



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Uso de *Tradescantia Spathacea* y *Manilkara Zapota* como Medicinas Tradicionales en México desde los Mayas hasta la Actualidad y Valoración de sus Propiedades Antimicrobianas.

D.^a Janina Cassandra Carrera Kurjenoja

2022

UNIVERSIDAD DE
MURCIA



Use of *Tradescantia spathacea* and *Manilkara zapota* as traditional medicines in Mexico from the Maya to the present and assessment of their antimicrobial properties.

Uso de *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota* como medicinas tradicionales en México desde los Mayas hasta la actualidad y valoración de sus propiedades antimicrobianas.

Janina Cassandra Carrera Kurjenoja

2022

Departamento de Zoología y Antropología Física

Escuela Internacional de Doctorado

Universidad de Murcia

Directores:

Dr. José Galián Albaladejo

Dra. Josefina Zapata Crespo

Mutti este trabajo va dedicado a ti, por apoyarme y ayudarme a seguir mis sueños. Por todas esas horas de sueño, de estrés, de risas y de regaños también. No solo eres mi mamá sino también mi mejor amiga, mi ángel, mi heroína y sobre todo mi gran ejemplo a seguir. Espero que estés muy orgullosa de tu muñequita. Gracias por ser mi eterna 'Dancing queen'.

Janina

Mutti, tämä työ on omistettu sinulle, koska olet tukenut minua ja auttanut minua seuraamaan unelmiani. Kaikista niistä unen, stressin, naurun ja moittimisen tunneista. Et ole vain äitini vaan myös paras ystäväni, enkelini, sankarittareni ja ennen kaikkea suuri esimerkkini. Toivottavasti olet hyvin ylpeä pikku nukestasi. Kiitos, että olet ikuinen 'Dancing queen'

Janina

“... la formación de nuestra primera madre y padre; de maíz amarillo y maíz blanco se hizo su carne; de masa de maíz se hicieron los brazos y las piernas del hombre. Únicamente masa de maíz entró en la carne de nuestros primeros padres, los cuatro hombres que fueron creados.”

Popol Vuh – Anónimo

Índice

Agradecimientos	3
Resumen	5
Introducción	11
1.1. Contexto histórico de los mayas	12
1.1.1. <i>Periodo Arcaico (8000 – 2000 a.C)</i>	13
1.1.2. <i>Periodo preclásico (2000 a.C – 250 d.C)</i>	13
1.1.2. <i>Periodo Clásico (250 – 900 d.C.)</i>	13
1.1.3. <i>Periodo Posclásico (900 d.C.- 1502)</i>	14
1.1.5 <i>Época de la conquista y de la colonia</i>	14
1.2 Ecología de la zona maya	16
1.2.1 <i>Etnobiología maya</i>	17
1.2.2 <i>Etnomedicina maya</i>	20
1.3 Contexto general	22
1.3.1 <i>Manilkara zapota</i>	22
1.3.2 <i>Tradescantia spathacea</i>	25
1.3.3 <i>Revisión bibliográfica convencional y revisión sistemática</i>	25
1.3.4 <i>Entrevistas</i>	27
1.3.5 <i>Obtención de organismos para ensayo antimicrobiano</i>	27
1.3.6 <i>Ensayos antimicrobianos con una cepa comercial de Staphylococcus aureus</i>	28
1.4 Hipótesis	28
1.5 Objetivo general	29
1.6 Justificación	30
Parte I. Etnobotánica Maya	31
Metodología general de la Parte I	33
A) Revisión bibliográfica	33
1) De fuentes históricas	33
2) Revisión sistemática	33
B) Estudio de las poblaciones del área de Campeche	40
1) Descripción del área de estudio	40
2) Colecta de datos	41
3) Demografía de los participantes de las comunidades mayas	42

Capítulo 1. Uso tradicional de <i>Manilkara zapota</i> (L.) P. Royen en comunidades mayas: del pasado al presente, a través de una mirada en el Campeche.	43
Resumen	45
Introducción	46
Resultados	47
A) Revisión bibliográfica	47
A.2 Revisión sistemática	49
B. Entrevistas	59
Novedad y futuro impacto	64
Capítulo 2. Uso tradicional de <i>Tradescantia spathacea</i> Swart, en comunidades mayas: del pasado al presente, a través de una mirada en el Campeche.	67
Resumen	69
Introducción	70
Resultados	71
A) Revisión bibliográfica	71
A.2. Revisión sistemática	73
B) Entrevistas	76
Novedad e perspectiva de futuro	¡Error! Marcador no definido.
Parte II. Propiedades Antimicrobianas	81
Metodología general de la Parte II	83
<i>Colecta de las hojas</i>	83
<i>Preparación de extracción</i>	83
<i>Prueba de difusión de disco extractos acuoso y etanólico</i>	84
<i>Prueba de Concentración Mínima Inhibitoria (MIC)</i>	86
<i>Prueba de difusión de disco (diluciones)</i>	86
<i>Construcción de un cepario</i>	88
A) <i>Cepario de insectos</i>	88
B) <i>Cepario del biofilm oral</i>	88
C) <i>Muestras Staphylococcus aureus</i>	90
D) <i>Muestras de Mycoplasma agalactae</i>	90
E) <i>Muestras Paracoccus denitrificans</i>	91
Capítulo 3. Evaluación de la inhibición de bacterias multirresistentes mediante extractos etanólicos de <i>Tradescantia spathacea</i> y <i>Manilkara zapota</i>.	93
Resumen	95

Introducción.....	96
Resultados	101
Discusión	105
Capítulo 4. <i>Manilkara zapota</i> y <i>Tradescantia spathacea</i> como agentes antimicrobianos contra los patógenos del biofilm oral.....	107
Resumen	109
Introducción.....	110
Resultados y Discusión.....	112
Capítulo 5. Evaluación de extractos etanólicos de <i>Tradescantia spathacea</i> y <i>Manilkara zapota</i>, como posibles agentes terapéuticos contra <i>Mycoplasma agalactiae</i>.....	123
Resumen	125
Introducción.....	126
Resultados	129
Discusión	130
Capítulo 6. Reacción inhibitoria de extractos etanólicos de <i>Manilkara zapota</i> y <i>Tradescantia spathacea</i> frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> aisladas de casos de mastitis en ganado caprino.....	133
Resumen	135
Introducción.....	136
Resultados	138
Discusión	143
Capítulo 7. Evaluación de la capacidad antimicrobiana de las hojas de <i>Tradescantia spathacea</i> y <i>Manilkara zapota</i> frente a la bacteria desnitrificante del suelo <i>Paracoccus denitrificans</i>. ...	145
Introducción.....	147
Resultados y discusión	151
Conclusiones	157
Referencias.....	161
Anexos	187

Agradecimientos

Me gustaría agradecerle primeramente a mi madre Anne por todo su amor y ejemplo a seguir. Por haberme apoyado siempre, pero en especial desde hace 11 años cuando comencé este largo camino en la Etnobiología. A mis hermanos Kristian y Elina, por ser mis compañeros de vida, mis cómplices y los pilares de mi vida. A Adrián por ser mi hermano adoptado, por todo el apoyo que me has dado.

A mis directores de tesis, José Galián y Josefina Zapata por haberme ayudado, apoyado y no dejar que me rindiera en los momentos más difíciles. A la Dra. Rosario Domínguez Carrasco, por ayudarme para realizar el trabajo de campo y contestar mis correos en vacaciones de diciembre cuando nadie más lo hizo. A mis alumnos de la carrera de Antropología de la Facultad de Ciencias Sociales de la Universidad Autónoma de Campeche, Arantxa, Darianna, Yessica, Ninive, Carlos, Daniel, David y Álvaro, por haberme ayudado a realizar las entrevistas, por todas las experiencias y risas vividas. Los quiero muchos chicos. A los miembros de las comunidades, a la familia Pat (Don Vidal, Doña Isabel, Chepa, Adriana y Rogaciano), a Rosselli y la presidenta de Tinún, por la cálida bienvenida que nos dieron y el apoyo para poder realizar las entrevistas.

Gracias también a Ana por ser el ángel del Departamento de Biología Animal, por ayudarme en los experimentos, por su enseñanza y sobre todo por escucharme cuando lo necesitaba. A los chicos de la embajada de México en Murcia y de la oficina, Mica, Daniel, Javi, Álvaro y Andrés, por tantas risas y buenos momentos. A Helena, Alberto y Sabrina, por todos esas salidas y buenos momentos que me ayudaron cuando más los necesitaba. A Andy por no solo ser la mejor maestra de canto sino también por ser un de las mejores

amigas que puedo tener, te quiero mucho. A Luis por las risas, sus bromas con sarcasmo, por matar a las cucarachas mutantes y por haberme acompañado a la Ciudad de México a hacer mis trámites del doctorado, aunque no te gustará. César por ser mi mejor amigo del alma, por estos estos 14 años de amistad. A Angie y a Armando por ser mis mejores amigos. Por estos 15 años juntos llenos de tantos momentos inolvidables. To Axel, my best kokonut buddy, for being one of the best Friends that life could give me, despite being on the other side of the world. To Sara and Elspeth, for their friendship and support despite being very busy and for our great times in England.

No menos importante, gracias a Miguel Alexiades, por su apoyo, enseñanza y sabiduría durante y después de la maestría. A Timothy James Knabs, por sus enseñanzas y sabiduría en mis inicios en la Etnobiología. A Jerónimo García Guzmán, por haber sido un gran profesor y por introducirme en la Etnobiología y a la Etnomicología. A José Daniel Lozada Ramírez, por apoyarme desde mis inicios y por haber sido un gran profesor.

Resumen

Los mayas son una civilización que ha logrado integrar la naturaleza junto con su desarrollo sociocultural, llegando a formar parte importante de sus creencias desde el periodo prehispánico. Los mayas desde sus inicios han utilizado diversas especies de plantas con fines medicinales, entre otras *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota*, especies nativas silvestres halladas en el sur de México, el Caribe y Centroamérica. El principal objetivo de este trabajo fue conocer el uso continuado de estas dos plantas medicinales en las comunidades mayas pretéritas y actuales del estado de Campeche (México) y la actividad antimicrobiana de las mismas.

Mediante una revisión bibliográfica y entrevistas semiestructuradas en tres comunidades mayas del estado de Campeche se ha documentado el uso medicinal de ambas plantas desde época prehispánica maya hasta la actualidad.

Las extracciones acuosas y etanólicas de las hojas secas de ambas plantas fueron utilizadas para analizar la actividad antimicrobiana de estas dos especies de plantas.

Los resultados del presente estudio muestran que en la actualidad *M. zapota* tiene un uso antimicrobiano y antipirético, además de aplicarse contra problemas artríticos o para el alivio de problemas gastrointestinales y dolores abdominales de origen menstrual.

En relación con *Tradescantia spathacea* los resultados muestran que en la actualidad dicha planta es empleada para el tratamiento de diversas afecciones respiratorias, para tratar virus como la Chinkungunya y para sanar heridas en la piel.

Se han observado propiedades antimicrobianas de los extractos etanólicos de las hojas secas de *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea* en especies de: a) bacterias multirresistentes a antibióticos que poseen gran impacto en la salud del ser humano (*Staphylococcus sciuri*, *Enterococcus gallinarum*, *Lactococcus lactis*, *Rothia dentocariosa*, *Streptococcus sanguinis*, *S. infantis*, *Tetragenococcus osmophilus*, *Streptococcus gordonii*, *Granulicatella adiacens*, *Brevibacterium* sp y *Staphylococcus xylosum*); b) bacterias causantes de patologías en animales domésticos (*Staphylococcus aureus* y *Mycoplasma agalactiae*) y c) bacterias desnitrificantes del suelo (*Paracoccus denitrificans*). En resumen, los extractos etanólicos de ambas especies de plantas pueden ser de interés para el desarrollo de fármacos para tratar infecciones por bacterias patógenas resistentes a los antibióticos convencionales. Los extractos acuosos de ambas plantas no muestran actividad antimicrobiana.

Los resultados del presente trabajo indican que es necesario realizar más investigaciones específicas para determinar el alcance de las propiedades de estas dos plantas y su aplicación en farmacología humana y de animales domésticos, para el tratamiento de infecciones provocadas por bacterias multirresistentes a los antibióticos convencionales. Además, se aportan datos preliminares para el uso de estas plantas como agentes inhibidores de microorganismos implicados en el proceso de desnitrificación.

Abstract

The Mayans are a civilization that has managed to integrate nature along with their socio-cultural development, becoming an important part of their beliefs since the pre-Hispanic period. Since the beginning, the Mayans have used various species of plants for medicinal purposes, among others *Tradescantia spathacea* and *Manilkara zapota*, wild native species found in southern Mexico, the Caribbean and Central America. The main objective of this work was to know the continued use of these two medicinal plants in the past and current Mayan communities of the state of Campeche (Mexico) and their antimicrobial activity.

Through a bibliographic review and semi-structured interviews in three Mayan communities in the state of Campeche, the medicinal use of both plants has been documented from the pre-Hispanic Mayan era to the present.

The aqueous and ethanolic extractions of the dried leaves of both plants were used to analyze the antimicrobial activity of these two plant species.

The results of this study show that currently *M. zapota* has an antimicrobial and antipyretic use, in addition to being applied against arthritic problems or for the relief of gastrointestinal problems and abdominal pain of menstrual origin.

In relation to *Tradescantia spathacea*, the results show that this plant is currently used for the treatment of various respiratory conditions, to treat viruses such as Chinkungunya and to heal skin wounds.

Antimicrobial properties of the ethanolic extracts of the dry leaves of *Manilkara zapota* and *Tradescantia spathacea* have been observed in species of: a) multi-resistant bacteria to antibiotics that have a great impact on human health (*Staphylococcus sciuri*, *Enterococcus*

gallinarum, *Lactococcus lactis*, *Rothia dentocariosa*, *Streptococcus sanguinis*, *S. infantis*, *Tetragenococcus osmophilus*, *Streptococcus gordonii*, *Granulicatella adiacens*, *Brevibacterium sp* and *Staphylococcus xylosus*); b) bacteria that cause pathologies in domestic animals (*Staphylococcus aureus* and *Mycoplasma agalactiae*) and c) soil denitrifying bacteria (*Paracoccus denitrificans*). In summary, the ethanolic extracts of both plant species may be of interest for the development of drugs to treat infections caused by pathogenic bacteria resistant to conventional antibiotics. The aqueous extracts of both plants do not show antimicrobial activity.

The results of this work indicate that it is necessary to carry out more specific research to determine the scope of the properties of these two plants and their application in human and domestic animal pharmacology, for the treatment of infections caused by bacteria that are multi-resistant to conventional antibiotics. In addition, preliminary data are provided for the use of these plants as inhibitors of microorganisms involved in the denitrification process.

Introducción

Introducción

Desde la época prehispánica, la naturaleza y el medio ambiente han representado un gran papel dentro de toda la cultura mesoamericana. Un claro ejemplo es el que muchas de las sociedades de las diferentes etnias existentes previas al descubrimiento de América y su conquista basaban su vida además de su desarrollo dependiendo de lo que acontecía en su entorno. El área de Mesoamérica, se localiza a nivel central del continente americano, y se caracteriza por ser un territorio rico en recursos naturales (Evans, 2008). Muchas de las etnias de Mesoamérica y de otras regiones del continente mantuvieron, y continúan teniendo, una amplia relación con diversas especies de plantas, que contienen sustancias que pudieron tener influencia terapéutica, así como espiritual (Schults & Hoffmann, 2000). Muchos de los efectos de dichas plantas podrían haber estado influenciados por creencias religiosas de diferentes culturas, generando su veneración (Evans, 2008; Schults & Hoffmann, 2000).

Todas las culturas Mesoamericanas lograron crear y desarrollar varios sistemas de creencias o religiones basándose en características tanto meteorológicas como geofísicas, logrando así moldear cada una de sus deidades, distintivas de cada una de cada una de ellas (Evans, 2008). Es importante destacar que todas estas culturas se dedicaban a observar el medioambiente y sus alrededores con el fin de identificar las necesidades y el estado de los espíritus sagrados (Evans, 2008). Por tanto, es necesario entender, la importancia para estas culturas de cohabitar con el ecosistema en una relación mutua de espiritualidad y mundo natural.

Este trabajo se basa en entender el uso por parte de la cultura maya de dos plantas con propiedades medicinales frente a infecciones bacterianas y en la búsqueda de evidencias que prueben estas propiedades antimicrobianas. Es pertinente entonces, entender el contexto histórico de los mayas desde la época prehispánica, y el desarrollo de la sinergia entre los mayas y su entorno natural.

1.1. Contexto histórico de los mayas

El desarrollo de las civilizaciones en América, sin contacto con el desarrollo en Europa y Asia, ha generado gran fascinación y gran interés a diferentes investigadores a lo largo de la historia. Posterior a que tuvieron lugar las migraciones de poblaciones humanas desde Asia hacia el norte y el sur del continente americano, hace más de doce mil años, las diferentes poblaciones comenzaron un proceso de desarrollo tanto social como cultural logrando así que las sociedades prosperaran y crecieran (Sharer & Traxler, 2006). Usualmente cuando se hace referencia a la gran civilización maya se piensa en grandes ciudades y templos dentro de la selva tropical, en los cuales es posible encontrar grandes estelas (Fig. 1), murales o frisos donde se pueden apreciar imágenes talladas, pinturas donde se representan los grandes rituales o jeroglíficos que aún no se encuentran completamente descifrados (McKillop, 2004). La relación tan estrecha que ha existido entre la cultura maya y la naturaleza ha prevalecido desde el comienzo de la misma civilización maya.

1.1.1. Periodo Arcaico (8000 – 2000 a.C)

El período Arcaico es aquel donde hay una transformación de la vida nómada a hábitos más sedentarios. Esto desencadenó que estos pudieran establecerse durante todo un año en dichas zonas o a largo plazo, y al final de este periodo de forma gradual se llegó a la domesticación de distintas especies, a la agricultura y almacenamiento de recursos. Algunas de las especies que se adaptaron bien a dicha domesticación fue el maíz, el frijol, chiles, calabaza, entre muchas otras especies (Sharer & Traxler, 2006).

1.1.2. Periodo preclásico (2000 a.C – 250 d.C)

Los registros de los asentamientos del área maya muestran que la comunidad se apoyaba en la agricultura de algunas especies como el frijol, la calabaza, aguacate, chile y maíz. Durante el preclásico temprano se establecieron los primeros sitios a lo largo de la costa sur del pacífico de México y Guatemala, en concreto en el área que hoy se conoce como Soconusco (Evans, 2008; Nations, 2006; Schlesinger, 2001).

1.1.2. Periodo Clásico (250 – 900 d.C.)

En este periodo se desarrollan ciudades a lo largo del río Usumacinta, que se encargaban del tráfico de comercio de canoas, donde se comerciaba e intercambiaba recursos de diferentes especies entre ellas se encontraban, plumas de quetzal y guacamaya, pieles de animales, incienso, tabaco y plantas medicinales; algunos ejemplos de estas ciudades son Piedras Negras y Yaxchilán (Fig. 1).

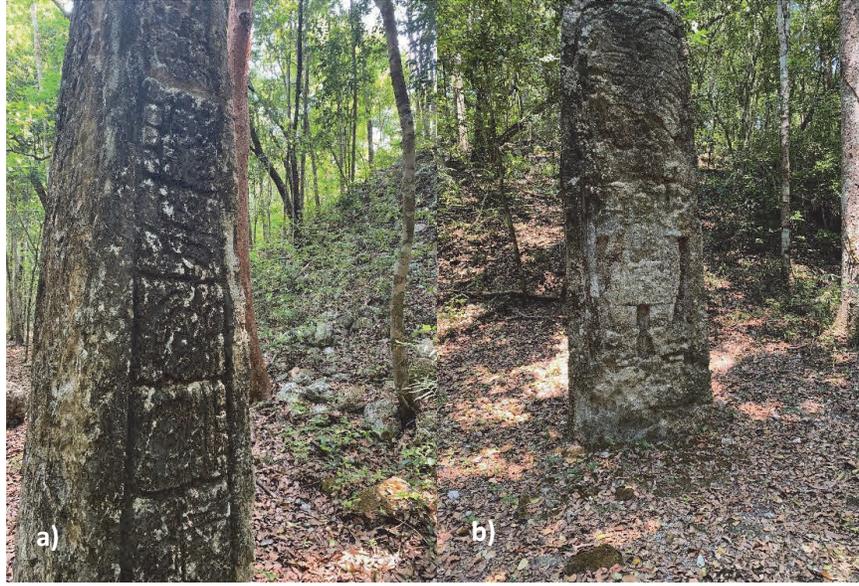


Figura 1. a) Estela Oxpemul en vista lateral; **b)** en vista frontal (Carrera-Kurjenoja, 2021).

1.1.3. Periodo Posclásico (900 d.C.- 1502)

Al norte de la Península de Yucatán, comenzó una gran prosperidad y poder de las ciudades como Uxmal, Kabah, Chichen Itzá. Por el contrario, en el sur comenzó la migración de la población hacia el norte de la Península generando así el auge de las tierras altas mayas (Nations, 2006). Además, comienza el abandono de muchas de las prácticas culturales que fueron importantes durante el periodo clásico, desarrollándose nuevas tradiciones muy influenciadas por la cultura tolteca de la zona central de México, tal como se observa en las prácticas medicinales de los mayas.

1.1.5 Época de la conquista y de la colonia

Se sabe que parte de la influencia que tuvo la conquista dentro de los diferentes grupos indígenas fue la introducción de diversos animales y plantas desconocidos por los nativos americanos, así como de patógenos causantes de diferentes enfermedades desconocidas

para los indígenas. Entre éstos últimos se encontraban, el sarampión, la gripe, la viruela y la peste bubónica, que fueron llevadas por los conquistadores de forma inconsciente y generaron la muerte de la mayor parte de la población indígena, aislada previamente a la conquista (Nations, 2006).

Aunque la conquista cambió cada ámbito de los mayas y de otras civilizaciones de Mesoamérica, muchas de las tradiciones mayas lograron sobrevivir hasta nuestros días, a pesar de la quema de todo el registro escrito maya, bajo la orden de Diego de Landa, causado por la creencia de que todo los escritos y las creencias de los indígenas eran de origen diabólico. De esta lamentable destrucción muy pocos textos lograron sobrevivir hasta ahora, algunos de los ejemplos son el Popol Vuh, Código Dresde, Código Madrid y el Chilam Balam (Evans, 2008; Nations, 2006).

Desde otra perspectiva también el paisaje sufrió modificaciones. Aunque ya los mayas cambiaron su ambiente antes de la llegada de los colonizadores, la presencia de éstos alteró el paisaje y medioambiente de dos formas: a) introduciendo especies del Viejo Mundo, lo que tuvo una gran influencia en la modificación drástica del paisaje y del ambiente; esto se pudo apreciar al transformar las sábanas, selvas tropicales y campos cultivados en pastizales; b) el mantenimiento inicial de los sistemas intensivos de la agricultura que tenían los mayas basados en terrazas, riego y campos elevados, no pudo ser sostenido durante mucho tiempo, debido a la elevada mortalidad por las diferentes enfermedades (Nations, 2006).

Entre las especies que comenzaron a tener influencia y comenzaron a ser cultivadas están la sandía (*Citrullus lanatus*), caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), arroz (*Oryza sativa*), naranjas agrias (*Citrus aurantium*), plátanos (*Musa*), limas (*Citrus × aurantifolia*),

limones (*Citrus × limon*), palmeras cocoteras (*Cocos nucifera*) y mangos (*Mangifera*). Además, la modificación del medioambiente y la introducción de nuevas especies significó un negocio sumamente lucrativo para los colonos y conquistadores españoles, ya que iba ligada a la explotación de la mano de obra de los nativos (Nations, 2006).

1.2 Ecología de la zona maya

El área maya es considerada como una de las zonas con mayor diversidad de especies de flora en el mundo, encontrándose gran variación tanto de flora como de fauna en los bosques tropicales de las zonas bajas mayas. Mucha de la información registrada por los antiguos mayas acerca de su medioambiente y de las especies con los que cohabitaban, fue descrita principalmente durante el periodo clásico, aunque es posible encontrar también información del periodo posclásico en fuentes como el Chilam Balam (Schlesinger, 2001).

Acorde con lo que se puede apreciar y analizar sobre las características ecológicas y físicas de toda la región maya, es posible dividirla en dos, norte y sur. El área norte se localiza en la Península de Yucatán, la cual se caracteriza por ser un terreno plano que se adentra en el mar Caribe. Conforme nos acercamos al norte de las tierras bajas mayas el relieve se vuelve más plano con una vegetación más seca (Nations, 2006).

Al sur de las tierras bajas, el paisaje cambia encontrando desde sabanas hasta humedales bajos, que abarcan desde el estado de Tabasco, la Selva Lacandona al este de estado de Chiapas, en lo que hoy es México, el Petén Guatemalteco y hasta las cercanías del lago Izabal (la actual Guatemala), llegando además hasta Belice, en donde se incluye las montañas mayas. Nations (2006) denomina bosque tropical maya a todos los bosques de las tierras bajas, que son generalmente de pequeño tamaño, éste posee una vegetación muy

variada con selva tropical húmeda, humedales y sabanas tropicales, dominadas por lianas, bromelias y enredaderas (Nations, 2006).

Como resultado de la fragmentación, el aislamiento y los diferentes microclimas que se generaron en Centroamérica hace alrededor de un millón de años, se desarrolló una amplia biodiversidad, en la actualidad alberga el 7% de la diversidad biológica mundial, pero también tuvo como consecuencia una alta tasa de endemismo (Nations, 2006). El bosque tropical maya, posee un rango de bosques muy variado, desde una selva tropical húmeda, que van desde el sureste del estado de Chiapas y el suroeste del Petén, hasta un bosque tropical semideciduo, que abarca desde el sur de la Península de Yucatán hasta el norte del Petén. La Selva Lacandona, localizada en el estado de Chiapas, México, se caracteriza por ser principalmente selva tropical de montaña baja, ubicada entre un bosque de roble y de pino de las tierras altas de Chiapas y el bosque pantanoso de las tierras de Tabasco, ambos en México. El bosque tropical maya, a diferencia de muchos bosques templados, alberga aproximadamente 200 especies diferentes de árboles además de un centenar de diferentes especies de hongos, arbustos, helechos y enredaderas en una sola hectárea de selva (Nations, 2006).

1.2.1 Etnobiología maya

La cultura maya poseía una estrecha relación con su medioambiente jugando un papel muy importante en su religión y vida cotidiana; este gran vínculo con la naturaleza la hizo conocedora de la amplitud de recursos bióticos (Fig. 2). La comunidad maya se desarrolló hace alrededor de 3000 años en un ambiente muy diverso, poseía una estructura social bastante compleja, asociada a la agricultura extensiva, basada en la quema y el barbecho lo

que caracterizaba su homogeneidad además de ser limitante en el entorno del paisaje (Barrera-Bassols & Toledo, 2005).



Figura 2. Casa o choza tradicional maya en Cumpich

Entendiendo la gran diversidad de biomas, que poseen algunas características en común entre las diferentes regiones mayas, es posible determinar los cambios, la inestabilidad y el cambio climático ocurrido a lo largo de diversos periodos de tiempo (Barrera-Bassols & Toledo, 2005; Dunning *et al.*, 1998; Gunn *et al.*, 2002). A pesar de que el conocimiento maya actual es ampliamente conocido el uso de sus especies es muy escaso, apreciándose la vigencia de la cultura tradicional entre los miembros de las diferentes comunidades mayas que gestionan sus paisajes y sus recursos naturales (Barrera-Bassols & Toledo, 2005).

Todas las comunidades mayas actuales practican la horticultura, la pesca y caza, así como la extracción de madera y de otros productos del bosque. La mayoría de los miembros de la comunidad se dedican a la agricultura, donde suelen alquilar parcelas de

tierra para el cultivo de milpas, y el principal producto cultivado es el maíz (*Zea mays*); aunque los patrones de cultivo pueden variar ya que se encuentran sujetos a las variaciones microclimáticas y fluctuaciones de las precipitaciones (Atran *et al.*, 2002).

Así como sucede con los atributos de los distintos tipos de suelo, los mayas lograron desarrollar un sistema de clasificación de la vegetación, la cual se basaba en la información del proceso de sucesión ecológica, el potencial agrícola (derivado de los tipos de suelo y en ganancia obtenida en cultivos pasados), además de cómo se manejó la vegetación en procesos de cultivos pasados. Antiguamente toda la economía se basaba primordialmente en el cultivo de maíz, por lo cual generaron un sistema de cultivo conocido como roza, en donde quemaban el monte antes de la tala de árboles y la siembra del grano. Después de un tiempo determinado cambiaban de sitio con la finalidad de regenerar el suelo. Las cosechas dependían únicamente de las lluvias, por lo que se generaba un gran abasto en época de sequía en las grandes ciudades. La alimentación generalmente se complementaba con otras especies como el frijol, el chile, la yuca, le jícama, la calabaza, el camote, tabaco y tomate además de algunos frutos silvestres (Ruz, 2018).



Figure 3. Huerto medicinal en la comunidad de Tankuché, Campeche.

1.2.2 Etnomedicina maya

El conocimiento sobre las propiedades terapéuticas y formas de uso de las plantas ha logrado prevalecer desde la antigüedad hasta nuestros días, a pesar de suponer un riesgo para la iglesia católica durante la conquista. Los mayas actuales han logrado conservar una parte importante del conocimiento tradicional, a pesar de que los registros escritos se perdieron, gracias a la tradición oral que aún existe en cada una de las comunidades, o con la fusión cultural, tal como ocurre en el sincretismo donde se mezcla las creencias mayas junto con las introducidas por los conquistadores, las cuales se encuentran a su vez influenciadas por creencias tanto asiáticas como africanas (Chávez-Guzmán, 2011; Méndez-González *et al.*, 2014; Rodríguez, 2015). La inclusión de las plantas en las prácticas medicinales de las distintas etnias mayas ha sido relevante, ya que su uso tiene un componente físico y espiritual (Atran *et al.*, 2004; Magaña-Alejandro *et al.*, 2010). En países como México o Guatemala con dificultad de acceso a los servicios de salud, el uso

de dichas plantas ha sido habitual en la vida cotidiana en los diferentes grupos étnicos como en los mayas actuales (Atran *et al.*, 2002; Horák *et al.*, 2015). El aprovechamiento de plantas no maderables (Fig. 4) es importante para las personas, los animales domésticos, y para los cultivos (Magaña-Alejandro *et al.*, 2010).

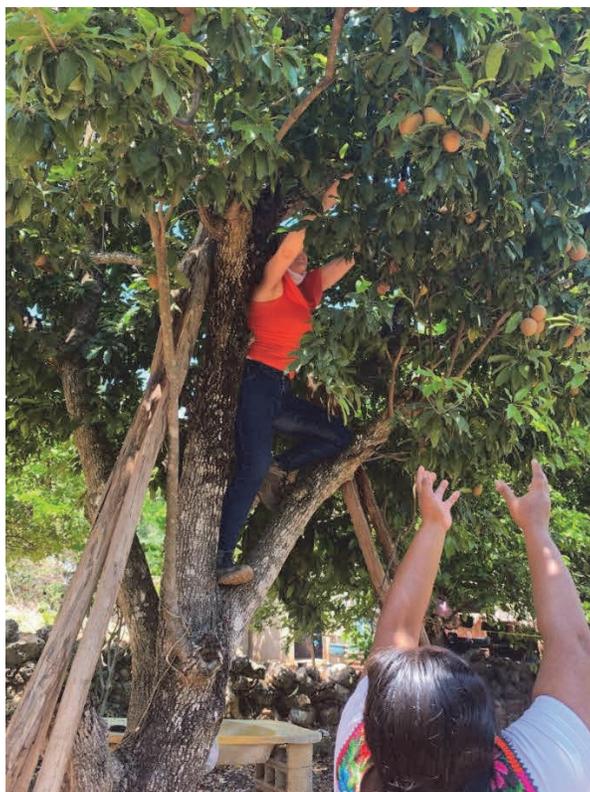


Figura 4. La autora colectando hojas y fruto de *M. zapota*.

En la comunidad de los Lacandones las plantas medicinales son parte esencial de la cultura tradicional, ya sean cultivadas o silvestres, aunque algunas de estas plantas han sido introducidas por los chicleros, colectores de resina de *Manilkara zapota* (Fig. 4) (Cook, 2016). El cultivo de este tipo de plantas además de proveer un beneficio a la salud actualmente ofrece un ingreso económico, debido a su desarrollo creciente en algunas zonas, lo que ayuda a que se adapte a las necesidades familiares de los campesinos.

1.3 Contexto general

En el presente estudio se seleccionó *Manilkara zapota* como especie a analizar, debido a la importancia que tiene dentro de la cultura maya tanto la prehispánica como la actual. Se trata de una especie que ha sido utilizada desde la antigüedad para la producción de chicle y que actualmente se consume su fruto. Por otra parte, *Tradescantia spathacea*, es una planta de ornamentación de las diferentes comunidades mayas que habitan la Península de Yucatán, observándose poca información sobre su uso como medicamento.

1.3.1 Manilkara zapota

Manilkara zapota es una especie perteneciente a la familia Sapotaceae, la cual se encuentra conformada por aproximadamente 800 especies divididas en 65 géneros, distribuidos en regiones tropicales de África, América y Asia. El género *Manilkara* se encuentra constituida por al menos 32 especies (la taxonomía aún se encuentra en debate entre los distintos autores), las cuales poseen un gran valor comercial y económico. Es una especie que tiende a ser de tamaño mediano a grande, pudiendo llegar hasta los 30 metros de altura. Suele presentar una copa casi redonda y densa, que se encuentra formada por un profuso sistema de ramificación. Presentan un grupo de raíces que se suelen encontrar a 75 cm debajo de la tierra, las hojas suelen ser perennes y se encuentran dispuestos en forma de espiral que pueden llegar a alcanzar hasta los 12 cm de largo y de un color verde claro a oscuro. Suele presentar flores de tamaño pequeño, con forma de campana que llegan a alcanzar los 10 mm de diámetro, que brotan de forma solitaria o en racimos en las axilas de las hojas, cercanas a las puntas de las ramas. La especie da como frutos unas bayas de color marrón, con forma redonda u ovalada y que puede llegar a tener entre 5 y 10 cm de ancho. Dicho fruto puede presentar o no semillas, si las tiene aparecen en un número de 3 a 12 con

una coloración negra o marrón y un margen de color blanco (Fig. 5) (Mehnaz & Bilal, 2017). Según la Biblioteca de la medicina tradicional mexicana de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM, 2021), *Manilkara zapota* (chicozapote) se emplea para el tratamiento en problemas digestivos, principalmente la disentería; también registran su uso para tratar dolores generales, insomnio, enfermedades de la sangre, para problemas vaginales como flujo y hemorragias, para el tratamiento de heridas, caída del cabello, como diurético, tuberculosis.

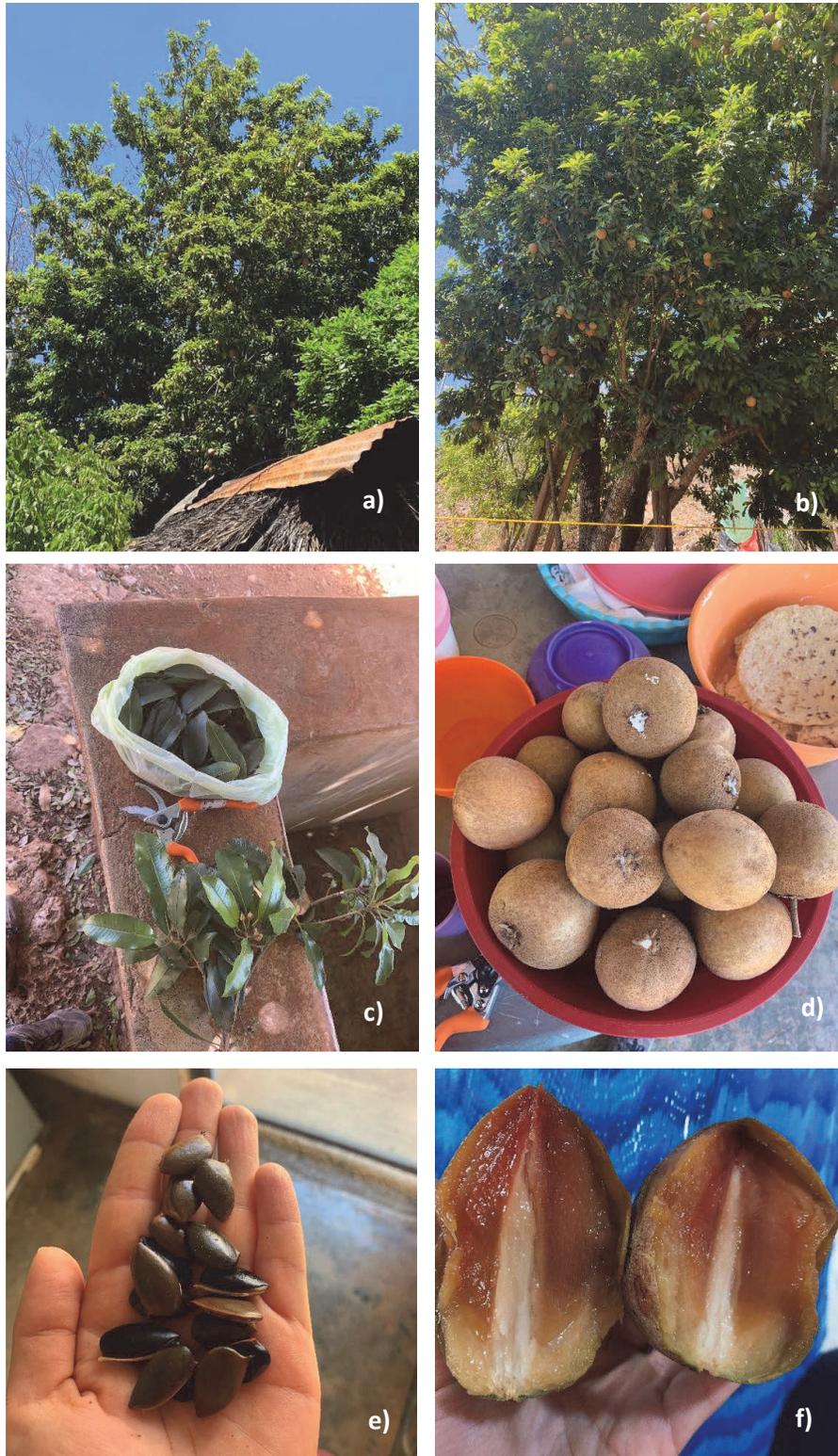


Figura 5. a) y b) Árbol de *M. zapota* junto a choza en Tinún y San Vicente Cumpich, Campeche. c) Hojas de *M. zapota* cortadas para hacer infusión. d) Bandeja de frutos de *M. zapota* para consumo en San Vicente Cumpich, Campeche. e) Semillas de *M. zapota* de variedad silvestre. f) Interior de un fruto de variedad cultivada sin semillas de *M. zapota* en Tinún y Tankuché, Campeche.

