

# UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

## TESIS

Actividad antifúngica *in vitro* de extractos  
*Dysphania ambrosioides*

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA

**ANGELES SANTIAGO MARTÍNEZ**



Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Mayo de 2025



# UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

## T E S I S

### **Actividad antifúngica *in vitro* de extractos *Dysphania ambrosioides***

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA

**ANGELES SANTIAGO MARTINEZ**

Director

DR. IVÁN DE LA CRUZ CHACÓN

**INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. UNICACH**

Asesora

DRA. CHRISTIAN ANABÍ RILEY SALDAÑA

**INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. UNICACH**



Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Mayo de 2025



**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS**  
**SECRETARÍA GENERAL**

**DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES**  
**DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN ESCOLAR**  
**AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN**

Lugar: Tuxtla Gutiérrez, Chiapas;  
Fecha: 13 de mayo de 2025

C. **Ángeles Santiago Martínez**

Pasante del Programa Educativo de: Licenciatura en Biología

Realizado el análisis y revisión correspondiente a su trabajo recepcional denominado:

**Actividad antifúngica *in vitro* de extractos *Dysphania ambrosioides***

En la modalidad de: Tesis Profesional

Nos permitimos hacer de su conocimiento que esta Comisión Revisora considera que dicho documento reúne los requisitos y méritos necesarios para que proceda a la impresión correspondiente, y de esta manera se encuentre en condiciones de proceder con el trámite que le permita sustentar su Examen Profesional.

ATENTAMENTE

**Revisores**

**Dra. Marisol Castro Moreno**

**Mtra. Erika Cecilia Pérez Ovando**

**Dr. Iván de la Cruz Chacón**

**Firmas:**

Ccp. Expediente

## **AGRADECIMIENTOS**

- A Dios, por siempre acompañarme en el camino, por protegerme y colmarme de bendiciones. Gracias por darme la dicha de cruzarme con personas que han dejado huella en mi vida.
- A las mujeres de mi vida, Jacinta, Mari y Selina, no me alcanzaría esta vida para decirles y demostrarle lo agradecida que estoy con ustedes. Todo lo que soy solo es la suma de cada una. Su amor, sabiduría y fortaleza me sostienen y me inspiran cada día.
- A Diana, Valeria, Mario, Esme, Eli, Karla, Edsel, Citla, Isa, Axel y a todos mis compañeros: gracias por hacer de la universidad una etapa inolvidable. Por las risas, las salidas, las noches de desvelo, el apoyo mutuo y todo el aprendizaje compartido. Cada momento con ustedes queda guardado con cariño.
- Al Dr. Iván De la Cruz Chacón, gracias por guiarme en esta travesía, por las enseñanzas, los consejos y por siempre escucharme. Ha sido inspiración desde el primer semestre que lo conocí; sembró en mí el conocimiento y me dio los recursos para llevar a cabo este trabajo. Le agradezco su pasión por enseñar, pues es tan grande que se contagia; y por el gran y noble corazón que posee, que su alma siga llena de vida y alegría.
- A la Dra. Christian Anabí Riley Salda, Mtra. Erika Cecilia Pérez Ovando, y la Dra. Marisol Castro Moreno, por su acompañamiento constante a lo largo de la carrera, por su generosidad al compartirme su tiempo y conocimiento para enriquecer este trabajo.
- Y a todas las personas del Laboratorio de Fisiología y Química Vegetal del ICBIOL, por su apoyo, sus enseñanzas, su paciencia y por haber compartido conmigo este espacio de aprendizaje y crecimiento.



## DEDICATORIA

- A mi querida madre, Mari, por ser mi fuerza, mi refugio y mi pilar incondicional. Gracias por sostenerme con amor en cada paso de este camino. Sé que dejarme partir no fue fácil, pero esta tesis también es tuya: es fruto de tu esfuerzo, de tu fe en mí y de la confianza que siempre me brindaste.
- A mi Hermana Selina, porque todo lo que hago siempre tiene tu nombre en el pensamiento; me has acompañado y apoyado en todo mi camino, . Este logro también es tuyo, sin ti no sería igual. Gracias por brindarme felicidad, estoy orgullosa de ti, hermana.
- A mi mamá grande, Jacinta, por tu sabiduría, tu fortaleza y amor que ha sostenido mi ser, tu nobleza y humildad me enseñaron a mirar la vida con sensibilidad y conciencia. Te dedico mi vida entera.
- A mi papi Roque, por enseñarme con el ejemplo que todo esfuerzo tiene su recompensa, y que hacer lo que a uno le apasiona es también una forma de vivir feliz. Gracias por esas lecciones que florecen hoy en este logro.
- Fany, María, Frida y Emilita, que nunca dejen de soñar, que nadie apague su luz, que tengan siempre la fuerza para seguir su camino hasta alcanzar todo aquello que se propongan. Confío en ustedes.
- Octavio por escucharme, acompañarme, animarme en los días difíciles y compartir conmigo tantos momentos felices. Tu presencia ha sido un gran consuelo y una alegría constante.
- Diana, gracias por abrirme las puertas de tu hogar, por acobijarme y no dejarme sola, me hiciste sentir querida y en casa. Siempre serás parte de mi familia.

## ÍNDICE GENERAL

|                                                                                 |      |
|---------------------------------------------------------------------------------|------|
| ÍNDICE DE CUADROS                                                               | IV   |
| ÍNDICE DE FIGURAS                                                               | V    |
| RESUMEN                                                                         | VIII |
| ABSTRACT                                                                        | IX   |
| I. INTRODUCCIÓN                                                                 | 1    |
| II. MARCO TEÓRICO                                                               | 3    |
| 2.1. <i>Dysphania ambrosioides</i> (L.) Mosyakin y Clemonts, 2002               | 3    |
| 2.1.1. Taxonomía                                                                | 3    |
| 2.1.2. Descripción morfológica                                                  | 3    |
| 2.1.3. Metabolitos secundarios de <i>D. ambrosioides</i>                        | 4    |
| 2.1.4. Toxicidad                                                                | 7    |
| 2.1.5. Actividad biológica                                                      | 9    |
| 2.1.6. Usos tradicionales                                                       | 11   |
| 2.2. Hongos de estudio                                                          | 13   |
| 2.2.1. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. lycopersici W.C. Snyder & H.N. Hansen   | 13   |
| 2.2.2. Taxonomía                                                                | 14   |
| 2.2.3. Enfermedades causadas                                                    | 14   |
| 2.2.4. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (Penz.) Penz. y Sacc               | 15   |
| 2.2.5. Taxonomía                                                                | 15   |
| 2.2.6. Enfermedades causadas                                                    | 16   |
| 2.2.7. <i>Curvularia lunata</i> (Wakker) Boedijn                                | 17   |
| 2.2.8. Taxonomía                                                                | 18   |
| 2.2.9. Enfermedades                                                             | 18   |
| 2.3. Manejo de las fitopatologías de los hongos de estudio                      | 19   |
| III. ANTECEDENTES                                                               | 21   |
| 3.1. Estudios de <i>D. ambrosioides</i> sobre hongos fitopatógenos              | 21   |
| 3.2. Estudios de <i>D. ambrosioides</i> sobre otras actividades antimicrobianas | 22   |

|                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.2.1. Actividad antibacteriana                                                                         | 22 |
| 3.2.2. Actividad antihelmíntica                                                                         | 23 |
| 3.2.3. Actividad antiprotozoaria                                                                        | 23 |
| IV. OBJETIVOS                                                                                           | 25 |
| General                                                                                                 | 25 |
| Específico                                                                                              | 25 |
| V. ZONA DE RECOLECTA                                                                                    | 26 |
| VI. MÉTODO                                                                                              | 26 |
| 6.1. Material biológico                                                                                 | 26 |
| 6.1.1. Selección del material vegetal                                                                   | 26 |
| 6.1.3. Cepas fúngicas                                                                                   | 26 |
| 6.2. Reactivos                                                                                          | 26 |
| 6.3. Obtención de extractos de metabolitos secundarios                                                  | 27 |
| 6.3.1. Aceite esencial                                                                                  | 27 |
| 6.3.2. Extracto metanólico                                                                              | 27 |
| 6.3.3. Extracto hexánico y alcaloidal                                                                   | 28 |
| 6.3.4. Extracto acuoso                                                                                  | 29 |
| 6.3.5. Rendimiento de extractos                                                                         | 30 |
| 6.4. Perfil de riqueza y abundancia de compuestos de los extractos selectivos de <i>D. ambrosioides</i> | 30 |
| 6.5. Pruebas in vitro de capacidad antifúngica                                                          | 30 |
| 6.5.1 Obtención de las cepas                                                                            | 30 |
| 6.5.2. Ensayos antifúngicos <i>in vitro</i>                                                             | 30 |
| 6.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO                                                                               | 31 |
| VII. RESULTADOS                                                                                         | 33 |
| 7.1. Rendimiento y composición química de extractos de <i>D. ambrosioides</i>                           | 33 |
| 7.1.1. Rendimiento de los extractos generales y selectivos de <i>D. ambrosioides</i>                    | 33 |
| 7.1.2. Perfil cromatográfico de los extractos selectivos de <i>D. ambrosioides</i>                      | 33 |

|                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 7.2. Actividad antifúngica in vitro de extractos de <i>D. ambrosioides</i>                          | 36 |
| 7.2.1. Actividad antifúngica del extracto acuoso de <i>D. ambrosioides</i>                          | 36 |
| 7.2.2. Actividad antifúngica del extracto hexánico de <i>D. ambrosioides</i>                        | 37 |
| 7.2.3. Actividad antifúngica del extracto metanólico de <i>D. ambrosioides</i>                      | 39 |
| 7.2.4. Actividad antifúngica del extracto alcaloidal de <i>D. ambrosioides</i>                      | 40 |
| 7.2.5. Identificación del extracto de <i>D. ambrosioides</i> con mayor actividad antifúngica        | 41 |
| 7.3. Exploración fitoquímica del extracto con mejor actividad antifúngica de <i>D. ambrosioides</i> | 43 |
| 7.3.1. Perfil cromatográfico del extracto metanólico de <i>D. ambrosioides</i>                      | 43 |
| 7.3.2. Fraccionamiento del extracto metanólico de <i>D. ambrosioides</i>                            | 44 |
| 7.3.3. Perfil cromatográfico de las fracciones de <i>D. ambrosioides</i>                            | 44 |
| 7.3.4. Actividad antifúngica de las fracciones de <i>D. ambrosioides</i>                            | 48 |
| VIII. DISCUSIÓN                                                                                     | 49 |
| IX. CONCLUSIONES                                                                                    | 55 |
| X. RECOMENDACIONES                                                                                  | 56 |
| XI. REFERENCIAS DOCUMENTALES                                                                        | 57 |

## ÍNDICE DE CUADROS

|                                                                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Cuadro 1. Metabolitos secundarios presentes en <i>Dysphania ambrosioides</i> ____                                                                             | 7  |
| Cuadro 2. Actividades biológicas de extractos o moléculas de <i>Dysphania ambrosioides</i> _____                                                              | 12 |
| Cuadro 3. Actividades farmacológicas estudiadas para extractos o moléculas de <i>Dysphania ambrosioides</i> _____                                             | 13 |
| Cuadro 4. Rendimiento de extractos generales y selectivos de hojas de <i>Dysphania ambrosioides</i> _____                                                     | 33 |
| Cuadro 5. Factor de retención y abundancia cromatográfica de los compuestos obtenidos del aceite esencial de las hojas de <i>Dysphania ambrosioides</i> _____ | 35 |
| Cuadro 6. Actividad antifúngica sobre fitopatógenos del extracto acuoso de <i>Dysphania ambrosioides</i> _____                                                | 36 |
| Cuadro 7. Actividad antifúngica sobre fitopatógenos del extracto hexánico de <i>Dysphania ambrosioides</i> _____                                              | 38 |
| Cuadro 8. Actividad antifúngica sobre fitopatógenos del extracto metanólico de <i>Dysphania ambrosioides</i> _____                                            | 39 |
| Cuadro 9. Actividad antifúngica sobre fitopatógenos del extracto alcaloidal de <i>Dysphania ambrosioides</i> _____                                            | 40 |
| Cuadro 10. Comparación de la potencia antifúngica de los extractos de <i>Dysphania ambrosioides</i> _____                                                     | 41 |
| Cuadro 11. Factor de retención y abundancia cromatográfica de los compuestos del extracto metanólico <i>Dysphania ambrosioides</i> _____                      | 43 |
| Cuadro 12. Actividad antifúngica de las fracciones de <i>Dysphania ambrosioides</i> _____                                                                     | 48 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Clasificación taxonómica de <i>Dysphania ambrosioides</i>                                                                                                                                                              | 3  |
| Figura 2. Aspectos morfológicos del epazote ( <i>Dysphania ambrosioides</i> ).<br>Elaboración propia, 2025.                                                                                                                      | 4  |
| Figura 3. Principales estructuras químicas de los terpenos de <i>Dysphania ambrosioides</i> . Elaboración propia, 2024                                                                                                           | 6  |
| Figura 4. Mecanismos de toxicidad del ascaridol (29), carvacrol (19) y óxido de cariofileno (35) en las mitocondrias. Fuente Dagni <i>et al.</i> (2022)                                                                          | 9  |
| Figura 5. Colonia de <i>F. oxysporum</i> en agar papa dextrosa. Fuente: Elaboración propia                                                                                                                                       | 14 |
| Figura 6. Marchitez por Fusarium causada por <i>F. oxysporum</i> f. sp. lycopersicium en condiciones de campo. Fuente: Srinivas <i>et al.</i> , 2019                                                                             | 15 |
| Figura 7. A) antracnosis causada por <i>C. gloeosporioide</i> en el fruto de papaya; B) <i>C. gloeosporioide</i> en agar papa dextrosa; C) Esporas de <i>C. gloeosporioide</i> . Fuente: Landero-Valenzuela <i>et al.</i> , 2016 | 17 |
| Figura 8. Aspecto de cultivos de <i>C. lunata</i> en agar papa dextrosa (A) y reverso de una placa de Petri (B) después de 7 días de incubación a 30 °C. Fuente: Deepu <i>et al.</i> , 2013                                      | 18 |
| Figura 9. Diagrama del proceso de obtención del aceite esencial de las partes aéreas de <i>Dysphania ambrosioides</i> . Autoría propia, 2024                                                                                     | 27 |
| Figura 10. Diagrama del proceso de obtención del extracto metanólico de las partes aéreas de <i>Dysphania ambrosioides</i> . Autoría propia, 2024                                                                                | 28 |
| Figura 11. Diagrama del proceso de obtención del extracto hexánico y alcaloidal de las partes aéreas de <i>Dysphania ambrosioides</i> . Autoría propia, 2024                                                                     | 29 |
| Figura 12. Diagrama del proceso de obtención del extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Dysphania ambrosioides</i> . Autoría propia, 2024                                                                                    | 29 |
| Figura 13. Diagrama del ensayo de la actividad antifúngica. Autoría propia, 2024                                                                                                                                                 | 31 |
| Figura 14. Diagrama general del método para la evaluación biológica de los metabolitos secundarios de <i>Dysphania ambrosioides</i> . Autoría propia, 2024                                                                       | 32 |
| Figura 15. Cromatografía de capa fina del aceite esencial de <i>Dysphania ambrosioides</i> , revelada con a) vainillina en ácido sulfúrico; b) con ácido fosfomolibdico y c) con sulfato cérico                                  | 34 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 16. Cromatografía de capa fina del extracto alcaloidal de las hojas de <i>Dysphania ambrosioides</i> , revelada con reactivo Dragendorff                                                                                                                                                 | 35 |
| Figura 17. Actividad antifúngica del extracto acuoso de <i>Dysphania ambrosioides</i>                                                                                                                                                                                                           | 37 |
| Figura 18. Actividad antifúngica del extracto hexánico de <i>Dysphania ambrosioides</i>                                                                                                                                                                                                         | 38 |
| Figura 19. Actividad antifúngica del extracto metanólico de <i>Dysphania ambrosioides</i>                                                                                                                                                                                                       | 39 |
| Figura 20. Actividad antifúngica del extracto alcaloidal de <i>Dysphania ambrosioides</i>                                                                                                                                                                                                       | 40 |
| Figura 21. El análisis de componentes principales de los extractos de <i>Dysphania ambrosioides</i> sobre <i>F. oxysporum</i> , <i>C. gloeosporioides</i> y <i>C. lunata</i> . muestra que los dos primeros componentes principales explican la mayor parte de la variabilidad en los datos 95% | 42 |
| Figura 22. Cromatografía de capa fina del extracto metanólico de <i>Dysphania ambrosioides</i> , revelada con a) Sulfato cérico; b) vainillina en ácido sulfúrico; y c) reactivo Dragendorff                                                                                                    | 44 |
| Figura 23. Columna cromatográfica empacada con sílica gel. Elaboración propia. 2024                                                                                                                                                                                                             | 45 |
| Figura 24. Cromatografía de capa fina de la fracción soluble en hexano de <i>Dysphania ambrosioides</i> , revelada con a) Sulfato cérico; b) vainillina en ácido sulfúrico; y c) reactivo Dragendorff                                                                                           | 46 |
| Figura 25. Cromatografía de capa fina de la fracción soluble en metanol de <i>Dysphania ambrosioides</i> , revelada con a) Sulfato cérico; b) vainillina en ácido sulfúrico; y c) reactivo Dragendorff                                                                                          | 46 |
| Figura 26. Cromatografía de capa fina de la fracción hexánica de <i>Dysphania ambrosioides</i> , revelada con a) Sulfato cérico; b) vainillina en ácido sulfúrico; y c) reactivo Dragendorff                                                                                                    | 46 |
| Figura 27. Cromatografía de capa fina de la fracción AcoEt de <i>Dysphania ambrosioides</i> , revelada con a) Sulfato cérico; b) vainillina en ácido sulfúrico; y c) reactivo Dragendorff                                                                                                       | 47 |
| Figura 28. Cromatografía de capa fina de la fracción AcoEt de <i>Dysphania ambrosioides</i> , revelada con a) Sulfato cérico; b) vainillina en ácido sulfúrico; y c) reactivo Dragendorff                                                                                                       | 47 |

Figura 29. Cromatografía de capa fina de la fracción FIV de *Dysphania ambrosioides*, revelada con a) Sulfato cérico; b) vainillina en ácido sulfúrico; y c) reactivo Dragendorff \_\_\_\_\_ 47



## RESUMEN

*Dysphania ambrosioides* es una hierba aromática nativa de la región mesoamericana usada en la gastronomía y en la medicina tradicional, en México es conocida como epazote o *epazotl*. Es una especie valorada por las actividades biológicas que desarrollan sus metabolitos secundarios.

