



UNIVERSIDAD DE PANAMÁ

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGÍA

ESCUELA DE BIOLOGÍA

**BÚSQUEDA DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE SEIS PLANTAS PANAMEÑAS
CONTRA BACTERIAS MULTIRRESISTENTES Y HONGOS FITOPATÓGENOS**

Presentado por:

Asenat Gómez 8-900-573

Leidy Meneses 8-932-1375

Tesis presentada como uno de los
requisitos para optar por la Licenciatura en
Biología con orientación en Microbiología y
Parasitología

PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMÁ

2024



TRIBUNAL EXAMINADOR

Título:

**“BÚSQUEDA DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE SEIS PLANTAS PANAMEÑAS
CONTRA BACTERIAS MULTIRRESISTENTES Y HONGOS FITOPATÓGENOS”**

Por:

Asenat Gómez _____

8-900-573

Leidy Meneses _____

8-932-1375

Trabajo de Graduación presentado a consideración de la Escuela de Biología como requisito parcial para optar por el título de Licenciatura en Biología con Orientación en Microbiología y Parasitología

Asesor Principal Profesora Nivia Ríos _____

Asesora Profesora Lilia Chérigo _____

Asesor Profesor Ariel Magallón _____

DEDICATORIA

A Dios por ser la base de mi vida, A mis padres por su apoyo incondicional; especialmente mi madre por todo su esfuerzo, A mi hermana por escucharme y animarme.

Asenat Gómez.

A mis padres, Erick Meneses y Gloriela Ojo, que, con su apoyo incondicional, esfuerzo y amor, me han guiado en cada paso que he dado.

A mi querido hermano mayor, por consentirme y apoyarme en todo.

A mis abuelos Saturnino Ojo y especialmente a mi abuela, Petra Martínez, porque con pocas palabras siempre me dio fuerzas para seguir adelante.

Leidy Meneses.

A la profesora Dora I. Quirós (Q.E.P.D) quien estuvo instruyéndonos y guiándonos en cada paso a realizar en esta tesis, deseamos que sus enseñanzas queden en nuestros corazones y la de aquellos que tuvieron la oportunidad de recibirla.

Asenat Gómez & Leidy Meneses.

AGRADECIMIENTOS

A Dios primeramente por darnos la sabiduría, los ánimos y las fuerzas para seguir adelante y culminar este proyecto.

A nuestras familias por apoyarnos incondicionalmente,

A nuestros amigos que nos escucharon y nos dieron palabras de aliento para seguir.

A Ramy Jhasser Martínez por darnos la oportunidad de realizar este proyecto y corregirlo para que cada vez sea mejor.

A la profesora Nivia Ríos nuestra asesora principal por ayudarnos, guiarnos y corregirnos para realizar un buen trabajo.

Asenat Gómez & Leidy Meneses

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTOS	IV
ÍNDICE DE CUADROS	VII
ÍNDICE DE GRÁFICAS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
RESUMEN	X
SUMMARY	XI
INTRODUCCIÓN	12
CAPÍTULO I: ANTECEDENTES.....	15
1.1 Producción de antibióticos y comienzo de resistencia bacteriana	15
1.2 Hongos.....	16
1.3 Las plantas y sus metabolitos secundarios.....	17
1.4 Organismos vegetales por estudiar.....	18
1.4.1 <i>Eschweilera jefensis</i> J.E. Bat. & S.A. Mori.....	18
1.4.2 <i>Lippia graveolens</i> Kunth	19
1.4.3 <i>Sphagneticola trilobata</i> (L.) Pruski	20
1.4.4 <i>Gliricidia sepium</i> (Jacq.) Kunth	21
1.4.5 <i>Passiflora vitifolia</i> Kunth.....	22
1.4.6 <i>Selaginella horizontalis</i> (C. Presl) Spring.....	24
1.5 Descripción de los microorganismos bajo estudio	25
1.5.1 Bacterias.....	25
1.5.2 Hongos	28
CAPÍTULO II: JUSTIFICACIÓN	30

OBJETIVOS	33
OBJETIVO GENERAL.....	33
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
3.1 Colecta de material vegetal.....	34
3.2 Preparación de extractos vegetales	35
3.3 Evaluación de la actividad antimicrobiana	36
3.4 Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).....	38
3.5 Evaluación de actividad antifúngica	38
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	39
4.1 Bioensayos de antagonismo contra bacterias.....	39
4.1.1 Extractos Etanólicos	39
4.1.2 Extractos Acuosos	40
4.1.3 Concentración Mínima Inhibitoria.....	42
4.2 Ensayos de antagonismo contra hongos fitopatógenos.....	42
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	43
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	48
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	49
LITERATURA CITADA.....	50

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Lista de patógenos bacterianos prioritarios según la OMS (WHO, 2017).....	12
Cuadro 2. Lista de hongos de interés prioritarios según la OMS (WHO, 2022).....	13
Cuadro 3. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de tallos obtenidos a 400mg/mL.....	40
Cuadro 4. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de hojas obtenidos a 400mg/mL.....	40
Cuadro 5. Actividad antibacteriana de extractos acuosos de tallos obtenidos a 400mg/mL.....	41
Cuadro 6. Actividad antibacteriana de extractos acuosos de hojas obtenidos a 400mg/mL.....	41

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Comparación de <i>L. graveolens</i> (Tallo) y sulfato de estreptomicina contra <i>P. aeruginosa</i> a concentraciones mínimas.	42
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Holotipo <i>E. jefensis</i> . Herbario Universidad de Panamá.....	17
Figura 2. Holotipo <i>L. graveolens</i> , Museo Nacional de Costa Rica.....	18
Figura 3. Holotipo <i>S. trilobata</i> , Herbario de la Universidad del Sur de Florida.....	20
Figura 4. Holotipo <i>G. sepium</i> , herbario de la Universidad de Montana, planta de Costa Rica.....	21
Figura 5. Holotipo <i>P. vitifolia</i> , herbario del Jardín Botánico de Missouri, planta de Panamá	22
Figura 6. Holotipo <i>S. horizontalis</i> , Panamá.....	24
Figura 7. Mapa de los lugares donde se colectaron las plantas.....	34
Figura 8. Preparación de la suspensión bacteriana.....	36
Figura 9. Homogenización de los extractos.....	37

RESUMEN

Se investigó el potencial antimicrobiano de extractos etanólicos y acuosos derivados de las hojas y/o tallos de seis especies de plantas panameñas (*Gliricidia sepium*, *Sphagneticola trilobata*, *Lippia graveolens*, *Selaginella horizontalis*, *Eschweilera jefensis*, *Passiflora vitifolia*) contra bacterias multirresistentes (*Pseudomona aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus oralis*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*) y hongos fitopatógenos (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus brasiliensis*).

Para esto se utilizó el método Kirby-Bauer por triplicado y se escogió el extracto de mayor actividad para la realización de la concentración mínima inhibitoria (CMI).

En particular, los extractos etanólicos obtenidos de las hojas y el tallo de *L. graveolens* y *S. trilobata* mostraron la actividad antimicrobiana más significativa frente a *P. aeruginosa*. Por el contrario, los extractos acuosos de estas plantas mostraron una actividad menor y ninguno de los extractos mostró efectos antimicrobianos perceptibles contra los hongos ensayados.

Al realizar el CMI, se observó que el extracto etanólico *L. graveolens* tallo presentó un comportamiento tipo bacteriostático contra *P. aeruginosa*, lo que nos motiva a profundizar en el estudio de esta planta y se dé la búsqueda de nuevos antimicrobianos, la cual es de vital importancia debido a la creciente resistencia que han desarrollado diversas bacterias y hongos a los tratamientos existentes.

A lo largo de los años, se ha demostrado que las plantas poseen un gran potencial para obtener sustancias capaces de combatir estos microorganismos. Esta capacidad de las plantas se debe a la presencia de compuestos específicos que pueden actuar como antimicrobianos naturales, ofreciendo una alternativa prometedora en la lucha contra las infecciones resistentes.

Palabras claves: actividad antimicrobiana, plantas, Gram positivos, Gram negativos, hongos.

SUMMARY

The antimicrobial potential of ethanolic and aqueous extracts derived from the leaves and/or stems of six Panamanian plant species (*Gliricidia sepium*, *Sphagneticola trilobata*, *Lippia graveolens*, *Selaginella horizontalis*, *Eschweilera jefensis*, *Passiflora vitifolia*) was investigated against multi-resistant bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus oralis*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus cereus*) and phytopathogenic fungi (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus brasiliensis*).

The Kirby-Bauer method was used in triplicate, and the extract with the highest activity was selected for the minimum inhibitory concentration (MIC) test.

Notably, ethanolic extracts obtained from the leaves and stems of *L. graveolens* and *S. trilobata* showed the most significant antimicrobial activity against *P. aeruginosa*. In contrast, the aqueous extracts of these plants exhibited lower activity, and none of the extracts showed perceptible antimicrobial effects against the tested fungi.

The MIC test revealed that the ethanolic extract from the stem of *L. graveolens* exhibited a bacteriostatic effect against *P. aeruginosa*, which motivates us to further study this plant and to pursue the search for new antimicrobials, which is of vital importance due to the growing resistance that various bacteria and fungi have developed against existing treatments.

Over the years, it has been demonstrated that plants possess significant potential for containing substances capable of combating these microorganisms. This capacity of plants is attributed to the presence of bioactive compounds that can function as natural antimicrobials, offering a promising alternative in the fight against resistant infections.

Key words: antimicrobial activity, plants, Gram positive, Gram negative, fungi.

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos se pueden definir como cualquier organismo o virus microscópico, unicelular, multicelular o forma vírica, aunque también se toman en cuenta los organismos macroscópicos unicelulares como suelen ser algunas formas de hongos. Estos seres han estado presentes desde el origen de la vida en la tierra. Su inmensa diversidad y las distintas respuestas a su ambiente les han permitido subsistir aún en los ambientes más extremos (Cavicchioli *et al.*, 2019).

Por consiguiente, la gran capacidad adaptativa a nuevos entornos, aunado a los cortos periodos de generación, altas tasas de mutación, los grandes tamaños de población, junto con la flexibilidad genética han facilitado la evolución microbiana al punto de desarrollar interacciones con otros seres vivos como simbiosis, mutualismo e incluso parasitismo. Ésta última interacción con los seres humanos dotó a estos microorganismos de la facultad de producir enfermedades. En este punto cabe señalar a las bacterias, las cuales han originado a lo largo de la historia brotes de infecciones (Drew *et al.*, 2021). Por ende, surge uno de los desafíos del sistema de salud, encontrar sustancias para tratar estos organismos (Vivas *et al.*, 2019).

El descubrimiento de la penicilina a partir de *Penicillium notatum* en 1928 se convirtió en un hito en la historia de la humanidad y marcó un referente en la medicina moderna. Sobre todo, se volvió un arma indispensable contra las enfermedades causadas por bacterias, iniciando la época dorada de la producción de antibióticos (Drew *et al.*, 2021; Terreni *et al.*, 2021).

Así mismo, el uso incorrecto y el abuso de los antibióticos dieron oportunidad a que las bacterias crearan un mecanismo de defensa frente a estos fármacos, dando pie a lo que se conoce hoy en día como bacterias multirresistentes, estos eventos incrementaron la preocupación de los científicos, ya que la tasa de antimicrobianos descubiertos ha ido disminuyendo desde la década de 1990 (Hutchings *et al.*, 2019; Terreni *et al.*, 2021).

Por otra parte, tenemos a los hongos que se diferencian de las bacterias, ya que son eucariotas y son organismos con un profundo impacto en la salud global, en este ámbito puede tener dos papeles, uno como protagonista clave en el descubrimiento de medicamentos y/o como patógenos directos e indirectos del ser humano (Fisher *et al.*, 2020). También, juegan un papel importante en la agricultura produciendo enfermedades en plantas (fitopatógenos), afectando así la seguridad alimentaria, un hecho preocupante especialmente si la especie de hongo produce micotoxinas capaces de generar en el humano enfermedades, como la fusariosis (Batista *et al.*, 2020).

De la misma forma que las bacterias crean resistencia, los hongos son capaces de adaptarse eficazmente en respuesta a cambios en su entorno. La habilidad de reproducirse sexualmente, asexualmente y generar cambios epigenéticos, le permiten evolucionar rápidamente en entornos clínicos y agrícolas, traduciendo estas propiedades en hongos resistentes a antimicóticos (Fisher *et al.*, 2020).

Esto plantea nuevamente la preocupación clínica y la necesidad de buscar nuevos compuestos capaces de enfrentar bacterias y hongos multirresistentes, hasta el punto en el que la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha creado listas otorgándoles niveles de peligrosidad (**Ver Cuadro 1 y Cuadro 2**).