1.3.2 *Tradescantia spathacea*

Tradescantia spathacea es una especie perteneciente a la familia Commelinaceae, al género *Tradescantia*, conformada por aproximadamente 70 especies (Funez *et al.*, 2016). Se encuentra de forma endémica en México, América central y las Indias occidentales, tanto en bosques naturales como en áreas urbanas, aunque en la actualidad ha sido introducida en diferentes regiones tropicales y subtropicales. Es una especie suculenta, que posee una forma mullida gracias a las hojas lanceoladas que posee, las cuales llegan a medir hasta 30 cm de largo y presentan dos tonalidades, el haz posee un color verde, mientras que en envés tiene un color purpura (Bercu, 2013). Usualmente *Tradescantia spathacea* (también llamado maguey morado) es una planta que se utiliza para controlar la hemorragia menstrual, cuando esta es irregular (UNAM, 2022).

1.3.3 *Revisión bibliográfica convencional y revisión sistemática*

A la hora de afrontar una revisión de la literatura científica sobre un tema concreto se puede optar por una revisión convencional/tradicional o por una revisión sistemática.

Una revisión sistemática es un resumen de la literatura científica que utiliza métodos explícitos y reproducibles para buscar sistemáticamente, evaluar críticamente y sintetizar sobre un tema específico. La búsqueda bibliográfica, que debe diseñarse para que sea robusta y reproducible para garantizar la minimización del sesgo, sintetiza los resultados de múltiples estudios primarios relacionados entre sí. Para ello se evalúan y sintetizan todos los datos aportados por dicha búsqueda, presentando la estrategia de búsqueda, las bases de datos consultadas y las publicaciones incluidas y excluidas (Munn *et al.*, 2018).

Las revisiones sistemáticas pueden significar una fuente importante de evidencia para investigadores, quienes, mediante una combinación de diferentes términos, logran recabar información sobre un método de investigación, un tema concreto, o incluso un diseño específico de estudio (Salvador-Oliván *et al.*, 2021). La aplicación de filtros ayuda a incrementar la eficiencia en la búsqueda produciendo así un resultado más completo que la revisión convencional. Acorde con la declaración PRISMA, se debe incluir la explicación sobre los criterios de inclusión y exclusión (Moher, 2015).

La realización de una revisión bibliográfica convencional supone un paso importante en el momento de realizar una investigación, ya sea cualitativa como cuantitativa, en la que se recopila, evalúa críticamente, se constituyen y presentan diversos estudios que se encuentran relacionados con la cuestión planteada de investigación (Onwuegbuzie *et al.*, 2012; Pati & Lorusso, 2018). Usualmente una revisión bibliográfica proporciona una forma de evaluación con mayores estándares tanto de magnitud como de calidad sobre la evidencia ya existente (Pati & Lorusso, 2018). Este tipo de revisiones proporcionan en general un panorama sobre el estado del arte de un área o tema académico en concreto; según el enfoque que se le dé a dicha revisión esta puede ser integradora, histórica, metodológica, argumentativa y sistemática, la cual puede basarse en diferentes fuentes (Jahan *et al.*, 2016).

Para la elaboración de los capítulos 1 y 2 se ha optado por ambos tipos de revisión. Por una parte, una revisión de fuentes históricas para conocer los usos tradicionales de las dos especies de plantas que son objeto de estudio en esta tesis. Adicionalmente se ha realizado una revisión sistemática para acceder a estudios recientes sobre los usos de estas especies.

1.3.4 Entrevistas

Las entrevistas se definen como un instrumento por el cual se desarrolla una investigación cualitativa, que busca obtener datos que posteriormente pueden ser aplicados a una investigación en proceso (Lopezosa, 2020). Una entrevista semiestructurada es un tipo de encuesta en donde hay una mínima rigidez en cuanto a la estructura de esta se refiere, ya que, a pesar de estar establecidas las preguntas, el entrevistado no se encuentra limitado por una respuesta específica, si no que tiene más posibilidad de ampliar la respuesta (Lopezosa, 2020).

El uso de entrevistas con el fin de recopilar información sobre un tema en concreto no es algo nuevo, sin embargo, se ha transformado en una técnica importante para obtenerla; debido a lo antes mencionado existen diversos tipos de entrevistas que buscan obtener determinado tipo de información (Stockemer, 2019). En el caso de esta investigación se determinó primero el tipo de comunidad y participantes a entrevistar, para posteriormente desarrollar un cuestionario en base a lo que se quería conocer, en este caso el conocimiento sobre el uso tradicional de las plantas medicinales.

1.3.5 Obtención de organismos para ensayo antimicrobiano:

1.3.5.1 Obtención de bacterias multirresistentes de insectos.

Se obtuvieron bacterias procedentes del cepario del Departamento de Zoología y Antropología Física de la Universidad de Murcia y de la spin-off ArthropoTech, obtenidas a partir del tracto digestivo de insectos y con una elevada tasa de resistencia a antibióticos.

1.3.5.2 Obtención de bacterias del biofilm oral humano.

Para determinar el impacto que tienen las plantas en las bacterias orales, se desarrolló una toma de muestras dentro del departamento de Biología Animal de la Universidad de Murcia. La toma de las muestras fue de forma voluntaria y una vez tomadas se aislaron, se sembraron en medio de cultivo líquido para después ser empleadas en pruebas antimicrobianas y demostrar las propiedades de las plantas contra este tipo de microorganismos.

1.3.5.3 Obtención de bacterias que causan infecciones en animales domésticos

Para determinar el efecto antimicrobiano de los extractos de las plantas analizadas en esta tesis sobre bacterias que causan infecciones en especies de interés ganadero se han usado cepas de *Staphylococcus aureus*, procedentes de cabra y de coneja con síntomas de mastitis y cepas de *Mycoplasma agalactiae*, procedentes de oveja con agalaxia contagiosa, que es una enfermedad que causa cuadros de mastitis, artritis y queratoconjuntivitis.

1.3.6 Ensayos antimicrobianos con una cepa comercial de Staphylococcus aureus.

Se adquirió una cepa comercial de *Staphylococcus aureus*, que sirvió como referencia en el estudio sobre el efecto antimicrobiano de ambas especies de plantas.

1.4 Hipótesis

Distintas fuentes etnográficas como el Popol Vuh, el libro sagrado de los mayas K'iche de Guatemala, The Maya Tropical Forest (Nations, 2006) y Animals & Plants of the Ancient Maya (Schlesinger, 2001) describen el uso de *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota*, como plantas medicinales maya de la Península de Yucatán desde la época

prehispánica hasta la contemporánea, en contexto medicinal y herbolario, formando una parte importante dentro de la farmacopea maya. Como se han demostrado principios antibacterianos en estudios previos de estas plantas (García-Varela *et al.*, 2015; Kaneria & Chanda, 2012), la hipótesis de partida de este trabajo es que ambas plantas muestran actividad antimicrobiana frente a bacterias patógenas multirresistentes procedentes de insectos, del biofilm oral, en bacterias patógenas que tienen un alto impacto en la ganadería y bacterias del suelo con impacto en la agricultura.

1.5 Objetivo general

Los principales objetivos de este trabajo son:

- a) Documentar el uso medicinal de ambas plantas desde época prehispanica maya hasta la actualidad;
- b) Analizar las propiedades antimicrobianas de las mismas con el fin de ampliar el conocimiento de esta actividad. Para conseguir estos objetivos se pretende:
 1. Revisar documentalmente el uso de *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota* en las prácticas curativas mayas en la época prehispanica de la Península de Yucatán.
 2. Describir el uso actual de *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota* en las comunidades mayas de la Península de Yucatán a través de entrevistas semiestructuradas.
 3. Comparar los usos medicinales de estas especies por los mayas de la época prehispanica con sus usos actuales dentro de las pequeñas etnias de la Península de Yucatán.
 4. Realizar una revisión sistemática para analizar las diversas propiedades estudiadas tanto de *Manilkara zapota* como de *Tradescantia spathacea*.
 5. Realizar diferentes pruebas para poder corroborar la actividad antimicrobiana de ambas especies sobre diferentes tipos de bacterias.

1.6 Justificación

En los años recientes, el número de investigaciones acerca de la medicina tradicional maya y de sus usos tanto actuales como del pasado han aumentado. Para los antiguos mayas la naturaleza y las plantas eran una parte importante de su cosmología y de su forma de vida, Por otro lado, se ha documentado que diversas especies hoy día comúnmente empleadas en las sociedades actuales mayas de México, Guatemala y Belice poseen diversas propiedades ya sea como abortivos, antiinflamatorias, antivirales y en el tratamiento de distintos padecimientos cutáneos (Sharma *et al.*, 2017). Mediante la investigación del uso curativo tanto de *Tradescantia spathacea* como de *Manilkara zapota* y de sus propiedades medicinales, este proyecto contribuirá a la recuperación del conocimiento medicinal de los mayas, pudiendo aplicarse tanto a) como posible sustituto de antibióticos en el tratamiento de bacterias multirresistentes procedentes del tracto digestivo de insectos; b) como en bacterias que afectan al ganado, patógenos orales y aquellas que pueden actuar sobre la agricultura.

Parte I. Etnobotánica Maya

Metodología general de la Parte I

A) Revisión bibliográfica

1) De fuentes históricas

Se han revisado obras históricas, una de ellas disponible en formato electrónico perteneciente a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y el resto a través de diferentes artículos en formato electrónico en diversas bases de datos y algunas en formato físico pertenecientes al laboratorio de arqueología del Centro de Investigaciones Históricas y Sociales de la Universidad Autónoma de Campeche (UAC). Se revisaron, además, otras fuentes de distinta procedencia.

2) Revisión sistemática

Se buscaron diversos artículos en las bases de datos Google Scholar, Scopus, Pubmed y Web of Science. Aunque al inicio no se estableció un rango de tiempo para delimitar la búsqueda, después se seleccionaron los resultados publicados en inglés y español en el rango de tiempo entre los años 2010 y 2022. Se corroboró el nombre científico en la base de datos World Flora Online (<http://www.worldfloraonline.org/>).

a) *Manilkara zapota*

El algoritmo para el desarrollo de la búsqueda se basó en la combinación del nombre científico “*Manilkara zapota*” junto con los siguientes nombres comunes “chicozapote”, “chicle”, “chickle tree” y “sapodilla” junto con los términos “traditional”, “ethnomedical”, “ethnobotany”, “ethnopharmacological”. Para poder obtener resultados más específicos y relacionados a nuevas propiedades adjudicadas a *Manilkara zapota*, se utilizaron los términos “medical” y “phytochemical”. Se aplicaron los conectores booleanos “OR” para que los resultados presentados estuvieran relacionados a los nombres dados a esta especie y “AND” para que los resultados arrojados se encontraran relacionados a *M. zapota* junto con los diferentes términos que se buscaron. A continuación, se muestra el algoritmo empleado:

(“*Manilkara zapota*” OR “Chicozapote” OR “Chickle gum” OR “Chicle” OR “Sapodilla”) AND (“traditional”) AND (“ethnomedical”) AND (“ethnobotany”) AND (“ethnopharmacological”) AND (“antimicrobial”) AND (“tooth enamel”)

Como búsqueda secundaria se modificó el algoritmo, en el cual se conservó el nombre científico y los nombres comunes, modificando así los siguientes términos adicionales. Dichos términos fueron modificados por “dental”, “antimicrobial”, “anticancer”, “tooth enamel”, “antiinflamatorio”, para obtener datos sobre la funcionalidad de esta especie (Fig.1). Se empleó el siguiente algoritmo para lograr información complementar a la búsqueda inicial:

(“*Manilkara zapota*” OR “*Chicozapote*” OR “*Chickle gum*” OR “*Chicle*” OR “*Sapodilla*”) AND (“*traditional*”) donde se repitió la búsqueda solo sustituyendo “*traditional*” por el resto de los términos.

Se seleccionaron 35 artículos, en este intervalo de tiempo, de las cuatro bases de datos de investigación relevante sobre *Manilkara zapota* (Fig. 2).

b) *Tradescantia spathacea*

Se desarrolló un algoritmo de búsqueda basado en palabras clave representativas de las diferentes propiedades que se le pueden atribuir a *T. spathacea*. En el primer algoritmo se introdujeron los nombres científicos “*Tradescantia spathacea*”, “*Rhoeo discolor*” junto con los nombres más comunes empleados para esta especie siendo los siguientes términos “Maguey morado” y “Magueyito morado”. Posteriormente se agregaron los términos “*traditional*”, “*ethnomedical*”, “*ethnobotany*”, “*ethnopharmacological*”, “*antimicrobial*” y “*tooth enamel*”. Se muestra a continuación el algoritmo desarrollado para esta búsqueda:

(“*Tradescantia spathacea*” OR “*Rhoeo discolor*” OR “*Maguey morado*” OR “*Magueyito morado*”) AND (“*traditional*”) AND (“*ethnomedical*”) AND (“*ethnobotany*”) AND (“*ethnopharmacological*”) AND (“*antimicrobial*”) AND (“*tooth enamel*”)

Posteriormente se intentó una segunda búsqueda en la cual se volvió a poner el mismo patrón antes mencionado introduciendo los nombres científicos “*Tradescantia spathacea*” y “*Rhoeo discolor*” junto con los nombres comunes “Maguey morado” y “Magueyito morado”, y un tema secundario para realizar la búsqueda, el término “*traditional*”. A continuación, se muestra un ejemplo del algoritmo empleado:

(“*Tradescantia spathacea*” OR “*Rhoeo discolor*” OR “*Maguey morado*” OR “*Magueyito morado*”) AND (“*traditional*”) repitiendo la búsqueda sustituyendo "*traditional*" por el resto de los términos (Fig. 3).

Dentro de las 4 bases de datos se escogieron 30 artículos que incluían las palabras claves, que abarcaban desde 2010-2021 y ofrecían relevante investigación sobre *Tradescantia spathacea* (Fig. 4).



Figura 1. Representación gráfica del algoritmo de búsqueda empleado. Combinando *Manilkara zapota* junto con los términos empleados para una búsqueda más específica.

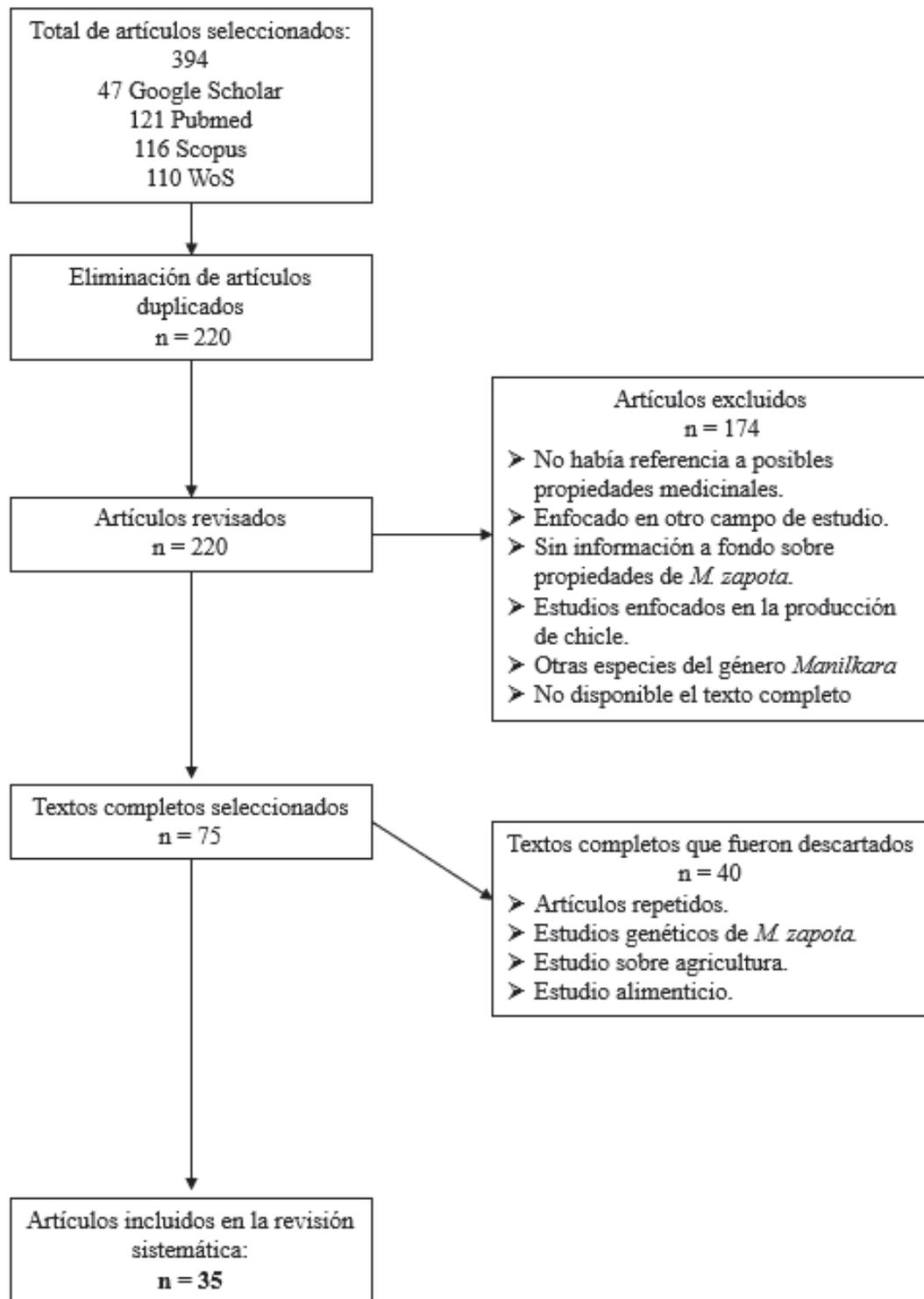


Figura 2. Diagrama de flujo de búsqueda en bases de datos sobre artículos sobre usos y propiedades medicinales de *Manilkara zapota*.



Figura 3. Representación gráfica del algoritmo de búsqueda empleado. Combinando *Tradescantia spathacea* junto con los términos empleados para una búsqueda más específica.

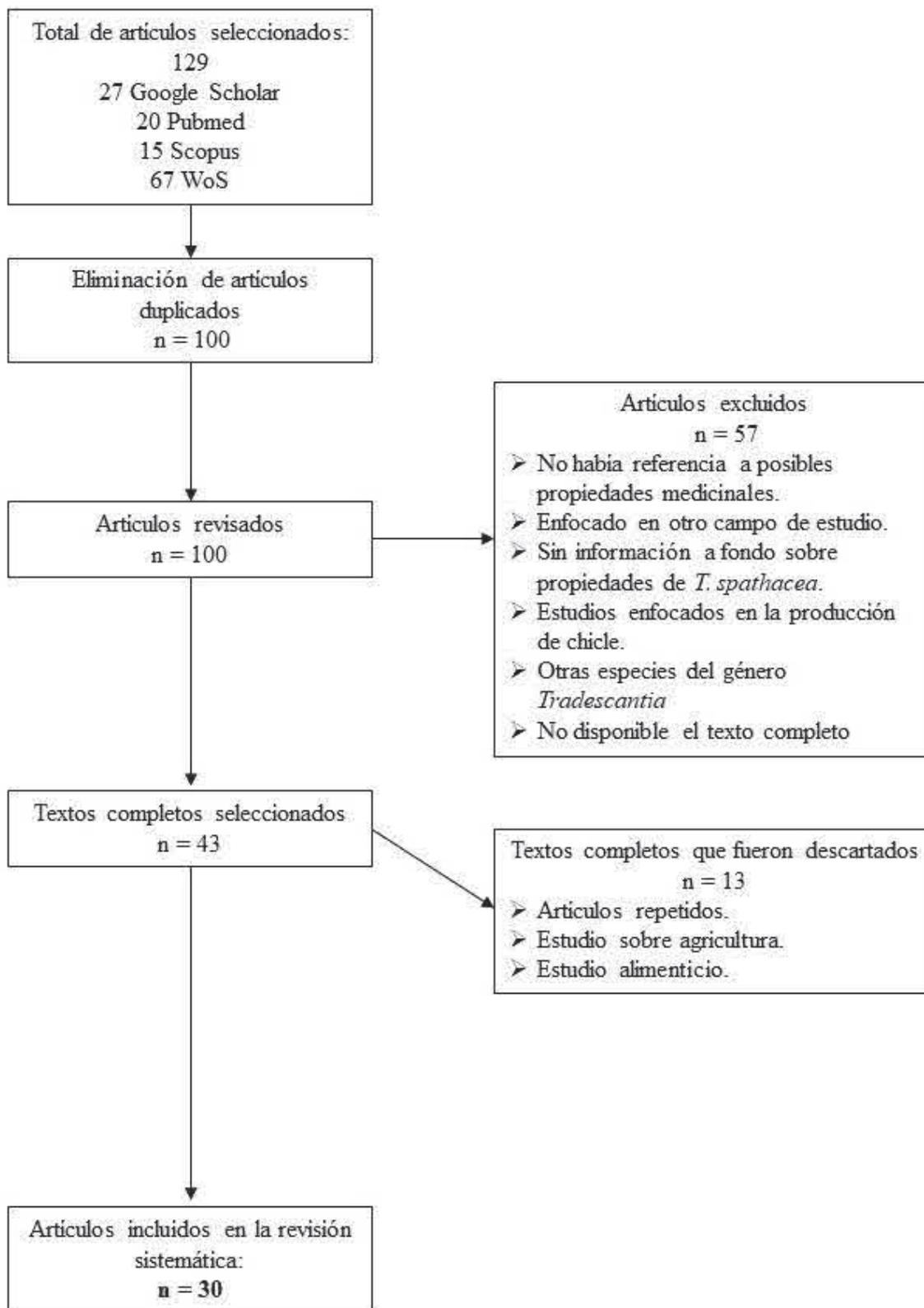


Figura 4. Diagrama de flujo de búsqueda en bases de datos sobre artículos sobre usos y propiedades medicinales de *Tradescantia spathacea*.

B) Estudio de las poblaciones del área de Campeche

1) Descripción del área de estudio

La investigación se llevó a cabo en 3 comunidades con alta presencia de población indígena maya dentro del estado de Campeche. Este se encuentra localizado en el sureste de México, ubicado entre los paralelos 17° 49' 01" y 20° 51' 37" N y 89° 05' 20" y 92° 28' 21" O, colindando al norte con el Estado de Yucatán, al sur con Tabasco y Guatemala, al este con el estado de Quintana Roo y Belice y, por último, al oeste con el Golfo de México y con parte de Tabasco (IEEC, 2003).

Dentro del estado de Campeche se seleccionaron los tres municipios con mayor población indígena maya, estos son: el Municipio de Calkiní, Hechelchakán y Tenabo. El municipio de **Calkiní** se encuentra ubicado al noreste del estado, colindando tanto el norte como al este con el estado de Yucatán y al oeste con el Golfo de México. Dentro de dicho municipio se escogió la comunidad de **Tankuché**, ésta es casi en su totalidad maya hablante. Esta comunidad cuenta con diversas reservas ecológicas y ojos de agua y suelen cultivar el guano para tejer sombreros. El segundo municipio fue **Hechelchakán**, localizado también al noreste del estado, colindando al norte con el municipio de Calkiní, al sur con el municipio de Tenabo, al oeste con el Golfo de México y colindando al este tanto con el municipio de Hopelchén como con el estado de Yucatán. Dentro de dicho municipio de seleccionó la comunidad de **Cumpich**, la cual también es casi en su totalidad maya hablante. Se caracteriza por poseer un cenote que se encuentra en el medio de la comunidad. El último municipio fue **Tenabo**, la cual se ubica también al noreste del estado, colindando al norte con el municipio de Hechelchakán, en el oeste con el Golfo de México, al sur con el municipio de Campeche y al este con el municipio de Hopelchén. Dentro de este último municipio de escogió la comunidad de **Tinún**, siendo el idioma español el más predominante (Fig. 5).

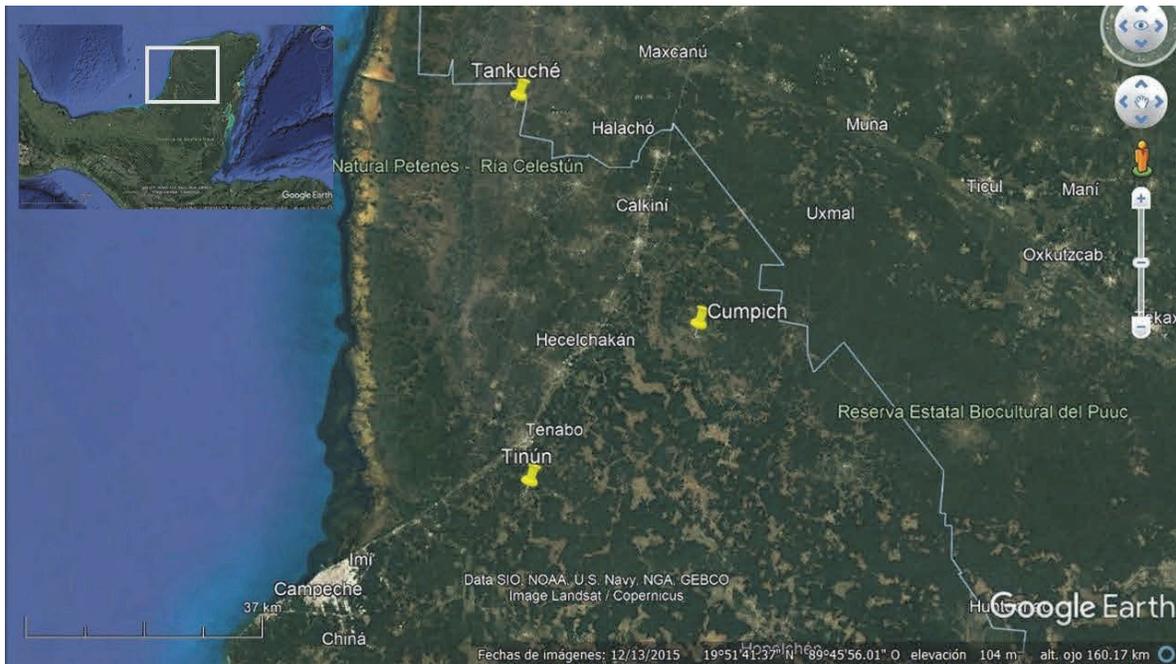


Figura 5. Mapa del estado de Campeche. Ubicación de las tres comunidades donde se realizó la recolecta de datos. (Google, 2021)

2) Colecta de datos

Se realizaron 100 entrevistas en la zona norte del estado de Campeche, en donde aún habitan comunidades de origen maya. Se seleccionaron tres comunidades distintas en base al porcentaje de habitantes de origen maya que aún habita cada comunidad, según el catálogo de comunidades indígenas realizado por la Universidad Autónoma de Campeche, en el cual se pudo consultar las comunidades que aún practican y tienen arraigado el uso de plantas dentro de las diferentes prácticas medicinales. Se aplicaron cuestionarios semiestructurados (Anexo I) en los cuales se les pedía a las personas que contestaran cuestiones acerca de los usos de *Tradescantia spathacea* además de describir la forma de uso.

Para la realización de las entrevistas se obtuvo autorización de la Comisión de Ética de Investigación (CEI) de la Universidad de Murcia, de los Responsables de cada comunidad y también se obtuvo el consentimiento informado de cada uno de los participantes llevándose a cabo de forma voluntaria (Gutiérrez, 2021).

3) Demografía de los participantes de las comunidades mayas

Se realizaron un total de 100 entrevistas a lo largo de las tres comunidades seleccionadas, las cuales incluyeron 61 mujeres y 39 hombres. Acorde con los datos demográficos obtenidos durante las entrevistas se categorizó a los individuos en diferentes grupos, como se muestra en la Figura 1. En esta investigación la participación de mujeres fue mayor que la de hombres, esto se debe a que la mayoría de los hombres se encontraban trabajando en el campo a la hora de las entrevistas. La mayoría de las personas entrevistadas hablaban maya y español, aunque había casos en los que no hablaban maya, sólo español. La mayoría de los datos sobre el conocimiento tradicional de *M. zapota* y *Tradescantia spathacea* fueron aportados por los participantes mayores de 60 años.

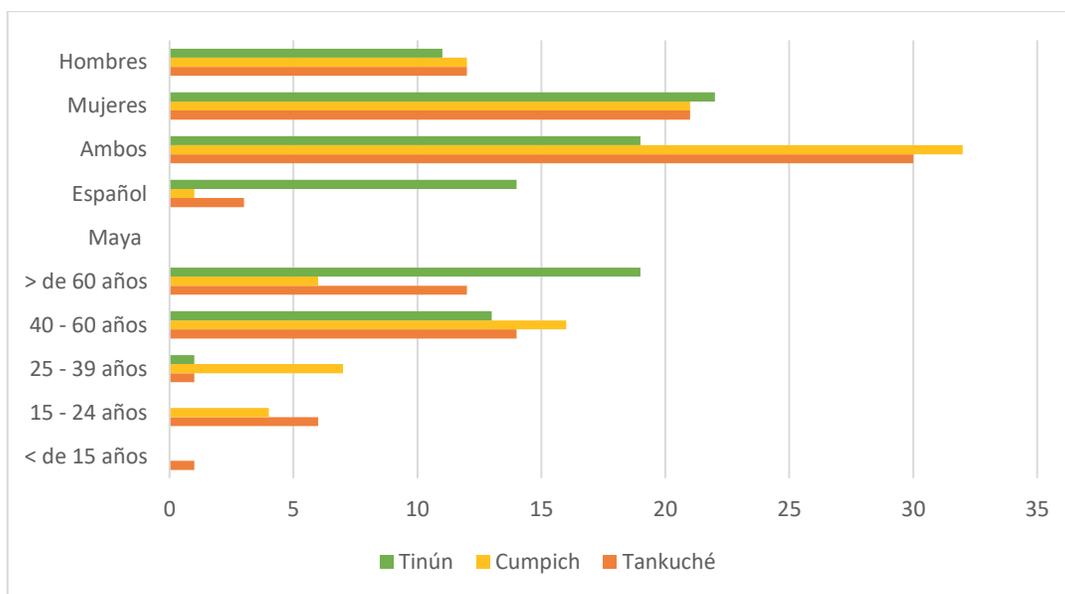


Figura 6. Demografía de los entrevistados

Capítulo 1. Uso tradicional de *Manilkara zapota* (L.) P. Royen en comunidades mayas: del pasado al presente, a través de una mirada en el Campeche.

Uso tradicional de *Manilkara zapota* (L.) P. Royen en comunidades mayas: del pasado al presente, a través de una mirada en el Campeche.

Resumen

La civilización maya es un ejemplo de cómo, desde el periodo prehispánico hasta la actualidad, la naturaleza está integrada en el desarrollo sociocultural de esta civilización formando parte importante de sus creencias (dios del maíz, dios del cacao, etc.) y de su supervivencia. Llegaron a desarrollar un gran conocimiento sobre los fines terapéuticos de diversas especies de plantas que han sobrevivido gracias a la tradición oral y la continuidad en su uso. Una de estas plantas, *Manilkara zapota*, se encuentra de manera silvestre en el sur de México, el Caribe y Centroamérica.

Para conocer los usos medicinales que se le da a *Manilkara zapota* en la civilización maya se realizó a) una revisión bibliográfica histórica y sistemática, y b) una investigación, mediante encuestas, desarrollada en tres comunidades mayas actuales del estado de Campeche (México). Los resultados de ambos análisis indican que en la actualidad dicha planta tiene un uso antimicrobiano y antipirético, además de aplicarse contra problemas artríticos, o como alivio de problemas gastrointestinales y dolores abdominales de origen menstrual. La literatura también reporta su uso como agente antioxidante, antifúngico y citotóxico (en diferentes tipos de cáncer y mucoadhesivo) o frente a la VIH transcriptasa inversa. Esta información obtenida pone de manifiesto la necesidad de desarrollar nuevos enfoques desde el punto de vista farmacológico, microbiológicos y bioquímicos que evalúen el alcance real de las propiedades reportadas.

Introducción

Las plantas han habitado nuestro planeta desde hace más de 470 millones de años, pero en el breve tiempo geológico de coexistencia con el humano, las plantas nos han ofrecido múltiples servicios como servir de fuente de alimento, de cobijo y de combustible, así como de medicamentos para combatir enfermedades. Por otra parte, ofrecen servicios ecosistémicos de regulación del clima y la calidad del aire, así como el almacenamiento de dióxido de carbono y la liberación del oxígeno. *Manilkara zapota* (L.) P. Royen, es una especie perteneciente a la familia Sapotaceae; el género *Manilkara* se encuentra conformado por 70 especies distribuidas a lo largo de diversas regiones tropicales del planeta (Liu *et al.*, 2019). *M. zapota*, es comúnmente conocida en español como *chicozapote*, *árbol del chicle*, *sapota*, *sapoti*; y en inglés se la denomina *chicle tree*, *naseberry*, *common naseberry* o *chickle gum*; en francés recibe los nombres de *sapodilla*, *sapoti*, *sapotille*, *sapotille commun*, mientras que en indio es conocida como *chiku* y en lao se la llama *lomut*. En portugués se la denomina *ciku*.

El área maya es una de las zonas más diversas de Mesoamérica y en general del mundo, lo que significa que los antiguos mayas tuvieron un gran éxito en la domesticación de las plantas (Geck *et al.*, 2020). Lograron desarrollar un gran conocimiento sobre los fines terapéuticos que tienen las diferentes especies de plantas, sobreviviendo gracias a la tradición oral y la continuidad en su uso (Rodríguez, 2015). El presente trabajo tiene como finalidad recopilar información acerca de las propiedades farmacológicas y el tradicional uso medicinal de *M. zapota* comparando las fuentes bibliográficas con la información obtenida de tres comunidades mayas actuales del estado de Campeche, México.



Figura 10. A) Árbol de Manilkara zapota con fruto; B) Fruto de Manilkara zapota (Carrera-Kurjenoja, 2021).

Resultados

A) Revisión bibliográfica

A.1. Fuentes históricas

Dentro de la revisión de las diferentes fuentes históricas se pudo observar la importancia que tuvo *M. zapota* dentro de los diferentes grupos indígenas durante la época prehispánica. La primera fuente revisada fue la obra de Fray Bernardino de Sahagún, “Historia General de las cosas de la Nueva España” o Códice Florentino (2019). En el libro XI de su obra Sahagún se refiere a *M. zapota* como una especie, de la cual se aprovechaba su fruto como alimento y la cual se describe como un fruto dulce y originario de zonas de clima caliente. Se hace referencia a *Manilkara* de la siguiente forma: “*Hay otros árboles que se llaman xicotzapotl, (y) llámanlos los españoles peruétanos. Son muy dulces y buenos para comer; hácense en tierra cliente*” (Sahagún, 2019). Otra fuente consultada es el Popol Vuh, libro sagrado de los mayas K’iche de Guatemala, dentro del cual se hace

referencia a los zapotes como una fuente de alimento: “*Así, pues, se alegraron, pues, por el descubrimiento de la hermosa montaña] llena de dulzuras tupida de elotes amarillos de elotes blancos tupida también de pataxte de cacao incontables zapotes anonas jocotes nances matasanos miel.*” (Anónimo, 2019). Por otro lado, en la obra *Relaciones históricas-geográficas de la gobernación de Yucatán* (De la Garza, 1983) se refiere a *M. zapota* como un fruto de consumo común en las diferentes localidades ubicadas dentro de lo que hoy se conoce como el estado de Yucatán. A pesar de ser un fruto que se consume de forma frecuente, este solía y suele encontrarse en el monte, donde los habitantes suelen ir a recolectar los frutos para su consumo.

Así mismo, Lundell (1937), menciona que el látex que se obtenía del tronco de *M. zapota* se explotaba para la producción de chicle o goma de mascar, el cual se obtenía golpeando el tronco hasta conseguir el látex. Además, en la obra *Jardín de la selva maya* (Nigh & Ford, 2019) se menciona a *M. zapota* como uno de los árboles privilegiados dentro de Mesoamérica y de la cultura maya.

