



SEP

DGEST

DITD

**INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR
DE ATLIXCO**

Organismo Público Descentralizado del Gobierno del Estado de Puebla

**Evaluación del efecto antimicótico del extracto de hoja de flor de
sospó (*Pseudobombax ellipticum*) sobre los hongos: *Aspergillus
flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* y *Candida
albicans*.**

OPCIÓN I.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO BIOQUÍMICO

P R E S E N T A:

DESIRETH NATALY TORRENTERA HERNÁNDEZ.

ASESOR INTERNO:

M.T.A GUADALUPE GABRIELA BÁRCENA VICUÑA

DRA. JOHANA RAMIREZ HERNÁNDEZ

ASESOR EXTERNO:

DR. JOSÉ DEL CARMEN REJÓN ORANTES

ATLIXCO, PUE. AGOSTO 2020

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a la maestra Gabriela Bárcena Vicuña y a la doctora Johana Ramírez Hernández del Instituto Tecnológico Superior de Atlixco primero por ser unas amigas en este camino llamado universidad y al doctor José Rejón de la Universidad Autónoma de Chiapas, a los tres por ser tan apasionados con su trabajo y por compartirme un poco de lo mucho que saben, ustedes son la columna vertebral para todo el desarrollo de mi trabajo.

A mis padres por todo su apoyo y su complicidad para realizar mis sueños, aunque sé que para llegar hasta aquí ha sido toda una vida de luchas y sacrificios quiero decirles que son la máxima inspiración para todo lo que hago.

A mis hermanos por ser un motor en mi vida.

A mi esposo Luis y a mi hijo Matías quienes me motivan, me impulsan a ser siempre mejor.

Agradecer a Dios por la vida maravillosa que tengo y por la oportunidad de conocer a personas que han sido clave para mi desarrollo académico y personal

A mi compañera y amiga Ana Laura quien compartió conmigo sus conocimientos en el laboratorio de microbiología en el ITSA y a mis amigos Celina, Samantha Víctor y Luis quienes me enseñaron su trabajo y conocimiento del laboratorio de farmacología en la UNACH.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS	5
ÍNDICE DE FIGURAS	5
RESUMEN	7
INTRODUCCIÓN	8
ANTECEDENTES	9
JUSTIFICACIÓN	10
OBJETIVO GENERAL	11
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
HIPÓTESIS	12
MARCO TEÓRICO	13
EXTRACTOS	13
PSEUDOBOMBAX	14
<i>Pseudobombax ellipticum</i> (Kunth) Dugand	16
Taxonomía	17
Descripción	17
Nombres comunes	19
Distribución	19
Usos comunes	19
Fenología	20
HONGOS	21
FLAVONOIDES	20
ASPERGILLUS	21
Características morfológicas del género <i>Aspergillus</i>	21
Enfermedades comunes causadas por <i>aspergillus</i>	22
<i>Aspergillus flavus</i> :	22
Taxonomía	23
<i>Aspergillus fumigatus</i>	23
Taxonomía	23
Mecanismo de propagación y transmisión	24

<i>Aspergillus niger</i>	24
Taxonomía	24
<i>Candida albicans</i>	25
Taxonomía	25
Enfermedades comunes causados por <i>Candida</i>	26
CAPÍTULO III.- METODOLOGÍA	26
Obtención del extracto etanólico	27
Fitoquímica	27
Antimicograma	29
CAPÍTULO IV.-RESULTADOS	32
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	42
CONCLUSIONES	43
RECOMENDACIONES	43
REFERENCIAS	44

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Especies del genero pseudobombax con nombre aceptado.....	16
Tabla 2 Fotografías del árbol de Flor de sospó	18
Tabla 3 Obtención de extracto y reacción de shinoda	29
Tabla 4 Antimicograma	31
Tabla 5 Resultados de la medición de halos sobre el hongo <i>A. flavus</i>	33
Tabla 6 Imágenes de antimicograma para <i>A. flavus</i> por triplicado.....	33
Tabla 7 Resultados de halos de inhibición sobre el hongo <i>A. fumigatus</i>	35
Tabla 8 Imágenes de antimicograma en <i>A. fumigatus</i> por triplicado	35
Tabla 9 Resultados de halos de inhibición sobre el hongo <i>A. niger</i>	37
Tabla 10 Imágenes de antimicograma en <i>A. niger</i> por triplicado	37
Tabla 11 Resultados de halos de inhibición sobre el hongo <i>C. albicans</i>	39
Tabla 12 imagenes de antimicograma en <i>C. albicans</i> por triplicado.....	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Recolección de hojas	28
Figura 2 Cartuchos en papel filtro.....	28
Figura 3 Cartuchos en la cámara principal del soxhlet	28
Figura 4 Paso del disolvente (etanol)	28
Figura 5 Paso del disolvente por 7 ciclos	28
Figura 6 Eliminación del disolvente por medio de rotaevaporación.	28
Figura 7 reacción de Shinoda	29
Figura 8 Se observa cambio de coloración.....	29
Figura 9 Material esterilizado.....	30
Figura 10 Medio de cultivo papa dextrosa	30
Figura 11 Inoculación en cada placa por triplicado.....	30
Figura 12 Preparación de control positivo (voriconazol)	30
Figura 13 Preparación de control negativo (etanol).....	30
Figura 14 Mezcla de soluciones de extracto.....	30
Figura 15 Soluciones madre	31
Figura 16 Preparación de diluciones	31
Figura 17 Sensidiscos colocados con las diferentes diluciones sobre la superficie de cada agar por triplicado.	31
Figura 18 Incubación de placas invertidas a 36°C de 5-7 días.....	31

Figura 19 Medición de halos de inhibición	31
Figura 20 reaccion de shinoda	32
Figura 21 Gráfica comparativa con halos de inhibición de las concentraciones sobre el hongo A. flavus contra control positivo y control negativo mostrando un halo de 4mm en una concentración de 600 µg/µL del extracto etanólico de Pseudobombax ellipticum	34
Figura 22 Gráfica comparativa con halos de inhibición de las concentraciones sobre el hongo A. fumigatus contra control positivo y control negativo mostrando un halo de 3.64 mm en una concentración de 200 µg/µL del extracto etanólico de Pseudobombax ellipticum	36
Figura 23 Gráfica comparativa con halos de inhibición de las concentraciones sobre el hongo A. niger contra control positivo y control negativo mostrando un halo de 2.28 mm en una concentración de 600 µg/µL del extracto etanólico de Pseudobombax ellipticum	38
Figura 24 Gráfica comparativa con halos de inhibición de las concentraciones sobre el hongo C. albicans contra control positivo y control negativo mostrando un halo de 4.0 mm en una concentración de 600 µg/µL del extracto etanólico de Pseudobombax ellipticum siendo cercano al halo del control positivo.	40
Figura 25 Grafica comparativa de los hongos con mayor halo de inhibición	41

RESUMEN

En el presente trabajo se investigó la actividad antifúngica del extracto etanólico correspondiente a la hoja de *Pseudobombax ellipticum* obtenido en el Laboratorio Experimental de Farmacobiología de la UNACH (Universidad Autónoma de Chiapas), dicha evaluación se realizó mediante la prueba de sensibilidad (antimicograma). Los microorganismos de prueba utilizados fueron *Aspergillus flavus* (*A. flavus*), *Aspergillus niger* (*A. niger*), *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*) y *Candida albicans* (*C. albicans*) cepas proporcionadas por el laboratorio de microbiología del ITSA (Instituto Tecnológico Superior de Atlixco).

Aunque en todos los casos mostraron efecto, la mayor sensibilidad se observó en los microorganismos *Aspergillus flavus* y *Candida albicans* con 4mm de halo y una concentración a 600 µg/mL.

El antifúngico voriconazol fue incluido en el estudio como control positivo y etanol como control negativo.

INTRODUCCIÓN

México cuenta con una extraordinaria riqueza taxonómica de plantas medicinales, sin mencionar que hay plantas que todavía no han sido estudiadas ni utilizadas para fines terapéuticos buscando encontrar actividad biológica en sus extractos.

La naturaleza está presente en todo momento y en donde ha existido alguna sociedad, por primitiva que ésta parezca. Estas sociedades practicaban de manera empírica y a base de prueba y error muchas de las disciplinas científicas actuales.

Las plantas se seleccionaban dependiendo su uso y después surge la curiosidad de extraer jugos, secar hojas y raíces, moler semillas e iniciar esta investigación teórica-práctica de conocimientos que constituyen la medicina del hombre primitivo pero que gracias a la ciencia se ha ido desarrollando significativamente y sumando a la medicina tradicional.

Según la Organización Mundial de la Salud, la medicina tradicional en todo el mundo es el pilar principal de la prestación de servicios de salud, o su complemento.

En diferentes regiones aún se sigue utilizando plantas medicinales como *Pseudobombax ellipticum* (flor de sospó), que es un árbol con una floración abundante, especie originaria de México, del Estado de Chiapas y diversas regiones tropicales que se ha distribuido por América como planta ornamental y medicinal.

La gente ha utilizado la flor y hoja para aliviar enfermedades respiratorias como tos, asma y ha sido estudiada científicamente y evaluada por su actividad gastroprotectora. Sin embargo no hay estudios que evalúen su actividad antimicótica, por lo tanto el objetivo del presente trabajo es evaluar la actividad antimicótica en cuatro diferentes cepas de hongos patógenos: *Aspergillus flavus* (*A. flavus*), *Aspergillus niger* (*A. niger*), *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*) y *Candida albicans* (*C. albicans*), empleando el extracto etanólico de la hoja de *Pseudobombax ellipticum* (*P. ellipticum*).