En este estudio se evaluó el potencial antifúngico *in vitro* de extractos de *D. ambrosioides* contra tres fitopatógenos de importancia agrícola (*Fusarium oxysporum*, *Curvularia lunata* y *Colletotrichum gloeosporioides*). Para ello se obtuvieron extractos generales (metanólico, hexánico y acuoso) y selectivos (alcaloidal y aceite esencial) de las partes aéreas y se evaluó su actividad antifúngica con ensayos de inhibición micelial a 1, 10, 100 y 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

Todos los extractos inhibieron en algún grado el crecimiento de los tres fitopatógenos. El extracto hexánico inhibió completamente el crecimiento de *C. gloeosporioides*, el acuoso presentó la actividad más alta sobre *C. lunata* (91% tasa inhibitoria), el metanólico fue el que mejor inhibió a *F. oxysporum* (82%) y el de alcaloides exhibió su potencia más alta frente a *C. gloeosporioides* (86%). El aceite esencial no fue evaluado por su bajo rendimiento.

El extracto metanólico destacó por su potencia alta sobre los tres fitopatógenos, por lo que se le realizaron análisis más detallados. El análisis en cromatografía de capa fina evidenció la presencia de siete compuestos, seis de naturaleza terpénica y un alcaloide. La separación en columna cromatográfica con disolventes de polaridad creciente (hexano, acetato de etilo y metanol) condujo a ocho fracciones. La potencia antifúngica de estas fracciones fue determinada a 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  sobre *C. lunata*, pues había una ausencia de antecedentes de *D. ambrosioides* sobre este fitopatógeno. La actividad osciló entre 17 y 85% de inhibición. El hecho que el extracto metanólico presentara una mejor actividad inhibidora que sus fracciones cromatográficas, indica la posible existencia de efectos sinérgicos en la mezcla completa.

En conclusión, el *epazotl* es una fuente de moléculas antifúngicas, que por su diversidad química pueden ser extraídas de variadas formas. La potencia antifúngica que exhiben sus extractos generales, selectivos y fracciones la sitúan como un recurso natural susceptible de futuros estudios y por ende un recurso de la biodiversidad mexicana a conservar.

## ABSTRACT

*Dysphania ambrosioides*, or epazote, is an aromatic herb native to Mesoamerica, valued for its culinary uses and biological activities of its secondary metabolites. This study examined the in vitro antifungal potential of *D. ambrosioides* against three significant phytopathogens: *Fusarium oxysporum*, *Curvularia lunata*, and *Colletotrichum gloeosporioides*.

To achieve this, general (methanolic, hexanic, and aqueous) and selective (alkaloid and essential oil) extracts were obtained from the leaves and stems of *D. ambrosioides*. Antifungal activity was assessed using agar-based mycelial inhibition assays at concentrations of 1, 10, 100, and 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , except for the essential oil, which was excluded due to its low yield.

All extracts exhibited some degree of inhibition against the three phytopathogens. The hexanic extract completely inhibited the growth of *C. gloeosporioides*. The aqueous extract showed the highest activity against *C. lunata*, with a 91% inhibition rate. The alkaloid extract demonstrated its greatest potency against *C. gloeosporioides* (86%), while the methanolic extract was the most effective against *F. oxysporum* (82%).

Further analysis of the methanolic extract revealed seven compounds (six terpenoids and one alkaloid). Subsequent column chromatography produced eight fractions. The antifungal activity of these fractions was tested at 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  against *C. lunata*, the least studied phytopathogen. as there is a lack of published literature reporting the antifungal activity of *Dysphania ambrosioides* against this species. Inhibitory activity ranged from 17% to 85%.

Since the crude methanolic extract from which these fractions were derived showed stronger inhibitory activity, this suggests the possible existence of synergistic effects within the complete mixture.

In conclusion, *epazotl* is a source of antifungal compounds that, due to their chemical diversity, can be extracted through various methods. The antifungal potency demonstrated by both general and selective extracts positions this plant as a promising natural resource for future research and, therefore, as part of Mexico biodiversity worth conserving.

## I. INTRODUCCIÓN

Las plantas producen una diversidad de metabolitos secundarios bioactivos, como resultado de mecanismos adaptativos y defensivos contra animales y microorganismos; estas moléculas han sido una fuente invaluable de principios activos de interés en la farmacia y la medicina (Sousa *et al.*, 2012).

*Dysphania ambrosioides* es una hierba aromática conocida en México como epazote y usada desde tiempos prehispánicos como condimento y en la medicina tradicional (Gispert *et al.*, 2004). Además varias investigaciones han determinado sus actividades antihelmínticas, antiprotozoarias, tripanomicidas, antibacterianas y antifúngicas, entre otras (Gómez-Castellanos, 2008). Estas propiedades se deben a la capacidad de la planta para producir cerca de 400 metabolitos secundarios que incluyen alcaloides, flavonoides, terpenos, dentro de los que se destacan por sus propiedades antiparasíticas y fungicidas, los monoterpenos ascaridol, p-cimeno, carvacrol y los tipos mentano (Kiuchi *et al.*, 2002; Trivellato-Grassi *et al.*, 2013; Almeida *et al.*, 2019; Pereira *et al.*, 2022; Kasrati *et al.*, 2024).

Un sector clave en el uso de principios activos vegetales es el agrícola, en particular en el control de enfermedades provocadas por fitopatógenos, entre ellos las causados por los hongos *Colletotrichum gloeosporioides* (antracnosis), *Fusarium oxysporum* (fusariosis vascular) y *Curvularia lunata* (mancha foliar del maíz). Las pérdidas asociadas por *C. gloeosporioides* alcanzaron han rondado alrededor del 20% de la producción nacional del aguacate y entre 30 y 60% del mango (Carrillo-Fasio *et al.*, 2005; Tapia *et al.*, 2019). Mientras que *F. oxysporum* es el causante de la marchitez de *Gladiolus grandiflorus* una especie ornamental de importancia económica, provocando pérdidas económicas del 60 al 100% de la producción (Ríos-Hernández *et al.*, 2021). Por otro lado, *C. lunata* fue el causante de pérdidas de 55 % en maíz en Chiapas y Guerrero durante el 2016 (Ríos *et al.*, 2017).

Actualmente estos fitopatógenos se tratan con fungicidas químicos, sin embargo, cada vez son mayores las restricciones de orden higiénico-sanitarias sobre el uso de compuestos químicos, debido a sus efectos tóxicos y residuales para los organismos que están expuestos directamente a ello y la inducción del

desarrollo de patógenos resistentes (Siddiqui y Ali, 2014). Este panorama hace necesaria la búsqueda de alternativas biológicas para combatir los problemas fitopatológicos en los cultivos hortícolas.

Entre las alternativas, se encuentra el uso de metabolitos secundarios vegetales, en particular los de *D. ambrosioides*. Aunque hay algunos estudios en los que se ha determinado que extractos y metabolitos de sus tejidos presentan propiedades antifúngicas (Gómez-Castellanos, 2008), estos esfuerzos han sido aislados y sobre pocas especies de fitopatógenos (Ramírez-Mares y Hernández-Carlos, 2015). No hay estudios en los que se compare su quimiodiversidad y que permita determinar que tipos de extractos son los más potentes o los de mayor espectro de actividad.

*D. ambrosioides* desenvuelve varias rutas metabólicas que dan origen a sus metabolitos, de tal manera que es una planta aromática por sus moléculas terpénicas volátiles, pero también es capaz de producir alcaloides y fenoles (Kandsi *et al.*, 2022).

Por lo que, en este estudio se pretendió determinar si la quimiodiversidad de metabolitos secundarios de *D. ambrosioides* se refleja en la capacidad de inhibir el crecimiento de organismos fitopatógenos y si esta actividad convergía en algún tipo de metabolito o en distintos. Para ello, las moléculas secundarias de *D. ambrosioides* fueron obtenidas por técnicas de extracción generales y selectivas y se evaluaron sobre fitopatógenos considerados de importancia económica (*C. lunata*, *C. gloeosporioides* y *F. oxysporum*).

Los resultados de esta investigación se reflejan en la identificación de que tipo de extracto y por ende que grupos de metabolitos desarrollan la potencia inhibitoria más alta o más amplia, lo que generará el conocimiento básico para un estudio fitoquímico más profundo en un futuro.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin y Clemonts, 2002

*Dysphania ambrosioides* es una planta nativa de la región mesoamericana, actualmente se distribuye desde las zonas templadas hasta las áreas tropicales del mundo (Gutiérrez, 2017). Es una hierba ruderal, ocasionalmente arvense y frecuentemente cultivada (Vibrans, 2012). Es conocida popularmente en México con el nombre de epazote, el cual deriva del vocablo náhuatl *epazotl* que posiblemente se traduzca como “hierba de zorrillo” (*epátl* = zorrillo, *zotli* = hierba) o bien como hierba de olor, debido a su distintivo aroma (Blanckaert *et al.*, 2012.)

#### 2.1.1. Taxonomía

*D. ambrosioides* pertenece al orden de las Caryophyllales y a la familia Amaranthaceae (Flores y Vásquez, 2021; Figura 1). Tiene como sinónimas distinguidas a “*Chenopodium ambrosioides*” y “*Teloxys ambrosioides*”.

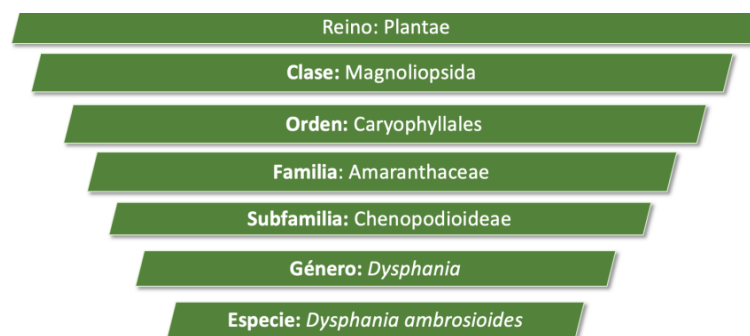


Figura 1. Clasificación taxonómica de *Dysphania ambrosioides*

#### 2.1.2. Descripción morfológica

Es una hierba que presenta una altura variable que oscila entre los 40 cm a 1 m, su tallo es simple o ramificado, de color verde con líneas blanquecinas, sus hojas presentan una tonalidad verde, son pecioladas, de forma oblongas a lanceoladas, siendo más ancha en la base y disminuyendo gradualmente hacia el ápice, el margen de las hojas tiende a presentar denticiones sinuosas o subenteras (Figura 2); las inflorescencias se organizan en espigas dispuestas en panícula piramidal, y exhibe flores pequeñas de color verde de 1 mm de diámetro o un poco mayor, agrupadas en racimos foliosos; la floración generalmente

ocurre en otoño y por lo regular las flores son hermafroditas, su fruto, es de forma globular, envuelto por el cáliz, y contiene semillas lisas de color negro brillante (Maradiaga y Quant, 2022).



Figura 2. Aspectos morfológicos del epazote (*Dysphania ambrosioides*). Elaboración propia, 2025.

### 2.1.3. Metabolitos secundarios de *D. ambrosioides*

La composición química de *D. ambrosioides*, está sujeta a variaciones, las cuales están influenciadas por la región de recolecta, el estado de maduración de la planta y el método empleado para su extracción (Oliveira *et al.*, 2015).

Según la revisión sistemática de los estudios fitoquímicos del epazote realizado por Kandsi *et al.* (2021), se han identificado alrededor de 330 metabolitos secundarios en extractos de esta planta. La mayoría de estas moléculas son monoterpenos 43%, flavonoides 10%, sesquiterpenos 9% y compuestos nitrogenados entre ellos alcaloides (Cuadro 1). Entre sus constituyentes, también se encuentran compuestos inorgánicos como sulfato y

fosfato de magnesio, por ejemplo, en 100 g de la planta se puede encontrar hasta 342 mg de calcio y 8 mg de hierro (Oliveros-Borrayo, 2016). Chambi y Pacheco (2017) mencionan, la presencia de oxalato de calcio, cenizas, cloruros, sulfatos y magnesio.

Los aceites esenciales de las hojas de *D. ambrosioides* son las más estudiadas (Almeida *et al.*, 2019; Kasrati *et al.*, 2024), en ellos se han reportado la presencia de monoterpenos, entre los que se incluyen los isómeros de ascaridol, en una concentración desde el 1 hasta 92% del aceite, al p-cimeno en un rango de 14-47%, al  $\alpha$ -terpineno entre 11 a 54%, a la cis-piperitona óxido de 1 a 35%, al timol en 18%, y al carvacrol entre 7-11% (Figura 3).

Kandsi *et al.* (2022) realizaron un análisis fitoquímico detallado de los aceites esenciales, identificando variaciones significativas en la composición química entre los órganos de la planta; en el tallo, los compuestos más abundantes son 4-careno (50.5%), acetato de  $\alpha$ -ciclogeraniol (22.64%) y (1R,2R,3R,5S)-(-)-isopinocampheol (8.87%), respectivamente; en cuanto a las hojas el 4-careno es el compuesto principal (46%), seguido del m-cimeno (21%) y acetato de  $\alpha$ -terpineol (15%); por otro lado, en las flores se determinó que el principal componente es trans- $\beta$ -terpinil butanoato con un 31%, seguido 4-careno (28%) y (1R,2R,3R,5S)-(-)-Isopinocampheol (18%).

En extractos orgánicos de tallos y hojas también se han encontrado compuestos fenólicos, como el ácido benzoico, ácido gallico, crisina, esorcinol, hesperetina, ácido vanílico, p-coumaroil-hexosideo, escopoletina, siringaresinol, kaempferol acetil, kaempferol-rhamnosido, kaempferol-3-O- $\alpha$ -rhamnopiranosido, quercetina-3- glucosido (Song *et al.*, 2014; Shah-Khan, 2017; Villalobos-Delgado *et al.*, 2017; Zohra *et al.*, 2019; Althobaiti 202; Figueroa-Merma *et al.*, 2023). Así como compuestos nitrogenados como la trisfaeridina, galantamina, anhidrolicorina, y la nor-galantamina (Kiuchi *et al.*, 2002; Trivellato-Grassi *et al.*, 2013; Almeida *et al.*, 2019; Pereira *et al.*, 2022; Kasrati *et al.*, 2024).

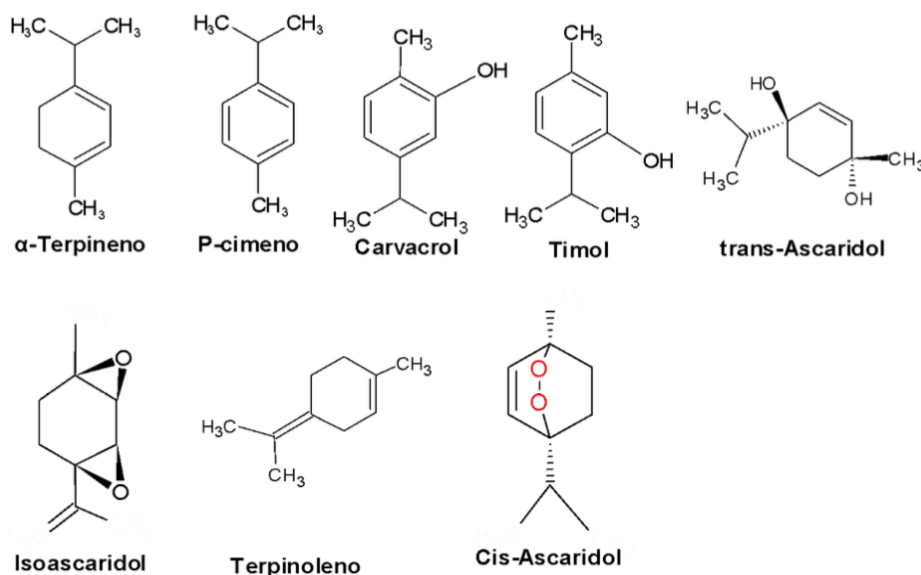


Figura 3. Principales estructuras químicas de los terpenos de *Dysphania ambrosioides*. Elaboración propia, 2024

Kandsi *et al.* (2021) realizaron un análisis fitoquímico del extracto hidroetanólico, fracción de acetato de etilo y fracción de cloroformo de *D. ambrosioides*, y reportaron la presencia de ácido siríngico, luteolina, hesperetina y quercetina en el extracto hidroetanólico; la fracción de acetato de etilo tuvo kaempferol, ácido siríngico, quercetina, hesperetina, luteolina y ácido salicílico, por su parte la fracción con cloroformo presentó kaempferol-3-o-pentósido, ácido rosmarínico, trimetoxiflavona, ácido siríngico y quercetina.