En cuanto al uso medicinal, Gubler (2014) en su obra *Yerbas y hechicerías de Yucatán*, realiza una recopilación a través de diversas fuentes sobre los usos tradicionales medicinales. En esta obra se registra el uso de esta especie para problemas muy diversos, como eliminar jaquecas y/o dolores de cabeza, disminuir la fiebre, alivio de diferentes problemas estomacales y digestivos, renales, o de oídos, para tratar la “hijada”, la “ciática” y los “empeines”, las “quartanas”, así como para tratar quemaduras, reducir flatulencias y aliviar úlceras. Además, la Biblioteca digital de la medicina tradicional de la UNAM (2020), registra que *M. zapota* ha sido empleada para el tratamiento de problemas digestivos, específicamente para tratar la disentería y las diarreas. Esto último puede

corroborarse con la información registrada en la obra *Plants of the Petén Itza' Maya* (Atran *et. jal.*, 2004). Se puede apreciar en el estudio presentado por Magaña-Alejandro *et al.* (2010), realizado en una comunidad maya-Chontal, en el estado de Tabasco, que el uso que se le da a las hojas y la corteza de *M. zapota* como medicamento principalmente es para tratar la diabetes como también para desinflamar el estómago. Mientras que Geck *et al.*, (2020), realizó un estudio en diferentes comunidades mayas actuales, reportó que dentro de 7 comunidades mencionaron su uso para tratar padecimientos digestivos. En el estudio publicado por Cook (2016), realizado en comunidades de mayas Lacandones, reporta que se emplea para tratar la hinchazón de la cara, conocida por los pobladores como 'Chupul uwich'.

A.2 Revisión sistemática

Propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antifúngicas de la planta a partir de diferentes partes de la misma (Tabla 1):

a) Semillas de la planta:

Kothari & Seshadri (2010) analizaron propiedades antibacterianas de las semillas de *M. zapota*, demostrando que los extractos de acetona de esta planta tienen amplia actividad antibacteriana, tanto Grampositivas como Gram-negativas. Ese mismo año en otro artículo, Kothari *et al.* (2010), analizaron la actividad antioxidante de semillas de *M. zapota* determinando los radicales libres, su actividad depuradora y capacidad de inhibición de la peroxidación lipídica, además de estimar los contenidos totales de fenoles y flavonoides. Sus resultados demostraron que la actividad antioxidante se encontraba correlacionada con los contenidos fenólicos. También el extracto de semilla de esta planta en cloroformo-metanol mostró capacidad antioxidante.

Así mismo, Shanmugapriya *et al.* (2011), evaluaron los componentes fitoquímicos y la actividad antimicrobiana de las semillas de *M. zapota* en distintos solventes obteniendo alcaloides, taninos, flavonoides, saponinas y compuestos fenólicos en esta planta. Además, analizaron la actividad antimicrobiana mediante difusión de agar en seis cepas bacterianas y cuatro fúngicas, obteniendo respuesta positiva en extractos de acetona y etanol.

Otari *et al.* (2014), presentaron un estudio en el cual, a través de la síntesis de nanopartículas de plata a partir del extracto acuoso de las semillas de *M. zapota*, determinaron su posible uso contra especies del género *Candida*. Obtuvieron que la síntesis de estas nanopartículas tuvo una buena respuesta inhibidora contra hongos pertenecientes a dicho género.

Srinivasa Babu *et al.* (2017) evaluaron la actividad antifúngica de *M. zapota* frente a *Candida albicans* y *Aspergillus niger*. El extracto hidroalcohólico de las semillas de esta especie mostró un amplio espectro de actividad antifúngica, incluso en concentraciones muy bajas, con lo cual pudieron concluir que *M. zapota* posee una gran acción antifúngica.

b) Hojas y corteza de la planta

Chanda & Nagani (2010) estudiaron las propiedades antioxidantes de los diferentes solventes que se encuentran presentes en las hojas de *M. zapota* demostrando que el extracto de acetona poseía una actividad antimicrobiana significativa en comparación con los extractos realizados con otros solventes. En este estudio se concluye que el extracto de acetona de las hojas de *M. zapota* posee propiedades antimicrobianas y antioxidantes, sugiriendo que los extractos de esta planta pueden tener una gran aplicación en las industrias terapéutica, farmacéutica y alimentaria.

Kaneria & Chanda (2012), a través de un estudio sobre el extracto de hojas de diferentes especies de plantas, demostraron la presencia de características antioxidantes. Estos autores utilizaron una metodología no universal para poder determinar las posibles actividades antioxidativa en varias especies de plantas mediante la implementación de distintos solventes con diferente polaridad. Fue en el extracto de acetona donde se presentó una mayor capacidad antioxidativa, posiblemente por su alto contenido fenólico. En cuanto a las hojas, también demostraron que tienen una actividad inhibidora sobre las especies *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea*, *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*. Lo mismo ocurre en el estudio de Abu Osman *et al.* (2011), que demostraron las propiedades antimicrobianas de *M. zapota*, a través de diversos bioensayos, basados en el uso de acetato de etilo con muestras tanto de hojas como de corteza de *M. zapota*, para averiguar de qué forma actúa frente a diferentes especies de hongos y bacterias. Los ensayos demostraron que el extracto obtenido de la corteza era efectivo frente a las especies de bacterias *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Sarcina lutea*, *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Shigella siga*, *Shigella dysenteriae* y *Salmonella typhi*; y también frente a las especies de hongos *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Vasianfactum* sp. y *Fusarium* sp.

Fayek *et al.* 2012 realizaron un estudio de la actividad biológica de las hojas de *M. zapota*, demostrando la presencia de actividades hipocoleterolémica, antioxidante y antihiperulcémica.

Por su parte, Islam *et al.*, (2013), estudiaron las propiedades antimicrobianas de las hojas y la corteza de *M. zapota*. La corteza mostró una mayor inhibición contra las trece

cepas empleadas, algunas de ellas no usadas en estudios anteriores como por *Streptococcus agalactiae* y *Proteus vulgaris*.

Chunhakant & Chaicharoenpong (2019) analizaron la actividad inhibidora de la tirosinasa presente en la corteza de *M. zapota*, realizando análisis de citotoxicidad frente a varias líneas celulares cancerosas concluyendo que la corteza de esta planta puede ser fuente de inhibición de la tirosinasa, así como actuar como antioxidante lo que podría tener una aplicación en la cosmética.

Rodríguez-García *et al.*, (2019) analizando el potencial de extractos de hojas de plantas nativas de Yucatán, México, entre ellas *M. zapota*, demostraron que poseía actividad contra seis bacterias patógenos y contra dos hongos patógenos.

Ngongang *et al.*, (2020), investigaron la actividad antibiótica y la modulación de esta en extractos metanólicos de *M. zapota* sobre patógenos multirresistentes *E. coli*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, *P. stuartii*, *E. cloacae* y *P. aeruginosa*. Mostraron que las hojas fueron las que mejor presentaban actividad moderada contra algunas de las cepas empleadas.

c) Raíz de la planta

Bhargavi *et al.* (2011), estudiaron las propiedades antimicrobianas de la raíz de *M. zapota* contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* encontrando que *M. zapota* posee compuestos bioactivos que tienen gran actividad antimicrobiana contra ambas especies, por lo cual recomiendan el desarrollo de estudios más profundos. Con un enfoque diferente, Barad *et al.*, (2014) estudiaron las propiedades anticariogénicas de diferentes especies entre

ellas *M. zapota*, observando que los extractos de hexano, acetato de etilo, metanol y agua destilada tenían capacidad inhibitoria en diferentes bacterias causantes de la caries dental.

d) Fruto, pulpa y cáscara de la planta

En el caso del estudio realizado por Woo *et al.* (2013), analizaron las propiedades antioxidantes de los extractos etanólicos en diferentes porcentajes de la pulpa y la cáscara del fruto de *M. zapota*. Demostraron que el extracto al 40% de la pulpa y al 80% de la cáscara poseen una gran cantidad de antioxidantes.

Kannan *et al.* (2013), también compararon la actividad antioxidante *in vitro* de los componentes fitoquímicos (flavonoides y fenoles totales) de los extractos de la pulpa y de la cáscara de *M. zapota*. Los resultados mostraron que los extractos de la cáscara presentaban mayor actividad antioxidante frente a los de la pulpa; el extracto etanólico de la cáscara ofreció mayor contenido de fenoles y flavonoides totales.

Se analizaron las propiedades antioxidantes de *Manilkara* en el estudio realizado por Pientaweeratch *et al.* (2016), donde analizaron sus propiedades anticolagenasa y antielastasa del extracto etanólico del fruto de *M. zapota*, obteniendo como resultado que el extracto etanólico presentó gran actividad inhibidora de colágenas y elastasa, teniendo a su vez un efecto moderado antioxidante y antienvjecimiento.

De la misma forma Priya *et al.*, (2014) evaluaron las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de *M. zapota* y obtuvieron que los extractos acuosos y también metanólicos tenían gran actividad antioxidante, como también actividad antimicrobiana sobre las especies empleadas *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* y *Pseudomona aeruginosa*. Por otro lado, Geck *et al.*, (2020) reportan en su revisión el uso

de *M. zapota* como antidiarreico, analgésico y antimicrobiano, de los extractos acuosos, metanólico y etanólicos de esta especie.

De manera similar Mohanapriya *et al.*, (2019), investigaron la actividad tanto antimicrobiana como antioxidante de la fruta fresca, del jugo y de barras preparadas de *M. zapota* en extractos de acetona, etanol y acuoso. Mostraron que los extractos de acetona de la barra y del jugo tenían una gran actividad antimicrobiana contra bacterias Gram-positivas, aunque reportaron una gran pérdida de antioxidantes en el proceso.

Tabla 1. Estudios antimicrobianos, antioxidantes, antifúngicos y fitoquímicos realizados sobre *M. zapota* desde 2010 hasta 2022.

Fuente	Parte de la planta	Actividad Antimicrobiana	Actividad Antifúngica	Actividad Antioxidante	Compuestos fitoquímicos
Kothari & Seshadri, 2010	Semillas	X			
Kothari <i>et al.</i> , 2010				X	
Shanmugapriya <i>et al.</i> , 2011		X	X		Alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos y fenoles
Otari <i>et al.</i> , 2014			X		
Srinivasa Babo <i>et al.</i> , 2017			X		
Abu Osman <i>et al.</i> , 2012	Hojas y Corteza	X	X		
Islam <i>et al.</i> , 2013		X			Alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos y fenoles
Chanda & Nagani, 2010	Hojas	X		X	
Fayek <i>et al.</i> , 2012				X	
Kaneria & Chanda, 2012		X		X	
Barad <i>et al.</i> , 2014		X			
Rodríguez-García <i>et al.</i> , 2019		X	X	X	
Geck <i>et al.</i> , 2020		X			
Ngongang <i>et al.</i> , 2020		X			Alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos y polifenoles
Chunhakant & Chaicharoenpong, 2019	Corteza			X	
Kannan <i>et al.</i> , 2013	Pulpa y cascara	X			Carbohidratos, proteínas, alcaloides, saponinas, taninos, leucoantocianina, antraquinona, glucósidos y catecol.
Woo <i>et al.</i> , 2013				X	
Pientaweeratch <i>et al.</i> , 2016	Fruto			X	
Mohanapriya <i>et al.</i> , 2019	Fruito y Jugo	X		X	
Priya <i>et al.</i> , 2014	Flor	X		X	Alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos y fenoles
Bhargavi <i>et al.</i> , 2011	Raíz	X			

Propiedades antiartríticas

En Soni *et al.* (2011), mediante el uso de inhibición *in-vitro* del modelo de desnaturalización de proteínas y el uso de ácido acetilsalicílico como medicina estándar determinaron la actividad antiartrítica de extractos etanólicos de hojas de *M. zapota*. Igualmente, Ijaz *et al.* (2021), examinó el potencial antiartrítico *in vivo* de las nanopartículas de oro sintetizadas partir del extracto acuoso de las hojas de *M. zapota*. Concluyeron que tanto las nanopartículas como el extracto acuoso poseen propiedades tanto analgésicas, antiartríticas y antiinflamatorias, sin embargo, fueron las nanopartículas las que presentaron mayor actividad antiartrítica.

Propiedades antiinflamatorias

Ganguly *et al.* (2013), analizaron la actividad antipirética y antiinflamatoria en ratas de extractos etanólicos de las hojas de *M. zapota* observando alguna respuesta positiva. También lograron demostrar que las fracciones de éter de petróleo como el de acetato de etilo ofrecían una propiedad antipirética significativa, con mayor efecto del éter de petróleo en la disminución de la temperatura. De la misma forma Liu *et al.* (2019), descubrieron que las cumarinas presentes en el fruto de *M. zapota* poseen efectos antiinflamatorios, así como actividad contra el virus de inmunodeficiencia humana (VIH). Concluyen destacando la importancia del descubrimiento de estas cumarinas preniladas presentes en los frutos de *M. zapota* y sus propiedades antiinflamatorias y anti-VIH contribuyendo a paliar estos efectos con agentes de fácil acceso. Previamente Hemayet Hossain *et al.* (2012), habían analizado la actividad antiinflamatoria de la corteza de *M. zapota* en extracto metanólico crudo y determinaron que poseían un alto contenido de flavonoides, demostrando una actividad antiinflamatoria significativa. Además, la prueba de toxicidad realizada demostró que la

planta podría ser segura para usos farmacológicos. Otro ejemplo del potencial antiinflamatorio se encuentra en el trabajo de Konuku *et al.* (2017), en el cual estudiaron el potencial antiinflamatorio del extracto metanólico y de acetato de etilo de las hojas de *M. zapota*. Como resultado observaron que el extracto de acetato de etilo presentó una mayor actividad antiinflamatoria que el extracto metanólico. De igual forma en el trabajo de Sravani *et al.* (2015), evaluaron la capacidad antiinflamatoria del extracto etanólico de *M. zapota* mediante la estabilización membranal y la hemólisis inducida por calor. El resultado de este estudio demostró que el extracto etanólico se puede emplear como componente activo para tratar la inflamación.

Propiedades antidiarréicas

Las investigaciones de Hossain *et al.* (2012) aportaron información sobre la actividad antinociceptiva y antidiarréica de la corteza de *M. zapota* en extracto etanólico, confirmando su posible uso como analgésico y para el tratamiento de la diarrea. El estudio fitoquímico de este extracto mostró la presencia de taninos, esteroides, saponinas y azúcares reductores. Además, se observó que el extracto etanólico posee un efecto sobre los retortijones inducidos por ácido acético en ratones. Bilal *et al.* (2018) obtuvieron resultados similares en relación a esta planta y sus propiedades antidiarreicas, antisecretoras, antiespasmódicas, antimotilidad, antiulcerosa, para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales.

Tratamiento contra la colitis

En el estudio del extracto de corteza de *M. zapota* Kumar & Sahoo (2020) obtuvieron flavonoides y compuestos fenólicos en su análisis fitoquímico con extractos etanólicos,

observando una mitigación de dolor de colon así como frente a la colitis ulcerosa, infiriendo que ambos compuestos podrían tener un efecto antioxidante y eliminador de radicales libres.

Propiedades anticancerígenas

Shaniba *et al.* (2019) desarrollaron nanopartículas de plata a partir del extracto de las hojas de *M. zapota* para inducir apoptosis en células de cáncer colorrectal. Los resultados obtenidos en este estudio demostraron que las nanopartículas sintetizadas a partir del extracto de *M. zapota* son un potencial tratamiento contra el cáncer colorrectal, ya que induce de forma efectiva la apoptosis en dichas células cancerígenas. Otro ejemplo que demuestra el potencial de *M. zapota* como agente anticancerígeno es el estudio desarrollado por Tan & Norhaizan (2019), en el cual también evaluaron la capacidad de inducir la apoptosis por parte del extracto acuoso de *M. zapota* contra una determinada línea celular de cáncer colorrectal. Como resultados obtuvieron que el extracto acuoso posee un gran potencial contra el cáncer colorrectal mediante la modulación de diferentes vías de señalización y por su enzima antioxidante. Así mismo, Khalek *et al.* (2015) en su estudio trató de examinar la actividad antitumoral que posee el extracto de acetato de etilo del fruto de *M. zapota* en un carcinoma de ratón. Como resultado pudieron ver un incremento en la tasa de supervivencia, además de una disminución en la tasa de mortalidad como también en el conteo de las células tumorales y en incremento de peso en los huéspedes de dicho tumor.

Propiedades fitoquímicas y metabólicas

Usando el jugo de las hojas y la pulpa del fruto de *M. zapota*, Barbalho *et al.* (2015) realizaron un perfil metabólico de ratones macho, encontrando un bajo nivel de glucemia, insulina, leptina, colesterol y triglicéridos y elevados niveles de HDL-c. Además, indicaron que el porcentaje de peso ganado disminuyó al tratarlos con el jugo del fruto de esta planta. Concluyen que el uso de esta especie puede ayudar a prevenir problemas como la dislipidemia, la obesidad y la diabetes, así como las complicaciones que estos problemas pudieran acarrear. Además Sudarshan & Sunil B (2015) realizaron un estudio con la finalidad de caracterizar el mucílago aislado presente en las semillas de *M. zapota*, que mediante maceración puede ser empleado como agente mucoadhesivo, como se había indicado previamente en otras investigaciones. Se comprobó que el mucílago posee cualidades mucoadhesivas, similares a otros polímeros sintéticos, por lo que podría ser empleado como excipiente farmacéutico en sistemas de administración de fármacos mucoadhesivos orales.

B. Entrevistas

Conocimiento y colecta de *M. zapota*

Al comienzo de cada entrevista se preguntó a los participantes de las tres comunidades si conocían esta especie. En Tankuché se pudo apreciar que la totalidad de los entrevistados conocían la especie, mientras que en Tinún sabían de ella el 97% y en Cumpich el 94%. En relación a los diferentes sinónimos de esta especie de planta, la mayor parte de los entrevistados en Tankuché y Cumpich conocían principalmente esta especie como ‘zapote’, el cual ha sido un sinónimo registrado en investigaciones previas, o con su sinónimo en maya que es ‘Ya’. En cuanto a Tinún la mayoría de las personas la conocían únicamente

como ‘zapote’, y esto puede deberse a que muy poca gente dentro de esta comunidad habla maya. Por su parte, pudimos apreciar que un porcentaje muy bajo de los entrevistados la conocían por otros sinónimos (Fig. 1).

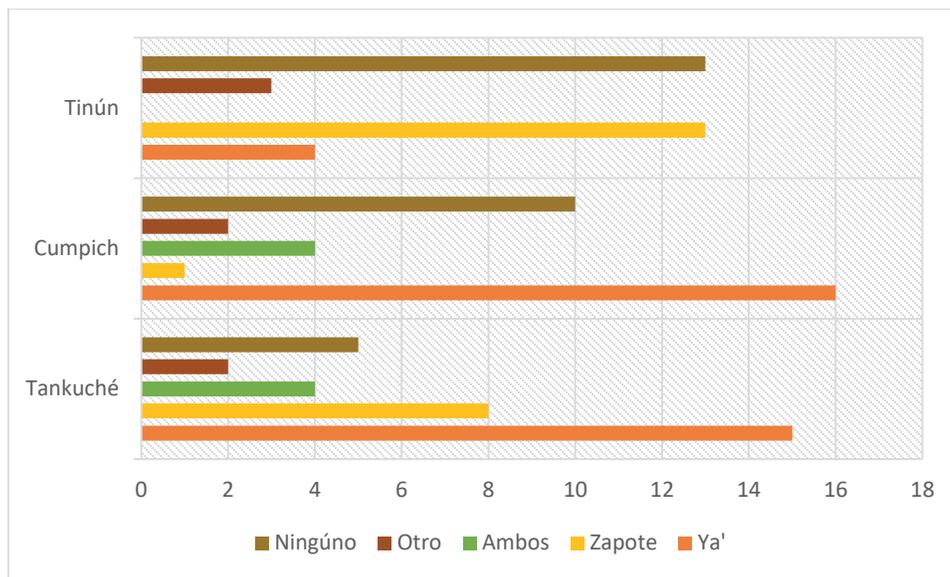


Figura 1. Sinónimos de *M. zapota* dentro de las tres comunidades. La gráfica muestra que dentro de la comunidad de Tankuché al igual que en Cumpich, la especie era mayormente conocida por su nombre maya Yá, a diferencia de Tinún donde se conoce más por zapote.

Dentro de las tres comunidades se observó que la mayoría de los participantes conocían esta especie principalmente de vista (Fig. 2).

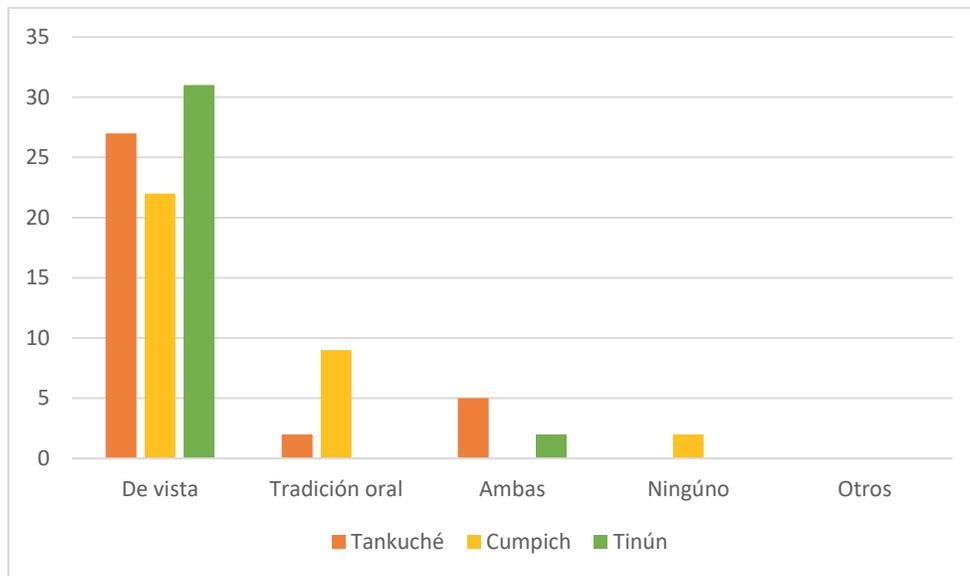


Figura 2. Forma en la que los participantes conocen esta especie.

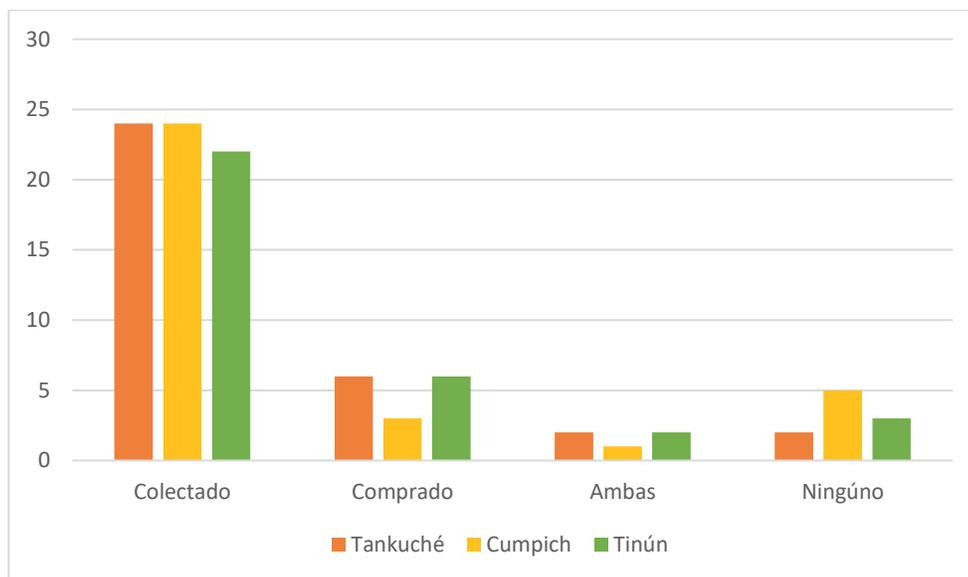


Figura 3. Forma en la que los habitantes obtienen la especie.

En las tres comunidades se pudo apreciar que los participantes conseguían la especie para su consumo principalmente por colecta del fruto u otra parte de la planta, ya sea porque ellos mismos poseían un árbol en su jardín o porque la obtenían en el monte (Fig. 3). Algunos de los participantes de las tres comunidades la conseguían comprándola.

Usos y aplicaciones

Todos los participantes refirieron que el fruto de esta planta se utiliza principalmente como alimento, aunque otras partes de la planta se utilizan también como medicamento (Fig. 4). Además, se registró que su uso medicinal se refiere a humanos, aunque también se mencionó su uso en algunos padecimientos de animales domésticos. Se observó que su uso es, por orden de preferencia, como tratamiento para: a) problemas digestivos, b) problemas respiratorios, c) enfermedades dermatológicas, dentales e infecciones generales y d) tratar problemas articulares. Estos datos coinciden con lo reportado por Abu Osman *et al.* (2011),

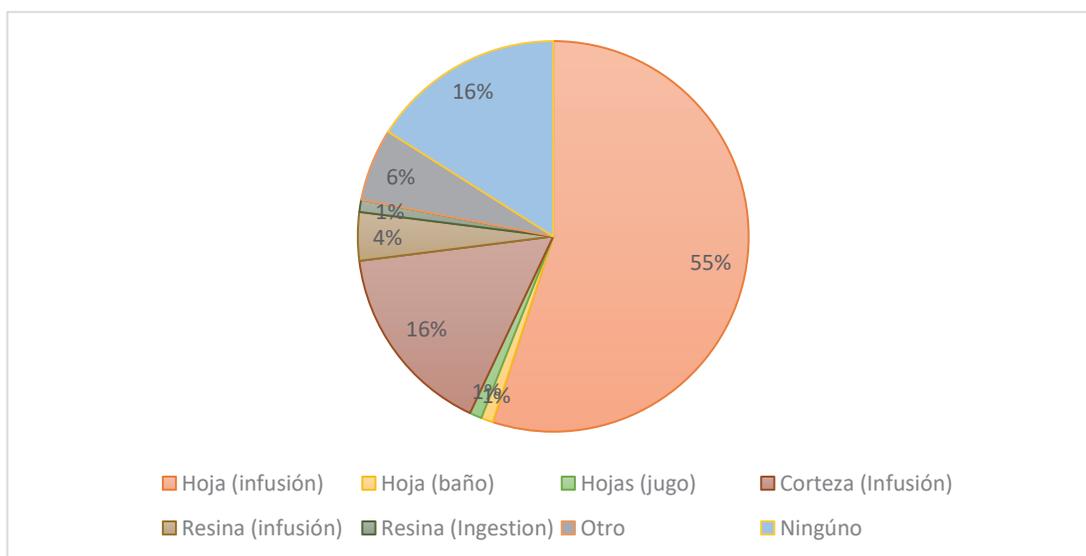


Figura 4. Porcentaje de las partes de *Manilkara zapota* empleadas con sus diferentes modos de uso

Hossain *et al.* (2012), Kaneria & Chanda (2012), Kothari & Seshadri (2010), Riaz *et al.* (2020) Shanmugapriya *et al.* (2011), Priya *et al.* (2014), Geck *et al.* (2020), Ngongang *et*

al. (2020), Islam *et al.* (2013), Mohanapriya *et al.* (2019), Bhargavi *et al.* (2011) y Rodríguez-García *et al.* (2019) los cuales, si bien no hacen referencia al tratamiento de infecciones, sí a sus propiedades antimicrobianas. Otros datos en relación al uso de *M. zapota* como tratamiento para disminuir la fiebre coinciden con Ganguly *et al.* (2013), pudiendo ser empleada para tratar la fiebre por una infección generada por algún virus o bacteria u otro agente que lo cause. Soni *et al.* (2011) coinciden en el uso de esta planta para el tratamiento contra la artritis, al igual que lo obtenido en las entrevistas de las tres comunidades. En las fuentes históricas también se encuentran similitudes con los datos obtenidos tanto en las entrevistas como en la revisión sistemática, en relación al uso de *M. zapota* como antipirético y para el tratamiento de quemaduras, flatulencias y úlceras.

Por otra parte los entrevistados indicaron que esta especie también era empleada para tratar problemas relacionados con la presión arterial, la diabetes como indican (Barbalho *et al.* (2015), para disminuir los niveles tanto de colesterol como de triglicéridos en la sangre, como tratamiento contra la disentería, la pérdida de peso, para disminuir los niveles de ácido úrico o de bilis, para fomentar la lactancia materna en mujeres con problemas para dar el pecho, para eliminar el callo, para disminuir los niveles de azúcar, para ayudar a combatir el insomnio, para controlar los nervios, para tratar el pasmo y para eliminar tanto el dolor abdominal como el menstrual como recogen Hemayet Hossain *et al.* (2012). A pesar de que en la literatura no se reporta su uso para la disentería, esta especie es utilizada

por las comunidades mayas para tratar los síntomas de esta enfermedad entre los que se encuentra la gastroenteritis. Por el contrario, dentro de la literatura se reporta que *M. zapota* puede ser estudiada para ser utilizada en el tratamiento contra la caries dental (Barad *et al.*, 2014), lo que difería con lo reportado con los habitantes de las comunidades que nunca reportaron su uso para este fin.

A pesar de haberse registrado tantas propiedades beneficiosas, los participantes refirieron que esta planta si se consume en exceso también posee diferentes efectos secundarios, tales como problemas estomacales, empacho, estreñimiento, problemas renales o puede generar cólicos, elevar los niveles de azúcar en la sangre (en este caso se refiere al fruto), o puede manchar las uñas, además, de manera puntual, se mencionó que su consumo en exceso podría influir en la osteoporosis o problemas cirróticos, aspectos que deben ser evaluados en el futuro.

Novedad y futuro impacto

Aunque de los datos obtenidos se puede apreciar un amplio potencial de *M. zapota* en el tratamiento de diferentes padecimientos, es necesario el desarrollo de estudios farmacológicos, microbiológicos y bioquímicos que evalúen el alcance real de las propiedades reportadas, para corroborar su posible uso en el tratamiento de las afecciones

mencionadas, tanto en la revisión histórica como en lo referido por los miembros de las tres comunidades mayas del Estado de Campeche, México.

Capítulo 2. Uso tradicional de *Tradescantia spathacea* Swart, en comunidades mayas: del pasado al presente, a través de una mirada en el Campeche.

Uso tradicional de *Tradescantia spathacea* Swart, en comunidades mayas: del pasado al presente, a través de una mirada en el Campeche.

Resumen

Los mayas han sido una civilización que ha logrado integrar la naturaleza junto con su desarrollo sociocultural, llegando a formar parte importante de sus creencias desde el periodo prehispánico logrando sobrevivir hasta la actualidad. Debido a esta sinergia pudieron desarrollar un gran conocimiento sobre las propiedades terapéuticas de diversas especies de plantas que han podido sobrevivido por medio de tradición oral y la continuidad en su uso. Un claro ejemplo es *Tradescantia spathacea*, especie nativa México y Centroamérica.

Para entender un poco mejor los usos medicinales que se le da a *Tradescantia spathacea* en la civilización maya se realizó a) una revisión bibliográfica histórica y sistemática, y b) una investigación, mediante encuestas, desarrollada en tres comunidades mayas actuales del estado de Campeche (México). Los resultados de ambos análisis indican que en la actualidad dicha planta es empleada para el tratamiento de diversas afecciones respiratorias, para tratar virus como la Chinkungunya y para sanar heridas en la piel. Los datos obtenidos en esta investigación se demuestra la necesidad de llevar a cabo estudios más a fondo y con diferentes perspectivas sobre las múltiples propiedades medicinales reportadas en este trabajo.

Introducción

Las plantas siempre han formado parte de la vida del ser humano, siendo capaces de crear una gran conexión, la cual sigue vigente hasta nuestros días en diferentes comunidades a lo largo del mundo. Esta fuerte relación puede apreciarse en el modo en que las plantas interactúan de distinta manera en la vida cotidiana que va desde formar parte de su dieta, hasta ser parte de rituales religiosos y diversos tratamientos medicinales, en diferentes grupos étnicos (Fig 1). *Tradescantia spathacea* Swartz, es una especie perteneciente a la familia Commelinaceae, originaria de Centroamérica y el Caribe, la cual suele ser utilizada dentro de la medicina tradicional de México y que comúnmente suele conocerse como “maguey morado” dentro de esta región (Shinde *et al.*, 2021).

Los objetivos de este trabajo son i) hacer una revisión sistemática global sobre las propiedades etnofarmacológicas presentes en *Tradescantia spathacea*, ii) realizar una revisión sobre los usos tradicionales de *T. spathacea* en diferentes comunidades mayas a través de diferentes fuentes históricas y finalmente iii) corroborar su uso continuo en comunidades mayas actuales mediante un cuestionario semiestructurado.



Figura 1. *T. spathacea* **a)** en estado silvestre; **b)** cultivada en casa maya

Resultados

A) Revisión bibliográfica

A.1. Fuentes históricas

Durante la revisión histórica del uso de *Tradescantia spathacea* se pudo ver que no hay hasta el momento un registro en el cual se documente el uso de esta planta en la época prehispánica, aunque actualmente es una de las especies que más se emplean como medicinas alternativas con múltiples propósitos. El registro más antiguo que se logró localizar fue el presentado por Atran *et al.* (2004), en el que se menciona que desde la época de la conquista española esta planta es empleada por los mayas del Petén Itza' para disminuir o prevenir la hinchazón en el caso de heridas junto con hojas de Guayaba (*Pichi*). Mencionan también que la hoja asada remojada en aguardiente es colocada sobre la piel de forma directa o en cataplasma para el tratamiento de granos en la piel además de ser usado para tratar golpes y contusiones. Se documenta así mismo en la Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional (UNAM, 2022) registra que el uso de *Tradescantia* para tratar hemorragias menstruales, en donde las hojas se hierven, se deja reposar y un vaso de dicho contenido debe ser consumido en la mañana y en la tarde.

En el estudio llevado a cabo por Méndez-González *et al.*, (2014), se registran las múltiples especies encontradas en los jardines medicinales mayas, reportando el cultivo de *Tradescantia spathacea* para ser usado como tratamiento para el alivio del ardor que se pueda presentar en cualquier parte del cuerpo, como tratamiento de enfermedades respiratorias tales como el asma, bronquitis y tos, en el tratamiento del cáncer (no se especifica el tipo), para el alivio de dolores de cabeza, para realizar lavados vaginales, como también para tratar problemas tales como la fertilidad y el flujo vaginal, para tratar golpes, eliminar manchas de la piel y para aliviar el pasmo. Así también, Rodríguez (2015)

refiere el uso de *Tradescantia* en padecimientos y problemas estomatológicos tales como estomatitis y úlceras bucales en miembros actuales de las diferentes comunidades mayas. Magaña-Alejandro *et al.* (2010), llevaron a cabo investigaciones en las comunidades mayas-chontales de Nacajuca, Tabasco, registrando el uso de *Tradescantia* como una planta de uso común para el tratamiento de varias afecciones, siendo las hojas las que principalmente se usan. Por otro lado en el estudio realizado por Cruz-Macías *et al.* (2016), reportan que en los huertos de traspatio del estado de Chiapas, México una de las especies cultivadas es *Tradescantia spathacea*, la cual es usada tradicionalmente para tratar hemorragias. Otro ejemplo del uso de *Tradescantia* en el estado de Chiapas, es el trabajo realizado por Orantes-García *et al.* (2018), donde coincide con Cruz-Macías *et al.* (2016) en el uso de esta planta para tratar hemorragias, solo que Orantes-García especifican que son de origen menstrual, como también para tratar infecciones vaginales.

En el caso del estudio realizado por Villarreal-Ibarra *et al.* (2014), se reporta únicamente el uso común de *Tradescantia spathacea* para múltiples fines en la comunidad Malpasito, Tabasco. Por otro lado, en el estudio realizado en Papantla, Veracruz, México, Reimers *et al.* (2019), se presenta el uso de *Tradescantia* para eliminar granos en la boca. En contraste con todos los usos medicinales reportados en México, Sur *et al.* (2015) presentan el uso tradicional en Filipinas para tratar la sobre-esfuerzo, las hemorragias, la dispepsia y también la tos. Finalmente, Nava Hernández *et al.* (2018) demuestran el uso etnoveterinario de *Tradescantia* en aves de corral, en el estado de Tabasco, para tratar contusiones, heridas por peleas y desgarres generados por algún material punzocortante.

A.2. Revisión sistemática

Propiedades antimicrobianas, antioxidantes y antifúngicas

Han sido múltiples los trabajos donde se han mencionado las propiedades antimicrobianas, antioxidantes y antifúngicas que se han estudiado en *Tradescantia spathacea*. García-Varela *et al.* (2015) realizó un estudio en el cual buscó determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* de *Tradescantia*. En sus resultados observaron que se presentó inhibición en bacterias tanto Gram-positivas como Gram-negativas además de propiedades antifúngicas contra *Candida albicans*. Por otro lado, Yasurin & Piya-Isarakul (2015), buscaron determinar la actividad antimicrobiana de seis especies de hierbas tailandesas medicinales entre ellas *Tradescantia spathacea* en diferentes disolventes. En sus resultados mostraron que tanto el extracto etanólico como el de cloroformo de esta especie tuvieron alta respuesta inhibitoria contra *E. coli*, *S. entérica* subsp. *tiphymurium*, *S. entérica* subsp. *enteritidis* y *S. entérica*. En el estudio de Shinde *et al.* (2021), evalúan la actividad antimicrobiana de *Tradescantia* contra *E. coli*, *B. subtilis* y *S. aureus*, observando que todos los extractos etanólicos preparados a partir de las hojas de *Tradescantia* lograron inhibir tanto a *E. coli* como a *S. aureus*, siendo únicamente *B. subtilis* la que mostró resistencia hacia dichos extractos.

Con el fin de demostrar las propiedades antimicrobianas y antioxidantes en 5 especies pertenecientes a la familia Commelinaceae entre ellas *Tradescantia spathacea*, Tan *et al.* (2014) empleó el extracto metanólico de dichas especies, obteniendo que *Tradescantia* poseía un alto contenido de antioxidantes, como también una gran actividad antimicrobiana en las especies en las que fue estudiado el extracto. Del mismo modo Oon *et al.* (2021) estudiaron la actividad antifúngica en levaduras y hongos filamentosos de diversas especies

de plantas, entre ellas *Tradescantia spathacea*, obteniendo como resultado que ésta tenía mayor actividad antifúngica frente a las levaduras. Por su parte Martínez-Klimova *et al.* (2017) encontraron, en su revisión llevada a cabo sobre las propiedades antibióticas de diferentes metabolitos de origen vegetal, que el extracto de acetato de etilo preparado a partir de *Tradescantia spathacea* poseía actividad antibacteriana contra *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *E. coli*. También Tan & Kwan (2020), documentan el uso de *Tradescantia* para el tratamiento contra infecciones respiratorias entre ellas la tuberculosis y como fungicida contra *Candida albicans*. Finalmente Noshinnasreen *et al.* (2017) mostraron que esta especie posee distintos compuestos bioactivos con gran potencial antioxidante.