ANTECEDENTES

Hoogesterger (1994) señaló que el hombre ha conocido y ha aprovechado las propiedades curativas de múltiples plantas. Por lo que Garrido (2008) mencionó que las plantas han constituido la farmacia natural de la humanidad, que los hombres hallaron en ellas, los remedios necesarios para las enfermedades que padecían.

Así se han ido descubriendo y conociendo las propiedades de *Pseudobombax ellipticum* en el Salvador por ejemplo, el té hecho de las flores se utiliza para aliviar enfermedades gastrointestinales, y el té hecho de la corteza fresca se utiliza para tratar diabetes (González, 1994; Guzmán, 1980).

Existe también un estudio documentado sobre la actividad gastroprotectora de *P. ellipticum* aislando el β -lupeol probado en la mucosa gástrica de ratas (Sandoval, 2009). En Veracruz es empleada tradicionalmente pero sin estudios científicos, junto con *Hamelia erecta*, para elaborar un té usado para esterilizar a las mujeres, siendo usadas por aquellas que ya no desean tener más hijos (Guía Botánica, 2019).

Hay estudios fitoquímicos relevantes por ejemplo Toledo en 2018 con la tesis de Antocianinas durante el desarrollo foliar de *Pseudobombax ellipticum* ha mostrado la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides que en su mayoría poseen actividades insecticidas y antifúngicas. En el año 2003 Navarro y colaboradores demostraron la existencia de actividad antifúngica del extracto metanólico de las semillas de *Annona cherimolia* contra *Aspergillus niger* y *Candida albicans* (Achata, 2005).

Por otro lado se reportó que el extracto de *Juglans cinerea* mostró actividad contra una amplia variedad de levaduras y dermatofitos por mencionar algunas *Candida albicans* y *Aspergillus fumigatus* (Achata, 2005).

JUSTIFICACIÓN

Las plantas medicinales han sido utilizadas para el tratamiento de cuadros menores y mucha gente cree que los remedios naturales son seguros ya que las sustancias químicas que las componen pueden tener una actividad biológica en humanos, en algunos casos los componentes activos de las plantas medicinales son conocidos y hay pruebas de su eficacia, aunque para muchos otros no hay pruebas científicas que demuestren los beneficios que se les atribuyen, si a esto añadimos la falta de datos experimentales y de estudios controlados, llegamos a valorar la importancia de las evaluaciones de los efectos biológicos de las plantas.

El control de hongos patógenos con extractos de plantas es un campo poco explorado en nuestro país aunque por muchos años ha existido evidencia del conocimiento de las propiedades de las plantas y sus múltiples usos.

La necesidad de buscar alternativas para poder utilizar extractos con fundamentos científicos que sean viables para la medicina tradicional o para la síntesis de nuevos fármacos nos da la pauta para evaluar la acción antifúngica del extracto de hoja de flor de sospó puesto que solo ha sido estudiada científicamente y evaluado por su actividad gastroprotectora.

Este trabajo evaluará el efecto antimicótico del extracto de hoja de *Pseudobombax ellipticum*, el cual fue recolectado en la ciudad de Tuxtla Gutiérrez Chiapas en donde se ha utilizado principalmente para aliviar enfermedades respiratorias.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto antimicótico del extracto etanólico de hoja de flor de sospó (*Pseudobombax ellipticum*)

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Obtener el extracto etanólico de *Pseudobombax ellipticum*

Evaluar con diferentes concentraciones del extracto, su actividad antimicótica con hongos *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *aspergillus fumigatus* y *Candida albicans*

Obtener la concentración mínima inhibitoria de extracto etanólico

HIPÓTESIS

El extracto etanólico de la hoja de *Pseudobombax ellipticum* será un eficiente antimicótico, sobre los hongos *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* y *Candida albicans*

MARCO TEÓRICO

Para que una planta sea considerada medicinal, debe tener propiedades curativas o preventivas para algún padecimiento. Sin embargo, no necesariamente toda la planta tiene que cumplir con estas características, pues algunas veces sólo es utilizada una parte de ella como el fruto, la raíz o la corteza.

El conocimiento de las plantas medicinales es milenario y ha trascendido por generaciones gracias a la tradición. Se considera que nuestros antepasados obtuvieron el conocimiento de estas especies después de distinguir entre las que servían para comer y aquellas que tenían algún efecto en su organismo, por lo que a partir de esto empezaron a diferenciarlas y seleccionarlas. El uso de la flora y la fauna como recurso medicinal se ha encontrado presente en toda la historia de la humanidad. De la interacción del hombre con su medio ambiente, diferentes culturas han acumulado conocimientos empíricos, de ellos se destacan los referentes a plantas medicinales (Rejón *et al.*, 2017).

Actualmente, en México, la importancia de las plantas medicinales no sólo radica en su riqueza como parte de la cultura, sino también en el conocimiento científico que se genera a partir de su estudio y del análisis que se realiza de cuestiones ecológicas, geográficas, culturales, farmacológicas y químicas que constituyen el contexto global.

Las plantas son una fuente invaluable de nuevas moléculas biológicamente activas. Ellas producen diversos metabolitos secundarios, muchos de los cuales presentan actividad antifúngica. Entre los compuestos más conocidos se encuentran: flavonoides, fenoles, glicósidos de fenoles, saponinas, entre otros. (Grayer and Harborne, 1994; Osbourn, 1996).

EXTRACTOS

El vocablo extracto, en sentido estricto, se refiere al producto obtenido por concentración de una disolución de sustancias vegetales. El concepto de extractos de plantas tiene un sentido amplio y sirve para denominar el extenso y variado grupo de solventes que pueden ser utilizados para arrastrar y disolver metabolitos de las plantas. Dado que las plantas medicinales presenta una característica común, su elevado contenido en sustancias o principios activos, con propiedades químicas, bioquímicas u organolépticas muy específicas, permiten la utilización de estas especies vegetales y de sus preparados con diversos fines, primordialmente para el mantenimiento de la salud, terapéuticos cuando ya aqueja alguna dolencia u

enfermedad, con propósitos de relajación como aromáticos u odoríferos y también como dietético gastronómicos, para el control de enfermedades metabólicas y control de peso. (Escudero, 2019).

PSEUDOBOMBAX

Pseudobombax se deriva de pseudo, falso y bombax, algodón. Existen diferentes especies del género *Pseudobombax* (The plant list, 2013), en la siguiente tabla se muestran algunas especies y su nombre aceptado.

		
<p><i>Pseudobombax andicola</i> A. Robyns</p>	<p><i>Pseudobombax argentinum</i> (R.E. Fr.) A. Robyns</p>	<p><i>Pseudobombax cajamarcanus</i> Fern. Alonso</p>
		
<p><i>Pseudobombax campestre</i> (Mart. & Zucc.) A. Robyns</p>	<p><i>Pseudobombax crassipes</i> Ravenna</p>	<p><i>Pseudobombax ellipticoideum</i> A. Robyns</p>



Pseudobombax ellipticum (Kunth) Dugand



Pseudobombax endecaphyllum
(Vell.) A. Robyns



Pseudobombax grandiflorum
(Cav.) A. Robyns



Pseudobombax guayasense A. Robyns



Pseudobombax longiflorum (Mart.
& Zucc.) A. Robyns



Pseudobombax marginatum
(A. St.-Hil.) A. Robyns



Pseudobombax maximum A. Robyns



Pseudobombax munguba (Mart.
& Zucc.) Dugand



Pseudobombax septenatum
(Jacq.) Dugand

	 <p data-bbox="711 632 1070 695"><i>Pseudobombax tomentosum</i> (Mart. & Zucc.) A. Robyns</p>	
--	--	--

Tabla 1 Especies del genero *pseudobombax* con nombre aceptado.

***Pseudobombax ellipticum* (Kunth) Dugand**

Pseudobombax ellipticum (sospó en lengua Zoque) es un árbol de la familia *Malvaceae*, típico de la selva baja caducifolia Chiapaneca (Miranda, 2015).

Esta planta fue descrita como *Bombax ellipticum* por primera vez por Karl (Carl) Sigismund Kunth, en 1943 Dugand G. Armando reclasificó a la especie con su nombre actual (The Plant List , 2013). En el Salvador, el té de las flores se utiliza para enfermedades gastrointestinales y el té de la corteza fresca se usa para tratar la diabetes. (Avarrete-Tindall y cols, 2019) describen que este árbol crece bien en hábitats secos y rocosos o en suelos pobres. Además la madera de *P. ellipticum* se utiliza para leña y en la artesanía de tallado de platos. Las semillas contienen carbohidratos y se puede consumir si se tuesta.

Taxonomía

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.

Superorder: Rosanae Takht.

Orden: Malvales Juss.

Familia: Malvaceae Juss.

Género: *Pseudobombax* Dugand

Especie: *Pseudobombax ellipticum* (Kunth) Dugand (Tropicos, 2016)

Cuenta con cuatro sinonimias: *Abutilon hemsleyanum* Rose, *Bombax ellipticum* Kunth, *Bombax mexicanum* Hemsl, *Coralinea fastuosa* (Tropicos, 2017)

Descripción

Pseudobombax ellipticum es un árbol que puede alcanzar los 18 m. de altura y 1,3 m .de diámetro del tronco. Sus ramas están cerca de la base del vástago. Es un árbol de hoja con pecíolos desiguales, pulvinados, de 8 a 15 cm de largo, glabros; pecíolulos de 4 a 18 mm de largo; folíolos 5, láminas de los folíolos anchamente oblongo elípticas, de 10 a 25 cm de largo, 4 a 12 cm de ancho.