Cuadro 1. Lista de patógenos bacterianos prioritarios según la OMS (WHO, 2017)

Prioridad Media	Prioridad Elevada	Prioridad Crítica
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Shigella spp</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Enterobacteriales</i>
	<i>Campylobacter spp</i>	
	<i>Salmonella spp</i>	
	<i>Neisseria gonorrhoea</i>	

Cuadro 2. Lista de hongos de interés prioritarios según la OMS (WHO, 2022)

Prioridad Media	Prioridad Elevada	Prioridad Crítica
<i>Scedosporium spp.</i>	<i>Nakaseomyces glabrata</i> (<i>Candida glabrata</i>)	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Lomentospora prolificans</i>	<i>Histoplasma spp.</i>	<i>Candida auris</i>
<i>Coccidioides spp.</i>	Agentes causantes del eumicetoma	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Pichia kudriavzevii</i> (<i>Candida krusei</i>)	Mucorales	<i>Candida albicans</i>
<i>Cryptococcus gattii</i>	<i>Fusarium spp.</i>	
<i>Talaromyces marneffe</i>	<i>Candida tropicalis</i>	
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	
<i>Paracoccidioides spp.</i>		

Considerando esta problemática de buscar sustancias con propiedades antimicrobianas, nos remontamos a uno de los primeros remedios de la humanidad, las plantas. Debido a la gran diversidad del reino Plantae, en la actualidad aún se desconocen los metabolitos de muchas plantas y el estudio de nuevos extractos vegetales genera gran interés (Mesa *et al.*, 2019). Estos componentes se pueden encontrar en toda la planta y, dependiendo de la parte de la planta que sea extraído, estas moléculas pueden actuar sinérgicamente para mostrar alguna actividad biológica. Por lo tanto, un sólo compuesto puede mostrar resultados alentadores, aumentando su importancia (Süntar, 2020).

En relación con lo anteriormente expuesto, nuestra investigación tiene como objetivo determinar la actividad biológica de una serie de compuestos presentes en la flora panameña con el fin de encontrar moléculas con actividad específica contra bacterias y hongos de importancia medicinal y/o agrícola.

CAPÍTULO I: ANTECEDENTES

1.1 Producción de antibióticos y comienzo de resistencia bacteriana

Antes de los antibióticos, la comprensión de las bacterias y las enfermedades que podrían ocasionar era muy escasa, de manera que los tratamientos y los intentos de prevenir estas enfermedades contagiosas, fueron ineficaces, generando cuadros epidémicos resultando en la muerte de miles de millones de personas (Uddin *et al.*, 2021).

Los antibióticos son aquellas sustancias antimicrobianas con la capacidad de inhibir el crecimiento o matar microorganismos, se usan ampliamente para tratar infecciones bacterianas en humanos y animales (Serwecińska, 2020). Uno de los primeros antibacterianos producidos fue la arsfenamina en 1910, un compuesto sintético proveniente del arsénico que era utilizado contra la sífilis, utilizado en grandes cantidades resultó ser tóxico para el ser humano, siendo reemplazado en 1940 por la penicilina (Zaffiri *et al.*, 2012).

La cual fue descubierta de forma accidental en 1928 por Alexander Fleming, procedente del hongo *Penicillium notatum*, este compuesto fue posteriormente purificado y desarrollado como antibiótico, el primero en ser clasificado como antibiótico β -lactámico de origen natural, (Uddin *et al.*, 2021).

En 1940 Selman Waksman descubrió la bacteria *Streptomyces spp.*, que posteriormente se utilizó para crear medicamentos tales como la estreptomicina, la neomicina, actinomicina entre otros, de esta manera inició la época dorada del descubrimiento de antibióticos. Desde ese momento comenzaron a utilizarse en el tratamiento de infecciones bacterianas hasta la actualidad, esto implica que la producción mundial anual de antibióticos se estima entre uno y veinte mil toneladas, y desde 1940 la producción ha superado los mil millones de toneladas (Hutchings *et al.*, 2019; Uddin *et al.*, 2021).

El uso de los antibióticos ha mejorado drásticamente la expectativa de vida, sin embargo, desde los primeros años de uso, las bacterias han sido capaces de crear resistencia a los mismos, la manera más sencilla era cambiar el tratamiento con otro medicamento, no obstante, la producción de antibióticos disminuyó desde 1980. Por otra parte, la exposición prolongada de las células bacterianas a las sustancias farmacéuticas aceleró la transferencia horizontal de genes de resistencia a los medicamentos; generando un gran problema: la multirresistencia bacteriana (Serwecińska 2020, Uddin *et al.*, 2021).

1.2 Hongos

El reino Fungi cuenta con millones de especies que van desde uno de los organismos más grandes de la Tierra hasta especies microscópicas, de las cuales algunas pueden llegar a ser patógenas de plantas y animales (Fisher *et al.*, 2020). En los últimos años, las enfermedades fúngicas de los cultivos son cada vez más graves, afectando gravemente el rendimiento y la calidad del grano. Estas enfermedades se han convertido en una de las mayores limitaciones para el desarrollo sostenible de la agricultura, ya que surge la necesidad de nuevos fungicidas de origen natural, debido a que los de origen químico tienen la particularidad de ser contaminantes a largo plazo (Peng *et al.*, 2021).

Otro hecho preocupante es la producción de micotoxinas, las cuales son capaces de originar en el ser humano infecciones fúngicas, especialmente a los agricultores y a personas inmunocomprometidas (Campoy & Adrio, 2017). De modo que el 90% de decesos por infecciones fúngicas son causadas por especies pertenecientes a géneros como *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Pneumocystis*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Zygomycetes* y *Fusarium* que se han convertido en agentes etiológicos de micosis invasoras o superficiales, sin embargo a comparación con el desarrollo de nuevos medicamentos antibacterianos, los antimicóticos son más desafiantes porque los hongos son eucariotas y presentan similitud con las células humanas, lo que representa un riesgo de toxicidad en humanos si se usa por periodos prolongados (Campoy & Adrio, 2017).

1.3 Las plantas y sus metabolitos secundarios

Desde la antigüedad las plantas han jugado un papel importante en la medicina, especialmente porque contienen diversas sustancias como los metabolitos (Camacho-Escobar *et al.*, 2020). Los metabolitos primarios les permiten a las plantas desarrollarse, crear simbiosis con otros organismos, atraer insectos polinizadores, para la dispersión de las semillas y frutos, sin embargo, si las plantas son expuestas a condiciones adversas tales como la herbivoría, el ataque por microorganismos, la competencia por espacio, los nutrientes del suelo y la exposición a la luz solar, se induce al desarrollo de mecanismos de defensa que van desde adaptaciones anatómicas hasta la síntesis activa específica de metabolitos secundarios (Jiménez *et al.*, 2003; Camacho-Escobar *et al.*, 2020).

Estos metabolitos secundarios son en su mayoría compuestos activos como taninos, alcaloides, terpenos, esteroides, compuestos fenólicos, flavonoides, entre otros. La composición y concentración de estos compuestos pueden variar dependiendo de las condiciones ambientales en las que se encuentren las plantas (Hosseinzadeh *et al.*, 2015). Además, pueden presentar actividades farmacológicas naturales contra patologías causadas por bacterias, hongos, protozoos, virus, además de actividad citoprotectora, anticancerígena, entre otras (Bezerra *et al.*, 2020).

Para obtener estos compuestos es necesario un proceso de extracción, en el cual la elección de los solventes es un factor crucial, ya que debe haber compatibilidad de polaridad entre el solvente y los posibles compuestos presentes en la planta (Hikmawanti *et al.*, 2021). Algunos de los compuestos con actividad científicamente comprobada son el carvacrol, procedente del *Origanum vulgare*, con actividad antimicrobiana, y el dilapiol del *Apium nodiflorum* que tienen propiedades antifúngicas (Bezerra *et al.*, 2020).

1.4 Organismos vegetales por estudiar

1.4.1 *Eschweilera jefensis* J.E. Bat. & S.A. Mori.

Es una especie de planta relativamente nueva, de la clase Magnoliopsida y de la familia Lecythidaceae (Ver Figura 1). Son árboles que miden de 5 a 20 m de altura, sus hojas se ponen negras cuando se caen, sus flores miden de 2,5-4 cm, son de color rosa moteada de blanco, aunque su intensidad varía. Su fruta mide de 2,5-7 cm y se vuelve marrón cuando se seca (Batista *et al.*, 2017).

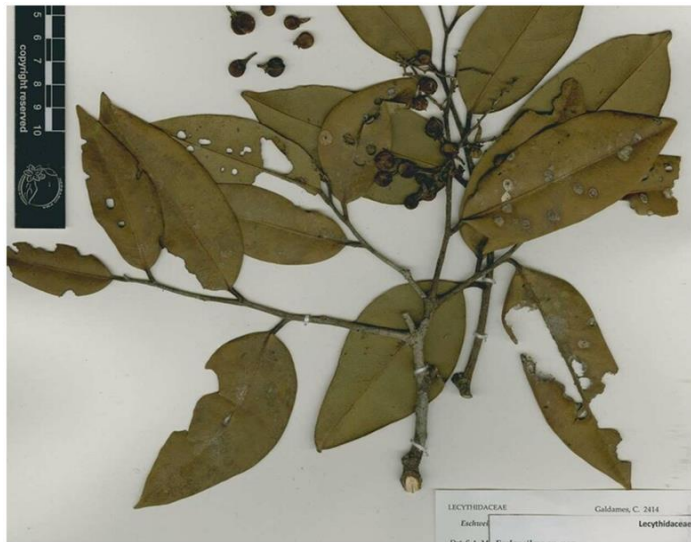


Figura 1. Holotipo de *E. jefensis* (Fotografía tomada de Batista *et al.*, 2017).

Es endémica de la parte central y oriental de la Provincia de Panamá, donde los árboles pequeños se encuentran comúnmente en el bosque nuboso entre 800 y 1000 metros. Además, se han recolectado especímenes entre 350 y 400 m de los bosques húmedos de tierras bajas a lo largo de la carretera El Llano-Carti (Batista *et al.*, 2017). No obstante, es una especie descubierta recientemente y su información sigue siendo escasa en cuanto a su potencial.

Importancia

La literatura indica que en el género *Eschweleira* se han encontrado esteroides aislados los cuales tienen función como agentes antitumorales, antivirales, antibacterianos y antioxidantes (Vollaro *et al.*, 2020). En 2021, se hizo una revisión bibliográfica de la familia Lecythidaceae, demostrando que muchas especies de esta

familia poseen múltiples propiedades tanto fúngicas como antibacterianas como el género *Cariniana* que contiene triptenos con capacidades antiinflamatorias, destaca también la especie *C. estrellensis* que tiene reportes de actividad antifúngica contra *Alternaria alternata* y *C. legalis* cuyo extracto acuoso presenta potencial contra hongos y bacterias (Vieira *et al.*, 2020; de França *et al.*, 2021).

1.4.2 *Lippia graveolens* Kunth

Es una hierba de la familia Verbenaceae, descrita por Kunth en 1818 (Ver Figura 2). Se distribuye a lo largo de América Central, México y algunas partes de Estados Unidos, comúnmente conocida como orégano mexicano (Rivera *et al.*, 2010).



Figura 2. Holotipo *L. graveolens* (Fotografía tomada de Ocampo R, 1982).

Es una planta aromática perenne que puede alcanzar alturas de hasta 3 metros, de tallos cuadrangulares, delgados; de hojas opuestas ovaladas, sus frutos son pequeños formando una cápsula indehiscente y semillas sin endospermo. Sus flores tienen corolas blancas zigomorfas y presentan 4 estambres. Crece en laderas y planicies con suelos de textura ligera (Bueno-Durán, 2014).

Importancia

Su uso principal es como condimento en la cocina, aunque también medicinales. Es una gran fuente de vitamina C y otros componentes antioxidantes como los

carotenoides. Es utilizada como antipirético, analgésico, abortivo, antiespasmódico, antiinflamatorio, para el tratamiento de trastornos menstruales, sífilis, gonorrea y diabetes (Rivera *et al.*, 2010; Rivero-Cruz *et al.*, 2011; González-Trujano *et al.*, 2017). Sus aceites esenciales poseen componentes antimicrobianos como los fenoles, carvacrol y timol que poseen los niveles más altos de actividad contra los microorganismos Gram negativos e incluye algunas levaduras como *Candida albicans* (Rivera *et al.*, 2010; Rivero-Cruz *et al.*, 2011; Herrera- Rodríguez *et al.*, 2019; Bautista-Hernández *et al.*, 2021).

1.4.3 *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski

Es una especie de plantas perteneciente al orden Asterales, familia Asteraceae, descrita por John Francis Pruski (Ver Figura 3). Anteriormente conocida como *Wedelia trilobata*, es una herbácea perenne con ramas rastreras que no superan los 30 cm de altura y raíces anudadas, sus tallos pueden crecer hasta 2 m. Sus hojas lobuladas son verde oscuro y sus flores de color amarillo son parecidas a las margaritas (Meena *et al.*, 2011).



Figura 3. Holotipo de *S. trilobata* (Fotografía tomada de Hansen, B. F. 2000).

