



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

TRABAJO DE TITULACIÓN

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

TEMA

**DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO TOTAL DE HONGOS EN DOCE
ESPECIES VEGETALES CULTIVADAS EN ECUADOR**

ASPIRANTE

MARIUXI LISSETTE MEDINA CAIMINAGUA

TUTOR

HAYDELBA D' ARMAS, MSc., PhD.

MACHALA – EL ORO – ECUADOR

2015

CERTIFICACIÓN

Dra. HAYDELBA D' ARMAS, MSc., PhD. tutora del presente Trabajo de Titulación cuyo tema es: **“DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO TOTAL DE HONGOS EN DOCE ESPECIES VEGETALES CULTIVADAS EN ECUADOR”**, desarrollada por: MARIUXI LISSETTE MEDINA CAIMINAGUA, certifico que el presente trabajo investigativo fue desarrollado por el autor en forma sistemática y de acuerdo con las normas establecidas para proyectos de investigación y que luego de revisar su contenido y forma autorizo su presentación.

Machala, 06 de abril del 2015



.....
DRA. HAYDELBA D' ARMAS, MSc., PhD

TUTORA

RESPONSABILIDAD

Yo, MARIUXI LISSETTE MEDINA CAIMINAGUA, autor del presente trabajo de titulación con tema: **“DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO TOTAL DE HONGOS EN DOCE ESPECIES VEGETALES CULTIVADAS EN ECUADOR”**, declaro que la investigación, resultados y conclusiones expuestas en el presente trabajo, son de mi absoluta responsabilidad.

.....
MARIUXI LISSETTE MEDINA CAIMINAGUA
AUTOR

CESIÓN DE DERECHO DE AUTORÍA

Yo, **MARIUXI LISSETTE MEDINA CAIMINAGUA**, con cedula de identidad 0704107275, egresada de la escuela de Bioquímica y Farmacia, de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud, de la Universidad Técnica de Machala, responsable del presente trabajo de titulación con tema: **“DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO TOTAL DE HONGOS EN DOCE ESPECIES VEGETALES CULTIVADAS EN ECUADOR”**, Durante los meses de SEPTIEMBRE del 2014 hasta MARZO del 2015, certifico que la responsabilidad de la investigación, resultados y conclusiones del presente trabajo pertenecen exclusivamente a mi autoría, una vez que ha sido aprobado por mi tribunal de sustentación del trabajo de titulación autorizando su presentación.

Deslindo a la Universidad Técnica de Machala de cualquier delito de plagio y cedo mis derechos de autor a la Universidad Técnica de Machala para que ella proceda a darle el uso que crea conveniente.

.....
MARIUXI LISSETTE MEDINA CAIMINAGUA

C.I. 0704107275

DEDICATORIA

Con todo el cariño y amor a las personas que hicieron posible que pueda lograr mis metas, por su ayuda incondicional cuando más los necesitaba, ya que sin su infinito apoyo no habría sido sencillo lograr mis objetivos profesionales. Esta tesis se las dedico a ustedes:

Papá, Mamá, Esposo e Hijo

AGRADECIMIENTO

Primero darle gracias a Dios por permitirme llegar a este momento tan especial en el transcurso de mi vida.

Mi agradecimiento en especial para cada uno de los profesionales y docentes, que con su paciencia y dedicación, permitieron hacer de este proyecto un gran aporte a la investigación.

Agradezco a mi familia por ayudarme, principalmente a mis padres, a mi esposo e hijo por brindarme sus sabios consejos para tomar decisiones firmes en todas las etapas de mi vida.

A mi tutora HAYDELBA D' ARMAS, MSc., PhD y cotutora la Dra. Carmita Jaramillo, por su orientación y su tiempo en la realización de este trabajo de investigación.

Mariuxi Lissette Medina Caiminagua

LA AUTORA

RESUMEN

El uso de plantas curativas es una de las terapias medicas más antiguas y extendidas que se remota a los tiempos prehistóricos, y en la actualidad también son usadas en la elaboración de fitofármacos con opciones de curar enfermedades. El ensayo de la determinación de hongos se llevó a cabo en el Laboratorio de Planta Piloto de Farmacia (PPF) y el Laboratorio de Microbiología, de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud, de la Universidad Técnica de Machala, en cada área se realizaron distintas labores: laboratorio PPF, se llevó a cabo el tratamiento de las hojas de las especies vegetales y en el laboratorio de Microbiología, área donde se realizó la determinación de hongos de las especies vegetales, utilizando medio de cultivo denominado agar Sabouraud mas la muestra vegetal. Luego se realizó el conteo de colonias, tanto macroscópica que se le determina en el medio de cultivo de la siembra, como microscópica para identificar las formas germinativas usando azul lactofenol. El procedimiento se repitió por duplicado, para obtener réplicas de los datos de los resultados. Se evaluó la determinación del contenido total de hongos a estas doce especies vegetales: *Cymbopogon citratus*, *Melissa officinalis*, *Taraxacum officinale*, *Artemisia absinthium*, *Piper carpunya*, *Moringa oleífera*, *Coriandrum sativum*, *Momórdica charantia*, *Borago officinalis*, *Aloysia citriodora*, *Ambrosia artemisifolia* y *Ageratum conyzoides*.

Los resultados obtenidos, a partir de las muestras analizadas, permitieron encontrar para esta investigación datos significativos en relación con la presencia o ausencia de hongos, cabe anotar que el mastrante presentó un elevado contenido de hongos a diferencia de las otras especies vegetales analizadas.

Palabras Clave: azul lactofenol, hongo, colonias.

ABSTRACT

The use of healing plants is one of the therapies medical more ancient and widespread that is remote to the prehistoric times, and today are also used in the preparation of herbal medicine with options to cure diseases. The determination of fungi test was conducted in the laboratory of pilot plant of Pharmacy (PPF) and the laboratory of Microbiology of the academic Division of chemical sciences and health, of the Technical University of Machala, in each area were performed different tasks: laboratory PPF, was carried out the treatment of the leaves of the plant species and the microbiology laboratory area where the determination of fungi in plant species, was carried out using culture medium called Sabouraud agar more vegetable sample. Then was the counting of colonies, macroscopic that it is determined in the culture of planting medium, and microscopic to identify germ forms using lactophenol blue. The procedure was repeated twice, to obtain outcomes data replicas. The determination of the total content of fungi to these twelve plant species were evaluated: *Cymbopogon citratus*, *Melissa officinalis*, *Taraxacum officinale*, *Artemisia absinthium*, *Piper carpunya*, *Moringa oleifera*, *Coriandrum sativum*, *Momordica charantia*, *Borago officinalis*, *Aloysia citriodora*, *Ambrosia artemesifolia* and *Ageratum conyzoides*.

The results obtained from samples analyzed allowed for this research found significant data concerning the presence or absence of fungi, also should be noted that the mastrante had a high content of fungi in contrast to other plant species analized.

Key words: lactophenol blue, fungus, colonies.

ÍNDICE DE CONTENIDO

<i>RESUMEN</i>	7
INTRODUCCIÓN	15
PROBLEMA	16
JUSTIFICACIÓN	17
OBJETIVOS	18
OBJETIVO GENERAL	18
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
MARCO REFERENCIAL	19
1. ESPECIES VEGETALES	19
1.1 HIERBA LUISA	19
1.1.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS	19
1.1.2 Descripción y hábitat	20
1.1.3 Propiedades y usos	20
1.2 TORONJIL	20
1.2.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS	20
1.2.2 Descripción y hábitat	21
1.2.3 Propiedades y usos	21
1.3 CEDRÓN	21
1.3.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS	22
1.3.2 Descripción y hábitat	22
1.3.3 Propiedades y usos	22
1.4 CILANTRO	22
1.4.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS	23
1.4.2 Descripción y hábitat	23
1.4.3 Propiedades y usos	23
1.5 BORRAJA	23
1.5.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS	24
1.5.2 Descripción y hábitat	24
1.5.3 Propiedades y usos	24

1.6	ACHOCHILLA _____	25
1.6.1	ASPECTOS TAXONÓMICOS _____	25
1.6.2	Descripción y hábitat _____	25
1.6.3	Propiedades y usos _____	25
1.7	AJENJO _____	26
1.7.1	ASPECTOS TAXONÓMICOS _____	26
1.7.2	Descripción y hábitat _____	26
1.7.3	Propiedades y usos _____	26
1.8	ALTAMISA _____	27
1.8.1	ASPECTOS TAXONÓMICOS _____	27
1.8.2	Descripción y hábitat _____	27
1.8.3	Propiedades y usos _____	27
1.9	MASTRANTE _____	28
1.9.1	ASPECTOS TAXONÓMICOS _____	28
1.9.2	Descripción y hábitat _____	28
1.9.3	Propiedades y usos _____	29
1.10	GUAVIDUCA _____	29
1.10.1	ASPECTOS TAXONÓMICOS _____	29
1.10.2	Descripción y hábitat _____	29
1.10.3	Propiedades y usos _____	30
1.11	MORINGA _____	30
1.11.1	ASPECTOS TAXONÓMICOS _____	30
1.11.2	Descripción y hábitat _____	31
1.11.3	Propiedades y usos _____	31
1.12	DIENTE DE LEÓN _____	31
1.12.1	ASPECTOS TAXONÓMICOS _____	32
1.12.2	Descripción y hábitat _____	32
1.12.3	Propiedades y Usos _____	32
1.13	GENERALIDADES SOBRE HONGOS COMUNES EN PLANTAS	33
1.13.1	Hongos y seguridad alimentaria _____	33
1.13.2	Hongos Oportunistas _____	33
1.13.3	Hongos que viven dentro de las plantas _____	34
1.14	IMPORTANCIA DEL CONTROL MICROBIOLÓGICO EN LAS ESPECIES VEGETALES _____	35