Flores solitarias o címulas de 2 o 3 flores, ligeramente aromáticas; pedicelos rojos, de 1.4 a 1.5 cm largo, glabros o estrellado puberulentos; cáliz verde rojizo, cupuliforme, de 1.2 a 1.3 cm de largo, con 9 o 10 glándulas nectaríferas en la base, puberulento en la superficie externa y glabro en la interna; corola rosada o rojo púrpura, variando con el secado a marrón, por lo general el lado abaxial es más oscuro que el adaxial, pétalos lineares a obovados, de 8 a 13 cm largo, 0.5 a 1.2 cm de ancho, pelosos o seríceos en ambas superficies; columna estaminal carnosa, rosada oscura a blanca, disminuyendo de tono de la base hacia el ápice, de 5 a 7 mm largo, dividida en 5 falanges externas y 10 falanges internas, filamentos de 10 a 11 cm de largo, glabros o pubescentes, anteras recurvadas (en forma de herradura), de 2 a 2.5 mm de largo; ovario de 0.8 a 1 mm de largo, estilo blanco, de 12 a 13 cm de largo, estigma de 5 lóbulos.

Frutos de 10 a 15 cm de largo, coriáceos, rugosos, glabros. Semillas incurvadas, sin estrofiolos, pardo oscuras a negras, de 5.5 a 6 mm de largo, rodeadas por fibras blancuecinas parduscas (Perez, 2013).



Tabla 2 Fotografías del árbol de Flor de sospó

Nombres comunes

Pseudobombax ellipticum tiene cerca de 60 nombres vernáculos, 33 de ellos en lenguas étnicas, en Chiapas es conocido como Amapola, Bote, Carolina, Chospó, Chucté, Coquito, Güigüi, Ococ, Sospó. En otros estados es conocida como Amapola, Amapola blanca, Amapola colorada, Bailador, Bailarina, Cabellos de ángel, Ceiba, Clavellina, Clavellina roja, Coquito, Coquito blanco, Tambor, Tindusa, Yaco de costa (Toledo, 2018).

Distribución

Se distribuye desde Norte América (Florida y México) hasta Centro América (Belice, Guatemala, El Salvador, Honduras, Cuba, Haití, República Dominicana y Puerto Rico). En México se encuentra en los estados de Campeche, Chiapas, Colima, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán y Zacatecas. En Chiapas hay registros en los municipios de Cacahoatán, Mapastepec, Ocosingo, Ocozocoautla de Espinosa y Tuxtla Gutiérrez (Toledo, 2018)

Usos comunes

La madera se utiliza para leña y en para tallar platos como artesanía. La semilla contiene carbohidratos y se puede consumir si se tuesta. En el Salvador, el té hecho de las flores se utiliza para enfermedades gastrointestinales, y el té hecho de la corteza fresca se utiliza para tratar diabetes (González, 1994; Guzmán, 1980). El árbol se cultiva como ornamental en Florida y Hawaii (Kuck y Tongg, 1960), y las flores atractivas se utilizan para decorar casas e iglesias en Centroamérica. Las fibras finas de los frutos de varias especies de la familia Bombacaceae incluyendo *Pseudobombax ellipticum*, se utilizan para rellenar almohadas y colchones. Las fibras también se han utilizado para aislar refrigeradoras (Salter, 1956).

Fenología

	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Flor		★	★	★	★	★						
Fruto			★	★	★	★						

Tabla 3 En esta tabla se muestran los meses en los que hay floración y fructificación de *Pseudobombax ellipticum*

(CONAFOR, 2019)

FLAVONOIDES

El término flavonoides denota un grupo muy amplio de compuestos polifenólicos caracterizados por una estructura benzo- γ -pirano, los cuales están ampliamente distribuidos en el reino vegetal y se encuentran de forma universal en las plantas vasculares, en forma de glicósidos. Ellos son muy importantes para el desarrollo y buen funcionamiento de las plantas, ya que actúan como atrayentes de animales en la oviposición, como agentes protectores contra la luz UV (ultra violeta) o contra la infección por organismos fitopatógenos; además, estos compuestos presentan propiedades relacionadas con la salud humana, lo cual está basado en su actividad antioxidante.

La extracción de los diferentes flavonoides se realiza a partir del material vegetal fresco, aunque esta también puede realizarse con el material vegetal seco siempre y cuando el proceso de secado no altere la composición de los flavonoides.

El material vegetal debe molerse finamente para de esta forma facilitar la extracción de los compuestos flavonoicos; estos compuestos se pueden extraer indistintamente debido a la solubilidad que estos presentan en diferentes solventes orgánicos. Los flavonoides que poseen un gran número de grupos hidroxilos insustituídos o azúcares son considerados compuestos polares, por lo que son moderadamente solubles en solventes polares como: etanol, metanol, butanol, acetona, DMSO (Dimetil Sulfoxido), agua. (Cartaya, 2001).

HONGOS

Los criterios según los cuales se clasifican a los hongos, (disposición metódica según una jerarquía), en Reino, Divisiones, Clases, Ordenes, Familias, Géneros y especies permite agrupar a los especímenes en grupos que comparten características muy generales (Reino), hasta aquellos que comparten características muy específicas (especie, variedad, entre otros). Si bien existen trabajos importantes que han influido en la taxonomía de los hongos y en la cual muestran una exhaustiva clasificación “Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi (9° edn: Kirk et al., 2001y The Mycota VII (McLaughlin et al., 2001a, 2001b)”. En los últimos años con el desarrollo de las técnicas de secuenciación de ADN, el conocimiento de la relación filogenética entre estos organismos ha tenido un avance substancial. El análisis filogenético de 6 genes en un número representativo de especies de este reino, ha permitido confirmar a *Pneumocystis* y *Microsporidium*, como organismos fúngicos y excluir a *Phythium* y *Rhinosporidium* del reino fungi, agrupándolos en los reinos Chromalveolata y Protozoa, respectivamente. De gran importancia resultan los cambios taxonómicos derivados de este estudio pues se han afectado diversos géneros y especies de hongos patógenos para el hombre, esto es que el estudio de secuencias de numerosos aislados clínicos ha incrementado la diversidad de especies capaces de generar micosis, lo cual sin duda también contribuirá a la búsqueda y empleo de tratamientos adecuados

ASPERGILLUS

Características morfológicas del género *Aspergillus*

Aspergillus es un género mitospórico que se caracteriza por la producción de hifas especializadas, denominadas conidióforos, sobre los que se encuentran las células conidiógenas que originarán las esporas asexuales o conidios (Abarca, 2000). El conidióforo característico de *Aspergillus*, aunque es una estructura unicelular posee tres partes bien diferenciadas: vesícula (extremo apical hinchado), estipe (sección cilíndrica situada debajo de la vesícula) y célula pie (sección final, a veces separada por un septo, que une el conidióforo con el micelio). Sobre la vesícula se disponen las células conidiógenas, denominadas habitualmente fiálides. En muchas especies, entre la vesícula y las fiálides se encuentran otras células denominadas métulas. Las cabezas conidiales que sólo presentan fiálides se denominan uniseriadas, y las que presentan fiálides y métulas, biseriadas.

Enfermedades comunes causadas por *aspergillus*

La aspergilosis es una infección oportunista causada por la inhalación de esporas del moho *Aspergillus*, suelen hallarse en el medio ambiente; las esporas germinan y se desarrollan en hifas, que ingresan en los vasos sanguíneos y, en presencia de enfermedad invasora, ocasionan necrosis hemorrágica e infarto. Los síntomas pueden ser similares a los del asma, la neumonía, la sinusitis o una enfermedad sistémica rápidamente progresiva. Es más común entre los pacientes inmunodeprimidos con neutropenia o inmunodeficiencia debido al uso de corticosteroides, aunque es poco habitual en los pacientes con infección por VIH (Virus de inmunodeficiencia humana).

El *A. fumigatus* es la causa más frecuente de enfermedad pulmonar invasora, mientras que el *A. flavus* es la causa más común de enfermedad extrapulmonar invasora, lo que puede deberse a que estos pacientes presentan una inmunodeficiencia mayor que los pacientes infectados por *A. fumigatus*.

Las infecciones localizadas, característicamente en los pulmones, a veces constituyen una bola fúngica (aspergiloma), que es una proliferación típica de masas enredadas de hifas, con exudado de fibrina y pocas células inflamatorias, rodeada por una cápsula de tejido fibroso. En ocasiones, se identifica cierto grado de invasión local del tejido en la periferia de la cavidad, aunque en general el hongo sólo reside dentro de la cavidad, sin invasión local evidente. (Revankar, MSD Inventing for life, 2017)

***Aspergillus flavus*:**

Colonias de color verde oliváceo a verde amarillento; micelio blanco; esclerocios, cuando están presentes, de color marrón oscuro a negro, variables en forma y tamaño; reverso incoloro, marrón claro o anaranjado; textura de la colonia variable, generalmente lanosa o flocosa. (Abarca, 2000)

Patógeno oportunista que causa infecciones locales y superficiales como las micosis (otomicosis, onicomicosis, queratitis) y el aspergiloma o bola fúngica que se desarrolla en una cavidad como en una lesión pulmonar, producida por una enfermedad pulmonar previa o en un seno nasal. (INSST, 2012)

Taxonomía

Dominio: Eukarya

Reino: Hongos

Phylum: Ascomycota

Clase: ascomicetos

Orden: Eurotiales

Familia: Trichocomaceae

Género: *Aspergillus*

Especie: *Aspergillus flavus* (Ernst, 2013)

Aspergillus fumigatus

Colonias en agar CYA (agar de extracto de levadura czapek) y CY20S (placa de CYA con 20% de sacarosa) se muestra de color verde-azulado a verde-grisáceo; micelio blanco; reverso incoloro, amarillento, marrón rojizo o verde; textura aterciopelada a flocosa, plana o con surcos radiales (Abarca, 2000).