Prospera en suelos expuestos al sol o a la semisombra si tiene materia orgánica abundante, es de clima tropical, por lo que no tolera el frío, pero resiste periodos de

deseccación o inundación. Es conocida por su rápida dispersión, gran adaptabilidad a un amplio espectro de condiciones ambientales y potencial alelopático (Verma, R. *et al.*, 2014; Azizan *et al.*, 2022).

Dependiendo del lugar, se le conoce como vedelia, margarita rastrera, margarita de verdolaga o margarita de Singapur. Se distribuyen desde el sur de Estados Unidos a América del Sur, en las Antillas, Hawái, África Occidental, y en algunas partes de Europa especialmente en elevaciones bajas. Se considera una especie invasora e incluso está incluida en la lista de las 100 peores especies invasoras de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (Meena *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2016).

Importancia

Por su crecimiento estolonífero algunas personas la utilizan para la retención del suelo y el control de la erosión (Meena *et al.*, 2011), además se ha informado que exhibe actividades biológicas antibacterianas, antivirales, fitotóxicas y citotóxicas, por lo que se utiliza como medicina herbal tradicional para tratar diversas dolencias. Las hojas trituradas se usan como cataplasma, en infusión para aliviar los síntomas de los resfriados y la gripe, también se reporta el uso para tratar hepatitis, infecciones, problemas reproductivos, amenorrea y dismenorrea (Meena *et al.*, 2011; Verma, R. *et al.*, 2014; Husain & Kumar, 2017).

Además, diversos estudios han mencionado que el extracto etanólico de *S. trilobata* posee actividad analgésica, y el extracto metanólico presenta actividad antibacteriana contra *Bacillus subtilis*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella* grupo C, entre otras (Meena *et al.*, 2011). También se ha demostrado que posee propiedades antioxidantes capaces de actuar como anticancerígeno (Mardina *et al.*, 2020).

1.4.4 *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth

Es una especie de la clase Magnoliopsida, familia Fabaceae (Ver Figura 4). Son árboles pequeños de 10 a 12 metros de alto, su corteza es lisa, va de gris-blanquecino a marrón rojizo. Poseen hojas compuestas de 30 cm de largo; flores de color rosa, lila

brillante, crecen en ramas donde no haya hojas. Su fruto mide de 10 a 15 cm y su color es de amarillo a marrón en la madurez. Produce de 4 a 10 semillas. Crecen en suelos ácidos de pH 5-6. Se distribuye por toda América Central y México, y también puede crecer en la arena, arcilla y piedra caliza (Elevitch, 2006).



Figura 4.. Holotipo, *G. sepium*, (Fotografía tomada de Lavin, 1993).

Importancia

Es muy utilizada en la medicina tradicional ya que se le ha encontrado efectividad en diferentes tratamientos como la disentería, como antifúngico, antiviral e incluso como repelente de mosquitos. Cada parte del árbol ha mostrado sus propiedades en la medicina herbaria además se han enfocado en este tipo de plantas dentro de las industrias de alimentos por sus aditivos naturales; viendo la posibilidad de cambiar el uso de antioxidantes sintéticos (Deba, 2008).

1.4.5 *Passiflora vitifolia* Kunth

Descrita por Kunth en 1817, es nativa de las regiones tropicales entre América Central y el Noroeste de Sudamérica. Pertenece a la clase Magnoliopsida, al orden Malpighiales y a la familia Passifloraceae (Ver Figura 5).



Figura 5. Holotipo de *P. vitifolia*. (Fotografía tomada de MacDougal, J. M. 1980).

Es una planta tipo enredadera que alcanza 8 m de longitud. Posee hojas alternas que se dividen en 3 lóbulos, uno de los cuales sobresale de los otros dos alcanzando largos de 7 cm a 14 cm. Sus flores son hermafroditas, solitarias de color rojo escarlata con un diámetro promedio 12 cm, poseen igual cantidad de pétalos, sépalos y estambres siendo estos 5, en cambio tienen una corona con muchos filamentos y 3 estigmas. Sus frutos de aspecto ovoide van de 5 a 8 cm de largo, verdes al estar inmaduros y amarillos con muchas semillas al madurar, comestibles de sabor dulce con vitamina A y C (MacVean & MacDougal, 2012; Bonilla *et al.*, 2015; Avila *et al.*, 2021).

Importancia

Los flavonoides presentes en *P. vitifolia* están relacionados con sus capacidades antihipertensivas y antioxidantes. A nivel químico, los flavonoides tienen una estructura polifenólica que les permite neutralizar radicales libres y reducir el daño oxidativo. También inducen la producción de óxido nítrico (NO), que causa vasodilatación y mejora el flujo sanguíneo, reduciendo la presión arterial. Estos compuestos contribuyen a sus efectos calmantes naturales, ayudando a tratar ataques nerviosos, palpitaciones, arritmias, insomnio, depresión y estrés. Tradicionalmente, se utiliza en forma de infusión de hojas secas y pétalos para aprovechar estos beneficios (Avila *et al.*, 2021).

Por otra parte, el extracto etanólico de las semillas de *P. vitifolia*, presenta polifenoles, flavonoides, taninos, terpenos, asteroides y alcaloides, que presentan potencial antihipertensivo, antihiper glucémico y antioxidante, por lo que el estudio de esta planta se dirige principalmente hacia el potencial de su fruto (Avila *et al.*, 2021).

El género *Passiflora* contiene propiedades antimicrobianas, los distintos extractos acetónicos, metanólicos y de petróleo éter, de hojas de este género mostraron resultados significativos frente a bacterias como *L. monocytogenes*, *S. gallolyticus*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* y *K. oxytoca*, que se clasifican como bacterias Gram negativas y exhibieron cierto grado de sensibilidad hacia todos los extractos (Ramaiya *et al.*, 2014).

1.4.6 *Selaginella horizontalis* (C. Presl) Spring

Es una especie de la familia Selaginellaceae, descrita por Antoine Frédéric Spring en 1843, es nativa de los trópicos presentándose principalmente en Costa Rica, Panamá, Colombia, Venezuela, Perú y Ecuador (Ver Figura 6). Se caracteriza por tener hojas medias peltadas, con una sola aurícula basal, cilios de entre 0.5 a 1.3 mm, su hábito de crecimiento es rastrero, con un tallo de 1 -2 mm de ancho (Somers & Morán, 2009).



Figura 6. Holotipo de *S. horizontalis* (Fotografía tomada de Somers, P. 1978).

Importancia

Hasta el momento no se han realizado investigaciones que utilicen *S. horizontalis*, pero otros miembros de este género si tienen estudios, por ejemplo *S. moellendorff* contiene flavonoides, biflavonoides, lignanos, alcaloides, los cuales demostraron tener actividad contra *S. aureus* y *S. pneumoniae* (Zou *et al.*, 2016). Otros estudios demuestran que los extractos de *S. bryopteris* tienen actividad antimicrobiana, antioxidante, anticancerígena, antiplasmodial y leishmanicida. Investigaciones recientes consideran a las plantas del género *Selaginella* un organismo de interés para el estudio de un tratamiento contra el Alzheimer (Verma, M. *et al.*, 2015; Deng *et al.*, 2017; Biswas *et al.*, 2018; Dakshayani *et al.*, 2019).

1.5 Descripción de los microorganismos bajo estudio

1.5.1 Bacterias

1.5.1.1 Gram positivas (Gram +)

Enterococcus faecalis

Es una bacteria con morfología tipo coco, Gram positiva y anaerobia facultativa. Antes era conocida como *Streptococcus faecalis*, sin embargo, en 1984 se realizaron pruebas genéticas que demostraron su lejanía con los *Streptococcus* del grupo D al que pertenecían, esto permitió su transferencia al género *Enterococcus* (Schleifer & Kilpper-Bälz, 1984; Alghamdi & Shakir, 2020). Se le considera una bacteria comensal y nosocomial, coloniza la cavidad oral humana, el tracto gastrointestinal y la vagina. Ha demostrado tener una buena adaptación a dichos entornos con niveles ricos en nutrientes y bajos de oxígeno (Alghamdi & Shakir, 2020). Es un patobionte por lo que, si su ecosistema se ve alterado puede atravesar la barrera intestinal, provocando infecciones principalmente en pacientes ancianos o inmunocomprometidos, ocasionando endocarditis, infecciones de vejiga y próstata. Además, es un patógeno multirresistente a antibióticos como cefalosporina y clindamicina, entre otros (Sirichoat *et al.*, 2020; Pöntinen *et al.*, 2021)

Streptococcus oralis

Bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa, es normal del área bucal, del tracto respiratorio superior, del área gastrointestinal y genitourinario (Cardoso *et al.*, 2021). Forma parte del grupo Mitis, al que pertenecen distintas especies de *Streptococcus* conocidas por ser las causantes de la endocarditis infecciosa. *S. oralis* se caracteriza por ser de baja patogenicidad y virulencia, pero en raras ocasiones puede causar meningitis en pacientes que tienen una higiene dental pobre y este tipo de infecciones se incrementa si son inmunocomprometidos, según estudios realizados demuestra resistencia a antibióticos como la penicilina y la cefalosporina (Cardoso *et al.*, 2021).

Bacillus cereus

Es una bacteria que causa envenenamiento por consumo. Se trata de un bacilo Gram positivo, esporulado, anaerobio facultativo y móvil. Es el miembro más recientemente reconocido del grupo, *B. cytotoxicus*, que es termotolerante. Hay dos tipos de enfermedades transmitidas por los alimentos por *B. cereus*. El primer tipo, que es causado por una toxina emética, produce vómitos, mientras que el segundo tipo, que es causado por enterotoxinas, produce diarrea (Jovanovic *et al.*, 2021). La enterotoxina de *B. cereus* descubierta más recientemente, la citotoxina K (CytK), es similar a la toxina β de *Clostridium perfringens* (y otras toxinas relacionadas) y fue el agente causal de un brote grave de enfermedad transmitida por los alimentos por *B. cereus* en Francia en 1998. Los dos tipos de enfermedades transmitidas por los alimentos por *B. cereus* son causadas por tipos muy diferentes de toxinas, incluida la toxina emética y las enterotoxinas, además es resistente a eritromicina, tetraciclina, penicilina ampicilina cefalosporinas y trimetoprima (Jovanovic *et al.*, 2021).

Staphylococcus aureus

Es un importante patógeno bacteriano humano que causa una amplia variedad de manifestaciones clínicas. Es una bacteria Gram positiva que tiene forma de coco y tiende a organizarse en racimos. En los medios de cultivo puede tolerar hasta un 10 % de sal y las colonias suelen ser doradas o amarillas, pueden ser aeróbicas o anaeróbicas (facultativas) y crecen en temperaturas entre 18 C y 40 C, es productora

de coagulasa, catalasa, inmóvil y no esporulada que se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo (Taylor & Unakal, 2021). Estos organismos se encuentran en la piel y las membranas mucosas, y los humanos son el principal reservorio. Causan una de las infecciones bacterianas más comunes y son los agentes causantes de múltiples infecciones humanas, incluyendo bacteriemia, endocarditis infecciosa, infecciones de piel y tejidos blandos, Dependiendo de las cepas involucradas y del sitio de infección, estas bacterias pueden causar infecciones invasivas o enfermedades mediadas por toxinas (Tong *et al.*, 2015; Taylor & Unakal, 2021). También puede contaminar la vestimenta y la ropa de cama. La colonización más frecuente por *S. aureus* es la mucosa nasal, el principal reservorio lo constituye el hombre enfermo o el portador. Es más frecuente la colonización en el hospital, especialmente en pacientes con hemodiálisis, diabéticos tipo 1, pacientes con lesiones cutáneas, sujetos infectados con VIH y adictos a las drogas (Cervantes *et al.*, 2014). Algunas cepas de *S. aureus*, especialmente la MRSA son resistentes a antibióticos como meticilina, nafcilina, oxalina y cefalosporina (Taylor & Unakal, 2021).

1.5.1.2 Gram negativas (Gram –)

Klebsiella pneumoniae

Es un bacilo encapsulado, Gram negativo, que habita en el medio ambiente. Cuando la bacteria ingresa en el cuerpo se disparan los grados de virulencia y es la causa común de la neumonía adquirida en los hospitales con una representación del 3% al 8% de las infecciones bacterianas nosocomiales (Ashurst & Dawson, 2018). Así mismo, la endocarditis, septicemia, endoftalmitis endógena y abscesos hepáticos piógenos son otras de las infecciones causadas por esta bacteria. Posee una alta resistencia a antibióticos como amikacina, aztreonam, ciprofloxacina, colistina, ceftazidima, cefotaxima, cefepima e imipenem (Effah *et al.*, 2020). Las infecciones causadas por esta bacteria es un desafío grande para los médicos a nivel mundial ya que todavía no se ha encontrado un tratamiento efectivo para las infecciones por KPC (Nordmann *et al.*, 2009).