1.15	MEDIOS DE CULTIVO	35
1.15.1	Sabouraud	36
2	DISEÑO METODOLÓGICO	37
2.1	Localización de la investigación	37
2.2	Universo de trabajo	37
2.3	Tipo de muestras	37
3	MATERIALES Y MÉTODOS	37
3.1	MATERIALES	37
3.2	TIPO DE INVESTIGACIÓN	39
3.3	SELECCIÓN DE LA MUESTRA	39
3.4	PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS	39
3.4.1	Lavado y secado	39
3.4.2	Molienda	40
3.5	PROCEDIMIENTOS EN EL LABORATORIO	40
3.5.1	Sembrado en agares	41
3.5.2	Tipificación de colonias	42
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
5	CONCLUSIONES	49
6	RECOMENDACIONES	50
7	BIBLIOGRAFÍA	51

INDICE DE TABLAS

TABLA	Análisis macroscópico de la presencia de hongos	42
1.	en las hojas de <i>Moringa oleífera</i>	43
	(moringa).....	
TABLA	Análisis macroscópico de la presencia de hongos	45
2.	en las hojas de <i>Cymbopogon citratus</i> (hierba	46
	luisa).....	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Representación gráfica del recuento total de hongos presentes en hojas de las doce plantas medicinales	47
------------------	--	----

INDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Planta de Hierba luisa (<i>Cymbopogon citratus</i>)	18
FOTOGRAFÍA No. 2	Planta de Toronjil (<i>Melissa officinalis</i>)	19
FOTOGRAFÍA No. 3	Planta de Cedrón (<i>Aloysia citriodora</i>)	20
FOTOGRAFÍA No. 4	Planta de Cilantro (<i>Coriandrum sativum</i> L)	21
FOTOGRAFÍA No. 5	Planta de Borraja (<i>Borago officinalis</i> L.)	22
FOTOGRAFÍA No. 6	Planta de Achochilla (<i>Momórdica charantia</i>)	24
FOTOGRAFÍA No. 7	Planta de Ajenjo (<i>Artemisia absinthium</i> L)	25
FOTOGRAFÍA No. 8	Planta de Altamisa (<i>Ambrosia artemisiifolia</i>)	26
FOTOGRAFÍA No. 9	Planta de Mastrante (<i>Ageratum conyzoides</i>)	27
FOTOGRAFÍA No. 10	Planta de Guaviduca (<i>Piper carpunya</i>)	28
FOTOGRAFÍA No. 11.	Planta de Moringa (<i>Moringa oleífera</i>)	29
FOTOGRAFÍA No. 12	Planta de D. de león (<i>Taraxacum officinalis</i>)	30

INTRODUCCIÓN

Históricamente, los productos de origen vegetal, particularmente las plantas medicinales y sus extractos, han pasado de tener un papel de supremacía en el arsenal terapéutico a un discreto segundo plano, para volver a tener, en las dos últimas décadas, una presencia cada vez mayor en la terapéutica. Los remedios a base de plantas medicinales presentan ventajas con respecto a los tratamientos químicos.

En las plantas los principios activos se hallan siempre biológicamente equilibrados por la presencia de sustancias complementarias, que van a proporcionarse entre sí, de forma que, en general, no se acumulan en el organismo, y sus efectos indeseables están limitados. Sin embargo, a pesar de que han aumentado las investigaciones y estudios científicos de las plantas medicinales, todavía no se conocen muchos de los principios activos a los que deben las plantas sus extraordinarias cualidades (TORRES y ARIAS, 2007).

La importancia de la medicina tradicional en la cultura de los pueblos, ha permanecido durante muchos años, jugando un papel importante como medio para tratar y curar enfermedades.

Las plantas medicinales representan en el mundo entero un tesoro conocido y utilizado desde tiempos muy remotos. La botánica ha ocupado y sigue ocupando en muchos países un lugar prominente en el arte de curar.

El conocimiento y la capacitación en el manejo adecuado de las especies vegetales, como su forma de cultivo, secado, almacenamiento y procesamiento han permitido no solo darle un uso prolongado sino garantizar su calidad; por ello ha surgido la necesidad de buscar alternativas, que ayuden a entregar al consumidor productos confiables (TORRES, 2006).

PROBLEMA

En Ecuador es indudable la importancia de las especies vegetales para la medicina moderna, durante mucho tiempo los remedios naturales y dichas especies fueron el principal e incluso el único recurso del que disponía el médico. El uso indiscriminado de hierbas medicinales, principalmente las ingeridas, puede acarrear reacciones adversas. Muchos creen que por ser un producto natural no produce efectos secundarios, pero no es así. Aunque son una alternativa para el tratamiento de diversas afecciones, también pueden producir a la larga, efectos negativos si se consume de manera inapropiada o sin su cuidado respectivo (NÚÑEZ, 1982).

La presencia de hongos en las especies vegetales medicinales revela una conservación o manipulación inadecuada en la cosecha y pos cosecha, por lo que sus principios activos son alterados, por ende, las drogas vegetales deben presentar un conjunto de especificaciones que aseguren su calidad, entre las que se encuentran las microbiológicas.

El estudio científico de las plantas medicinales es una fuente relevante para el descubrimiento de nuevos fármacos que luego se sintetizan, pero también permite un conocimiento más profundo de los vegetales que conduce a que muchos productos naturales sean reconocidos como fitofármacos, es decir, compuestos que igualan el nivel de los fármacos de síntesis.

Considerando lo anterior, se decidió realizar un estudio para evaluar el contenido total de hongos presentes en doce plantas medicinales existentes en Ecuador: hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), toronjil (*Melissa officinalis*), diente de león (*Taraxacum officinalis*), cedrón (*Lippia citriodora*), cilantro (*Coriandrum sativum* L), borraja (*Borago officinalis* L.), achochilla (*Momórdica Charantia*), altamisa (*Ambrosia artemisifolia*), mastrante (*Ageratum conyzoides*), ajeno (*Artemisia absinthium* L), guaviduca (*Piper carpunya*) y moringa (*Moringa oleífera*).

JUSTIFICACIÓN

La herbolaria o medicina tradicional es un método de curación que utiliza hierbas medicinales y que se ha aprovechado durante siglos. En los países más necesitados cobra mayor importancia y, a pesar del avance de la tecnología y la generación de nuevos medicamentos, estos preparados naturales, simples de elaborar y de bajo costo, ocupan un lugar en el mercado como medicinas alternativas.

Las condiciones en que se almacenan las especies vegetales que se expenden en el mercado no son las ideales, evidenciado por: pisos sucios, almacenamiento en conjunto entre diferentes especies vegetales, entre otros; lo cual representa un riesgo de contaminación, produciéndose un deterioro en la calidad de las mismas. Por lo tanto, este trabajo dará a conocer la eficacia que tienen estas plantas, para ser utilizadas en la elaboración de medicamentos, que puedan ayudar a las personas que presenten algunas patologías, pudiendo ser éstas sanadas por la potente acción de estas maravillosas plantas medicinales.

Con esta investigación se contribuiría a que estas plantas sean reconocidas por todos, se conozca lo valiosas que son las mismas, y principalmente los beneficios que estas brindan a la población en el área de la salud.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Determinar el contenido total de hongos en doce especies vegetales cultivadas en Ecuador.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Procesar las especies vegetales previamente a su utilización en la investigación (selección de hojas, lavado, secado y molienda).
- Obtener los extractos en solución salina de las diferentes especies vegetales a estudiar.
- Ensayar los diferentes extractos en el medio de cultivo seleccionado para la determinación del conteo total de hongos.

MARCO REFERENCIAL

1. ESPECIES VEGETALES

La etnobotánica trata del conocimiento botánico de las plantas por parte de las comunidades indígenas y comprende una estrecha relación entre las plantas y las personas que la utilizan.

Como planta medicinal se conoce a cualquier planta que en uno o más de sus órganos contiene sustancias que pueden ser utilizadas con finalidad terapéutica o que son precursores para la síntesis químico-farmacéutica.

En la actualidad las plantas medicinales deben ostentar las consideraciones legales para la elaboración de los medicamentos (CRUZ, 2009).

1.1 HIERBA LUISA



Fotografía N° 1. Planta de Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*)

1.1.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS

Clasificación botánica

Familia: *Poaceae*

Género: *Cymbopogon*

Nombre Científico: *Cymbopogon citratus*

Nombres Comunes: hierba limón, toronjil de caña, limoncillo, pajete, caña de limón, caña santa, hierba de la calentura, malojillo.

1.1.2 Descripción y hábitat

Es vivaz, leñosa, arbustiva, que puede alcanzar 1 m y más de altura. Los tallos son largos, delgados y asurcados por pequeñas costillas longitudinales. Las hojas están insertas en cada nudo, en vértices de tres; tienen un peciolo corto y son lanceoladas de borde entero con una nerviación central muy saliente por su envés de los que parten casi perpendicularmente numerosas nerviaciones secundarias (MUÑOZ, 1996).

1.1.3 Propiedades y usos

Las hojas tienen un característico olor a limón, las hojas y sumidades contienen del 0,20 al 0,25 % de aceite esencial cuyos componentes mayoritarios son: limonero, citral, geraniol, 40-45 % de sesquiterpenos, verbenona, aldehído y cetonas. Es tónico, alivia dolores musculares y dolores de cabeza, estomacica, digestiva, antiespasmódica y carminativa, aumenta la circulación sanguínea, a su vez es usada en problemas de cansancio y estrés (MUÑOZ, 1996).

1.2 TORONJIL



Fotografía N° 2. Planta de Toronjil (*Melissa officinalis*)

1.2.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS

Clasificación botánica

Familia: *Lamiaceae*

Género: *Melissa*

Nombre Científico: *Melissa officinalis*

Nombres Comunes: apiastro, citronella, hierba buena, hierba limonera, melisa, te de calazo, toronjil de limón, toronjilla, toronjil falso, verde-limón.

1.2.2 Descripción y hábitat

Planta herbácea, perenne, hasta de 80 cm de altura, pubescente. Tallos simples, caducos, cuadrangulares, hojas opuestas, aovadas a oval-cordiformes, base ancha, fragante, con olor a limón. Toda la planta exhala un penetrante olor a limón. La melisa es originaria de la cuenca del mar Mediterráneo. Difundida por el cultivo, se ha naturalizado en toda la Europa templada. Crece de forma silvestre en prados húmedos, claros de bosque, sobre suelos ricos en materia orgánica (MENDIOLA, 2009).

