambiental del uso de los extractos de las especies segetales

Numerosos investigadores estudian el empleo de nuevas plantas como fuente de metabolitos secundarios para el desarrollo de las industrias farmacológica, médica, alimentaria y del sector agropecuario. Las especies segetales constituyen plantas que usualmente son desechadas por los agricultores en los campos de siembra, ya que compiten con los cultivos tradicionales.

El uso potencial de esta biomasa para la obtención de principios bioactivos de usos en la agricultura y en la medicina, puede conducir al desarrollo de nuevas formulaciones que permitan el tratamiento de numerosas enfermedades infecciosas que afectan a la población humana y a los animales tanto afectivos como de interés zotécnico. El uso alternativo de productos botánicos con actividad antibacteriana pudiera ser una vía para enfrentar el fenómeno de la resistencia a antibióticos y una forma de reducir los costos de producción. Además, es importante tener en cuenta que estas plantas no tienen un uso específico, por lo cual no compiten con otros destinos como la alimentación.

En el sector agropecuario estas formulaciones pudieran contribuir a disminuir problemáticas vigentes como la mastitis en el ganado, cuyo origen es multicausal y está asociada a procesos infecciosos e inflamatorios en el animal y conllevan a una pérdida en la calidad y el precio de la leche (Cariddi, 2013).

Los productos botánicos con propiedades medicinales constituyen una alternativa para el control de la mastitis y otras patologías relacionadas con el estrés oxidativo como los procesos inflamatorios; además son de fácil acceso y los costos de producción son bajos. No obstante, para la aplicación de estos nuevos medicamentos se requieren de otros estudios *in vivo* que determinen la efectividad en estas condiciones; así como trabajos de toxicidad para determinar la seguridad de los mismos en determinadas dosis.

5. CONCLUSIONES

- ✓ Se observó la presencia de flavonoides, terpenos, taninos, cumarinas, saponinas y glucósidos cardiotónicos en los extractos acuosos y etanólicos de hojas de *Bidens pilosa* L., *Euphorbia heterophylla* L., *Momordica charantia* L., *Ageratum conyzoides* L. y *Blechum brownei* Juss., los cuales son de interés en las industrias médico-farmacéutica y agropecuaria.
- ✓ Las especies *Bidens pilosa* L. y *Euphorbia heterophylla* L. mostraron los valores más altos de polifenoles totales. Las propiedades antioxidantes demostrada de estos compuestos, sugiere un uso potencial de estas plantas para el tratamiento de patologías relacionadas con el estrés oxidativo en humanos y animales.
- ✓ Los extractos etanólicos mostraron actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* y *Proteus* sp. Los mejores resultados se obtuvieron con los extractos de *Ageratum conyzoides* L., *Bidens pilosa* L. y *Blechum brownei* Juss. cuyos valores de inhibición fueron similares al control positivo.
- ✓ Los resultados de las pruebas fitoquímicas y microbiológicas realizadas, corroboran algunos de los usos tradicionales que tienen estas especies en infecciones provocadas por bacterias y parásitos; así como en el tratamiento de procesos inflamatorios y en el saneamiento de heridas.

6. RECOMENDACIONES

- ✓ Realizar estudios de toxicidad con extractos de hojas de las especies que mostraron los mejores resultados con relación a la actividad antibacteriana.
- ✓ Evaluar las potenciales de los extractos de *Bidens pilosa* L., *Euphorbia heterophylla* L., *Momordica charantia* L., *Ageratum conyzoides* L. y *Blechum brownei* Juss. frente a bacterias asociadas a mastitis en condiciones *in vitro* e *in vivo*.
- ✓ Determinar la actividad fungicida y antibacteriana frente a patógenos de cultivos vegetales.
- ✓ Ampliar el estudio hacia otras especies segetales y ruderales con potencialidades antioxidante y antimicrobiana.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adamczyk, B., Kitunen, V. y Smolander, A. 2013. Response of soil C and N transformations to condensed tannins and different organic N condensed tannin complexes. *Appl. Soil Ecol.* 64:163-170.
- Adetutu, A., Morgan, W.A., Corcoran, O. y Chimezie, F. 2012. Antibacterial activity and in vitro cytotoxicity of extracts and fractions of *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth. stem bark and *Ageratum conyzoides* Linn. leaves. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 34: 478–483.
- Albuquerque, A.C.M., Melo-Neto, B., Santana, L.C.L.R., Medeiros, M.G.F. y Citó, A.M.G.L. 2012. Bioactivity evaluation against *Artemia salina* Leach of medicinal plants used in Brazilian Northeastern folk medicine Arcanjo, DDR. *Braz. J. Biol.* 72 (3): 505-509.
- Alcaraz, M.J. y Ferrandiz, M.L. 1987. Modification of arachidonic metabolism by flavonoids. *J Ethnopharmacol.* 21: 209-229.
- Arthur, G.D., Naidoo, K.K. y Coopoosamy, R.M. 2012. *Bidens pilosa* L. Agricultural and pharmaceutical importance. *Journal of Medicinal Plants Research.* 6 (17): 3282-3287.
- Asada, K. 1999. The water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* 50: 601–639.
- Ashafa, A.O.T. y Afolayan, A.J. 2009. Screening the root extracts from *Biden pilosa* L. Var. *radiata* (Asteraceae) for antimicrobial potentials. *J Med Plants Res.* 3: 568–572.
- Azuero, A. Jaramillo-Jaramillo, C., San Martin, D., D'Armas, H. 2016. Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador. *Revista Ciencia UNEMI.* 9 (20): 11 – 18.
- Bairwa, K., Kumar, R., Sharma, R.J. y Kumar, R. 2010. An updated review on *Bidens pilosa* L. *Der Pharma Chemica.* 2 (3): 325-337.
- Bajai, A.M. 2001. Effect of Natural extract of pineapple on disstibility, performance traits and nitrogen balance of broiler chicks. *Australian Journal of Basic and applied Sciences.* 5(20):10-30.
- Barboza, G.E., Cantero, J.J., Nuñez, C., Pacciaroni, A. y Espinar, L.A. 2009. Medicinal Plants: A general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native Argentine Flora. *Kurtziana* 34 (1-2). Volumen especial: Plantas Medicinales: 7-365.
- Barreras, N. y Achong, M. 1989. Uso de plantas medicinales en dos municipios habaneros. *Revista Cubana de Farmacia.* 23(3): 292-301.
- Basile, A., Sorbo, S., Spadaro, V., Bruno, M., Maggio, A., Faraone, N., Rosselli, S. 2009. Antimicrobial and antioxidant activities of Coumarins from the roots of *Ferulago campestris* (Apiaceae). *Molecules.* 14: 939–952.
- Bortesi, L. y Fischer, R. 2015. The CRISPR/Cas9 system for plant genome editing and beyond. *Biotechnol. Adv.* 33(1):41-52.