Recientemente se reportó la presencia de alcaloides en los extractos de *D. ambrosioides*. Kandsi y colaboradores en 2022 encontraron nueve alcaloides que aún no habían sido reportados en estudios anteriores, trisphaeridina, galantamina, crinina, desmetilmaritidina, anhidrolicorina, nor-galantamina, N-formilnorgalantamina, peramina y ergovalina.

Uno de los metabolitos más sobresalientes y reconocidos del epazote es el ascaridol, una molécula compuesta de 10 átomos de carbono, 16 hidrógenos y dos átomos de oxígeno, se trata de un monoterpene bicíclico liposoluble, que en su isómero *cis* se caracteriza por la presencia de un enlace inusual entre oxígenos en forma de endoperoxido, que actúa como su grupo funcional y activo más prominente (Gómez-Castellanos, 2008).



Cuadro 1. Metabolitos secundarios presentes en *Dysphania ambrosioides*

| Tipo de MS y moléculas                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>Terpenos</b></p> <p>Monoterpenos: <math>\alpha</math>-terpineno, p-cimeno, Limoneno, <math>\beta</math>-felandreno, 1,4-epoxi-p-ment-2-eno, p-Cresol, trans-Pinocarveol, Alcanfor, Pinocarvona, p-Cimen-8-ol, cis-Ascaridol, cis-Piperitona oxido, trans-Piperitona oxido, Carvona oxido, Piperitona, Carvacrol, 4-diepoxi-p-mentano, trans-Ascaridol, trans-Isoascaridol, trans-Carvil acetato, cis-Carvil acetato, trans-Ascaridol glicol, Timol, <math>\alpha</math>-Pineno, <math>\beta</math>-Mirceno, <math>\delta</math>-3-Careno, <math>\alpha</math>-Terpineno, 1-8- Cineol, <math>\gamma</math>-Terpineno, <math>\delta</math>-Terpineno, Alilhexanoato, Linalool, 1-Terpinenol, Terpinen-4-ol, P-metil-acetofenona, p-Cimen-9-ol, <math>\alpha</math>-Terpineol, dihidro-Ascaridol, trans-Ascaridol, 4-hidroxi-criotona, Neomentil, oxido de limoneno, 4-hidroxi-4<math>\alpha</math>-o-<math>\beta</math>-isopropil-2-metil-2-ciclohexen-1-ona, 1-metil-4<math>\beta</math>-isopropil-1-ciclohexeno-4<math>\alpha</math>, 1R,2S,3S,4S-1,2,3,4-tetrahidroxi-p-mentano, 1R,2S-3-p-menten-1,2-diol, R,4S-p- ment-2-en-1-ol.</p> <p>Sesquiterpenos: Cariofileno oxido.</p> <p>Triterpeno: <math>\beta</math>-sitosterol.</p> |
| <p><b>Compuestos Nitrogenados (18)</b></p> <p>Trisfaeridina, Galantamina, Crinina, Demetilmaritidina, Anhi-drolicorina, Nor-galantamina, N-formilnorgalantamina, Peramina, Ergovalina, 1-piperoylpiperidine, N-trans-feruloil-4'-O-metil-dopamina, N-trans-feruloil tiramina, 4-hidroxi-N-[2-4-hidroxifenil-etil] benzamida, Chenopodiumaminas A-D, Chenopodiumosida A.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <p><b>Fenoles (37)</b></p> <p>Flavonoides: Ácido benzoico, ácido gallico, ácido trans p-coumarico, ácido ellagico, ácido catecholico, ácido pentósido p-coumaroil, ácido ferulico, ácido feruloil pentosido, ácido quínico, 3', 4' dimetoxilu-teolina, Apiole, crisina, Esorcinol, Hesperetina, Kaempferol acetil, Kaempferol-3-O-<math>\alpha</math>-L-rhamnopiranosido, Kaempferol-3,7-di-O-<math>\alpha</math>-L-rhamnopiranosido, Kaempferol-7-O-<math>\alpha</math>-L-rhamnopiranosido, Kaempferol-O-rhamnosido-pentosido, Kaempferol-3-O-apigenina-7-O-rhamnosido, Kaempferitrina, Mirecetina, Naringina, Narirutina, Patuletina, Rutina, Quercetina, Quercetina-3-glucosido, Quercetina-rhamnosido, Quercetina-7-O-<math>\alpha</math>-L-rhamnopiranosido, Quercetina-3-O-arabinoglucosido, Quercetinaacil glucoronido-O-rhamnosido.</p> <p>Fenoles simples: Ácido vanilico, p-coumaroil-hexosideo.</p> <p>Cumarina: Escopoletina</p> <p>Polfenoles: Siringaresinol</p>                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <p><b>Derivado de ácidos grasos</b></p> <p>Hexil-tiglato, ácido octadecanoico, grasshopper cetona, 4-hi-droxi-4-metil-2-ciclohexen-1-ona, Dendranthemosido B</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <p>Referencias: Terpenos: [1] Ignacchiti <i>et al.</i>, 2022; [2] Soares <i>et al.</i>, 2017; [3] Pavela <i>et al.</i>, 2018; [4] de Lacerda <i>et al.</i>, 2021, [5] Pereira <i>et al.</i>, 2022; [6] Dougnon <i>et al.</i>, 2020; [7] Monzote <i>et al.</i>, 2004; [8] Arena <i>et al.</i>, 2018; [9] Ez-Zriouli <i>et al.</i>, 2023; [10] Hou <i>et al.</i>, 2017; [11] Kiuchi <i>et al.</i>, 2002; [12] Trivellato-Grassi <i>et al.</i>, 2013; [13] Kasrati <i>et al.</i>, 2024; [14] Kandsi <i>et al.</i>, 2022</p> <p>Compuestos nitrogenados y derivados de ácidos grasos [15] Shah-Khan, 2017 [16] Song <i>et al.</i>, 2015; [17]. Song <i>et al.</i>, 2014; Fenoles: [16] Song <i>et al.</i>, 2015; [18] Zohra <i>et al.</i>, 2019, [10] Figueroa-Merma <i>et al.</i>, 2023; [20] Althobaiti 2020; [21] Villalobos-Delgado <i>et al.</i>, 2017; [22] Su <i>et al.</i> 2023; [23] Li <i>et al.</i>, 2022; [24] Zago <i>et al.</i>, 2019; [25] Jesus <i>et al.</i>, 2018.</p>                                                                                                                                                                                                                                                       |

#### 2.1.4. Toxicidad

En 1946 Guyton mencionó que en Estados Unidos de Norteamérica se habían reportado seis casos fatales de intoxicación por la administración del aceite esencial de semillas de *D. ambrosioides*. Sin embargo, su uso en la medicina

tradicional sigue siendo vigente por lo que se han realizado investigaciones sobre su mecanismo de toxicidad, moléculas responsables, dosis adecuada y el tiempo de administración necesario para evitar la intoxicación por *D. ambrosioides*.

La toxicidad del aceite esencial de *Dysphania* puede estar asociada con la presencia de algunos componentes mayoritarios como el carvacrol, óxido de cariofileno y ascaridol que inducen la inhibición de la función respiratoria en el complejo I de las cadenas de transporte de electrones mitocondriales (Monzote *et al.*, 2014). Dagni *et al.* (2022) mencionan que el mecanismo de toxicidad de estas tres moléculas incluye también otros blancos moleculares, el óxido de cariofileno inhibe el complejo III (CIII); el ascardiol tras la activación por el hierro (Fe<sup>2+</sup>) amenaza el desacoplamiento mitocondrial y desencadena la formación de radicales superóxido (O<sub>2</sub>·-) y el carvacrol no tiene efectos inhibidores directos, pero sí un efecto sinérgico con el ascaridol (Figura 4).

Se han realizado trabajos con extractos para comprobar el efecto tóxico que pueda presentar. En la revisión bibliográfica realizada por Gómez-Castellanos (2008) menciona el trabajo de Gadano y colaboradores (2006), quienes estudiaron la genotoxicidad de las infusiones acuosa y cloruro metilénica de *D. ambrosioides*, sus estudios revelaron que existe una interacción entre el ADN y los principios activos en solución acuosa, explicando que los principios activos responsables de la actividad citotóxica se encuentran presentes en la fracción orgánica, y que el ascaridol no se encuentra en la fracción acuosa.

Posterior a este estudio, Sowemimo y colaboradores (2007) comprobaron que los extractos de *D. ambrosioides* son capaces de inhibir la telomerasa (en el ensayo TRAP) sin exhibir actividad mutagénica o tóxica *in vivo*. En un estudio realizado por Li *et al.* (2020) demostraron la toxicidad dependiente de la dosis en ratones. Kute (2014) menciona que los estudios realizados de toxicidad crónica en ratas albinas con altas dosis del extracto de la planta que van desde 12.3 a 31.9 g/kg durante 42 días revelaron características patológicas como congestión de los pulmones, cambios metaplásicos en la superficie mucosa del estómago y necrosis de los túbulos renales, sin embargo, en otros estudios con administración crónica, pero con dosis menores no se encontraron resultados tóxicos.

Mendoza y colaboradores en 2013 administraron 32, 64 y 134 mg/mL de extracto acuoso de hojas, tallos y raíces secos de *D. ambrosioides* durante 90

días a ratones NIH, llegando a la conclusión que bajo esas condiciones no se produjo alteraciones macroscópicas, histológicas y bioquímicas que pudieran ser consideradas tóxicas. Un trabajo más reciente realizado por Castañeda y colaboradores en 2023 mostró que los extractos etanólicos de hoja y la fracción de hexano no exhibieron signos de toxicidad con administraciones orales de 1600 a 5000 mg/kg, lo que sugiere valores de LD<sub>50</sub> superiores a 5000 mg/kg, de manera similar, otros estudios subcrónicos no dieron como resultado mortalidad después de la administración oral de extractos etanólicos y acuosos de *D. ambrosioides* (300-3000 mg/kg en ratas y 50-300 mg/kg en ratones) después de 15 días de administración oral (Pereira *et al.*, 2010).

Estos trabajos brindan cierto apoyo para el uso de los extractos de forma segura en la medicina tradicional; tomando en cuenta la dosis adecuada, así como el tiempo del tratamiento.

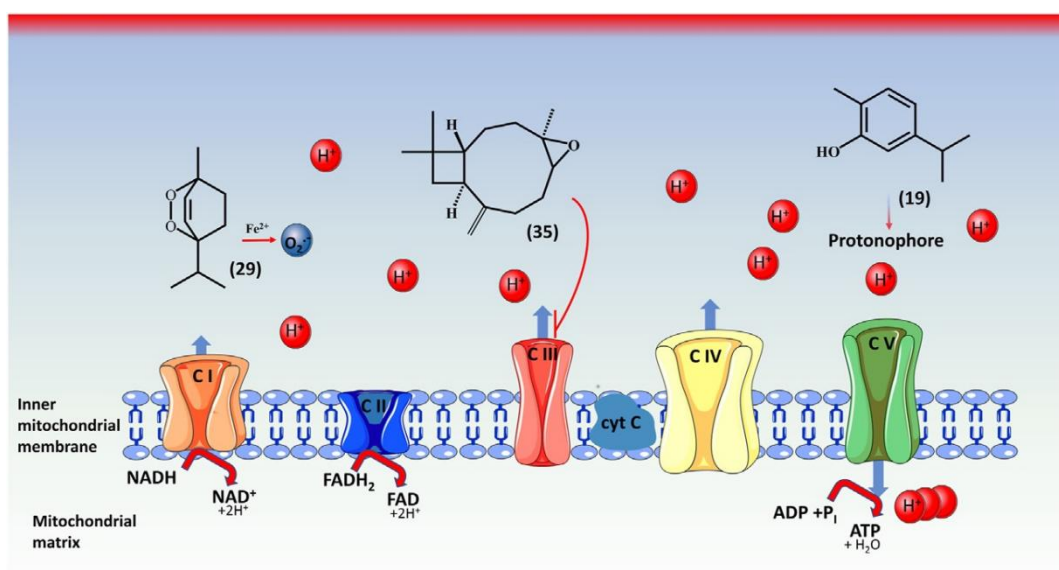


Figura 4. Mecanismos de toxicidad del ascaridol (29), carvacrol (19) y óxido de cariofileno (35) en las mitocondrias. Fuente Dagni *et al.* (2022)

### 2.1.5. Actividad biológica

Varias de las actividades biológicas atribuidas al epazote han sido evaluadas, particularmente mediante el estudio de extractos orgánicos, así como en ciertos casos de extractos acuosos de sus partes aéreas, sobre una variedad de organismos y modelos farmacológicos tanto *in vivo* como *in vitro*, donde se ha demostrado su efectividad acaricida, amebicida, antihelmíntica, anticancerígena, antibacteriana, antidiabética, antidiarreica, antifertilidad, antifúngica, antiinflamatoria, antileishmaniasis, antipalúdica, antinociceptiva, antipirética,

antioxidante, antiesquistosómica, antiulcerosa, ansiolítica, insecticida, molusquicida, tripanomicida y vasorelajante (Cuadro 2 y 3), estos hallazgos de alguna manera respaldan los usos tradicionales que se le han dado a esta planta (Santiago-Martínez y De la Cruz-Chacón, 2024).

Dentro de su actividad antimicrobiana, los aceites esenciales y extractos orgánicos de *D. ambrosioides* han demostrado ser capaces de inhibir por lo menos a 21 especies de bacterias asociadas con enfermedades gastrointestinales, respiratorias, infecciones dérmicas, vaginales y dentales. Reportándose el efecto bactericida del aceite esencial de las hojas contra *Helicobacter pylori* (Ye *et al.*, 2015). Asimismo, se ha observado su actividad contra levaduras patógenas, incluyendo especies de *Candida* responsables de infecciones cutáneas y vaginales y a *Trichophyton rubrum*. En ensayos *in vitro*, el aceite esencial de las hojas, flores y tallos de *D. ambrosioides* demostraron capacidades inhibitorias contra *Candida albicans* en concentraciones que oscilan entre 0.25 a 2 mg mL<sup>-1</sup>, mientras que en un modelo *in vivo* el tratamiento con aceite a 0.1, 1 y 10% condujo a la recuperación de ratas inducidas con candidiasis vaginal después de 12 días de tratamiento (Chekem *et al.*, 2010).

Con referencia a su actividad antiprotzoaria, *D. ambrosioides* es reconocida por su uso en enfermedades parasitarias, lo que ha motivado la exploración de su actividad sobre *Leishmania amazonensis*, *Leishmania infantum*, *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei* y *Trypanosoma cruzi* (World Health Organization, 2023).

Se ha probado además, su actividad anticancerígena. El aceite esencial presenta actividad inhibidora del crecimiento de las líneas celulares humanas, entre ellas de cáncer de mama (MCF-7), de linfoma de Burkitt (Raji), de leucemia mieloide crónica (K562), de hígado (SMMC-7721) según lo documentado por Jia-liang *et al.* (2013) y Degenhardt *et al.* (2016). Al menos 15 investigaciones han documentado las actividades citotóxicas y/o antitumorales de extractos y metabolitos aislados de *D. ambrosioides* en 12 líneas celulares humanas de cáncer; adicionalmente, se han incluido líneas celulares normales en estos estudios para evaluar su toxicidad (compilado en Santiago-Martínez y De la Cruz-Chacón, 2024).

Finalmente, con relación a su actividad insecticida. Los trabajos en esta área están enfocados principalmente sobre plagas de importancia agronómica, destacando *Sitophilus zeamai* el principal causante de la reducción en la calidad del grano del maíz. También se centran investigaciones sobre vectores de enfermedades de importancia de salud pública, como *Aedes aegypti*, responsable de transmitir el dengue, la chikungunya y el zika.

Los diversos estudios se han realizado con aceites esenciales de las partes aéreas y en menor grado de extractos acuosos, y metanólicos, ejemplo de esto es el trabajo realizado por Britos *et al.* (2018) quienes con el extracto etanólico de hojas secas de *D. ambrosioides*, observaron que concentraciones mayores a 0.5 mg mL<sup>-1</sup> ocasionan la muerte de un número significativo de larvas de *A. aegypti*. Por otra parte, el aceite esencial de las partes aéreas frescas realizado por Aros *et al.* (2019) presentó actividad insecticida fumigante, pues a la misma concentración se obtuvo una mortalidad significativa del 100 %, después de 24 h de exposición.

