

© 2018 Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.
Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).
TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 21(2): 95-102, 2018.
DOI: 10.22201/fesz.23958723e.2018.2.3

EVALUACIONES PRELIMINARES DE ALGUNAS BIOACTIVIDADES DEL EXTRACTO CLOROFÓRMICO DE BULBOS DE *Sprekelia formosissima* (LIRIO AZTECA)

Francisco Santos-González¹, Luis Ricardo Hernández²
y Zaida Nelly Juárez^{1*}

¹Ingeniería en Biotecnología, Facultad de Biotecnología, Decanato de Ciencias Biológicas, Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, 21 Sur #1103 Barrio Santiago C.P. 72410, Puebla, México.

²Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Universidad de las Américas Puebla, Ex hacienda Sta. Catarina Mártir s/n, C.P. 72810, San Andrés Cholula, Puebla, México.

E-mail: *zaidanelly.juarez@upaep.mx

RESUMEN

En este trabajo se estudiaron algunas actividades biológicas del extracto clorofórmico de bulbos de *Sprekelia formosissima* (L.) Herbert, la cual es utilizada en la medicina tradicional mexicana para la curación de jotes y granos, mordeduras de víbora y para el control de la pérdida de cabello. El extracto mostró actividad insecticida potencial para inhibir tanto la germinación de las semillas, como la reproducción en *Drosophila melanogaster*. Sin embargo, no presentó actividad antimicrobiana en bacterias Gram (+), Gram (-) ni en *C. albicans*. Adicionalmente, se evaluó la toxicidad del extracto en el modelo de *Artemia* spp. donde, con una CL₅₀ de 46 ppm, el extracto mostró ser tóxico.

Palabras Clave: actividad antimicrobiana, actividad herbicida, actividad insecticida, inhibición de germinación, *Sprekelia formosissima*.

Preliminary evaluations of some bioactivities of the chloroform extract of *Sprekelia formosissima* bulbs (lirio azteca)

ABSTRACT

This work studied some biological activities of the chloroform extract from bulbs of *Sprekelia formosissima* (L.) Herbert, which is employed in the traditional Mexican folk medicine to treat small bumps and pimples, snake bites and for hair loss control. The extract showed potential to inhibit seed germination, as well as insecticide and reproductive inhibition activities on *Drosophila melanogaster*. However, it did not show any antimicrobial activity on Gram (+), Gram (-) bacteria, nor on *C. albicans*. Furthermore, the extract toxicity was evaluated on the *Artemia* spp. model where, with a CL₅₀ of 46 ppm, the extract showed to be toxic.

Key Words: biological activities, herbicide activity, insecticide activity, seed germination inhibition, *Sprekelia formosissima*.

INTRODUCCIÓN

Debido a la creciente resistencia que han desarrollado algunos microorganismos a las sustancias utilizadas normalmente para combatirlos o controlarlos (Abdallah, 2011; Kisangau *et al.*, 2007; Rai *et al.*, 2014), se ve la necesidad de encontrar compuestos con nuevos mecanismos de acción (Duke *et al.*, 2011). Al mismo tiempo, se ha observado también un desarrollo de multiresistencia a fármacos utilizados comúnmente en terapias anticancerígenas y antitumorales (Hohmann *et al.*, 2002; Qiu *et al.*, 2014; Zupko *et al.*, 2009). Las plantas son una buena fuente de sustancias químicas con diferentes grados de complejidad estructural, que pueden utilizarse para encontrar sustancias con mecanismos de acción diferentes a las actuales (Koivunen *et al.*, 2013).

Los metabolitos secundarios de las plantas, los cuales desempeñan un papel central en la interacción de la planta con su entorno (Dudareva *et al.*, 2004; Verpoorte *et al.*, 1999), pueden ser utilizados para controlar organismos de importancia, tanto en el área de la salud humana como en la agricultura (Jbilou *et al.*, 2006; Moussaid *et al.*, 2014; Mann & Kaufman, 2012). Estos compuestos son más seguros que los sintetizados químicamente en virtud de su biodegradación ambiental y baja toxicidad para los humanos y otros mamíferos (Mann & Kaufman, 2012).

Diferentes especies de la Familia Amaryllidaceae han sido utilizadas en la medicina tradicional de varios países. Los alcaloides son los principales metabolitos secundarios aislados de esta familia (Bastida *et al.*, 2011) en cuyos géneros las actividades biológicas observadas se atribuyen a su presencia (Bastida *et al.*, 2011; Cabezas *et al.*, 2007; Tapia-Campos *et al.*, 2012; Zupko *et al.*, 2009). Así también, la actividad tóxica frente a organismos como *Artemia salina*, es atribuible a la presencia de alcaloides, saponinas, compuestos fenólicos y glucósidos cardiotónicos en los extractos y fracciones de las especies vegetales (Aziz *et al.*, 2014; Nikolova & Tsvetkova, 2008; Olaleye, 2007).