Pseudomonas aeruginosa

Bacilos Gram negativos que habitan en el suelo, agua dulce y en los ambientes marinos. Es un patógeno oportunista y causante de enfermedades humanas. Tiene una mayor resistencia a antibióticos y es la mayor causante de enfermedades e infecciones tales como sepsis y neumonía (Wu *et al.*, 2015). Es resistente a muchos antibacterianos, incluyendo muchos β -lactámicos, los macrólidos, las tetraciclinas, el cotrimoxazol (trimetoprima/sulfametoxazol) y la mayoría de las fluoroquinolonas (Driscoll *et al.*, 2007).

1.5.2 Hongos

Fusarium oxysporum

Es un hongo ascomiceto patógeno de interés agrícola que afecta a muchas plantas en el mundo, causa el marchitamiento que es un síndrome vascular letal en las plantas (Mal de Panamá). Se puede dispersar de un área a otra a través de varias formas que incluyen; movimiento de materiales de siembra y semillas infectadas, herramientas agrícolas y maquinaria, especialmente cuando se usan en suelos infectados y luego se usan en campos sanos (Joshi, 2018). Está asociado con muchas infecciones nuevas conocidas colectivamente como fusariosis, hay publicaciones que describen las características, el manejo clínico, la incidencia y la ocurrencia de estas infecciones fúngicas. *F. solani* y *F. oxysporum* se distribuye en todo el mundo y debido a la resistencia inherente, existen pocas opciones de tratamiento, especialmente para la pudrición invasiva. Por lo tanto, el uso de combinaciones de fármacos puede ser una alternativa importante a la resistencia antifúngica sistémica (Batista, B. *et al.*, 2020). Por lo tanto, para controlar la enfermedad causada por este hongo se utiliza un control químico, que implica la aplicación de fungicidas de amplio espectro como el bromuro de metilo, benomilo o carbendazim antes de la siembra. Estos químicos pueden prevenir la infección, pero una vez infectados, no pueden curar a la planta. La advertencia con estos compuestos es que también afectan los microbiomas beneficiosos del suelo y algunos se acumulan en la cadena alimentaria. ya se habla que muchos de estos productos han sido o serán prohibidos en el futuro (De Lamo, 2020).

Aspergillus brasiliensis

Es un hongo oportunista, habitante del suelo que tiene una forma extraña de causar la enfermedad en comparación con otros hongos del género *Aspergillus*, ataca el sistema respiratorio y es causante de afecciones pulmonares de gravedad. Se utiliza el voriconazol y la anfotericina B 1 como tratamiento contra este hongo (Montero-Julian, 2020). Tienen un impacto significativo en la sociedad moderna, especialmente en agricultura, además de su importancia económica, también son importantes como organismos productores de ocratoxina que contaminan varios productos agrícolas, incluidos los productos derivados de la uva, el café y el cacao especies causando el deterioro de los alimentos (Varga *et al.*, 2007).

CAPÍTULO II: JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades infecciosas representan una de las principales causas de muerte y discapacidad en todo el mundo. Se estima que las infecciones bacterianas resistentes a los medicamentos son directamente responsables de aproximadamente 4.95 millones de decesos cada año, especialmente en áreas de escasos recursos, lo que crea una carga aún mayor para el sistema de salud (WHO, 2022).

En los últimos años, se ha observado una disminución en el control sobre los microorganismos patógenos, lo que ha resultado en un incremento en la resistencia de estos patógenos a los medicamentos ya establecidos y un aumento en los niveles de mortalidad. Este fenómeno plantea un desafío cada vez más importante para la salud pública a nivel mundial. En 2021, el Sistema Mundial de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (GLASS), respaldado por la OMS, realizó un estudio en 22 países que demostró tasas de resistencia a antibióticos de uso común de entre 0% y 82% en muestras de 500,000 personas (WHO, 2022).

La OMS ha establecido una lista de patógenos de importancia clínica para los cuales es necesario encontrar antibióticos capaces de controlar las infecciones a mediano y largo plazo (Tacconelli *et al.*, 2018). Estos patógenos se clasifican según varios criterios: el grado de letalidad de las infecciones que provocan, la necesidad de hospitalización prolongada, la frecuencia de resistencia a los antibióticos existentes, la facilidad de transmisión entre animales, de animales a personas y entre personas, la posibilidad de prevención de las infecciones, las opciones terapéuticas disponibles y el estado de investigación y desarrollo de nuevos antibióticos para tratar las infecciones que causan.

Lamentablemente, la lista de patógenos resistentes sigue creciendo, lo que llevó a la OMS a denominar esta situación en 2020 como “La crisis actual del mundo de la salud”. Por otro lado, la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) ha descrito este fenómeno como una “expansión inquietante” que podría costar 3,500 millones de dólares anuales a las economías de sus países miembros debido al uso

inadecuado y excesivo de los antibióticos, combinado con la falta de servicios sanitarios adecuados y deficientes hábitos higiénicos (OPS, 2021).

El motivo de este estudio no solo se limita a las bacterias, sino también incluye a los hongos, que representan una amenaza significativa para la salud humana y agrícola. Ha habido un aumento en las enfermedades fúngicas invasivas (IFI), particularmente en poblaciones inmunodeprimidas. El diagnóstico y tratamiento de estas enfermedades se ven obstaculizados por el acceso limitado a diagnósticos y tratamientos de alta calidad, así como por la aparición de resistencia a los antifúngicos en muchos entornos (WHO, 2017).

A pesar del aumento de la atención, las infecciones fúngicas han recibido poca atención y recursos, lo que resulta en una falta de datos de alta calidad sobre la prevalencia de enfermedades fúngicas y los patrones de resistencia a los antifúngicos. Los hongos patógenos y las infecciones bacterianas representan un problema creciente de salud pública mundial, especialmente para aquellos con condiciones médicas o sistemas inmunitarios debilitados, como enfermedad pulmonar crónica, tuberculosis (TB) previa, VIH, cáncer y diabetes. Los pacientes críticos en unidades de cuidados intensivos (UCI), los sometidos a procedimientos médicos invasivos y tratados con antibióticos de amplio espectro, y los que toman medicamentos inmunosupresores también están en riesgo (WHO, 2022).

Las infecciones fúngicas también tienen un impacto económico significativo. Se estima que las pérdidas agrícolas debidas a infecciones por hongos, como las causadas por *F. oxysporum* y *A. brasiliensis*, ascienden a miles de millones de dólares anuales a nivel mundial. Estas infecciones no solo afectan la salud humana, sino también la seguridad alimentaria y la economía agrícola.

Actualmente se cree que más del 80% de la población humana utiliza medicina tradicional a base de plantas medicinales (Kumar & Simon, 2016), lo que indica que siguen siendo la base para la producción de fármacos (Abdulaziz *et al.*, 2019). Las plantas son capaces de producir metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas (Korkina *et al.*, 2018), lo cual puede ser crucial en el futuro debido a

que producen menos efectos secundarios y su costo es más bajo en comparación con los fármacos químicos sintéticos (Raj *et al.*, 2011).

La búsqueda de nuevos compuestos farmacéuticos nos conduce a uno de los grupos más diversos: las plantas de clima tropical. Este entorno competitivo genera resiliencia en las plantas, así como en los animales, bacterias y hongos que se alimentan de ellas. La capacidad de subsistir a los cambios en el ambiente involucra una mejora continua de sus defensas, lo que se manifiesta en la producción de metabolitos secundarios. A nivel macro, se observan plantas capaces de soportar la herbivoría o las infecciones por hongos y bacterias, lo que se traduce a nivel micro en cientos de sustancias capaces de enfrentar estas adversidades.

El potencial de las sustancias producidas por estas plantas para impedir o disminuir infecciones bacterianas o fúngicas subraya la importancia de este estudio. Investigaciones enfocadas en estos metabolitos pueden ofrecer soluciones innovadoras y sostenibles para combatir la creciente amenaza de la resistencia a los antimicrobianos, beneficiando tanto a la salud humana como a la agricultura.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la actividad biológica de extractos orgánicos de plantas panameñas contra bacterias y hongos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar el potencial antibacteriano de extractos etanólicos y acuosos obtenidos de plantas panameñas contra bacterias Gram+ y Gram-.
- Evaluar la actividad antifúngica de extractos etanólicos y acuosos de plantas panameñas contra hongos filamentosos de importancia agrícola.

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Colecta de material vegetal

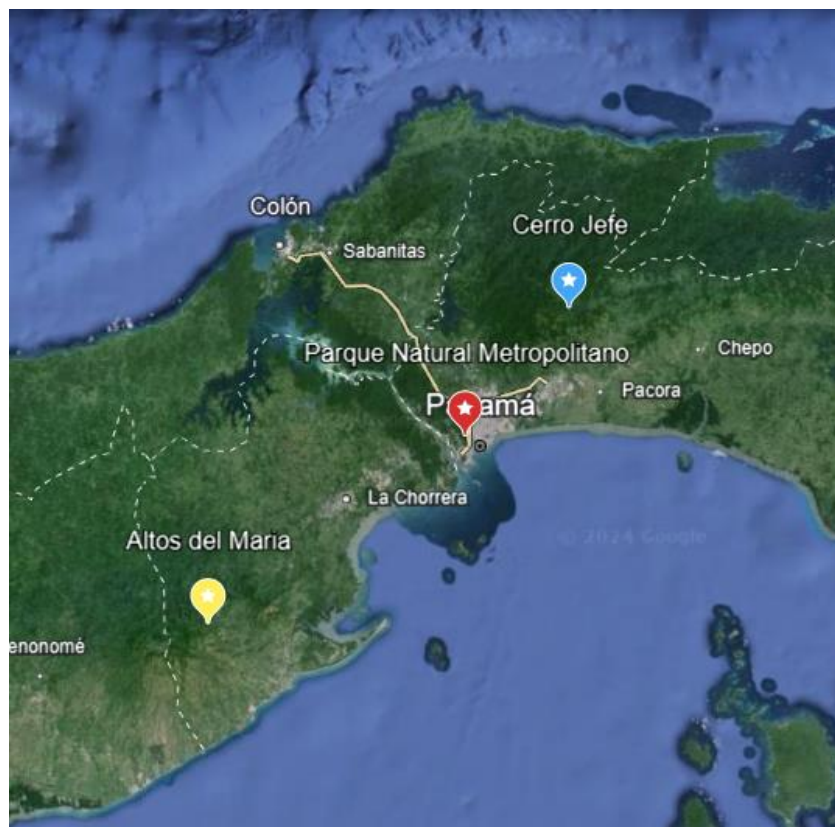


Figura 7. Mapa de los lugares donde se colectaron las plantas (Fotografía obtenida de Google Earth, 2024).

Las muestras de plantas se colectaron en Panamá durante los meses de junio y julio de 2022. *E. jefensis*, *G. sepium* y *S. trilobata*, algunas de las plantas empleadas en este estudio, se recolectaron en Cerro Jefe, la montaña más alta de la provincia de Panamá, ubicada al norte del país, con una altitud de 1007 msnm. Esta área forma parte de la cuenca hidrográfica del Canal de Panamá y su clima se mantiene totalmente húmedo durante todo el año (Batista *et al.*, 2017). *S. horizontalis* y *P. vitifolia* fueron colectadas en el Parque Nacional Metropolitano, una zona de transición entre el bosque húmedo tropical y el bosque seco premontano, considerada además un bosque semicaducifolio de tierras bajas (PNM, 2016). *L.*

graveolens se recolectó en Altos del María, tierras altas templadas ubicadas en la República de Panamá, específicamente en la Provincia de Panamá Oeste, Distrito de Chame, a 8 km del Valle de Antón, con una altitud de entre 800 y 1000 msnm (Ver Figura 7). Se realizaron los trámites pertinentes con MiAmbiente para la recolección de las plantas, bajo la supervisión de un botánico. De cada especie se recolectaron hojas, flores, tallos y raíces, los cuales se depositaron en bolsas plásticas para ser transportadas al Laboratorio de Química No. 107 de la Vicerrectoría de Investigación y Postgrado de la Universidad de Panamá, donde se prepararon los extractos. Para la recolección del material vegetal, se tuvo el cuidado de elegir órganos de las plantas libres de enfermedades y picaduras de insectos. El material tipo de las especies vegetales se identificó y depositó en el Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Neotropical de la Vicerrectoría de Investigación y Postgrado de la Universidad de Panamá. Se utilizaron los trabajos de Batista *et al.* (2017) para *E. jefensis*, Somer (1978) para *S. trilobata*, Elevitch (2006) para *G. sepium*, Bueno-Durán (2014) para *L. graveolens*, para *P. vitifolia* Avila *et al.* (2021) y para *S. horizontalis* el trabajo de Wagner *et al.* (1999). Las identificaciones fueron corroboradas por un botánico.