Los hongos se caracterizan a menudo por sus rasgos de reproducción. *Aspergillus fumigatus* no tiene un ciclo sexual conocido, pero tiene ciertos genes que lo vinculan con la reproducción sexual y la reproducción sexual que se encuentra en otros parientes cercanos (Bennett, J.W. y M.A. Klich 1992). Por lo tanto, se utiliza el siguiente esquema de clasificación.

Taxonomía

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota (hongos del saco)

Clase: ascomicetos

Orden: Eurotiales (moldes azules y verdes).

Familia: Trichocomaceae

Genero: *Aspergillus*

Especie *Aspergillus fumigatus*

Esta es la especie patógena más común dentro del género. La reproducción sexual es desconocida. Es conocido por causar aspergilosis a individuos inmunocomprometidos (Miller, 2008).

Es el causante de aproximadamente 90% de las infecciones en humanos. El pulmón es el principal órgano afectado por el *Aspergillus* debido a la alta capacidad esporulativa de este hongo, y a que sus conidias son lo suficientemente pequeñas para poder alcanzar el alveolo (Valle, 2010)

Mecanismo de propagación y transmisión

La transmisión se produce principalmente por medio de las esporas o conidios, que se encuentran presentes en el ambiente de trabajo en forma de bioaerosoles y penetran en el organismo por vía respiratoria. También es posible la transmisión por contaminación de heridas o mucosas.

Es responsable de casos de enfermedad nosocomial. No se produce transmisión de persona a persona. (INSST, 2012)

Aspergillus niger

Colonias de color negro o marrón muy oscuro; reverso incoloro a amarillo; colonia densa, granular a flocosa. En el medio CY20S las colonias son más compactas. Colonias en MEA de color negro; micelio blanco apenas visible; reverso incoloro; textura granular a flocosa. (Abarca, 2000)

No causa tantas enfermedades como otras especies de *Aspergillus*, pero en realidad es un hongo dañino para los humanos y animales en cantidades grandes, y benéfico en cantidades pequeñas y controlables.

Taxonomía

Reino: Fungi

Clase: Eurotiomycetes

Orden: Eurotiales

Familia: Trichocomaceae

Género: Aspergillus

Especie: Aspergillus niger

Candida albicans

Candidiasis o moniliasis: infección superficial que aparece principalmente en individuos con las defensas bajas, afectando a la piel (intertrigo), a las mucosas (oral, genitourinaria o digestiva) y a las uñas (paroniquia o perionixis). Los síntomas son leves como: enrojecimiento, picazón y malestar. En personas con cáncer, trasplantados o con SIDA (Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida) la infección puede hacerse sistémica (candidemia), y puede llegar a ser mortal. (INSST, 2012)

Taxonomía

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Subphylum: Ascomycotina

Clase: Ascomycetes

Orden: Saccharomycetales

Familia: Saccharomycetaceae

Género: Candida

(Aguilera, 2010)

Enfermedades comunes causados por Candida

La candidiasis es una infección causada por especies de *Candida* (con mayor frecuencia *C. albicans*), que se manifiesta con lesiones mucocutáneas, fungemia y, en ocasiones, infecciones localizadas en múltiples sitios. Los síntomas dependen de la localización de la infección e incluyen disfagia, lesiones cutáneas y mucosas, ceguera, síntomas vaginales (prurito, ardor, flujo), fiebre, shock, oliguria, insuficiencia renal y coagulación intravascular diseminada.

Las especies de *Candida* son microorganismos comensales que habitan en el tubo digestivo y a veces en la piel. A diferencia de otras micosis sistémicas, la candidiasis se debe a una infección por microorganismos endógenos. La mayoría de las infecciones son causadas por *C. albicans*, aunque la *C. glabrata* (antes denominada *Torulopsis glabrata*) y otras especies no-*albicans* son responsable del desarrollo de fungemia, infecciones urinarias y, en ocasiones, otras enfermedades localizadas cada vez con mayor frecuencia.

Las especies de *Candida* producen alrededor del 80% de las micosis sistémicas mayores y son los productores más frecuentes de micosis en pacientes inmunodeficientes. Las candidiásicas se encuentran entre las infecciones intrahospitalarias más frecuentes. Porque la resistencia y la transmisión de *C. auris* en las instalaciones de atención médica se han convertido en una preocupación, se han establecido precauciones especiales para el control de infecciones para los pacientes que están colonizados o infectados por *C. auris*. (Revankar, 2017)

CAPÍTULO III.- METODOLOGÍA

Las pruebas experimentales y el desarrollo de este trabajo se efectuaron en el Laboratorio Experimental de Farmacobiología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Autónoma de Chiapas y en el Laboratorio de Análisis Especiales del Tecnológico Superior de Atlixco.

Obtención del extracto etanólico.

Para la obtención de la muestra vegetal, se recolectaron hojas del árbol de *Pseudobombax ellipticum* (Figura 1) ubicado en el parque central de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. (Zona Sin Asignación de Nombre de Col 42, Tuxtla Gutiérrez, Chis.) Para su clasificación botánica un ejemplar fue depositado en el Herbario del Instituto de Biología del Estado de Chiapas

Posteriormente se pesaron y se lavaron 150 gr de hojas de *P. ellipticum* para retirar materia extraña ajena a la hoja y se dejaron secar a temperatura ambiente protegidas de la luz solar.

Se cortó en trozos pequeños y se realizaron cartuchos de muestra en papel filtro para cargar en la cámara principal del soxhlet (Figura 2 y 3). Se utilizó como solvente etanol, con el cual se completaron 7 ciclos para obtener un extracto etanólico (Figura 4 y 5)

El extracto etanólico finalmente se sometió a rotaevaporación eliminando el disolvente, obteniendo un concentrado viscoso de color oscuro el cual fue colocado en un frasco de vidrio de 10 mL (Figura 6)

Fitoquímica

El extracto etanólico de hojas de *Pseudobombax ellipticum* fue sometido a una prueba colorimétrica en un intento de esclarecer los compuestos predominantes en el extracto.

Reacción de Shinoda

Se tomaron 10 gotas de extracto en un tubo de ensayo, se agregó un trozo de magnesio y posteriormente unas gotas de HCl concentrado (Figura 7)

Se observó el cambio de coloración (Figura 8)



Figura 1 Recolección de hojas



Figura 2 Cartuchos en papel filtro



Figura 3 Cartuchos en la cámara principal del soxhlet



Figura 4 Paso del disolvente (etanol)



Figura 5 Paso del disolvente por 7 ciclos



Figura 6 Eliminación del disolvente por medio de rotaevaporación.

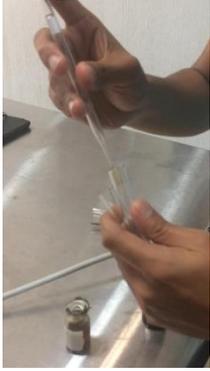


Figura 7 reacción de Shinoda



Figura 8 Se observa cambio de coloración

Tabla 4 Obtención de extracto y reacción de shinoda

Antimicograma

Una vez esterilizado todo el material, se utilizó como medio de cultivo Papa dextrosa agar (PDA), en el cual una vez gelificado se hace la inoculación (Figura 9 y 10).

Se sumerge un hisopo de algodón estéril en el inóculo, el exceso de líquido es eliminado girando el hisopo varias veces contra las paredes interiores del tubo extendiendo el inóculo por toda la superficie de la placa 3 veces seguidas. En cada repetición, se gira la placa 60°, de forma que se asegure la distribución uniforme sobre cada una de las placas con los diferentes microorganismos de ensayo (Figura11).

Se utilizó voriconazol como control positivo y se colocó en un tubo de 1 mL (Figura 12) posteriormente se utilizó otro tubo de Eppendorf con 1 mL de etanol como control negativo (Figura 13).

Se tomaron .006 gr de extracto y se diluyó en 2 mL de etanol para obtener dos tubos de solución madre (Figura 14 y 15)

Se prepararon 6 diluciones, desde 100 µg/mL hasta 600 µg/ mL (Figura 16).

Al terminar la preparación de las diluciones, cada sensidisco se sumergió en los tubos Eppendorf con las diferentes concentraciones y se colocó sobre la superficie de cada agar por triplicado (Figura 17).

Las placas se incubaron invertidas a 36°C de 5-7 días (Figura 18) y una vez pasado el tiempo estipulado se midieron los halos de inhibición de cada placa con un vernier digital (Figura 19).



Figura 9 Material esterilizado

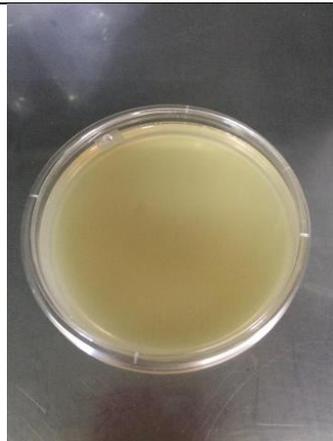


Figura 10 Medio de cultivo papa dextrosa



Figura 11 Inoculación en cada placa por triplicado



Figura 12 Preparación de control positivo (voriconazol)



Figura 13 Preparación de control negativo (etanol)



Figura 14 Mezcla de soluciones de extracto



Figura 15 Soluciones madre



Figura 16 Preparación de diluciones



Figura 17 Sensidiscos colocados con las diferentes diluciones sobre la superficie de cada agar por triplicado.