1.2.3 Propiedades y usos

Es una droga usada en la medicina tradicional como excitante, cicatrizante, sedante, carminativo, reconstituyente, antibacteriano, antiespasmódico, febrífugo, colérico, antiinflamatoria, antialérgica y actividad antibiótica. Los extractos tienen propiedades antivirales a causa del ácido rosmarínico y de otros polifenólicos. Los extractos acuosos inhiben la división de las células tumorales en animales de laboratorio (FONNEGRA y JIMÉNEZ, 2007).

1.3 CEDRÓN



Fotografía N° 3. Planta de Cedrón (*Aloysia citriodora*)

1.3.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS

Clasificación botánica

Familia: *Verbenácea*

Género: *Aloysia*

Nombre Científico: *Aloysia citriodora*

Nombres Comunes: verbena de Indias, cedrón, hierba luisa, cidrón.

1.3.2 Descripción y hábitat

Es un arbusto de tallo leñoso que mide entre 1,50 y 2,50 metros de altura., con hojas sencillas, lanceoladas, aterciopeladas y finamente dentadas. Despiden una fuerte fragancia a limón. Flores pequeñas blanquecinas o blanquecino-violáceas, agrupadas en espigas. Nativa de Sudamérica, crece de forma silvestre en los países andinos desde Colombia hasta Chile y Argentina. Tanto en Europa como África puede cultivarse en regiones templadas.

1.3.3 Propiedades y usos

Contiene aproximadamente 120 principios activos diferentes entre los que se destacan limoneno, citral, linalol, cineol, geraniol, terpineol, cariofileno y neral. La parte que más se utiliza son las hojas y flores. Posee acción farmacológica, sedante, tranquilizante, antiflatulento, antiespasmódico, antioxidantes y bactericida contra *Helicobacter pylori* a una concentración de 0,01% y pH 4,0 y 5,0 (FONNEGRA y JIMÉNEZ, 2007).

1.4 CILANTRO



Fotografía N° 4. Planta de Cilantro (*Coriandrum sativum* L)

1.4.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS

Clasificación botánica

Familia: *Apiaceae*

Género: *Coriandrum*

Nombre Científico: *Coriandrum sativum* L

Nombres Comunes: celandria, cilandro, cuantrillo, culantro, salandria, xendro.

1.4.2 Descripción y hábitat

Se trata de una hierba muy versátil utilizada en la cocina, se usan las hojas frescas y las semillas secas. Planta anual que alcanza unos 40 ó 60 cm de altura. Tiene tallos erectos con distintas estrías longitudinales, hojas compuestas, flores blancas y frutos aromáticos; esta planta fue una de las primeras especias introducidas en América, donde se usó como planta medicinal y como conservante de alimentos. Es originario del sureste de Europa y Latinoamérica.

1.4.3 Propiedades y usos

El cilantro como planta medicinal, posee propiedades carminativas, por lo que alivia y previene los molestos síntomas de la aerofagia, contribuye a la eliminación de los gases intestinales y aligera las digestiones. También se le atribuyen propiedades antisépticas y estimulantes (TORRES y TAPIA, 2006).

1.5 BORRAJA



Fotografía N° 5. Planta de Borraja (*Borago officinalis* L.)

1.5.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS

Clasificación botánica

Familia: *Boraginaceae*

Género: *Borago*

Nombre Científico: *Borago officinalis* L.)

Nombres Comunes: lengua de buey, borracha, borrachuela, borraja, buglosa vulgar, corrago, flores cordiales, forrajas, lengua de buey, pulmonar, árnica.

1.5.2 Descripción y hábitat

Es una planta herbácea anual hasta 80 cm de altura con cerdas o pelos en tallo y hojas. Las hojas son alternas y simples. Las flores son completas, con 5 pétalos estrechos y triangulares terminados en punta, principalmente de color azul, aunque también se encuentran en rosa y se cultivan variedades de flor blanca. De la borraja se utilizan las hojas tiernas, flores y semillas (MENDIOLA, 2009).

1.5.3 Propiedades y usos

Desde la antigüedad son conocidos sus efectos beneficiosos. Hoy se conocen sus cualidades diuréticas, sudoríficas, contra la inflamación de próstata, antiestrés y emoliente de la piel. El aceite de semillas de borraja actúa como emoliente y tonificante. Es beneficiosa para las afecciones de piel, por su contenido en niacina o ácido nicótico. Suaviza la piel, pero es muy potente y necesita supervisión médica, buena contra la tos por su acción descongestionante, calmante y expectorante, para la tensión arterial alta, el exceso de colesterol, y la regulación de estrógenos. Los tratamientos prolongados deben ser cuidadosos por la presencia de alcaloides pirrolizidínicos tóxicos para el hígado.

Antiguamente se decía que el agua de borrajas en infusión de sus flores, era estimulante del corazón (MUÑOZ y MONTES, 2004).

1.6 ACHOCHILLA



Fotografía N° 6. Planta de Achochilla (*Momordica charantia*)

1.6.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS

Clasificación botánica

Familia: *Cucurbitaceae*

Género: *Momordica*

Nombre Científico: *Momordica charantia*

Nombres Comunes: melón amargo, cundeamor chino o balsamina.

1.6.2 Descripción y hábitat

Es una planta que se da exclusivamente en el trópico, es considerada maleza ya que daña los cultivos. Planta anual, herbácea, vivaz, de tallos flexibles, y crece hasta 5 m. Tiene hojas simples, lobuladas y nervaduras (de tres a siete) bien marcadas. La fruta presenta verrugas y forma oblonga. Tiene una gran variedad de formas y tamaños. Parte utilizada: frutos, hojas, semillas y raíz. A dosis orales altas producen efectos tóxicos.

1.6.3 Propiedades y usos

Ha sido muy usada en el litoral ecuatoriano en donde los nativos de la zona la usan frecuentemente para curar dolores abdominales, infecciones, raquitismo, fiebre, resfrió, desordenes menstruales, insecticida, en tratamientos para parásitos, bajar de peso y muchos sostienen que la planta es abortiva. En algunos lugares del mundo la planta ha sido estudiada por laboratorios de alto

prestigio, donde se ha determinado que tiene propiedades hipoglucémicas, afrodisiácas (ARANGO, 1956).

1.7 AJENJO



Fotografía N° 7. Planta de Ajenjo (*Artemisia absinthium* L.)

1.7.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS

Clasificación botánica

Familia: *Asteraceae*

Género: *Artemisia*

Nombre Científico: *Artemisia absinthium* L.

Nombres Comunes: asensio, artemisia amarga, absenta, ajonjio, artemisa.

1.7.2 Descripción y hábitat

Es una planta silvestre, se cultiva en todas las regiones del mundo. Mide hasta 1 m de altura, muy ramificada, tallos erectos con ramas herbáceas, flexibles, de olor muy fuerte característico y agradable para muchas personas, sus hojas alternas trilobuladas las inferiores y bilobuladas las superiores, las inferiores son más grandes que las superiores y se hacen más pequeñas hacia arriba.

1.7.3 Propiedades y usos

Los preparados de la droga administrados por vía oral producen un incremento de las secreciones gástricas y de bilis, debido, principalmente, a los principios

amargos. Como planta medicinal entre sus propiedades se menciona que la más importante es la aperitiva. Es un tónico estomacal, vermífugo y favorecedora de la digestión, antihelmíntico, carminativa, espasmódica, antibacteriana y antifúngica. Es muy útil como repelente de insectos (LIFCHITZ, 2006).

1.8 ALTAMISA



Fotografía N° 8. Planta de Altamisa (*Ambrosia artemisiifolia*)

1.8.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS

Clasificación botánica

Familia: *Asteraceae*

Género: *Ambrosia*

Nombre Científico: *Ambrosia artemisiifolia*

Nombres Comunes: Estafiate, ajenjo del país, amargosa, artmisia, Santa María.

1.8.2 Descripción y hábitat

Hierba hasta de 1 m de alto: erecta y ramosa: tallos algo pubescentes, estriados. Hojas, las superiores alternas a las inferiores opuestas, con los lóbulos profundos, pubescentes, agudos y dentados. Inflorescencia en cabezuelas dispuestas en espigas, pequeñas y muy apretadas. Fruto ovoideo pequeño, con espinas en el vértice. Originaria de América boreal (CRUZ, 2009).

1.8.3 Propiedades y usos

Es utilizada para dolores de cabeza y de estómago, paludismo, sudorífica, hígado, problemas intestinales, regular el ciclo menstrual, antimalárica. La

altamisa contiene absintina, proteínas, xantoninas, esencias (cineol, eucaliptol y terpenos), resina e inulina. El extracto acuoso de las hojas es activo contra *Plasmodium falciparum* y *Staphylococcus aureus* (BLAIR y MADRIGAL, 2005).

1.9 MASTRANTE



Fotografía N° 9. Planta de Mastrante (*Ageratum conyzoides*)

1.9.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS

Clasificación botánica

Familia: *Asteraceae*

Género: *Ageratum*

Nombre Científico: *Ageratum conyzoides*

Nombres Comunes: celestina, flor azul, hierba de chivo, mastranto, retentina, Caángay, flor noble.

1.9.2 Descripción y hábitat

Planta perenne, leñosa, con nudos enraizantes; tallo erecto cuadrangular ramificado de 1 a 1.5 m de alto, que pueden estar poco o muy ramificados. Las hojas son sésiles o cortamente peciolados y rugosas, con nervios marcados de forma elíptica a ovada. Las flores aparecen reunidas en inflorescencias. Esta planta crece en zonas húmedas tanto ácidas como básicas, crecen en plena luz aunque soporta sombra.