#### **2.1.6. Usos tradicionales**

Los atributos del epazote han sido reconocidos desde tiempos prehispánicos, en su obra Historia Natural de la Nueva España escrita entre el 1571 y 1577, Francisco Hernández, el protomédico del Rey de España Felipe II, documentó las propiedades de esta planta; señaló que el epazote “es comestible crudo o cocido, y agregado a las comidas fortalece, alivia a los asmáticos y enfermos del pecho, y proporciona alimentos agradables; además, destacó que la decocción de las raíces ayuda contra las disenterías, quita las inflamaciones y arroja del vientre los animales nocivos”.

El conjunto de sus usos medicinales se ha incrementado, de tal manera que el epazote se utiliza también para aliviar padecimientos digestivos (dolores estomacales, diarrea, vómito, para eliminar parásitos intestinales), para afecciones respiratorias (descongestión, control del asma y tosferina), como sedante (dolores de muelas y picaduras de alacrán), como diurético, para acelerar contracciones uterinas durante el parto, para aliviar infecciones de la piel y trastornos menstruales (Monroy-Ortiz y Monroy, 2006; Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009).

Otro atributo reconocido del epazote en México es formar parte de la cocina tradicional, se utiliza en la elaboración de una variedad de platillos como los frijoles de olla, caldos (de gallina, de camarón, tlalpeño, chilpachole), moles (verde y de olla), sopas (de elote y tortilla), quesadillas, tamales, papadzules, esquites, salsas y chilaquiles (Gispert *et al.*, 2004; Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2016).

Cuadro 2. Actividades biológicas de extractos o moléculas de *Dysphania ambrosioides*

| Actividad                        | Organismo blanco                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Referencias                         |
|----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| Actividad antibacteriana         | <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>M. smegmatis</i> , <i>M. avium</i> , <i>Paenibacillus apiarius</i> , <i>P. thiaminolyticus</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>Streptococcus mutans</i> , <i>S. sanguinis</i> | 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9           |
| Actividad antifúngica            | <i>Candida albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. guilliermondii</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. lusitaneae</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>Trichophyton rubrum</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 10, 11                              |
| Antifitopatógenos                | <i>Aspergillus glaucus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. niger</i> , <i>Botryodiplodia theobromae</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>C. musae</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>F. semitectum</i> , <i>Helminthosporium oryzae</i> , <i>Macrophomina phaseolina</i> , <i>Pythium debaryanum</i> , <i>Sclerotium rolfsii</i> .                                                                                                                                                       | 12, 13, 14, 15, 16                  |
| Actividad insecticida/repele nte | <i>Aedes aegypti</i> , <i>Aphis gossypii</i> , <i>Alphitobius diaperinus</i> , <i>Culex quinquefasciatus</i> , <i>Musca domestica</i> , <i>Plutella xylostella</i> , <i>Prostephanus truncatus</i> , <i>Spodoptera frugiperda</i> , <i>Sitophilus zeamais</i> , <i>Trogoderma granarium</i> .                                                                                                                                                                                                                                               | 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25  |
| Antiprotozoaria                  | <i>Entamoeba histolytica</i> , <i>Giardia lamblia</i> , <i>Plasmodium berghei</i> , <i>Leishmania amazonensis</i> , <i>P. falciparum</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i> , <i>Trypanosoma brucei</i> , <i>T. cruzi</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 11, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, |
| Actividad antiparasítica         | <i>Schistosoma mansoni</i> y <i>Biomphalaria tenagophila</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 33, 34                              |

Referencias: [1] Owolabi *et al*, 2009; [2] Ye *et al*, 2015; [3] Brahim *et al*, 2015; [4] de Moraes *et al*, 2018; [5] Almeida *et al*, 2019; [6] Álvarez *et al*, 2021; [7] Álvarez *et al*, 2022; [8] Kandsi *et al*, 2022; [9] Jesús *et al* [2018]; [10] Chekem *et al*, 2010; [11] Monzote *et al*, 2014; [12] Singh *et al*, 2006; [13] Kumar *et al*, 2007; [14] Jardim *et al*, 2008; [15] Javaid *et al*, 2009; [16] Azeem, *et al*, 2022; [17] Wei *et al*, 2015; [18] Pavela *et al*, 2018; [19] Arena *et al*, 2018; [20] Almadiy *et al*, 2020; [21] Kavallieratos *et al*, 2020; [22] da Silva *et al*, 2022; [23] Haris *et al*, 2023; [24] Smith *et al*, 2018; [25] Calzada *et al*, 2006; [26] Calzada *et al*, 2007; [27] Cysne *et al*, 2016; [28] Machín; [29] Pagotti *et al*, 2021; [30] Borges *et al*, 2012; [31] Neiva *et al*, 2014; [32]. Kiuchi *et al*, 2002. [33] Rodríguez *et al*, 2013; [34] Ignacchiti *et al*, 2022.

Cuadro 3. Actividades farmacológicas estudiadas para extractos o moléculas de *Dysphania ambrosioides*

| Actividad                                            | Líneas celulares                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Referencias                           |
|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| Antiproliferativa/<br>citotóxica/<br>anticancerígena | Caco-2 adenocarcinoma colorrectal, HT-29 cáncer de colon, HEP-2 cáncer de laringe, GM07492-A Fibroblasto, K562, NALM6 leucemia linfoblástica aguda, B15, RAJI linfoma de Burkitt, NCI-H292 cáncer de pulmón, SMMC-7721 hepatocarcinoma; MCF-7 cáncer de mama humana. L02 células normales humanas, HaCAT queratinocitos epidérmico. | 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 |
| Antioxidante                                         | Eliminación de radicales con 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo DPPH                                                                                                                                                                                                                                                                     | 19, 20, 21                            |
| Analgesica/<br>Antiinflamatoria                      | Nocicepción inducida por alérgenos formalina, bradiquinina, capsaicina, modelo de osteoartritis                                                                                                                                                                                                                                     | 21, 22                                |
| Actividad cicatrizante                               | Inducción del proceso ulcerativo cicatrización de heridas en la piel                                                                                                                                                                                                                                                                | 22                                    |
| Vasodilatadora                                       | Anillos de aorta torácica aislados de ratas Wistar                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 23                                    |
| Inmunoestimulante                                    | Parámetros inmunes en sangre y población de leucocitos.                                                                                                                                                                                                                                                                             | 17,21                                 |

Referencias: [1] Tauchen *et al*, 2019; [2] Zohra *et al*, 2019; [3] Soares *et al*, 2017. [4] Degenhardt *et al*, 2016; [5] Ruffa *et al* 2002; [6] Melo *et al*, 2017; [7] Huang *et al*, 2023; [8] Li *et al*, 2022; [9] Jia-liang *et al*, 2013; [10] Wang *et al*, 2016. [11] Koffi *et al*, 2009; [12] Kandsi *et al*, 2021; [13] Kandsi *et al*, 2022; [14] Villalobos-Delgado *et al* 2017; [15] Maldonado-García *et al*, 2019; [16] Reyes-Becerril *et al*, 2019; [17] Li *et al* 2022; [18] Kola-Mustapha *et al*, 2020; [19] Trivellato-Grassi *et al*, 2013; [20] Calado *et al* 2015; [21] Trivellato-Grassi *et al*, 2013; [22] Assaidi *et al*, 2019.

## 2.2. Hongos de estudio

### 2.2.1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* W.C. Snyder & H.N. Hansen

*Fusarium oxysporum* es un hongo filamentoso que se encuentra predominantemente como saprófito en el suelo, o como patógeno especializado, sus variantes en los hospederos se denominan forma especial (*f. sp.*); se caracteriza por producir colonias de rápido crecimiento a 25°C, la morfología de las colonias es muy variable y puede presentar dos tipos: una de tipo micelial caracterizada por la producción de abundante micelio aéreo, algodonoso, con una coloración variable, de blanco a rosado durazno en los primeros estados de desarrollo (Figura 5), conforme el micelio se desarrolla, se torna de un tinte púrpura o violeta más intenso en la superficie del agar y pocos microconidios y

una de tipo pionotal con la formación de poco o ningún micelio aéreo y abundantes microconidios (Garcés *et al.*, 2001).

El desarrollo se ve favorecido bajo condiciones de sequías, por lo que la enfermedad causada por el hongo en condiciones cálidas y en suelos de textura gruesa es más grave (Berruzo, 2018). Es un hongo cosmopolita, puede sobrevivir por años sin la necesidad del hospedante, debido a sus estructuras de resistencia denominadas clamidosporas (Retana *et al.*, 2018).



Figura 5. Colonia de *F. oxysporum* en agar papa dextrosa.  
Fuente: Elaboración propia

### 2.2.2. Taxonomía

Se tomó en cuenta la presentada por la base internacional para las especies de hongos verdaderos Index Fungorum, pertenece al Phylum Ascomycota, al subphylum Pezizomycotina, la clase Sordariomycetes, al orden Hypocreales, la familia Nectriaceae, dentro del género *Fusarium*.

*Fusarium oxysporum* es un organismo muy amplio a nivel de especie, se han clasificado cerca de 120 (*f. sp.*) basadas en la especificidad del hospedante, por ejemplo, *F. oxysporum f. sp. cucumerinum* y *F. oxysporum f. sp. lycopersici* sólo causan enfermedad en el pepino y el jitomate, respectivamente (Berruzo, 2018; Retana, 2018).

### 2.2.3. Enfermedades causadas

*Fusarium oxysporum* es responsable de la enfermedad conocida como marchitamiento vascular, pudriciones de corona y raíz; se han reportado casos de esta enfermedad a nivel mundial, en cerca de 100 especies de plantas, entre las cuales se encuentran *Musa paradisiaca*, *Phoenix dactylifera*, *Cucumis melo*, *Solanum lycopersicum*, *Cicer arietinum*, *Nicotiana tabacum*, *Allium cepa*,



generando pérdidas económicas importantes al sector agrícola, pues afecta varios cultivos económicamente importantes (Berruzo, 2018).

En su trabajo Retana y colaboradores (2018) reportaron los siguientes síntomas externos: retraso en la tasa de crecimiento y enanismo, amarillamiento y marchitez en el follaje, en la base del tallo de plantas cercanas a la cosecha; además se observan orificios necrosados que aumentan en tamaño con la edad de la planta; mientras que a nivel interno provocan enrojecimiento de los conductos vasculares con coloraciones naranja-marrón (Figura 6).



Figura 6. Marchitez por Fusarium causada por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersicium* en condiciones de campo. Fuente: Srinivas *et al.*, 2019

#### **2.2.4. *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc**

*Colletotrichum gloeosporioides* es responsable de la enfermedad conocida como antracnosis, considerada como una enfermedad frecuente en postcosecha. Este hongo presenta distribución cosmopolita y con predominancia en los trópicos y subtrópicos. La especie muestra un crecimiento lento *in vitro* (Figura 7B y C), las colonias presentan coloraciones de gris claro a gris oscuro, sin embargo, en agar avena el micelio es blanco, poco algodonoso y posee masas conidiales de color naranja; el hongo posee hifas septadas y produce apresorios clavados, ovalados, algunas veces lobulados, melanizados de color café, los conidios son hialinos, variables en tamaño, de forma cilíndrica y obtusos en el ápice (Rodríguez-López *et al.*, 2009).

#### **2.2.5. Taxonomía**

*Colletotrichum* es un género confuso taxonómicamente, debido a que históricamente se han utilizado distintos nombres dependiendo su estado sexual, atendiendo a su teleomorfo ha sido clasificado como *Glomerella cingulata*. Sin

embargo desde 2013 el código Melbourne estableció un nombre científico para cada especie con base de prioridad, por ello la subcomisión Internacional en la Taxonomía de *Colletotrichum* apoyaron el uso del nombre asexual *Colletotrichum* sobre *Glomerella* (Zhang *et al.*, 2021). Considerando la clasificación de Index Fungorum, *C. gloeosporioides* se inserta en el Phylum Ascomycota, subphylum Pezizomycotina, clase Sordariomycetes, sub clase Hypocreomycetidae, orden Glomerellales, familia Glomerellaceae y género *Colletotrichum*.

#### **2.2.6. Enfermedades causadas**

La antracnosis se presenta en tejidos de plantas en desarrollo y maduros, afecta frutos durante su desarrollo en el campo, así como frutos maduros durante su almacenamiento, prevalece durante temporadas lluviosas y en humedad relativamente alta (Rodríguez *et al.*, 2013). El hongo puede infectar entre los 20 y 28°C, su temperatura óptima de crecimiento es de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , en ambientes con humedad relativa de 80 a 100%, el pH óptimo de crecimiento es de 5.5 a 7 (Rodríguez *et al.*, 2013).

La enfermedad se manifiesta con la presencia de manchas circulares café oscuras en el pericarpio del fruto y daños por ablandamiento y pudrición del mesocarpio, en ramas jóvenes se visualiza una marchitez del ápice de la rama produciéndose una muerte descendente, en flores, las lesiones son de color naranja-rojizo, en condiciones avanzadas se producen cuerpos fructíferos (acérvulos) de color rosa salmón en los pétalos, el cáliz y botones permanecen adheridos al tallo, síntoma característico de la enfermedad, en frutos (Figura 7A), las lesiones presentan color marrón oscuro a negras, una forma irregular y hundidas en la superficie (Álvarez *et al.*, 2004; Rodríguez *et al.*, 2013).

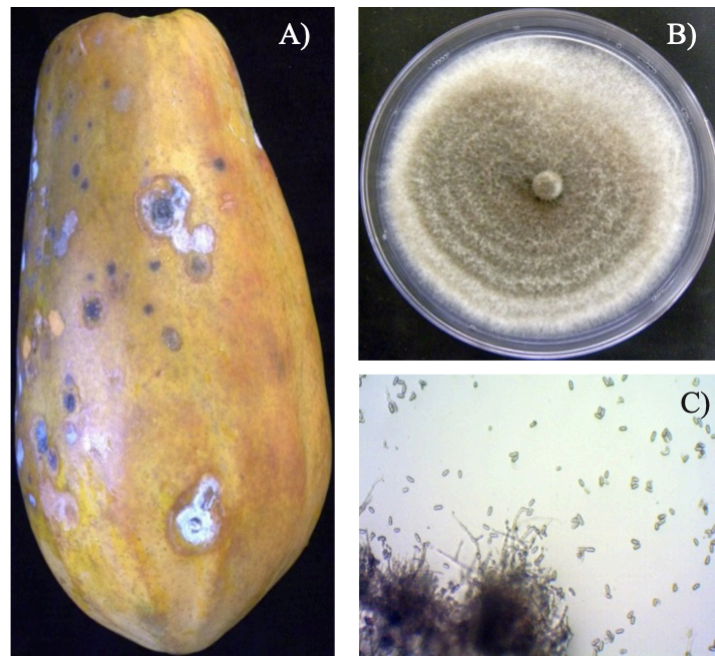


Figura 7. A) antracnosis causada por *C. gloeosporioides* en el fruto de papaya; B) *C. gloeosporioides* en agar papa dextrosa; C) Esporas de *C. gloeosporioides*. Fuente: Landero-Valenzuela *et al.*, 2016

#### 2.2.7. *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn

*Curvularia lunata* es un hongo patógeno facultativo en plantas y suelos, y principal agente involucrado en la infección de humanos y animales, capaz de producir queratitis e infección sistémica como manifestaciones más frecuentes y onicomycosis ocasionalmente (Fraenza *et al.*, 2015). Este organismo se distribuye por todos los continentes, y morfológicamente su micelio es hialino y septado, con presencia de conidióforos septados, simples o ramificados, de color marrón claro a oscuros y paredes celulares más gruesas que las de las hifas vegetativas. Los conidios son curvos en forma de elipse de color marrón con septos transversales (García-Aroca *et al.*, 2018; Hernández *et al.*, 2022).

Las colonias son algodonosas y grises en el centro, negruzcas y aterciopeladas hacia la periferia (Figura 8A y B), con un margen fimbriado, de color marrón en el centro del lado anverso y de color crema hacia la periferia (Manamgoda *et al.* 2012; Hernández *et al.*, 2022).

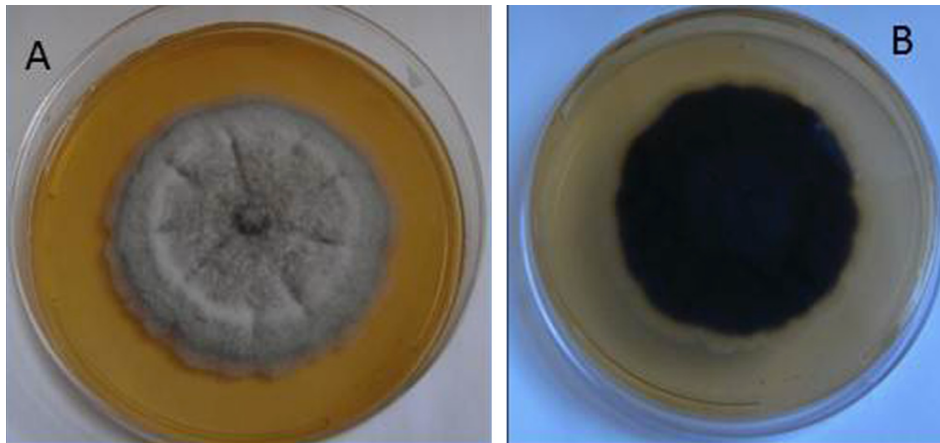


Figura 8. Aspecto de cultivos de *C. lunata* en agar papa dextrosa (A) y reverso de una placa de Petri (B) después de 7 días de incubación a 30 °C. Fuente: Deepu *et al.*, 2013

#### 2.2.8. Taxonomía

Pertenece al Phylum Ascomycota, subphylum Pezizomycotina, dentro de la clase Dothideomycetes, subclase Pleosporomycetidae, al orden Pleosporales, a la familia Pleosporaceae y al género *Curvularia* (Index Fungorum, s.f.).