Figura 18 Incubación de placas invertidas a 36°C de 5-7 días.



Figura 19 Medición de halos de inhibición

Tabla 5 Antimicograma

CAPÍTULO IV.-RESULTADOS

Como resultado de la reacción de Shinoda, se pudo observar la aparición de un color rojo carmesí, que basados en literatura (Ríos, 2014) se trataría de Flavonol o flavanonol: (rojo a carmesí, rojo magenta).

PRESENCIA DE FLAVONOIDES
EN EL EXTRACTO

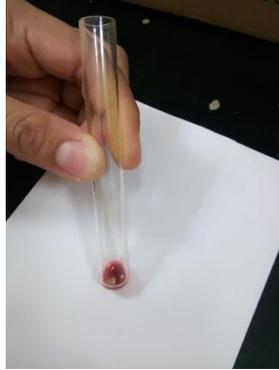


Figura 20 reaccion de shinoda

HALOS DE INHIBICIÓN

En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos de la prueba de sensibilidad en el hongo *Aspergillus flavus*, sus promedios e imágenes, mostrando mayor inhibición en la concentración de 600 µg/µL.

<i>Aspergillus flavus</i>		1	2	3	promedio
	Control positivo	31.4	29.6	30.5	30.5
	Control negativo	0	4.0	2.2	2.2
	100 µg/µL	0	0	2.1	0.7
	200 µg/µL	0	0	0	0
	300 µg/µL	3.2	2.2	0	1.8
	Control positivo	32.94	32.4	32.4	34.0
	Control negativo	2.8	0	0	2.1
	400 µg/µL	0	0	0	0
	500 µg/µL	0	0	0	0
	600 µg/µL	4.6	3.8	3.7	4

Tabla 6 Resultados de la medición de halos sobre el hongo *A. flavus*.

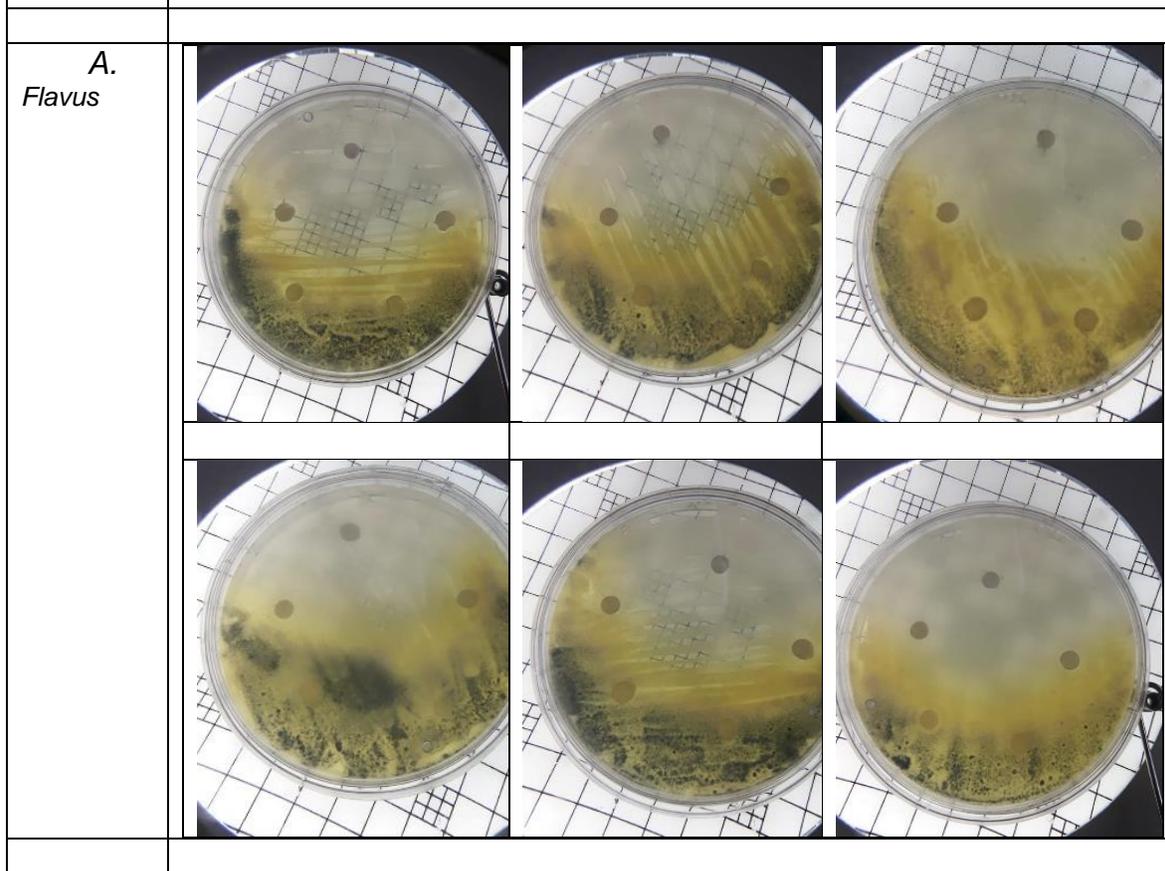


Tabla 7 Imágenes de antimicograma para *A. flavus* por triplicado

En esta gráfica se muestra el mayor halo de inhibición en comparación con los controles positivo y negativo

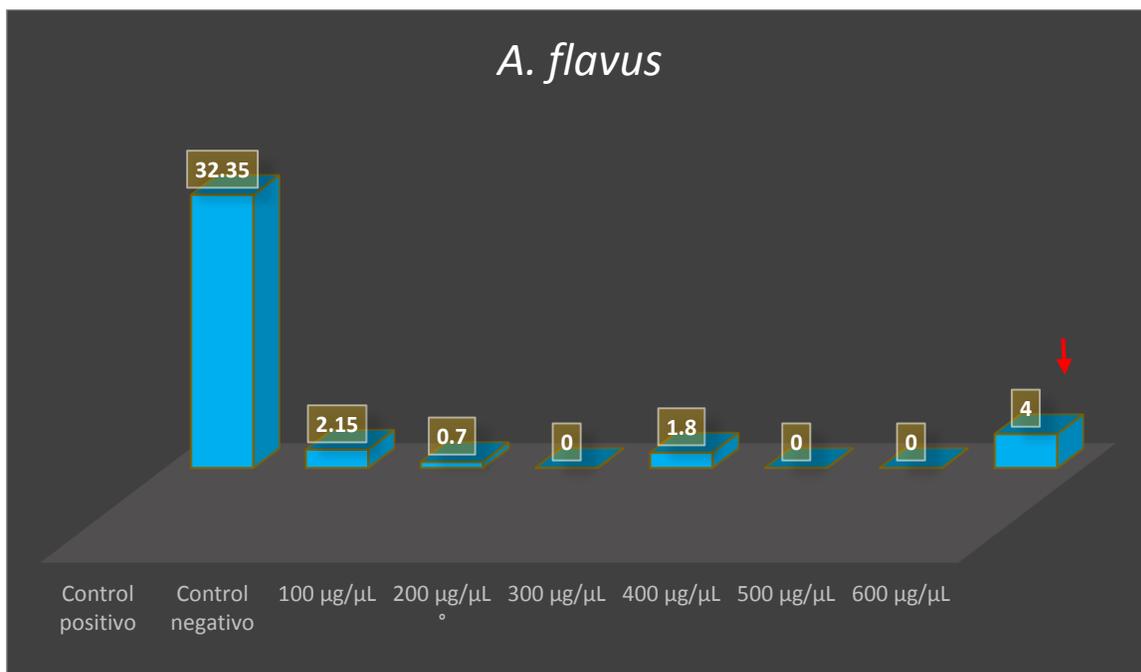


Figura 21 Gráfica comparativa con halos de inhibición de las concentraciones sobre el hongo *A. flavus* contra control positivo y control negativo mostrando un halo de 4mm en una concentración de 600 µg/µL del extracto etanólico de *Pseudobombax ellipticum*.

En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos de la prueba de sensibilidad en el hongo *Aspergillus fumigatus*, sus promedios e imágenes, mostrando mayor inhibición en la concentración de 200 µg/mL con 3.64mm de halo.