1.9.3 Propiedades y usos

Es una planta muy valorada, al igual que otras especies del género, por sus propiedades medicinales. Es útil por sus propiedades antisépticas y los beneficios que aporta en la digestión. Las hojas, tallos y flores son antiasmáticas, carminativas y estimulantes; la infusión se emplea para tratar fiebres y dolores de cabeza. El extracto de la planta, sin raíz, es usado por la ciencia médica como un excelente hipotensor. En dosis altas es tóxica y no debe ser consumida por mujeres embarazadas (FONNEGRA y JIMÉNEZ, 2007).

1.10 GUAVIDUCA



Fotografía N° 10. Planta de Guaviduca (*Piper carpunya*)

1.10.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS

Clasificación botánica

Familia: *Piperaceae*

Género: *Piper*

Nombre Científico: *Piper carpunya*

Nombres Comunes: carpundia, guaviduca, cordoncillo aromático u oloroso.

1.10.2 Descripción y hábitat

Árbol silvestre de 8 metros de alto; ramillas con nudos hinchados; hojas alternas, elípticas, las inflorescencias son amentos. Habita en la cuenca del Amazonas, especie endémica de las regiones del norte de América del Sur. Es un

remedio con propiedades antiinflamatorias y antiulcerosos que se utiliza en la medicina popular en el Ecuador.

1.10.3 Propiedades y usos

Las hojas de *Piper carpunya*, son ampliamente utilizados en la medicina popular en los países tropicales y subtropicales de América del Sur como un remedio antiinflamatorio, antiúlceras, antidiarreico y antiparasitario, para las irritaciones de la piel y cólicos menstruales. Su polvo ahuyenta los insectos. El aceite de las hojas contienen [alfa]-terpineno, p-cimeno, 1,8-cineol, safrol y espatulenol. Sus principales aplicaciones son en el tratamiento de problemas digestivos como el estómago y carminativas, para reducir nutaciones de la piel (QUINTANA, 2012).

1.11 MORINGA



Fotografía N° 11. Planta de Moringa (*Moringa oleífera*)

1.11.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS

Clasificación botánica

Familia: *Moringaceae*

Género: *Moringa*

Nombre Científico: *Moringa oleífera*

Nombres Comunes: árbol milagroso, árbol de la vida, tilo francés, paraíso blanco.

1.11.2 Descripción y hábitat

Planta pequeña caducifolia de crecimiento rápido, poco ramificada, que puede alcanzar 10-12m de altura. Las hojas compuestas están formadas por 4-5 pares de folíolos opuestos. Las flores odoríferas cuelgan en racimos de color blanco amarillo. El fruto es una cápsula alargada de 20-45 cm de longitud, color pardo oscuro. Es un árbol originario del Himalaya, la India, Bangladesh. Se encuentra diseminado en una gran parte del planeta y en América Central.

1.11.3 Propiedades y usos

Se le llama árbol milagroso porque todas sus partes dan beneficios. La *M. oleífera* rivaliza en eficacia con las sales de aluminio, y parece ser una alternativa viable ya que no es tóxica, es biodegradable y se ha documentado la reducción de turbidez, arcilla y contenido bacteriológico en el agua tras la aplicación de sus semillas. Sus usos van desde la medicina tradicional, como alimento y aceite de cocina, hasta su uso como pesticida natural, producto de limpieza doméstico y como biocombustible. Una de las características más atractivas de la moringa es el alto contenido de proteína en sus hojas, potasio, calcio y provitamina A. Todas las partes de la planta son comestibles: las vainas verdes, las hojas, las flores, las semillas y las raíces (OLSON y FAHEY, 2011).

1.12 DIENTE DE LEÓN



Fotografía N° 12. Planta de Diente de León (*Taraxacum officinalis*)

1.12.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS

Clasificación botánica

Familia: *Asteraceae*

Género: *Taraxacum*

Nombre Científico: *Taraxacum officinalis*

Nombres Comunes: amargón, botón de oro, pelusilla, almirón, flor de macho.

1.12.2 Descripción y hábitat

Nativa de Grecia. Diseminada por todo el mundo en terrenos secos. Se propaga por semillas. Planta de raíz gruesa que cuando se corta arroja látex blanco. Del extremo superior de la misma, a ras de suelo, brotan las hojas con tallo corto que suele alcanzar 40 cm de altura. Hojas espatuladas. Las flores tienen figura de lengüeta, rematan en cinco puntitas y son de color amarillo o blanco. Dentro de la cabezuela se forman los frutos, pequeños algo más anchos hacia arriba, al madurar forman un globito blanco y basta un soplo para que se desprendan y vuelen a merced del aire (ARANGO, 1956).

1.12.3 Propiedades y Usos

Posee propiedades digestivas, colagogo, colerético, depurativo, se utiliza en tratamientos de paludismo, desordenes en el vaciamiento de la bilis, hemorroides, enfermedades de la piel, diabetes, cálculos renales, laxante, contra los altos niveles de colesterol, la ictericia, el estreñimiento y la obesidad. Las hojas y raíces de esta planta poseen varias propiedades que la convierten en una de gran utilidad terapéutica. Las hojas actúan como un diurético aumentando el flujo de orina (ASQUI, 2012).

1.13 GENERALIDADES SOBRE HONGOS COMUNES EN PLANTAS

Los hongos se encuentran o invaden hábitats muy diversos (son organismos ubicuos) y cumplen una de las funciones más importantes en el ecosistema que es la degradación de material orgánico.

Los hongos se diseminan en forma de esporas que son arrastradas por el viento o que se adhieren a las patas de los insectos. Con la llegada de las lluvias y los riegos abundantes es más probable que las esporas se adhieran a las plantas y entonces se inicia la invasión (URIBARREN y CASTAÑÓN, 2013).

1.13.1 Hongos y seguridad alimentaria

La alteración en los hábitos alimenticios del hombre se traduce, sobre todo, en la demanda de alimentos que no sólo tengan una acción nutritiva, sino que, además, posean otras acciones que permitan mejorar la calidad de vida. En este sentido, se ha hecho especial hincapié en los alimentos vegetales, ya que las recomendaciones nutricionales aconsejan disminuir el consumo de carne y sus derivados y, por otra parte, aumentar el consumo de vegetales. Sin embargo, los productos perecederos pueden ser infectados por microorganismos dañinos antes o después de la cosecha, o bien durante su almacenamiento, entre los cuales destacan los hongos fitopatógenos. En especial, el deterioro y la destrucción ocasionada por estos hongos a ciertas especies se centran en áreas tropicales, donde su desarrollo es favorecido por las elevadas temperaturas y humedad ahí prevaleciente (ESPINOZA y RAMÍREZ, 2007).

1.13.2 Hongos Oportunistas

De modo opuesto a las plantas, los hongos son organismos carentes de clorofila, con el cuerpo generalmente en forma de hilos microscópicos y provisto de paredes celulares, que se ramifica en todas direcciones y se extiende sobre o dentro del sustrato utilizado como alimento.

Cada hilo es conocido con el nombre de “hifa”; al conjunto de hifas se le denomina micelio. Así, dependiendo de la especie, el micelio puede ser continuo

o estar interrumpido en intervalos regulares por tabiques que dividen la hifa en células. Los hongos son organismos que se reproducen por medio de esporas, al igual que ciertas plantas superiores, lo cual les permite sobrevivir en condiciones desfavorables; sin embargo, éstos producen esporas en cantidades francamente fabulosas, con el único propósito de incrementar su población y diseminación.

De este modo, géneros como *Aspergillus* y *Penicillium* poseen esta característica, en su máxima expresión, y ello les capacita para reproducirse hasta en los lugares más lejanos y extraños de la tierra, convirtiéndose así en unos oportunistas de primera clase.

En general, la mayor parte de los hongos pasan una parte de su existencia en las plantas, en el suelo o en los residuos vegetales. De esta manera, debido a que los hongos utilizan todos los medios a su alcance para dispersarse, reproducirse y desarrollarse, todos se comportan como unos verdaderos practicantes del oportunismo (SALINAS y ROMERO, 2007).

1.13.3 Hongos que viven dentro de las plantas

En la naturaleza existen asociaciones entre organismos que pueden ser o no benéficas, y tratándose de plantas, hay organismos que habitan dentro y/o sobre ellas. En general existen tres tipos de asociaciones naturales: 1) Organismos saprobios, los cuales únicamente crecen sobre el sustrato que habitan, 2) Los patógenos, organismos y elementos capaces de causar enfermedades, 3) Los hongos endófitos, catalogados como simbioses y referidos en términos reales como una “simbiosis”.

Endófito literalmente significa “dentro de la planta” y con este nombre se conoce a los hongos que habitan en su tejido interno durante un período más o menos largo de tiempo, sin causarles daño aparente (MEDEL, 2007).

1.14 IMPORTANCIA DEL CONTROL MICROBIOLÓGICO EN LAS ESPECIES VEGETALES

Los productos de origen natural generalmente suelen contener un elevado número de hongos, sobre todo procedentes del suelo en el caso de las hierbas. Las condiciones en las que se recolectan las materias primas favorecen una contaminación abundante y el crecimiento de la microbiota, aunque estos productos se desecan por calentamiento se disminuye considerablemente la actividad de los microorganismos. La carga microbiana en estos productos puede reducirse mediante el empleo de óxido de etileno y, en menor medida con oxido de propileno. La irradiación también es efectiva en la reducción de los microorganismos presentes. Después de la recolección y desecación no se producen alteraciones de origen bacteriano, sin embargo, los hongos pueden desarrollarse por factores como temperatura y humedad durante almacenamiento y el transporte (TORRES, 2006).

1.15 MEDIOS DE CULTIVO

Uno de los sistemas más importantes para la identificación de microorganismos es observar su crecimiento en sustancias alimenticias artificiales preparadas en el laboratorio. El material alimenticio en el que crecen los microorganismos es el medio de cultivo. El agar es un elemento solidificante muy empleado para la preparación de medios de cultivo. Se licúa completamente a la temperatura del agua hirviendo y se solidifica al enfriarse a 40 grados. En los diferentes medios de cultivo se encuentran numerosos materiales de enriquecimiento como hidratos de carbono, suero, sangre completa, bilis, etc.(TORRICO y MEDINA, 2012).