Propiedades anticancerígenas

Se han investigado también las propiedades que se le puedan atribuir a *Tradescantia spathacea*, entre ellas su posible citotoxicidad en diferentes tipos de cáncer. En la revisión llevada a cabo por Ravikumar *et al.* (2014), se referencia el posible uso de *Tradescantia* para tratar el cáncer de hígado, reportando resultado positivo en pruebas realizadas en ratas. En su caso, Prakash & Rajesh (2014) llevaron a cabo una evaluación sobre *Tradescantia spathacea* contra la proteína β -catenina en línea celular de adenocarcinoma de mama, obteniendo como resultado que el extracto de *Tradescantia* demostró tener actividad citotóxica contra dicha línea celular, inhibiendo la sobre expresión de la proteína β -catenina. A su vez Tan & Kwan (2020), reportan en su revisión las propiedades que se han encontrado en *Tradescantia spathacea* en contra de líneas celulares de cáncer de riñón canino, de laringe, de cuello uterino y nasofaríngeo. García-Varela *et al.* (2016) evaluaron el efecto citotóxico de diferentes extractos preparados de *T. spathacea*, los cuales demostraron desencadenar un efecto inhibitor sobre distintas líneas celulares cancerígenas.

Propiedades antivirales

En los últimos años también se han desarrollado múltiples estudios para demostrar las propiedades antivirales que posiblemente tenga *T. spathacea*. Uno de ellos es el realizado por Sánchez-Roque *et al.* (2017), en el cual evaluaron el efecto antiviral *in vitro* del extracto crudo metanólico de esta planta contra la gripe A (H1N1), obteniendo como resultado que los flavonoides presentes en esta especie tuvieron actividad antiviral. También estudiaron esta actividad contra la Chikungunya por 20 especies diferentes de plantas, entre ellas *T. spathacea*, demostrando que el extracto etanólico, metanólico y de cloroformo de esta planta mostró una fuerte respuesta antiviral contra células ya infectadas inhibiendo a su vez la replicación y dispersión de estas células (Oon *et al.*, 2021).

Propiedades antidiabéticas

Tan & Kwan (2020) muestran el uso de *T. spathacea* como tratamiento contra la diabetes mencionado que las partes aéreas de *Tradescantia* demostraron inhibir la proteína tirosinasa fosforilada, la cual se encuentra involucrada en la señalización de la insulina. Nagaraju *et al.* (2020) investigaron la actividad antidiabética del extracto metanólico de *T. spathacea*, obteniendo actividad inhibidora sobre enzimas que contribuyen a su función antihiper glucémica.

B) Entrevistas

Conocimiento y recolecta de *Tradescantia spathacea*

Al inicio de las entrevistas todos los entrevistados mencionaron que únicamente conocían a *Tradescantia* por el nombre de 'Maguey morado'. En un análisis global sobre cómo conocían esta especie, los participantes de las tres comunidades refirieron que principalmente lo hacían de vista, siendo la comunidad de Tinún donde principalmente se registró de esta forma. También en Tankuché como en Tinún es conocida por ambas denominaciones, comparado con Cumpich donde no se registró ningún participante quienes la conocían de ambas formas. En cuanto al modo por el cual los participantes obtenían esta especie, en las tres comunidades la mayoría de los participantes la conseguían mediante colecta, dato que es relevante dado que la planta es posible encontrarla de forma silvestre en toda la región, como también es común en los jardines de las comunidades mayas actuales (Fig. 2).

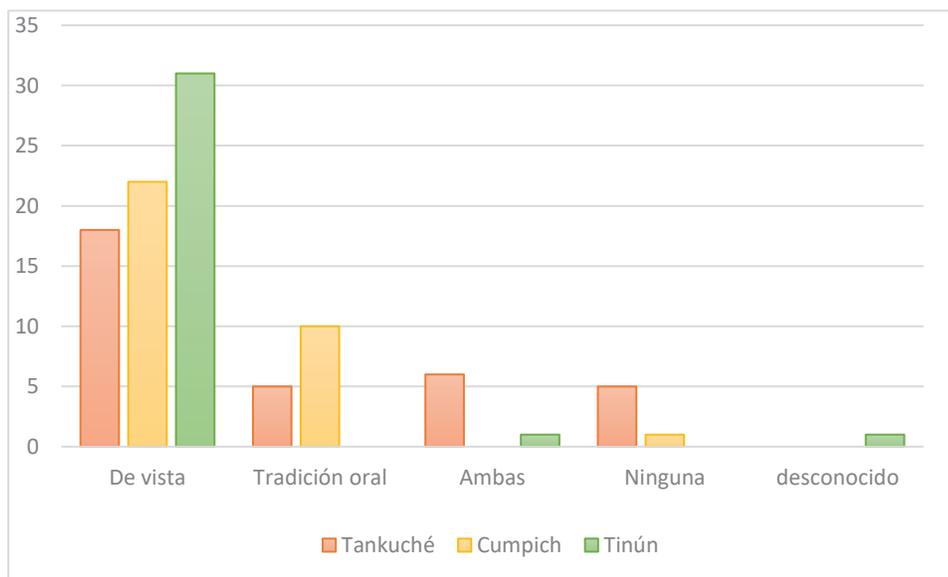


Figura 2. Forma en la que los participantes conocen esta especie.

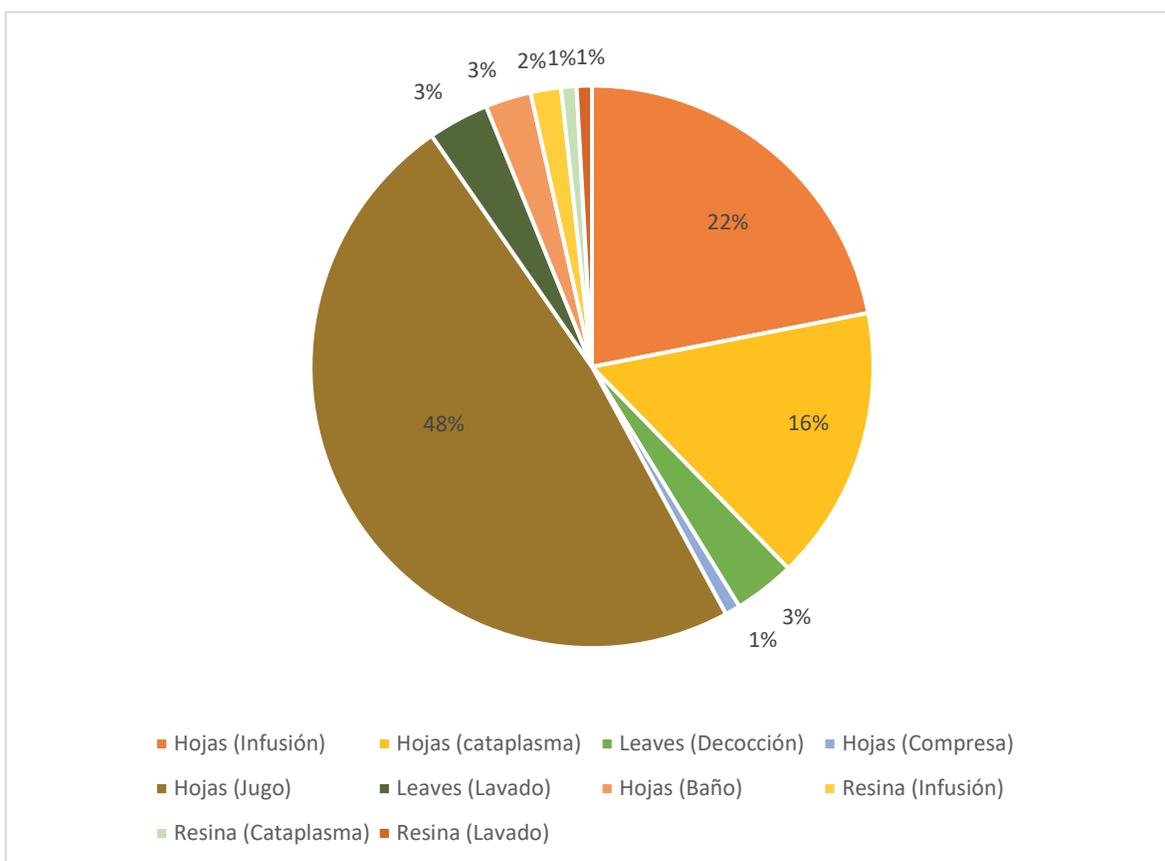


Figura 4. Porcentaje de las partes de *Tradescantia spathaces* empleadas con sus diferentes modos de uso

Uso y aplicaciones

En líneas generales la forma de uso más frecuente de *Tradescantia spathacea* fue (Fig.3) : a) mediante el consumo del jugo obtenido a partir de las hojas de esta especie, el cual obtenían asando la hoja para luego exprimirla hasta que saliera todo el jugo; b) mediante el uso de las hojas en infusión o té; c) como cataplasma, decocción y compresa de las hojas, se empleaban para tratar problemas en la piel o para tratar heridas, en donde se asaba la hoja y estando caliente se aplicaba en cualquiera de las tres formas mencionadas, sobre dichos padecimientos. d) en algunos casos, el agua del té se empleaba para realizar baños o lavados, para tratar infecciones vaginales; e) la resina que se obtiene de

Tradescantia se utiliza como infusión, en cataplasma o para realizar lavados con múltiples finalidades. Esto último resulta sorprendente, dado que en Tankuché al realizar la colecta de esta especie la resina irritó la piel de la colectora (Fig. 4).



Figura 4. Irritación de la piel por resina de *Tradescantia spathacea*

Entre los datos sobre el uso medicinal de *Tradescantia spathacea* que aportaron los participantes de las tres comunidades está su uso para el tratamiento infecciones respiratorias, como también para infecciones vaginales y también contra infecciones gastrointestinales y renales. Los datos aportados por los miembros de las comunidades coinciden con los datos aportados por García-Varela *et al.* (2015), Martínez-Klimova *et al.*

(2017), Shinde *et al.* (2021), Yasurin & Piya-Isarakul (2015), los cuales investigaron las propiedades antimicrobianas de *Tradescantia spathacea*, que a pesar de no coincidir ni especificar el tipo de infección a tratar, esta especie ha mostrado amplia actividad antimicrobiana en diversas especies y cepas bacterianas. Otro de los datos aportados por los miembros de las comunidades y que coincide con los datos aportados por la revisión bibliográfica es el uso de *Tradescantia* para el tratamiento antidiabético. Los miembros de las comunidades refirieron que esta especie ayuda a controlar los niveles de ‘azúcar’, lo cual coincide con los datos presentados por Nagaraju Jesetti *et al.* (2020) y Tan & Kwan (2020), en los cuales se demuestra que los extractos de *Tradescantia* logran inhibir las enzimas encargadas de la señalización de la insulina y funciones hiperglucémicas. Finalmente, los datos presentados por Oon *et al.* (2021) y Sánchez-Roque *et al.* (2017), los cuales mostraron la actividad antiviral contra la gripe tipo A y Chinkungunya, coinciden con los datos aportados por los miembros de las comunidades, que a pesar de no mencionar ninguno de los dos tipos de virus en los que se ha estudiado, mencionaron el uso de esta para tratar las paperas que se desarrolla a partir de la infección por *Mumps ortho rubulavirus*.

Los miembros de las tres comunidades mencionaron el uso de *Tradescantia* también para padecimientos que aún no han sido investigados, entre ellos, para tratar la hinchazón por golpes o heridas, para el alivio del dolor articular, muscular, dolores dentales y su hinchazón, para tratar malestares del oído, para tratar la sarna, contra los golpes de calor y el pasmo, para tratar la caída del cabello y para eliminar algunos problemas dermatológicos como las pecas y manchas en la piel. De igual forma, los miembros de las comunidades reportaron que algunos de los efectos secundarios que puede tener el uso de esta especie

iban desde la irritación o el vómito hasta extenuación. Es importante destacar que en las fuentes bibliográficas no se encontró ningún registro de su uso previo a la conquista de México, lo que nos lleva a plantear la hipótesis de que el uso de *Tradescantia spathacea* comenzó a raíz de las diferentes epidemias que se desencadenaron a partir de la llegada de los conquistadores a América.

Novedad y futuro impacto

Aunque de los datos obtenidos se puede apreciar un amplio potencial de *Tradescantia spathacea* en el tratamiento de diferentes padecimientos, es necesario el desarrollo de estudios farmacológicos, microbiológicos y bioquímicos que evalúen el alcance real de las propiedades reportadas, para corroborar su posible uso en el tratamiento de las afecciones mencionadas tanto en la revisión histórica como en lo referido por los miembros de las tres comunidades mayas del Estado de Campeche, México.

Parte II. Propiedades Antimicrobianas

Metodología general de la Parte II

Colecta de las hojas

Las hojas de ambas plantas se recogieron en Campeche (México) en dos comunidades, las de *Tradescantia spathacea* en la comunidad de Tankuché y las de *Manilkara zapota* en la de San Vicente Cumpich. Ambas especies se colectaron entre los meses de marzo y abril de 2021. Las hojas se limpiaron con agua y se secaron mediante una prensa botánica colocada al sol. Una vez secas las plantas se envasaron al vacío para su transporte al laboratorio del Departamento de Zoología y Antropología Física de la Universidad de Murcia para realizar los ensayos de resistencia.

Preparación de extracción

Las hojas secas de ambas especies se pulverizaron con ayuda de una máquina Retsch MM200. Para la solución acuosa, se preparó una infusión con 1 g de las hojas pulverizadas en 20 ml de agua a 75°C. Una vez preparada la infusión, se dejó enfriar a temperatura ambiente para realizar la prueba antimicrobiana. Para la extracción con etanol, se tomó 1g de las hojas pulverizadas de cada planta, de manera independiente, y se sumergió en 50 ml de etanol al 50%. Después se calentaron durante 120 segundos, con intervalos de descanso, en el microondas y tras esto la dilución se vertió en tubos eppendorf de 2 ml, centrifugando a 10,000 rpm durante 15 minutos. Después se drenó el sobrenadante dejando solo el precipitado, a continuación se secó el extracto sólido a temperatura ambiente hasta evaporar todo el etanol (Kothari & Seshadri, 2010). Una vez seco se tomaron 0.0141g del extracto sólido y se resuspendieron en 1.5 ml agua destilada (Fig. 1).

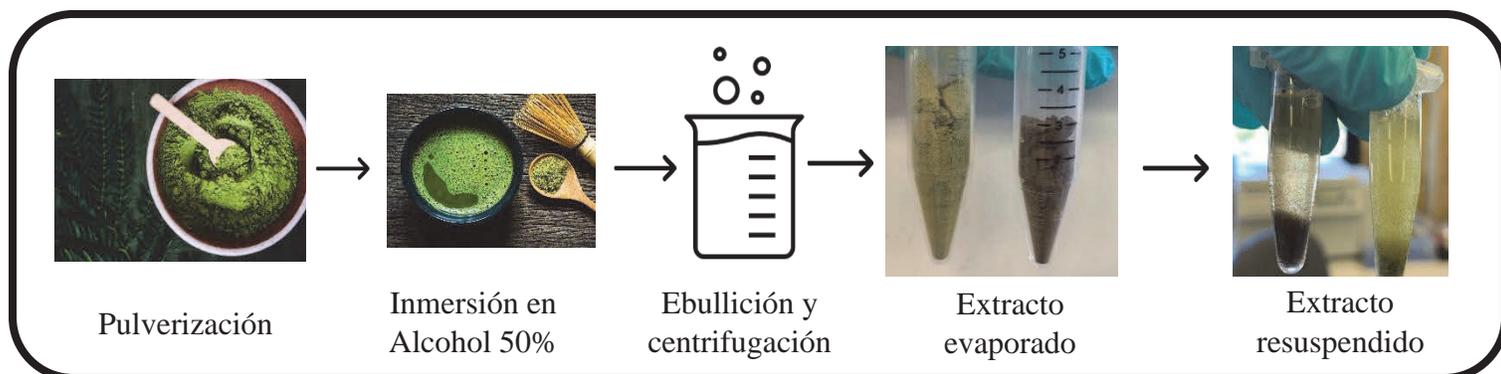


Figura 1. Proceso de extracción etanólica de las hojas de *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota*.

Prueba de difusión de disco extractos acuoso y etanólico

La prueba de difusión por disco es una prueba que se realiza para poder determinar la sensibilidad que tienen las bacterias expuestas frente a las diferentes sustancias antibióticas (Córdova & Loayza, 2014). Se realizó un cultivo de las especies en placas Petri con tres medios de cultivo: a) Brain Heart Agar (BHA) (Biokar diagnostics BK029HA), b) Luria Agar (LU) (Conda Pronadisa 1552.00) y c) Trypticasein Soy Agar (TSA) (LyoStrain TSA 90-20).

Se tomaron 30 μ L del cultivo líquido de cada una de las cepas y se sembraron en cada una de las placas, para posteriormente colocar discos de papel de filtro de tamaño de 5 mm de diámetro. En las placas donde se probó el extracto acuoso se colocó: a) un disco control positivo, con una mezcla de antibióticos (Cloranfenicol, Kanamicina y Penicilina), y b) un control negativo, sumergido en agua destilada. Después dos discos diferentes se sumergieron en las infusiones de *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea* y se colocaron dentro de la misma placa. Para medir la actividad antimicrobiana con el extracto de etanol resuspendido en agua, se realizó el mismo proceso, excepto que los antibióticos del control positivo no se mezclaron, sino que se incorporaron en discos individualizados (Fig. 2).

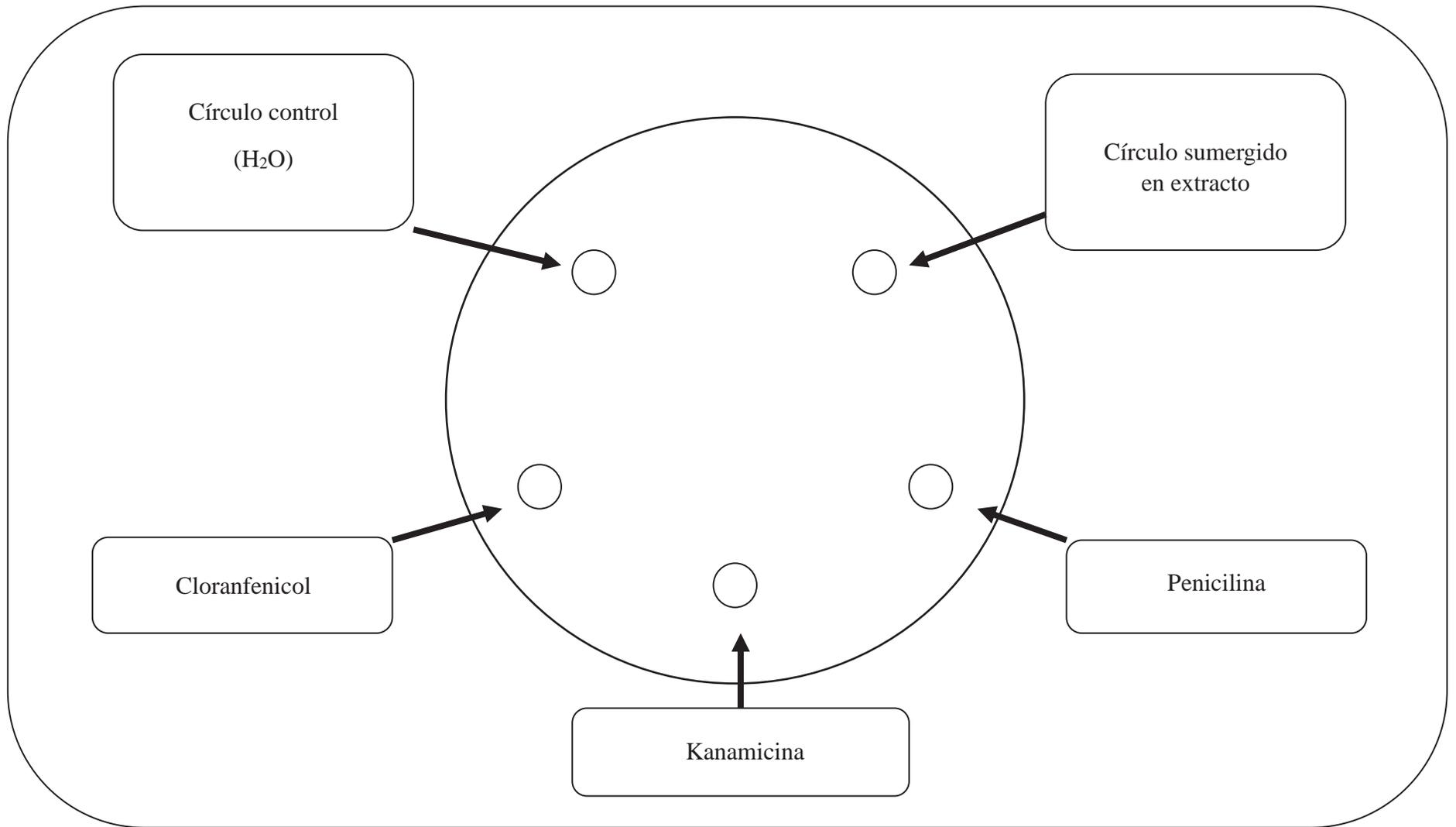


Figura 2. Distribución de los círculos de papel sumergido en agua, extracto etanólico de cada planta, Penicilina, Kanamicina, Cloranfenicol.

Prueba de Concentración Mínima Inhibitoria (MIC)

La concentración mínima inhibitoria (MIC), es una prueba antimicrobiana en donde se busca determinar la concentración más baja en que una determinada sustancia muestre inhibir el crecimiento de bacterias pasando 24 horas, o como en el caso de los *Mycoplasmas* pasados 48 horas (Ramirez & Castaño, 2009). Para llevar a cabo la prueba se prepararon doce diluciones a partir del extracto madre, para lo cual se colocaron 100 µl de agua destilada con 300 µl de los extractos etanólicos de *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota* en sus respectivos pocillos. Posteriormente se colocó en cada uno de los pocillos 100 µl de agua destilada junto con 300 µl de la mezcla realizada en el pocillo anterior hasta el doceavo, del cual se desecharon los 300 µl que se extrajeron de dicho pocillo para que todos tuvieran la misma cantidad de dilución. Posteriormente sobre una placa serológica se colocaron 150 µl de medio piruvato junto con 25.6 µl del extracto y las diluciones (antibiótico) y 25 µl de la cepa inoculada. La placa se dejó en incubación durante 48 horas.

Prueba de difusión de disco (diluciones)

Después de comprobar la actividad antimicrobiana de ambos extractos, se diluyó 1µl del extracto etanólico de las dos plantas en 10, 100 y 1000 µl para averiguar si dichas diluciones seguían presentando actividad antimicrobiana, o esta se iba perdiendo proporcionalmente a la dilución del extracto. El grado de inhibición se midió también con el método de los discos de papel. Se sumergieron 4 discos en el extracto de ambas plantas y en las tres diluciones, y posteriormente se introdujeron en placas Petri con el cultivo de cada una de las bacterias (Fig.3).

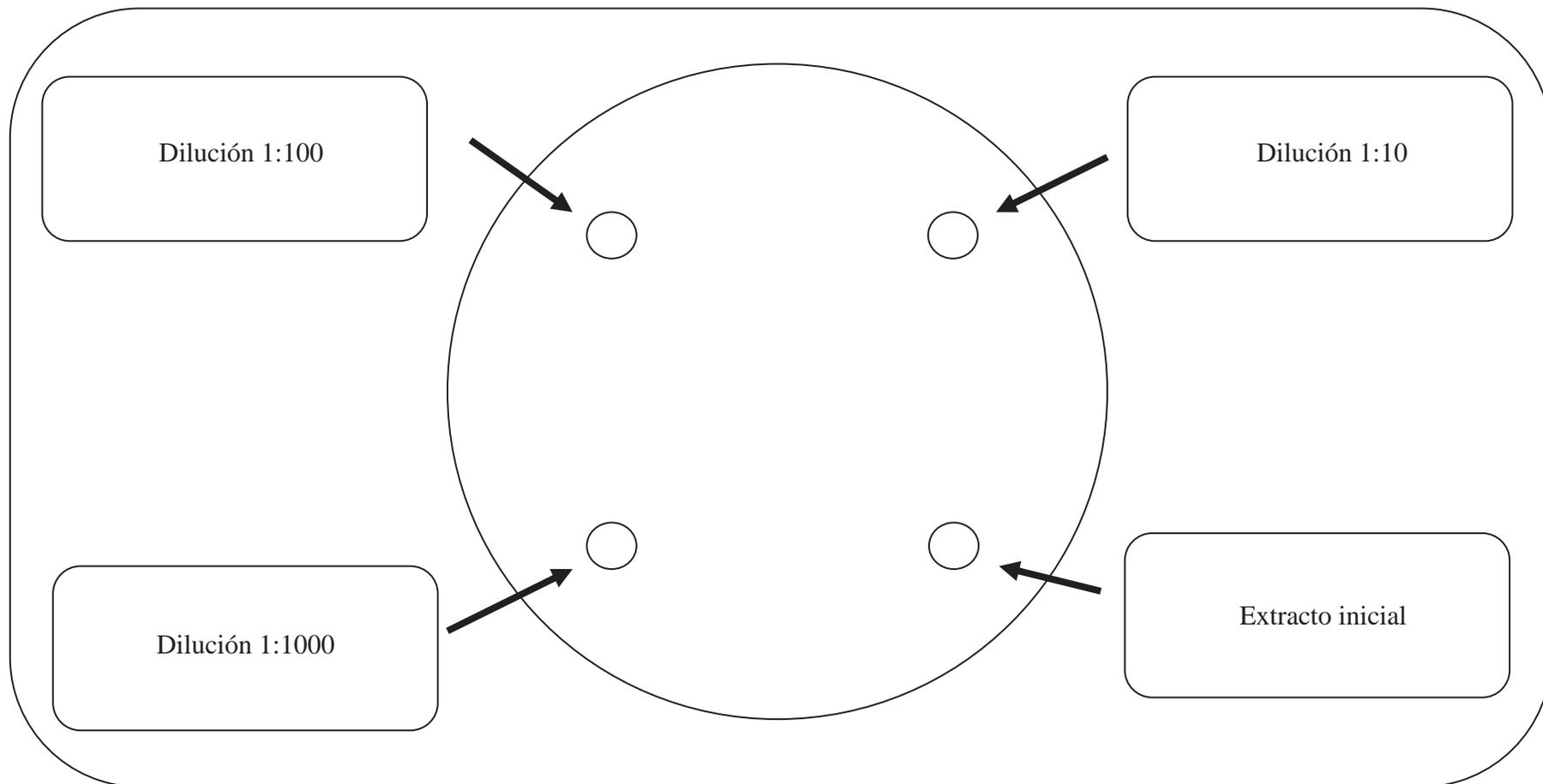


Figura 3. Distribución de los círculos de papel sumergido en agua, extracto etanólico de cada planta, la dilución del extracto 1:10, 1:100 y 1:1000.

Construcción de un cepario

Los ceparios son el sitio de depósito en donde se almacenan microorganismos aislados, que se encuentran caracterizados e identificados a partir de muestras tanto vegetal como animal y que son obtenidas de investigaciones realizadas en diferentes periodos de tiempo. La creación de ceparios de diversos tipos de bacterias garantiza su viabilidad en estado inactivo, puro y homogéneo, bajo condiciones que aseguren la estabilidad microscópica; además de permitir el estudio de dichas cepas a posteriori (Gutiérrez-Jiménez *et al.*, 2015).

A) Cepario de insectos

Se usaron las especies *Cronobacter sakazaki*, *Pantoea agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus sciuri*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterococcus hormechi*, *Lactococcus lactis* y *Pseudomonas otitidis*, procedentes del cepario del Departamento de Zoología y Antropología Física de la Universidad de Murcia y de la spin-off ArthropoTech, obtenidas a partir del tracto digestivo de insectos y con una elevada tasa de resistencia a antibióticos. Se tomaron muestras en del tracto gastrointestinal de varias especies de insectos, tanto silvestres (*Periplaneta americana*) como criados en cautividad para alimentación animal (*Zophobas morio*).

B) Cepario del biofilm oral

Para realizar esta prueba se creó un cepario a partir de un frotis de la cavidad oral de encías y piezas dentales. La muestra obtenida con cepillos interdetales se sembró en estriado en placas de cultivo Brain Heart Agar (BHA) (Biokar diagnostics BK029HA) y Trypticasein Soy Agar (TSA) (LyoStrain TSA 90-20) dejando crecer durante 24 horas. Una

vez que crecieron se tomaron diferentes colonias y se cultivaron en tubos eppendorf 1.5 ml con medio de cultivo Liver Broth (L) (Conda Pronadisa 1242.00) dejando que crecieran durante 24 horas. Después de este tiempo a la mitad del volumen de cada tubo se agregó un volumen igual de glicerol y se almacenó en el ultracongelador a - 80°C para los experimentos posteriores. La otra mitad del volumen se utilizó para la extracción de DNA y posterior amplificación por PCR y secuenciación que permite realizar la identificación de las bacterias por Barcoding. Para ello, se extrajeron muestras de DNA de los tubos de cultivo bacteriano usando el Kit Invisorb® siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Para cada colonia bacteriana se realizó una reacción de PCR para amplificar un fragmento de la región del gen de ARN 16S que permite la identificación molecular de especies bacterianas por su alta especificidad entre taxones. Los cebadores que se utilizaron para la amplificación del gen 16S (Klindworth *et al.*, 2013) fueron:

16S-F (TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG) y

16S-R

(GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC)

El programa de PCR utilizado fue el siguiente: Desnaturalización inicial a 95 °C durante 3 minutos seguida de 40 ciclos consistentes en una desnaturalización inicial a 95 °C durante 30 segundos, una hibridación a 50 °C durante 30 segundos, una elongación a 72 °C durante 30 segundos y una extensión final a 72 °C durante 10 minutos. Las amplificaciones se realizaron en un volumen total de 12,5 µl que contenía: 1038,15 µl de agua Milli-Q, 8,1 µl de la enzima polimerasa Taq, 2 µl de ADN diluido y 16,875 µl cada cebador. Se agregaron controles de PCR para monitorizar la contaminación del ADN. Se separaron electroforéticamente alícuotas de cada producto de PCR en un gel de agarosa al 2% para

comprobar el éxito de la amplificación. Los amplicones obtenidos se secuenciaron en Sanger (Secugen, España) y las secuencias obtenidas se editaron con el software Mega11 (MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis versión 11 (Tamura *et al.*, 2021), y se identificaron con la herramienta incorporada de BLAST del NCBI para encontrar coincidencias con secuencias que ya se encuentran registradas en la base de datos GenBank.

C) Muestras *Staphylococcus aureus*

Las cepas empleadas para las pruebas fueron obtenidas de muestras cultivadas en agar sangre en el Departamento de Sanidad Animal, del grupo de investigación de Sanidad de Rumiantes pertenecientes a la Universidad de Murcia. Fueron posteriormente cultivadas en diferentes tubos de medio líquido tryptosa (Conda Pronadisa 1322.00), corazón-cerebro (Fisher Scientific 1201-7576) e hígado (Conda Pronadisa 1242.00). En el caso de la cepa de *S. aureus* usada como referencia (LyoStrain Ref: NCTC 8325), se cultivó en tubos con medio tanto corazón-cerebro como en hígado y se sembró en una placa de TSA (Trypticasein Soy Agar, LyoStrain TSA 90-20).

D) Muestras de *Mycoplasma agalactae*

La cepa fue obtenida del departamento de Sanidad Animal, del grupo de Investigación de Sanidad de Rumiantes de la Universidad de Murcia, se procedió a su aislamiento a partir de leche de oveja, además de su conservación para la realización de este estudio.

E) Muestras Paracoccus denitrificans

Se emplearon las muestras de *Paracoccus denitrificans* procedentes del cepario del departamento de Zoología y Antropología Física de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia. Dicha Bacteria fue adquirida de manera comercial y cultivada en medio líquido (L) (Conda Pronadisa 1242.00).

Capítulo 3. Evaluación de la inhibición de bacterias multirresistentes mediante extractos etanólicos de *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota*.

Evaluación de la inhibición de bacterias multirresistentes mediante extractos etanólicos de *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota*.

Resumen

El objetivo de este trabajo es determinar las propiedades antimicrobianas de las hojas de *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea* en especies de bacterias multirresistentes a antibióticos que poseen un impacto en la salud del ser humano, encontradas en el tracto gastrointestinal de varias especies de insectos, tanto silvestres (*Periplaneta americana*) como criados en cautividad para alimentación animal (*Zophobas morio*).

Se utilizaron extractos acuosos y etanólicos de las dos especies de plantas (Kothari & Seshadri, 2010). Mediante un método de difusión se colocaron círculos de papel sumergidos en a) los extractos, b) los antibióticos kanamicina, penicilina y cloranfenicol) y c) agua, para su posterior utilización en placas Petri con las cepas bacterianas seleccionadas. Se realizaron pruebas sobre la efectividad de los extractos acuosos y etanólicos de las plantas.

Todas las cepas ensayadas presentaron resistencia a los extractos acuosos. En cuanto a los extractos etanólicos, *Staphylococcus sciuri*, *Enterococcus gallinarum* y *Lactococcus lactis*, presentaron sensibilidad, siendo el extracto de *Tradescantia spathacea* el que mayor inhibición presentó. Sin embargo, las especies *Cronobacter sakazakii*, *Pantoea agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas*

otitidis, *Klebsiela oxytoca* y *Enterobacter hormaechei* presentaron resistencia al extracto etanólico, no afectando a su crecimiento.

Se concluye que ambas especies de plantas pueden ser de interés para el desarrollo de fármacos para tratar infecciones por estas bacterias. Este estudio proporciona datos sobre la efectividad de extractos vegetales que puedan ser útiles en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias multirresistentes, en particular las procedentes del tracto digestivo de insectos que cohabitan con el ser humano, o insectos usados como alimento en animales. Es necesario el desarrollo de una investigación más exhaustiva para perfilar las condiciones óptimas para su uso, tanto en las bacterias ensayadas como en otros patógenos.

Introducción

El uso de plantas para tratar diferentes padecimientos es algo extendido a lo largo de todo el mundo, en diferentes grupos étnicos. En la actualidad aún hay diferentes grupos, que poseen un acceso limitado o casi nulo a servicios médicos y que todavía llevan a cabo estas prácticas. México es uno de los países donde aún se conservan muchas de estas prácticas medicinales tradicionales, las cuales provienen de la época prehispánica y que se han transformado pudiendo llegar así hasta nuestros días. En la actualidad se ha incrementado el interés por conocer y determinar la forma en que las plantas actúan en el organismo para tratar diferentes padecimientos.

Dos plantas importantes en la medicina tradicional maya son *M. zapota* y *T. spathacea*, habiéndose descrito propiedades antibacterianas en estas especies.

Manilkara zapota es una especie endémica del sur de México y Centro América a la cual se ha atribuido diferentes propiedades medicinales por diferentes miembros de

comunidades mayas actuales. De igual forma se han realizado ensayos donde se ha probado las posibles propiedades medicinales de estas plantas. Ejemplos de lo anterior están en los estudios realizados por Osman *et al.*(2011), Chanda & Nagani, (2010) y Kothari & Seshadri (2010), donde reportan las propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antifúngicas de los diferentes extractos de *M. zapota*. *Tradescantia spathacea* es una especie también endémica del sur de México y Centroamérica, de la cual se ha registrado su posible uso como agente antioxidante, antifúngico y antimicrobiano (García-Varela *et al.*, 2015; Shinde *et al.*, 2021; Yasurin & Piya-Isarakul, 2015).

Los agentes causantes de diferentes enfermedades que afectan a la sociedad actual, principalmente bacterias, se han vuelto resistentes a muchos de los fármacos (antibióticos) ya existentes como agentes terapéuticos; por esta razón resulta necesario realizar estudios que pongan a prueba la capacidad de los componentes fitoquímicos de estas plantas para el tratamiento de estos patógenos.

Las resistencias que han desarrollado bacterias que están en especies cercanas al ser humano hacia este tipo de fármacos limitan los tratamientos contra este tipo infecciones y pueden acabar siendo una amenaza para la salud humana (Cabrera *et al.*, 2007; Gonzáles Mendoza *et al.*, 2019; Oteo Iglesias, 2019; Piñar Sancho, 2016). La resistencia se define como la capacidad evolutiva que posee una bacteria para adaptarse a diferentes presiones ambientales y frente a determinados agentes, como son los antibióticos. Cuando se habla de una bacteria multirresistente se habla de la capacidad que ha prosperado logrando así una resistencia a diferentes agentes antibióticos (Alós, 2015; Cabrera *et al.*, 2007; Oteo Iglesias, 2019; Piñar Sancho, 2016). En el caso de América Latina y de otros países en vías del desarrollo, los servicios de salud han documentado un incremento en el contagio por

agentes bacterianos multirresistentes, ya no solo durante actividades de la vida cotidiana sino también de origen nosocomial (Dresler *et al.*, 2008; Gonzáles Mendoza *et al.*, 2019; Rocha *et al.*, 2015). En el caso de México ha sido desencadenada por el uso indiscriminado de este tipo de medicamentos en el tratamiento de diferentes patologías, generando así que estos sean los fármacos de mayor venta en el país y por lo tanto generando una resistencia a dichos medicamentos (Dresler *et al.*, 2008). En países como España, se ha registrado el incremento de diferentes cepas que van adquiriendo resistencia a diferentes antibióticos (Alós, 2015). En los últimos años se ha estimado que en el continente europeo mueren aproximadamente 25,000 personas al año, por diversas patologías desencadenados por bacterias multirresistentes; esto ha llevado a que la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios desarrolle un plan nacional para tratar este problema, en donde se busca evitar la diseminación de dichas bacterias tanto a nivel humano como veterinario (Ruiz & Cantón, 2016).