3.2 Preparación de extractos vegetales

Las partes de interés de cada planta se lavaron con agua destilada para eliminar arena, polvo y cualquier contaminante físico o químico presente en sus superficies. Posteriormente, se secaron a la sombra durante 5-6 días en un lugar limpio. Luego, se separaron los tallos de las hojas y se trituraron con ayuda de una licuadora. Como solvente principal se utilizó etanol (99%), debido a su capacidad para mezclarse fácilmente con compuestos orgánicos y su seguridad para el consumo humano cuando se utiliza como disolvente de sustancias naturales con fines alimenticios o medicinales. Para la preparación de los extractos etanólicos, se pesaron 500 g del material vegetal de interés (hojas y tallos por separado) y se colocaron en frascos de vidrio, añadiendo etanol al 99% hasta cubrir completamente las muestras. Estas se dejaron en reposo entre 48 y 72 horas en un lugar fresco y protegido de la luz directa. Transcurrido este tiempo, se filtró el líquido a través de cuatro capas de

gasa y, empleando un rotavapor a 50°C y 100 rpm, se secaron las muestras. Cada residuo obtenido se conservó en frascos estériles de 20 mL y 8 mL de color ámbar a una temperatura de 5°C hasta que se realizaron los bioensayos. El agua fue el otro solvente utilizado debido a su capacidad para disolver sustancias de diferentes tipos en mayores cantidades que cualquier otro disolvente. Para la preparación de los extractos acuosos, el material triturado se sometió a una infusión con agua destilada hirviendo, se dejó reposar y posteriormente se liofilizó durante 5-10 minutos.

3.3 Evaluación de la actividad antimicrobiana



Figura 8. Preparación de la suspensión bacteriana

Para la evaluación de la actividad antimicrobiana se empleó el método de Kirby-Bauer o difusión en disco (Prat, 2002) y de esa manera se comprobó la evidencia de inhibición o no inhibición con cada extracto. Se probó cada extracto (etanólico y acuoso) frente a bacterias procedentes de cepas de referencia tanto Gram positivas (*S. oralis* ATCC 35037, *E. faecalis* ATCC 19433, *S. aureus* ATCC 25923, *B. cereus* ATCC 14579) como Gram negativas (*K. pneumoniae* ATCC 27736, *P. aeruginosa* ATCC 27853).

Se prepararon los medios, en este caso Agar Tripticasa y Soya, una vez solidificados, se dejan a temperatura ambiente por 24 horas, como prueba de esterilidad. Pasado este periodo se mantienen refrigerados a 4 °C hasta su uso. Luego se colocaron 10 µL de cultivo bacteriano (0.5 MacFarland) (Ver Figura 8) y se esparció homogéneamente con la ayuda de una "L" de vidrio estéril, se esperó 15 minutos para que la suspensión bacteriana se reabsorbiera en el medio de cultivo. Pasado este tiempo, se colocaron 2 hileras de discos de antibiograma (6 mm) a una distancia a 4 cm entre uno y otro, incluyendo los de control positivo y control negativo. Para resuspender los extractos, se tomaron 200 mg de cada extracto y se suspendieron en 500 µL de DMSO, cada uno tuvo su propia suspensión y se homogenizaron con un sonicador (Ver Figura 9). Con la ayuda de una micropipeta se colocó 10 µL de cada extracto en los discos de antibiograma previamente rotulados, en el control positivo se colocó el antibiótico de amplio espectro (Sulfato de estreptomicina) y en el control negativo fue DMSO (Martínez *et al.*, 2021).



Figura 9. Homogenización de los extractos.

Los platos se incubaron a una temperatura de 37 °C por 18 a 24 horas, y luego se midieron los halos de inhibición para determinar la actividad bacteriana.

Este bioensayo se realizó por triplicado para obtener resultados representativos.

3.4 Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

La prueba de microdilución de la CMI en caldo Müller-Hinton se realizó en una placa de poliestireno de 96 pocillos (Montenegro & del Rocío, 2019). Se escogió el extracto con mayor efecto, *L. graveolens* tallo (etanólico) contra *P. aeruginosa*. Se realizó por duplicado, las dos primeras columnas sirvieron como control negativo (sólo caldo), las 2 siguientes actuaron como control positivo 1 (caldo más inóculo) y control positivo 2 (caldo, inóculo y DMSO). Para las siguientes columnas se agregaron 90 uL de caldo, 10 uL de extracto y se procedió con la dilución seriada, se repite el proceso con el antibiótico. Se preparó la suspensión bacteriana al estándar 0.5 MacFarland y se añadió 10 uL a cada pocillo con extracto y antibiótico. La placas se llevaron a la incubadora y para prevenir la desecación de las muestras se les colocaron tapas bien ajustadas. La incubación se llevó a cabo durante 16 a 20 horas a 35 ± 2 °C. Se midió el crecimiento a una densidad óptica de 625 nm y se recolectaron datos para su análisis.

3.5 Evaluación de actividad antifúngica

Un inóculo del cultivo fúngico (*F. oxysporum* ATCC 48112 y *A. brasiliensis* ATCC 16404) se colocó en el centro del plato con medio Agar Extracto de Malta (MEA), se dejó incubar durante 24 horas.

Después, se colocaron discos estériles (6 mm) a 4 cm entre uno y otro. Pasado este proceso, se procedió a añadir 10 µL de cada extracto; uno de estos discos correspondió al control negativo DMSO. Los platos se incubaron a una temperatura de 25 a 28 °C por 120 horas, donde se procedió a medir los halos de inhibición para determinar su actividad antimicótica. Este bioensayo se realizó por duplicado para obtener resultados representativos.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

En este estudio se analizaron extractos de hojas y tallos de seis especies de plantas, lo que resultó en un total de 21 extractos. Sin embargo, es importante señalar que no se realizó un extracto de tallo para *S. horizontalis* y que *P. vitifolia* carecía de un extracto etanólico de tallo. Los extractos fueron codificados tanto para los etanólicos como los acuosos de la siguiente manera:

1. *E. jefensis*
2. *L. graveolens*
3. *S. trilobata*
4. *G. sepium*
5. *P. vitifolia*
6. *S. horizontalis*

Nuestro control positivo, Estreptomicina con sulfa codificado como **C+** y el control negativo DMSO codificado como **C-**.

4.1 Bioensayos de antagonismo contra bacterias

4.1.1 Extractos Etanólicos

La mayor actividad inhibitoria entre los extractos etanólicos de tallo se observó en el extracto 2 (*L. graveolens*), que mostró una inhibición significativa contra *P. aeruginosa* y *E. faecalis* con diámetros de inhibición de 16.3 mm y 15 mm, respectivamente. Este hallazgo destaca el potencial antibacteriano de *L. graveolens*. Asimismo, el extracto 3 (*S. trilobata*) mostró actividad contra *P. aeruginosa* y *S. oralis*, ambas con un diámetro de inhibición de 15.3 mm (Ver Cuadro 3).

El extracto etanólico de hoja más activo fue el de *L. graveolens* contra *E. faecalis*, con un halo de inhibición de 15 mm, seguido por *S. oralis* con 13.7 mm de inhibición (ver Cuadro 4).

Cuadro 3. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de tallos obtenidos a 400 mg/mL

Bacterias	Extractos Etanólicos de Tallos				Controles	
	Diámetro de inhibición (mm)				C+	C-
	1	2	3	4		
<i>P. aeruginosa</i>	10.3±10.5	16.3±6.1	15.3±8.4	-	24.3±2.3	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	22±7.1	-
<i>S. oralis</i>	3.7±6.4	11.7±0.6	15.3±8.4	5.7±5.1	22.5±3.9	-
<i>E. faecalis</i>	3.3±5.8	15±0.0	3.7±6.4	5±4.4	24.7±4.2	-
<i>S. aureus</i>	11.3±0.6	9.7±1.5	9±0.0	3±5.2	19.5±3.0	-
<i>B. cereus</i>	10.7±0.6	9.3±1.5	10.7±0.6	-	22.7±0.7	-

Extractos -1: *E. jefensis*, **2:** *L. graveolens*, **3:** *S. trilobata*, **4:** *G. sepium*

C+: Control positivo – Estreptomicina con sulfa, **C-:** Control negativo – DMSO

Cuadro 4. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de hojas obtenidos a 400mg/mL.

Bacterias	Extractos Etanólicos de Hojas						Controles	
	Diámetro de inhibición (mm)						C+	C-
	1	2	3	4	5	6		
<i>P. aeruginosa</i>	3.3±5.8	6.7±11.5	12.7±13.0	-	-	-	24.3±2.3	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	22±7.1	-
<i>S. oralis</i>	3.3±5.5	13.7±2.5	12.7±13.0	6.3±5.5	2.7±4.6	-	22.5±3.9	-
<i>E. faecalis</i>	6.3±5.5	15±1.0	12.7±2.5	-	-	-	24.7±4.2	-
<i>S. aureus</i>	-	10±2.0	8±1.0	-	-	-	19.5±3.0	-
<i>B. cereus</i>	5.3±4.7	12±1.0	11±1.0	-	-	2.3±4.0	22.7±0.7	-

Extractos- 1: *E. jefensis*, **2:** *L. graveolens*, **3:** *S. trilobata*, **4:** *G. sepium*, **5:** *P. vitifolia*, **6:** *S. horizontalis*. **C+:** Control positivo – Estreptomicina con sulfa, **C-:** Control negativo – DMSO.

4.1.2 Extractos Acuosos

El extracto acuoso de *L. graveolens* mostró una inhibición significativa contra *S. oralis* con un halo de inhibición de 13.7 mm, comparado con el control positivo que tuvo una actividad de 22.5 mm (ver Cuadro 5).

El extracto acuoso de hoja más activo fue el de *S. trilobata* con un halo de inhibición de 10.3 mm contra *S. oralis* y 10 mm contra *E. faecalis* (ver Cuadro 6).

Cuadro 5. Actividad antibacteriana de extractos acuosos de tallos obtenidos a 400 mg/mL.

Bacterias	Extractos Acuosos de Tallos					Controles	
	Diámetro de inhibición (mm)					C+	C-
	1	2	3	4	5		
<i>P. aeruginosa</i>	2.3±4.0	8.3±1.2	8±1.0	5.7±4.9	5.3±4.7	24.3±2.3	-
<i>K. pneumoniae</i>	6.3±5.5	6.7±5.9	3±5.2	2.7±4.6	7.7±0.6	22±7.1	-
<i>S. oralis</i>	6.3±5.5	13±1.7	6±5.2	-	-	22.5±3.9	-
<i>E. faecalis</i>	2.7±4.6	7.3±6.4	6.7±6.1	2.3±4.0	3.3±5.7	24.7±4.2	-
<i>S. aureus</i>	10±1.0	7.3±0.6	-	-	2.7±4.6	19.5±3.0	-
<i>B. cereus</i>	2.7±4.6	-	2.3±4.0	-	-	22.7±0.7	-

Extractos: 1: *E. jefensis*, 2: *L. graveolens*, 3: *S trilobata*, 4: *G. sepium*, 5: *P. vitifolia*. **C+:** Control positivo – Estreptomicina con sulfa, **C-:** Control negativo – DMSO.

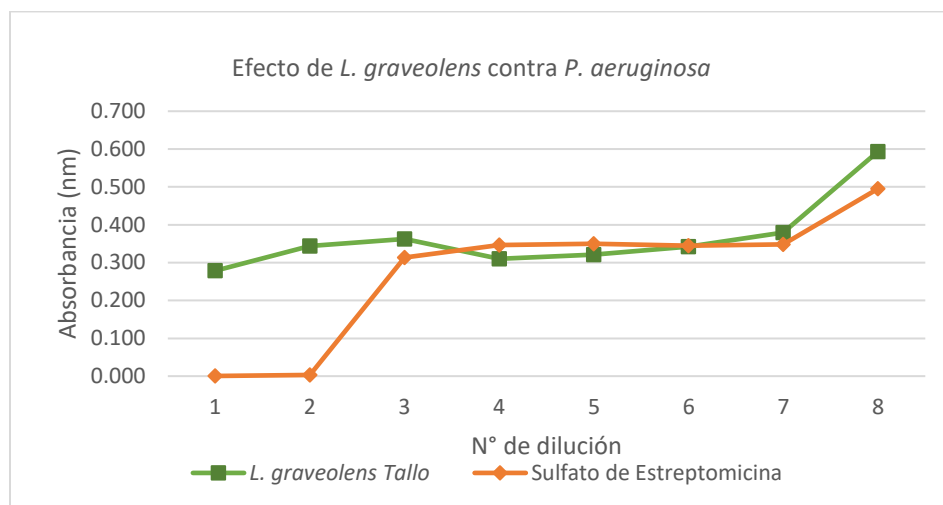
Cuadro 6. Actividad antibacteriana de extractos acuosos de hojas obtenidos de plantas panameñas a 400 mg/mL.