Los medios pueden ser sólidos o líquidos. Para conseguir un medio sólido se debe agregar una sustancia solidificante como el agar (gelatina vegetal) o el agar agar (polisacáridos provenientes de algas), el cual no tiene valor nutritivo sino que sirve simplemente para mantener la humedad por un tiempo más o menos prolongado. La humedad es fundamental para el desarrollo de los hongos,

porque cuando ésta comienza a disminuir, la formación de micelio también disminuye y el hongo tiene que asegurar su perpetuidad formando estructuras propagativas (esporas, conidias) y de conservación (clamidosporas). El agar empieza a derretirse a partir de 80 °C y soporta temperaturas altas sin descomponerse, solidificándose entre los 35 y 50 °C (AMES y CAÑEDO, 2004).

1.15.1 Sabouraud

Es un medio de cultivo muy utilizado para aislar hongos de especies vegetales. Sirve para el aislamiento y mantenimiento de hongos en tubo inclinado. Debido a su composición, los hongos crecen exuberantemente y esporulan bien. Es el medio estándar para observar la morfología típica de los hongos, pero no es el medio ideal de crecimiento o para estudiar la esporulación. Este medio de cultivo es utilizado para cultivo de mohos y levaduras patógenas y no patógenas.

El bajo pH del medio resulta favorable para el crecimiento de los hongos y ligeramente inhibitorio para las bacterias. En caso de requerirse un incremento en la inhibición del crecimiento de bacterias, se recomienda añadir agentes antimicrobianos como la gentamicina que inhibe el crecimiento de los microorganismos Gram negativos o el cloranfenicol que tiene un amplio espectro de acción (AMES y CAÑEDO, 2004).

2 DISEÑO METODOLÓGICO

2.1 Localización de la investigación

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Planta Piloto de Farmacia y el Laboratorio de Microbiología, de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud, de la Universidad Técnica de Machala.

2.2 Universo de trabajo

El universo de la presente investigación está constituido por las expendedoras de plantas de uso medicinal en el mercado central de la ciudad de Machala, y en el caso de la *Moringa oleífera* se cultivó en la Facultad de Agronomía de la UTMACH, lugares en donde se recolectaron las muestras objeto de estudio.

2.3 Tipo de muestras

Se recolectaron, sin orden alguno y en forma manual, muestras frescas de las doce plantas en estudio.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

Para el estudio del contenido total de hongos se utilizaron los siguientes materiales:

3.1 MATERIALES

Materiales de laboratorio

- Cajas Petri (Pyrex)
- Mecheros de vidrio
- Pipetas automáticas (plus - sed)
- Frascos de vidrio de 500 ml
- Asas bacteriológicas de 10ul

- Placas porta y cubreobjetos
- Gradillas para tubos de ensayo
- Matraz Erlenmeyer de 500 y 1000 ml (superior)
- Bolsas de polietileno asépticas y herméticas
- Tubos de ensayo con tapa roscada de 15 ml
- Vasos de precipitación de 100 ml y 500ml (Pyrex)

Equipos

- Estufa (Mettler)
- Plancha eléctrica (Haceb)
- Incubadora (Mettler)
- Balanza analítica (Ohaus)
- Microscopio óptico (LW scientific)
- Autoclave (Tuttnauer)
- Cámara de Flujo Laminar (Streamline)
- Mini trituradora de cuchillos de acero (mini Pro™ plus)

Reactivos

- Alcohol al 70% (calidad técnica)
- Azul lactofenol
- Agar Sabouraud (Difco)
- Agua destilada estéril
- Peptona (Bacto)

3.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación fue un trabajo descriptivo, exploratorio y experimental para determinar el contenido total de doce especies vegetales cultivadas en Ecuador.

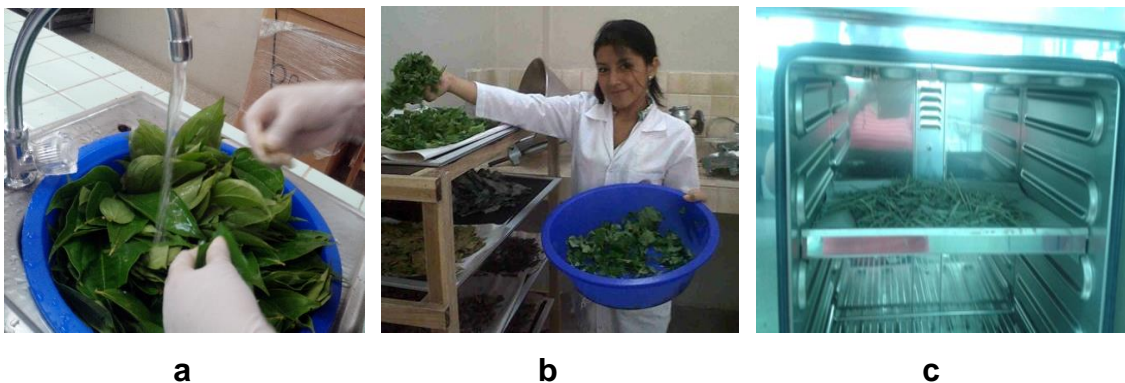
3.3 SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Para este trabajo se utilizaron las hojas frescas de las doce especies vegetales (ver Anexo 1, fotografía 1), adquiridas en el mercado central de la ciudad de Machala, lugar en que se las expenden; a excepción de la moringa que fue cultivada en la Facultad de Agronomía de la UTMACH.

3.4 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

3.4.1 Lavado y secado

Las muestras se lavaron, primero con agua corriente con el objetivo de eliminar por completo la tierra, lodo y otras impurezas que se encuentren. Luego, se trataron con agua destilada estéril para posterior secado bajo sombra, por 24 horas colocadas sobre papel absorbente estéril, en un área previamente tratada con alcohol potable, luego se sometieron a un secado en estufa a 40°C por 24 horas como se observa en la fotografía N° 13.



Fotografía N°13. Tratamiento de las hojas

a: Lavado. **b:** Secado a temperatura ambiente. **c:** Secado en estufa a 40°

3.4.2 Molienda

La molienda de las muestras vegetales, ya previamente secas, se realizó con ayuda de una mini trituradora de cuchillas de acero (ver Anexo 1, fotografía 2), previamente desinfectadas con alcohol al 70%, fueron trituradas lo más fino posible, y se embalaron en bolsas herméticas estériles debidamente rotuladas y colocadas en un lugar seco durante 3 a 5 días, para su posterior manipulación.

3.5 PROCEDIMIENTOS EN EL LABORATORIO

En el laboratorio se procedió a realizar la debida limpieza y desinfección del área de trabajo para evitar interferencias del ambiente. Posteriormente, se procedió a la pesada de unidades muestrales de 10 g de cada droga cruda para preparar una solución madre como se observa en la fotografía N° 14.



Fotografía N° 14. Pesada de muestras

Pesada cada una de las muestras, se colocó en un recipiente de vidrio con tapa de rosca, llevando a una dilución 1/10 (m/v) en 90 ml de agua peptona estéril como se observa en la fotografía N° 15.



Fotografía N° 15. Diluciones en agua peptona

Para el extracto acuoso obtenido, se procedió a mezclar cada una de las muestras veinticinco veces, luego se llevaron a filtrar cada muestra con gasa sobre un recipiente estéril; una vez obtenido el filtrado, se prepararon las diluciones seriadas 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000, 1/100000 a partir de la solución madre 1/10 con agua y en tubos de tapa rosca estéril como se observa en la fotografía N° 16.



Fotografía N° 16. Diluciones seriadas por producto

3.5.1 Sembrado en agares

Una vez preparadas las distintas diluciones con las drogas vegetales, se procedió a ensayar a cada una de éstas en un medio de cultivo denominado agar Sabouraud (hongos y levaduras) a 30°C preparado con un antibiótico como el cloranfenicol para que éste inhiba el crecimiento de bacterias (GALLARDO y RISSO, 2004); a partir de las diluciones 10^1 , 10^3 , 10^5 , se sembró por vertido de placa 1mL de la muestra, en el medio de cultivo Sabouraud, se añadieron de 15 a 20mL del agar Sabouraud fundido previamente esterilizado en el autoclave y temperado a 40°C en cada caja debidamente rotulada (ver Anexo 2). Inmediatamente, se homogenizó con movimientos rotatorios en ocho para que se distribuyera la muestra en todo el agar, se incubó en una estufa de cultivo a una temperatura entre 20-25°C durante 5 días (OMS, 2011). Posteriormente se realizó el conteo de colonias obteniendo un promedio de las diluciones respectivas.

3.5.2 Tipificación de colonias

- *Macroscópica*: se determinó en el medio de cultivo de la siembra, el color de los hongos, la forma, elevación, borde y la intensidad germinativa en función del tiempo. El conteo de hongos se realizó a los 5 días, ya que son de crecimiento lento (ver Anexo 3).
- *Microscópica*: se procedió a la observación en el microscopio utilizando la tinción diferencial con el colorante azul algodón de lactofenol, ideal para la observación de estructuras fúngicas. Al tomar la muestra con el asa siempre se trabajó con un mechero encendido alrededor (ver Anexo 4).

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presentan los resultados que fueron obtenidos tras varios meses de arduo trabajo, procesando las hojas de las plantas y obteniendo los extractos en solución salina de cada especie vegetal para la determinación del contenido total de hongos de lo cual se ensayó a cada extracto en un medio de cultivo seleccionado para esta determinación. Los mismos están representados en la Tabla 1 de la identificación macroscópica y microscópica de hongos presentes en las doce especies vegetales, y en la tabla 2 que representa el recuento total de hongos presentes en las hojas de las doce especies vegetales, obteniendo un valor promedio de las diluciones $1/10$, $1/10^3$ y $1/10^5$.