Debido a las resistencias a diversos antibióticos encontradas en bacterias que viven en entornos muy próximos al ser humano es urgente buscar alternativas al uso de estos agentes terapéuticos. En los años recientes se han buscado nuevos tratamientos para infecciones de este tipo, siendo los extractos de plantas en los que más se ha mostrado interés (Zampini *et al.*, 2007), dado que las propiedades de los compuestos fitoquímicos pueden ayudar a atajar el crecimiento de numerosos microorganismos. No obstante, es difícil encontrar una relación causa-efecto entre las propiedades antimicrobianas de una planta y uno o algunos de sus componentes químicos concretos.

Uno de los ambientes más cercanos al ser humano y a la vez menos estudiados es el tracto digestivo de insectos, en el que habitan comunidades bacterianas intestinales, que

cumplen relevantes funciones en el hospedador como son la modulación de la expresión génica de genes implicados en el crecimiento, el desarrollo y la homeostasis del insecto hospedador (Storelli *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2017). Debido a la presencia de insectos en todos los ambientes del planeta y a su contacto frecuente con fuentes alimenticias que provienen de ambientes cercanos a los desechos generados por el ser humano, donde el uso de antibióticos es generalizado, no parece incoherente esperar que el intestino de muchas especies de insectos esté poblado por bacterias que han desarrollado resistencias a compuestos usados como agentes terapéuticos antimicrobianos. Estos ambientes pueden ser: i) aguas residuales procedentes de hospitales o centros médicos, ii) balsas de excrementos de animales de cadena alimentaria humana como granjas avícolas o de ganado ovino, bovino, o porcino o iii) incluso heces y orina de animales utilizados como mascotas por el ser humano como gatos y perros. En estos ambientes se espera que existan bacterias multirresistentes debido a los procesos de selección ocurridos por la sobreexposición a estos agentes terapéuticos (Tabla 1).

Este trabajo tiene como objetivo determinar el potencial de las hojas de *Manilkara zapota* y de *Tradescantia spathacea* como agentes antimicrobianos contra diferentes especies de bacterias encontradas en el tracto digestivo de diferentes insectos y en particular contra aquellas cepas multirresistentes a diversos antibióticos.

Tabla1. Descripción de las bacterias

Especies	Patógeno	Efectos	Fuente
Gram positivas			
<i>Staphylococcus sciuri</i>	Patógeno	Endocarditis, peritonitis, endoftalmitis, choque séptico, infecciones urinarias, enfermedad pélvica inflamatoria, infecciones de heridas e infecciones de heridas quirúrgicas.	Garza-González <i>et al.</i> , 2011; Meservey <i>et al.</i> , 2020; Nemeghaire <i>et al.</i> , 2014
<i>Enterobacter cloacae</i>		Infecciones nosocomiales	Mezzatesta <i>et al.</i> , 2012; Paauw <i>et al.</i> , 2008
<i>Enterococcus gallinarum</i>		Bacteriemia por enterococos	Monticelli <i>et al.</i> , 2018
<i>Lactococcus lactis</i>	Probiótico	Colangitis	Shimizu <i>et al.</i> , 2019
Gram negativas			
<i>Cronobacter sakazakii</i>	Patógeno	Meningitis neonatal, sepsis y enterocolitis necrosante en recién nacidos y lactantes,	Chauhan <i>et al.</i> , 2020; Jin <i>et al.</i> , 2021
<i>Pantoea agglomerans</i>		La artritis séptica, sinovitis, endoftalmitis, dacriocistitis aguda unilateral, periostitis, endocarditis, osteomielitis y osteítis tibial	Dutkiewicz <i>et al.</i> , 2016
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Infección pulmonar	Lyczak <i>et al.</i> , 2000
<i>Pseudomonas otitidis</i>		Infección ótica	Caixinha <i>et al.</i> , 2021
<i>Klebsiella oxytoca</i>		Infecciones de sangre en recién nacidos, tejidos blandos, piel, vías urinarias, sistema nervioso central y pulmón	Neog <i>et al.</i> , 2021
<i>Enterobacter hormechei</i>		Enfermedades respiratorias	Shi <i>et al.</i> , 2022; Wang <i>et al.</i> , 2020

Resultados

Prueba con infusiones de *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea*

Durante las primeras pruebas realizadas con las infusiones de ambas plantas, teniendo como control negativo agua y positivo la mezcla de antibióticos, se registró que todas las especies de bacterias tanto Gram negativas como positivas fueron resistentes a los efectos de las infusiones. Es importante resaltar que de todas las especies únicamente *S. aureus*, *P. denitrificans*, *S. sciuri*, presentaron sensibilidad a la mezcla de los antibióticos (Tabla 2).

Tabla 2. Respuesta de bacterias tanto al control positivo como a las infusiones de *M. zapota* y *T. spathacea*. R: Resistente y S: Sensible.

Bacterias	Mezcla de antibiótico	Extracto acuoso	
		<i>Mz</i>	<i>Ts</i>
Gram Positivas			
<i>S. sciuri</i>	S	R	R
<i>E. cloacae</i>	R	R	R
<i>E. gallinarum</i>	R	R	R
<i>L. lactis</i>	R	R	R
Gram Negativas			
<i>C. sakazaki</i>	R	R	R
<i>P. agglomerans</i>	R	R	R
<i>P. aeruginosa</i>	R	R	R
<i>P. otitidis</i>	R	R	R
<i>K. oxytoca</i>	R	R	R
<i>E. hormechei</i>	R	R	R

Prueba antimicrobiana del extracto etanólico de *M. zapota* y *T. spathacea*

Durante la evaluación sobre la resistencia de las 12 especies frente a los extractos etanólicos y a los cuatro distintos antibióticos. Las únicas cepas que lograron demostrar sensibilidad ante el extracto etanólico resuspendido en agua fueron *Staphylococcus aureus*, *S. sciuri*, *Enterococcus gallinarum* y *Lactococcus lactis*. Es importante contrastar que estas

mismas especies presentaron resistencia ante tres de los cuatro controles positivos, mostrando únicamente sensibilidad ante la Penicilina. Realizando una comparación entre el diámetro de inhibición que presentaron los extractos etanólicos de ambas especies, se apreció que el halo presentado por el extracto de *Tradescatia spathacea* fue de un diámetro mucho mayor en comparación con el que presentó el extracto de *Manilkara zapota*. Las otras siete cepas bacterianas como sucedió en la prueba anterior presentaron resistencia tanto a los cuatro controles positivos como a los extractos etanólicos de ambas plantas (Tabla 3).

Tabla 3. Respuesta de las bacterias ante los extractos etanólicos de *M. zapota* y *T. spathacea*. R (Resistente) y S (Sensible)

Bacterias	Antibióticos			Extractos etanólicos	
	C	K	P	<i>M. z</i>	<i>T. s</i>
Gram Positives					
<i>S. sciuri</i>	S	R	S	S	S
<i>E. cloacae</i>	R	R	R	R	R
<i>E. gallinarum</i>	R	R	S	S	S
<i>L. lactis</i>	R	R	S	S	S
Gram Negatives					
<i>C. sakazaki</i>	R	R	R	R	R
<i>P. agglomerans</i>	R	S	R	R	R
<i>P. aeruginosa</i>	R	R	R	R	R
<i>P. otitidis</i>	R	R	R	R	R
<i>K. oxytoca</i>	R	R	R	R	R
<i>E. hormechei</i>	R	R	R	R	R

Tabla 4. Resultados de los extractos etanólicos y sus diluciones de *M. zapota* (M. z.) y *T. spathacea* (T.s.) sobre cepas bacterianas aisladas del intestino de insecto. El signo (-) indica resistencia (ausencia de inhibición del crecimiento) al extracto etanólico y el signo (+) indica sensibilidad (inhibición del crecimiento).

Especie	Extracto <i>T. spathacea</i>	1:10 μ l	1:100 μ l	1:1000 μ l	Extracto <i>M. zapota</i>	1:10 μ l	1:100 μ l	1:1000 μ l
Gram positivas								
<i>S. sciuri</i>	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>E. cloacae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. gallinarum</i>	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>L. lactis</i>	+	-	-	-	+	-	-	-
Gram negativas								
<i>C. sakazaki</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. agglomerans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. otitidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>K. oxytoca</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. hormechei</i>	-	-	-	-	-	-	-	-

Como había sucedido en la prueba con los antibióticos, durante las pruebas realizadas con las diluciones de cada uno de los extractos etanólicos de *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea*, las únicas especies que mostraron sensibilidad a los mismos fueron *Staphylococcus sciuri*, *Enterococcus gallinarum* y *Lactococcus lactis* (Tabla 4).

Por el lado, *Staphylococcus sciuri* únicamente presentó sensibilidad a los extractos etanólicos, perdiéndola desde la dilución de 1:10 (Fig. 1). En cuanto a *Enterococcus gallinarum* y *Lactococcus lactis*, ambas especies al igual que las tres anteriores, presentaron sensibilidad a los extractos etanólicos de las dos especies, sin embargo, ambas presentaron sensibilidad a las diluciones de 1:10 de los extractos etanólicos de *Tradescantia spathacea*, siendo esta planta la que presentó mayor inhibición en las especies que presentaron sensibilidad.

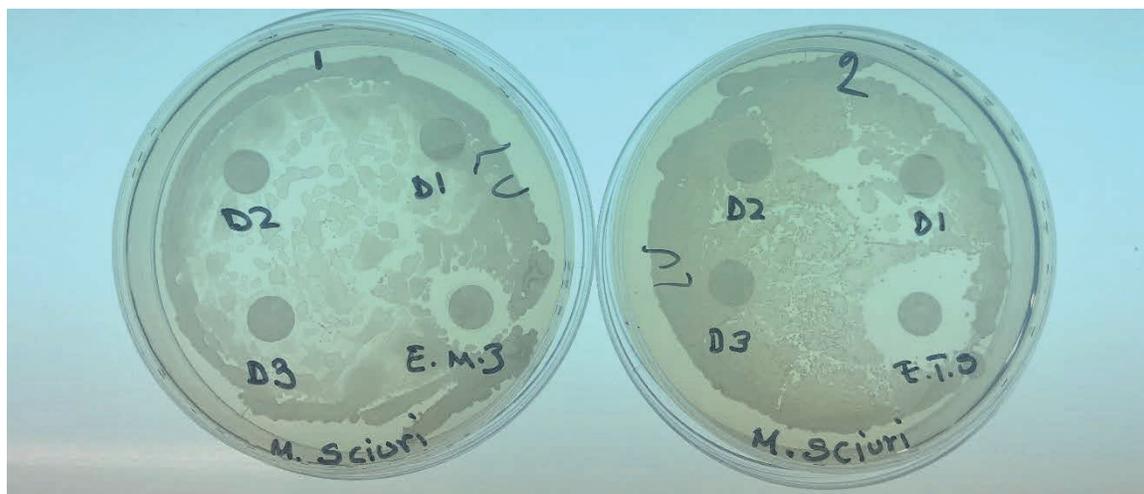


Figura 1. Prueba de *Staphylococcus sciuri* frente las diluciones de *M. zapota* y *T. spathacea*.

Discusión

A pesar de que en la bibliografía en la que se menciona que los extractos acuosos de al menos una de las especies de plantas presentan actividad antimicrobiana, en el caso del presente estudio se apreció que a pesar de usar una alta concentración de 1g /20 ml, no presentó ningún tipo de actividad contra ninguna de estas especies analizadas. En el caso de las pruebas realizadas con los extractos etanólicos tanto de *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea* mostraron actividad antimicrobiana frente alguna de las especies en las que se realizaron las pruebas. Es importante contrastar los datos de este trabajo con la literatura, donde a pesar de no emplear las mismas especies, aquí se obtuvieron resultados negativos en bacterias pertenecientes a los géneros *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Pseudomonas*, mientras que en los trabajos presentados por Islam *et al.*, 2013, Kaneria & Chanda, 2012, Kothari & Seshadri, 2010, Priya *et al.*, 2014 y Shanmugapriya *et al.*, 2011, se obtuvieron resultados positivos con especies de estos mismos géneros.

En cuanto al extracto de *Tradescantia spathacea*, los estudios antimicrobianos siguen siendo muy pocos, sin embargo hay literatura que se refiere a las posibles propiedades antimicrobianas presentes en esta especie, como el estudio de Yasurin & Piya-Isarakul, 2015 , en el que se trabajó con el extracto de dicha planta en diferentes solventes mostrando que los extractos etanólicos y de cloroformo tuvieron la mejor respuesta inhibidora, lo que refuerza los datos que se obtuvieron en este estudio. Tan *et al.*, 2014 también demostraron la actividad antimicrobiana de *Tradescantia spathacea* usando un extracto metanólico de esta especie. Finalmente García-Varela *et al.*, 2015, experimentaron con *Pseudomonas aeruginosa* teniendo como resultado una respuesta negativa a los extractos de *T. spathacea* con diferentes polaridades, lo cual refuerza lo obtenido en este

trabajo. Esto da lugar al posible desarrollo de más bacterias multirresistentes presentes en el tracto digestivo de diferentes insectos que se encuentren en contacto directo con el ser humano. Este estudio abre la puerta desarrollo de más investigaciones para determinar la efectividad de los extractos de origen vegetal que puedan ser empleados como fármacos para tratar infecciones generadas por dichas bacterias y que presentan inmunidad a la actividad antimicrobiana que poseen los antibióticos convencionales.

Capítulo 4. *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea* como agentes antimicrobianos contra los patógenos del biofilm oral.

***Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea* como agentes antimicrobianos contra los patógenos del biofilm oral.**

Resumen

Manilkara zapota y *Tradescantia spathacea* son dos plantas utilizadas con fines medicinales por la civilización maya desde la época prehispánica hasta la actualidad. El propósito de este trabajo es determinar las propiedades antimicrobianas de los extractos de las hojas de estas dos plantas sobre las especies bacterianas del biofilm oral que inciden en la salud humana.

Se aislaron bacterias del biofilm oral humano, se cultivaron en varios medios selectivos y se secuenciaron por el método de código de barras para la identificación de las especies. Se utilizaron extractos acuosos y etanólicos de hojas de las dos especies.

Todas las cepas mostraron resistencia a los extractos acuosos. En cuanto a los extractos etanólicos, *Staphylococcus xylosus*, *Rothia dentocariosa*, *Streptococcus sanguinis*, *S. infantis*, *S. gordonii*, *Granulicatella adiacens* y *Tetragenococcus osmophilus*, mostraron sensibilidad, siendo el extracto de *Tradescantia spathacea* el de mayor inhibición. Se concluye que ambas especies vegetales pueden ser de interés para el desarrollo de fármacos frente a infecciones por estas bacterias.

El presente estudio aporta datos sobre el efecto antibacteriano de extractos de plantas que podrían ser útiles en el tratamiento de infecciones orales causadas por microorganismos que, aunque se encuentran normalmente en la cavidad oral, pueden llegar a desencadenar enfermedades. Se necesitan más investigaciones para perfilar las condiciones óptimas para su uso, tanto en las bacterias probadas en este trabajo como en otros patógenos orales.

Introducción

El uso de plantas para tratar diferentes enfermedades es algo que está extendido en diferentes grupos étnicos a lo largo de todo el mundo y que se ha prolongado en el tiempo debido al limitado acceso a los servicios médicos. México es uno de los países donde muchas de estas prácticas medicinales que provienen de la época prehispánica aún permanecen vigentes, aunque con algunas transformaciones. En la actualidad se ha incrementado el interés por conocer y determinar los mecanismos por los que las plantas actúan dentro del organismo para tratar diferentes infecciones que afectan a la población humana y que están causados por organismos que se han vuelto resistentes a muchos de los fármacos existentes. Entre las plantas usadas en la medicina tradicional por las comunidades mayas actuales se encuentran *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea*.

M. zapota es una especie perteneciente a la familia Sapotaceae, que actualmente incluye aproximadamente 800 especies, divididas en 65 géneros, distribuidas en regiones tropicales de América y Asia (Fayek *et al.*, 2012; Mehnaz & Bilal, 2017). Actualmente se consideran al menos 32 especies, las cuales poseen un gran valor comercial y económico. Por otro lado, *T. spathacea* es una especie perteneciente a la familia Commelinaceae, que incluye unas 70 especies (Funez *et al.*, 2016), distribuidas de forma endémica en México, América central y las Indias occidentales, tanto en bosques naturales como en áreas urbanas, aunque en la actualidad ha sido introducida en diferentes regiones tropicales y subtropicales. *M. zapota*, también conocida como chicozapote, se emplea para el tratamiento de problemas digestivos, principalmente la disentería; también se ha registrado su uso para tratar dolores generales, insomnio, enfermedades de la sangre, para problemas vaginales como flujo y hemorragias, para el tratamiento de heridas, caída del cabello, como

agente diurético, y para tratar la tuberculosis (UNAM, 2021). En cuanto a *T. spathacea*, también conocida como maguey morado, es una planta que se utiliza para controlar la hemorragia menstrual cuando esta es irregular, según se indica en la Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana (UNAM, 2021). Sin embargo, entrevistas a miembros de las comunidades mayas actuales de Tankuché, Cumpich y Tinún indican su uso en el tratamiento de diferentes infecciones que provocan enfermedades respiratorias y dermatológicas (Carrera-Kurjenoja (capítulo 2 de esta Tesis).

En ambas plantas se han reportado también un uso relacionado con patologías de la cavidad oral. En el caso de *M. zapota* Barad *et al*, (2014) indican su actividad antibacteriana en extracto metanólico de hojas frente a 4 bacterias cariogénicas como *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus* y *Staphylococcus aureus*. Estos autores también indican que el extracto acuoso de hojas de esta especie presenta actividad contra *S. mutans* y *S. aureus*. En cuanto a *Tradescantia spathacea* no se observan registros en la literatura científica acerca de su uso sobre microorganismos de la cavidad oral, sin embargo, algunos miembros de la comunidad maya de Tinún (Campeche, México) en un trabajo de entrevistas previo a este estudio refieren su uso en el tratamiento del dolor de muelas e hinchazón de las encías.

En virtud a lo expuesto, el objetivo de este trabajo es poner a prueba la capacidad de estas plantas para actuar como agentes antimicrobianos, inhibiendo el crecimiento *in vitro* de diversas bacterias orales con capacidad patogénica. La hipótesis que se plantea es que tanto *Manilkara zapota* como *Tradescantia spathacea* tienen la capacidad de inhibir diferentes especies de bacterias aisladas de la cavidad oral.

Resultados y Discusión

En los resultados obtenidos durante la primera prueba realizada con los extractos acuosos de *T. spathacea* y *M. zapota* se observó que todas las cepas bacterianas empleadas para dicha prueba presentaron resistencia a ambos extractos (Tabla 1). En el caso de las pruebas realizadas a partir del extracto etanólico de estas mismas plantas, se pudo observar que las especies *Rothia dentocariosa*, *Streptococcus sanguinis*, *S. infantis*, *Tetragenococcus osmophilus*, *Streptococcus gordonii*, *Granulicatella adiacens*, *Brevibacterium* sp y *Staphylococcus xylosus*, presentaron sensibilidad a ambos extractos etanólicos, siendo el de *Tradescantia spathacea* el que mostró un mayor halo de inhibición en comparación con el presentado por *Manilkara zapota* en todas las cepas (Tabla 2, Figs. 1-8).

Tabla 1. Respuesta bacteriana a los extractos acuosos de *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota*.

Bacterias	Mezcla de antibiótico	Extracto acuoso Mz	Extracto acuoso Ts
<i>L. rhamnosus</i>	-	-	-
<i>S. hominis</i>	-	-	-
<i>S. epidermidis</i>	-	-	-
<i>S. salivarius</i>	-	-	-
<i>S. parasanguinis</i>	-	-	-
<i>C. mucifaciens</i>	-	-	-
<i>B. longum</i>	-	-	-
<i>R. dentocariosa</i>	-	-	-
<i>S. sanguinis</i>	-	-	-
<i>S. infantis</i>	-	-	-
<i>T. osmophilus</i>	-	-	-
<i>S. gordonii</i>	-	-	-
<i>G. adiacens</i>	-	-	-
<i>Brevibacterium</i> sp.	-	-	-
<i>S. xylosus</i>	-	-	-

Tabla 2. Respuesta bacteriana a extractos etanólicos de *Tradescantia spathacea* (T.s.) y *Manilkara zapota* (M.z.) frente a los antibióticos cloranfenicol (C), kanamicina (K) y penicilina (P). Nota: (-) indica resistencia (ausencia de inhibición del crecimiento) al extracto etanólico; (+) indica sensibilidad (inhibición del crecimiento).

Bacterias	Antibióticos			Extracto etanólico M. z	Extracto etanólico T. s
	C	K	P		
<i>L. rhamnosus</i>	-	-	-	-	-
<i>S. hominis</i>	-	-	-	-	-
<i>S. epidermidis</i>	-	-	-	-	-
<i>S. salivarius</i>	-	-	-	-	-
<i>S. parasanguinis</i>	-	-	-	-	-
<i>C. mucifaciens</i>	-	-	-	-	-
<i>B. longum</i>	-	-	-	-	-
<i>R. dentocariosa</i>	-	-	-	+	+
<i>S. sanguinis</i>	-	-	-	+	+
<i>S. infantis</i>	-	-	-	+	+
<i>T. osmophilus</i>	-	-	-	+	+
<i>S. gordonii</i>	-	-	-	+	+
<i>G. adiacens</i>	-	-	-	+	+
<i>Brevibacterium sp.</i>	-	-	-	+	+
<i>S. xylosus</i>	-	-	-	+	+

Las cepas mostraron sensibilidad ante el extracto etanólico sin diluir de ambas especies de plantas; sin embargo, a partir de la dilución 1:10 todas las cepas dejaron de mostrar sensibilidad. Esto indica que la efectividad de dicho extracto se ve disminuida al realizar diluciones del extracto inicial (Tabla 3).

En cuanto a las pruebas realizadas con las diluciones preparadas a partir del extracto etanólico inicial sin diluir, se observó que las cepas mostraron sensibilidad nuevamente ante el extracto etanólico sin diluir de ambas especies de plantas; sin embargo, a partir de la dilución 1:10 todas las cepas dejaron de mostrar sensibilidad ante los extractos. Esto indica que la efectividad de dicho extracto se ve comprometida al realizar diluciones del extracto inicial (Tabla 3).

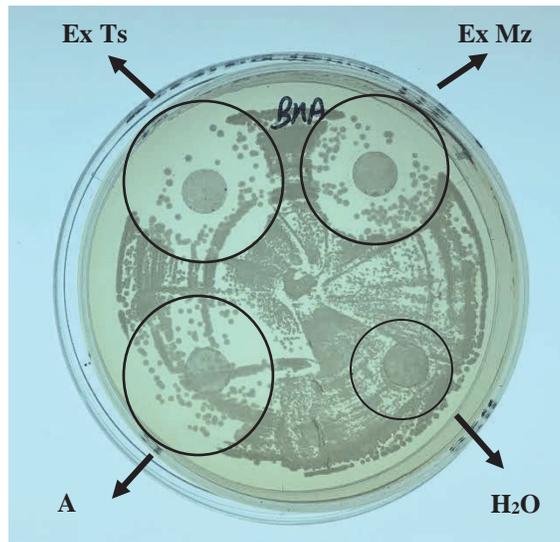


Figura 1. Comparación en los halos de inhibición en *Brevibacterium* sp. **Ex.Ts:** *Tradescantia spathacea*; **Ex.Mz:** Extracto *Manilkara zapota*; **A:** antibiótico.

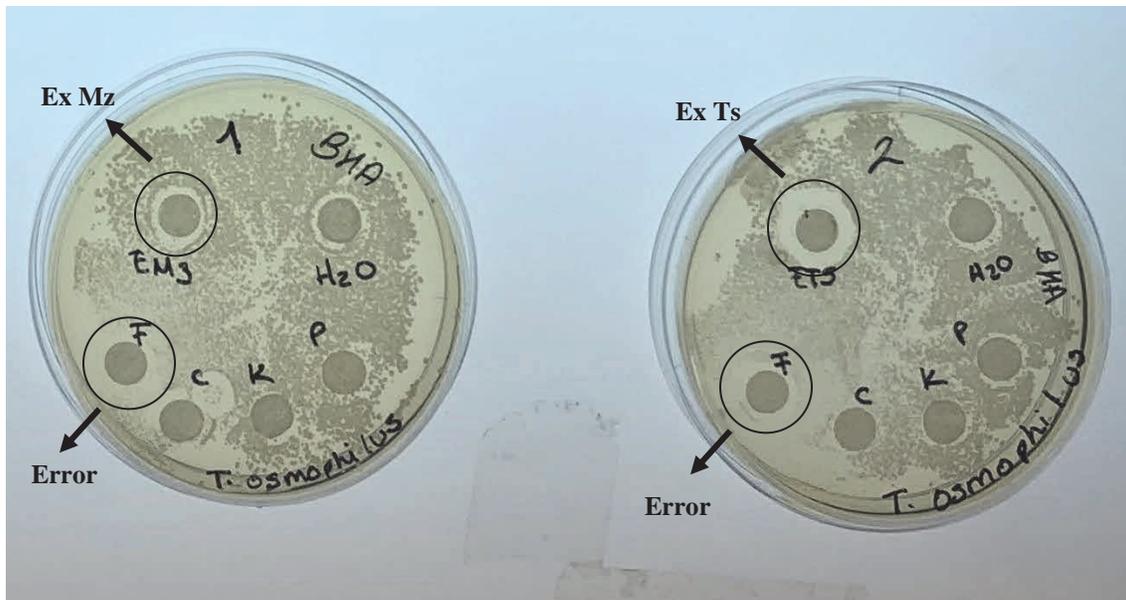


Figura 2. Reacción de *T. osmophilus* ante extractos etanólicos. **Ex.Ts:** extracto de *Tradescantia spathacea*; **Ex.Mz:** extracto de *Manilkara zapota*; **C:** Cloranfenicol; **K:** Kanamicina y **P:** Penicilina.

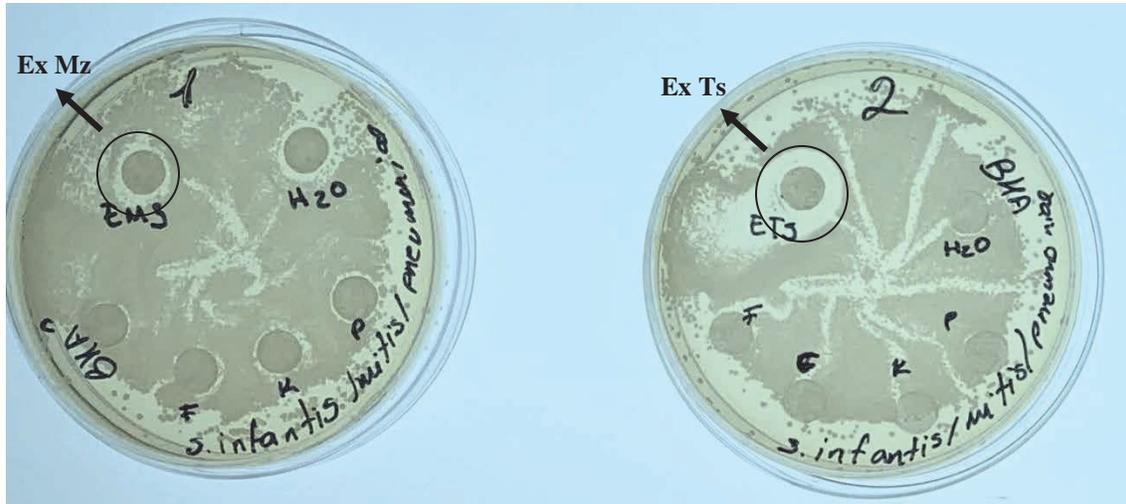


Figura 3. Reacción de *S. infantis* ante extractos etanólicos. **Ex.Ts** (*Tradescantia spathacea*), **Ex.Mz** (Extracto *Manilkara zapota*), **C** (Cloranfenicol), **K** (Kanamicina) y **P** (Penicilina).

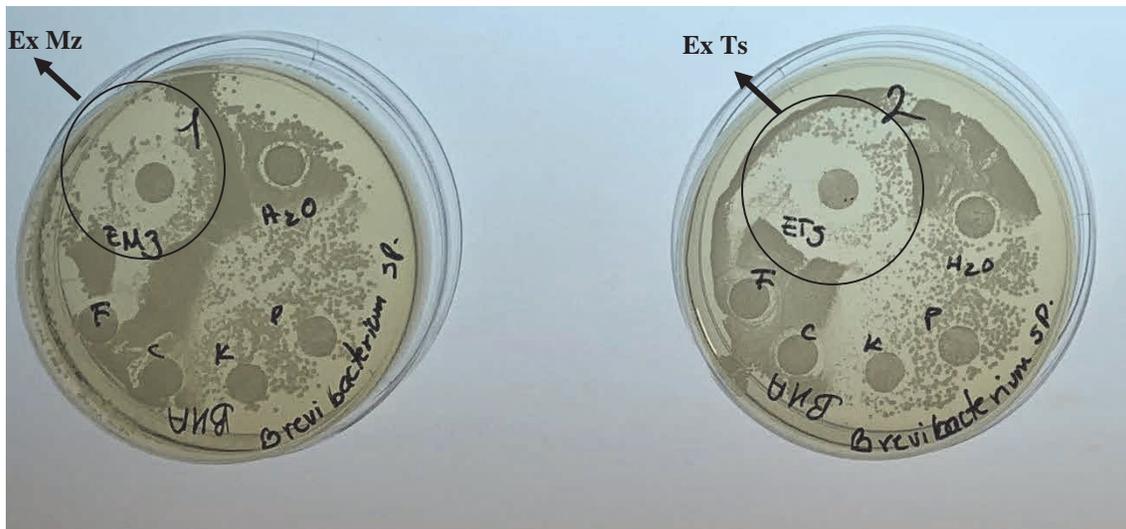


Figura 4. Reacción de *Brevibacterium* sp. ante extractos etanólicos. **Ex.Ts** (*Tradescantia spathacea*), **Ex.Mz** (Extracto *Manilkara zapota*), **C** (Cloranfenicol), **K** (Kanamicina) y **P** (Penicilina).

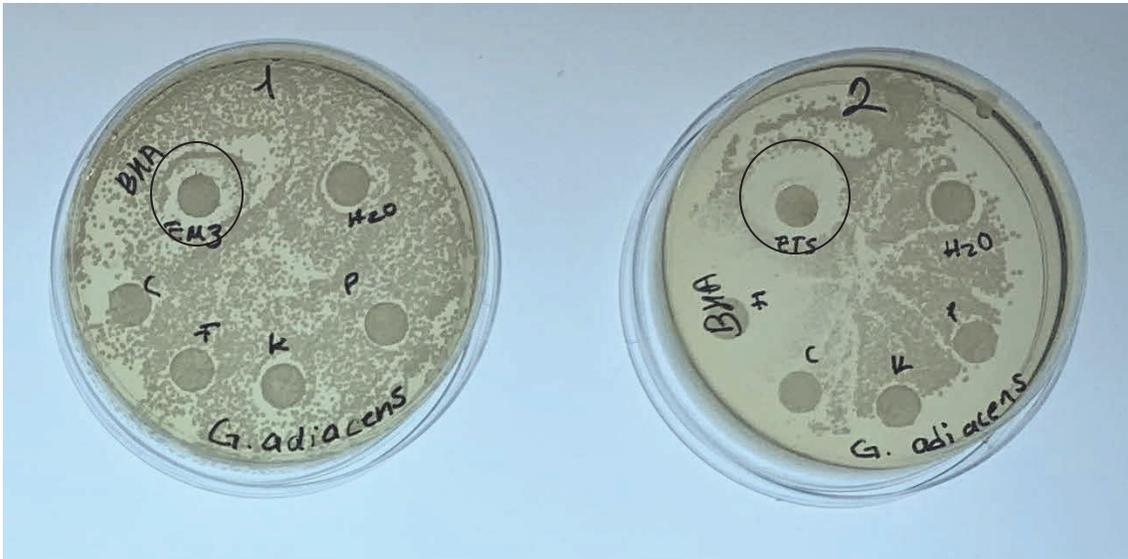


Figura 5. Reacción de *G. adiacens* ante extractos etanólicos. **Ex.Ts** (*Tradescantia spathacea*), **Ex.Mz** (Extracto *Manilkara zapota*), **C** (Cloranfenicol), **K** (Kanamicina) y **P** (Penicilina).

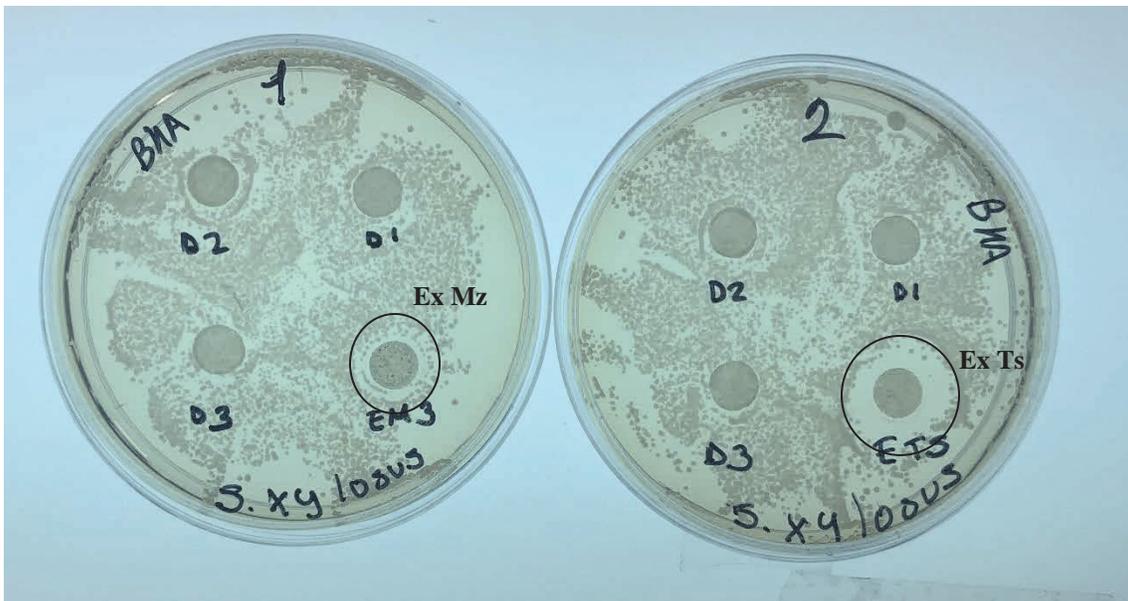


Figura 6. *S. xylosum* durante las pruebas de las diluciones. **Ex.Ts** (*Tradescantia spathacea*) **Ex.Mz** (Extracto *Manilkara zapota*) **D1** (Dilución 1:10) **D2** (Dilución 1:100) **D3** (Dilución 1:1000).

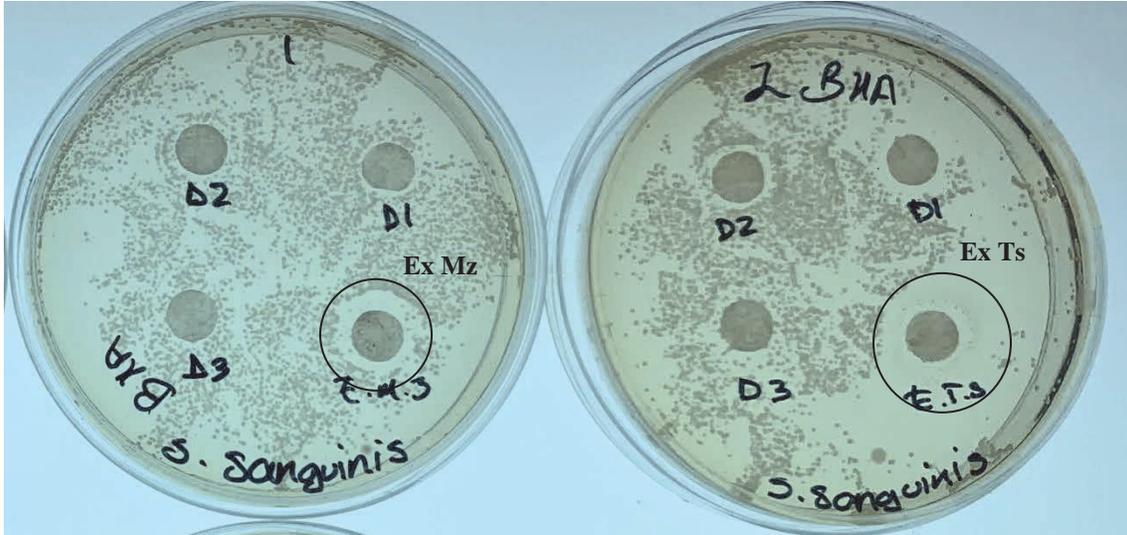


Figura 7. *S. sanguinis* durante las pruebas de las diluciones. **Ex. Ts** (*Tradescantia spathacea*) **Ex. Mz** (Extracto *Manilkara zapota*) **D1** (Dilución 1:10) **D2** (Dilución 1:100) **D3** (Dilución 1:1000).