- Borthakur, N. y Baruah, A.K.S. 1987. Search for precocenes in *Ageratum conyzoides* Linn. of North-East India. *J. Indian Chem. Soc.* 64:580–581.
- Bosi, C.F., Rosa, D.W., Grougnet, R., Lemonakis, N., Halabalaki, M., Skaltsounis, A.L. y Biavatti, M.W. 2013. Pyrrolizidine alkaloids in medicinal tea of *Ageratum conyzoides*. *Rev. Bras. Farmacogn.* 23: 425–432.
- Cano, J. H. y Volpato, G. 2004. Herbal mixtures in the traditional medicine of Eastern Cuba. *Journal of Ethnopharmacology.* 90 (2-3): 293–316.
- Capote, E. y Berazaín, A. 1984. Formaciones vegetales en Cuba. *Revista Jardín Botánico Nacional.*
- Cariddi, L.N., Montironi, D. 2013. Evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys verticillata* y uno de sus compuestos mayoritarios sobre cepas aisladas de mastitis bovina. *Dominguezia.* 29 (suplemento).
- Cerdeira, A. y Voll, E. 1980. Germination and emergence of *Euphorbia heterophylla*. In: Resumos XIII Congresso Brasileiro de Herbicidas e Ervas Daninhas, Itabuna. p. 96.
- Cervantes, L., Sánchez, F. y Gómez, H. 2017. Antibacterial activity of *Cordia dentate* Poir, *Heliotropium indicum* Linn and *Momordica charantia* Linn from the Northern Colombian Coast. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.* 46 (2): 143-159.
- Chahar, S. y Sharma, J. 2017. Phytochemical screening, total flavonoid and phenolic content assays and antioxidant activity of *Momordica charantia* L. leaves. *Asian Journal of Pharmaceutical Education and Research.* 6 (3): 60-69.
- Chien, S., Young, P., Hsu, Y., Chen, C., Tien, Y.J., Shiu, S., Li, T., Yang, C., Marimuthu, P., Tsai, L.F. y Yang, W. 2009. Anti-diabetic properties of three common *Bidens pilosa* variants in Taiwan. *Phytochemistry.* 70: 1246-1254.
- Chigodi, M.O., Samoei, D.K. y Muthangya, M. 2013. Phytochemical screening of *Agave sisalana* Perrine leaves (waste). *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology.* 4 (4): 200-204.
- Collier, L., Balows, A. y Sussman, M. 1998. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections, 9th Edition, Volume 2: *Systematic Bacteriology*, Eds., Arnold, London: 731–782.
- Cortés-Rojas, D.F., Chagas-Paula, D.A., Da Costa, F.B., Claudia R., Souza, F. y Oliveira, W.P. 2013. Bioactive compounds in *Bidens pilosa* L. populations: a key step in the standardization of phytopharmaceutical preparations. *Brazilian Journal of Pharmacognosy.* 23(1): 28-35.
- Cowan, MM. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev.* 12: 564-82.
- Cunha, C.C., de Ávila, P.H.M., dos Santos Filho, E.X., de Ávila, R.V., Carvalho, A., Gonçalves, S., Martins, E., Neves, R., de Mendonça, E.F., Campos, M. 2016. Use of *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) and *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae) to treat intestinal mucositis in mice: Toxicopharmacological evaluations. *Toxicology Reports.* 3: 279–287.