Tabla 1.- Identificación macroscópica y microscópica de hongos en hojas de las doce especies vegetales

NOMBRE	DILUCIÓN	OBSERVACIÓN MACROSCÓPICA				OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA
		FORMA	ELEVACIÓN	BORDE	COLOR	
Moringa (<i>Moringa oleifera</i>)	1:10	filamentosa	pulvinada	filamentoso	negro, verde	esporas, conidióforos
	1:10 ³	filamentosa	convexa	circular	verde azulado	esporas, conidióforos
	1:10 ⁵	filamentosa	convexa	circular	verde azulado	esporas
Hierba luisa (<i>Cymbopogon citratus</i>)	1:10	filamentosa	convexa	circular	verde	hifas, esporas
	1:10 ³	filamentosa	pulvinada	filamentosa	negro	esporas
	1:10 ⁵	-	-	-	-	-
Toronjil (<i>Melissa officinalis</i>)	1:10	filamentosa	pulvinada	filamentoso	negro, verde	hifas, esporas, conidióforos
	1:10 ³	filamentosa	convexa	circular	verde	esporas, conidióforos
	1:10 ⁵	-	-	-	-	-
Mastrante (<i>Ageratum conyzoides</i>)	1:10	filamentosa	pulvinada, convexa	filamentoso, circular	negro, verde, gris	esporas, conidióforos, micelios
	1:10 ³	filamentosa	pulvinada	filamentoso	negro, gris	esporas, conidióforos, micelios
	1:10 ⁵	filamentosa	pulvinada	filamentoso	blanco	micelios
Guaviduca (<i>Piper carpubya</i>)	1:10	filamentosa	pulvinada	filamentoso	blanco	esporas, hifas
	1:10 ³	filamentosa	pulvinada	filamentoso	blanco	esporas
	1:10 ⁵	filamentosa	pulvinada	filamentoso	blanco	hifas
Ajenjo (<i>Artemisia absinthium</i> L)	1:10	filamentosa	pulvinada	filamentoso	blanco, negro	esporas, hifas
	1:10 ³	filamentosa	pulvinada	filamentoso	blanco	hifas
	1:10 ⁵	-	-	-	-	-

Cilantro (<i>Coriandrum sativum</i> L.)	1:10	filamentosa	pulvinada	filamentoso	blanco	micelios
	1:10 ³	filamentosa	pulvinada	filamentoso	blanco	hifas
	1:10 ⁵	-	-	-	-	-
Achochilla (<i>Momordica Charantia</i>)	1:10	filamentosa	pulvinada, convexa	filamentoso, circular	negro, verde, blanco	esporas, hifas, micelios
	1:10 ³	filamentosa	pulvinada, convexa	filamentoso, circular	anaranjado, verde	esporas, hifas
	1:10 ⁵	-	-	-	-	-
Borraja (<i>Borago officinalis</i> L.)	1:10	filamentosa	pulvinada	filamentoso	gris	esporas, hifas
	1:10 ³	-	-	-	-	-
	1:10 ⁵	-	-	-	-	-
Cedrón (<i>Lippia citriodora</i>)	1:10	filamentosa	pulvinada	filamentoso	gris	esporas, micelios
	1:10 ³	filamentosa	convexa	circular	verde azulado	micelios
	1:10 ⁵	-	-	-	-	-
Altamisa (<i>Ambrosia artemisifolia</i>)	1:10	filamentosa	pulvinada	filamentoso	blanco	micelios, esporas
	1:10 ³	filamentosa	pulvinada	filamentoso	negro	micelios
	1:10 ⁵	-	-	-	-	-
Diente de león (<i>Taraxacum officinalis</i>)	1:10	filamentosa	pulvinada	filamentoso	blanco, anaranjado	hifas, conidióforos, micelios
	1:10 ³	filamentosa	pulvinada	filamentoso	anaranjado	hifas, conidióforos, micelios
	1:10 ⁵	filamentosa	pulvinada	filamentoso	blanco	hifas

Solución madre = 1g hojas/9ml peptona = 0,11g/ml. UFC: unidad formadora de colonias

(-): no se observaron colonias

En el análisis macroscópico, se expresan los valores del contenido de hongos (UFC/g) presentes en las doce muestras analizadas, caracterizándose por una forma filamentosa y una elevación pulvinada, a excepción de aquellos hongos observados en las muestras de achochilla, cedrón, mastrante, toronjil y hierba luisa, donde la elevación es convexa en algunas de las diluciones salinas de dichas plantas. Además, se puede apreciar que todas las hojas de las especies estudiadas mostraron la presencia de colonias de hongos, a excepción de borraja y altamisa, donde prácticamente no se observaron unidades formadoras de colonias.

En el análisis microscópico la presencia de esporas y conidióforos en las diluciones de la moringa, y según descripciones macroscópica y microscópica (TORRES, 2006), se asume que podría corresponder a un tipo de hongo denominado *Penicillium*, presente en esta especie analizada (ver Anexo 5, fotografía 6). Los conidióforos muy ramificados en su extremo, que sostienen conidios esféricos en cadena, formando una estructura similar a un pequeño pincel de colores claros: blanco, azulado o verdoso. Los conidios se desprenden si se hace un preparado con agua, quedando en pequeñas burbujas (GEPP, 2009).

La borraja, cedrón, y altamisa, son especies que no mostraron un cuantioso desarrollo de hongos en las últimas diluciones y que mostraron solo la presencia de hifas, esporas (ver Anexo 5, fotografía 8) y micelios (ver Anexo 5, fotografía 9); especies que resultan ser aptas para ser utilizadas como materia prima en elaboración de productos.

De las especies vegetales mastrante y toronjil se identificaron de acuerdo a sus caracterizaciones macroscópicas y microscópicas los microorganismos presentes que podrían ser denominados como género *Aspergillus* (ver Anexo 5, fotografía 7), según lo descrito en la tabla de caracterización taxonómica (ver Anexo 6), en donde menciona que los conidióforos no ramificados que terminan en un abultamiento sobre el cual se forman una cantidad de fiálides (células en forma de botellas) sobre las que se producen conidios en cadena. En las especies más comunes estas estructuras son de color negro en su madurez (GEPP, 2009). Lo que denotaría alteraciones en la planta al ser un hongo oportunista.

Cabe mencionar, que en una investigación sobre aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelos (ARIAS y PIÑEROS, 2008), se menciona que los hongos filamentosos como los micelios, están constituidos por múltiples filamentos o hifas, y por esporas sexuales y asexuales.

En el análisis del diente de león, se demostró que es una de las especies que mayor contenido de hongos posee después del mastrante. De acuerdo a sus características macroscópicas y microscópicas por la presencia de hifas septadas y conidióforos, el microorganismo presente podría ser denominado como hongo *Fusarium* sp. según lo descrito en el aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelos (ARIAS y PIÑEROS, 2008). Según la tabla de caracterización taxonómica (GEPP, 2009), menciona que el género *Fusarium* se lo reconoce por la presencia de conidios hialinos, pequeños, en forma de medialuna con aproximadamente 4 células. Los conidióforos pueden agruparse en esporodoquios, por lo cual el signo se ve a simple vista como pequeños globitos de color blanco, rosado o amarillento

Tabla 2.- Tabulación de resultados del contenido total de hongos presentes en hojas de las doce plantas medicinales.

NOMBRE DE PLANTA	DILUCIONES UFC			PROMEDIO N° UFC
	1:10	1:10 ³	1:10 ⁵	
Moringa (<i>Moringa oleifera</i>)	4	2	2	3
Hierba luisa (<i>Cymbopogon citratus</i>)	3	2	0	2
Toronjil (<i>Melissa officinalis</i>)	4	2	0	2
Mastrante (<i>Ageratum conyzoides</i>)	38	10	3	17
Guaviduca (<i>Piper carpunya</i>)	5	2	2	3
Ajenjo (<i>Artemisia absinthium</i> L)	8	1	0	3

Cilantro (<i>Coriandrum sativum</i> L)	2	2	0	1
Achochilla (<i>Momórdica Charantia</i>)	6	4	0	3
Borraja (<i>Borago officinalis</i> L)	1	0	0	1
Cedrón (<i>Lippia citriodora</i>)	4	3	0	2
Altamisa (<i>Ambrosia artemisifolia</i>)	1	1	0	1
Diente de león (<i>Taraxacum officinalis</i>)	9	7	2	6

El análisis microbiológico de las especies vegetales, para esta investigación, nos permitió identificar el contenido total de hongos expresado en UFC, lo cual se comparó con lo establecido en la norma (INEN 1529-5) que indica valores menor a 15 colonias están dentro del margen referencial, lo que nos demuestra vulnerabilidad en una de las doce especies vegetales evaluadas como lo es el mastrante, teniendo como promedio de conteo un valor de 17 UFC, valor que supera a la norma, a pesar de que el proceso de lavado, secado y molienda fue el mismo para todas las especies en estudio.

En la representación gráfica siguiente (Figura 1), los resultados obtenidos en la tabla de tabulación de resultados del conteo total de colonias de hongos dió un promedio de que el mayor contenido de hongos lo presenta la planta medicinal mastrante, con un total de 17 UFC/g, seguidamente la especie diente de león con 6 UFC/g; las nueve especies restantes poseen un bajo contenido de hongos entre 1 y 3 UFC/g. Cabe anotar que estos valores se encuentran bajo los límites permitidos, es decir que contienen menos de 15 colonias (INEN 1529-5), a excepción del mastrante que presenta un valor elevado, que indica no solo que la droga posiblemente tuvo deficiencias durante el secado, sino que a través de agentes externos como el almacenamiento y la manipulación, se pudo generar el crecimiento de microorganismos; tomando en cuenta que son plantas obtenidas del Mercado Central de Machala.