#### 2.2.9. Enfermedades

Responsable de la enfermedad de la viruela o negrilla en el maguey, agente causal de la mancha foliar en el maíz, piñón (*Jatropha curcas*) cacao (*Theobroma cacao*), chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) y piñón (*Pinus pinea* L.) (Hernández *et al.*, 2022).

Los síntomas son visibles en hojas y tallos que varían en dependencia del hospedante y el ambiente, las manchas en arroz son circulares a elongadas, con centro grisáceo, rodeadas de una banda parda rojiza con halo amarillo, según lo registrado por Estrada y Sandoval (2004). La enfermedad de las manchas foliares causada por *C. lunata* se ha reportado en *Aloe vera*, los síntomas observados son lesiones circulares empapadas de agua en la punta y la superficie abaxial de las hojas; gradualmente, el tamaño de las lesiones se expande y se torna de color rojo claro bordeado por tejidos empapados de agua, a medida que avanza la enfermedad, las lesiones son hundidas, de color granate y en etapas posteriores, las lesiones se secan, se vuelven necróticas y se tornan de color marrón oscuro (Avasthi, 2015).

### 2.3. Manejo de las fitopatologías de los hongos de estudio

Dentro de las estrategias de manejo en el control de las enfermedades poscosecha se encuentra el uso de fungicidas químicos, aunque en los últimos años ha generado diversas controversias debido a su toxicidad al humano y daños ambientales, adicionalmente, pueden generar resistencia en cepas del patógeno (Barrera y Bautista, 2008).

Los principales fungicidas químicos para el control de *Fusarium* spp, están varias moléculas sintéticas comerciales como el captan, quintozeno, fludioxonil+etalaxil-M y difenoconazol (Morán, 2022). Para controlar a *Curvularia* sp se ha aplicado fungicidas como ditiocarbamato, metil-2-benzimidazol (Esparza, 2019). En tanto que, los fungicidas más utilizados contra la antracnosis causada por *C. gloeosporioides* son los benzimidazoles, ditiocarbamatos, cloroalquitos y los inhibidores de la síntesis de ergosterol: difenoconazol, miclobutanil, y procloraz (Peláez-Álvarez *et al.*, 2016).

Otras técnicas para tratar la marchitez vascular del jitomate y en la mancha foliar provocadas por especies de *Fusarium*, más eficientes, económicas y ecológicas son la resistencia genética, apoyándose de técnicas culturales como la eliminación de maleza hospedante del patógeno, evitando el uso de semillas contaminadas o de material vegetal contaminante (González *et al.* 2012; Cardona-Piedrahíta y Castaño-Zapata, 2019; Mendoza y Sánchez, 2022) .

En el tratamiento de *Colletotrichum* spp. Landero-Valenzuela *et al.* (2016) mencionan que la manipulación genética constituye una de las alternativas más viables en la actualidad; sin embargo, es una estrategia cara, que requiere de mayor conocimiento para considerarla segura, Esse *et al.* (2019) mencionan que los enfoques genéticos directos (forward genetics) han generado solo unos pocos genes útiles para mejorar los cultivos sin causar efectos secundarios indeseados, como fenotipos pleiotrópicos; además, la obtención de un producto manipulado puede tardar años en lograrse, lo cual implica gasto de diversos recursos. Dichos autores proponen el empleo de métodos combinados como la mejor opción en el tratamiento debido a que la integración de diversas actividades tiene el objetivo de disminuir la dependencia por el control químico. Vásquez-Ramírez y Castaño-Zapata (2017) mencionan como opción el efecto

epidemiológico de las prácticas de manejo, el cual consiste en retardar el desarrollo de la epidemia, a través de la interacción de varias prácticas, por ejemplo, la rotación del cultivo ayuda a la reducción del inóculo inicial, el riego afecta la tasa de desarrollo de la enfermedad.

Entre las medidas alternativas al uso de fungicidas químicos se encuentran el control biológico, el cual se utiliza en nichos específicos de la agricultura y puede ser efectivo, si hay una comprensión clara del agroecosistema y sus limitaciones; un ejemplo, son los microorganismos promotores de crecimiento vegetal que tienen gran potencial, porque además de promover el crecimiento de las plantas, reducen la severidad de enfermedades e inducen mecanismos de resistencia, algunos de los microorganismos agentes de control biológico que actúan como antagonismo contra diversos patógenos son *Rodhotorula minuta*, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma spp.*) (Vásquez-Ramírez y Castaño-Zapata, 2017; Landero-Valenzuela *et al.*, 2016.)

En la actualidad, los productos naturales gozan de amplia aceptación, como respuesta a esta tendencia se ha producido un creciente interés en la investigación de la posible utilización de aceites esenciales, extractos de plantas, entre otros (Landero-Valenzuela *et al.*, 2016).

### III. ANTECEDENTES

*Dysphania ambrosioides* es una planta aromática cuya fitoquímica ha sido explorada en varios estudios por lo que este apartado está dividido en dos secciones: a) revisión de estudios sobre la actividad sobre hongos fitopatógenos y b) estudios de otras actividades antimicrobianas.

La revisión de antecedentes se realizó con el nombre científico actual y con las sinonimias de la especie que se utilizan aún cuando el nombre fue actualizado en el 2002 (*Chenopodium ambrosioides* y *Teloxys ambrosioides*).

En cada uno de los tipos de estudios se encontraron evaluaciones con extractos generales (orgánicos y acuosos) y extractos selectivos (alcaloidales y aceites esenciales), en algunos ha sido posible la identificación de las sustancias responsables de las actividades biológicas (Kiuchi *et al.*, 2002; Trivellato-Grassi *et al.*, 2013; Song *et al.*, 2014; Shah-Khan, 2017; Villalobos-Delgado *et al.*, 2017; Almeida *et al.*, 2019; Zohra *et al.*, 2019; Kandsi *et al.*, 2021; Althobaiti 2022; Pereira *et al.*, 2022; Kandsi *et al.*, 2022; Figueroa-Merma *et al.*, 2023; Kasrati *et al.*, 2024)

#### 3.1. Estudios de *D. ambrosioides* sobre hongos fitopatógenos

La actividad de *D. ambrosioides* frente a diversos fitopatógenos registra que se han empleado sobre 20 especies de hongos; la mayoría de los estudios realizados sobre los hongos del género *Fusarium*, destacando *F. oxysporum*. No se encontró evaluaciones sobre *C. lunata*.

Cabrera-Calderón *et al.* (2016) y Gutiérrez (2017) evaluaron la actividad antifúngica de los extractos etanólicos obtenidos de hojas y tallos secos, Cabrera- Calderón *et al.* (2016) encontraron que los extractos estudiados presentaron en promedio 72.5% de inhibición sobre *F. oxysporum* y 79% para *C. gloeosporioides* en un periodo de incubación de 10 días.

Marangon (2006); Jaramillo *et al.* (2012); Vásquez *et al.* (2014); Manal *et al.* (2019) y Stegmayer *et al.* (2021) demostraron la efectividad de los aceites esenciales de las partes aéreas frescas de *D. ambrosioides*, mientras que Boutkhil (2011) realizó la misma extracción con muestras secas. Marangon (2006) estudió el efecto del extracto hexánico por maceración de las partes aéreas en concentraciones 0.1%; obteniendo inhibición total sobre *C.*

*gloeosporioides*, *C. musae*, *F. oxysporum* y *F. semitectum*; y una segunda concentración de 0.075%, demostrando una inhibición superior al 60% para la mayoría de las especies, excepto para *C. musae*, que presentó el 40.48%. Además, se logró caracterizar los compuestos activos entre los cuales destacan el (Z)-ascaridol, (E)-ascaridol, afa-terpineno y p-cimeno.

Jaramillo *et al.* (2012) concuerdan con la presencia de los compuestos anteriores, pero añade la presencia de alfa-terpineno, 4-careno, trans-ascaridol y carvacrol; evidenciando la inhibición del crecimiento micelial de *F. oxysporum f. sp. Dianthi* en 97.3% en dosis de 117.7  $\mu$ L del aceite después de las 72 h de iniciado el ensayo. Vásquez *et al.* (2014) comprobaron que los aceites esenciales impiden totalmente el crecimiento micelial de *F. oxysporum f. sp. lycopersici* y *Fusarium solani* desde la inoculación del patógeno hasta 11 días después. Manal *et al.* (2019) reportan que la inhibición del crecimiento radial de *F. oxysporum f. sp. melonis*, *Fusarium culmorum* oscila entre 78 y 90% a concentraciones de 500  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>, mientras que la inhibición se redujo extremadamente con ascaridol puro.

Vásquez *et al.* (2014) evaluaron los extractos acuosos de las partes aéreas secas, a 5, 10 y 15 % sobre *F. oxysporum f. sp. lycopersici* y *F. solani*, los resultados no fueron tan favorables, pues únicamente la concentración al 5% redujo la producción de microconidios de *F. solani* hasta un 37%.

### **3.2. Estudios de *D. ambrosioides* sobre otras actividades antimicrobianas**

Se han reportado otras actividades para extractos y compuestos del epazote, entre ellas, antibacteriana, antiprotzoaria, insecticida y particularmente antihelmíntica, que es una de las actividades más reportadas para la planta en la medicina tradicional.

#### **3.2.1. Actividad antibacteriana**

Los aceites esenciales de las partes aéreas secas se han probado sobre una gran variedad de bacterias entre ellas, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*. Sidi *et al.* 2015 reportaron que las bacterias gram positivas *B. cereus* y *M. luteus* son más sensibles que los gram negativos *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa*, fueron inhibidos a altas concentraciones 10 y 20 mg/mL<sup>-1</sup>, mientras que *E. coli* fue la más sensible, inhibida a baja concentración (0.31 mg/mL<sup>-1</sup>). Además, la combinación entre



aceite esencial y varios antibióticos comerciales en este caso la cefixima, proporcionaron un efecto sinérgico, en la que FIC<sub>i</sub> osciló entre 0.37 a 0.50; entre el aceite-ciprofloxacino, el FIC<sub>i</sub> oscila entre 0.28 y 0.75 y el aceite-kanamicina el FIC<sub>i</sub> oscila entre 0.37 a 0.75, lo que conduce a una reducción notable de la concentración mínima inhibitoria (CIM).

### 3.2.2. Actividad antihelmíntica

Eguale y Giday (2009) con la administración de extractos hidroalcohólicos de hojas secas, a 0.5 y 1 mg mL<sup>-1</sup> sobre huevos y formas adultas del nemátodo *Haemonchus contortus*, obtuvieron el 100 % de inhibición de la eclosión de los huevos, con una CI<sub>50</sub>= 0.09 mg/mL<sup>-1</sup>, los parásitos adultos sobrevivieron 70%, a 1 mg mL se obtuvo un 100% de inhibición de eclosión de los huevos (CI<sub>50</sub> de 0.15 mg/ml). En un trabajo alterno mencionan que el componente activo que adquiere esta propiedad, es el ascaridol que genera un efecto paralizante y narcótico en los helmintos (Salinas, 2020).

Sisalema (2023) evaluó los aceites esenciales de las partes aéreas frescas y comprobó su actividad sobre el parásito *Passalurus ambiguus* y encontró que con la administración de aceite esencial al 5% a dosis de 0.1 ml/kg en ratones 90.37% de inhibición del parásito, mientras que al 2.5% ayuda en su control con un 89.63% de inhibición, sin embargo, la efectividad disminuye en semanas y la presencia de huevos aumenta.

### 3.2.3. Actividad antiprotozoaria

Se encontraron cuatro estudios, en las que se evaluaron *in vitro* extractos orgánicos (obtenidos con acetato de etilo) y aceites esenciales sobre los tres estadios (amastigote, epimastigote y tripomastigote) de *Trypanosoma cruzi*.

Kiuchi *et al.* (2002) realizaron su estudio con extractos de etanoato de etilo (EcOET) de las partes aéreas de la planta sobre *T. cruzi*, reportaron el aislamiento y caracterización de cuatro moléculas (*hidroperóxidos monoterpénicos de tipo p-mentano (2a-5a)*) que mostraron una actividad tripanocida más fuerte que el ascaridol; obtuvieron que a 1 µg mL<sup>-1</sup> el (-)-(1S,4S)-p-mentha-2,8-dien-1-hidro-peróxido inhibió casi por completo la infección de las células HeLa por los tripomastigotes. Rojas *et al.* (2010), Borges *et al.* (2012) y Pagotti (2021) evaluaron los aceites esenciales de las hojas frescas sobre

diferentes estadios de *T. cruzi*, sobre los epimastigotes los autores reportan potencias inhibitoras diferentes, dado que Rojas *et al.* (2010) reportan concentración inhibitoria media (CI<sub>50</sub>) de 120.23 a 346.74  $\mu\text{g/mL}^{-1}$  y Borges *et al.* (2012) determinó una potencia casi 15 veces más alta (CI<sub>50</sub> a 21.3  $\mu\text{g/mL}^{-1}$ ), mientras que en los amastigotes hasta 10 veces más (CI<sub>50</sub> 50.2  $\mu\text{g/mL}^{-1}$ ) en contraparte el CI<sub>50</sub> obtenido por Pagotti (2021) fue de 12.2  $\mu\text{g/mL}^{-1}$ , siendo hasta 20 veces más alta. Los resultados de ambos autores para las formas tripomastigotes son los valores que difieren menos, Pagotti (2021) obtuvo un CI<sub>50</sub> de 8.7  $\mu\text{g/mL}^{-1}$  mientras que Borges *et al.* (2012) determinó la CI<sub>50</sub> a 28.1  $\mu\text{g/mL}^{-1}$ .

Además de los estudios realizados sobre *T. cruzi* se han encontrado resultados interesantes sobre otros parásitos protozoarios, entre ellos, *Leishmania amazonensis*, *Leishmania infantum*, *Plasmodium falciparum* y *Trypanosoma brucei*.

Monzote (2004) probó los aceites esenciales de las partes aéreas frescas sobre *L. amazonensis* y *Trichomonas vaginalis*, obteniendo una CIM frente a promastigotes de *L. amazonensis* de 27.8  $\text{mg/mL}^{-1}$ , mientras que la CIM frente a *T. vaginalis* fue de 25  $\text{mg/mL}^{-1}$ .

Sisalema (2023) probó dicha actividad sobre *Eimeria spp* en modelos *in vivo* en ratones, se administró a conejos dosis única de 0.1  $\text{mL/kg}^{-1}$  del aceite a 5% y 2.5%, exámenes coproparasitarios los 7, 15 y 21 días post tratamiento, mostraron que hubo efectividad en la eliminación del parásito a 5% del aceite, a los 21 días se mostró una efectividad de 80.28% y a 2.5 % la efectividad fue de 70.37%.

## IV. OBJETIVOS

### General

Evaluar el potencial antifúngico *in vitro* de extractos de naturaleza química diversa de *Dysphania ambrosioides*.

### Específico

- Determinar la capacidad antifúngica de extractos con química distinta de *D. ambrosioides*.
- Identificar el o los extractos de *D. ambrosioides* con mayor efectividad.
- Analizar la composición química del extracto que presente mayor efectividad.
- Aislar e identificar la o las fracciones de *D. ambrosioides* responsables de la actividad antifúngica del extracto con mayor potencia inhibitoria.

## **V. ZONA DE RECOLECTA**

Las partes aéreas del *Dysphania ambrosioides* (5500 gr) fueron adquiridas en el mercado local de Unión Hidalgo, Oaxaca, procedentes del estado de Puebla, México, en el periodo de Junio a Septiembre del 2024.

## **VI. MÉTODO**

Las extracciones, pruebas antifúngicas y la determinación de la composición química se llevaron a cabo en el Laboratorio de Fisiología y Química Vegetal perteneciente al Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH).

### **6.1. Material biológico**

#### **6.1.1. Selección del material vegetal**

Se emplearon las partes aéreas de *D. ambrosioides*, seleccionando material exento de daños visibles. El material fue secado a la sombra a temperatura ambiente y posteriormente fueron molidas hasta la obtención de un polvo con ayuda de una licuadora común y se determinó el peso seco de las muestras( 555 gramos).

#### **6.1.2. Cepas fúngicas**

Las cepas fúngicas de *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*, *Colletotrichum gloeosporioides* NCI y *Curvularia lunata* fueron los organismos de prueba. Los cultivos pertenecen al cepario de fitopatógenos del Laboratorio de Fisiología y Química Vegetal del Instituto de Ciencias Biológicas de la UNICACH.