- da Silva, J.J., Cerdeira, C.D., Chavasco, J.M., Cintra, A.B.P., da Silva, C., de Mendonça, A.N., Ishikawa, T., Boriollo, M.F.G. y Chavasco, J.K. 2014. *In vitro* screening antibacterial activity of *Bidens pilosa* L. and *Annona crassiflora* Mart. against oxacillin resistant *Staphylococcus aureus* (orsa) from the aerial environment at the dental clinic. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. 56 (4): 333-340.
- De Padua, L.S. y Lugo, G.C. 1981. Handbook on Philippine medicinal plants. Volume 3. University of the Philippines at Los Baños. Los Baños – Philippine. p. 4.
- Deba, F., Xuan, T.D., Yasuda, M. y Tawata, S. 2008. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. *Food Control*. 19: 346-352.
- Dharmananda, S. 2013. "A Popular Remedy Escapes Notice of Western Practitioners". Disponible en: <http://www.itmonline.org/arts/bidens.htm>. Consulta: marzo, 2018.
- Dokosi, O.B. 1998. Herbs of Ghana. Ghana University Press. 2nd Edition. Accra 746p.
- Dubois, M.K., Gilles, A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. y Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substance. *Anal. Chem*. 28:350-356.
- Durodola, J.J. 1977. Antibacterial property of crude extracts from herbal wound healing remedy - *Ageratum conyzoides*. *Planta Med*. 32:388–390.
- Edeoga, H.O., Okwu, D.E. y Mbaebie, B.O. 2005. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 4 (7): 685-688.
- Erden, Y.S., Ekrem, H., Gisho, T., Yoshihisa, T. y Toshiohiro, T. 1999. Traditional medicine in Turkey IX, folk medicine in North West Anatolia. *J. Ethnopharmacol*. 64: 201-208.
- Espinosa, R.R., Inchingolo, R., Alencar, S.M., Rodriguez-Estrada, M.T. y Castro, I.A. 2015. Antioxidant activity of phenolic compounds added to a functional emulsion containing omega-3 fatty acids and plant sterol esters. *Food Chem*. 182:95-104.
- Espinosa-Moreno, J., Centurión-Hidalgo, D., Vera, G.G. y Pérez-Castañeda, C.E., Zaragoza-Vera, C.V., Martínez-Martínez, S., Mendoza-de-Gives, P. y González-Cortázar, M. 2016. Actividad antihelmíntica *in vitro* de tres especies vegetales utilizadas tradicionalmente en Tabasco, México. *Polibotánica*. 41: 91-100. DOI: 10.18387/polibotanica.41.6.
- Ezeonwumelu, J.O.C., Ntale, M., Ogonnia, S.O., Agwu, E., Tanayen, J.K., Kasozi, K.I., Okonkwo, C.O., Shodunke, A., Akunne, A.A., Dafiewhare, O.E., Ebosie, J.C. and Byarugaba, F. 2017. *In vitro* Antibacterial Efficacy of *Bidens pilosa*, *Ageratum conyzoides* and *Ocimum suave* Extracts against HIV/AIDS Patients' Oral Bacteria in South-Western Uganda. *Pharmacology & Pharmacy*. 8: 306-323.

- Falodun, A. y Agbakwuru, E.O.P. 2004. Phytochemical Analysis and Laxative Activity of *Euphorbia heterophylla* Linn (Euphorbiaceae). *Pak. J. Sci. Res.* 47 (5): 345-348.
- Falodun, A., Agbakwuru, E.O.P. y Ukoh, G.C. 2003. Antibacterial Activity of *Euphorbia heterophylla* Linn (Family Euphorbiaceae). *Pak. J. Sci. Res.* 46 (6): 471-472.
- Falodun, A., Okunrobo, L.O. y Uzoamaka, N. 2006. Phytochemical and Antiinflammatory evaluation of methanolic and aqueous extracts of *Euphorbia heterophylla* Linn (Euphorbiaceae). *Afri. J. Biotech.* 5 (5): 529-531.
- Falowo, A.B., Fayemi, P.O. y Muchenje, V. 2014. Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International.* 64: 171-181. Doi:10.1016/j.foodres.2014.06.022.
- Falowo, A.B., Muchenje, V., Hugo, A., Aiyegoro, O.A. y Fayemi, P.O. 2017. Antioxidant activities of *Moringa oleifera* L. and *Bidens pilosa* L. leaf extracts and their effects on oxidative stability of ground raw beef during refrigeration storage. *CyTA - Journal of Food*, 15 (2): 249-256. DOI: 10.1080/19476337.2016.1243587
- Fernández, A. 2003. Evaluación de extractos de plantas medicinales con actividad antiparasitante. México, CIVA. Disponible en <http://.civa2003>. Consulta: marzo, 2018.
- Fiori, A.C.G., Schwan-Estrada, K.R.F., Stangarlin, J.R., Vida, J.B., Scapim, C.A., Cruz, M.E.S. y Pascholati, S.F. 2000. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. *Journal of Phytopathology.* 148 (7-8): 483-487.
- Fred-Jaiyesimi, A.A y Abo, K.A. 2010. Phytochemical and Antimicrobial analysis of the crude extract, petroleum ether and chloroform fractions of *Euphorbia heterophylla* Linn. *Whole Plant.* 2 (16): 1-4.
- García, Y.H., Rajme, D., Mendoza, J.L., Campos, T. 2016. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L. frente a *Erysipelothrix rhusiopathia*. *Ciencia y Tecnol. Agrop.* 4 (1): 10-17.
- Gasque, R. 2015. Mastitis bovina. Sitio Argentino de Producción Animal. Disponible en: <http://www.produccion-animal.com.ar>. Consulta: abril de 2018.
- Goudoum, A., Abdou, A.B., Ngamo, L.S.T., Ngassoum, M.B. y Mbofung, C.M.F. 2016. Antioxidant activities of essential oil of *Bidens pilosa* (Linn. Var. Radita) used for the preservation of food qualities in North Cameroon. *Food Science & Nutrition.* 4 (5): 671-678. doi: 10.1002/fsn3.330.
- Guerra de L.J.O., Nogueiras, C., Delgado, R. y Hernández, O. 2001. Determinación cuantitativa de saponinas y azúcares reductores de *Agave briottoniana* T. *Revista Cubana de Química.* 13(3): 37-42.
- Gupta, M.P., Solís, P.N., Calderón, A.I., Guinneau-Sinclair, F., Correa, M., Galdames, C., Guerra, C., Alvenda, G.I., Robles, G., Ocampo, R. 2005.