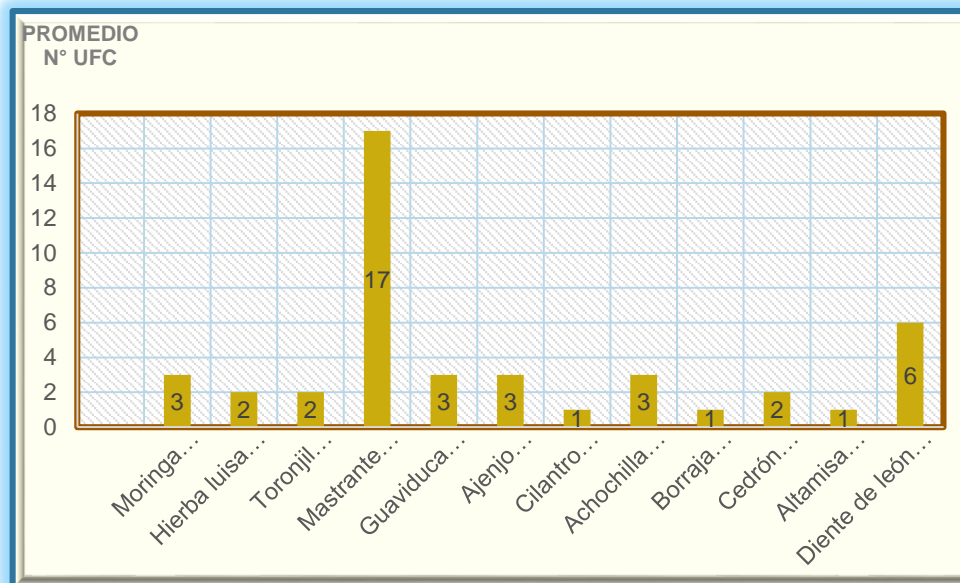


Figura 1. Representación gráfica del recuento total de hongos presentes en hojas de las doce plantas medicinales.

Fuente: Especies vegetales. Elaboración: Mariuxi Medina C.

Aun no se han reportado investigaciones científicas sobre éstas especies en cuanto al contenido de hongos luego de un proceso de secado.

Cabe mencionar, que la contaminación fúngica detectada podría implicar un riesgo para la salud, aun cuando sus recuentos se encuentren dentro de los límites establecidos.

La borraja, cedrón, y altamisa, son especies que no mostraron un cuantioso desarrollo de hongos en las últimas diluciones y que mostraron solo la presencia de hifas, esporas (ver Anexo 5, fotografía 8) y micelios (ver Anexo 5, fotografía 9); especies que resultan ser aptas para ser utilizadas en elaboración de productos. Aún no se han reportado investigaciones científicas sobre análisis de hongos presentes en estas especies.

El haber llevado a cabo esta investigación, permitió conocer en qué estado se encuentran algunas de las especies vegetales evaluadas a nivel microbiológico, y las posibles deficiencias que se están presentando a nivel de procesos externos que afectan el estado de la planta post cosecha, lo cual es una información muy importante para la comunidad o población en general.

5 CONCLUSIONES

Las doce plantas medicinales fueron procesadas como su selección de hojas, lavado, secado, molienda y luego se realizó la obtención de extractos de las diferentes especies vegetales (hojas) en una solución salina (agua peptona), siendo este un diluyente muy utilizado para este tipo de ensayos ya que no influye en los resultados.

Durante la investigación realizada se determinó que todas las muestras estudiadas presentaron desarrollo de hongos filamentosos con una gran variabilidad de los mismos presentes en las doce especies vegetales siendo el mastrante la única que supera la normativa en el promedio de diluciones.

Los recuentos de hongos filamentosos encontrados del resto de especies se encuentran dentro de los límites permisibles y contemplados por el Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), encontrándose aptos como materia prima para su utilización en la elaboración de productos medicinales, sin el peligro de que exista algún tipo de daño en la salud del consumidor, ya que se trata de especies con un contenido bajo de hongos.

La aparición de un hongo, generalmente está regulada por condiciones ambientales, sin embargo el proceso de secado es un factor que condujo a minimizar o reducir la población de microorganismos de manera significativa en las muestras analizadas, ya que estamos evitando un ambiente de humedad que prolifera hongos.

El proceso de lavado, secado, molienda de los especímenes vegetales a una misma temperatura y tiempo se trata del mismo para todas. Por lo tanto el encontrar que una de las plantas como es el mastrante presenta conteos de hongos por encima de la norma, exige un tratamiento especial que supere los 40°C a 24 horas a los que fueron sometidos en esta investigación, sin embargo para el resto de especies el mantener este procesamiento de obtención del extracto es el adecuado según los reporte de conteo total.

6 RECOMENDACIONES

- Que se considere el monitoreo de la cosecha directa de las plantas para la evaluación del contenido de hongos ya que las plantas de mercado son susceptibles de contaminación por un transporte y almacenamiento no correcto.
- Se recomienda realizar un estudio de los diferentes tipos de hongos presentes en estas doce especies vegetales.
- Que el proceso de lavado y secado en plantas que presentaron recuentos altos sea minucioso y validado utilizando diferentes desinfectantes, temperatura y tiempo de secado, de tal forma que el porcentaje de humedad residual sea bajo debido a que la presencia de agua es un factor de proliferación de microorganismos.
- Utilizar otros métodos de identificación de hongos que permitan la obtención de la mayor variedad de géneros y especies.
- Evaluar puntos críticos (EPC) posibles, en el diagrama de procesos para plantas medicinales.

7 BIBLIOGRAFÍA

- AMES, T y Cañedo, V. Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos. Medios de Cultivo. Lima-Perú. 2004. 68p. <<http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/09/AN65216.pdf>>
- ARANGO, M. Plantas medicinales: botánica de interés médico. Achochilla y Diente de león. Bogotá- Colombia. 1956. 427p.
- ASQUI, M. “Actividad hepatoprotectora del extracto de diente de león (*Taraxacum officinale*) en ratas (*Rattus norvegicus*) con hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono”. (Tesis de grado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba- Ecuador. 2012. 134p.
- BLAIR, S y MADRIGAL, B. Plantas antimaláricas de Tumaco. Altamisa. Primera edición. Editorial Universidad de Antioquia. Colombia. 2005. 302p.
- CRUZ, P. “Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), matico (*Aristiguetia glutinosa*) y marco (*Ambrosia arborescens*) para neo-fármaco”. (Tesis de grado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba- Ecuador. 2009. 150p.
- ESPINOZA, C y RAMÍREZ, K. El maravilloso mundo de los hongos. Hongos y seguridad alimentaria. Primera edición. Universidad Veracruzana. México.2007. 179p. <<http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/34583/3/hongos2d2.pdf>>

- FONNEGRA, R y JIMENEZ, S. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Cedrón, Mastrante y Toronjil. Segunda edición. Editorial Universidad de Antioquia. Colombia. 2007. 370p.
- GALLARDO, A y RISSO, S. Caracterización de poblaciones microbianas presentes en la macroalga comestible *Monostroma undulatum*, Wittrock. Universidad Nacional de Patagonia San Juan Bosco. Caracas-Venezuela. 54(3)2004. <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0004-06222004000300013&script=sci_arttext>
- GEPP, V. Clave para identificar hongos y pseudohongos fitopatógenos comunes. Curso de fitopatología. 2009. <http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/cursos/fitopato/practicas/Clave_hongos.pdf>
- NTE INEN 1529-5. 2006. Control microbiológico de los alimentos. <http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/02/nte_inen_1529-5.pdf>
- LIFCHITZ, A. Plantas medicinales. Ajenjo. Segunda edición. Editorial Kier. Buenos Aires- Argentina. 2006. 258p.
- MEDEL, R. El maravilloso mundo de los hongos. Hongos que viven dentro de las plantas. Primera edición. Universidad Veracruzana. México. 2007. 179p. <http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/34583/3/hongos_2d2.pdf>
- MENDIOLA, M. Plantas Aromáticas Gastronómicas. Toronjil. Primera edición. Editorial Aedos. Barcelona- España. 2009. 191p.

- MUÑOZ, F. Plantas medicinales y aromáticas. Hierba Luisa. Segunda edición. Editorial Aedos. Barcelona-España. 1996. p. 175-178.
- MUÑOZ, O y MONTES, M. Plantas medicinales de uso en Chile. Borraja. Segunda Edición. Editorial Universitaria. Chile. 2004. 315p.
- NÚÑEZ, E. Plantas medicinales. Primera edición. Editorial de la Universidad de Puerto Rico. Estados Unidos. 1982. 500p.
- OLSON, M y FAHEY, J. *Moringa oleífera*: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. Revista Mexicana Biodiversidad. 82(4)2011. <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=s1870-34532011000400001&script=sci_arttex>
- OMS. Quality control methods for herbal materials. Geneva. 2011. 187 p. < <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/h1791e/h1791e.pdf> >
- QUINTANA, K. “Evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de achillea (*Achillea millefolium* L.) y guaviduca (*Piper carpunya* Ruiz & Pav.) en ratas (*Rattus norvegicus*) con lesiones gástricas inducidas”. (Tesis de grado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba- Ecuador. 2012. 132 p.
- SALINAS, A y ROMERO, E. El maravilloso mundo de los hongos. Hongos oportunistas. Primera edición. Universidad Veracruzana. México.2007. 179p. <<http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/34583/3/hongos2d2.pdf>>

- TORRINO, G y MEDINA, M. Medios de cultivo en un laboratorio de microbiología. 2012. <<https://libroslaboratorio.files.wordpress.com/2012/09/medios-de-cultivo-en-un-laboratorio-de-microbiologc3ada.pdf>>
- TORRES, M. "Análisis microbiológico de materias primas utilizadas en la elaboración de productos naturales en una industria colombiana". (Tesis de grado). Politécnica Universidad Javeriana. Facultad de Microbiología Industrial. Bogotá- Colombia. 2006. 165 p.
- TORRES, L y TAPIA, M. Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana. Cilantro. Editorial Universidad de España. Barcelona- España. 2006. 161p.
- TORRES, M y ARIAS, J. Análisis microbiológico de plantas medicinales con óxido de etileno. Revista Cubana. 41(2)2007. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152_0070_0020_0008
- URIBARREN, T y CASTAÑÓN, L. Generalidades de micología. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 2013. <<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/micologia/generalidades.html>>
- VANACLOCHA, B. y CAÑIGUERAL, S. Fitoterapia: vademécum de prescripción. Ajenjo. Cuarta edición. Editorial MASSON. Barcelona-España. 2003. 1098p.