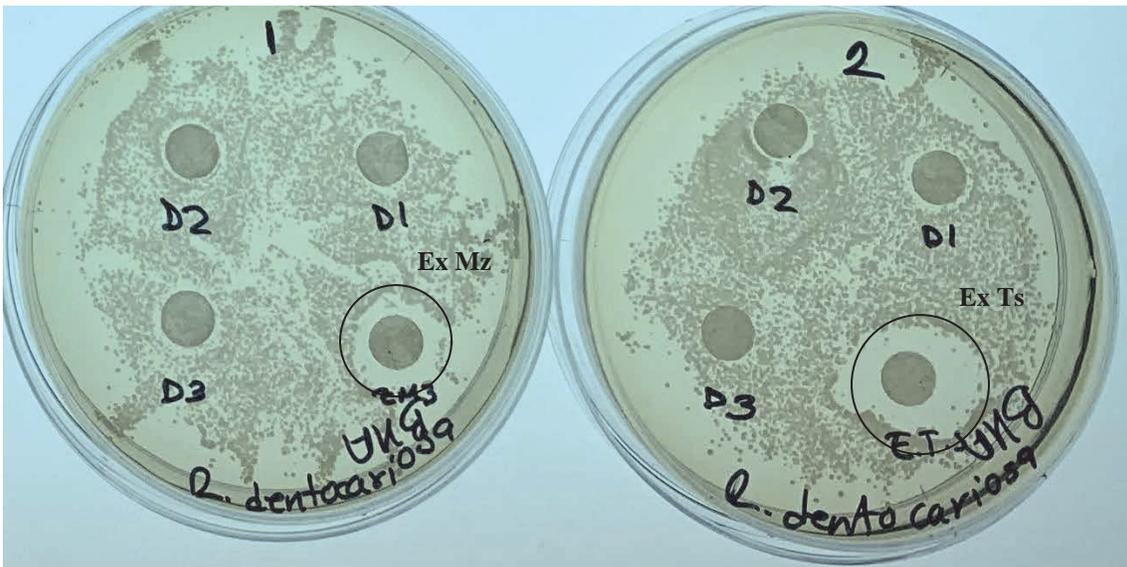


Figura 8. *R. dentocariosa* durante las pruebas de las diluciones. **Ex. Ts** (*Tradescantia spathacea*) **Ex. Mz** (Extracto *Manilkara zapota*) **D1** (Dilución 1:10) **D2** (Dilución 1:100) **D3** (Dilución 1:1000).

Tabla 3. Resultados de los extractos etanólicos y sus diluciones de *M. zapota* (M. z.) y *T. spathacea* (T.s.) sobre cepas bacterianas aisladas de la cavidad oral humana. El signo (-) indica resistencia (ausencia de inhibición del crecimiento) al extracto etanólico y el signo (+) indica sensibilidad (inhibición del crecimiento).

Especie	Extracto etanólico M. z	01:10	1:100	1:1000	Extracto etanólico T. s	01:10	1:100	1:1000
<i>L. rhamnosus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. hominis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. epidermidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. salivarius</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. parasanguinis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. mucifaciens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. longum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>R. dentocariosa</i>	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>S. sanguinis</i>	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>S. infantis/ mitis/ pneumoniae</i>	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>T. osmophilus</i>	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>S. gordonii</i>	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>G. adiacens</i>	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Brevibacterium sp.</i>	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>S. xylosum</i>	+	-	-	-	+	-	-	-

Además, se planteó si las variaciones de las condiciones de preparación de los extractos iniciales repercutirían en la sensibilidad/resistencia de las bacterias. Para comprobarlo se preparó un segundo extracto con los mismos pasos que el original modificando i) el modo de hervir las infusiones, sustituyendo el microondas, por una placa térmica hasta que alcanzara su punto de ebullición y ii) resuspendiendo el extracto seco en agua Mili Q en lugar de utilizar agua destilada. Los resultados obtenidos en la prueba de difusión de disco mostraron que la extracción etanólica preparada en microondas durante 2 minutos y resuspendida en agua destilada de acuerdo con el protocolo de Kothari & Seshadri (2010), tenía actividad antimicrobiana frente a las diferentes especies de bacterias orales en las que se probó. Por el contrario, el extracto etanólico preparado en la placa térmica y resuspendido en agua Mili Q mostró no tener ningún efecto sobre ninguna de las bacterias orales. Esto puede ser debido a que el agua destilada contiene más sales en comparación el agua Mili Q y pudo haber influenciado en la ósmosis. Alternativamente se puede sugerir que, al haber más sales disponibles en el agua destilada, éstas podrían tener influencia sobre el principio activo de las plantas, lo cual podría potenciar la actividad antimicrobiana de las mismas.

Las 15 especies bacterianas analizadas en este trabajo presentaron resistencia a los antibióticos empleados. Este hecho es relevante y está en la línea de los datos presentados en la literatura científica (González Mendoza *et al.*, 2019) sobre resistencias microbianas. El ser humano se encuentra en constante contacto con diversos antibióticos y a menudo se lleva a cabo un uso inadecuado de los tratamientos que favorece la aparición de cepas resistentes que desplazan a las sensibles (González Mendoza *et al.*, 2019). Ocho de las 15 especies bacterianas analizadas en este estudio tuvieron sensibilidad a los extractos

etanólicos de *T. spathacea* y *M. zapota* empleados sin diluir, a la concentración inicial de 0,0094 gr/ mL (0,0141 gr/1,5 mL). Estos datos indican que estas dos especies vegetales deberían ser candidatas en futuros ensayos clínicos para el tratamiento de diferentes patologías orales provocadas por alguna de estas especies bacterianas analizadas. No obstante, los datos aportados sobre crecimiento bacteriano en placa de cultivo deben de ser cotejados con estudios adicionales sobre la viabilidad de estos extractos y su efecto en la cavidad oral humana.

Este trabajo ofrece una nueva perspectiva en cuanto al uso de extractos de origen vegetal para el tratamiento de patologías orales de origen bacteriano. Existen pocos estudios sobre el potencial de extractos de origen vegetal frente a microorganismos orales resistentes a los antibióticos habituales. Uno de estos casos es el llevado a cabo por Pardo-Aldave *et al.* (2019), donde realizan una revisión sistemática sobre la actividad antimicrobiana *in vitro* de la planta Camu Camu (*Myrciaria dubia*) contra microorganismos orales. En este estudio se menciona su potencial contra diversos patógenos orales. Al igual que pasa con *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota*, muchas plantas endémicas han demostrado gran actividad antimicrobiana frente a diferentes especies de bacterias que afectan a la cavidad oral (Cruz Martínez *et al.*, 2017). Se han podido encontrar otros estudios que demuestran el uso de otras plantas para el tratamiento contra patógenos orales como *Salmonella* sp. y *Streptococcus mutans* (Amosun, 2021; Rosas-Piñón *et al.* 2012). El uso de extracto de especies como *Tradescantia spathacea* dentro de las pastas dentales como lo demuestra el estudio realizado Amosun (2021), podría ayudar a prevenir diferentes patologías originadas por este tipo de bacterias patógenas.

En el caso de *Tradescantia spathacea* es interesante observar que mostró mayor potencial que *M. zapota*, por lo que sería importante además realizar un estudio sobre sus componentes fitoquímicos para poder tener un mayor conocimiento sobre los principios activos de la planta y cotejar los de ambas, para indagar sobre el mecanismo de acción específico en diferentes tipos de bacterias. Esta información podría ser empleada por la industria farmacéutica para el desarrollo de fármacos contra patógenos orales resistentes a antibióticos.

Capítulo 5. Evaluación de extractos etanólicos de *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota*, como posibles agentes terapéuticos contra *Mycoplasma agalactiae*.

Evaluación de extractos etanólicos de *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota*, como posibles agentes terapéuticos contra *Mycoplasma agalactiae*.

Resumen

El interés de las plantas con fines medicinales se ha incrementado en los últimos años a raíz del aumento en la tasa de resistencia por parte de patógenos a diferentes antibióticos, además de las variaciones en la forma de actuar, que van a depender de la especie de bacteria y del tipo de patógeno. El objetivo de este trabajo es poder conocer y determinar la capacidad de inhibición de *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota* sobre *Mycoplasma agalactiae* procedente de la leche de oveja. Este es una especie de patógeno que representa un grave problema por los escasos tratamientos y medicamentos para tratar las patologías que genera.

Se prepararon dos extractos etanólicos de ambas plantas basados en la metodología de (Kothari & Seshadri (2010). Se realizaron pruebas MIC (Concentración Mínima Inhibidora), sobre 12 diluciones preparadas a partir del extracto etanólico inicial, junto con el medio de cultivo líquido (piruvato) y determinada cantidad de la cepa a estudiar.

Después de 48 horas se observó que ambas plantas lograron inhibir el crecimiento de *M. agalactiae* en diferentes proporciones. Las diluciones preparadas a partir del extracto etanólico de *Tradescantia spathacea* lograron tener mayor actividad de inhibición a diferencia de *Manilkara zapota*, que a pesar de haber mostrado actividad de inhibición fue en una menor proporción.

Se concluye que ambas especies de plantas pueden representar una fuente para el desarrollo de nuevos antibióticos con la capacidad de inhibir a bacterias pertenecientes al género *Mycoplasma*, que no solo afectan a la industria ganadera, sino también a las especies que tienen un gran impacto sobre el ser humano. Se recomienda el desarrollo de estudios más específicos sobre los principios activos de ambas especies, además de los mecanismos de acción de ambas sobre *M. agalactiae* y en otras especies pertenecientes al género *Mycoplasma*.

Introducción

El desarrollo de múltiples medicamentos, con el fin de atacar diferentes especies de bacterias causantes de diversas enfermedades, ha generado que en la actualidad la población humana posea una mayor respuesta inmunológica a los ataques de distintos patógenos. En general, los antibióticos que se utilizan hoy en día suelen actuar sobre la pared celular de las bacterias, sin embargo, hay patógenos que al carecer de dicha estructura no son susceptibles a dichos antibióticos. Las bacterias del género *Mycoplasma* son organismos pertenecientes al filo Tenericutes, a la clase Mollicutes, que se encuentra constituido por aproximadamente 200 especies distribuidas en 8 géneros y 5 familias (Waites *et al.*, 2012). Estos microorganismos actúan como parásitos extracelulares de células y tejidos, aunque algunas especies pueden penetrar en las células (Rodrigo *et al.*, 2013), encontrándose distribuidos entre especies animales como artrópodos, reptiles, peces y mamíferos incluido el ser humano, siendo posible también encontrarlos en plantas donde actúan como patógenos (Waites *et al.*, 2012; Razin & Hayflick, 2010). En comparación con otros géneros de bacterias, los *Mycoplasma* poseen un tamaño mucho menor, teniendo forma de “huevo frito”, siendo su principal característica la ausencia de pared celular,

presentando únicamente membrana plasmática (Gautier-Bouchardon, 2018; Rufo *et al.*, 2021; Waites *et al.*, 2012).

Usualmente estos patógenos suelen encontrarse dentro de su hospedador, ya sea animal o humano, adherido en los epitelios de las mucosas tanto del tracto respiratorio como del urogenital, siendo extraño que estas bacterias invadan otro tipo de tejido (Meseguer-Peinado *et al.*, 2012; Razin & Hayflick, 2010). Para que tenga lugar la infección la bacteria debe adherirse a dichas mucosas propiciando la colonización después lesiona la célula e interfiere en su metabolismo (Meseguer-Peinado *et al.*, 2012; Razin & Hayflick, 2010). Los *Mycoplasmas* alteran el sistema inmunitario del hospedador teniendo la capacidad de eliminar linfocitos entre otros mecanismos (Razin & Hayflick, 2010).

Las especies patógenas más comunes relacionadas con infecciones son *Mycoplasma pneumoniae*, *M. genitalium* y *M. hominis* (Gautier-Bouchardon, 2018; Waites *et al.*, 2012). No obstante, se han descrito algunas otras especies de las que aún no se posee suficiente información y las cuales son consideradas como potenciales patógenos; *M. amphoriforme*, *M. penetrans*, *M. pirum* y *M. fermentans* (Waites *et al.*, 2012). *M. pneumoniae* es un común *Mycoplasma* que afecta al hombre; siendo responsable del desarrollo de enfermedades en el tracto respiratorio superior e inferior, presentando los pacientes síntomas como faringitis, bronconeumonía y traqueobronquitis (Gautier-Bouchardon, 2018; Rufo *et al.*, 2021; Waites *et al.*, 2012). Por su parte, *Mycoplasma genitalium* también tiene como reservorio natural al ser humano, localizándose en las mucosas urogenitales de personas sexualmente activas, tanto en hombres como mujeres; algunas de las patologías asociadas a esta especie son enfermedades inflamatorias como cervicitis, uretritis, conjuntivitis e infertilidad (Gautier-Bouchardon, 2018; Meseguer-Peinado *et al.*, 2012; Rufo *et al.*, 2021). *Mycoplasma*

hominis, es una especie que suele colonizar el cérvix o vagina de mujeres sexualmente activas y en menor proporción puede encontrarse en la uretra masculina. Esta especie se encuentra ampliamente relacionada con múltiples problemas de salud, entre los que están la pielonefritis, las enfermedades inflamatorias pélvicas, la corioamnionitis, la artritis, la osteoartritis y las infecciones de heridas, además de causar diversos padecimientos en recién nacidos entre los que se encuentran bacteriemia, meningitis, neumonía congénita y abscesos (Rufo *et al.*, 2021; Waites *et al.*, 2012).

La agalaxia contagiosa es una afección prevalente a nivel mundial pero principalmente en el área del mediterráneo que afecta principalmente a pequeños rumiantes como ovejas y corderos; esta enfermedad es causada por distintas especies de *Mycoplasmas*, siendo *M. agalactiae* una de las principales causantes de la misma. En Europa la prevalencia de esta enfermedad es de gran importancia ya que tiene implicaciones tanto económicas como clínicas que inciden en las industrias basadas en estos pequeños rumiantes (McAuliffe *et al.*, 2011). Algunos de los síntomas que se derivan por la infección de este patógeno son mastitis, artritis, queratoconjuntivitis, siendo además un agente causante de abortos en estos animales (Ariza-Miguel *et al.*, 2012; Cacciotto *et al.*, 2021; Kumar *et al.*, 2014). El impacto de *M. agalactiae* en la industria se debe a la disminución en la producción de leche como también en la altas tasas de morbilidad y mortalidad (Ariza-Miguel *et al.*, 2012; Cacciotto *et al.*, 2021). Los factores de mayor importancia en la prevalencia de infecciones por esta bacteria son, entre otros, las tradicionales prácticas de pastoreo, la poca implementación de medidas profilácticas además de los ineficaces tratamientos con distintos antibióticos (Kumar *et al.*, 2014).

El objetivo de este trabajo es determinar las posibles propiedades antimicrobianas de extractos etanólicos de las hojas secas de *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea* frente a *Mycoplasma agalactiae*, teniendo como hipótesis que las hojas de ambas especies de plantas poseen actividad antimicrobiana frente a bacterias pertenecientes al género *Mycoplasma*. La hipótesis se basa en los estudios publicados con anterioridad (Kaneria & Chanda, 2012; Yasurin & Piya-Isarakul, 2015) donde se presenta efectividad en la actividad antimicrobiana de extractos de estas plantas frente a otras bacterias Gram-negativas.

Resultados

Los resultados de los ensayos para determinar la concentración mínima inhibitoria muestran que las diluciones de *M. zapota*, inhiben el crecimiento de *M. agalactiae* de forma decreciente hasta la cuarta dilución; a partir de la quinta dilución se presenta crecimiento bacteriano y se deja de apreciar actividad inhibidora. Por otro lado, el extracto de *T. spathacea* también presenta inhibición frente a *M. agalactiae*, pero a diferencia de *M. zapota*, el extracto original puede ser diluido 6 veces hasta observar su límite de inhibición (Fig. 1); esto demuestra que *T. spathacea* posee una capacidad de inhibición sobre *M. agalactiae* superior a *M. zapota*.

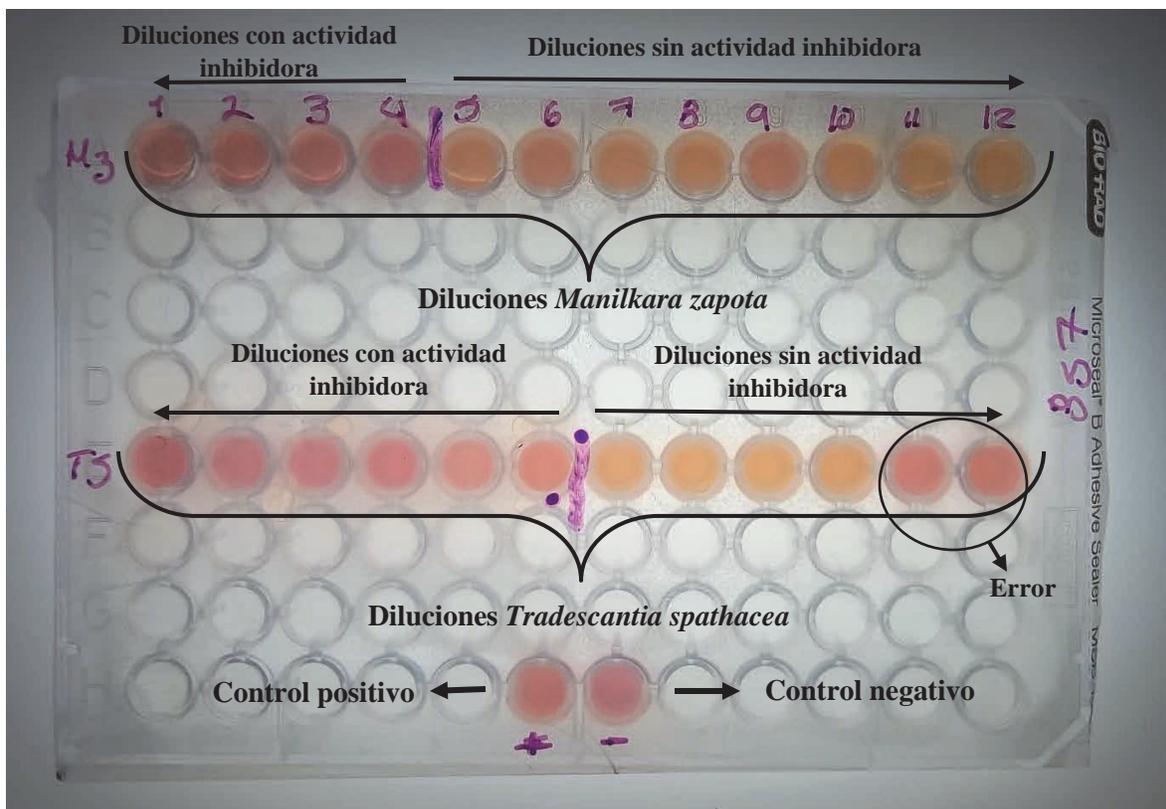


Figura 1. Prueba MIC (Concentración Mínima Inhibidora) sobre *M. agalactiae*. Con el extracto de *Manilkara zapota* se observa actividad inhibidora hasta la cuarta dilución, mientras que en las diluciones con *Tradescantia spathacea* se observa actividad inhibidora hasta la sexta dilución. En los últimos dos pocillos de *T. spathacea* se observa un error que se generó a la hora de realizar el pipeteo.

Discusión

En este trabajo se pone de manifiesto que, al igual que otras bacterias Gram-negativas, *M. agalactiae* presenta sensibilidad a los extractos etanólicos de *T. spathacea* y *M. zapota* (Islam *et al.*, 2013; García-Varela *et al.*, 2013) Sin embargo, el desarrollo de este estudio se realizó mediante experimentación de prueba-error, ya que hasta ahora no se han realizado pruebas específicas de estas especies de plantas (ni de otras especies) sobre ninguna especie bacteriana perteneciente al género *Mycoplasma*. Se tuvieron que adaptar técnicas tradicionales de ensayos MIC para poder realizar el estudio. Estos análisis pueden servir como punto de inflexión para el desarrollo de nuevas técnicas y estudios de extractos de origen vegetal sobre patógenos pertenecientes al género *Mycoplasma*, abriendo la puerta a

indagar sobre el método de acción de estos extractos. Este conocimiento resulta fundamental para proponer el uso de extractos etanólicos de *M. zapota* y *T. spathacea* como nuevos antibióticos naturales sustitutos de los actualmente utilizados para el tratamiento de las enfermedades causadas por esta bacteria. Esto último es relevante ya que la resistencia de estas bacterias a distintos tipos de antibióticos se debe a la característica principal de los *Mycoplasma* su ausencia de pared celular.

Capítulo 6. Reacción inhibitoria de extractos etanólicos de *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de casos de mastitis en ganado caprino.

Reacción inhibitoria de extractos etanólicos de *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de casos de mastitis en ganado caprino.

Resumen

Considerando las propiedades medicinales que se le han atribuido a *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea* dentro de la cultura maya, así como los estudios más recientes sobre sus propiedades antimicrobianas, el objetivo de este trabajo fue determinar la actividad antimicrobiana de estas dos especies en cepas de *Staphylococcus aureus* causantes de mastitis en cabras. La mastitis es una afección que no solo causa problemas a nivel veterinario, sino que representa además un padecimiento común en mujeres lactantes.

Se emplearon extractos acuosos y etanólicos basados en la metodología de (Kothari & Seshadri, 2010). Se realizó un método de difusión con círculos de papel sumergidos en a) extractos acuosos y etanólicos de las plantas; b) los antibióticos kanamicina, penicilina y cloranfenicol y c) agua, dispuestos todos los compuestos en placas de Petri con las cepas bacterianas seleccionadas. Los resultados mostraron que todas las cepas poseen resistencia a los extractos acuosos. Sin embargo, todas las cepas (incluyendo la de referencia) manifestaron sensibilidad ante los extractos etanólicos de ambas especies, siendo el extracto de *Tradescantia spathacea* el que mayor capacidad de inhibición demostró. Se concluye que ambas especies pueden ser de gran interés para el desarrollo de nuevos tratamientos contra la mastitis causada por *Staphylococcus aureus* tanto a nivel veterinario como humano. Futuros estudios deben analizar las condiciones de su aplicación.

Introducción

La mastitis es una enfermedad común que suele afectar a seres humanos y otros mamíferos, caracterizada por la inflamación del tejido mamario generado por una infección bacteriana durante la lactancia, desencadenando síntomas como la disminución en la producción de leche materna, fiebre séptica y la aparición de bultos en las glándulas mamarias (Abril *et al.*, 2020; Angelopoulou *et al.*, 2018). La lactancia es un periodo de suma importancia para las crías de mamíferos ya que reciben la mayoría de los nutrientes y un complemento inmunitario (Hernández-Caravaca *et al.*, 2022), además en el caso del ser humano se recomienda como única fuente de alimentación hasta los 6 meses (Angelopoulou *et al.*, 2018; Rimoldi *et al.*, 2020). En la industria ganadera este tipo de patologías también representan una gran pérdida económica ya que generan una baja calidad y reducción de leche de origen bovino, ovino y caprino (Abril *et al.*, 2020; Cavalcante *et al.*, 2020). *Staphylococcus aureus* es el patógeno comúnmente causante de mastitis o inflamación de las glándulas mamarias en diferentes especies. *S. aureus* es una bacteria Gram-positiva que se caracteriza por ser anaerobia facultativa; se localiza en la piel y las mucosas de mamíferos y de aves (Abril *et al.*, 2020; Götz *et al.*, 2006; Mehraj *et al.*, 2016). Además de causar mastitis, esta bacteria suele ser el agente causante de diversas enfermedades entre las que cabe mencionar infecciones de la piel y otros tejidos, osteomielitis, sepsis, neumonía, entre muchos otros problemas (Mehraj *et al.*, 2016).

Manilkara zapota es una especie vegetal perteneciente a la familia Sapotaceae, que actualmente incluye aproximadamente 800 especies, divididas en 65 géneros, distribuidas en regiones tropicales de América y Asia (Fayek *et al.*, 2012; Mehnaz & Bilal, 2017). Por su parte, *Tradescantia spathacea* es una especie perteneciente a la familia Commelinaceae,

que incluye unas 70 especies (Funez *et al.*, 2016), distribuidas de forma endémica en México, América central y las Indias occidentales, tanto en bosques naturales como en áreas urbanas, aunque en la actualidad ha sido introducida en diferentes regiones tropicales y subtropicales. A ambas especies vegetales se les ha atribuido diversas propiedades relacionadas con la salud, entre ellas actividades antimicrobianas, antifúngicas, antivirales, anticancerígenas y antioxidantes. En particular, extractos de *Manilkara zapota* se han ensayado contra cepas de *S. aureus* de la School of Biotechnology, Damodaran College of Science, Coimbatore, Tamil Nadu, India (Shanmugapriya *et al.*, 2011); extractos de *Tradescantia spathacea* se han analizado frente a cepas de *S. aureus* de la National Collection of Industrial Microorganism (NCIM) Pune, India (Shinde *et al.*, 2021). En estos ensayos no se menciona que se trate de cepas aisladas de casos de campo registrados, por tanto, son necesarios ensayos sobre cepas aisladas de animales enfermos para determinar el grado de resistencia o sensibilidad de los agentes patógenos en campo.

El objetivo de este capítulo es analizar extractos de las dos especies vegetales *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* procedentes de cabras diagnosticadas de mastitis en la Región de Murcia para determinar la actividad antimicrobiana de estas especies vegetales frente a diversas cepas del agente causante de mastitis. Estas cepas han mostrado resistencia a la mezcla de antibióticos formada por Cloranfenicol, Kanamicina y Penicilina. Se ha utilizado como control una cepa comercial de *S. aureus* (LyoStrain Ref: NCTC 8325) que ha presentado resistencia a Cloranfenicol.

Los resultados obtenidos permitirían acumular evidencias para el desarrollo de posibles agentes terapéuticos con extractos de estas plantas sobre cepas resistentes a diversos antibióticos, como la cepa “MRSA” u otras cepas resistentes de *Staphylococcus aureus*.

Resultados

Las pruebas iniciales realizadas con los extractos acuosos de *T. spathacea* y *M. zapota* no mostraron efecto inhibitorio sobre ninguna de las cepas patógenas de *S. aureus*, ni sobre la cepa de referencia (Tabla 1). Por el contrario, las pruebas realizadas con los extractos etanólicos de ambas plantas, mostraron actividad antimicrobiana frente a la cepa de referencia y contra todas las cepas patógenas ensayadas (Fig. 2, Tabla 1), siendo *Tradescantia spathacea* la especie que mejor inhibió el crecimiento bacteriano. En la prueba realizada para comprobar si la efectividad de estas especies seguía presente en sus diluciones, se pudo observar que del extracto inicial (sin diluir) de ambas plantas la actividad antimicrobiana desaparecía a partir de la dilución 1:10. En el caso de la cepa de referencia, el extracto de *M. zapota* siguió presentando actividad de inhibición con la concentración inicial del extracto y con la dilución 1:10, siendo en la dilución 1:100 donde se dejó de apreciar actividad antimicrobiana.

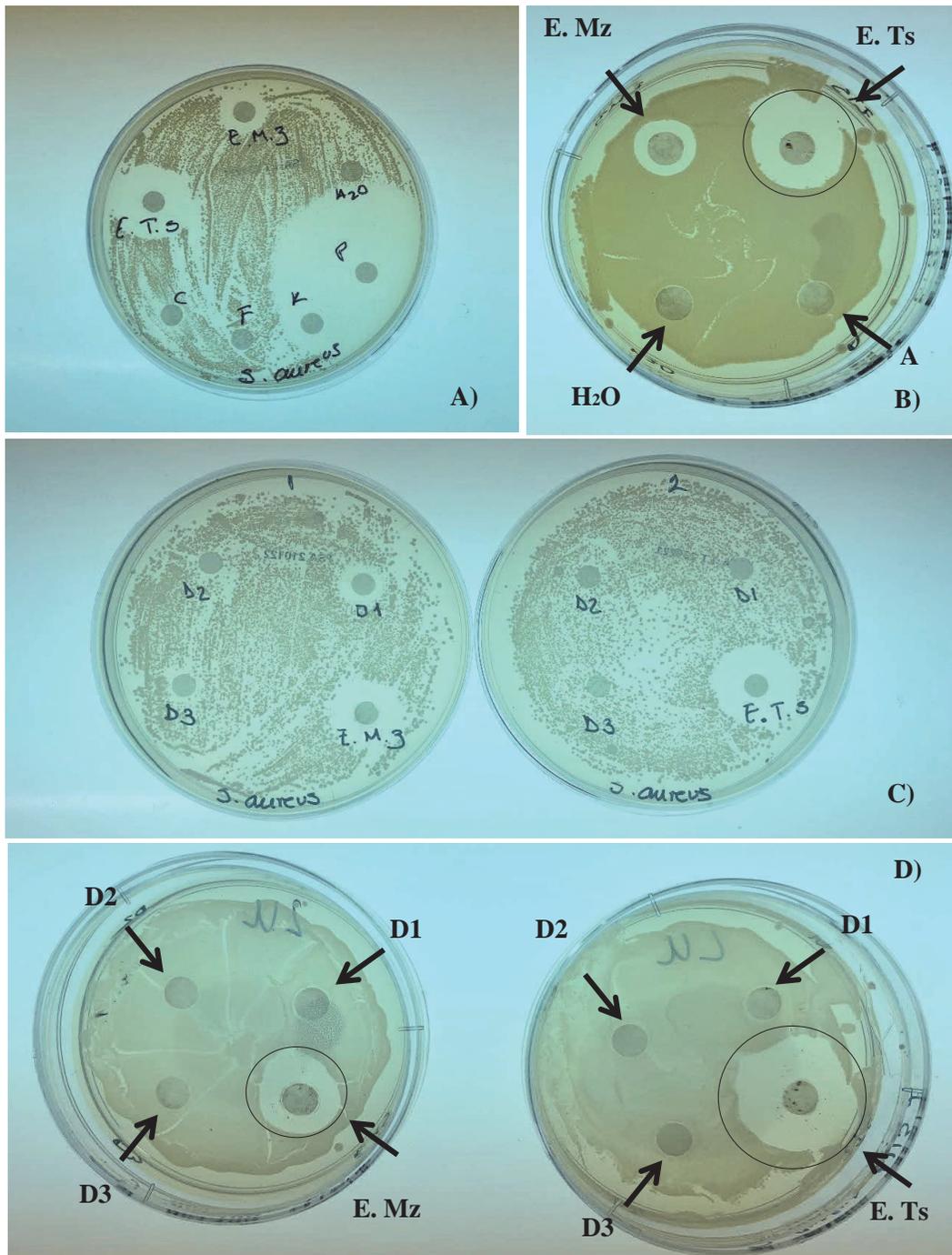


Figura 2. A) Cultivo de la cepa de referencia de *S. aureus* frente a extractos etanólicos de *M. zapota* y *T. spathacea*. E. Ts (Extracto *T. spathacea*), E. Mz (Extracto *M. zapota*), C (cloranfenicol) F (flucitosina), K (kanamicina), P (penicilina) y H₂O (agua destilada). B) Cultivo de la cepa de *S. aureus* patógeno (485') frente a extractos etanólicos de *M. zapota* y *T. spathacea*. E. Ts (Extracto *T. spathacea*), E. Mz (Extracto *M. zapota*), A (mezcla de los 4 antibióticos) y H₂O (agua destilada). C) Prueba de diluciones de los extractos en cepa de referencia, lado izquierdo extracto *M. zapota* y de lado derecho extracto de *T. spathacea*. D1 (dilución 1:10), D2 (dilución 1:100) y D3 (dilución 1:1000). D) Prueba de las diluciones en cepa patógena (485'), lado izquierdo *M. zapota* y lado derecho *T. spathacea*.

Tabla 1. Respuesta de las diferentes cepas de *S. aureus* frente a antibióticos y extractos de *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea*. **C** (cloranfenicol), **K** (kanamicina), **P** (penicilina), **Mz** (*M. zapota*), **Ts** (*T. spathacea*). (-) Resistencia y (+) Sensibilidad.

Cepa	Mezcla de antibióticos	Antibióticos			Extracto acuoso		Extracto etanólico	
		C	K	P	Mz	Ts	Mz	Ts
NCTC8335 (Ref)	+	+	-	+	-	-	+	+
485' (Pat)	+	+	-	-	-	-	+	+
M242 (Pat)	+	+	-	-	-	-	+	+
346' (Pat)	+	+	-	-	-	-	+	+
326' (Pat)	+	-	-	-	-	-	+	+
415' (Pat)	+	+	-	-	-	-	+	+
36T' (Pat)	+	-	-	-	-	-	+	+
389' (Pat)	+	-	-	-	-	-	+	+

Una vez realizado los ensayos con las cepas procedentes de cabra se realizaron los mismos ensayos con cepas de *S. aureus* causante de mastitis en conejo. En estos ensayos se volvió a apreciar que las cepas de *S. aureus* aisladas de conejo presentaron sensibilidad a los extractos etanólicos, al igual que lo hicieron las cepas provenientes de cabras, siendo el extracto etanólico de *Tradescantia spathacea* el que nuevamente presentó mayor inhibición (Fig 5-7). Estos resultados demuestran el potencial que poseen ambas especies para tratar la mastitis cuando es generada por este patógeno. Es importante mencionar que los datos aportados adquieren mucha mayor relevancia al conocer que las cepas de *S. aureus* a cabras presentan una mayor resistencia a antibióticos en comparación con las cepas que llegan a afectar a conejos.

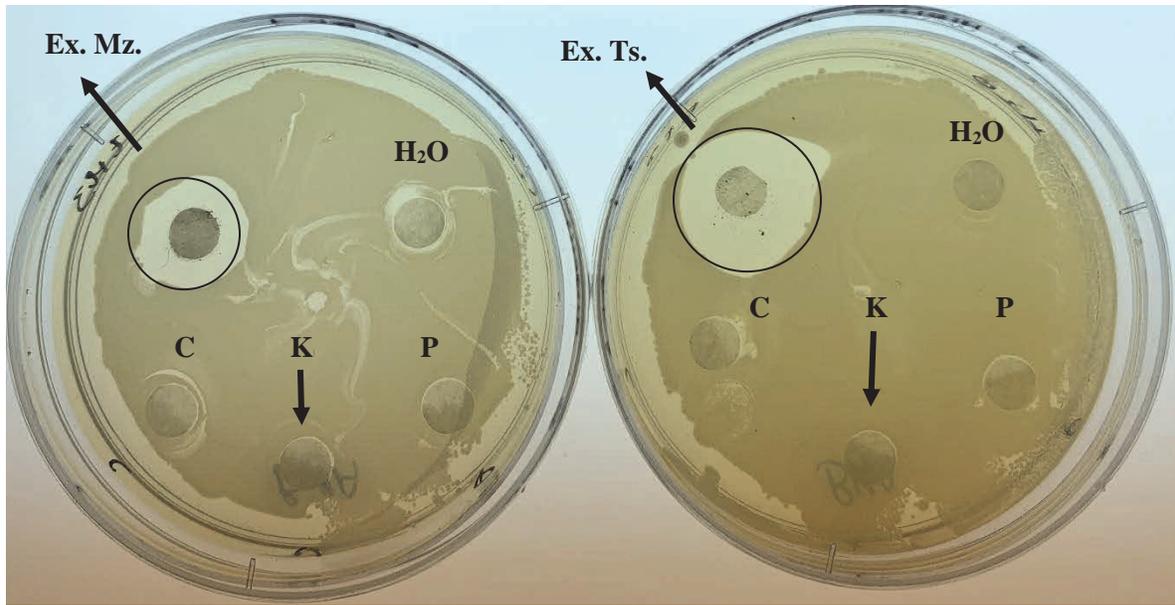


Figura 3. Reacción de la 1a cepa de *Staphylococcus aureus* aislada de conejo. **Ex. Mz.** (Extracto *Manilkara zapota*), **Ex. Ts.** (Extracto *Tradescantia spathacea*), **H₂O** (Agua), **C** (Cloranfenicol), **K** (Kanamicina) y **P** (Penicilina).

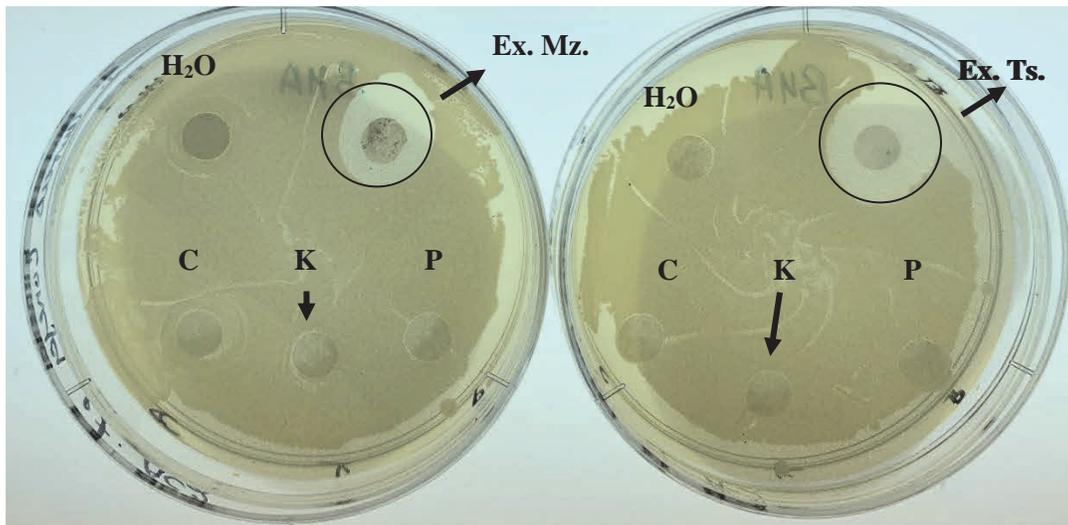


Figura 4. Reacción de la 2a cepa de *Staphylococcus aureus* aislada de conejo. **Ex. Mz.** (Extracto *Manilkara zapota*), **Ex. Ts.** (Extracto *Tradescantia spathacea*), **H₂O** (Agua), **C** (Cloranfenicol), **K** (Kanamicina) y **P** (Penicilina).