- Medical Ethnobotany of the Teribes of Bocas del Toro, Panamá. *J. Ethnopharmacology*. 96: 389 – 401.
- Gurr, S.I., Mc Pherson, M.I. and Bowles, D.J. 1992. Lignin and associated phenolic acids in cell walls. *Molecular Plant Pathology and Practical Approach*. 3: 62-69.
- Gurung, T., Techawongstien, S., Suriharn, B. y Techawongstien, S. 2011. Impact of environments of the accumulation of capsaicinoids in *Capsicum* spp. *HortScience*. 46(12):1576-1581.
- Heleno, S.A., Martins, A., Queiroz, M.J.R.P. y Ferreira, I.C.F.R. 2015. Bioactivity of phenolic acids: metabolites versus parent compounds: A review. *Food Chem*. 173:501-513.
- Hsu, Y.J., Lee, T.H., Chang, C.L.T., Huang, Y.T. y Yang, W.C. 2009. "Anti-hyperglycemic effects and mechanism of *Bidens pilosa* water extract". *Journal of Ethnopharmacology*. 122 (2): 379–383.
- Ikpeme, E.V., Ekaluo, U.B., Udensi, O.U. y Ekerette, E.E. 2014. Screening fresh and dried fruits of avocado pear (*Persea Americana*) for antioxidant activities: An alternative for synthetic antioxidant. *J. Life Sci.Res. Discovery*. 1: 19-25.
- Jabeen, U. y Khanum, A. 2017. Isolation and characterization of potential food preservative peptide from *Momordica charantia* L. *Arabian Journal of Chemistry*. 10: 3982-3989. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.06.009>
- Joly, L.G., y Guerra, S. 1987. Ethnobotanical inventory of medicinal plants used by the Guaymí indians in Western Panama. Part I. *J. Ethnopharmacol*. 20 (2): 145-171.
- Keerthana, K., Deepa, A., Shobana, G., Jothi, G. y Sridharan, G. 2014. Preliminary phytochemical screening and *in vitro* antioxidant potential of *Euphorbia heterophylla* L. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6 (8): 550-553.
- Kevan, P.G. y Wojcik, V.A. 2011. Manejo de la biodiversidad en los ecosistemas agrícolas. Servicios de los polinizadores. Roma. ISBN: 978-92-9043-823-6. pp: 208-234.
- Kim, S., Cho, A.R. y Han, J. 2013. Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. *Food Control*, 29, 112–120. doi:10.1016/j.foodcont.2012.05.060.
- Koch, W. 1990. Non- conventional methods of weed control. En Memorias X Congreso ALAM, La Habana, Cuba, vol. I pp 83-112.
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R. y Nithyanandam, R. 2011. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food Bioprod Process*. 89: 217-233.
- Kumari, P., Misra, K., Sisodia, B.S., Faridi, U., Srivastava, S., Luqman, S., Darokar, M.P., Negi, A.S., Gupta, M.M., Singh, S.C. y Kumar, J.K.A. 2009. A promising anticancer and antimalarial component from the leaves of *Bidens pilosa*. *Planta Med*. 75: 59-61.
- Kviecinski, M.R., Felipe, K.B., Schoenfelder, T., Wiese, L.P.L., Rossi, M.H., Gonçalves, E., Felicio, J.D., Filho, D.W. y Pedrosa, R.C. 2008. Study of the

- antitumor potential of *Bidens pilosa* (Asteraceae) used in Brazilian folk medicine. *J. Ethnopharmacol.* 117: 69-75.
- Lawal, O.A., Amisu, K.O., Akinyemi, S.K., Sanni, A.A., Simelane, M.B.C., Mosa, R.A. y Opoku, A.R. 2015. *In vitro* Antibacterial Activity of Aqueous Extracts of *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) from Nigeria. *British Microbiology Research Journal.* 8 (4): 525-531.
- Longuefosse, J.L. y Nossin, E. 1996. Medical ethnobotany survey in Martinique. *J. Ethnopharmacology.* 53: 117 – 142.
- López, M.T. 2006. Plantas medicinales con actividad hipoglucemiante. Características, administración y efectos adversos. *Farmacéutica.* 25 (5): 82-88.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. y Randall, R. 1951. Protein measurement the Folinphenol reagent. *J Biol Chem.* 193: 265-275.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J.M. y Tuñón, M.J. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr. Hosp.* 17 (6): 271-278.
- Mesa-Vanegas, A.M., Zapata-Uribe, S., Arana, L.M., Zapata, I.C., Monsalve, Z. y Rojano, B. 2015. Actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de *Ageratum conyzoides* L. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat.* 14 (1): 1 – 10.
- Miller, G. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31: 426-428.
- Ming, LC. 1999. *Ageratum conyzoides*: A tropical source of medicinal and agricultural products. In Janick, J. (ed.). Perspectives on new crops and new uses. Alexandria, VA, Estados Unidos, ASHS. Press. P. 469-473.
- Ministerio de Salud Pública (MINSAP). 1997. Guía metodológica para la investigación en plantas medicinales. La Habana: Editorial Pueblo y Educación.
- Mohamed, A.A., Ali, S.I., El-Hallouty, S.M., El-Baz, F.K., Misra, A.N. 2014. GC/MS Profiling, *in Vitro* Antioxidant and Cytotoxic Activities of *Bidens pilosa*. *International Journal of Indigenous Medicinal Plants.* 47 (2): 1652-1659.
- Mohammed, M.T. y Abbas, S.I. 2016. Antioxidant and Anti-Inflammatory Effect of Fruit Juice of *Annona muricata* L (Soursop) During Ischemia Reperfusion Injury in Rats. *The Iraqi Postgraduate Medical Journal.* 15 (1): 118-123.
- Momesso, L.S., Moura, R.M.X. y Constantino, D.H.J. 2009. Atividade antitumoral do *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia.* 19 (3): 660-663.
- Morais, W.C.C., Lima, M.A.P., Zanuncio, J.C., Oliveira, M.A., Bragança, M.A.L., Serrão, J.E. y Lucia, T.M.C.D. 2014. Extracts of *Ageratum conyzoides*, *Coriandrum sativum* and *Mentha piperita* inhibit the growth of the symbiotic fungus of leaf-cutting ants. *Ind. Crops Prod.* 65: 463–466.