### **6.2. Reactivos**

Los disolventes y reactivos que fueron utilizados en la elaboración de este proyecto fueron proporcionados por el Laboratorio de Fisiología y Química Vegetal del Instituto de Ciencias Biológicas de la UNICACH.

### 6.3. Obtención de extractos de metabolitos secundarios

Se realizaron dos tipos de extracciones: tres extractos generales (extracto metanólico, hexánico y acuoso) y dos extractos selectivos (aceites esenciales y alcaloides).

#### 6.3.1. Aceite esencial

El aceite esencial se extrajo mediante el método de hidrodestilación empleando un dispositivo de tipo Clevenger (Pavela *et al.* 2018). Para este propósito, se añadió al matraz de ebullición 100 g de la muestra vegetal con 1350 ml de agua, el condensado resultante fue recolectado en el dispositivo Clevenger, permitiendo la separación de las fases acuosa y orgánica, respectivamente. El proceso se realizó durante cinco horas para garantizar una extracción adecuada. El aceite obtenido se almacenó en un tubo eppendorf, y se dejó secar a temperatura ambiente y se guardó hasta su uso (Figura 9).

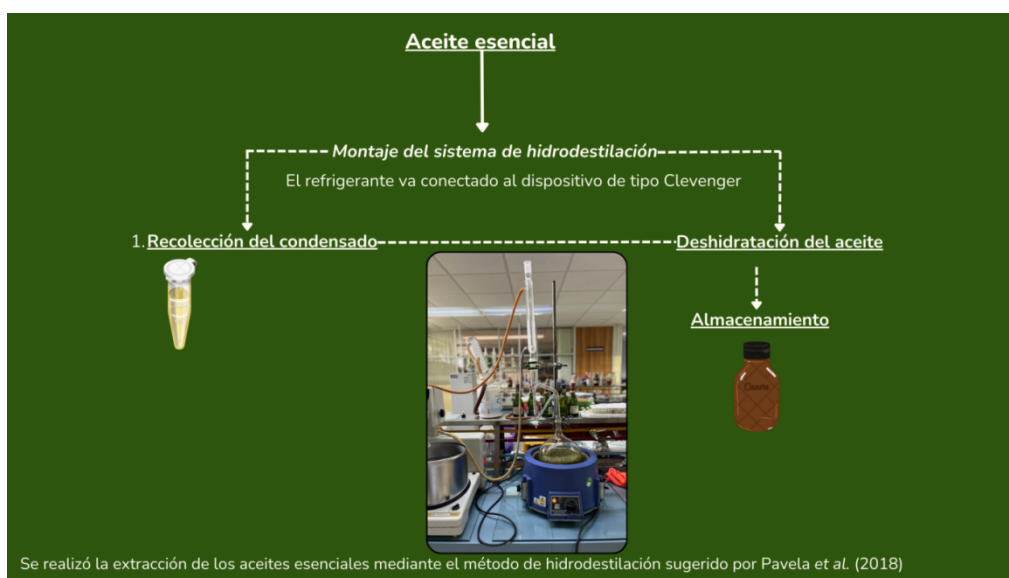


Figura 9. Diagrama del proceso de obtención del aceite esencial de las partes aéreas de *Dysphania ambrosioides*. Autoría propia, 2024

#### 6.3.2. Extracto metanólico

Se realizó con el método de Kandsi *et al.* (2021), para ello 100 g del material vegetal se dejó macerando con metanol al 70% durante seis días, la parte soluble de esta mezcla se separó del material vegetal mediante filtración. El material vegetal se extrajo dos veces más. El filtrado se concentró por evaporación del metanol a presión reducida, los restos de metanol fueron eliminados a

temperatura ambiente y a baño María, finalmente, el extracto se almacenó en un tubo falcon hasta su utilización (Figura 10).

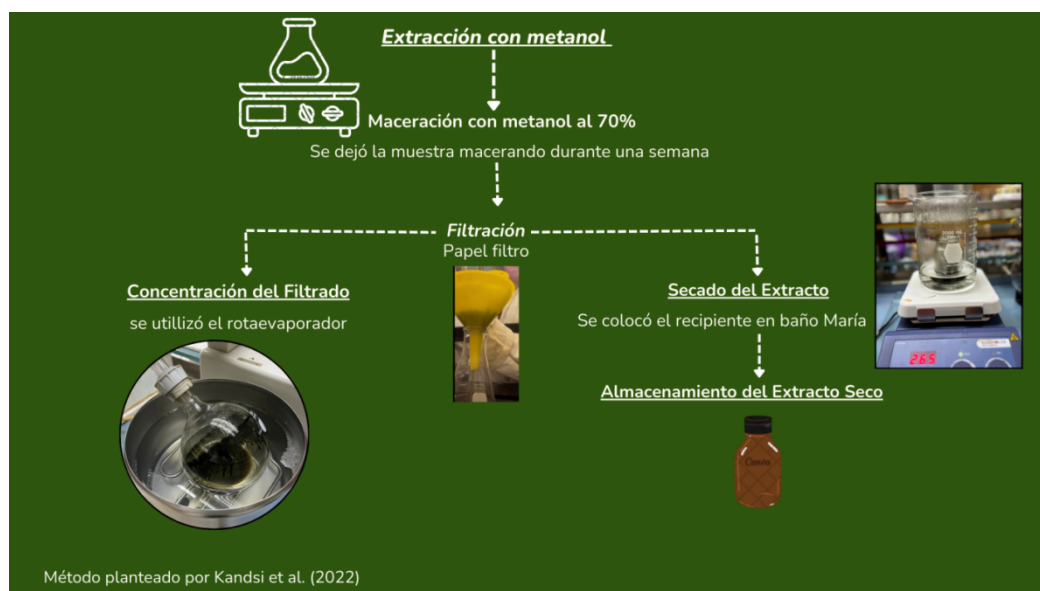


Figura 10. Diagrama del proceso de obtención del extracto metanólico de las partes aéreas de *Dysphania ambrosioides*. Autoría propia, 2024

### 6.3.3. Extracto hexánico y alcaloidal

Los extractos hexánico y alcaloidal se obtuvieron según el método de Shoaib *et al.* (2016) con modificaciones.

Para el extracto hexánico se maceraron 100 g de material vegetal en 1000 ml de hexano durante cinco días, el extracto se filtró y se concentró a presión reducida y se eliminaron los residuos a temperatura ambiente. Después de eliminar los residuos de hexano del material vegetal, este se dejó evaporar en una campana de extracción durante un día. Posteriormente se realizó la extracción con 400 mL de ácido acético al 10%; el extracto fue filtrado y se concentró utilizando un rotaevaporador, el extracto se ajustó a pH 9 mediante la adición de solución de carbonato de sodio saturada. Después se extrajo tres veces con 50 mL cloroformo en un embudo de separación; la capa de cloroformo se separó y se concentró a presión reducida en un rotoevaporador. Para confirmar la presencia de alcaloides, se realizó una cromatografía revelada con reactivo Dragendorff, el extracto de alcaloides se almacenó en un vial de vidrio limpio (Figura 11).



Figura 11. Diagrama del proceso de obtención del extracto hexánico y alcaloidal de las partes aéreas de *Dysphania ambrosioides*. Autoría propia, 2024

#### 6.3.4. Extracto acuoso

El extracto acuoso se obtuvo con el método de Ramos (2005) con algunas modificaciones. Para ello a 1 L de agua destilada en ebullición se le agregó 100 g de la muestra vegetal y se dejó en decocción durante 40 minutos. Transcurrido el tiempo se dejó reposar hasta que la infusión alcanzó la temperatura ambiente. El extracto se filtró a través de papel filtro de cafetera y se dejó secar a temperatura ambiente; una vez seca la muestra se colocó en un tubo falcon y se almacenó a temperatura ambiente hasta su uso (Figura 12).



Figura 12. Diagrama del proceso de obtención del extracto acuoso de las partes aéreas de *Dysphania ambrosioides*. Autoría propia, 2024

### 6.3.5. Rendimiento de extractos

El rendimiento de cada extracto se calculó utilizando la siguiente fórmula: % de rendimiento = extracto (g)/materia seca (g) × 100.

### 6.4. Perfil de riqueza y abundancia de compuestos de los extractos selectivos de *D. ambrosioides*

Los extractos se analizaron sobre cromatografía en placas delgadas de sílica gel, para esto se aplicaron 5 µL de cada extracto disueltos a 10 mg·mL<sup>-1</sup> sobre una línea de aplicación a 1cm del borde inferior de la placa de cromatográfica. La fase móvil y el revelador varió dependiendo de cada extracto.

Para el extracto alcaloidal se usó como fase móvil una mezcla de cloroformo-metanol 9:1 y como revelador específico para alcaloides el reactivo de Dragendorff (Svendsen y Verpoorte, 1983 en Chong, 2020).

Para el aceite esencial, la fase móvil consistió de una mezcla de tolueno-acetato de etilo 93:7; se utilizaron tres reveladores (vainillina, sulfato cérico y fosfomolibdato) para visualización más diferenciada de los compuestos. (Chambi y Pacheco, 2017).

El extracto metanólico se analizó sobre cromatografía en capa fina de sílica gel, para esto se aplicaron 5 µL del extracto disueltos a 10 mg·mL<sup>-1</sup> sobre una línea de aplicación a 1cm del borde inferior de la placa de cromatográfica. La fase móvil fue metanol:acetato:hexano 7:2:1; se utilizaron tres reveladores (vainillina, sulfato cérico y reactivo dragendorff).

### 6.5. Pruebas *in vitro* de capacidad antifúngica

#### 6.5.1 Obtención de las cepas

Las cepas se mantuvieron a una temperatura entre 3-5°C en agua destilada y se repicaron en placas de Petri previamente esterilizadas, utilizando Agar-Papa-Dextrosa (PDA) como medio de cultivo.

#### 6.5.2. Ensayos antifúngicos *in vitro*

Se empleó el método propuesto por Amini y Sidovich (2010). Los extractos se evaluaron a concentraciones de 1, 10, 100 y 1000 µg·mL<sup>-1</sup> contra tres



fitopatógenos *C. gloeosporioides*, *C. lunata* y *F. oxysporum* mediante la técnica de inhibición micelial en “agar PDA envenenado”

El extracto hexánico fue disuelto en dimetilsulfóxido (DMSO), el metanólico y alcaloidal en metanol y el extracto acuoso en agua. Tanto el DMSO como el metanol no rebasaron el 5% del volumen del agar. Después de 24 horas de prueba de esterilidad, se colocaron discos del micelio de cada hongo en el centro de la placa petri y se registró la actividad cada 24 horas durante una semana o hasta que el testigo alcanzó a cubrir la superficie del agar o detuvo su crecimiento; se realizaron cinco repeticiones por cada concentración (Figura 13).

La actividad inhibitoria se expresó como porcentaje de inhibición, según la fórmula: **% de Inhibición**= [(DC-DT)/DC] X 100.

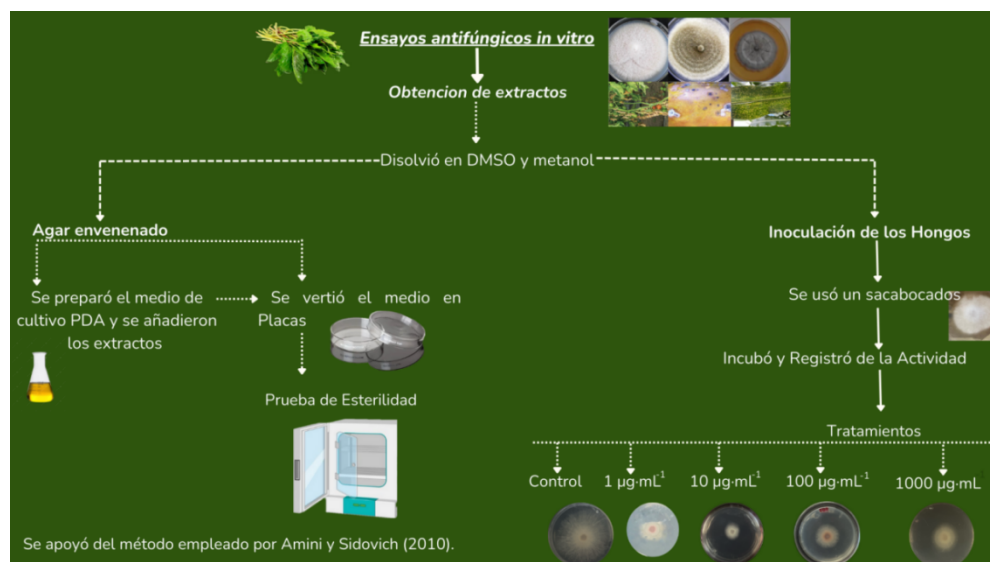


Figura 13. Diagrama del ensayo de la actividad antifúngica. Autoría propia, 2024

## 6.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todas las evaluaciones se realizaron por quintuplicado, el análisis se basó en la comparación entre los extractos. Las diferencias en la potencia inhibitoria de cada extracto sobre los hongos o las diferencias entre los extractos sobre cada hongo se realizaron con el análisis no paramétrico Kruskal-Wallis y el análisis de Mann-Whitney U al 95% de confiabilidad. Además, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) como un análisis exploratorio para identificar patrones de acción entre los extractos y su relación con los patógenos. Todos los análisis se efectuaron con el programa estadístico computacional Past de licencia libre (Figura 14).

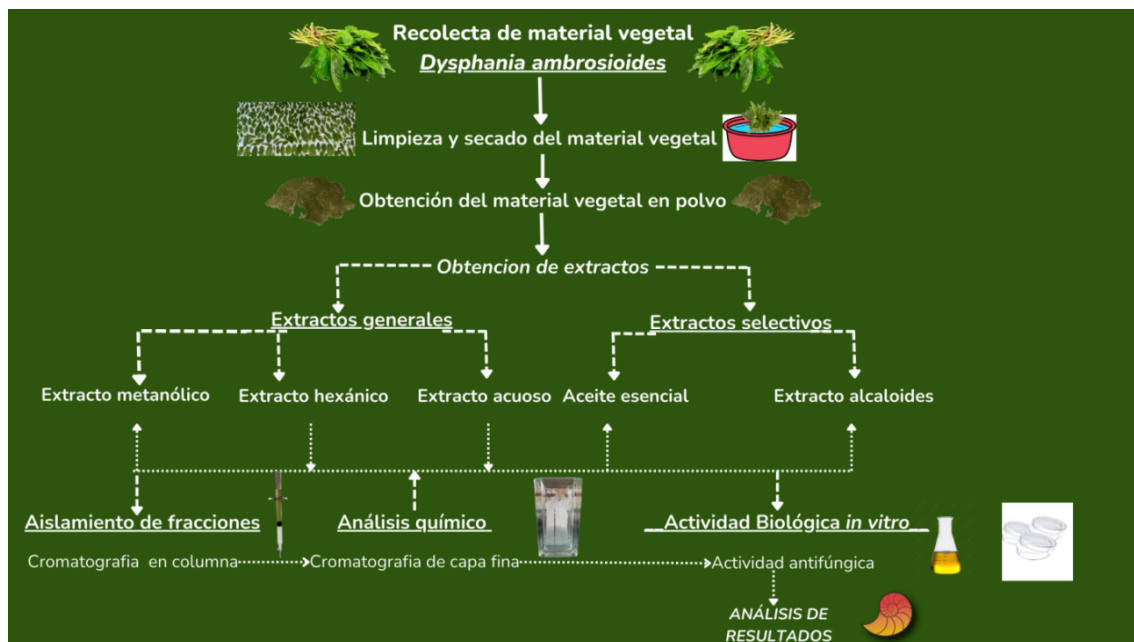


Figura 14. Diagrama general del método para la evaluación biológica de los metabolitos secundarios de *Dysphania ambrosioides*. Autoría propia, 2024

## VII. RESULTADOS

### 7.1. Rendimiento y composición química de extractos de *D. ambrosioides*

#### 7.1.1. Rendimiento de los extractos generales y selectivos de *D. ambrosioides*

Los extractos generales de las partes aéreas de *D. ambrosioides* fueron los de mayor rendimiento, el del extracto metanólico fue de cerca de 18%<sub>m/m</sub> y el del extracto acuoso próximo al 11%. En tanto que los extractos selectivos presentaron rendimientos de diez a cien veces más bajos, de ellos el aceite esencial fue el de menor proporción (Cuadro 4).

Cuadro 4. Rendimiento de extractos generales y selectivos de hojas de *Dysphania ambrosioides*

| Tipo de Extracto | Metanólico | Acuoso | Alcaloides | Hexánico | Aceite esencial |
|------------------|------------|--------|------------|----------|-----------------|
| Rendimiento      | 17.77%     | 10.54% | 1.68%      | 1.05%    | 0.01%           |

#### 7.1.2. Perfil cromatográfico de los extractos selectivos de *D. ambrosioides*

Para validar la presencia de metabolitos particulares en los extractos selectivos se realizaron perfiles cromatográficos con reveladores químicos. Para el aceite esencial se utilizaron tres relevadores químicos (vainillina, ácido fosfomolibdico y sulfato cérico), en tanto que para el extracto alcaloidal el reactivo de Dragendorff. Los perfiles cromatográficos se presentan con el factor de retención (Rf) y % de abundancia de las áreas cromatográficas, que representan la proporción relativa de cada mancha. Las áreas cromatográficas están correlacionadas con la proporción de los compuestos, en tanto que el número de manchas señalan la riqueza de compuestos en cada extracto.