<i>Aspergillus fumigatus</i>		1	2	3	promedio
	Control positivo	33.4	32.2	32.2	30.6
	Control negativo	2.4	2.4	2.4	2.4
	100 µg/µL	0	3.3	3.3	2.2
	200 µg/µL	2.4	3.8	3.8	3.64
	300 µg/µL	3.3	3.8	3.8	3.63
	Control positivo	37.5	30.7	33.7	33.9
	Control negativo	2.5	2.7	2.3	2.5
	400 µg/µL	0	3.0	3.4	2.14
	500 µg/µL	2.2	2.7	3.9	2.9
	600 µg/µL	3.0	2.6	2.7	2.7

Tabla 8 Resultados de halos de inhibición sobre el hongo *A. fumigatus*

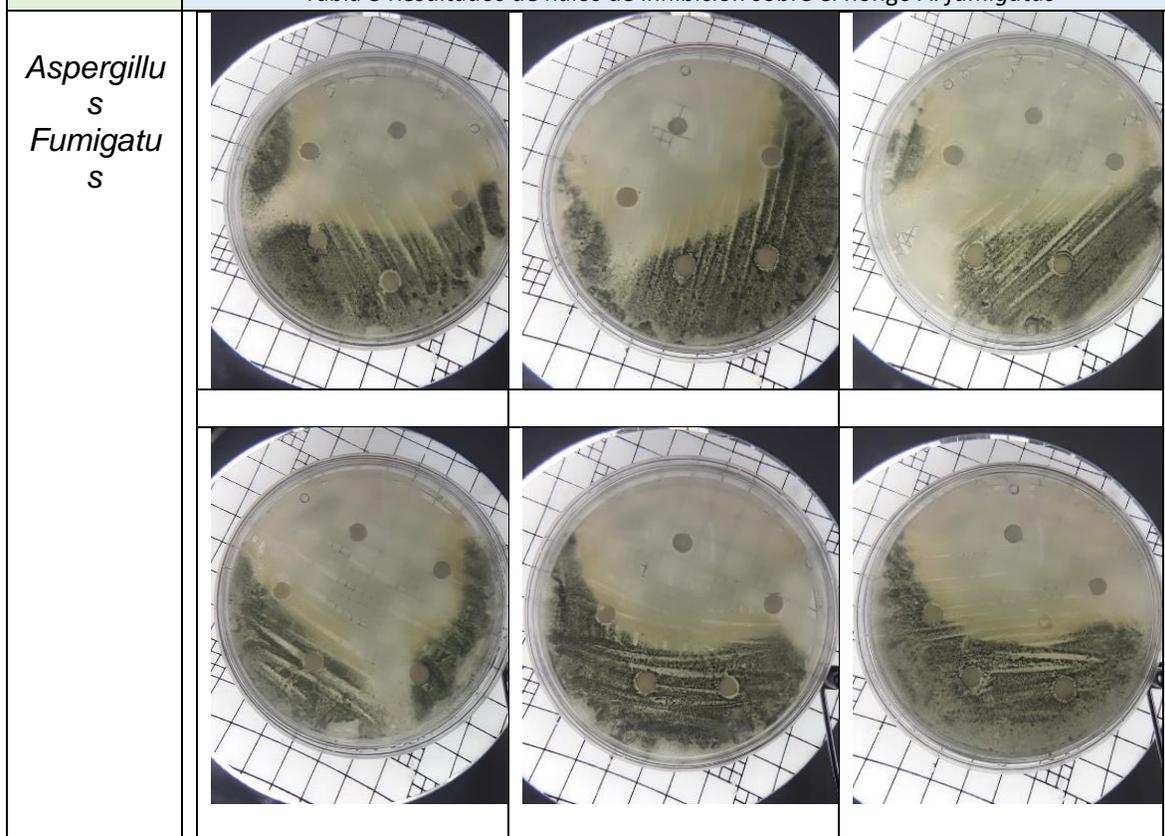


Tabla 9 Imágenes de antimicograma en *A. fumigatus* por triplicado

En esta gráfica se muestra el mayor halo de inhibición en comparación con los controles positivo, negativo y concentraciones de 100 a 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$

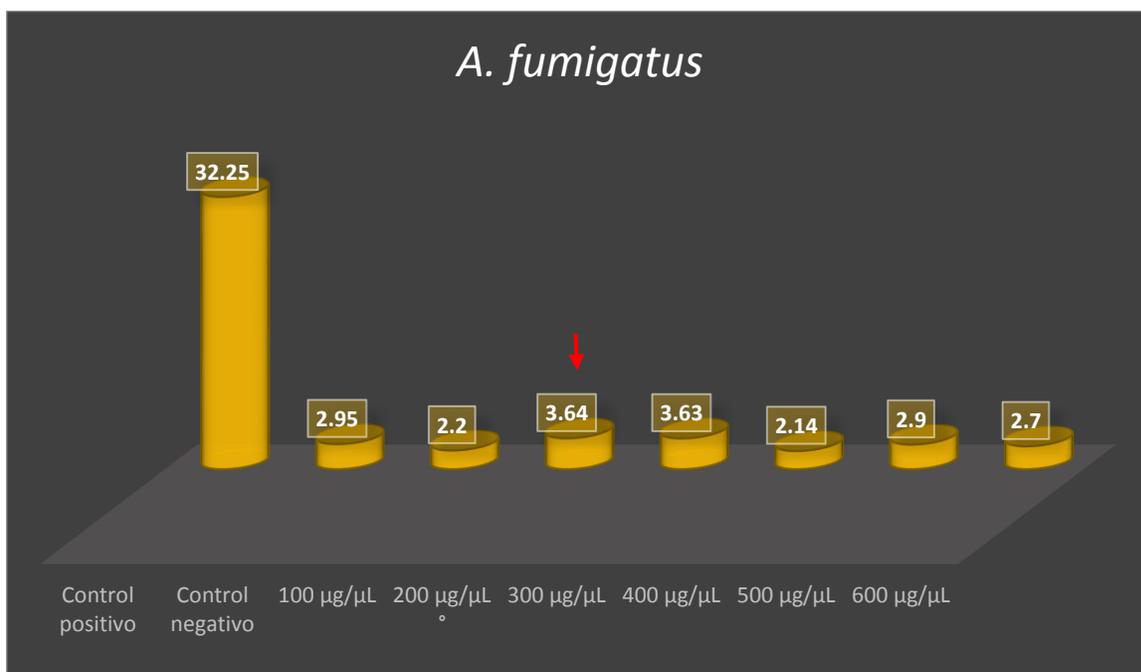


Figura 22 Gráfica comparativa con halos de inhibición de las concentraciones sobre el hongo *A. fumigatus* contra control positivo y control negativo mostrando un halo de 3.64 mm en una concentración de 200 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ del extracto etanólico de *Pseudobombax ellipticum*.

A continuación tabla se muestran los resultados obtenidos de la prueba de sensibilidad en el hongo *Aspergillus niger*, sus promedios e imágenes, mostrando mayor inhibición en la concentración de 600 µg/mL con 2.28 mm de halo.

<i>Aspergillus niger</i>		1	2	3	promedio
	Control positivo	24.7	30.1	23.09	25.96
	Control negativo	0	1.5	0	0.5
	100 µg/µL	0	2.2	3.4	2.2
	200 µg/µL	0	0	2.2	0.7
	300 µg/µL	0	0	0	0
	Control positivo	25.07	25.15	26.6	25.60
	Control negativo	2.98	2.54	2.3	2.60
	400 µg/µL	0	0	0	0
	500 µg/µL	0	0	0	0
	600 µg/µL	2.05	1.80	3.0	2.28

Tabla 10 Resultados de halos de inhibición sobre el hongo *A. niger*

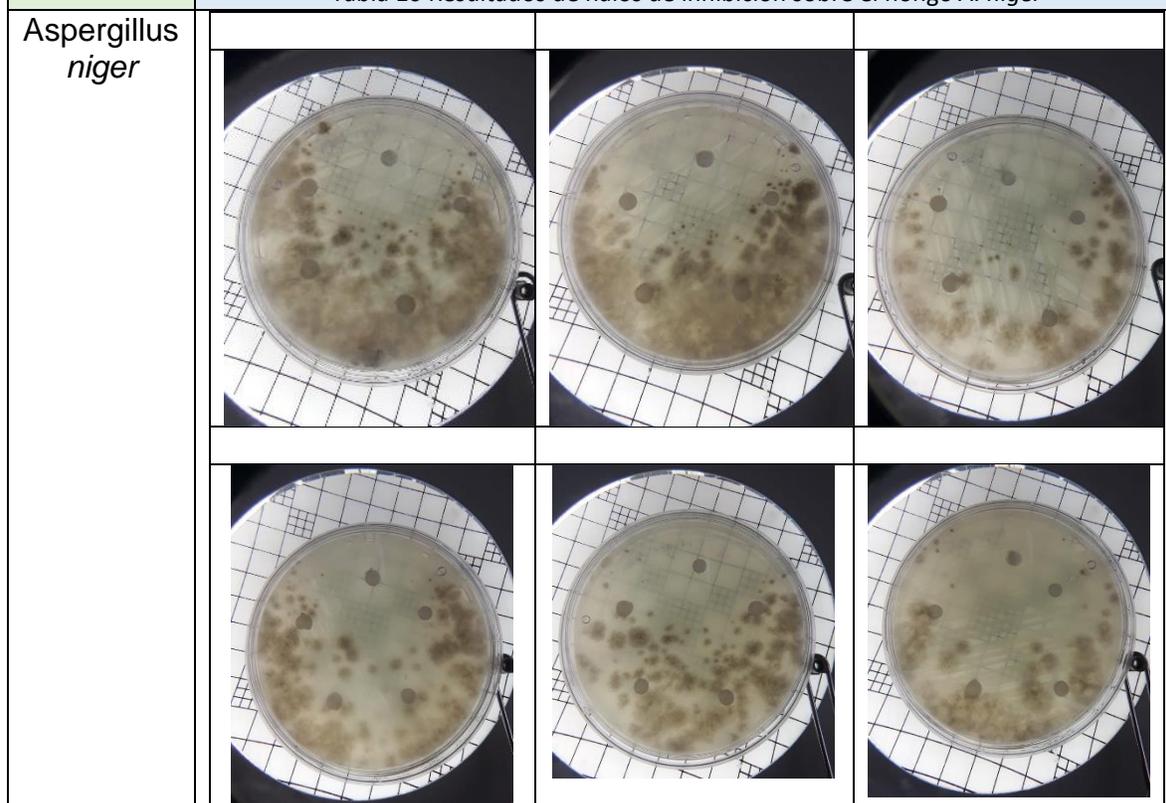


Tabla 11 Imágenes de antimicograma en *A. niger* por triplicado

En esta gráfica se muestra el mayor halo de inhibición sobre el hongo *Aspergillus niger* en comparación con los controles positivo, negativo y concentraciones de 100 a 600 µg/mL