ANEXOS

ANEXO 1. PROCESAMIENTO DE LAS HOJAS FRESCAS DE LAS DOCE PLANTAS DE ESTUDIO.

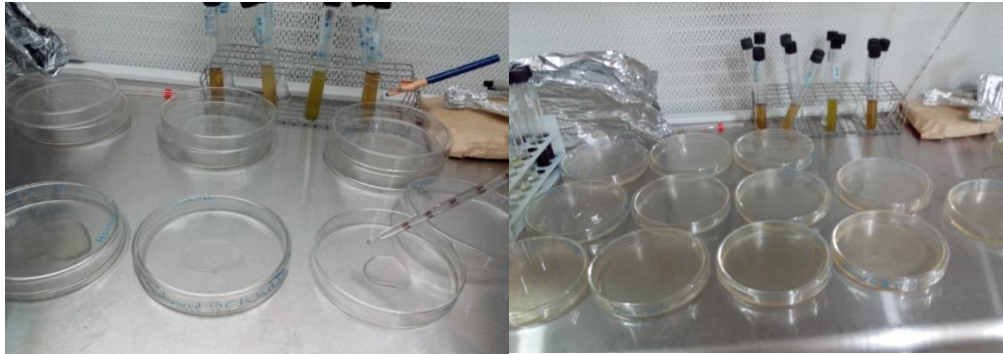


Fotografía 1. Selección de hojas sanas y eliminando partes no apropiadas.



Fotografía 2. Hojas secadas en la estufa y trituradas finamente.

ANEXO 2. SEMBRADO EN AGAR SABOURAUD (1ml muestra/ 15ml agar)



Fotografía 3. Sembrando 1 ml de muestra y 15-20 ml de medio de cultivo.

ANEXO 3. OBSERVACIÓN MACROSCÓPICA DE COLONIAS (UFC/g)



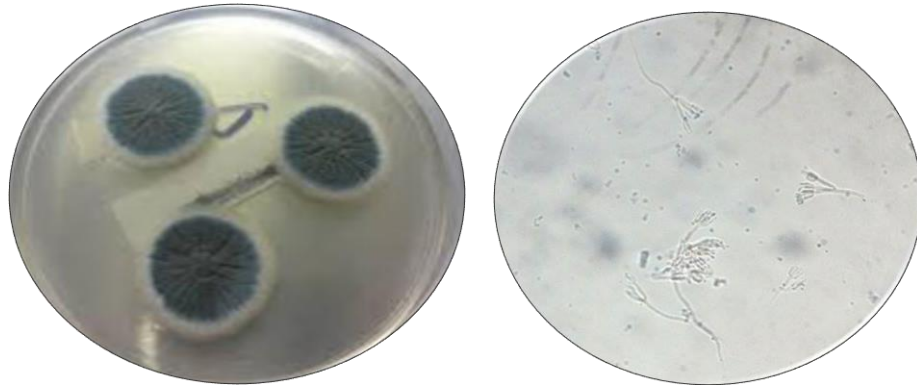
Fotografía 4. Crecimiento de colonias de hongos.

ANEXO 4. OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DE COLONIAS

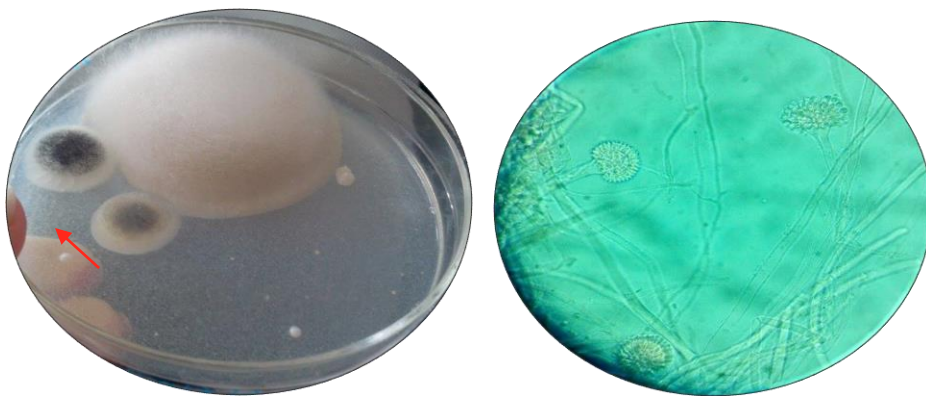


Fotografía 5. Preparando las placas con muestra para observar.

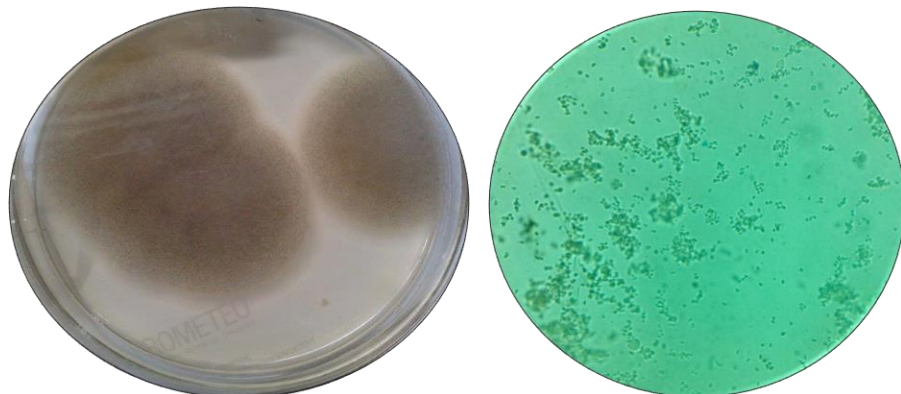
ANEXO 5. IDENTIFICACIÓN MICROSCÓPICA



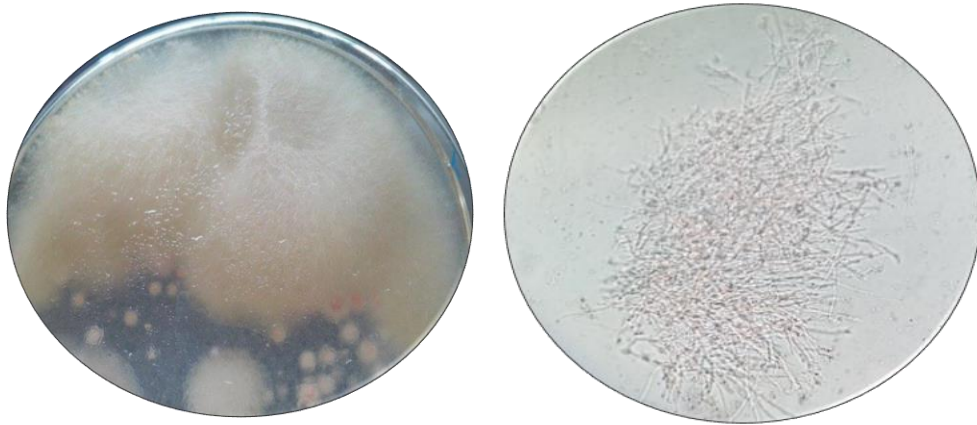
Fotografía 6. Presencia de *Penicillium* en *Moringa oleifera*.



Fotografía 7. Presencia de *Aspergillus* en *Ageratum conyzoides*.



Fotografía 8. Presencia de esporas en *Borago officinalis*.



Fotografía 9. Presencia de micelios en *Lippia citriodora*.

ANEXO 6. TABLA DE CARACTERIZACIÓN TAXONÓMICA

Clave para identificar hongos y pseudohongos fitopatógenos comunes

Ing. Agr. Vivienne Gepp

La siguiente clave tiene un objetivo didáctico de contribuir al reconocimiento de estructuras fúngicas y y al diagnóstico de enfermedades causadas por algunos de los hongos fitopatógenos y Oomycetes más comunes en el Uruguay. No es una clave completa de todos los hongos y organismos similares que causan enfermedades en plantas.

- Q. Conidios formados sobre conidióforos libres o esporodóquios, no dentro de estructuras fructíferas R
- QQ. Conidios formados en picnidios V
- QQQ. Conidios formados en acérvulos Y
- R. Conidios unicelulares S
- RR. Conidios generalmente bicelulares T
- RR. Conidios pluricelulares, con varios tabiques U
- S. Conidióforos no ramificados que sostienen un conidio o una cadena de conidios con forma más o menos de barril. Los conidióforos se forman a partir de hifas que crecen sobre la superficie del vegetal (ectoparásito), todas las estructuras son hialinas, y se observan como un polvillo blanco sobre las hojas, frutos, etc. Género *Oidium* (Fig. 28.)
- SS. Conidióforos similares al anterior, pero el conidio maduro es de forma de llama y el micelio se encuentra dentro del tejido vegetal, los conidióforos salen por los estomas. Género *Oidiopsis*
- SSS. Conidióforos muy ramificados en su extremo, que sostienen conidios esféricos en cadena, formando una estructura similar a un pequeño pincel de colores claros: blanco, azulado o verdoso. Los conidios se desprenden si se hace un preparado con agua, quedando en pequeñas burbujas. Género *Penicillium* (Fig. 29.)
- SSSS. Conidióforos ramificados, las ramificaciones se forman por una serie de células cortas y terminan en una cadena de conidios. A simple vista la esporulación generalmente es de color parduzco. Género *Monilia* (Fig. 30.)
- SSSSS. Conidióforos no ramificados que terminan en un abultamiento sobre el cual se forman una cantidad de fiálides (células en forma de botellas) sobre las que se producen conidios en cadena. En las especies más comunes estas estructuras son de color negro en su madurez| Género *Aspergillus* (Fig. 31.)
- SSSSSS. Conidióforos que se ramifican varias veces y terminan en abultamientos sobre los cuales se forman varios conidios aproximadamente esféricos. No se forman cadenas de conidios. Color grisáceo en la madurez. Género *Botrytis* (Fig. 32 y 33.)