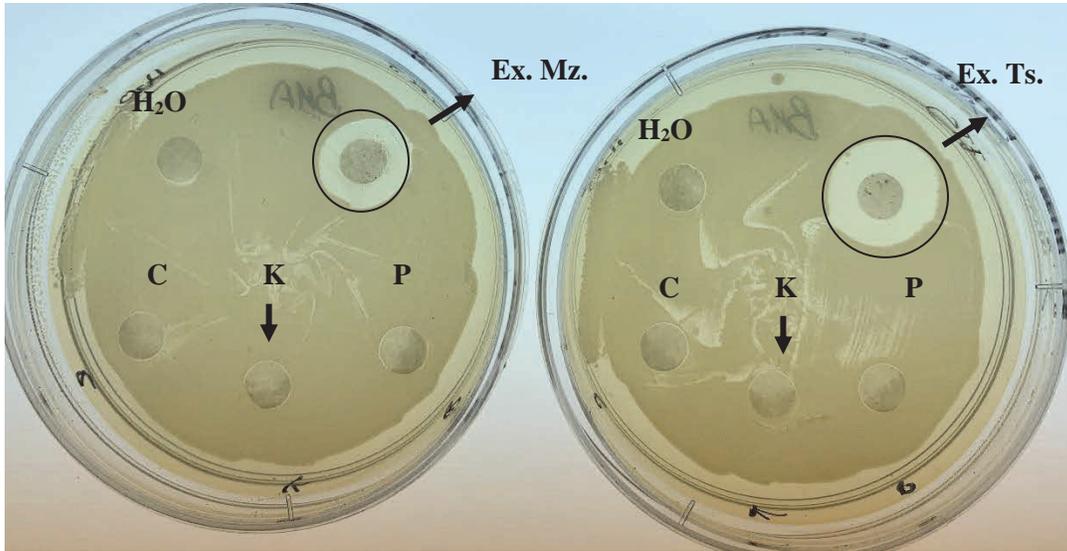


Figura 5. Reacción de la 3a cepa de *Staphylococcus aureus* aislada de conejo. **Ex. Mz.** (Extracto *Manilkara zapota*), **Ex. Ts.** (Extracto *Tradescantia spathacea*), **H₂O** (Agua), **C** (Cloranfenicol), **K** (Kanamicina) y **P** (Penicilina).

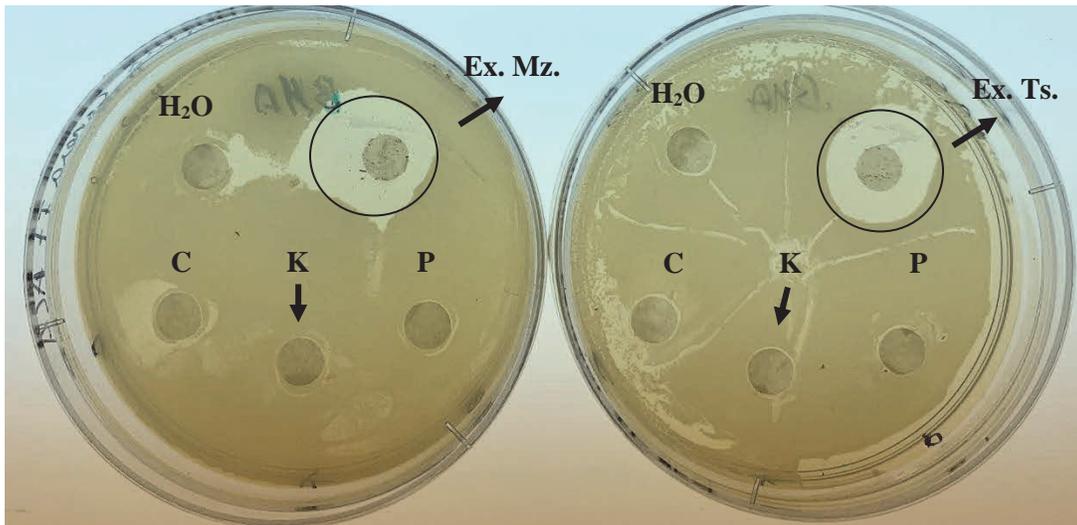


Figura 6. Reacción de la 4a cepa de *Staphylococcus aureus* aislada de conejo. **Ex. Mz.** (Extracto *Manilkara zapota*), **Ex. Ts.** (Extracto *Tradescantia spathacea*), **H₂O** (Agua), **C** (Cloranfenicol), **K** (Kanamicina) y **P** (Penicilina).

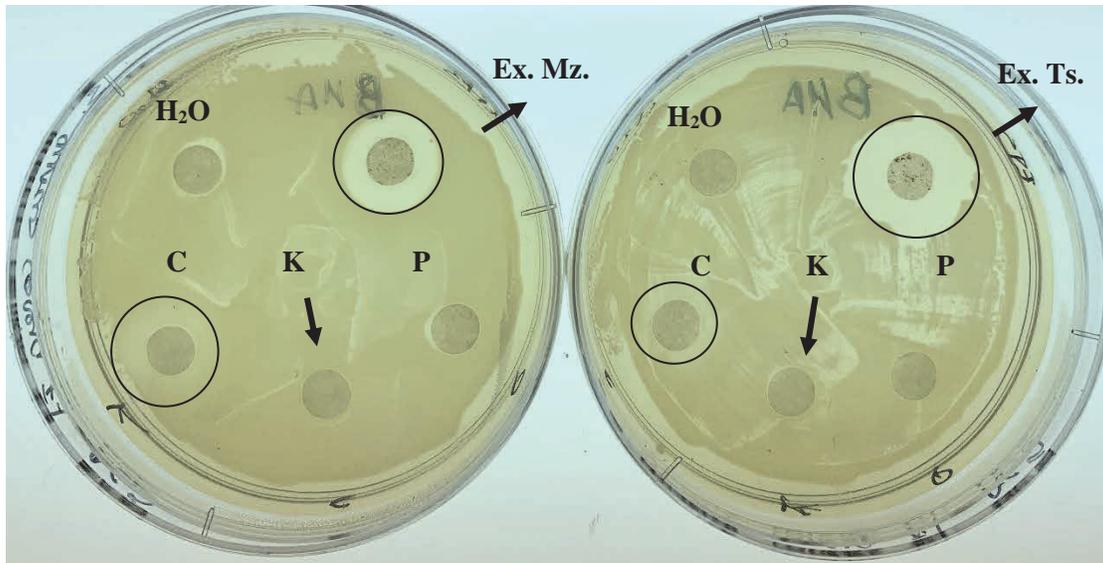


Figura 7. Reacción de la 5a cepa de *Staphylococcus aureus* aislada de conejo. Kanamicina con Inhibición parcial. **Ex. Mz.** (Extracto *Manilkara zapota*), **Ex. Ts.** (Extracto *Tradescantia spathacea*), **H₂O** (Agua), **C** (Cloranfenicol), **K** (Kanamicina) y **P** (Penicilina).

Discusión

Con los datos obtenidos en esta investigación se corrobora lo reportado en investigaciones previas sobre inhibición del crecimiento bacteriano de extractos de las especies vegetales *S. spathacea* y *M. zapota* en cepas de *S. aureus* presentados por Islam *et al.* (2013), Kothari & Seshadri (2010), Murnisyazwani & Rabeta (2019) y Shinde *et al.*, (2021). De las dos plantas ensayadas los extractos de *T. spathacea* son los que presentan una mayor respuesta antimicrobiana. Extractos etanólicos de *Tradescantia spathacea* (sola o en combinación con otros antibióticos), pueden ofrecer una nueva perspectiva para el tratamiento de las infecciones desencadenadas por *Staphylococcus aureus* en las glándulas mamarias ocasionando mastitis en ganado, ya que en la actualidad es una de las infecciones más comunes por esta bacteria (Cavalcante *et al.*, 2020). De la misma manera su uso como agente antimicrobiano en diferentes especies bovinas puede ayudar al tratamiento de estos

animales y evitar así la gran pérdida económica que representa la mastitis en los productores de leche.

También es importante mencionar que los extractos de las especies de planta ensayadas en este trabajo pueden ayudar al tratamiento de cepas de *S. aureus* que afectan a la población humana ya que se trata de una bacteria que se encuentra en la piel o en la nariz en un tercio de la población y que por lo general es inofensiva, salvo que penetre en el organismo a través de heridas o cortes provocando algunos problemas en la piel de personas sanas (Abril *et al.*, 2020). No obstante, se han desarrollado cepas de esta bacteria como el tipo MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina) que es una cepa hospitalaria y comunitaria, resultante de décadas de uso inapropiado de antibióticos (Fitzgerald, 2014; Stefani *et al.*, 2012). En todo caso es necesario realizar una investigación más exhaustiva sobre las propiedades, formas de uso y dosis recomendadas de los extractos de *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota* para el tratamiento de esta infección en diferentes especies de mamíferos.

Capítulo 7. Evaluación de la capacidad antimicrobiana de las hojas de *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota* frente a la bacteria desnitrificante del suelo *Paracoccus denitrificans*.

Evaluación de la capacidad antimicrobiana de las hojas de *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota* frente a la bacteria desnitrificante del suelo *Paracoccus denitrificans*

Introducción

En la actualidad la contaminación por diferentes factores ha desencadenado un gran golpe para el medio ambiente. El uso de diferentes sustancias químicas para el control de diferentes plagas en el cultivo de diferentes frutas y verduras ha conllevado problemas por alteraciones en el suelo y el agua. La contaminación del suelo por metales pesados ha cobrado mucha importancia en los últimos años debido al riesgo tanto para la salud humana como para la animal (Barasarathi *et al.*, 2022; Laghlimi *et al.*, 2015). Al suelo se incorporan los metales pesados procedentes de zonas mineras o por fertilizantes agrícolas provocando un gran impacto en el medio ambiente (Barasarathi *et al.*, 2022). Los metales pesados más comunes hallados en este tipo de residuos o lixiviados son el cadmio, zinc, manganeso, hierro, níquel, cobre, mercurio y plomo, cuya presencia en el suelo contaminado es preocupante dado que no se pueden degradar ni química ni biológicamente (Barasarathi *et al.*, 2022; Laghlimi *et al.*, 2015). Ante esta problemática se han propuesto fitoremediadores, que intentan estabilizar, transferir, liberar o degradar los contaminantes del suelo, y otros sedimentos como también del agua (Kumar *et al.*, 2017; Laghlimi *et al.*, 2015).

Las especies *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota* han sido usadas en agricultura con diferentes aplicaciones. *T. spathacea* recientemente ha demostrado tener la

capacidad de tratar la contaminación del suelo por metales pesados (Kumar *et al.*, 2017; Laghlimi *et al.*, 2015) como el cadmio, zinc, manganeso, hierro, níquel, cobre, mercurio y plomo. Ensayos realizados con diferentes especies vegetales entre ellas *T. spathacea* han demostrado retención de estos metales pesados lo que demuestra la capacidad de tratar la contaminación del suelo por esta planta.

Otra de las problemáticas que se presentan en la actualidad en la actividad agrícola y la gestión de cultivos está relacionada con las enfermedades causadas por hongos. Tanto *Manilkara zapota* como *Tradescantia spathacea* han reportado actividad antifúngica contra hongos patógenos pertenecientes a especies de los géneros *Aspergillus*, *Candida*, *Vasianfactum* y *Fusarium* (Osman *et al.*, 2011; Pravin & Shashikant, 2019; Oon *et al.*, 2021; Otari *et al.*, 2014; Babu, 2017; Tan & Kwan, 2020). Sin embargo, se plantea la cuestión de si estas especies de plantas poseen el mismo efecto en bacterias presentes en cultivos agrícolas realizándose algunas investigaciones (Elena *et al.*, 2016, Manzoor *et al.*, 2021, Sibi *et al.*, 2013), en donde se indica el uso de *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea* para tratar hongos pertenecientes al género *Aspergillus* que suelen atacar diferentes tipos de cultivos. En el caso de *Manilkara* también se ha usado para tratar Moniliasis generada por el hongo *Moniliophthora roreri* en cultivos de cacao. El uso de *M. zapota* en relación a la agricultura también ha sido contemplada para tratar plagas generadas por especies de insectos como *Tribolium castaneum*, que es una de las plagas de almacenamiento secundario más importantes en la harina y sus derivados (Negi *et al.*, 2022). *M. zapota* ha demostrado una gran efectividad contra esta especie de coleóptero, lo que abre la posibilidad de desarrollar un pesticida ecológico y sostenible a base de extractos

de esta especie vegetal que podría ser efectivo para tratar también plagas generadas por otros tipos de insectos (Osman *et al.*, 2011).

Además de estas propiedades mencionadas tanto *Manilkara* como *Tradescantia* han demostrado poseer una gran capacidad antimicrobiana en el caso de diferentes especies de bacterias patógenas que afectan al ser humano y a los animales (Osman *et al.*, 2011; Kothari & Seshadri, 2010; Ngongang *et al.*, 2020; Shinde *et al.*, 2021; Tan & Kwan, 2020; Yasurin & Piya-Isarakul, 2015). Sin embargo, hay pocos estudios que se enfoquen a las propiedades antimicrobianas frente a bacterias de importancia en la dinámica del suelo y el ciclo de los elementos.

Paracoccus denitrificans es una bacteria del suelo, reductora de nitratos, que ha sido ampliamente estudiada para conocer el proceso mediante el cual esta bacteria es capaz de desnitrificar el suelo (Bergaust *et al.*, 2010). La desnitrificación es el proceso de respiración mediante el cual tiene lugar la reducción de nitratos y nitritos a óxido nitroso y finalmente a N_2 que va a la atmósfera. Este proceso permite que las bacterias aerobias del suelo mantengan el metabolismo de respiración (Bergaust *et al.*, 2010).

El óxido nitroso (N_2O), es el tercer gas de efecto invernadero más importante, después del dióxido de carbono y el metano (Makowski, 2019). Los responsables de las altas emisiones de óxido nitroso a la atmósfera son los cultivos, debido a los fertilizantes nitrogenados empleados en estos, siendo los más comunes los cultivos de cereales (Olaya-Abril *et al.*, 2021). Hay estudios que han aportado evidencia en donde se puede apreciar que la eficiencia de *Paracoccus denitrificans* se incrementa, si se emplea biomasa como el Biochar (Pascual *et al.*, 2020).

Las propiedades de desnitrificación de *Paracoccus denitrificans* y otras bacterias desnitrificantes son una causa importante de la pérdida de fertilizantes nitrogenados en suelos agrícolas, particularmente en suelos pobres en nitratos. En suelos ricos en nutrientes y particularmente en suelos agrícolas donde se utiliza un exceso de fertilizante que puede afectar a las aguas freáticas o a lagunas de interés ecológico, por la presencia de altas cantidades de nitratos que pueden ser muy negativas, lo que en estos casos cobra un gran interés el proceso de desnitrificación que realiza esta bacteria y otras especies bacterianas. La posibilidad de disponer de agentes antimicrobianos que permitan controlar la presencia de *P. denitrificans* y otras especies desnitrificantes es de gran importancia para poder aprovechar las capacidades de la bacteria en la descontaminación del exceso de nutrientes nitrogenados (en suelo o aguas), o bien, para inhibirla cuando el suelo es pobre en estos nutrientes.

Este estudio tuvo como objetivo determinar la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos de *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota* para inhibir el crecimiento de *Paracoccus denitrificans*, especie de bacteria desnitrificante que favorece la pérdida de nitratos y por tanto contribuye al empobrecimiento del suelo. Adicionalmente se discute la posibilidad de usar esta bacteria para la desnitrificación de suelos agrícolas con exceso de nitratos en el entorno de masas de agua con alto valor ecológico, que puedan contribuir a procesos de eutrofización.

Resultados y discusión

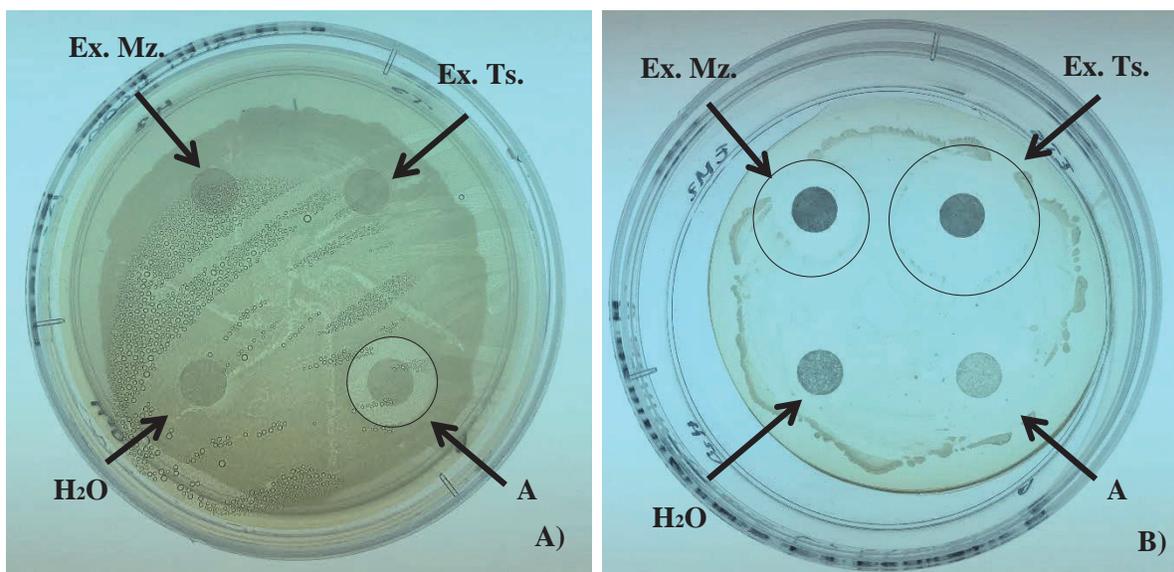


Figura 1. A) Placa con *P. denitrificans* frente a extractos acuosos. **Ex. Mz.** (Extracto acuoso de *M.zapota*), **Ex. Ts.** (Extracto acuoso *T. spathacea*), H₂O (Agua) y A (Antibiótico). B) Placa de *P. denitrificans* frente a extractos etanólicos. **Ex. Mz.** (Extracto etanólico de *M.zapota*), **Ex. Ts.** (Extracto etanólico *T. spathacea*), H₂O (Agua) y A (Antibiótico).

Durante las pruebas realizadas con el extracto acuoso tanto de *Tradescantia* como de *Manilkara*, se pudo apreciar que *Paracoccus denitrificans* presentó resistencia a dichos extractos, lo que concuerda con los datos previamente estudiados en otras bacterias multirresistentes procedentes del intestino de insectos o del biofilm oral humano en este trabajo (capítulos 3 y 4), donde ambos extractos acuosos no tuvieron ningún efecto sobre ninguna especie de bacteria (Fig. 1). En cuanto a la respuesta hacia los extractos etanólicos se pudo apreciar que el *Paracoccus denitrificans* presentó sensibilidad a ambas especies de plantas, Fig. 2, siendo el extracto de *Tradescantia spathacea* la que mayor halo de

inhibición presentó, en comparación con el que se generó con *Manilkara zapota*. Es importante mencionar que, en ambas placas, la mezcla de antibiótico tuvo efecto inhibitorio, aunque el tamaño de dicho halo fue de menor tamaño en comparación con el que se presentó con el extracto etanólico de *Tradescantia spathacea*. En cuanto al análisis realizado sobre las diluciones de dichos extractos, se observó que ambas especies presentaron inhibición con el extracto concentrado sin diluir.



Figura 3. Placas de *P. denitrificans* en prueba de las diluciones. **E.Mz** (Extracto *M. zapota*), **E. Ts.** (Extracto *T. spathacea*), **D1** (Dilución 1:10), **D2** (Dilución 1:100) y **D3** (Dilución 1:1000).

Las hojas de *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea*, y sus extractos etanólicos y la capacidad de inhibir el crecimiento de la bacteria desnitrificante *Paracoccus denitrificans*, podrían ser útiles en gestión agrícola para suelos pobres con bajo contenido de nitratos, ya que estas plantas actuarían inhibiendo a la bacteria que a su vez contribuye a empobrecer esos suelos aún más.

En el suelo, el nitrógeno es asimilado por las plantas en forma de nitratos y de amonio procediendo ambos de la actividad biológica. Este proceso está ayudado por las bacterias

nitrificantes que se encargan de fijar el N₂ atmosférico en amonio que es asimilado directamente por la planta. Este proceso es interferido de forma compleja por las bacterias desnitrificantes como *P. denitrificans* y otras bacterias que transforman nitrógeno inorgánico del suelo en N₂ atmosférico. La incorporación de las hojas de *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea* o sus extractos etanólicos al suelo agrícola podría participar en esta compleja interacción ya que pueden ayudar en dos procesos: 1) de forma directa al inhibir el crecimiento de *P. denitrificans* y por tanto contribuir a mantener más nitrógeno disponible para la planta al reducir el proceso de desnitrificación, y 2) de forma indirecta ayuda a la fijación del Nitrógeno y exportación desde las raíces al resto de la planta ya que la hojarasca de estas plantas y de otras mejoraría este proceso. Por tanto, restos vegetales de estas plantas o sus extractos podrían emplearse en las áreas agrícolas mejorando la retención de nutrientes nitrogenados y la exportación de estos desde el suelo a los diferentes órganos de las plantas.

Hay que mencionar que en este trabajo no se ha probado el efecto de los extractos de estas plantas sobre otras bacterias desnitrificantes que también ayudan a la pérdida de nutrientes nitrogenados desde el suelo a la atmósfera en forma de N₂. Futuros estudios podrán poner a prueba la eficacia de estas dos plantas sobre otras especies de bacterias que realizan este proceso de desnitrificación y que por tanto valorar si existe un papel más general de estas plantas en la retención y posterior asimilación de nutrientes nitrogenados del suelo, particularmente en suelos agrícolas con baja disponibilidad de estos nutrientes para los cultivos.

Conclusiones

Conclusiones

Capítulo 1. Uso tradicional de *Manilkara zapota* (L.) P. Royen en comunidades mayas: del pasado al presente, a través de una mirada en Campeche.

1.1. *M. zapota* es una planta de gran importancia para comunidades mayas actuales, como lo fue para las antiguas poblaciones presentando diversos usos.

1.2. Entre las poblaciones actuales, *M. zapota* es utilizada para tratar los síntomas de diferentes enfermedades como: antipirético frente a las infecciones bacterianas, o como analgésico para problemas gastrointestinales y articulares.

Capítulo 2. Uso tradicional de *Tradescantia spathacea* Swart, en comunidades mayas: del pasado al presente, a través de una mirada en Campeche.

2.1. *T. spathacea* es una planta de gran importancia para las comunidades mayas actuales, mostrando más interés que el hallado en poblaciones antiguas.

2.2. Entre los usos actuales de *T. spathacea* destaca su utilización como agente antiviral o antibiótico.

Capítulo 3. Evaluación de la inhibición de bacterias multirresistentes mediante extractos etanólicos de *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota*.

3.1. Los extractos acuosos de las hojas secas de *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea* no muestran actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus sciuri*, *Enterococcus gallinarum* y *Lactococcus lactis*.

3.2. Los extractos etanólicos de las hojas secas tanto de *Tradescantia spathacea* como se *Manilkara zapota* inhiben el crecimiento de *Staphylococcus sciuri*, *Enterococcus gallinarum* y *Lactococcus lactis*.

3.3. Las especies *Enterobacter cloacae*, *Cronobacter sakazaki*, *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas otitidis*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter hormchei* mostraron resistencia a los extractos etanólicos de *M. zapota* y *T. spathacea*.

3.4. Las diluciones del extracto etanólico de ambas plantas (1:10; 1:100 ;1:1000) no inhiben la actividad microbiana.

Capítulo 4. *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea* como agentes antimicrobianos contra los patógenos del biofilm oral.

4.1. Los extractos acuosos de las hojas secas de *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea* no muestran actividad antimicrobiana frente a *Rothia dentocariosa*, *Streptococcus sanguinis*, *S. infantis*, *Tetragenococcus osmophilus*, *Streptococcus gordonii*, *Granulicatella adiacens*, *Brevibacterium* sp y *Staphylococcus xylosus*.

4.2. Se observa actividad antimicrobiana tanto de *Manilkara zapota* como de *Tradescantia spathacea* en bacterias patógenas del biofilm oral humano, mostrando *Tradescantia spathacea* mayor actividad inhibitoria.

4.3. Las diluciones del extracto etanólico de ambas plantas (1:10; 1:100 ;1:1000) no inhiben la actividad microbiana.

Capítulo 5. Evaluación de extractos etanólicos de *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota*, como posibles agentes terapéuticos contra *Mycoplasma agalactiae*.

5.1. *T. spathacea* y *M. zapota* muestran capacidad de inhibición frente a *M. agalactiae*, ofreciendo *Tradescantia spathacea* mayor actividad inhibitoria.

Capítulo 6. Reacción inhibitoria de extractos etanólicos de *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de casos de mastitis en ganado caprino.

6.1. Los extractos acuosos de las hojas secas de *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea* no muestran actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*.

6.2. Los extractos etanólicos de las hojas secas de *Tradescantia spathacea* como *Manilkara zapota* poseen la capacidad de inhibir cepas de *Staphylococcus aureus* patógenas causantes de mastitis, mostrando *T. spathacea* un mayor poder de inhibición sobre todas las cepas, incluida la de referencia.

6.3. La dilución 1:10 del extracto etanólico de *M. zapota* mostró actividad antimicrobiana en la cepa de referencia.

Capítulo 7. Evaluación de la capacidad antimicrobiana de las hojas de *Tradescantia spathacea* y *Manilkara zapota* frente a la bacteria desnitrificante del suelo *Paracoccus denitrificans*

7.1. Los extractos etanólicos de las hojas secas de *Manilkara zapota* y *Tradescantia spathacea* actuaron como agentes antimicrobianos frente a la bacteria desnitrificante *Paracoccus denitrificans*, presentando los de *Tradescantia spathacea* mayor actividad antimicrobiana.

7.2. Las diluciones del extracto etanólico de ambas plantas (1:10; 1:100 ;1:1000) no mostraron actividad antimicrobiana frente a *Paracoccus denitrificans*.

Consideración general

Los resultados del presente trabajo indican que es necesario realizar más investigaciones específicas para determinar el alcance de las propiedades de estas dos plantas y su aplicación en farmacología humana y de animales domésticos, para el tratamiento de infecciones provocadas por bacterias multirresistentes a los antibióticos convencionales. Además, se aportan datos preliminares para el uso de estas plantas como agentes inhibidores de microorganismos implicados en el proceso de desnitrificación.

Referencias

- Abril, A. G., Villa, T. G., Barros-Velázquez, J., Cañas, B., Sánchez-Pérez, A., Calo-Mata, P., & Carrera, M. (2020). Staphylococcus aureus Exotoxins and Their Detection in the Dairy Industry and Mastitis. In *Toxins* (Vol. 12, Issue 9). Toxins (Basel). <https://doi.org/10.3390/toxins12090537>
- Abu Osman, M., Abdul Aziz, M., Rowshanul Habib, M., & Rezaul Karim, M. (2011). Antimicrobial Investigation on Manilkara zapota (L.) P. Royen. *International Journal of Drug Development and Research*, 3(1), 185–190. <http://www.ijddr.in>
- Abu Osman, Muhammad, Abdul Aziz, M., Rowshanul Habib, M., & Rezaul Karim, M. (2011). Pesticidal evaluation of manilkara zapota (L.) against tribolium castaneum (herbst). *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 76(2), 143–146.
- Alós, J. I. (2015). Antibiotic resistance: A global crisis. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(10), 692–699. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.10.004>
- Amosun, o. A. (2021). Antimicrobial assessment of methanolic extract of Tradescantia spathacea roots ON *Salmonella* spp and *Escherichia coli*.
- Angelopoulou, A., Field, D., Ryan, C. A., Stanton, C., Hill, C., & Ross, R. P. (2018). The microbiology and treatment of human mastitis. In *Medical Microbiology and Immunology* (Vol. 207, Issue 2, pp. 83–94). <https://doi.org/10.1007/s00430-017-0532-z>
- Anónimo. (2019). *Popol Vuh* (L. E. Sotelo (ed.); 1st ed.). Penguin clásicos.
- Ariza-Miguel, J., Rodríguez-Lázaro, D., & Hernández, M. (2012). A survey of

- Mycoplasma agalactiae in dairy sheep farms in Spain. *BMC Veterinary Research*, 8, 171. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-171>
- Atran, S., Medin, D., Ross, N., Lynch, E., Vapnarsky, V., Ek', E. U., Coley, J., Timura, C., & Baran, M. (2002). Folkecology, Cultural Epidemiology, and the Spirit of the Commons. *Current Anthropology*, 43(3), 421–450. <https://doi.org/10.1086/339528>
- Atran, S., Lois, X., & Ucan Ek', E. (2004). *Plants of the Peten Itza' Maya*. Ann Arbor.
- Barad, M., Ishnava, K., & Chauhan, J. (2014). Anticariogenic activity and phytochemical studies of crude extract from some Indian plant leaves. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 3(2), 85. <https://doi.org/10.5455/jice.20140228010459>
- Barasarathi, J., Auwal, H., Pariatamby, A., Hamid, F. S., & Uche, E. C. (2022). Phytoremediation of leachate contaminated soil: a biotechnical option for the bioreduction of heavy metals induced pollution in tropical landfill. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(15), 22069–22081. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17389-3>
- Barbalho, S. M., Bueno, P. C. D. S., Delazari, D. S., Guiguer, E. L., Coqueiro, D. P., Araújo, A. C., De Souza, M. D. S. S., Farinazzi-Machado, F. M. V., Mendes, C. G., & Groppo, M. (2015). Antidiabetic and antilipidemic effects of manilkara zapota. *Journal of Medicinal Food*, 18(3), 385–391. <https://doi.org/10.1089/jmf.2013.0170>
- Barrera-Bassols, N., & Toledo, V. M. (2005). Ethnoecology of the Yucatec Maya: Symbolism, knowledge and management of natural resources. *Journal of Latin American Geography*, 4(1), 9–41. <https://doi.org/10.1353/lag.2005.0021>
- Bercu, R. (2013). Histoanatomical study on the vegetative organs of Tradescantia spathacea

(Commelinaceae). *Botanica Serbica*, 37(2), 121–126.

Bergaust, L., Mao, Y., Bakken, L. R., & Frostegård, Å. (2010). Denitrification response patterns during the transition to anoxic respiration and posttranscriptional effects of suboptimal pH on nitrogen oxide reductase in *paracoccus denitrificans*. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(19), 6387–6396.

<https://doi.org/10.1128/AEM.00608-10>

Cabrera, C. E., Gómez, R. F., & Zúñiga, A. E. (2007). La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. In *Colombia Medica* (Vol. 38, Issue 2, pp. 149–158). Abril-Junio. <http://www.foxitsoftware.comforevaluationonly>.

Cacciotto, C., Addis, M. F., Pagnozzi, D., Coradduzza, E., Pittau, M., & Alberti, A. (2021). Identification of conserved *Mycoplasma agalactiae* surface antigens by immunoproteomics. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 236(November 2020), 110239. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2021.110239>

Caixinha, A. L., Valsamidis, A. N., Chen, M., & Lindberg, M. (2021). *Pseudomonas* otitis bacteremia in a patient with COPD and recurrent pneumonia: case report and literature review. *BMC Infectious Diseases*, 21(1), 1–3. <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06569-8>

Campeche, U. A. de. (2015). *Catálogo de las comunidades indígenas en el estado de Campeche* (Primera ed). Universidad Autónoma de Campeche.

Cavalcante, P. A., Knight, C. G., Tan, Y. L., Alves Monteiro, A. P., Barkema, H. W., & Cobo, E. R. (2020). Cathelicidins mitigate *staphylococcus aureus* mastitis and reduce

- bacterial invasion in murine mammary epithelium. *Infection and Immunity*, 88(7).
<https://doi.org/10.1128/IAI.00230-20>
- Chanda, S. V, & Nagani, K. V. (2010). Antioxidant Capacity of Manilkara zapota L .
Leaves Extracts Evaluated by Four in vitro Methods. *Journal of Biological Sciences*,
8(10), 260–266. <http://www.sciencepub.net/nature260>
- Chauhan, R., Singh, N., Pal, G. K., & Goel, G. (2020). Trending biocontrol strategies
against Cronobacter sakazakii: A recent updated review. In *Food Research
International* (Vol. 137). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109385>
- Chávez-Guzmán, M. (2011). Médicos Y Medicinas en el mundo peninsular Maya Colonial
y Decimonónico. *Península*, 6(2), 71–102. <https://doi.org/10.3917/cerpsy.128.0074>
- Chunhakant, S., & Chaicharoenpong, C. (2019). Antityrosinase, Antioxidant, and Cytotoxic
Activities of Phytochemical Constituents from Manilkara zapota L. Bark. *Molecules
(Basel, Switzerland)*, 24(15), 2798. <https://doi.org/10.3390/molecules24152798>
- Cook, S. (2016). *The forest of the Lacandon Maya. An ethnobotanical guide*. Springer.
- Cruz-Macías, W. O., Campos-Saldaña, R. A., & López-Aguilar, R. (2016). Visión
campesina del uso tradicional de plantas medicinales en huertos de traspatio. *Revista
Mexicana de Agroecosistemas*, 3(2), 239–249.
- Cruz Martínez, C., Diaz Gómez, M., & Oh, M. S. (2017). Use of traditional herbal
medicine as an alternative in dental treatment in Mexican dentistry: a
review. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 1992-1998.
- De la Garza, M. (1983). *Relaciones históricas-geográficas de la gobernación de Yucatán*

(1st ed.). Universidad Nacional Autónoma de México.

Dreser, A., Wirtz, V. J., Corbett, K. K., & Echániz, G. (2008). Uso de antibióticos en México: revisión de problemas y políticas. *Salud Pública de México*, 50(SUPPL. 4), S480–S487. <https://doi.org/10.1590/S0036-36342008001000009>

Dunning, N., Rue, D. J., Beach, T., Covich, A., & Traverse, A. (1998). Human-environment interactions in a tropical watershed: The paleoecology of laguna tamarindito, El Petén, Guatemala. *Journal of Field Archaeology*, 25(2), 139–151. <https://doi.org/10.1179/009346998792005487>

Dutkiewicz, J., Mackiewicz, B., Lemieszek, M. K., Golec, M., & Milanowski, J. (2016). *Pantoea agglomerans*: a mysterious bacterium of evil and good. Part III. Deleterious effects: infections of humans, animals and plants. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 23(2), 197–205. <https://doi.org/10.5604/12321966.1203878>

Dudek, K., Sevimli, U., Migliore, S., Jafarizadeh, A., Loria, G. R., & Nicholas, R. A. (2022). Vaccines for *Mycoplasma* Diseases of Small Ruminants: A Neglected Area of Research. *Pathogens*, 11(1), 75.

Evans, S. T. (2008). *Ancient Mexico & Central America: Archaeology and Culture History* (2 edición). Thames & Hudson.

Fayek, N. M., Abdel Monem, A. R., Mossa, M. Y., Meselhy, M. R., & Shazly, A. H. (2012). Chemical and biological study of *Manilkara zapota* (L.) Van Royen leaves (Sapotaceae) cultivated in Egypt. *Pharmacognosy Research*, 4(2), 85–91. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.94723>

Fitzgerald, J. R. (2014). Evolution of *Staphylococcus aureus* during human colonization

and infection. *Infection, Genetics and Evolution*, 21, 542–547.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.04.020>

Funez, L. A., Hassemer, G., & Ferreira, J. P. R. (2016). Description of *Tradescantia schwirkowskiana* (Commelinaceae), a narrow endemic new species from Santa Catarina, Southern Brazil, and typification of *T. Crassula*. *Phytotaxa*, 272(1), 63–72.
<https://doi.org/10.11646/phytotaxa.272.1.3>

Ganguly, A., Mahmud, Z. Al, Uddin, M. M. N., & Rahman, S. M. A. (2013). In-vivo anti-inflammatory and anti-pyretic activities of *Manilkara zapota* leaves in albino Wistar rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 3(4), 301–307.
[https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(13\)60073-0](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(13)60073-0)

García-Varela, R., García-García, R. M., Barba-Dávila, B. A., Fajardo-Ramírez, O. R., Serna-Saldívar, S. O., & Cardineau, G. A. (2015). Antimicrobial activity of *rhoeo discolor* phenolic rich extracts determined by flow cytometry. *Molecules*, 20(10), 18685–18703. <https://doi.org/10.3390/molecules201018685>

Garza-González, E., Morfin-Otero, R., Martnez-Vzquez, M. A., Gonzalez-Diaz, E., Gonzalez-Santiago, O., & Rodriguez-Noriega, E. (2011). Microbiological and molecular characterization of human clinical isolates of *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus hominis*, and *Staphylococcus sciuri*. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 43(11–12), 930–936. <https://doi.org/10.3109/00365548.2011.598873>

Gautier-Bouchardon, A. V. (2018). Antimicrobial Resistance in *Mycoplasma* spp . *Microbiology Spectrum*, 6(4), 1–21. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0030-2018>

- Geck, M. S., Cristians, S., Berger-González, M., Casu, L., Heinrich, M., & Leonti, M. (2020). Traditional Herbal Medicine in Mesoamerica: Toward Its Evidence Base for Improving Universal Health Coverage. *Frontiers in Pharmacology*, *11*(July). <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01160>
- González Mendoza, J., Maguiña Vargas, C., & González Ponce, F. de M. (2019). La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. *Acta Medica Peruana*, *36*(2), 145–151. <https://doi.org/10.35663/amp.2019.362.816>
- Götz, F., Bannerman, T., & Schleifer, K.-H. (2006). The Genera *Staphylococcus* and *Macroccoccus*. In *The Prokaryotes* (pp. 5–75). Nature Publishing Group. https://doi.org/10.1007/0-387-30744-3_1
- Gubler, R. (2014). *Yerbas y hechicerías del Yucatán* (1st ed.). Secretaría de Educación del Estado de Yucatán; Universidad Nacional Autónoma de México.
- Gunn, J. D., Matheny, R. T., & Folan, W. J. (2002). Climate-change studies in the Maya area: A diachronic analysis. *Ancient Mesoamerica*, *13*(1), 79–84. <https://doi.org/10.1017/S0956536102131105>
- Gutiérrez-Jiménez, J., Luna-Cazás, L. M., Mendoza-Orozco, M. I., Díaz-Marina, G. D. J., Burguete-Gutiérrez, J. C., & Feliciano-Guzmán, J. M. (2015). Organización, mantenimiento y preservación de la Colección de Cultivos Bacterianos del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH), México. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, *35*(2), 95-102.
- Hammond, N. (1982). *Ancient Maya civilization*. Rutgers University Press.