Bacterias	Extractos Acuosos de Hojas						Controles	
	Diámetro de inhibición (mm)						C+	C-
	1	2	3	4	5	6		
<i>P. aeruginosa</i>	2.3±4.0	8±1.0	8±1.0	-	9±1.0	-	24.3±2.3	-
<i>K. pneumoniae</i>	8.7±2.1	7.7±6.7	6.3±5.5	8.3±0.6	9±0.0	-	22±7.1	-
<i>S. oralis</i>	9.3±1.5	7±6.2	10±1.0	-	4.7±4.0	2.7±4.6	22.5±3.9	-
<i>E. faecalis</i>	5.3±4.7	8.3±1.2	10.3±2.5	2.7±4.6	8±1.0	2.3±4.0	24.7±4.2	-
<i>S. aureus</i>	9.7±0.6	-	-	2.7±4.6	8±0.0	-	19.5±3.0	-
<i>B. cereus</i>	8±1.0	-	-	-	-	2.3±4.0	22.7±0.7	-

Extractos: 1: *E. jefensis*, 2: *L. graveolens*, 3: *S trilobata*, 4: *G. sepium*, 5: *P. vitifolia*, 6: *S. horizontalis*. **C+:** Control positivo – Estreptomicina con sulfa, **C-:** Control negativo – DMSO.

4.1.3 Concentración Mínima Inhibitoria

El extracto etanólico tallo de *L. graveolens* no inhibe a *P. aeruginosa* como las primeras dos diluciones del antibiótico (0.4 mg/mL y 0.04 mg/mL), sin embargo, a partir de la tercera hasta la séptima dilución (4×10^{-3} mg/mL y 4×10^{-7} mg/mL) demuestra tener un comportamiento parecido al antibiótico, como muestra la Gráfica 3.



Gráfica 1. Comparación de *L. graveolens* (Tallo) y sulfato de estreptomicina contra *P. aeruginosa* a concentraciones mínimas.

4.2 Ensayos de antagonismo contra hongos fitopatógenos

Los extractos probados contra los dos hongos bajo estudio *F. oxysporum* y *A. brasiliensis*, no mostraron actividad antimicótica luego de 120 horas de exposición en los bioensayos, por lo tanto, se descarta actividad antimicótica en estos extractos.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

El aumento de la resistencia a los antimicrobianos, los efectos adversos de los medicamentos sintéticos y los altos costos asociados han llevado a un cambio de enfoque hacia las plantas medicinales como una alternativa viable en la práctica médica. Las plantas medicinales no solo son percibidas como más seguras y accesibles, sino que también ofrecen una diversidad de compuestos bioactivos con potenciales propiedades terapéuticas (Gurib-Fakim, 2006; Newman & Cragg, 2007). De acuerdo con los resultados obtenidos, la mayoría de los extractos (etanólicos y acuosos) tuvieron una respuesta mínima o no tuvieron efecto en absoluto, lo que indica resistencia bacteriana de las cepas hacia los extractos. Es importante destacar que es la primera vez que se evalúan los extractos etanólicos de *E. jefensis*, *L. graveolens*, *P. vitifolia* y *S. horizontalis*. De los 21 extractos evaluados, solo cinco mostraron actividad significativa contra bacterias, siendo los extractos etanólicos de tallo de *L. graveolens* y *S. trilobata* los más destacados. En contraste, ninguno de los extractos mostró actividad antifúngica contra los hongos fitopatógenos estudiados.

El tallo de *E. jefensis* mostró diámetros de inhibición inferiores a 10 mm, lo que indica una actividad antimicrobiana limitada. Comparando estos resultados con el estudio de Aguilar Rios (2022), se encontró que el extracto etanólico de las hojas de *E. juruensis* también poseía una actividad similar contra *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli*, con halos de inhibición inferiores a 15 mm, sugiriendo una resistencia compartida dentro del género *Eschweilera*. La baja actividad observada en los extractos etanólicos de *E. jefensis* podría ser atribuida a varios factores, incluyendo la variabilidad en las especies, las condiciones ambientales de donde se recolectaron las plantas y los métodos de extracción utilizados. Mientras que Aguilar Rios (2022) empleó concentraciones específicas (125 mg/mL, 62,5 mg/mL y 31,25 mg/mL), nuestro estudio utilizó una concentración uniforme de 400 mg/mL, lo que podría haber influido en los resultados. Otros miembros de la familia Lecythidaceae, como *Barringtonia acutangula*, han demostrado una actividad antimicrobiana más efectiva. El extracto etanólico del tallo de *B. acutangula* mostró actividad significativa contra *S. aureus*, *B. cereus* y *K. pneumoniae* a una concentración de 50 µg/mL (Mohan & Kumar, 2014).

Esta diferenciación podría deberse a la localidad de las plantas, ya que *B. acutangula* es nativa del sudeste asiático y partes del norte de Australia, mientras que el género *Eschweilera* solo se encuentra en regiones tropicales de América, ya que diversas publicaciones han demostrado que los metabolitos secundarios pueden variar significativamente según la ubicación geográfica y las condiciones ambientales (Wallis *et al.*, 2011), afectando su composición química y, por ende, su actividad antimicrobiana.

En cuanto a *G. sepium*, obtuvimos halos de inhibición menores a 10 mm, siendo de 8.3 mm el más amplio contra *K. pneumoniae* en extractos acuosos de hojas. Abdulaziz *et al.* (2019) no encontraron actividad antimicrobiana similar frente a *K. pneumoniae* y *S. aureus* utilizando el extracto etanólico de las hojas. Sin embargo, Martínez *et al.* (2021) reportaron que el extracto metanólico de la hoja de *G. sepium* mostró un halo de inhibición contra *P. aeruginosa* de 14.5 mm y el extracto metanólico del tallo presentó un halo de 16 mm. Estas diferencias pueden deberse a la variabilidad en la polaridad de los solventes utilizados, ya que el metanol tiene una mayor polaridad en comparación con el etanol, lo que permite extraer una mayor cantidad de compuestos presentes. Estudios han demostrado que el metanol, debido a su mayor polaridad en comparación con el etanol, es más eficaz para extraer compuestos bioactivos como los fenoles y flavonoides, que tienen propiedades antimicrobianas (Sultana *et al.*, 2009). Un aspecto crucial para tener en cuenta es el lugar de origen de las muestras de *G. sepium* utilizadas en este estudio, las cuales fueron colectadas en Cerro Jefe.

En contraste, Martínez *et al.* (2021) recolectaron sus muestras en Altos del María, al igual que las de *L. graveolens* y *S. trilobata*. Las diferencias en las condiciones ambientales de estas localidades son un fuerte indicador de los metabolitos secundarios producidos por poblaciones de la misma especie, ya que varios estudios han demostrado que la composición química de los metabolitos secundarios puede variar dependiendo de factores como la altitud, la temperatura, la humedad y la disponibilidad de nutrientes en el suelo, representando una fuente abundante de sustancias bioactivas, y que la cantidad de estos compuestos difiere mucho entre las

diferentes poblaciones, así como en las mismas poblaciones, según las diferentes épocas y partes de la planta (Zlatić *et al.*, 2019; Isah, 2019).

L. graveolens mostró la mayor actividad antimicrobiana contra *P. aeruginosa* y *E. faecalis*, con diámetros de inhibición de 16.3 mm y 15 mm, respectivamente. Estos resultados son consistentes con los de Martínez *et al.* (2021), quienes encontraron que los extractos metanólicos de hojas de *L. graveolens* presentaron inhibiciones de 14.5 mm contra *P. aeruginosa* y 18 mm contra *E. coli*, mientras que los extractos de tallos mostraron 16 mm contra *P. aeruginosa* y 15.5 mm contra *E. coli*. Las ligeras variaciones observadas pueden deberse a diferencias en los métodos de extracción y concentración de los compuestos bioactivos presentes. Al realizar la prueba de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de *L. graveolens* contra *P. aeruginosa*, se observó un comportamiento bacteriostático, controlando la multiplicación de la bacteria durante cinco diluciones consecutivas sin eliminarla, lo que sugiere su potencial uso como desinfectante. Estudios adicionales han demostrado que especies del género *Lippia*, como *L. alba*, *L. origanoides* y *L. sidoides*, también poseen aceites esenciales con efectos bacteriostáticos contra diversas bacterias (Majolo *et al.*, 2016). Fischer Possamai *et al.* (2019) corroboraron estos hallazgos, mostrando que los aceites esenciales de *L. alba*, *Cymbopogon citratus* y *Origanum vulgare* inhiben el crecimiento de bacterias gram-positivas y gram-negativas sin necesariamente matarlas. La aplicación de compuestos bacteriostáticos en desinfectantes ofrece una alternativa prometedora en el contexto de la creciente resistencia antimicrobiana, proporcionando una opción para controlar la propagación de bacterias resistentes sin contribuir a la evolución de nuevas resistencias (Atef *et al.*, 2019).

El tallo de *S. trilobata* mostró actividad particularmente contra *P. aeruginosa* y *S. oralis*, con diámetros de inhibición de 15.3 mm para ambas bacterias. Esta actividad es notable, aunque ligeramente inferior al control positivo, que presentó diámetros de inhibición de 24.3 mm y 22.5 mm respectivamente. La eficacia de *S. trilobata* en inhibir el crecimiento de *P. aeruginosa* es especialmente relevante debido a la naturaleza resistente de esta bacteria, que es conocida por su capacidad para desarrollar resistencia a múltiples antibióticos convencionales (Qin *et al.*, 2022). Estos hallazgos

coinciden con estudios previos que han identificado el potencial antimicrobiano de los extractos de *S. trilobata*. Martínez *et al.* (2021) reportaron actividad antimicrobiana similar con extractos metanólicos de hojas y tallos de *S. trilobata*. Además, Govindappa *et al.* (2011) encontraron que los extractos etanólicos de hojas y tallos de *S. trilobata* mostraron actividad antimicrobiana contra *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *Xanthomonas oryzae* y *X. axonopodis*. La consistencia de estos resultados sugiere que esta planta podría tener aplicaciones prácticas en el desarrollo de tratamientos antibacterianos.

Respecto a los extractos etanólicos y acuoso de *P. vitifolia* su actividad de inhibición fue muy baja, un resultado similar al estudio realizado con otros miembros del género *Passiflora* (*P. mollissima* y *P. edulis*) que también han demostrado tener baja actividad antimicrobiana frente a tres bacterias del género *Streptococcus*, incluyendo a *S. oralis* (Calderón *et al.*, 2019; Ávila *et al.*, 2021; Rodríguez *et al.*, 2021). Por otra parte *S. horizontalis* no mostró actividad antimicrobiana contra ninguna de las cepas bacterianas utilizadas en los ensayos de nuestro estudio. Sin embargo, en recientes estudios utilizaron el extracto etanólico de *S. repanda* que mostró una actividad antimicrobiana significativa contra *P. aeruginosa* y *S. aureus* (Adnan *et al.*, 2021).

En relación a los ensayos en hongos, no se demostró actividad antifúngica de ningún extracto. Sin embargo, Medina-Romero *et al* (2021) encontró que los aceites esenciales de *L. graveolens* poseen capacidad antifúngica frente a tres hongos del género *Fusarium* y el extracto metanólico de *Barringtonia racemosa* sí posee actividad contra *Fusarium sp.* y *Aspergillus sp.* perteneciente a la familia Lecythidaceae la misma que *E. jefensis* (Hussin *et al.*, 2009). La discrepancia entre los resultados de ambos trabajos y el nuestro, puede deberse al proceso empleado para obtener los aceites esenciales, como la evaporación y condensación, que facilita la extracción de las sustancias más volátiles de la planta. En contraste, para obtener el extracto es necesario sumergir diferentes partes de la planta en varios solventes para extraer las sustancias solubles. Por lo tanto, la cantidad de compuesto extraído dependerá del tipo de solvente que se utilice (Sultana *et al.*, 2009; Bunse *et al.*, 2022).

Los resultados obtenidos del control positivo, utilizando estreptomicina con sulfato, confirmaron su alta eficacia antibacteriana, con diámetros de inhibición entre 19.5 mm y 24.7 mm para las diversas bacterias evaluadas. La estreptomicina demostró ser altamente eficaz y consistente en todos los ensayos, validando su uso como un control positivo fiable. Estos resultados no solo avalan la sensibilidad y precisión de nuestros ensayos microbiológicos, sino que también subrayan la importancia de tener referencias confiables. La comparación con los extractos de plantas muestra que, aunque los compuestos naturales tienen potencial, aún se requiere investigación y optimización para alcanzar la misma eficacia demostrada por los controles positivos (Newman & Cragg, 2007). La diferencia observada entre nuestros extractos crudos y el antibiótico puede atribuirse a la concentración y pureza de los compuestos. Mientras que la estreptomicina es un compuesto puro, nuestros extractos contienen una cantidad enorme de compuestos que pueden actuar como antagonistas o sinergistas, afectando su actividad antimicrobiana (Enke & Nagels, 2011).