Composición del aceite esencial. El perfil cromatográfico del aceite esencial revelado con vainillina mostró 12 compuestos (áreas cromatográficas), los compuestos más abundantes fueron los pocos polares con Rf de 0.90 y 0.98, con áreas relativas de 21 y 17% respectivamente (Figura 15a). La cromatografía con ácido fosfomolibdico presentó 11 compuestos, los compuestos con Rf de 0.90 y 0.96 también fueron los más abundantes (Figura 15b). El perfil con sulfato

cérico mostró mayor variedad química con 14 compuestos; los más abundantes fueron uno poco polar con Rf 0.95 y otros de mediana polaridad con Rf 0.60 y Rf 0.55 con 15 y 13% de área respectivamente (Figura 15c; Cuadro 5).

Composición del extracto alcaloidal. El perfil cromatográfico del extracto alcaloidal presentó ocho compuestos (Figura 16), la mayoría mostraron abundancias cromatográficas similares (de 9 a 11%). Se detectó un área poco polar con la mayor abundancia (Rf=0.90).

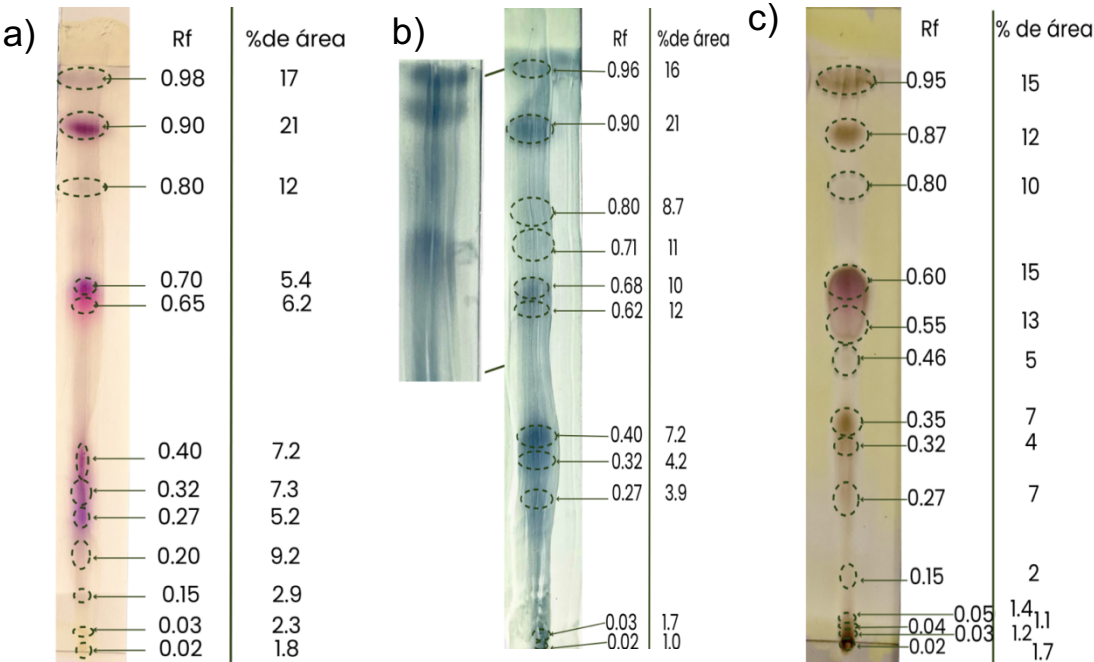


Figura 15. Cromatografía de capa fina del aceite esencial de *Dysphania ambrosioides*, revelada con a) vainillina en ácido sulfúrico; b) con ácido fosfomolibdico y c) con sulfato cérico

Cuadro 5. Factor de retención y abundancia cromatográfica de los compuestos obtenidos del aceite esencial de las hojas de *Dysphania ambrosioides*

| Perfil químico    | % de abundancia cromatográfica |                        |                |
|-------------------|--------------------------------|------------------------|----------------|
|                   | Vanillina                      | Sulfato fosfomolibdico | Sulfato cérico |
| <b>0.98 -0.95</b> | <b>17%</b>                     | <b>16%</b>             | <b>15%</b>     |
| <b>0.90-0.87</b>  | <b>21%</b>                     | <b>21%</b>             | <b>12%</b>     |
| <b>0.80</b>       | <b>12%</b>                     | 8.7%                   | <b>10</b>      |
| <b>0.71-0.60</b>  | 5.4%                           | <b>11%</b>             | <b>15%</b>     |
| <b>0.68-0.50</b>  | 6.2%                           | <b>10%</b>             | <b>13%</b>     |
| 0.46-0.40         | 7.2%                           | 7.2%                   | 5%             |
| 0.35-0.32         | 7.3%                           | 4.2%                   | <b>11%</b>     |
| 0.27              | 5.2%                           | 3.9%                   | 7%             |
| 0.20-0.15         | 9.2%                           | 0                      | 2%             |
| 0.5               | 0                              | 0                      | 1.4%           |
| 0.4               | 0                              | 0                      | 1.1%           |
| 0.3               | 2.3%                           | 1.7%                   | 1.2%           |
| 0.2               | 1.8%                           | 1.0%                   | 1.7%           |

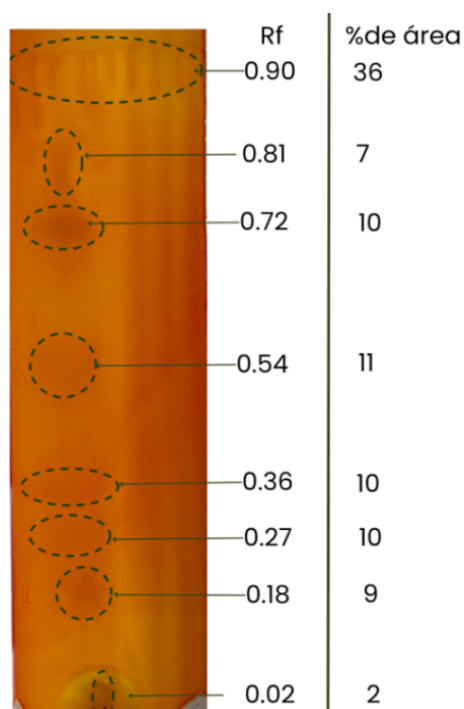


Figura 16. Cromatografía de capa fina del extracto alcaloidal de las hojas de *Dysphania ambrosioides*, revelada con reactivo Dragendorff

## 7.2. Actividad antifúngica *in vitro* de extractos de *D. ambrosioides*

Tanto extractos generales como selectivos de *D. ambrosioides* fueron capaces de inhibir a los tres fitopatógenos de estudio con diferencias estadísticas entre los extractos, las concentraciones y los fitopatógenos evaluados.

### 7.2.1. Actividad antifúngica del extracto acuoso de *D. ambrosioides*

El extracto acuoso mostró actividad inhibitoria sobre los tres fitopatógenos con diferencias significativas entre las concentraciones (Cuadro 6; Figura 17). La potencia inhibitoria sobre *C. lunata* aumentó de forma proporcional a la concentración ( $p=0.001$ ), a  $1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  se redujo 52% el crecimiento micelial y a  $1000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  hasta 91%. *F. oxysporum* fue el fitopatógeno más resistente con tasas inhibitorias pequeñas (de 0.4 a 7%) aunque significativas ( $p=0.001$ ), las concentraciones bajas fueron de dos a 15 veces más activas (6-7%) que las dosis altas (0.4-2%). Sobre *C. gloeosporioides* solo dos concentraciones mostraron actividad inhibitoria ( $p=0.009$ ), a  $1000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  la tasa inhibitoria de crecimiento (46%) fue casi cuatro veces más alta que a  $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (12%).

Cuadro 6. Actividad antifúngica sobre fitopatógenos del extracto acuoso de *Dysphania ambrosioides*

| Concentraciones                       | Fitopatógenos                |            |          |                              |            |          |                              |            |          |
|---------------------------------------|------------------------------|------------|----------|------------------------------|------------|----------|------------------------------|------------|----------|
|                                       | <i>F. oxysporum</i>          |            |          | <i>C. lunata</i>             |            |          | <i>C. gloeosporioides</i>    |            |          |
|                                       | $\bar{x}$                    | $\sigma^2$ | $\sigma$ | $\bar{x}$                    | $\sigma^2$ | $\sigma$ | $\bar{x}$                    | $\sigma^2$ | $\sigma$ |
| $1000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ | 0.4% <sup>b</sup>            | 0.64       | 0.8      | 91% <sup>a</sup>             | 19         | 4        | 46% <sup>a</sup>             | 21         | 5        |
| $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  | 2% <sup>b</sup>              | 1          | 1        | 85% <sup>a</sup>             | 13         | 4        | -0.8% <sup>b</sup>           | 3          | 2        |
| $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$   | 7% <sup>a</sup>              | 7          | 3        | 82% <sup>a</sup>             | 13         | 4        | 12% <sup>ab</sup>            | 120        | 11       |
| 1                                     | 6% <sup>a</sup>              | 13         | 4        | 52% <sup>b</sup>             | 7          | 3        | -3.% <sup>b</sup>            | 11         | 3        |
| Kruskal-Wallis                        | $\chi^2= 10.8$<br>$p= 0.009$ |            |          | $\chi^2= 14.7$<br>$p= 0.001$ |            |          | $\chi^2= 14.2$<br>$p= 0.001$ |            |          |

Se presenta el promedio ( $\bar{x}$ ), la varianza ( $\sigma^2$ ) y la desviación estándar ( $\sigma$ ). Las comparaciones entre tratamientos se realizaron mediante el análisis de Kruskal-Wallis, seguidas de una prueba entre pares de Mann-Whitney al 95% de probabilidad. Las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos. Valores con la misma letra (b) no son significativamente diferentes entre sí, mientras que aquellos con letras distintas (a y b) sí lo son.

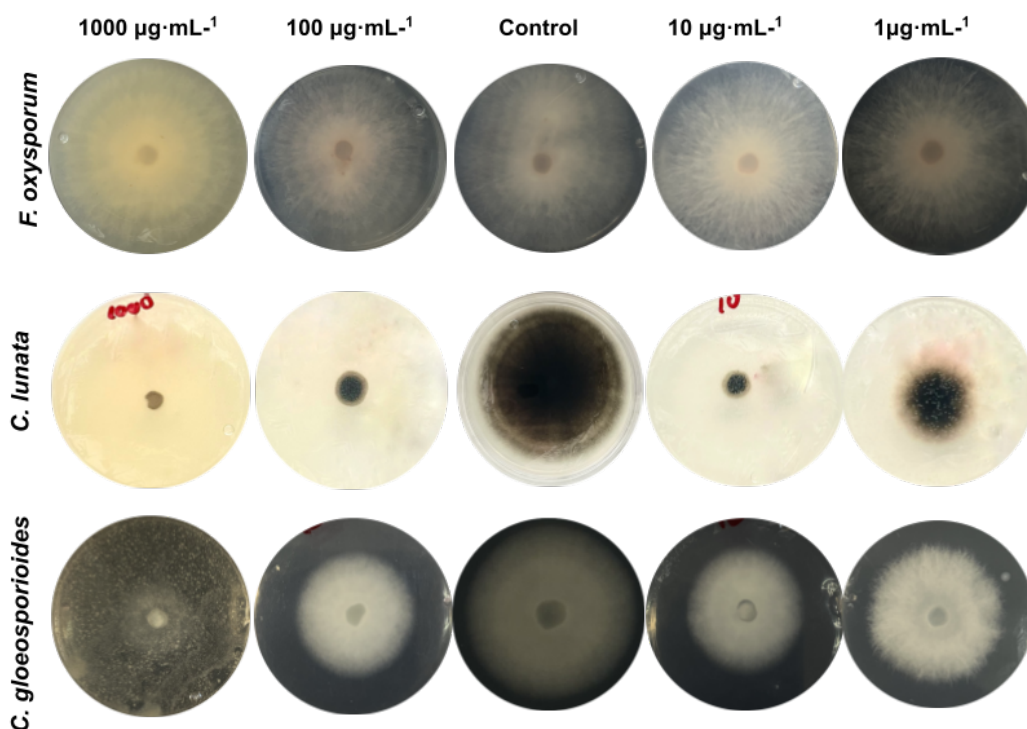


Figura 17. Actividad antifúngica del extracto acuoso de *Dysphania ambrosioides*

### 7.2.2. Actividad antifúngica del extracto hexánico de *D. ambrosioides*

El extracto hexánico inhibió el crecimiento de los tres fitopatógenos. El crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* fue inhibido completamente (100%) por todas las concentraciones del extracto ( $p=0.8$ ). Sobre *F. oxysporum* las tasas inhibitorias variaron de 45 a 61% (Cuadro 7, Figura 18), las concentraciones bajas fueron ligeramente más activas (1.4 veces más) que las dosis altas ( $p=0.005$ ). Las tasas inhibitorias sobre *C. lunata* fueron muy semejantes y variaron de 74 a 82% ( $p=0.004$ ).

Cuadro 7. Actividad antifúngica sobre fitopatógenos del extracto hexánico de *Dysphania ambrosioides*

| Concentraciones                       | Fitopatógenos                |            |          |                              |            |          |                           |            |          |
|---------------------------------------|------------------------------|------------|----------|------------------------------|------------|----------|---------------------------|------------|----------|
|                                       | <i>F. oxysporum</i>          |            |          | <i>C. lunata</i>             |            |          | <i>C. gloeosporioides</i> |            |          |
|                                       | $\bar{x}$                    | $\sigma^2$ | $\sigma$ | $\bar{x}$                    | $\sigma^2$ | $\sigma$ | $\bar{x}$                 | $\sigma^2$ | $\sigma$ |
| 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ | 45%b                         | 22         | 5        | 82%a                         | 3          | 2        | 100%                      | 0          | 0        |
| 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  | 53%b                         | 267        | 16       | 79%a                         | 5          | 2        | 100%                      | 0          | 0        |
| 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$   | 59%a                         | 15         | 4        | 74%b                         | 1          | 1        | 100%                      | 0          | 0        |
| 1                                     | 61%a                         | 11         | 2        | 81%a                         | 3          | 2        | 100%                      | 0          | 0        |
| Kruskal-Wallis                        | $\chi^2= 12.39$<br>$p=0.005$ |            |          | $\chi^2= 12.29$<br>$p=0.004$ |            |          | $\chi^2= 0.76$<br>$p=0.8$ |            |          |

Se presenta el promedio ( $\bar{x}$ ), la varianza ( $\sigma^2$ ) y la desviación estándar ( $\sigma$ ). Las comparaciones entre tratamientos se realizaron mediante el análisis de Kruskal-Wallis, seguidas de una prueba entre pares de Mann-Whitney al 95% de probabilidad. Las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos. Valores con la misma letra (b) no son significativamente diferentes entre sí, mientras que aquellos con letras distintas (a y b) sí lo son.

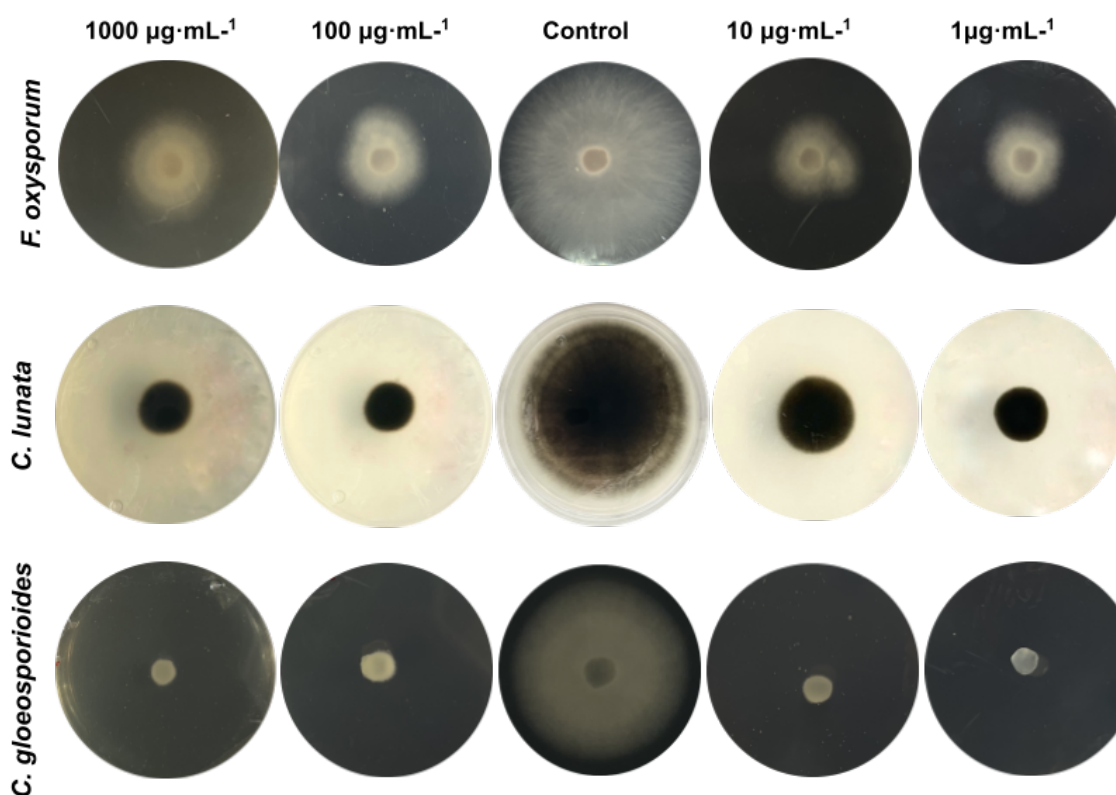


Figura 18. Actividad antifúngica del extracto hexánico de *Dysphania ambrosioides*



### 7.2.3. Actividad antifúngica del extracto metanólico de *D. ambrosioides*

La potencia inhibitoria sobre *F. oxysporum* varió de 55 a 82% de inhibición ( $p=0.0009$ ), la actividad fue más alta (78-82%) en las concentraciones más bajas (Cuadro 8; Figura 19) y más pequeñas (55-73%) con las concentraciones altas. Sobre *C. gloeosporioides* se observaron potencias inhibitorias muy similares (72-81%) aunque diferentes ( $p=0.03$ ), el máximo porcentaje de inhibición se detectó a  $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (81%). Mientras que *C. lunata* fue inhibido en la misma proporción (69-82%) por las concentraciones ( $p=0.07$ ).