Sprekelia formosissima (L.) Herbert forma parte del grupo de las plantas bulbosas ornamentales más hermosas de México empleada en la medicina tradicional mexicana (BDMTM, 2009; Leszczyńska-Borys *et al.*, 1995). Es una planta silvestre de consistencia herbácea que pertenece a la Familia Amaryllidaceae, de nombre común lirio azteca. Está ampliamente distribuida en el territorio nacional, incluyendo las áreas montañosas de Chiapas, Chihuahua, Ciudad de México, Durango, Guerrero, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Veracruz y en Guatemala (Espejo-Serna & López-Ferrari, 2003).

Se ha reportado el aislamiento, caracterización y evaluación biológica de 7 alcaloides del extracto metanólico de bulbos de *S. formosissima* y son: hemantamina, tazetina, hemantidina,

ismina, pretazetina, 2-epimacronina y 8-O-demetilmaritidina (Hohmann *et al.*, 2002). Estos alcaloides presentan potencial para su utilización como tratamiento para el Alzheimer, así como contra células de cáncer de linfoma humano y células de linfoma de ratón MDR1 (Hohmann *et al.*, 2002; Zupko *et al.*, 2009). Por otro lado, en la medicina tradicional mexicana se utiliza la flor y raíz de *Sprekelia* para la curación de los jiones y granos, mordeduras de víbora (BDMTM, 2009) y para el control de la pérdida de cabello (Sánchez, 1969).

En este trabajo se evaluaron las actividades antimicrobianas, de inhibición de la germinación e insecticida del extracto clorofórmico de *S. formosissima* (L.) Herbert.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Los bulbos frescos de *S. formosissima* fueron donados, cultivados e identificados por la Mtra. Edith Salomé en el Centro de investigación en plantas nativas (CIPNA) de la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla.

Cepas microbianas

Las pruebas de inhibición microbiológica se realizaron en cepas de *Escherichia coli* (ATCC[®] 11775) y *Staphylococcus aureus* (ATCC[®] 25923), de la colección de la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, así como de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC[®] 27853) y *Candida albicans* (ATCC[®] 11006), obtenidas del cepario del Laboratorio de Microbiología de la Universidad de las Américas Puebla.

Medios de Cultivo

Se emplearon los medios de cultivo Mueller-Hinton (Beckton Dickinson[™], USA), agar MacConkey (BD[™], USA), agar Sal y Manitol (BD[™], USA), y agar Saboraud (BD[™], USA).

Controles positivos

Como controles positivos se utilizaron los antibióticos amoxicilina (Bio-Rad[®], Francia), ofloxacina (Bio-Rad[®], Francia), cefalexina (Bio-Rad[®], Francia) y minociclina (Bio-Rad[®], Francia).

Quistes de *Artemia* spp.

Se emplearon quistes de *Artemia* spp. (Azul, México), adquiridos en la tienda Petco Puebla (Puebla, Pue., México).

Semillas

Los ensayos se realizaron en semillas monocotiledóneas (*Phalaris canariensis*) y dicotiledóneas (*Lactuca sativa*), ambas de la marca Germinal MR adquiridas en la tienda Home Depot Puebla Angelópolis (Puebla, Pue., México).

Drosophila melanogaster

Se adquirieron adultos de *Drosophila melanogaster* en la tienda Petco Puebla (Puebla, Pue., México).

Preparación del extracto vegetal

Los bulbos (2,985 g) fueron rebanados y secados a la sombra; posteriormente, puestos en maceración con cloroformo durante tres días con agitación ocasional. El sobrenadante se filtró y evaporó en Rotavapor® (Büchi R-210, Suiza), obteniendo 11.4687 g (0.38%) del extracto clorofórmico (ECBSF).

Ensayos de actividad biológica

Se prepararon diluciones en un rango de concentraciones de 10 a 10,000 ppm del ECBSF en dimetilsulfóxido (DMSO) para la evaluación de su actividad biológica.

Ensayos de inhibición microbiológica

Las pruebas de inhibición microbiológica se realizaron con base en el método de Kirby-Bauer descrito por Bernal & Guzmán (1984). Las cepas se mantuvieron en cajas Petri con medio Müeller-Hinton para *E. coli*, agar MacConkey para *P. aeruginosa*, agar Sal y Manitol para *S. aureus* y agar Saboraud para *C. albicans*. Los crecimientos de 24 h de cada cepa se transfirieron asépticamente a tubos con 5 mL de solución salina estéril, hasta equiparar la turbidez del estándar 0.5 McFarland. Las cajas Petri con el medio de cultivo respectivo para cada organismo se prepararon de acuerdo con el manual del fabricante y se dejaron solidificar por 30 min.

Dentro de una campana de flujo laminar se depositaron 100 µL (microlitros) de cada tubo de solución inoculando en la superficie de las placas de agar, extendiendo la solución con la ayuda de un hisopo estéril. Se impregnaron discos de papel filtro también estéril (6 mm) con 6 concentraciones del ECBSF (100,000; 50,000; 20,000; 1,000; 100 y 10 ppm correspondiente a 1000, 500, 200, 10, 1 y 0.1 µg de ECBSF por disco, respectivamente). Los discos impregnados se colocaron sobre el agar con pinzas estériles evitando el movimiento para minimizar errores por difusión desigual. Adicionalmente, se utilizaron discos con los antibióticos de referencia amoxicilina 25 µg, ofloxacina 5 µg, cefalexina 30 µg y minociclina 30 µg como controles positivos, así como un control negativo con DMSO. Las placas se incubaron a 37°C por 24 h. Posteriormente, se midió el diámetro de los halos de inhibición y se hicieron pruebas de comparación de medias por el procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher a un 95% de confianza. Una zona de inhibición de 15 mm o más fue considerada como de alta actividad antimicrobiana (Mothana *et al.*, 2009).