- Morales, L.M., Ullauri, M.A. y Rojas, X. 2011. Evaluación del efecto de extractos vegetales como alternativa de manejo a la sigatoka negra en el cultivar Gran Enano (AAA). *Centro Agrícola*. 38 (2): 77-84.
- Moreira, M.D., Picanço, M.C., Barbosa, L.C.A., Guedes, R.N.C., Barros, E.C., Campos, M.R. 2007. Compounds from *Ageratum conyzoides*: isolation, structural elucidation and insecticidal activity. *Pest Manag. Sci.* 63: 615–621.
- Mortimer, A.M. 1984. Population ecology and weed science. En: R. Dirzo y J. Sarukhan (Eds.) *Perspectives on Plant Population Ecology*, pp 363-388. Sinauer Mass.
- Mortimer, A.M. 1999. The biology of weeds. En: R.J. Hance y K. Holly (Eds.), *Weed control handbook: Principles*, pp 1-42. 8va edn. Blackwell Scientific Publications.
- Moura, A.C.A., Silva, E.L.F., Fraga, M.C.A., Wanderley, A.G., Afiatpour, P. y Maia, M.B.S. 2005. Antiinflammatory and chronic toxicity study of the leaves of *Ageratum conyzoides* L. in rats. *Phytomedicine*. 12: 138–142.
- Muñoz, Y.O. 2014. Estudio de los beneficios de la planta *Bidens pilosa* L. (romerillo) en gastritis y úlcera péptica, en pacientes del hospital universitario, Guayaquil. Tesis en opción al título de Licenciatura en Química y Farmacéutica. Guayaquil, Ecuador.
- Narud, L. 2012. Plantas de la Española. Disponible en: <http://narud.blogspot.com/2012/05/bidens-pilosa.html>. Consulta: marzo, 2018.
- Nasrin, F. 2013. Antioxidant and cytotoxic activities of *Ageratum conyzoides* stems. *Int Curr Pharmac J.* 2: 33 - 37.
- Nayak, B.S., Ramdath, D.D., Marshall, J.R., Isitor, G.N., Eversley, M., Xue, S. y Shi, J. 2010. Wound healing activity of the skin of the common grape (*Vitis vinifera*) Variant, Cabernet Sauvignon. *Phytother. Res.* 24: 1151-1155.
- Nazhad, E., Dolatabadi, J., Mokhtarzadeh, A., Ghareghoran, S.M. y Dehghan, G. 2014. Synthesis, characterization and antioxidant property of quercetinTb(III) complex. *Adv Pharm Bull.* 4: 101-104.
- Noumedem, A.C.N. Wabo, P.J., Kumar, K.N., Mohana, K.D., Mittal, G., Nguemfo, T.A., Mishral, S., Mpoame, M. y Dinkar, S. 2017. *In vitro* Antiplasmodial Activity and Cytotoxicity of Extracts and Fractions of *Bidens pilosa*. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences.* 7 (61): 28-34.
- Nour, A.M.M., Khalid, S.A., Kaiser, M., Brun, R., Abdalla, W.E. y Schmidt, T.J. 2010. The antiprotozoal activity of methylated flavonoids from *Ageratum conyzoides* L. *J. Ethnopharmacol.* 129: 127–130.
- Odeleye, O.P., Oluyeye, J.O., Aregbesola, O.A. y Odeleye, P.O. 2014. Evaluation of preliminary phytochemical and antibacterial activity of *Ageratum conyzoides* (L.) on some clinical bacterial isolates. *Int. J. Eng. Sci.* 3: 01–05.

- Ojezele, O.J., Ojezele, M.O. y Adeosun, A.M. 2016. Comparative Phytochemistry and Antioxidant Activities of Water and Ethanol Extract of *Annona muricata* Linn Leaf, Seed and Fruit. *Advances in Biological Research*. 10 (4): 230-235.
- Okoli, R.I., Turay, A.A., Mensah, J.K. y Aigbe, A.O. 2009. Report and Opinion. 1 (5): 67-73.
- Okunade, A.L. 2002. *Ageratum conyzoides* L. Asteraceae. *Fitoterapia*. 73: 1.16.
- Oliveira, F.Q., Andrade-Neto, V., Krettli, A.U. y Brandão, M.G.L. 2004. New evidences of antimalarial activity of *Bidens pilosa* roots extract correlated with polyacetylene and flavonoids. *J Ethnopharmacol*. 93: 39-42.
- Olivoto, T., Nardino, M., Carvalho, I.R., Follmann, D.N., Szarecki, V.J., Ferrari, M., de Pelegrin, A.J. y de Souza, V.Q. 2017. Plant secondary metabolites and its dynamical systems of induction in response to environmental factors: A review. *African Journal of Agricultural Research*. 12 (2): 71-84.
- Omale, J. y Emmanuel, T.F. 2010. Phytochemical Composition, Bioactivity and Wound Healing Potential Of *Euphorbia heterophylla* (Euphorbiaceae) Leaf Extract. *International Journal on Pharmaceutical and Biomedical Research*. 1 (1): 54-63.
- Oviedo, E. 2012. Plantas invasoras en Cuba. Bissea, Vol. 6, Número Especial 1 Febrero 2012. Versión impresa: ISSN 1998-4189. Versión digital: ISSN 1998-419.
- Parekh, J. and Chanda, S. 2006. Antibacterial and phytochemical studies on twelve species of Indian medicinal plants. *African Journal of Biomedical Research*. 10: 175- 181.
- Pérez, C., Paul, M. and Bazerque, P. 1990. An antibiotic assay by the agar well diffusion method. *Acta Bio. Med. Exp*. 15: 113- 115.
- Prarthna, D., Ujjwala, S. y Roymon, M.G. 2014. A review on Phytochemical analysis of *Momordica charantia*. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry*. 3(1): 214-220.
- Quiñones, M., Miguel, M. y Aleixandre, A. 2012. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp*. 27(1): 76-89.
- Radha-Krishnan, K.R., Babuskina, S., Azhagu-Saravana, P., Sasikala, M., Sabina, K., Archana, G. y Sukumar, M. 2014. Antimicrobial and antioxidant effects of spice extracts on the shelf life extension of raw chicken meat. *International Journal of Food Microbiology*. 171: 32-40. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.011.
- Rodriguez, E., Twers, G.H.N. y Mitchell, J.C. 1976. Biological activities of sesquiterpene Lactones. *Phytochemistry*. 15:1573.
- Roig, J. 2012. Plantas Medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. Tomo I. Editorial Científico Técnico. La Habana. 535p.
- Scalbert, A. 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*. 30: 3875-3883.