Finalmente, es crucial reconocer que los hongos fitopatógenos y las bacterias multirresistentes a fármacos representan un desafío significativo en la agricultura y la medicina. Durante los últimos 15 años, ha habido un énfasis considerable en aislar moléculas de origen natural de plantas y otros organismos debido a sus diversas propiedades antimicrobianas (Gurib-Fakim, 2006; Newman & Cragg, 2007). Este estudio tiene como objetivo aportar nueva información sobre seis especies de plantas panameñas, explorando su potencial en la producción de metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas. Los hallazgos de esta investigación subrayan la importancia de continuar explorando la biodiversidad vegetal de Panamá. Algunas de las especies analizadas mostraron diferentes niveles de actividad antimicrobiana, destacando la relevancia de los métodos de extracción y las condiciones ambientales en la variabilidad de los resultados. El potencial de las plantas medicinales no solo radica en su seguridad y accesibilidad, sino también en su capacidad para ofrecer alternativas terapéuticas frente a los patógenos resistentes a los medicamentos convencionales.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

- Los extractos etanólicos presentaron una mayor actividad antimicrobiana que los extractos acuosos, mostrando una inclinación significativa hacia las bacterias Gramnegativas.
- No se observó actividad antifúngica significativa contra los hongos de interés agrícola en los extractos estudiados.
- Aunque los extractos de plantas no igualaron la eficacia de la estreptomicina, su capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano muestra su potencial como agentes antimicrobianos y bacteriostáticos. Con más investigación y optimización, estos extractos podrían mejorar su eficacia.
- Es esencial considerar productos a base de hierbas para el biocontrol de enfermedades, ofreciendo una alternativa no tóxica y más ecológica frente a los tratamientos antimicrobianos convencionales.
- Este estudio resalta la importancia de seguir investigando la biodiversidad vegetal de Panamá para descubrir y optimizar nuevos compuestos bioactivos que puedan ofrecer soluciones eficaces y sostenibles frente a la resistencia antimicrobiana.

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

- Aislar, purificar y caracterizar los componentes químicos de los extractos utilizados en esta investigación para identificar los compuestos responsables de la actividad antimicrobiana.
- Colectar las especies que mostraron mayor efecto inhibitorio en otras regiones del país para evaluar si la distribución geográfica influye en la actividad antimicrobiana.
- Realizar estudios combinando los extractos con mayor actividad para investigar su efecto sinérgico contra bacterias patógenas.
- Utilizar otros solventes químicos en la extracción de productos de hojas y tallos para optimizar la eficiencia y el rendimiento de compuestos bioactivos.

LITERATURA CITADA

Abdulaziz, A. A., Dapar M. L. G., Manting, M. M. E., Torres, M. A. J., Aranas, A. T., Mindo, R. A. R., Cabrido, C. K., & Demayo, C. G. (2019). "Qualitative Evaluation of the Antimicrobial, Antioxidant, and Medicinally Important Phytochemical Constituents of the Ethanolic extracts of the Leaves of *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp," *Pharmacophore*, 10 (4), 72-83.

Adnan, M., Siddiqui, A. J., Hamadou, W. S., Patel, M., Ashraf, S. A., Jamal, A., Awaldelkareen, A. M., Sachidanandan, M., Snoussi, M. & De Feo, V. (2021). Phytochemistry, bioactivities, pharmacokinetics, and toxicity prediction of *Selaginella repanda* with its anticancer potential against human lung, breast, and colorectal carcinoma cell lines. *Molecules*, 26(3), 768.

Aguilar Rios, C. P. (2022). Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de *Eschweilera juruensis* R. Knuth (machimango). [Tesis de grado.] Repositorio Institucional Digital (RID) de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana.

Alghamdi, F., & Shakir, M. (2020). The Influence of *Enterococcus faecalis* as a dental root canal pathogen on endodontic treatment: a systematic review. *Cureus*, 12 (3).

Ashurst, J. V., & Dawson, A. (2018). *Klebsiella pneumonia*. *StatPearls*. Treasure Islands, FL, USA.

Atef, N. M., Shanab, S. M., Negm, S. I., & Abbas, Y. A. (2019). Evaluation of antimicrobial activity of some plant extracts against antibiotic susceptible and resistant bacterial strains causing wound infection. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1), 1-11.

Avila, J., Jiménez, A., Méndez, J., & Murillo, E. (2021). Chemical And Biological Potential of *Passiflora vitifolia* fruit byproducts collected in the Colombian Central Andes. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 14(1), 182–189.

Azizan, K. A., Abdul Ghani, N. H., & Nawawi, M. F. (2022). Discrimination and prediction

of the chemical composition and the phytotoxic activity of *Wedelia trilobata* essential oil (EO) using metabolomics and chemometrics. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 156 (1), 217-231.

Batista, B. G., Chaves, M. A. D., Reginatto, P., Saraiva, O. J., & Fuentefria, A. M. (2020). Human fusariosis: An emerging infection that is difficult to treat. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 53.

Batista, J. E., Mori S. A., & Harrison, J. S. (2017). New species of *Eschweilera* and a first record of *Cariniana* (Lecythidaceae) from Panama. *Phytoneuron*, 62, 1–16.

Bautista-Hernández, I., Aguilar, C. N., Martínez-Ávila, G. C. G., Torres-León, C., Ilina, A., Flores-Gallegos, A. C., Kumar Verma, D., & Chávez-González, M.L (2021). Mexican Oregano (*Lippia graveolens* Kunth) as Source of Bioactive Compounds: A Review. *Molecules*, 26 (17), 5156.

Bezerra, F. W. F., de Oliveira, M. S., Bezerra, P. N., Cunha, V. M. B., Silva, M. P., da Costa, W. A., Pinto, R. H. H., Cordeiro, R. M., da Cruz, J. N., Chaves Neto, A. M. J., & Carvalho Junior, R. N. (2020). Extraction of bioactive compounds. En *Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science*, 149–167. Elsevier.

Biswas, A., Chawngthu, L., Vanlalveni, C., Hnamte, R., Lalfakzuala, R., & Rokhum, L. (2018). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Selaginella bryopteris* plant extracts and studies of their antimicrobial and photocatalytic activities. *Journal of BioNanoscience*, 12 (2), 227-232.

Bonilla Morales, M. M., Aguirre Morales, A. C., & Agudelo Varela, O. M. (2015). Passiflora morphology: a guide for the description of species. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 6 (1), 91-109.

Bueno-Durán, A. Y (2014). *Estimulación abiótica de la acumulación de compuestos bioactivos en dos especies de Lippia*. [Tesis de Doctorado. Centro De Investigación y Asistencia en Tecnología Y Diseño del Estado de Jalisco]. Repositorio Institucional de

CIATEJ.

Bunse, M., Daniels, R., Gründemann, C., Heilmann, J., Kammerer, D. R., Keusgen, M., Lindequist, U., Melzig, M. F., Morlock, G. E. M., Schulz, H., Schweiggert, R., Simon, M., Sintzing, F. C., & Wink, M. (2022). Essential oils as multicomponent mixtures and their potential for human health and well-being. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 956541.

Calderón, A., Salas, J., Dapello, G., Gamboa, E., Rosas, J., Chávez, J., Retuerto, F., & Mayta-Tovalino, F. (2019). Assessment of antibacterial and antifungal properties and in vivo cytotoxicity of Peruvian *Passiflora mollissima*. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 20(2), 145-151.

Camacho-Escobar, M. A., Ramos-Ramos, D. A., Ávila-Serrano, N. Y., Sánchez-Bernal, E. I., & López-Garrido, S. J. (2020). Las defensas fisicoquímicas de las plantas y su efecto en la alimentación de los rumiantes. *Terra Latinoamericana*, 38 (2), 443-453.

Campoy, S., & Adrio, J. L. (2017). Antifungals. *Biochemical pharmacology*, 133, 86-96.

Cardoso, J., Ferreira, D., Assis, R., Monteiro, J., Coelho, I., Real, A., & Catorze, N. (2021). *Streptococcus oralis* meningitis. *European Journal of Case Reports In internal Medicine*, 8(5).

Cavicchioli, R., Ripple, W. J., Timmis, K. N., Azam, F., Bakken, L. R., Baylis, M., Behrenfeld, M. J., Boetius, A., Boyd, P. W., Classen, A. T., Crowther, T. W., Danovaro, R., Foreman, C. M., Huisman, J., Hutchins, D. A., Jansson, J. K., Karl, D. M., Koskella, B., Mark Welch, D. B., Webster, N. S. (2019). Scientists' warning to humanity: microorganisms and climate change. *Nature Reviews Microbiology*, 17 (9), 569-586.

Cervantes G, E., García G, R., & Salazar S, P. M. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 61 (1), 28-40.

Dakshayani, S. S., Marulasiddeshwara, M. B., Kumar, S., Golla, R., Devaraja, S. R. H. K., & Hosamani, R. (2019). Antimicrobial, anticoagulant, and antiplatelet activities of green synthesized silver nanoparticles using *Selaginella* (Sanjeevini) plant extract.

International Journal of Biological Macromolecules, 131, 787-797.

de França Ferreira, É. L., de Carvalho Oliveira, J. P., de Araújo, M. R. S., Rai, M., & Chaves, M. H. (2021). Phytochemical profile and ethnopharmacological applications of Lecythidaceae: An overview. *Journal of Ethnopharmacology*, 274, 114049.

De Lamo, F. J., & Takken, F. L. (2020). Biocontrol by *Fusarium oxysporum* using endophyte-mediated resistance. *Frontiers in Plant Science*, 11, 37.

Deba, F., Xuan, T. D., Yasuda, M., & Tawata, S. (2008). Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. *Food control*, 19 (4), 346-352.

Deng, Y. H., Wang, N. N., Zou, Z. X., Zhang, L., Xu, K. P., Chen, A. F., Cao, D. S., & Tan, G. S. (2017). Multi-Target Screening and Experimental Validation of Natural Products from *Selaginella* Plants Against Alzheimer's Disease. *Frontiers in pharmacology*, 8, 539.

Drew, G. C., Stevens, E. J., & King, K. C. (2021). Microbial evolution and transitions along the parasite–mutualist continuum. *Nature Reviews Microbiology*, 19 (10), 623-638.

Driscoll, J. A., Brody, S. L., & Kollef, M. H. (2007). The epidemiology, pathogenesis, and treatment of *Pseudomona aeruginosa* infections. *Drugs*, 67, 351-368.

Effah, C. Y., Sun, T., Liu, S., & Wu, Y. (2020). *Klebsiella pneumoniae*: an increasing threat to public health. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 19 (1), 1-9.

Elevitch, C. R., & Francis, J. K. (2006). *Gliricidia sepium* (gliricidia). *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry*, 2 (1), 1-18.

Enke, C. G., & Nagels, L. J. (2011). Undetected components in natural mixtures: how many? What concentrations? Do they account for chemical noise? What is needed to detect them?. *Analytical chemistry*, 83(7), 2539-2546.

Fisher, M. C., Gurr, S. J., Cuomo, C. A., Blehert, D. S., Jin, H., Stukenbrock, E. H.,

Stajich, J. E., Kahmann, R., Boone, C., Denning, D. W., Gow, N. A. R., Klein, B. S., Kronstad, J. W., Sheppard, D. C., Taylor, J. W., Wright, G. D., Heitman, J., Casadevall, A., & Cowen, L. E. (2020). Threats Posed by the Fungal Kingdom to Humans, Wildlife, and Agriculture. *MBio*, 11 (3)

Fischer Possamai, M. C., dos Santos, I. C., Silva, E. S., Gazim, Z. C., Gonçalves, J. E., Soares, A. A., & Otutumi, L. K. (2019). In vitro bacteriostatic activity of *Origanum vulgare*, *Cymbopogon citratus*, and *Lippia alba* essential oils in cat food bacterial isolates. *Semina: Ciências Agrárias*, 40(6Supl2), 3107-3122.

González-Trujano, M. E., Hernández-Sánchez, L. Y., Muñoz Ocotero, V., Dorazco-González, A., Guevara Fefer, P., & Aguirre-Hernández, E. (2017). Pharmacological evaluation of the anxiolytic-like effects of *Lippia graveolens* and bioactive compounds. *Pharmaceutical biology*, 55 (1), 1569-1576.

Govindappa, M., Naga Sravya, S., Poojashri, M. N., Sadananda, T. S., Chandrappa, C. P., Santoyo, G., Sharanappa, P., & Anil Kumar, N. V. (2011). Antimicrobial, antioxidant and in vitro anti-inflammatory activity and phytochemical screening of water extract of *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. *Journal of medicinal plants research*, 5(24), 5718-5729.

Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of Medicine*, 27(1), 1-93.

Herrera-Rodríguez, S. E., López-Rivera, R. J., García-Márquez, E., Estarrón-Espinosa, M., & Espinosa-Andrews, H. (2019). Mexican oregano (*Lippia graveolens*) essential oil-in-water emulsions: impact of emulsifier type on the antifungal activity of *Candida albicans*. *Food science and biotechnology*, 28 (2), 441-448.

Hikmawanti, N. P. E., Fatmawati, S., & Asri, A. W. (2021). The effect of ethanol concentrations as the extraction solvent on antioxidant activity of Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) leaves extracts. In *IOP conference series: Earth and environmental science*, 755 (1), 012-060.