Ensayos de toxicidad

Para este ensayo se hicieron eclosionar quistes de *Artemia* spp. en agua marina artificial preparada con 30 g de sal marina comercial (Red Sea Fish Pharm, Israel) en un litro de agua destilada. Los quistes se incubaron a 25°C con fotoperiodo de 12 horas (Juárez *et al.*, 2015). Con una pipeta Pasteur se transfirieron 10 nauplios de 24 h de nacidos a tubos de 10 mL por cada unidad experimental.

Debido a la baja solubilidad en el agua de las diferentes diluciones del extracto, se agregaron 15 µL de Tween 80 en la solución final de 5 mL. Los nauplios fueron expuestos a concentraciones de 1000, 500, 250, 100, 50, 30 y 10 ppm del ECBSF durante 24 h. Como control negativo se utilizó DMSO con Tween 80 en la misma proporción empleada en las muestras. La toxicidad fue estimada calculando la CL₅₀ después del periodo de incubación. Los experimentos se realizaron por triplicado. Los nauplios se consideraron muertos al no detectar movimiento durante un periodo de 10 s de observación. La CL₅₀ se calculó mediante análisis Probit ($p=0.05$). El valor de la CL₅₀ para el control fue de 936 ppm.

Ensayos de inhibición de la germinación y crecimiento radicular

Los ensayos se realizaron con base en el método reportado por Romano *et al.* (2011). Se depositaron 30 semillas de alpiste (*Phalaris canariensis*) y 30 semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) en placas Petri con agar-agar al 1% (RBM Reactivos, México) preparado con 6 concentraciones finales del ECBSF (10, 50, 100, 250, 500 y 1000 ppm) y un testigo negativo preparado con DMSO. Los experimentos se realizaron por triplicado. Las semillas se dejaron en las placas Petri durante 14 días en condiciones de oscuridad a 25 °C y humedad del 50%. Al cabo de este tiempo, se midieron las longitudes de las raíces y se calculó el porcentaje de germinación en cada una de las unidades experimentales. Los datos se analizaron estadísticamente mediante ANOVA y pruebas de comparación de medias por el procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher a un 95% de confianza.

Ensayos de actividad insecticida

Los ejemplares de *Drosophila melanogaster* recién comprados se mantuvieron en condiciones de laboratorio a 25°C con fotoperiodo de 12 h, con una dieta a base de harina de maíz, levadura y agar-agar (RBM Reactivos, México). Para los ensayos se utilizaron adultos de la segunda generación, colocándolos por parejas (macho y hembra) en frascos limpios que contenían la dieta adicionada con 6 concentraciones finales del ECBSF (10, 50, 100, 250, 500 y 1000 ppm) y un control negativo preparado con DMSO. Las pruebas se realizaron por triplicado. Las moscas se mantuvieron en las mismas condiciones de laboratorio durante una generación (20 días). Una vez finalizado el periodo de tiempo se obtuvo el número de moscas totales y el número de moscas vivas. Los datos se analizaron estadísticamente mediante ANOVA y pruebas de comparación de medias por el procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher a un 95% de confianza.

Análisis estadístico

El análisis estadístico descriptivo de los ensayos de actividad biológica se realizó empleando el software Statgraphics Centurion XVI (Versión 16.2.04). Todos los valores fueron expresados como media ± error estándar de la media (S.E).

Los datos de cada grupo fueron comparados utilizando análisis ANOVA de un factor. Un valor $P < 0.05$ se consideró significativo.

RESULTADOS

Ensayos de inhibición de raíz

Los resultados del análisis de varianza de las pruebas de inhibición de germinación de la semilla, junto con la comparación de medias, utilizando el procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher a un 95% de confianza, se presentan en la Tabla I. La concentración a 1000 ppm tuvo un mayor efecto sobre la inhibición de la germinación. En el caso de las semillas de alpiste, con los 3 últimos tratamientos (250, 500 y 1000 ppm) también sucedió lo mismo que en el anterior, por otra parte, se comparó el porcentaje de germinación de la raíz entre los controles y los tratamientos (Figura 1) obteniéndose porcentajes de inhibición de la germinación bastante similares en la lechuga y el alpiste en la mayoría de los casos. Se observó

una mejor inhibición de la germinación a concentraciones mayores a 250 ppm, con una inhibición del 98.6% a 1000 ppm en ambos casos.