- Sedane, J. 1988. El folclór médico de Cuba. Editorial de Ciencias Sociales. La Habana-Cuba. p. 472, 642.
- Serafini, M. y Peluso, I. y Ragguzzini, A. 2010. Flavonoids as antiinflammatory agents. *P Nutr Soc.* 69: 273-278.
- Shailajan, S. 2013. Herbal Research lab. *Journal of Young Pharmacists.* 5 (4): 139–143.
- Shirwaikar, A., Bhilegaonkar, P.M., Malini, S. y Sharath, K.J. 2003. The gastroprotective activity of the ethanol extract of *Ageratum conyzoides*. *J Ethnopharmacol.* 86: 117 – 121.
- Sigarroa, A. 1985. *Biometría y Diseño Experimental*. La Habana. Editorial Pueblo y Educación. 743 p.
- Silva, J.F., da Silva, P.R., dos Reis, M.R., Endo, R.T., Ramos, R.S., Fernandes, F.L. y da Silva, Í.W. 2014. Insecticide Activity of Weeds to Pests of Stored Product and Crops. *Journal of Agricultural Science.* 6 (7): 194-199.
- Singh, G., Passsari, A.K., Singh, P., Vineeth, V.L., Subbarayan, S., Kumar, B., Singh, B.P., Lalhlenmawia, H. y Kumar, N.S. 2017. Pharmacological potential of *Bidens pilosa* L. and determination of bioactive compounds using UHPLC-QqQLIT-MS/MS and GC/MS. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 17: 492. DOI 10.1186/s12906-017-2000-0.
- Surh, Y.J. 2003. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Natural Reviews in Cancer.* 3: 768–780.
- Taiz, L. y Zeiger, E. 2010. *Plant Physiology*, Fifth ed. Sinauer Associates Inc., Massachusetts.
- Teixeira, T.L., Teixeira, S.C., Silva, C.V. y Souza, M.A. 2014. Potential therapeutic use of herbal extracts in trypanosomiasis. *Pathog. Glob. Health.* 108: 30 - 36.
- Tesfay, S.Z., Bertling, I. y Bower, J.P. 2010. Anti-oxidant levels in various tissues during the maturation of 'Hass' avocado (*Persea americana* Mill.). *Journal of Horticultural Science & Biotechnology.* 85 (2): 106-112.
- Thakur, A., Singla, R. y Jaitak, V. 2015. Coumarins as anticancer agents: A review on synthetic strategie mechanism of action and SAR studies. *Eur. J. Med. Chem.* 101:476-495.
- Usunomena, U. y Paulinus, O.N. 2016. Phytochemical analysis and mineral composition of *Annona muricata* leaves. *International Journal of Research and Current Development.* 1 (1): 7-10.
- Vijayanand, S. y Sanjana, T. 2017. Phytochemical Studies of *Phyllanthus emblica*, *Ananas comosus*, *Momordica charantia* Extracts. *Int J Pharma Res Health Sci.* 5 (4): 1810-1815.
- Widelski, J., Popova, M., Graikou, K., Glowniak, K. y Chinou, I. 2009. Coumarins from *Angelica lucida* L. - Antibacterial Activities. *Molecules.* 14: 2729–2734.
- Woo, J.W., Kim, J., Kwon, S.I., Corvalán, C., Cho, S.W., Kim, H., Kim, S.G., Kim, S.T., Choe, S., Kim, J.S. 2015. DNA-free genome editing in plants with

preassembled CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins. *Nat. Biotechnol.* 33 (11): 1162 - 1164.

Yi, J., Jian-Guo, W., Yan-Bin, W. y Peng, W. 2016. Antioxidant and Anti-proliferative Activities of Flavonoids from *Bidens pilosa* L. var *radiata* Sch Bip. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* 15 (2): 341-348.