Hosseinzadeh, S., Jafarikukhdan, A., Hosseini, A., & Armand, R. (2015). The

application of medicinal plants in traditional and modern medicine: a review of *Thymus vulgaris*. *International Journal of Clinical Medicine*, 6 (9), 635-642.

Husain, N., & Kumar, A. N. I. L. (2017). Characterisation of antioxidant property of root extract of *Sphagneticola trilobata* in recovery of oxidative stress. *Indian Journal of Scientific Research*, 12, 116-120.

Hussin, N.M., Muse, R., Ahmad, S., Ramli, J., Mahmood, M., Sulaiman, M.R., Shukor, M. Y.A., Rahman, M.F.A., Aziz, K.N.K., (2009). Antifungal activity of extracts and phenolic compounds from *Barringtonia racemosa* L. (Lecythidaceae). *African Journal of Biotechnology* 8, 2835–2842.

Hutchings, M. I., Truman, A. W., & Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: past, present, and future. *Current opinion in microbiology*, 51, 72-80.

Isah, T. (2019). Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biological research*, 52.

Jiménez, G. S., Ducoing, H. P., & Sosa, M. R. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista mexicana de fitopatología*, 21(3), 355-363.

Joshi, R. (2018). A review of *Fusarium oxysporum* on its plant interaction and industrial use. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 6 (3), 112-115.

Jovanovic, J., Ornelis, V. F., Madder, A., & Rajkovic, A (2021). *Bacillus cereus* food intoxication and toxicoinfection. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(4)., 3719-3761.

Korkina, L., Kostyuk, V., Potapovich, A., Mayer, W., Talib, N., & De Luca, C. (2018). Secondary plant metabolites for sun protective cosmetics: From pre-selection to product formulation. *Cosmetics*, 5 (2), 32.

Kumar, N. S., & Simon, N. (2016). In vitro antibacterial activity and phytochemical analysis of *Gliricidia sepium* (L.) leaf extracts. *Journal of Pharmacognosy and*

Phytochemistry, 5 (2), 131-133.

Li, T., Huang, L. X., Yi, L., Hong, L., Shen, H., Ye, W. H., & Wang, Z. M. (2016). Comparative analysis of growth and physiological traits between the natural hybrid *Sphagneticola trilobata* × *calendulacea* and its parental species. *Nordic Journal of Botany*, 34 (2), 219-227.

MacVean, A. L. E. de & MacDougal, J. (2012). Diversidad, distribución e importancia económica de Passifloraceae de Guatemala. En *Biodiversidad de Guatemala 2*, 17-33. Universidad del Valle de Guatemala.

Majolo, C., Rocha, S. I. B., Chagas, E. C., Chaves, F. C. M., & Bizzo, H. R. (2016). Chemical composition of *Lippia* spp. essential oil and antimicrobial activity against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Research*, 48(5), 2380-2387.

Mardina, V., Ilyas, S., Harmawan, T., Halimatussakdiah, H., & Tanjung, M. (2020). Antioxidant and cytotoxic activities of the ethyl acetate extract of *Sphagneticola trilobata* (L.) JF Pruski on MCF-7 breast cancer cell. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 11 (3), 123.

Martínez, R. J., Chérigo, L., & Ríos, N. (2021). Evaluation of Antibacterial Properties of Three Panamanian Plants Against Multi-Drug-Resistant Bacteria. *Tecnociencia*, 23 (1)., 351-363.

Medina-Romero, Y. M., Hernandez-Hernandez, A. B., Rodriguez-Monroy, M. A., & Canales-Martínez, M. M. (2021). Essential oils of *Bursera morelensis* and *Lippia graveolens* for the development of a new biopesticides in postharvest control. *Scientific Reports*, 11(1), 20135.

Meena, A. K., Rao, M. M., Meena, R. P., & Panda, P. (2011). Pharmacological and phytochemical evidence for the plants of Wedelia Genus—A Review. *Asian Journal of Pharmaceutical Research*, 1 (1), 7-12.

Mesa, V. A. M., Marín, P., Ocampo, O., Calle, J., & Monsalve, Z. (2019). Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos

fitopatógenos. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 45 (1), 23-30.

Mohan, A. & Sasi Kumar, R., (2014). Antioxidant, antimicrobial studies, and investigation of secondary metabolites from stem bark of *Barringtonia acutangula* (L.). *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 6, 967-972

Montenegro, F., & del Rocío, S. (2019). Actividad Antibacteriana In Vitro Del Veneno De Escorpión Hadruides charcasus contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Montero-Julian, F (2020). *Aspergillus brasiliensis*: How it Contaminates Humans. *BioMérieux Microbiología Industrial*. Recuperado el 7 de agosto de 2023, de <https://www.biomerieux-industry.com/es/industria-farmaceutica/documentacion-y-webinars/biblioteca-de-microorganismos-de-la-industria/2020>

Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2007). Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of natural products*, 70(3), 461-477.

Nordmann, P., Cuzon, G., & Naas, T. (2009). The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *The Lancet infectious diseases*, 9 (4), 228-236.

Organización Panamericana de la Salud [OPS]. (2021). *Patógenos multirresistentes que son prioritarios para la OMS*. Recuperado de: <https://www.paho.org/es/noticias/4-3-2021-patogenos-multirresistentes-que-son-prioritarios-para-oms>

Peng, Y., Li, S. J., Yan, J., Tang, Y., Cheng, J. P., Gao, A. J., Yao, X., Ruan, J. J., & Xu, B. L. (2021). Research progress on phytopathogenic fungi and their role as biocontrol agents. *Frontiers in Microbiology*, 12.

PNM. (2016). Parque Natural Metropolitano. <https://parquemropolitano.org/>

Pöntinen, A. K., Top, J., Arredondo-Alonso, S., Tonkin-Hill, G., Freitas, A. R., Novais, C., Gladstone, R. A., Pesonen, M., Meneses, R., Pesonen, H., Lees, J. A., Jamroz, D., Bentley, S. D., Lanza, V. F., Torres, C., Peixe, L., Coque, T. M., Parkhill, J., Schürch, A. C., ... Corander, J. (2021). Apparent nosocomial adaptation of *Enterococcus faecalis* predates the modern hospital era. *Nature Communications*, 12(1), 1523.

- Prat, S. (2002). Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar. National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS), 1.
- Qin, S., Xiao, W., Zhou, C., Pu, Q., Deng, X., Lan, L., Liang H., Song, X., & Wu, M. (2022). *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Signal transduction and targeted therapy*, 7(1), 199.
- Raj, B. A., Murugamani, V., & Madhuri, B. (2011). Preliminary phytochemical investigation of Givotia moluccana Stem. *International Journal of Pharmaceutical and Bio-Medical Science*, 2 (3), 1307-1313.
- Ramaiya, S. D., Bujang, J. S., & Zakaria, M. H. (2014). Assessment of total phenolic, antioxidant, and antibacterial activities of Passiflora species. *The Scientific World Journal*, 2014, 1-10.
- Rivera, G., Bocanegra-García, V., & Monge, A. (2010). Traditional plants as source of functional foods: a review Plantas tradicionales como fuente de alimentos funcionales: una revisión. *CyTA—Journal of Food*, 8 (2), 159-167.
- Rivero-Cruz, I., Duarte, G., Navarrete, A., Bye, R., Linares, E., & Mata, R. (2011). Chemical composition and antimicrobial and spasmolytic properties of Poliomintha longiflora and Lippia graveolens essential oils. *Journal of Food Science*, 76 (2), 309-317.
- Rodríguez, Á. A. J., Arteaga, J. J. M., Arango, W. M., & Pabón, M. F. G. (2021). Vasodilator effect of ethanolic extracts of Passiflora vitifolia and Passiflora edulis f. edulis seeds. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 11 (10), 61-69.
- Schleifer, K. H., & Kilpper-Bälz, R. (1984). Transfer of Streptococcus faecalis and Streptococcus faecium to the genus Enterococcus nom. rev. as Enterococcus faecalis comb. nov. and Enterococcus faecium comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 34 (1), 31-34.
- Serwecińska, L. (2020). Antimicrobials and antibiotic-resistant bacteria: a risk to the environment and to public health. *Water*, 12 (12), 3313.

Sirichoat, A., Flórez, A. B., Vázquez, L., Buppasiri, P., Panya, M., Lulitanond, V., & Mayo, B. (2020). Antibiotic resistance-susceptibility profiles of *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus spp.* from the human vagina, and genome analysis of the genetic basis of intrinsic and acquired resistances. *Frontiers in microbiology*, 11, 1438.

Somers P. Jr, & Moran R. C (2009). *Selaginella horizontalis* (C. Presl). Spring. Flora Mesoamerica -Tropicos.

Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14(6), 2167-2180.

Süntar, I. (2020). Importance of ethnopharmacological studies in drug discovery: role of medicinal plants. *Phytochemistry Reviews*, 19 (5), 1199-1209.

Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., Pulcini, C., Kahlmeter, G., Kluytmans, J., Carmeli, Y., Ouellette, M., Outtersson, K., Patel, J., Cavaleri, M., Cox, E. M., Houchens, C. R., Grayson, M. L., Hansen, P., Singh, N., & Zorzet, A. (2018). Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(3), 318–327

Taylor, T. A., & Unakal, C. G (2021). *Staphylococcus aureus*. *StatPearls Publishing*.

Terreni, M., Tacconi, M., & Pregnotato, M. (2021). New antibiotics for multidrug-resistant bacterial strains: latest research developments and future perspectives. *Molecules*, 26 (9), 2671.

Tong, S. Y., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler Jr, V. G (2015). *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical microbiology reviews*, 28(3)., 603-661

Uddin, T. M., Chakraborty, A. J., Khusro, A., Zidan, B. R. M., Mitra, S., Emran, T. B., Dhama, K., Ripon, M. K. H., Gajdács, M., Sahibzada, M. U. K., Hossain, M. J., & Koirala, N. (2021). Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic

strategies, and future prospects. *Journal of Infection and Public Health*, 14 (12), 1750–1766.

Varga, J., Kocsubé, S., Tóth, B., Frisvad, J. C., Perrone, G., Susca, A., Meijer, M., & Samson, R. A. (2007). *Aspergillus brasiliensis* sp. nov., a biseriata black *Aspergillus* species with world-wide distribution. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57 (8), 1925–1932.

Verma, M., Gangwar, M., Sahai, M., Nath, G., & Singh, T. D. (2015). Antimicrobial activity of phytochemicals isolated from *Selaginella bryotepis*. *Chemistry of Natural Compounds*, 51, 341-345.

Verma, R. S., Padalia, R. C., Chauhan, A., & Sundaresan, V. (2014). Essential oil composition of *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski from India. *Journal of Essential Oil Research*, 26 (1), 29-33.

Vieira, T. D., Castro, J. O., da Cunha Fagundes, M., Carla, Â., Mielke, M. S., & Conceição, A. O. (2020). Antimicrobial Activity of *Cariniana legalis* (Lecythidaceae) Seedlings Subjected to Different Light Intensities. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s., 22, 86-90.

Vivas, R., Barbosa, A. A. T., Dolabela, S. S., & Jain, S. (2019). Multidrug-resistant bacteria and alternative methods to control them: an overview. *Microbial Drug Resistance*, 25 (6), 890-908.

Vollaro, A., Esposito, A., Antonaki, E., Iula, V. D., D'Alonzo, D., Guaragna, A., & De Gregorio, E. (2020). Steroid derivatives as potential antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* planktonic cells. *Microorganisms*, 8(4), 468.

Wallis, C. M., Huber, D. P., & Lewis, K. J. (2011). Ecosystem, location, and climate effects on foliar secondary metabolites of lodgepole pine populations from central British Columbia. *Journal of chemical ecology*, 37, 607-621.

World Health Organization [WHO]. (2017). *WHO publishes a list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed*. Recuperado de:

<https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>

World Health Organization [WHO]. (2022). *WHO fungal priority pathogens list to guide research, development, and public health action*. Recuperado de: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>

Wu, W., Jin, Y., Bai, F., & Jin, S. (2015). *Pseudomona aeruginosa*. En *Molecular medical microbiology* 2, (753-767). Academic Press.

Zaffiri, L., Gardner, J., & Toledo-Pereyra, L. H. (2012). History of antibiotics. From salvarsan to cephalosporins. *Journal of Investigative Surgery*, 25 (2), 67-77.

Zlatić, N., Jakovljević, D., & Stanković, M. (2019). Temporal, plant part, and interpopulation variability of secondary metabolites and antioxidant activity of *Inula helenium* L. *Plants*, 8(6), 179.

Zou, Z., Xu, P., Wu, C., Zhu, W., Zhu, G., He, X., Zhang, G., Hu, J., Liu, S., Zeng, W., Xu, K., & Tan, G. (2016). Carboxymethyl flavonoids and a chromone with antimicrobial activity from *Selaginella moellendorffii* Hieron. *Fitoterapia*, 111, 124–129.