Ensayo de actividad insecticida

Se analizó el promedio del número de moscas totales (vivas + muertas) para evaluar la inhibición de la reproducción, así como el número de moscas vivas para la evaluación de la actividad insecticida del extracto. Los análisis estadísticos obtenidos del análisis de varianza y la agrupación con el método LSD de Fisher con una confianza del 95%, se muestran en la Tabla II. Los resultados evidencian un efecto insecticida del extracto clorofórmico de bulbos de *S. formosissima* en la mosca de la fruta. La comparación de medias reveló un efecto significativo en el modelo a partir de la concentración de 50 ppm, con un efecto máximo a 1000 ppm en ambas variables (moscas totales y moscas vivas).

Tratamiento	Concentración	Lechuga Longitud de raíz (cm) ± S.D.	Alpiste Longitud de raíz (cm) ± S.D.	<i>p</i>
Control	DMSO	9.2 ± 1.8 ^a	6.8 ± 4.3 ^a	0
Extracto Clorofórmico de bulbos de <i>Sprekelia formosissima</i>	10 ppm	8.5 ± 1.6 ^b	4.1 ± 3.5 ^b	
	50 ppm	8.4 ± 1.1 ^b	5.3 ± 4.6 ^b	
	100 ppm	6.3 ± 1.4 ^c	4.1 ± 3.3 ^b	
	250 ppm	3.2 ± 1.1 ^d	0.9 ± 1.7 ^c	
	500 ppm	1.4 ± 0.9 ^e	0.6 ± 1.6 ^c	
	1000 ppm	0.1 ± 0.3 ^f	0.9 ± 0.2 ^c	

n=30 para todos los tratamientos. Intervalos ($p = 0.05$) corresponden a la media de la longitud de raíz para cada ensayo. En cada columna, grupos con igual letra son homogéneos basados en el procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher a un 95% de confianza.

Tabla I. ANOVA Resultados de actividad de inhibición de germinación de semillas.

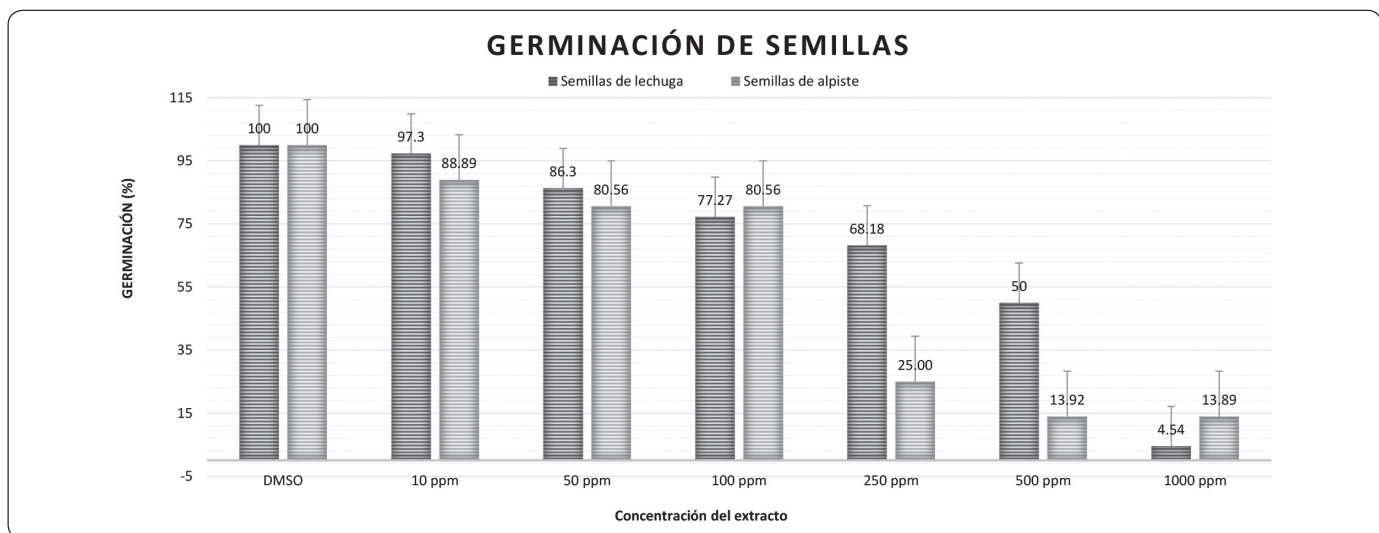


Figura 1. Porcentaje de germinación de semillas de lechuga y alpiste.

Adicionalmente, se observó que el promedio del número de moscas totales y vivas disminuyó significativamente a medida que aumentó la concentración del extracto. En la Figura 2, se grafican los porcentajes tanto de moscas vivas como los de moscas totales, evidenciando actividad del ECBSF tanto de inhibición de la reproducción como insecticida sobre *Drosophila melanogaster*.

Ensayos de inhibición microbiológica

En la Tabla III se muestran los resultados de las pruebas de actividad antibacteriana y fungicida del extracto clorofórmico

de bulbos de *S. formosissima*, así como la comparación de medias de Fisher a un 95% de confianza. Se encontró evidencia de actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* a concentraciones de 50,000 ppm y 100,000 ppm (Tabla III), con zonas de inhibición de disco de 9.0 mm y 10 mm, respectivamente. El extracto también mostró actividad de inhibición contra *E. coli*, en donde la zona de inhibición más grande (6.6 mm) se obtuvo a una concentración de 100,000 ppm (Tabla III). Las especies *P. aeruginosa* y *C. albicans* mostraron resistencia al extracto.