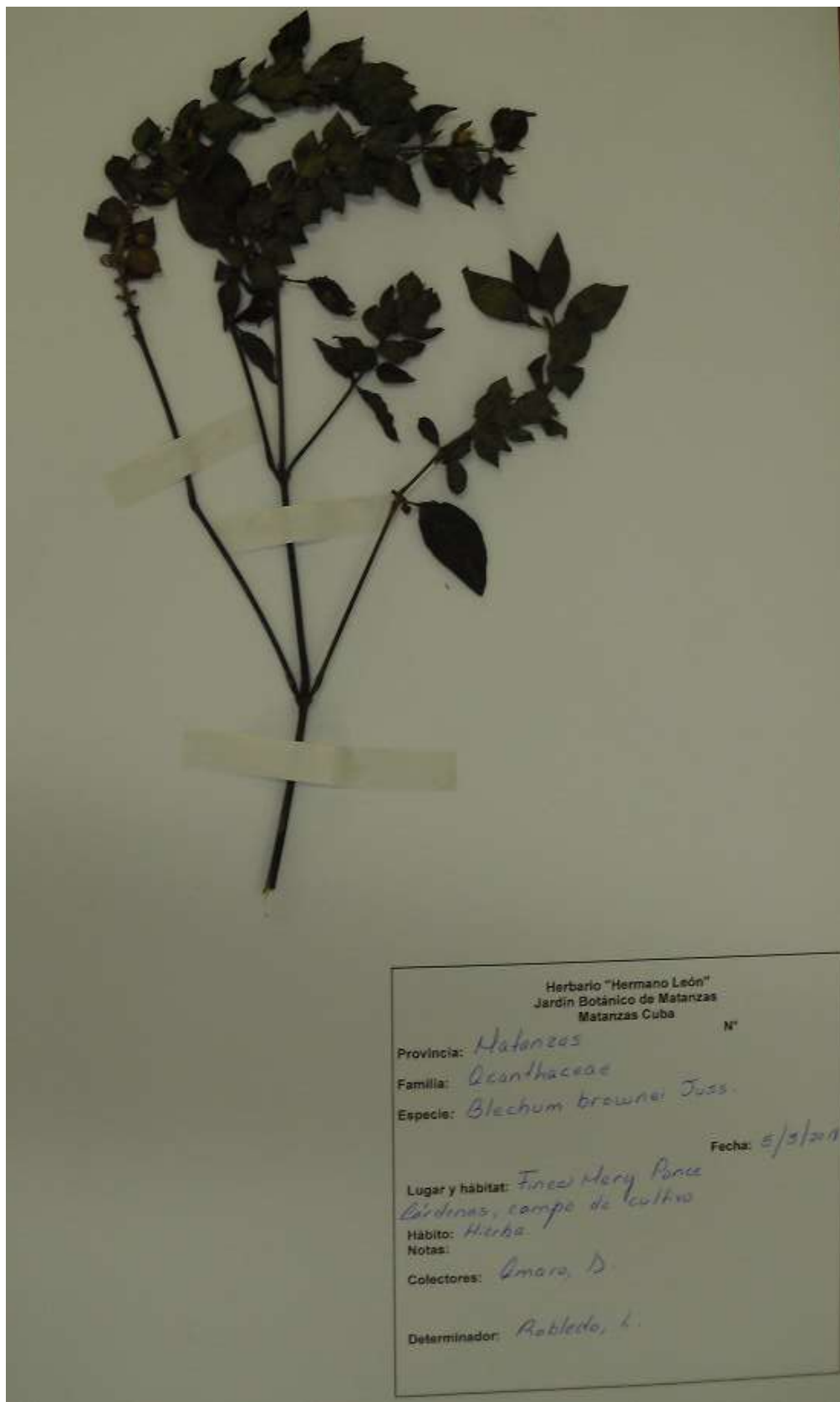
Zelaya, I. 2012. Introducción a la Biología, Ecología y Manejo de Malezas.

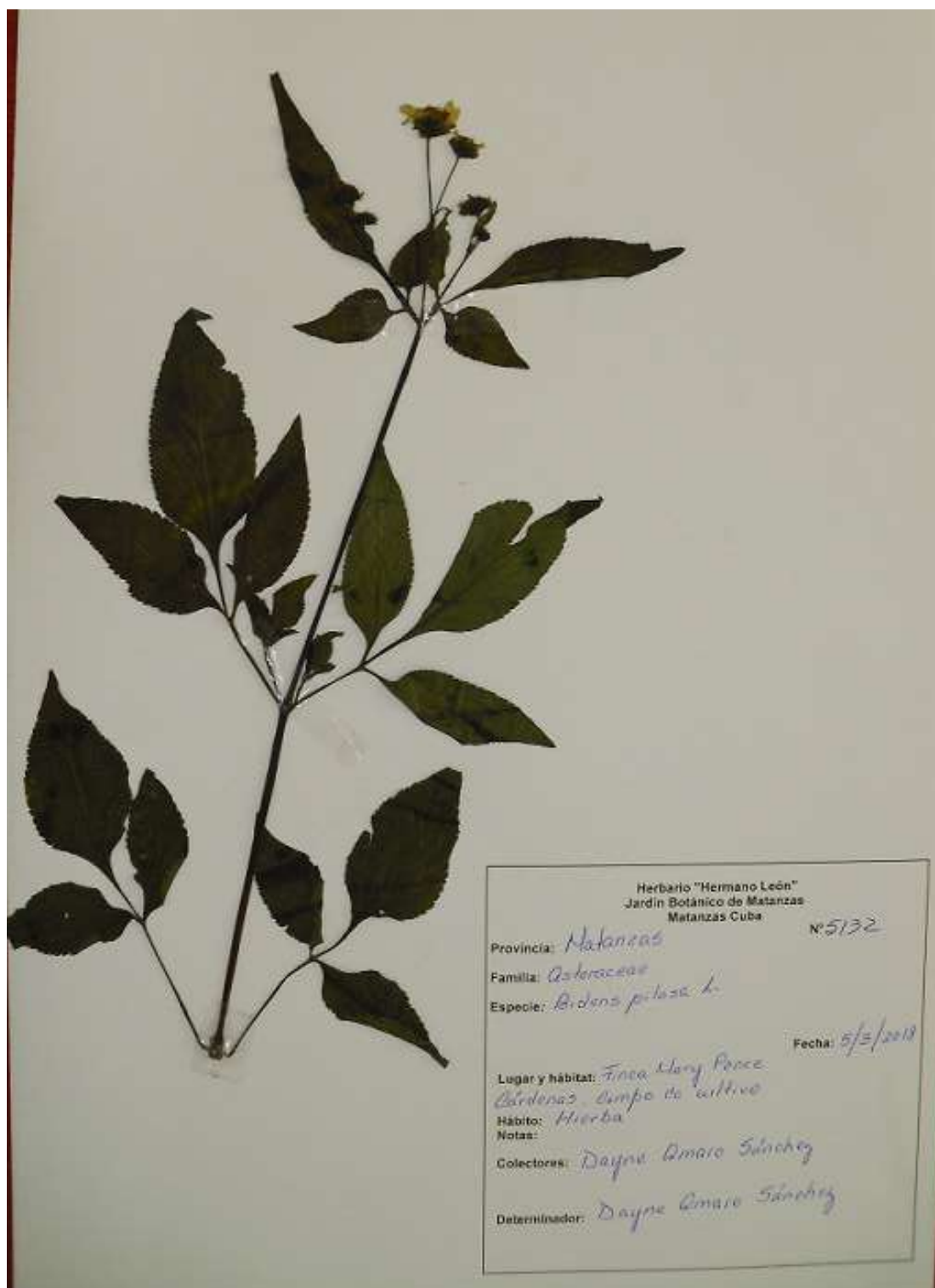
Zungu, M.M. y Downs, C.T. 2015. Effects of tannins on fruit selection in three southern African frugivorous birds. *Behav. Process.* 111:84-89.