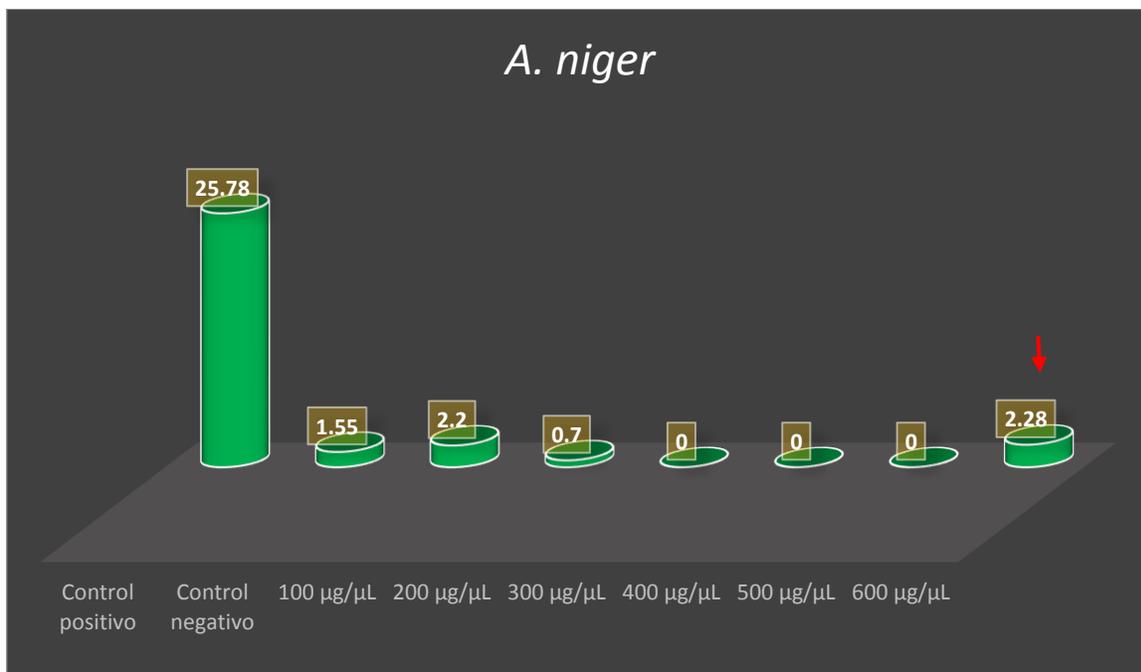


Figura 23 Gráfica comparativa con halos de inhibición de las concentraciones sobre el hongo *A. niger* contra control positivo y control negativo mostrando un halo de 2.28 mm en una concentración de 600 µg/µL del extracto etanólico de *Pseudobombax ellipticum*.

En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos de la prueba de sensibilidad en el hongo *Candida albicans*, sus promedios y fotografías, mostrando mayor inhibición en la concentración de 600 µg/mL con 4.0 mm de halo.

Candida albicans		1	2	3	Promedio
	Control positivo	4.7	3.5	6.4	4.8
	Control negativo	1.9	3.6	0	1.83
	100 µg/µL	3.6	3.8	3.6	3.66
	200 µg/µL	0	3.8	3.3	2.36
	300 µg/µL	3.3	0	3.9	2.4
	Control positivo	4.4	4.6	5.6	4.8
	Control negativo	2.4	3.6	3.0	3
	400 µg/µL	3.7	4.0	4.0	3.9
	500 µg/µL	4.2	3.5	3.3	3.6
	600 µg/µL	3.96	4.1	4.6	4.0

Tabla 12 Resultados de halos de inhibición sobre el hongo *C. albicans*

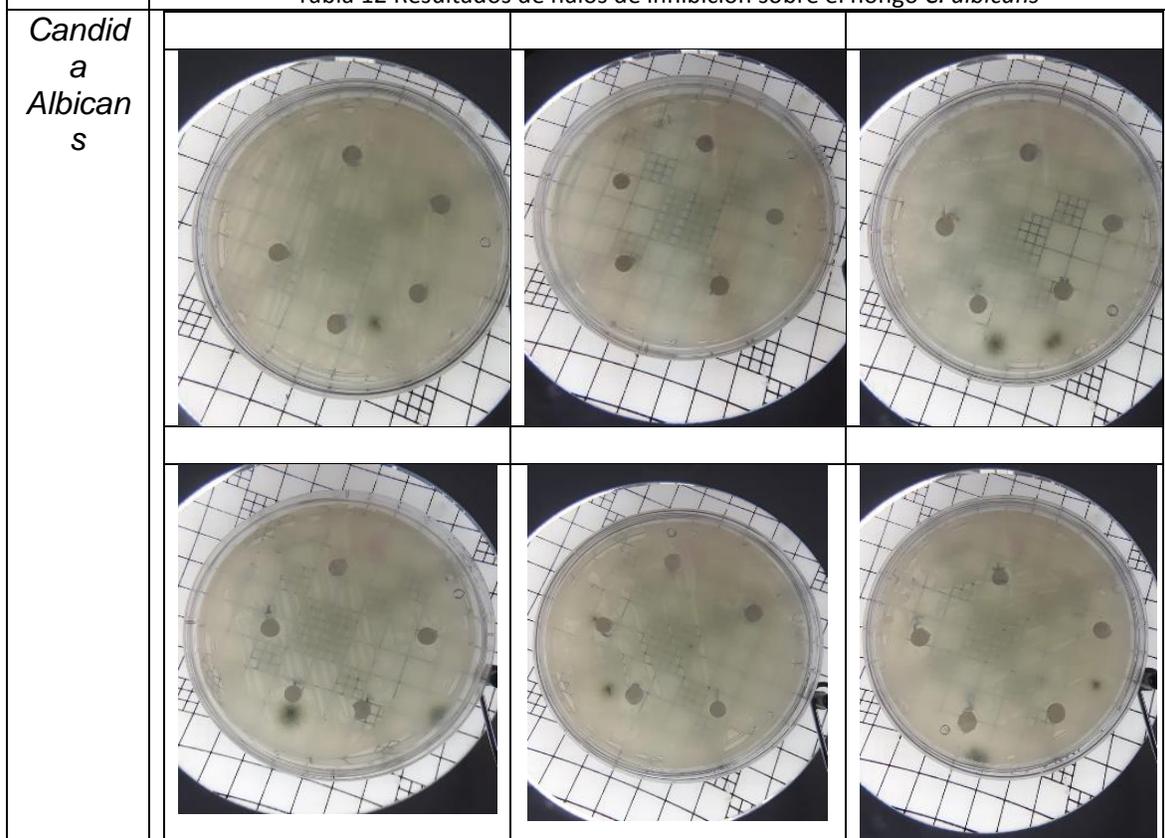


Tabla 13 imágenes de antimicograma en *C. albicans* por triplicado

En esta gráfica se muestra el mayor halo de inhibición sobre el hongo *Candida albicans* en comparación con los controles positivo, negativo y concentraciones de 100 a 600 µg/mL

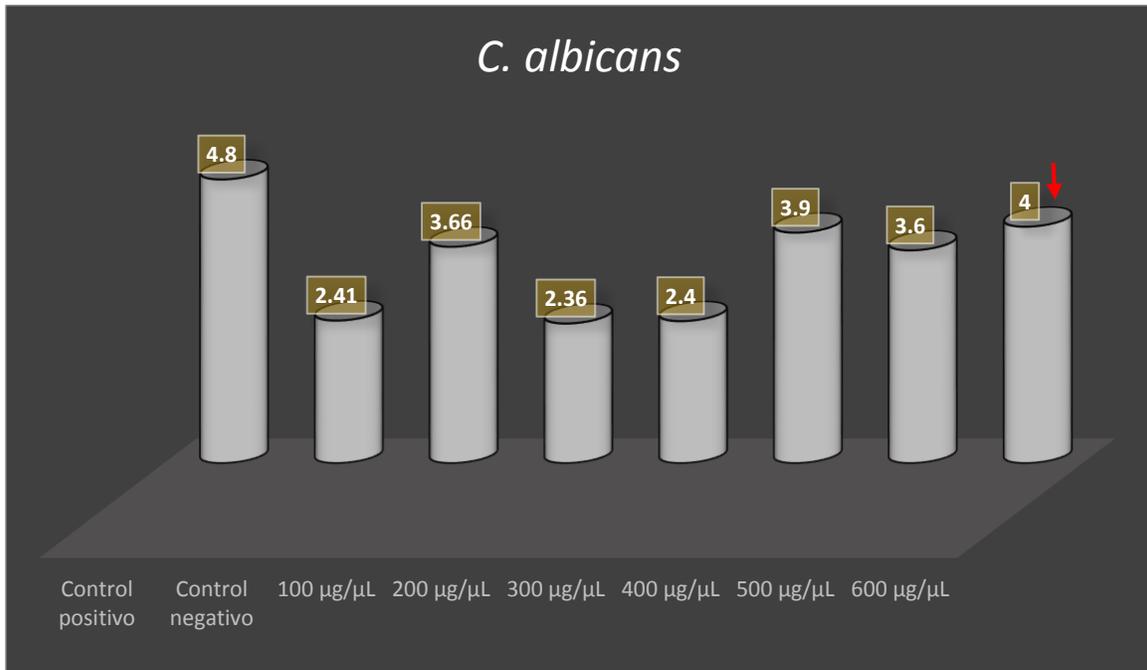


Figura 24 Gráfica comparativa con halos de inhibición de las concentraciones sobre el hongo *C. albicans* contra control positivo y control negativo mostrando un halo de 4.0 mm en una concentración de 600 µg/µL del extracto etanólico de *Pseudobombax ellipticum* siendo cercano al halo del control positivo.