Tratamiento	Concentración	Número de moscas totales ± S.D.	Número de moscas vivas ± S.D.	p
Control	DMSO	51 ± 4 ^a	46 ± 1 ^a	0
Extracto Clorofórmico de bulbos de <i>Sprekelia formosissima</i>	10 ppm	42 ± 3 ^b	34 ± 5 ^b	
	50 ppm	28 ± 1 ^c	25 ± 3 ^c	
	100 ppm	19 ± 3 ^d	16 ± 3 ^d	
	250 ppm	20 ± 4 ^d	19 ± 2 ^d	
	500 ppm	21 ± 4 ^d	19 ± 3 ^d	
	1000 ppm	6 ± 2 ^e	4 ± 2 ^e	

n=3 para todos los tratamientos. Intervalos (p= 0.05) corresponden a la media del número de moscas para cada ensayo. En cada columna, grupos con igual letra son homogéneos basados en el procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher a un 95% de confianza.

Tabla II. ANOVA Ensayo de la actividad insecticida.

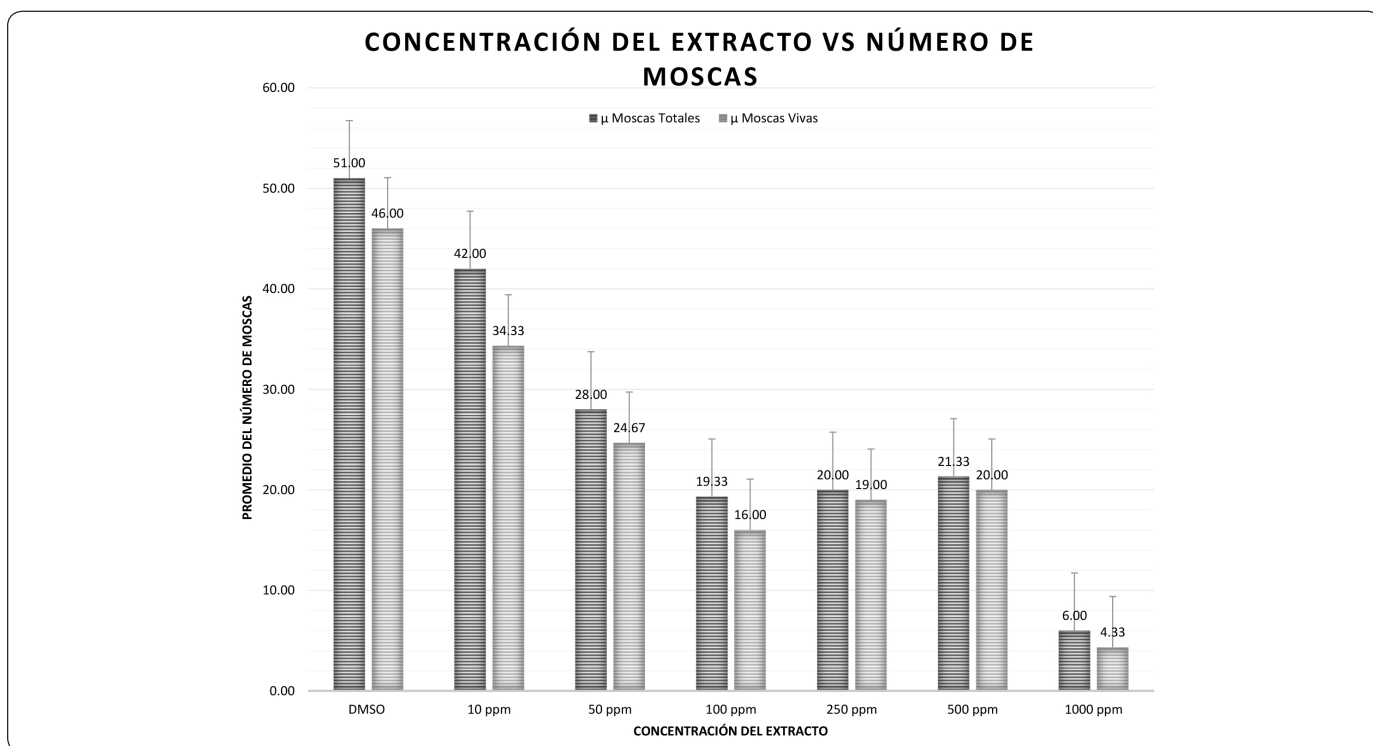


Figura 2. Concentración del extracto vs porcentaje de moscas.