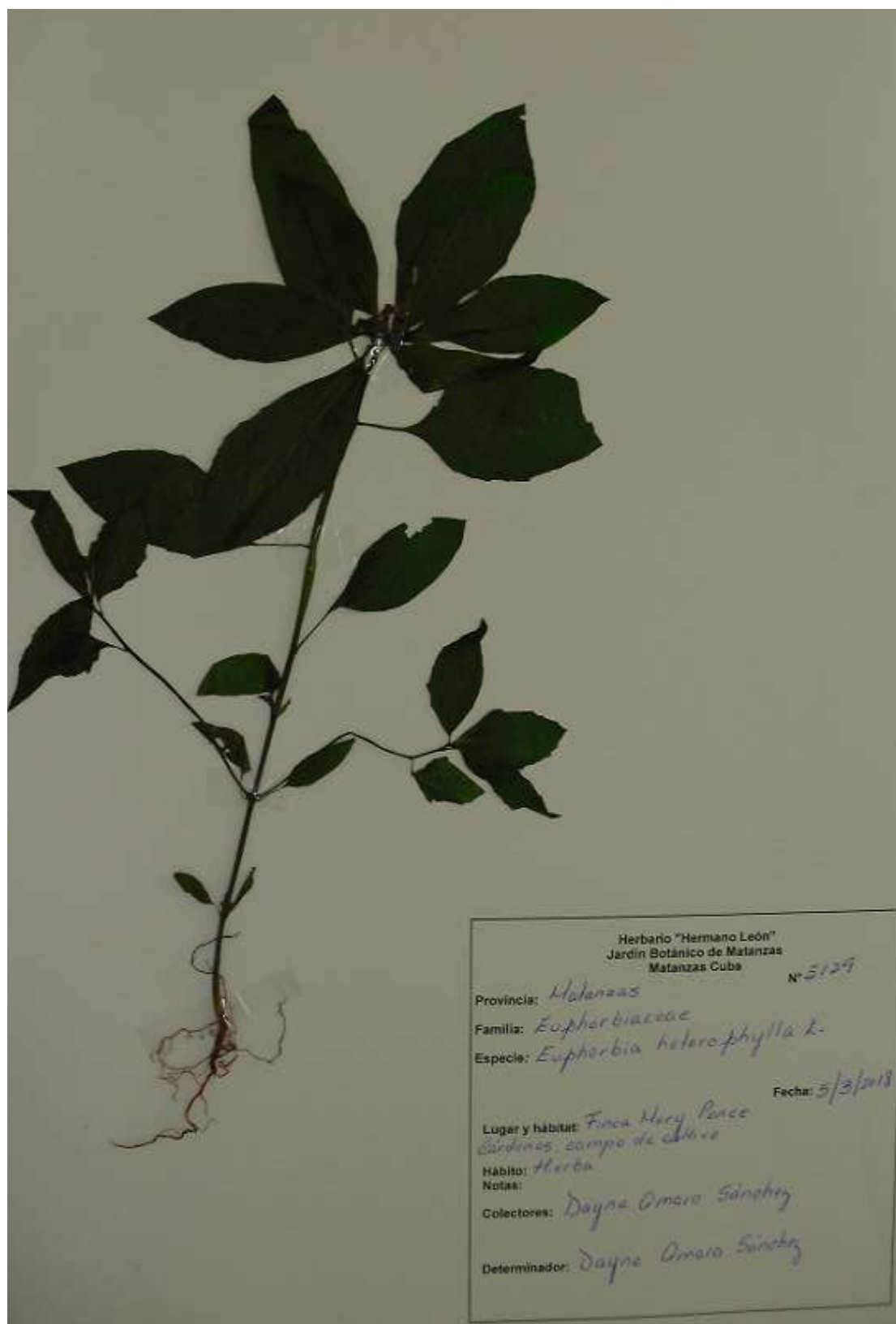
Zwane, P.E., Masarirambi, M.T., Magagula, N.T., Dlamini A.M. and Bhebhe, E. 2011. Exploitation of *Agave americana* L plant for food security in Swaziland. *American Journal of Food and Nutrition.* 1 (2): 82-88.

Anexo 1. Herbario de las especies segetales analizadas en la presente investigación.











Anexo 2. *Ageratum conyzoides* L. Colección del New York Botanical Garden.