En la siguiente gráfica se muestran los resultados obtenidos de la comparación de los halos en la prueba de sensibilidad sobre los hongos *Aspergillus flavus* (*A. flavus*), *Aspergillus niger* (*A. niger*), *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*) y *Candida albicans* (*C. albicans*) utilizando el extracto etanólico de *Pseudobombax ellipticum* en comparación con el control positivo (Voriconazol) y control negativo (etanol)



Figura 25 Gráfica comparativa de los hongos con mayor halo de inhibición

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En 2011 el autor Moreno describe en su investigación Efecto antifúngico de extractos de Gobernadora (*Larrea Tridentata L.*) sobre la Inhibición *In vitro* de *Aspergillus flavus* y *Penicillium sp* que para *A. flavus* se observó que los halos de inhibición varían de 12 a 21 mm para etanol, siendo esta inhibición muy similar en las cuatro concentraciones evaluadas (100, 200, 400 y 600 mg/mL) siendo que para el extracto etanólico de *Pseudobombax ellipticum* la concentración del extracto que presentó mayor inhibición fue a 600 µg/mL con un halo de 4mm de diámetro.

Aspergillus niger en el presente trabajo mostró halos de inhibición de 2.28 mm a 600 µg/mL y al hacer la prueba con el extracto de las hojas de *Psidium guajava L.* (guayaba) no se obtuvo resultado de la misma forma. Achata en 2005 utilizando el extracto de *Hypericum laricifolium* no obtuvo actividad con esta especie. Sin embargo el mismo autor prueba el extracto contra *Candida albicans* mostrando un halo de inhibición de 17 mm con una concentración de 250 µg/mL.

En un estudio (Ficker, Arnason, & Vindas, 2002) utilizan 2mg de extracto de planta etanólica *Zingiber officinale* (jengibre) y *Juglans cinérea* concluyendo que hubo inhibición contra el hongo *A. fumigatus* ya que el diámetro de la zona de inhibición fue mayor o igual a 8 mm, con una concentración de 200 µg/mL del extracto etanólico de *Pseudobombax ellipticum* hubo un halo de 3.6 mm.

Cabe señalar que de acuerdo con Ríos, et al.:(1988) es sumamente difícil estandarizar un procedimiento para el estudio de las plantas como antimicrobianos, ya que existen diversos factores que están involucrados y que pueden influir de manera importante en los resultados obtenidos; se puede mencionar, la composición del medio de cultivo, método de extracción, pH, solubilidad de la muestra en el medio de cultivo, y el microorganismo en cuestión.

CONCLUSIONES

De los resultados de la presente investigación se puede concluir:

- Se observó que el extracto etanólico mostró inhibición en los días 5-7.
- Para *Aspergillus flavus* la concentración del extracto que presentó mayor inhibición fue a 600 µg/mL con un halo de 4mm de diámetro.
- Se observó que para *Aspergillus niger* hubo mayor inhibición a 600 µg/mL con 2.28 mm de halo
- La concentración sobre el hongo *A. fumigatus* fue a 200 µg/mL mostrando un halo de 3.6 mm
- Y *Candida albicans* a 600 µg/mL. Con un halo de 4mm.

- Aunque en todos los casos mostraron efecto, la mayor sensibilidad se observó en los microorganismos *Aspergillus flavus* y *Candida albicans* con 4mm de halo y una concentración a 600 µg/mL.

RECOMENDACIONES

Es necesario llevar el extracto de hoja de flor de sospó (*pseudobombax ellipticum*) a un análisis cromatográfico y de espectrometría de masas para conocer la totalidad de sus componentes y su concentración individual con el fin de conocer cuál es el componente con mayor proporción que posee la característica antifúngica.

Para próximos estudios se recomienda utilizar concentraciones más altas del extracto en los hongos antes mencionados pero también realizar estudios con cepas diferentes.

REFERENCIAS

- Abarca, M. L. (2000). Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial. *Revista Iberoamericana de Micología*.
- Achata, M. E. (2005). *Determinación de la actividad antifúngica contra Candida albicans y Aspergillus niger de 10 plantas medicinales de departamentos del Perú*. Recuperado el septiembre de 2019, de http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/1278/huamani_am.pdf;jsessionid=FB0E92E4C28740772C10E8FBB0FB7A9B?sequence=1
- Aguilera, L. L. (2010). *ESTUDIO DE PGA 26, UNA PROTEÍNA IMPLICADA EN LA*. Valencia : Universitat de València.
- Botánico, J. (s.f.). *Jardín Botánico de la Universidad de Málaga* .
- Catalina Rivas-Morales, M. A.-C.-S. (2016). *investigacion de planatas de importancia medica*. Nuevo León, México: Omnia Science.
- CONAFOR. (2019). *Centro de Investigación y Transferencia*. Obtenido de https://www.conafor.gob.mx/catalogo_veg_tormento/especies/detalles/1
- Ernst, A. (19 de Abril de 2013). *Multiple Organisms*. Obtenido de http://bioweb.uwlax.edu/bio203/s2013/ernst_ale2/index.htm
- Escudero, F. A. (2019).
- Ficker, C. E., Arnason, J. T., & Vindas, P. S. (19 de Febrero de 2002). *Inhibition of human pathogenic fungi by ethnobotanically selected*. Obtenido de <https://pdfs.semanticscholar.org/9afb/022671a76a3eaa1a8e07d7aa89980ca416cb.pdf>
- INSST. (septiembre de 23 de 2012). *candida albicans*. Obtenido de <http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Hongos/Candida%20albicans.pdf>
- INSST. (23 de septiembre de 2012). *DATABIO*. Obtenido de <http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Hongos/Ficha%20Aspergillus%20spp.pdf>
- JOSÉ MANUEL VALLE, F. J.-B.-D. (2010). La aspergilosis pulmonar invasiva en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. *SciELO - Scientific Electronic Library Online*.
- Legorreta, X. L. (1997). *PLANTAS, MEDICINA Y PODER: BREVE HISTORIA DE LA HERBOLARIA MEXICABA* . MEXICO : PAX MÉXICO .
- Miller, M. (2008). *Aspergillus Fumigatus* . Obtenido de http://bioweb.uwlax.edu/bio203/s2008/miller_melo/Classification.htm
- Miranda, F. (2015). *La vegetación de Chiapas*. Chiapas, México : Editorial Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas .
- Perez, D. (2013). *Flora de Guerrero No. 54*. México: México, UNAM, Facultad de ciencias.

- Perugorria, K. M. (2019). *Naturaleza tropical* . Obtenido de <https://naturalezatropical.com/carolina-pseudobombax-ellipticum/>
- Rejón Orantes, J. d., Escobar Castillejos, D., & Espinosa Orantes, A. (2017). *Aprovechamiento de las plantas medicinales en el Estado de Chiapas*. Obtenido de Lekil Kuxlejal. Cultura, Educación y Sustentabilidad ISBN 978-607-8413-66-9 Historia Herencia Mexicana Editorial, 1a Edición 2017: (<http://www.upnch.com/upnch/wp-content/uploads/2019/03/LEKIL-KUXLEJAL.-CULURA-EDUCACI%C3%93N-Y-SUSTENTABILIDA.pdf>)
- Revankar, S. G. (noviembre de 2017). Obtenido de <https://www.msdmanuals.com/es-mx/professional/enfermedades-infeciosas/hongos/candidiasis-invasora>
- Revankar, S. G. (noviembre de 2017). *MSD Inventing for life*. Obtenido de <https://www.msdmanuals.com/es-mx/professional/enfermedades-infeciosas/hongos/aspergilosis>
- Ríos, N. C. (17 de septiembre de 2014). *Extracción de pigmentos colorantes tipo flavonoides, flor del pomo*. Obtenido de <file:///C:/Users/pikil/Downloads/55-164-1-PB.pdf>
- Sandoval, A. (agosto de 2009). *Gastroprotective effect of b-Lupeol: .* Obtenido de https://pdfs.semanticscholar.org/51ef/ae4474de26bb8205ed58c1fee50f6e6e4598.pdf?_ga=2.184210213.2079308757.1567273094-89303314.1567273094
- Solís, B. A. (Noviembre de 2015). *“Perfil de resistencia micótica de Candida sp.* Obtenido de <http://repositorio.unan.edu.ni/1628/1/90426.pdf>
- The Plant List . (Septiembre de 2013). *The Plant List*. Obtenido de <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2412518>
- Toledo, X. (2018). *Antocianinas y fotosíntesis durante el desarrollo foliar de pseudobombax ellipticum*. Tuxtla Gutierrez, Chiapas.
- Tropicos. (2017). *Tropicos* . Obtenido de <http://www.tropicos.org/Name/3900626>
- Valle, J. M. (2010). La aspergilosis pulmonar invasiva en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. *SciELO - Scientific Electronic Library Online*.