Tratamiento	Concentración	Zona de inhibición (mm) ± S.E.			
		<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
Extracto Clorofórmico de bulbos de <i>Sprekelia formosissima</i>	0.1 µg/disco (10 ppm)	–	–	–	–
	1 µg/disco (100 ppm)	–	–	–	–
	10 µg/disco (1000 ppm)	–	–	–	–
	200 µg/disco (20,000 ppm)	–	–	–	–
	500 µg/disco (50,000 ppm)	6.4 ± 0.2	9.0 ± 1.0	–	–
	1000 µg/disco (100,000 ppm)	6.6 ± 0.2	10 ± 2	–	–
Antibiótico	Amoxicilina 25 µg	25 ± 3	29 ± 4	–	–
Antibiótico	Ofloxacina 5 µg	N.E.	N.E.	17 ± 2	–
Antibiótico	Cefalexina 30 µg	17 ± 2	22 ± 3	N.E.	N.E.
Antibiótico	Minociclina 30 µg	N.E.	N.E.	–	7.6 ± 0.9
Control	DMSO	–	–	–	–

n=3 para todos los tratamientos. Intervalos ($p=0.05$) corresponden a la media de la zona de inhibición para cada ensayo. (–) = Sin inhibición. (N.E.) = No ensayado.

Tabla III. Actividad antimicrobiana del ECBSF.

Ensayos de toxicidad

El valor de la concentración letal media CL_{50} (en un intervalo de confianza de 95%) para el extracto clorofórmico contra *Artemia* spp. fue de 46 ppm. El extracto se consideró como altamente tóxico para *Artemia*, de acuerdo a los rangos de toxicidad recomendados por el CYTED (1995), los cuales indican que el compuesto ensayado es altamente tóxico si presenta valores de CL_{50} entre 10 y 100 ppm.

DISCUSIÓN

Dentro de la Familia Amaryllidaceae, el alcaloide narciclasina, aislado de bulbos de *Narcissus tazetta* y también detectado en el género *Sprekelia* (Piozzi, *et al.*, 1969), ha sido reportado con efectos en la germinación de las semillas de *Arabidopsis*, inhibiendo el ciclo mitótico de las células radicales durante la germinación y el crecimiento de la raíz a concentración de 1.45 ppm (Na *et al.*, 2011). Por otra parte, los alcaloides de quinolizidina de *Lupinus albus* L. (Fabaceae) inhiben el 100% de la germinación de *Lactuca sativa* L. (Wink, 1983). Por lo tanto, los efectos de inhibición de germinación y crecimiento de raíz obtenidos en los ensayos llevados a cabo con *Lactuca sativa* L. y *Phalaris canariensis* se relacionan con los alcaloides reportados y que, probablemente, se encuentran en el ECBSF a partir de los resultados obtenidos.

Los metabolitos aislados de ciertas especies vegetales tienen una importante actividad insecticida, afectando la supervivencia, crecimiento, desarrollo y el patrón de alimentación de los insectos fitófagos (Jbilou, *et al.*, 2006; Moussaid, *et al.*, 2014; Zapata, *et al.*, 2014), en la Familia Amaryllidaceae, los extractos de alcaloides y saponinas totales de *Narcissus broussonetii* Lag.

afectan significativamente la supervivencia de las etapas de desarrollo en la mosca blanca del tabaco (*Bemisia tabaci*) (Moussaid, *et al.*, 2014), mientras que los extractos alcaloideos de bulbos de *Phycella australis* Ravenna tienen un efecto insecticida del 100%, además de disminuir significativamente la reproducción de *Acyrtosiphon pisum* Harris (pulgón de las leguminosas) (Castro-Gamboa, 2015). La presencia de alcaloides (Hohmann *et al.*, 2002) en el extracto clorofórmico de bulbos de *S. formosissima* pueden explicar los efectos encontrados en el modelo ensayado.

Existen reportes de alcaloides del tipo aislado en *S. formosissima* (Hohmann *et al.*, 2002) que poseen actividad antibacteriana (Qiu *et al.*, 2014), al igual que extractos de otros géneros de la Familia Amaryllidaceae como, por ejemplo, la actividad antimicrobiana reportada para el extracto clorofórmico-metanólico de raíces y hojas de *Hymenocallis littoralis* (Jacq.) contra un panel de 12 microorganismos entre bacterias Gram (+), Gram (-) y hongos, donde se observaron halos de inhibición entre 15 y 29 mm (Noormi *et al.*, 2012). Sin embargo, los resultados obtenidos en este trabajo reflejan que el ECBSF no inhibe significativamente el crecimiento de las cepas probadas; esta diferencia con los resultados reportados por Noormi *et al.* (2012) pueden deberse a varios factores, algunos de los más importantes pueden ser: i) diferencia en la técnica de extracción, ya que para este trabajo se utilizó la maceración con cloroformo, mientras que en el de Noormi *et al.* (2012) se usó una mezcla de cloroformo con metanol en una relación 3:1; ii) la cantidad de extracto por disco, ya que en el ensayo de difusión descrito en el trabajo de Noormi *et al.* (2012) se utilizaron 2000 µg de extracto por disco; mientras que en el

presente estudio, la máxima concentración utilizada fue de 1000 µg de extracto por disco.

Algunos reportes atribuyen la toxicidad de especies de la Familia Amaryllidaceae frente a *A. salina* a la presencia de alcaloides, saponinas, compuestos fenólicos y glucósidos cardiotónicos en los extractos y fracciones de las especies vegetales (Aziz *et al.*, 2014; Nikolova & Tsvetkova, 2008; Olaleye, 2007). De esta manera, la toxicidad del extracto observada en este trabajo, se puede atribuir a la presencia de alcaloides y saponinas.