- Hernández-Caravaca, I., Cabañas, A., López-Úbeda, R., González-Brusi, L., Guillén-Martínez, A., Izquierdo-Rico, M., ... & Ruiz García, M. (2022). Analysis of minor proteins present in breast milk by using WGA Lectin. *Children*, 9(7), 1084.
- Horák, M., Somerlíková, K., Kavenská, V., Cruz, L. G., Škrabáková, L., Tournon, J., Zans, M. E. C., Alpala, M. G. R., Pinto, L. E. F., Rosero, A., Pineda, N. A. C., Zapata, G. D. B., Halbich, M., Ortega, F. M., Duarte, I. R., & Segovia, E. M. (2015). *Etnobotánica Y Fitoterapia En América* (Issue October). <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2188.4888>
- Hemayet Hossain, M., Jahan, F., Sariful Islam Howlader, M., Kanti Dey, S., Hira, A., Ahmed, A., & Proshad Sarkar, R. (2012). Evaluation of Anti-inflammatory Activity and Total Flavonoids Content of Manilkara zapota (Linn.) Bark. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research* *Int.J.Pharm.Phytopharmacol.Res*, 35(21), 2249–6084. <https://www.researchgate.net/publication/304681139>
- Hossain, H., Howlader, M. S. I., Dey, S. K., Hira, A., & Ahmed, A. (2012). Antinociceptive and antidiarrheal properties of the ethanolic extract of Manilkara zapota (Linn.) bark. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(12), 4791–4795. www.ijpsr.com
- IEEC. (2003). *Ubicación Geográfica de Campeche*. <https://www.ieec.org.mx/Documentacion/memorias/2003/ubicam.htm>
- Ijaz, M., Fatima, M., Anwar, R., & Uroos, M. (2021). Green synthesis of gold nanoparticles from: Manilkara zapota L. extract and the evaluation of its intrinsic in vivo antiarthritic potential. *RSC Advances*, 11(44), 27092–27106.

<https://doi.org/10.1039/d1ra03186d>

Islam, M. R., Shahnaj, P., Rikta, B., Nusrat, J., Nandita, D., & Ekramul, I. (2013). Antibacterial and Phytochemical Screening of Ethanol Extracts of Manilkara zapota Leaves and Bark. *International Journal of Pharma Sciences*, 3(6), 394–397. <https://www.researchgate.net/publication/259079947>

Jahan, N., Naveed, S., Zeshan, M., & Tahir, M. A. (2016). How to Conduct a Systematic Review: A Narrative Literature Review. *Cureus*, 8(11). <https://doi.org/10.7759/cureus.864>

Jin, T., Guan, N., Du, Y., Zhang, X., Li, J., & Xia, X. (2021). Cronobacter sakazakii ATCC 29544 Translocated Human Brain Microvascular Endothelial Cells via Endocytosis, Apoptosis Induction, and Disruption of Tight Junction. *Frontiers in Microbiology*, 12, 1214. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.675020>

Kaneria, M., & Chanda, S. (2012). Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of Manilkara zapota L. (chiku) leaves by sequential soxhlet extraction method. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3, Supplement), S1526–S1533. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60448-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60448-1)

Kannan, G., Ramakrishnan, B., & Kuppamuthu, K. (2013). Comparison of antioxidant potential in pulp and peel extracts of Manilkara zapota (L.) P. Royen. *African Journal of Biotechnology*, 12(31), 4936–4943. <https://doi.org/10.5897/ajb2012.2961>

Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M., & Glöckner, F. O. (2013). Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Research*, 41(1). <https://doi.org/10.1093/nar/gks808>

- Khalek, M. A., Khatun, Z., Rowshanul Habib, M., & Rezaul Karim, M. (2015). Antitumor activity of *Manilkara zapota* (L.) fruits against Ehrlich ascites carcinoma in mice. *Biologija*, *61*(3–4), 145–152. <https://doi.org/10.6001/biologija.v61i3-4.3206>
- Konuku, K., Karri, K. C., Gopalakrishnan, V. K., Hagos, Z., Kebede, H., Naidu, T. K., Noyola, P. P., Palleti, J. D., & Rao Duddukuri, G. R. D. (2017). ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF MANILKARA ZAPOTA LEAF EXTRACT. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, *9*(4), 130. <https://doi.org/10.22159/ijcpr.2017v9i4.20977>
- Kothari, V., Pathan, S., & Seshadri, S. (2010). Antioxidant activity of *M. zapota* and *C. limon* seeds. *Journal of Natural Remedies*, *10*(2), 175–180. <https://doi.org/10.18311/jnr/2010/259>
- Kothari, V., & Seshadri, S. (2010). In vitro antibacterial activity in seed extracts of *Manilkara zapota*, *Anona squamosa*, and *Tamarindus indica*. *Biological Research*, *43*(2), 165–168. <https://doi.org/10.4067/S0716-97602010000200003>
- Kumar, A., Rahal, A., Chakraborty, S., Verma, A. K., & Dhama, K. (2014). *Mycoplasma agalactiae*, an etiological agent of contagious agalactia in Small ruminants: A review. In *Veterinary Medicine International* (Vol. 2014). Hindawi Publishing Corporation. <https://doi.org/10.1155/2014/286752>
- Kumar, B., Smita, K., & Cumbal Flores, L. (2017). Plant mediated detoxification of mercury and lead. *Arabian Journal of Chemistry*, *10*, S2335–S2342. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.08.010>
- Kumar, A., & Sahoo, H. B. (2020). Preliminary pharmacological evaluation of *Manilkara*

zapota stems bark extract for ulcerative colitis in rats. *Advance Pharmaceutical*

Laghlimi, M., Baghdad, B., Hadi, H. El, & Bouabdli, A. (2015). Phytoremediation Mechanisms of Heavy Metal Contaminated Soils: A Review. *Open Journal of Ecology*, 05(08), 375–388. <https://doi.org/10.4236/oje.2015.58031>

Lázaro Gutiérrez, R. (2021). Entrevistas estructuradas, semi-estructuradas y libres. Análisis de contenido. In *Técnicas de investigación cualitativa en los ámbitos sanitario y sociosanitario*. https://doi.org/10.18239/estudios_2021.171.04

Liu, Y.-P., Yan, G., Guo, J.-M., Liu, Y.-Y., Li, Y.-J., Zhao, Y.-Y., Qiang, L., & Fu, Y.-H. (2019). Prenylated Coumarins from the Fruits of *Manilkara zapota* with Potential Anti-inflammatory Effects and Anti-HIV Activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(43), 11942–11947. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b04326>

Lopezosa, C. (2020). Entrevistas semiestructuradas con NVivo: pasos para un análisis cualitativo eficaz. Lopezosa C, Díaz-Noci J, Codina L, editores *Methodos Anuario de Métodos de Investigación en Comunicación Social, 1*. Barcelona: Universitat Pompeu Fabra; 2020. p. 88-97.

Lundell, C. L. (1937). *The vegetation of Petén*. Carnerige Institution of Washington.

Lyczak, J. B., Cannon, C. L., & Pier, G. B. (2000). Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: Lessons from a versatile opportunist. In *Microbes and Infection* (Vol. 2, Issue 9, pp. 1051–1060). Elsevier Masson SAS. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)01259-4](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(00)01259-4)

Magaña-Alejandro, M. A., Gama-Campillo, L. M., & Mariaca-Méndez, R. (2010). El uso de las plantas medicinales en las comunidades Maya-Chontales de Nacajuca, Tabasco,

México. *Polibotánica*, 29(29), 213–262.

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682010000100011&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Martínez, C. C., Gómez, M. D., & Oh, M. S. (2017). Use of traditional herbal medicine as an alternative in dental treatment in mexican dentistry: A review. In *Pharmaceutical Biology* (Vol. 55, Issue 1, pp. 1992–1998).
<https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1347188>

Martinez-Klimova, E., Rodríguez-Peña, K., & Sánchez, S. (2017). Endophytes as sources of antibiotics. In *Biochemical Pharmacology* (Vol. 134, pp. 1–17). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.10.010>

Manzoor, S., Yasmin, G., Raza, N., Fernandez, J., Atiq, R., Chohan, S., Iqbal, A., Manzoor, S., Malik, B., Winter, F., & Azam, M. (2021). Synthesis of polyaniline coated magnesium and cobalt oxide nanoparticles through eco-friendly approach and their application as antifungal agents. *Polymers*, 13(16), 2669.
<https://doi.org/10.3390/polym13162669>

Makowski, D. (2019). N2O increasing faster than expected. *Nature Climate Change*, 9(12), 909-910.

McAuliffe, L., Gosney, F., Hlusek, M., de Garnica, M. L., Spargser, J., Kargl, M., Rosengarten, R., Ayling, R. D., Nicholas, R. A. J., & Ellis, R. J. (2011). Multilocus sequence typing of mycoplasma agalactiae. *Journal of Medical Microbiology*, 60(6), 803–811. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.028159-0>

McKillop, H. (2004). *The ancient Maya: New perspectives*. ABC-CLIO.

- Mehnaz, B., & Bilal, A. (2017). Manilkara zapota (L.) P.Royen (Sapodilla): A Review. *International Journal of Advance Research*, 3(6), 1363–1371. www.IJARIIT.com
- Mehraj, J., Witte, W., Akmatov, M. K., Layer, F., Werner, G., & Krause, G. (2016). Epidemiology of Staphylococcus aureus nasal carriage patterns in the community. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 398, 55–87. https://doi.org/10.1007/82_2016_497
- Méndez-González, M. E., Torres-Avilez, W. M., Dorantes-Euán, A., & Durán-García, R. (2014). Jardines medicinales en Yucatán: Una alternativa para la conservación de la flora medicinal del los Mayas. Medicinal gardens in Yucatán: An alternative for the conservation of the medicinal flora of Maya. *Ensayo Científico Rev. Fitotec. Mex*, 37(2), 97–106.
- Meseguer-Peinado, M. A., Acosta-Boga, B., Matas-Andreu, L., & Codina-Grau, G. (2012). Microbiological diagnosis of Mycoplasma infections. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 30(8), 500–504. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.10.020>
- Meservey, A., Sullivan, A., Wu, C., & Lantos, P. M. (2020). Staphylococcus sciuri peritonitis in a patient on peritoneal dialysis. *Zoonoses and Public Health*, 67(1), 93–95. <https://doi.org/10.1111/zph.12664>
- Mezzatesta, M. L., Gona, F., & Stefani, S. (2012). Enterobacter cloacae complex: Clinical impact and emerging antibiotic resistance. *Future Microbiology*, 7(7), 887–902. <https://doi.org/10.2217/fmb.12.61>
- Moher, D. (2015). Optimal strategies to consider when peer reviewing a systematic review and meta-analysis. *BMC medicine*, 13(1), 1-4.

- Mohanapriya, C., Uma, S., Nithyalakshmi, V., Rajmohan, K. S., Vijay, P., Pulla, R. H., Muthukumaran, C., & Gopinath, M. (2019). In Vitro Evaluation of Secondary Metabolites: Characterization and Antimicrobial Activity of Manilkara zapota L. Seed Extract. *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences*, 89(2), 729–738. <https://doi.org/10.1007/s40011-018-0989-6>
- Montaño García, R. Y., & Aquiles Arce, L. (2018). Exportación de nitrógeno de la Lechuga (*Lactuca sativa*) con fertilización nitrogenada y estrategias de reposición de Agua. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 5(1), 7-15.
- Monticelli, J., Knezevich, A., Luzzati, R., & Di Bella, S. (2018). Clinical management of non-faecium non-faecalis vancomycin-resistant enterococci infection. Focus on *Enterococcus gallinarum* and *Enterococcus casseliflavus/flavescens*. In *Journal of Infection and Chemotherapy* (Vol. 24, Issue 4, pp. 237–246). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2018.01.001>
- Morley, S. G. (1994). *La civilización maya*. Fondo de cultura económica de México.
- Munn, Z., Peters, M. D., Stern, C., Tufanaru, C., McArthur, A., & Aromataris, E. (2018). Systematic review or scoping review? Guidance for authors when choosing between a systematic or scoping review approach. *BMC medical research methodology*, 18(1), 1-7.
- Nagani, K., Kaneria, M., & Chanda, S. (2012). Pharmacognostic studies on the leaves of *Manilkara zapota* L. (Sapotaceae). *Pharmacognosy Journal*, 4(27), 38–41. <https://doi.org/https://doi.org/10.5530/pj.2012.27.6>

- Nagaraju Jesetti, Rajasekhar Reddy Alavala, Subhakar Raju Rapaka, Umasankar Kulandaivelu, & Koteswara Rao GSN. (2020). Antidiabetic activity, alpha-amylase, and alpha-glucosidase inhibitory effect of *Tradescantia spathacea* Swartz extract. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, *11*(SPL4), 1594–1599. <https://doi.org/10.26452/ijrps.v11ispl4.4343>
- Naroem, A., Udayana, S. K., Kumar, G., & Mukherjee, A. K. (2017). Intervention of Multitasking Pgpr in Pulse Production. *Innovative Farming*, *2*(1), 41–44.
- Nasreen, N., Semmar, N., Farman, M., & Ahmad, N. S. (2018). Employment of hyphenated approach for metabolomics fingerprinting of phenolics from *Torilis leptophylla* roots.
- Nations, J. D. (2006). *The Maya Tropical Forest: People, Parks and Ancient Cities*. University of Texas Press.
- Nava Hernández, G., Aldasoro Maya, E. M., Perezgrovas Garza, R., & Vera Cortés, G. (2018). Interacciones del ser humano con animales de traspatio: un estudio desde la Etnoveterinaria en Tabasco, México. *Nova Scientia*, *10*(21), 258–309. <https://doi.org/10.21640/ns.v10i21.1532>
- Negi, A., Pare, A., Manickam, L., & Rajamani, M. (2022). Effects of defect action level of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: *Tenebrionidae*) fragments on quality of wheat flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *102*(1), 223-232.
- Nemeghaire, S., Argudín, M. A., Feßler, A. T., Hauschild, T., Schwarz, S., & Butaye, P. (2014). The ecological importance of the *Staphylococcus sciuri* species group as a reservoir for resistance and virulence genes. In *Veterinary Microbiology* (Vol. 171,

Issues 3–4, pp. 342–356). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.02.005>

Neog, N., Phukan, U., Puzari, M., Sharma, M., & Chetia, P. (2021). *Klebsiella oxytoca* and Emerging Nosocomial Infections. In *Current Microbiology* (Vol. 78, Issue 4, pp. 1115–1123). Springer. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02402-2>

Ngongang, F. C. M., Fankam, A. G., Mbaveng, A. T., Wamba, B. E. N., Nayim, P., Beng, V. P., & Kuete, V. (2020). Methanol Extracts from *Manilkara zapota* with Moderate Antibacterial Activity Displayed Strong Antibiotic-Modulating Effects against Multidrug-Resistant Phenotypes. *Investigational Medicinal Chemistry and Pharmacology*, 3(1), 1–8. <https://doi.org/10.31183/imcp.2020.00037>

Nigh, R., & Ford, A. (2019). *El Jardín forestal maya* (2nd ed.). Fray Bartolomé de las Casas,.

Nyunt, T. T. (2019). Study on Morphological, Phytochemical, Physico-chemical and elemental analysis of four leaves of some families from Myanmar Medicinal plants Vicinity of West Yangon University. *2nd Myanmar Korea Conference Research Journal*, 1, 440–449.

Olaya-Abril, A., Hidalgo-Carrillo, J., Luque-Almagro, V. M., Fuentes-Almagro, C., Urbano, F. J., Moreno-Vivián, C., Richardson, D. J., & Roldán, M. D. (2021). Effect of pH on the denitrification proteome of the soil bacterium *Paracoccus denitrificans* PD1222. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96559-2>

Onwuegbuzie, A. J., Leech, N. L., & Collins, K. M. T. (2012). Qualitative analysis techniques for the review of the literature. *Qualitative Report*, 17(28), 1–28. <https://doi.org/10.46743/2160-3715/2012.1754>

- Oon, Y. N., Chen, R. J., Kuan, J. M., & Sit, N. W. (2021). Bioactivity of medicinal plant extracts against human fungal pathogens and evaluation of toxicity using vero cells. *Tropical Biomedicine*, 38(3), 469–475. <https://doi.org/10.47665/tb.38.3.090>
- Orantes-García, C., Moreno-Moreno, R. A., Caballero-Roque, A., & Farrera-Sarmiento, O. (2018). Plantas utilizadas en la medicina tradicional de comunidades campesinas e indígenas de la Selva Zoque, Chiapas, México. *Bol. Latinoam. Caribe Plantas Med. Aromát*, 17(5), 503–521.
- Otari, S. V., Patil, R. M., Ghosh, S. J., & Pawar, S. H. (2014). Green phytosynthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Manilkara zapota* (L.) seeds and its inhibitory action against *Candida* species. *Materials Letters*, 116, 367–369. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2013.11.066>
- Oteo Iglesias, J. (2019). Comprendiendo la resistencia a antibióticos. *Revista de Investigación y Educación En Ciencias de La Salud (RIECS)*, 4(2), 84–89. <https://doi.org/10.37536/riecs.2019.4.2.164>
- Paauw, A., Caspers, M. P. M., Schuren, F. H. J., Leverstein-van Hall, M. A., Delétoile, A., Montijn, R. C., Verhoef, J., & Fluit, A. C. (2008). Genomic diversity within the enterobacter cloacae complex. *PLoS ONE*, 3(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003018>
- Pardo-Aldave, K., Pareja-Vásquez, M., Guillén, A., & Ureta-Tapia, J. M. (2019). Antimicrobial activity in vitro of camu-camu (*Myrciaria dubia*) against oral microorganisms: A systematic review. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 36(4), 573–582. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2019.364.4270>

- Pascual, M. B., Sanchez-Monedero, M. A., Cayuela, M. L., Li, S., Haderlein, S. B., Ruser, R., & Kappler, A. (2020). Biochar as electron donor for reduction of N₂O by *Paracoccus denitrificans*. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(8), 1–11. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa133>
- Pati, D., & Lorusso, L. N. (2018). How to Write a Systematic Review of the Literature. *Health Environments Research and Design Journal*, 11(1), 15–30. <https://doi.org/10.1177/1937586717747384>
- Pientaweeratch, S., Panapisal, V., & Tansirikongkol, A. (2016). Antioxidant, anti-collagenase and anti-elastase activities of *Phyllanthus emblica*, *Manilkara zapota* and silymarin: an in vitro comparative study for anti-aging applications. *Pharmaceutical Biology*, 54(9), 1865–1872. <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1133658>
- Piñar Sancho, G. (2016). Revista Medica De Costa Rica Y Centroamerica Lxxiii (618) 131-134, 2016. *Revista Médica De Costa Rica Y Centroamérica*, 73(618), 131–134.
- Pravin, K. P., & Shashikant, D. C. (2019). *Manilkara zapota* (L.) Royen fruit peel: a phytochemical and pharmacological review. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 10(1), 11-14.
- Prakash, R., & Rajesh, R. (2014). Aberrant expression of WNT/beta-catenin signaling pathway and In - vitro cytotoxic activity of *Tradescantia spathacea* medicinal plant used to treat human breast adenocarcinoma (MCF-7 cell lines). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(12). [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.5\(12\).5230-34](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.5(12).5230-34)
- Priya, P., Shoba, F. G., Parimala, M., & Sathya, J. (2014). Antioxidant and antibacterial

- properties of *Manilkara zapota* (L.) Royen flower. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6(2), 174–178. www.ijpcr.com
- Rahman, A. H. M. M., Zakia Sultana, M., Rani, R., & Islam, A. K. M. R. (2015). Taxonomic Studies of the Family Commelinaceae at Rajshahi, Bangladesh. *International Journal of Advanced Research Journal* www.Journalijar.Com
International Journal of Advanced Research, 3(5), 978–989.
<https://www.researchgate.net/publication/288832541>
- Ramírez, L. S., & Castaño, D. M. (2009). Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et Technica*, 15(42), 263–268.
- Ravikumar, K., Rajamalar, P., & Krishnavignesh, L. (2014). A review of the importation of medicinal plants and clinical indication, in Asia. In *International Journal of Pharma and Bio Sciences* (Vol. 5, Issue 4, pp. B221–B230). www.ijpbs.net
- Razin, S., & Hayflick, L. (2010). Highlights of mycoplasma research-An historical perspective. In *Biologicals* (Vol. 38, Issue 2, pp. 183–190). Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2009.11.008>
- Reimers, E. A. L., Fernández C., E., Reimers, D. J. L., Chaloupkova, P., Del Valle, J. M. Z., Milella, L., & Russo, D. (2019). An ethnobotanical survey of medicinal plants used in Papantla, Veracruz, Mexico. *Plants*, 8(8). <https://doi.org/10.3390/plants8080246>
- Riaz, M. B., Khan, A. ullah, & Qazi, N. G. (2020). Pharmacological and computational evaluation of Sapodilla and its constituents for therapeutic potential in hyperactive gastrointestinal disorders. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 23(2), 224–235.

<https://doi.org/10.22038/IJBMS.2019.35595.8488>

Rimoldi, S. G., Pileri, P., Mazzocco, M. I., Romeri, F., Bestetti, G., Calvagna, N., Tonielli, C., Fiori, L., Gigantiello, A., Pagani, C., Magistrelli, P., Sartani, A., De Silvestri, A., Gismondo, M. R., & Cetin, I. (2020). The Role of *Staphylococcus aureus* in Mastitis: A Multidisciplinary Working Group Experience. *Journal of Human Lactation*, 36(3), 503–509. <https://doi.org/10.1177/0890334419876272>

Rocha, C., Reynolds, N. D., & Simons, M. P. (2015). Resistencia emergente a los antibióticos: una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 32(1), 139. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2015.321.1586>

Rodrigo, C., & Méndez, M. (2013). Infecciones causadas por *Mycoplasma pneumoniae*. *AnPediatrContin*, 11(1), 23-9.

Rodríguez, L. de las M. (2015). Etnobotánica maya: Algunas plantas de uso medicinal en estomatología. *Revista de La Asociación Dental Mexicana*, 72(1), 21–25.

Rodríguez-García, C. M., Ruiz-Ruiz, J. C., Peraza-Echeverría, L., Peraza-Sánchez, S. R., Torres-Tapia, L. W., Pérez-Brito, D., Tapia-Tussell, R., Herrera-Chalé, F. G., Segura-Campos, M. R., Quijano-Ramayo, A., Ramón-Sierra, J. M., & Ortiz-Vázquez, E. (2019). Antioxidant, antihypertensive, anti-hyperglycemic, and antimicrobial activity of aqueous extracts from twelve native plants of the Yucatan coast. *PLoS ONE*, 14(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213493>

Rosas-Piñón, Y., Mejía, A., Díaz-Ruiz, G., Aguilar, M. I., Sánchez-Nieto, S., & Rivero-Cruz, J. F. (2012). Ethnobotanical survey and antibacterial activity of plants used in

- the Altiplane region of Mexico for the treatment of oral cavity infections. *Journal of ethnopharmacology*, 141(3), 860-865.
- Rufo, D. G., Sánchez, E. G., Sánchez, J. E. G., & Moro, M. G. (2021). Clinical implications of the genus mycoplasma. In *Revista Espanola de Quimioterapia* (Vol. 34, Issue 3, pp. 169–184). Sociedad Española de Quimioterapia. <https://doi.org/10.37201/req/014.2021>
- Ruiz, P., & Cantón, R. (2016). Epidemiología de la infección por bacilos gramnegativos multirresistentes. *Rev Esp Quimioter*, 29(1), 21–25.
- Ruz, A. (2018). *La civilización de los antiguos Mayas* (7th editio). Fondo de cultura económica de México.
- Sahagún, B. de. (2019). *Historia general de las cosas de la Nueva España*. Editorial Porrúa México.
- Salvador-Oliván, J. A., Marco-Cuenca, G., & Arquero-Avilés, R. (2021). Development of an efficient search filter to retrieve systematic reviews from PubMed. *Journal of the Medical Library Association: JMLA*, 109(4), 561.
- Schlesinger, V. (2001). *Animals and Plants of the Ancient Maya: A Guide*. University of Texas Press.
- Schults, R. E., & Hoffmann, A. (2000). *Plantas de los dioses* (C. Rälsch (ed.); 2da Edició). Fondo de cultura económica de México.
- Sharma, A., Flores-Vallejo, R. del C., Cardoso-Taketa, A., & Villarreal, M. L. (2017). Antibacterial activities of medicinal plants used in Mexican traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 208, 264–329.

<https://doi.org/10.1016/J.JEP.2016.04.045>

Shaniba, V. S., Aziz, A. A., Jayasree, P. R., & Kumar, P. R. M. (2019). Manilkara zapota (L.) P. Royen Leaf Extract Derived Silver Nanoparticles Induce Apoptosis in Human Colorectal Carcinoma Cells Without Affecting Human Lymphocytes or Erythrocytes. *Biological Trace Element Research*, 192(2), 160–174. <https://doi.org/10.1007/s12011-019-1653-6>

Shanmugapriya, K., Saravana, P. S., Payal, H., Mohammed, S. P., & Bennai, W. (2011). A comparative study of antimicrobial potential and phytochemical analysis of Artocarpus heterophyllus and Manilkara zapota seed extracts. *J Pharm Res*, 4(8), 2587–2589. www.jpronline.info

Sharer, R. J., & Traxler, L. P. (2006). *The ancient maya* (6th editio). Standford University Press.

Shi, H., Wang, K., Wang, L., Sun, S., Li, B., & Yao, L. (2022). Case report of enterobacter hormaechei in sheep with respiratory disease and death. *BMC Veterinary Research*, 18(1), 57. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03157-z>

Shinde, P. R., Gujrani, P. V., Gupta, A. R., Dhondge, P. G., & Sangle, S. J. (2021). Exploration of pharmacognostic, phytochemical and antibacterial potential of Rhoecydiscolor Hance. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 10(1), 1625–1630. www.phytojournal.com

Shimizu, A., Hase, R., Suzuki, D., Toguchi, A., Otsuka, Y., Hirata, N., & Hosokawa, N. (2019). Lactococcus lactis cholangitis and bacteremia identified by MALDI-TOF mass spectrometry: A case report and review of the literature on Lactococcus lactis

infection. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 25(2), 141–146.
<https://doi.org/10.1016/j.jiac.2018.07.010>

Sibi, G., Wadhavan, R., Singh, S., Shukla, A., Dhananjaya, K., Ravikumar, K. R., & Mallesha, H. (2013). Plant latex: A promising antifungal agent for post harvest disease control. In *Pakistan Journal of Biological Sciences* (Vol. 16, Issue 23, pp. 1737–1743). <https://doi.org/10.3923/pjbs.2013.1737.1743>

Soni, P., Upmanyu, N., Singh, M., & Shivhare, Y. (2011). In-vitro Anti-arthritic Activity of Manilkara zapota Linn NUTRACEUTICALS FROM MARINE BIONETWORKS View project Phytochemical and pharmaceutical evaluation of herbal drugs View project In-vitro Anti-arthritic Activity of Manilkara zapota Linn. *Asian J. Pharm. Tech*, 1, 123–124. <https://www.researchgate.net/publication/267243133>

Sravani, D., Aarathi, K., Sampath Kumar, N. S., Krupanidhi, S., Vijaya Ramu, D., & Venkateswarlu, T. C. (2015). In vitro anti-inflammatory activity of Mangifera indica and Manilkara zapota leaf extract. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 8(11), 1477–1480. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2015.00264.4>

Stefani, S., Chung, D. R., Lindsay, J. A., Friedrich, A. W., Kearns, A. M., Westh, H., & MacKenzie, F. M. (2012). Meticillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): Global epidemiology and harmonisation of typing methods. In *International Journal of Antimicrobial Agents* (Vol. 39, Issue 4, pp. 273–282). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.09.030>

Stockemer, D. (2019). *Conducting a Survey BT - Quantitative Methods for the Social Sciences: A Practical Introduction with Examples in SPSS and Stata* (D. Stockemer

(ed.); pp. 57–71). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-99118-4_5

Storelli, G., Defaye, A., Erkosar, B., Hols, P., Royet, J., & Leulier, F. (2011). *Lactobacillus plantarum* promotes drosophila systemic growth by modulating hormonal signals through TOR-dependent nutrient sensing. *Cell Metabolism*, *14*(3), 403–414. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.07.012>

Sudarshan, S., & Sunil B, B. (2015). In vivo mucoadhesive strength appraisal of gum Manilkara Zapota. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *51*(3), 689–698. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502015000300021>

Sur, A., Arquion, R. D., Galanida, C. C., Villamor, B., & Aguilar, H. T. (2015). Ethnobotanical study of indigenous plants used by local people of. *Asia Pacific Higher Education Research Journal*, *2*(2).

Tan, J. B. L., Yap, W. J., Tan, S. Y., Lim, Y. Y., & Lee, S. M. (2014). Antioxidant content, antioxidant activity, and antibacterial activity of five plants from the commelinaceae family. *Antioxidants*, *3*(4), 758–769. <https://doi.org/10.3390/antiox3040758>

Tan, B. L., & Norhaizan, M. E. (2019). Manilkara zapota (L.) P. Royen leaf water extract triggered apoptosis and activated caspase-dependent pathway in HT-29 human colorectal cancer cell line. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *110*, 748–757. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.027>

Tan, J. B. L., & Kwan, Y. M. (2020). The biological activities of the spiderworts (Tradescantia). In *Food Chemistry* (Vol. 317). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126411>

- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Tamayo España, L. E., Ranírez González, S. I., López Báez, O., Quiroga Madrigal, R. R., & Espinosa Zaragoza, S. (2016). Extractos por destilación de *Origanum vulgare*, *Tradescantia spathacea* y *Zingiber officinale* para el manejo de *Moniliophthora roreri* de *Theobroma cacao*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(5), 1065–1076. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2923.2009.03608.x>
- UNAM. (2021). *Biblioteca de la Medicina tradicional mexicana*. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/>
- Villarreal-Ibarra, E. C., García-López, E., Antonio López, P., Jesús Palma-López, D., Del, L., Lagunes-Espinoza, C., Freddy Ortiz-García, C., & Oranday-Cárdenas, A. (2014). *Plantas útiles en la medicina tradicional de Malpasito-Huimanguillo, Tabasco, México*. 37, 109–134.
- Waites, K. B., Xiao, L., Paralanov, V., Viscardi, R. M., & Glass, J. I. (2012). Molecular Methods for the Detection of Mycoplasma and Ureaplasma Infections in Humans: A Paper from the 2011 William Beaumont Hospital Symposium on Molecular Pathology. *The Journal of Molecular Diagnostics: JMD*, 14(5), 437. <https://doi.org/10.1016/J.JMOLDX.2012.06.001>
- Wang, K. F., Wang, W. J., & Ji, X. J. (2020). Draft genome sequence of tetracycline-resistant *Klebsiella oxytoca* CCTCC M207023 producing 2,3-butanediol isolated from China. In *Journal of Global Antimicrobial Resistance* (Vol. 20, pp. 160–162). Elsevier

Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.12.011>

Webster, D. (2003). *La caída del imperio maya : perspectivas en torno a una enigmática desaparición*. Destino.

Woo, P. F., Yim, H. S., Khoo, H. E., Sia, C. M., & Ang, Y. K. (2013). Effects of extraction conditions on antioxidant properties of sapodilla fruit (*Manilkara zapota*). *International Food Research Journal*, 20(5), 2065–2072.

Yasurin, P., & Piya-Isarakul, S. (2015). In-vitro Antibacterial Activity Screening of Herb Extracts against Foodborne Pathogenic Bacteria from Thailand. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 9(3), 2175–2184.
<https://www.researchgate.net/publication/285258049>

Zampini, I. C., Cudmani, N., & Isla, Ma. I. (2007). Actividad antimicrobiana de plantas medicinales argentinas sobre bacterias antibiótico-resistentes. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 3(41), 385–393. <https://doi.org/10.2307/j.ctvb939b6.9>

Zhang, J., Khan, S. A., Heckel, D. G., & Bock, R. (2017). Next-Generation Insect-Resistant Plants: RNAi-Mediated Crop Protection. In *Trends in Biotechnology* (Vol. 35, Issue 9, pp. 871–882). Elsevier Current Trends. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.04.009>

Anexos

Anexo I

Cuestionario

Lugar:

Fecha:

Sexo: Hombre Mujer

Edad: Menor de 15 años 15 – 24 años 25 – 39 años 40 – 60 años Mayor de 60 años

Comunidad:

Idioma:

1. Uso de Chicozapote (*Manilkara zapota*/ *Tradescantia spathacea*)

Información General

1. ¿Conoce esta especie?

Si No

2. ¿Con que nombre(s) usted conoce esta especie?

3. ¿Cómo conoce usted esta planta?

De vista

Por tradición oral

Otra : _____ (Especificar)

4. ¿Cómo utiliza usualmente esta planta?

a) Con fines alimenticios

b) Con fines económicos

c) Con fines medicinales

d) Con fines ornamentales

e) Con fines de ritual-sagrado

Otros: _____ (Especificar)

5. ¿Cómo suele encontrar comúnmente esta especie?

a) Las recoge:

- a) La colecta por sí mismo b) La compra
c) Otro: _____(Especificar)

b) A través de otra fuente:

- a) Farmacia b) Herbolaria
c) Otro: _____(Especificar)

Uso medicinal

6. ¿Emplea esta especie en medicina?

- Humana Animal

7. ¿Para qué padecimientos o molestias suele utilizar esta planta?

- a) respiratorios (bronquios, pulmones, etc.)
b) digestivos
c) jaquecas y migrañas (dolores de cabeza)
d) de los huesos (dolores articulares)
e) de los dientes
f) blanquear los dientes
g) de la boca (llagas, úlceras, mal aliento, halitosis)
h) infecciones generales para bajar la fiebre
i) caída del pelo
j) dermatológicos (manchas en la piel, rojeces, picores, eczemas, dermatitis)

8. ¿Conoce usted si esta planta se usa para tratar y curar algún problema en los dientes?

- Si No

Cuales:

9. ¿Qué parte de la planta suele emplear para tratar las molestias o los padecimientos?

- | | | | |
|----------|--------------------------|----------|--------------------------|
| a) Flor | <input type="checkbox"/> | f) Raíz | <input type="checkbox"/> |
| b) Hojas | <input type="checkbox"/> | g) Fruto | <input type="checkbox"/> |

- c) Ramas h) Semillas
d) Tronco / Tallo i) Otro (Especificar):
e) Corteza

10. ¿De qué manera suele emplearla?

a) Infusión	<input type="checkbox"/>	j) Lavativa/enema	<input type="checkbox"/>
b) Cataplasma/ emplastos	<input type="checkbox"/>	k) Vaporización	<input type="checkbox"/>
c) Cocimiento/ decocción	<input type="checkbox"/>	l) Baño	<input type="checkbox"/>
d) Compresa	<input type="checkbox"/>	m) Masticación	<input type="checkbox"/>
e) Ingestión	<input type="checkbox"/>	n) Otro (Especificar):	<input type="checkbox"/>
f) Gargarismo/enjuague	<input type="checkbox"/>		
g) Jarabe	<input type="checkbox"/>		
h) Jugo	<input type="checkbox"/>		
i) Lavado	<input type="checkbox"/>		

11. ¿Podría describir de qué forma utiliza usted la planta?

12. ¿Conoce usted alguna propiedad beneficiosa de esta planta?

Si No

Cuales:

13. ¿Conoce usted algún efecto secundario de la planta?

Si No

Cuales:

14. ¿Conoce usted si el uso de esta planta en el esmalte dental lo altera o modifica?

Si No

Cuales:

Uso Tradicional

15. Nos podría describir cómo esta especie interacciona en su vida cotidiana y de qué forma se encuentra relacionada en sus prácticas religiosas.

Notas (Comentarios):

Anexo II.

Usos de *Manilkara zapota*

Uso tradicional:

- *Tratar la fiebre e infecciones generales.
- *Artritis y dolor de huesos
- *Presión arterial
- *Diabetes
- *Disminuir de niveles de colesterol y triglicéridos.
- *Disentería
- *Pérdida de peso
- *Disminución de niveles de ácido úrico y bilis.
- *Fomentar la lactancia
- *Eliminar el callo
- *Disminuir los niveles de azúcar.
- *Insomnio
- *Problemas nerviosos

Revisión sistemática:

- *Agente antioxidante.
- *Antiartrítico
- *Antidiabético y anti lipídico.
- *Antiinflamatorio y anti-VIH.
- *Antifúngico
- *Antidiarreico y analgésico.
- *Agente contra la colitis ulcerosa.
- *Antitiroxinasas y citotóxico en diferentes líneas de cáncer.
- + agente antimicrobiano
- *Mucoadhesivo
- *Antipirético (fiebre).

Revisión Histórica:

- * Antipirético.
- * Alivio de problemas estomacales.
- * Problemas asociados al vientre.
- * Problemas renales.
- * Problemas de oído.
- * Tratamiento para “la hijada” empeines y quantanas.
- * Tratamiento para ciáticas.
- * Quemaduras, ampollas y úlceras.