CONCLUSIONES

S. formosissima es una especie ampliamente utilizada en la medicina tradicional mexicana. Sin embargo, en este trabajo los resultados reflejaron que el ECBSF no inhibió significativamente el crecimiento de las cepas probadas. Por otra parte, este estudio muestra que el ECBSF posee actividad de inhibición de la germinación en las semillas monocotiledóneas y dicotiledóneas, así como actividad insecticida y de inhibición de la reproducción en la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*). De esta manera, los resultados de este estudio sugieren que el extracto clorofórmico de bulbos de *S. formosissima* tiene potencial para su uso en desarrollo sustentable.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece de manera especial a la Mtra. Edith Salomé del Centro de Investigación en Plantas Nativas (CIPNA) por la donación e identificación de los bulbos de *S. formosissima*.

REFERENCIAS

- Abdallah, E. M. (2011). Plants: An alternative source for antimicrobials. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **1** (6), 16-20.
- Aziz, A., Raju, G. S., Das, A., Ahmed, J. & Moghal, M. M. R. (2014). Evaluation of *in vitro* anthelmintic activity, total phenolic content and cytotoxic activity of *Crinum latifolium* L. (Family: Amaryllidaceae). *Advanced pharmaceutical bulletin*, **4** (1), 15-19. DOI: 10.5681/apb.2014.003.
- Bastida, J., Berkov, S., Torras, L., Pigni, N. B., de Andrade, J.P., Martínez, V., Codina, C. & Viladomat, F. (2011). Chemical and biological aspects of Amaryllidaceae alkaloids. *Recent Advances in Pharmaceutical Sciences*, Ed. Diego Muñoz-Torrero. ISBN: 978-81-7895-528-5. pp 65-100.
- BDMTM (2009). Flora Medicinal de México: *Sprekelia formosissima*. UNAM. Consultado el 13 de marzo de 2015 en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/index.php>
- Bernal, M. & Guzmán, M. (1984). El Antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby-Bauer. *Biomédica*, **4** (3-4), 112-121. DOI: 10.7705/biomedica.v4i3-4.1891.
- Cabezas, F., Argoti, J., Martínez, S., Codina, C., Bastida, J. & Viladomat, F. (2007). Alcaloides y actividad biológica en *Eucharis amazonica*, *E. grandiflora*, *Caliphruria subdentata* y *Crinum kunthianum*, especies colombianas de Amaryllidaceae. *Scientia et Technica*, **13** (33), 237-241. DOI: 10.22517/23447214.6085.
- Castro-Gamboa, C. I. (2015). Actividad insecticida de extractos alcaloideos obtenidos de especies de Amaryllidaceae sobre *Acyrtosiphon pisum harris* (homoptera: aphididae). Chillán: Tesis Digitales. Universidad de Concepción.
- CYTED (1995). Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Manual de Técnicas de Investigación. Colombia: CYTED.
- Dudareva, N., Pichersky, E. & Gershenzon, J. (2004). Biochemistry of plant volatiles. *Plant physiology*, **135** (4), 1893-1902. DOI: 10.1104/pp.104.049981.
- Duke, S. O., Baerson, S. R. & Dayan, F. E. (2011). Bioactivity of Herbicides. En Moo-Young, M. (Ed.) *Comprehensive Biotechnology* (pp. 23-25). Amsterdam: Elsevier Press.
- Espejo-Serna, A. & López-Ferrari, A. R. (2003). Alliaceae. Flora de Veracruz. Fascículo 132 (pp. 1-18). Instituto de Ecología, A.C., Xalapa & University of California. Riverside, California. ISBN 970-709-035-9
- Hohmann, J., Forgo, P., Molnár, J., Wolfard, K., Molnár, A., Thalhammer, T., Máthé, I. & Sharples, D. (2002). Antiproliferative Amaryllidaceae alkaloids isolated from the bulbos of *Sprekelia formosissima* and *Hymenocallis x festalis*. *Planta medica*, **68** (5), 454-457. DOI: 10.1055/s-2002-32068.
- Jbilou, R., Ennabili, A. & Sayah, F. (2006). Insecticidal activity of four medicinal plant extracts against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *African Journal of Biotechnology*, **5** (10), 936-940.
- Juárez, Z. N., Hernández, L. R., Bach, H., Sánchez-Arreola, E. & Bach, H. (2015). Antifungal activity of essential oils extracted from *Agastache mexicana* ssp. *xolocotziana* and *Porophyllum linaria* against post-harvest pathogens. *Industrial Crops and Products*, **74** (2015), 178-182. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.04.058.
- Kisangau, D. P., Hosea, K. M., Joseph, C. C. & Lyaruu, H. V. (2007). *In vitro* antimicrobial assay of plants used in traditional medicine in Bukoba rural district, Tanzania. *African Journal of Traditional, complementary and alternative medicines*, **4** (4), 510-523. DOI: 10.4314/ajtcam.v4i4.31245.
- Koivunen, M., Duke, S.O., Coats, J.C. & Beck, J.J. (2013). Pest Management with natural products. Washington D.C.: ACS Publications.
- Leszczyńska-Borys H., Borys, W. M. & Galvan, S. J. L. (1995). Relaciones raíz/bulbo y otras características de la *Sprekelia (Sprekelia formosissima)* (L.) Herbert.). *Rev. Chapingo S. Hort.*, **1**:77-84.
- Mann, R. & Kaufman, P. (2012). Natural product pesticides: their development, delivery and use against insect vectors. *Mini-reviews in organic chemistry*, **9** (2), 185-202. DOI: 10.2174/157019312800604733.
- Mothana, R. A., Lindequist, U., Gruenert, R. & Bednarski, P. J. (2009). Studies of the *in vitro* anticancer, antimicrobial and antioxidant potentials of selected Yemeni medicinal plants from the island Soqatra. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **9**:7. DOI: 10.1186/1472-6882-9-7.
- Moussaid, M., Berhal, C. & Moussaid, H. (2014). Biocide Effects of Alkaloids and Saponins Extracted from *Narcissus broussonetii* (Larg.) (Amaryllidaceae) on *Bemisia tabaci* (Gennadius)

- (Homoptera: Aleyrodidae). En *Biotechnology and Conservation of Species from Arid Regions*. Cap. **35**, 381-392.
- Na, X., Hu, Y., Yue, K., Lu, H., Jia, P., Wang, H. & Bi, Y. (2011). Concentration-dependent effects of narciclasine on cell cycle progression in *Arabidopsis* root tips. *BMC Plant Biology*, **11**:184. DOI: 10.1186/1471-2229-11-184.
- Nikolova, M. & Tsvetkova, R. (2008). Assessment of cytotoxic activity on alkaloid of Amaryllidaceae and Papaveraceae species. *9th Symposium on Flora of Southeastern Serbia and Neighbouring Regions*, **1 (1)**, 211-214.
- Noormi, R., Sumathy, V., Vikneswaran, M. & Subramaniam, S. (2012). Screening of potential antimicrobial activity from *Hymenocallis littoralis* (Jacq.) Salisb. *Pharmacology Online*, **1 (2012)**, 93-98.
- Olaleye, M. T. (2007). Cytotoxicity and antibacterial activity of methanolic extract of *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of Medicinal Plants Research*, **1 (1)**, 9-13.
- Piozzi, F., Marino, M. L., Fuganti, C. & Di Martino, A. (1969). Occurrence of non-basic metabolites in Amaryllidaceae. *Phytochemistry*, **8 (9)**, 1745-1748. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)85963-4.
- Qiu, S., Sun, H., Zhang, A. H., Xu, H. Y., Yan, G. L., Han, Y. & Wang, X. J. (2014). Natural alkaloids: basic aspects, biological roles, and future perspectives. *Chinese Journal of Natural Medicines*, **12 (6)**, 401-406. DOI: 10.1016/S1875-5364(14)60063-7.
- Rai, A. B., Halder, J. & Kodandaram, M. H. (2014). Emerging insect pest problems in vegetable crops and their management in India: An appraisal. *Pest Management in Horticultural Ecosystems*, **20 (2)**, 113-122.
- Romano, E., Raschi, A. B., González, A. M., Jaime, G., Fortuna, M. A., Hernández, L. R. & Benavente, A. M. (2011). Phytotoxic activities of (2R)-6-hydroxytremetone. *Plant Physiology and Biochemistry*, **49 (6)**, 671-675. DOI:10.1016/j.plaphy.2011.02.014.
- Sánchez, S. O. (1969). *La flora del Valle de México*. México, D.F.: Editorial Herrero S. A.
- Tapia-Campos, E., Rodríguez-Domínguez, J. M., Revuelta-Arreola, M., Van Tuyl, J. M. & Barba-González, R. (2012). Mexican Geophytes II. The Genera *Hymenocallis*, *Sprekelia* and *Zephyranthes*. *Floriculture and Ornamental Biotechnology*, **6 (SI 1)**, 129-139.
- Verpoorte, R., Van Der Heijden, R., Ten Hoopen, H. J. G. & Memelink, J. (1999). Metabolic engineering of plant secondary metabolite pathways for the production of fine chemicals. *Biotechnology letters*, **21 (6)**, 467-479. DOI: 10.1023/A:1005502632053.
- Wink, M. (1983). Inhibition of seed germination by quinolizidine alkaloids: Aspects of allelopathy in *Lupinus albus* L. *Planta*, **158 (4)**, 365-368. DOI: 10.1007/BF00397339.
- Zapata, N., Vargas, M., Coronado, A. & Van Damme, E. J., Smagghe, G. (2014). Insecticidal activity of protein extracts obtained from bulbs of Chilean Amaryllidaceae against *Trialeurodes vaporariorum* Westwood and *Pseudococcus viburni* Signoret. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, **80 (2)**, 199-203.
- Zupko, I., Rethy, B., Hohmann, J., Molnar, J., Ocsóvszki, I. & Falkay, G. (2009). Antitumor activity of alkaloids derived from Amaryllidaceae species. *In vivo*, **23 (1)**, 41-48.