Cuadro 8. Actividad antifúngica sobre fitopatógenos del extracto metanólico de *Dysphania ambrosioides*

| Concentraciones                       | Fitopatógenos             |            |          |                          |            |          |                           |            |          |
|---------------------------------------|---------------------------|------------|----------|--------------------------|------------|----------|---------------------------|------------|----------|
|                                       | <i>F. oxysporum</i>       |            |          | <i>C. lunata</i>         |            |          | <i>C. gloeosporioides</i> |            |          |
|                                       | $\bar{x}$                 | $\sigma^2$ | $\sigma$ | $\bar{x}$                | $\sigma^2$ | $\sigma$ | $\bar{x}$                 | $\sigma^2$ | $\sigma$ |
| $1000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ | 55%b                      | 140        | 12       | 74%                      | 8          | 3        | 78%a                      | 13         | 3        |
| $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  | 73%b                      | 12         | 3        | 77%                      | 33         | 5        | 81%a                      | 51         | 7        |
| $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$   | 82%a                      | 22         | 5        | 82%                      | 21         | 5        | 72%b                      | 6          | 2        |
| $1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$    | 78%a                      | 3          | 2        | 69%                      | 223        | 15       | 79%a                      | 3          | 2        |
| Kruskal-Wallis                        | $\chi^2=16$<br>$p=0.0009$ |            |          | $\chi^2=6.7$<br>$p=0.07$ |            |          | $\chi^2=8.1$<br>$p=0.03$  |            |          |

Se presenta el promedio ( $\bar{x}$ ), la varianza ( $\sigma^2$ ) y la desviación estándar ( $\sigma$ ). Las comparaciones entre tratamientos se realizaron mediante el análisis de Kruskal-Wallis, seguidas de una prueba entre pares de Mann-Whitney al 95% de probabilidad. Las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos. Valores con la misma letra (b) no son significativamente diferentes entre sí, mientras que aquellos con letras distintas (a y b) sí lo son.

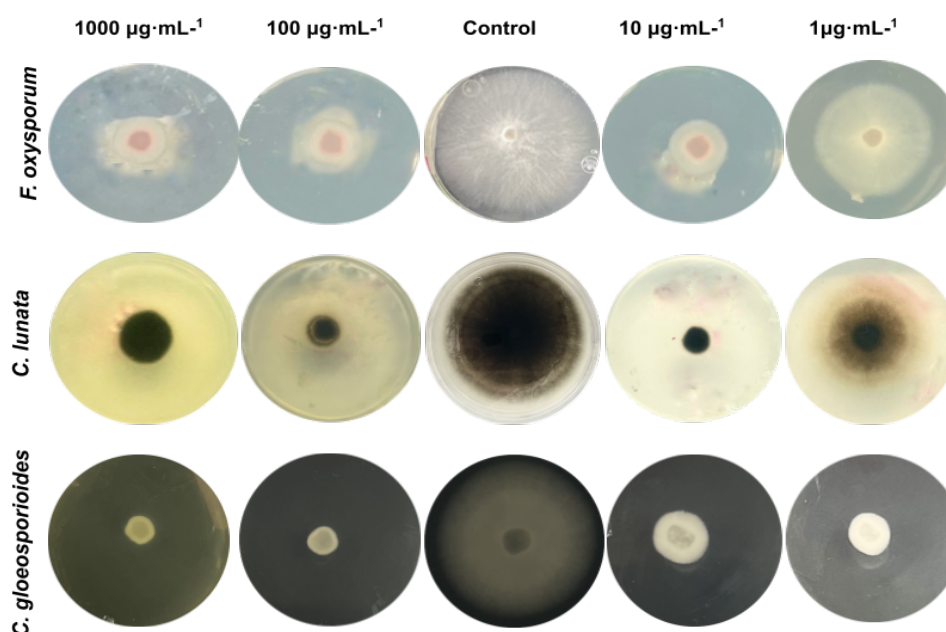


Figura 19. Actividad antifúngica del extracto metanólico de *Dysphania ambrosioides*

### 7.2.4. Actividad antifúngica del extracto alcaloidal de *D. ambrosioides*

El extracto alcaloidal inhibió con la misma potencia en todas las concentraciones el crecimiento de *F. oxysporum* (61-68%;  $p=0.5$ ) y el de *C. lunata* (73 a 80%;  $p=0.7$ ). Sobre *C. gloeosporioides* se observaron tasas de inhibición de 62 a 86% con diferencias entre las concentraciones ( $p=0.008$ ) (Cuadro 9; Figura 20).

Cuadro 9. Actividad antifúngica sobre fitopatógenos del extracto alcaloidal de *Dysphania ambrosioides*

| Concentraciones                       | Fitopatógenos               |            |          |                                 |            |          |                              |            |          |
|---------------------------------------|-----------------------------|------------|----------|---------------------------------|------------|----------|------------------------------|------------|----------|
|                                       | <i>F. oxysporum</i>         |            |          | <i>C. lunata</i>                |            |          | <i>C. gloeosporioides</i>    |            |          |
|                                       | $\bar{x}$                   | $\sigma^2$ | $\sigma$ | $\bar{x}$                       | $\sigma^2$ | $\sigma$ | $\bar{x}$                    | $\sigma^2$ | $\sigma$ |
| 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ | 62%                         | 65         | 8        | 73%                             | 21         | 5        | 80%                          | 56         | 7        |
| 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  | 68%                         | 58         | 8        | 80%                             | 111        | 10       | 82%                          | 37         | 6        |
| 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$   | 61%                         | 109        | 10       | 75%                             | 83         | 9        | 86%                          | 37         | 6        |
| 1                                     | 62%                         | 3          | 2        | 78%                             | 49         | 7        | 62%                          | 69         | 8        |
| Kruskal-Wallis                        | $\text{Chi}^2:2$<br>$p=0.5$ |            |          | $\text{Chi}^2:1.426$<br>$p=0.7$ |            |          | $\text{Chi}^2:6$<br>$p=0.08$ |            |          |

Se presenta el promedio ( $\bar{x}$ ), la varianza ( $\sigma^2$ ) y la desviación estándar ( $\sigma$ ). Las comparaciones entre tratamientos se realizaron mediante el análisis de Kruskal-Wallis, seguidas de una prueba entre pares de Mann-Whitney al 95% de probabilidad. Las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos. Valores con la misma letra (b) no son significativamente diferentes entre sí, mientras que aquellos con letras distintas (a y b) sí lo son.

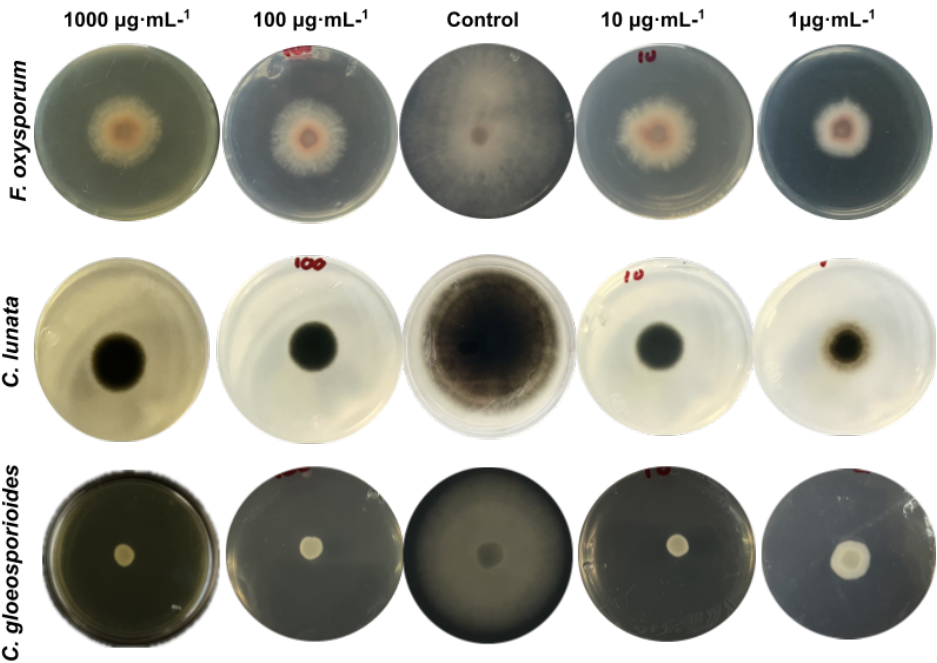


Figura 20. Actividad antifúngica del extracto alcaloidal de *Dysphania ambrosioides*

### 7.2.5. Identificación del extracto de *D. ambrosioides* con mayor actividad antifúngica

Para distinguir los extractos antifúngicos más potentes sobre cada fitopatógeno se realizaron comparaciones estadísticas entre las concentraciones más activas de cada hongo. La misma lógica se realizó para distinguir el fitopatógeno más sensible (Cuadro 10).

El extracto metanólico ( $p=0.8$ ) fue el único que inhibió en la misma proporción a los tres fitopatógenos (81%-82%); el extracto hexánico fue el más potente sobre *C. gloeosporioides* ya que inhibió completamente el crecimiento en todas las concentraciones ( $p=0.001$ ). Por su parte el extracto acuoso ( $p=0.001$ ) presentó su mayor actividad sobre *C. lunata* (91% de tasa inhibitoria), a su vez fue el extracto menos efectivo sobre *F. oxysporum* (7%).

El extracto alcaloidal ( $p=0.03$ ) fue más eficaz sobre *C. gloeosporioides* (86%) y *C. lunata* (80%) (Cuadro 9; Figura 20).

Cuadro 10. Comparación de la potencia antifúngica de los extractos de *Dysphania ambrosioides*

| Extracto            | <i>F. oxysporum</i>                  | <i>C. gloeosporioides</i>            | <i>C. lunata</i>                   | Test Kruskal-Wallis                  |
|---------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| Metanólico          | 82% <b>aA</b>                        | 81% <b>abA</b>                       | 82% <b>bA</b>                      | Chi <sup>2</sup> :2.6<br>$p=0.8$     |
| Hexánico            | 61% <b>abC</b>                       | 100% <b>aA</b>                       | 82% <b>bB</b>                      | Chi <sup>2</sup> :12.5<br>$p=0.001$  |
| Acuoso              | 7% <b>bC</b>                         | 46% <b>bB</b>                        | 91% <b>aA</b>                      | Chi <sup>2</sup> : 12.5<br>$p=0.001$ |
| Alcaloidal          | 68% <b>abB</b>                       | 86% <b>abA</b>                       | 80% <b>abAB</b>                    | Chi <sup>2</sup> : 6.8<br>$p=0.03$   |
| Test Kruskal-Wallis | Chi <sup>2</sup> :16.6<br>$p=0.0008$ | Chi <sup>2</sup> :16.4<br>$p=0.0008$ | Chi <sup>2</sup> :7.92<br>$p=0.04$ |                                      |

Se presenta el porcentaje de inhibición. Las comparaciones entre tratamientos se realizaron mediante el análisis de Kruskal-Wallis, seguidas de una prueba entre pares de Mann-Whitney al 95% de probabilidad. Las letras minúsculas indican diferencias significativas entre los tratamientos por extracto, las letras mayúsculas muestran las diferencias significativas entre los fitopatógenos. Valores con la misma letra (b o B) no son significativamente diferentes entre sí, mientras que aquellos con letras distintas (aA y bB) sí lo son.

El gráfico exploratorio de análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés), indica que los efectos inhibitorios sobre *C. gloeosporioides* son más acentuados con el extracto hexánico y alcaloidal, en tanto que sobre *C. lunata* el extracto acuoso es el más potente. Sobre *F. oxysporum* el extracto metanólico sería el más efectivo.

El extracto metanólico al situarse en el centro del gráfico, indica que inhibe en proporciones similares a los tres fitopatógenos (Figura 21), es decir tiene una potencia con espectro más consistente que los otros extractos que tuvieron una actividad intermitente sobre los fitopatógenos evaluados. Estos resultados coinciden robustamente con las comparaciones de las pruebas de Kruskal Wallis y Mann-Whitney mostradas en el cuadro 10.

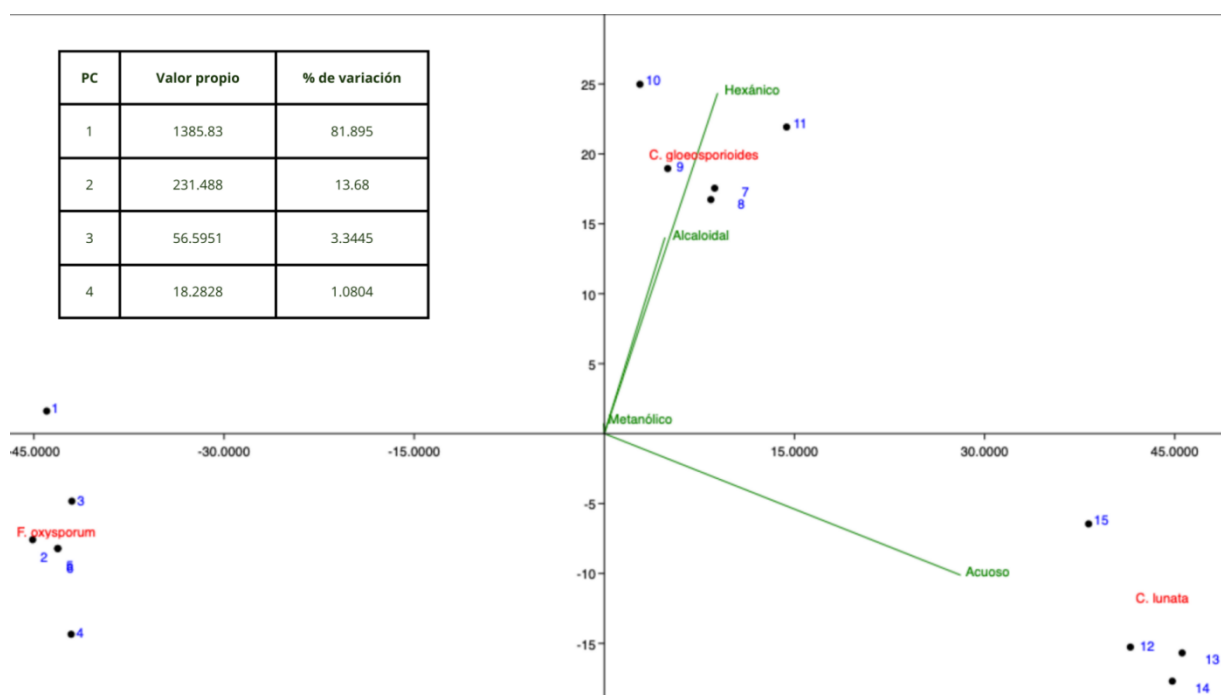


Figura 21. El análisis de componentes principales de los extractos de *Dysphania ambrosioides* sobre *F. oxysporum*, *C. gloeosporioides* y *C. lunata* muestra que los dos primeros componentes principales explican la mayor parte de la variabilidad en los datos 95%

### 7.3. Exploración fitoquímica del extracto con mejor actividad antifúngica de *D. ambrosioides*

#### 7.3.1. Perfil cromatográfico del extracto metanólico de *D. ambrosioides*

Para explorar la fitoquímica del extracto con la actividad antifúngica más consistente; se realizaron perfiles cromatográficos con tres relevadores químicos para estimar el número de compuestos totales (revelador sulfato cerico), para estimar compuestos tipo terpenos (revelador vainillina), y alcaloides con el reactivo de Dragendorff. Los perfiles cromatográficos se presentan con el número de compuestos y su factor de retención (Rf), y con el % área relativa de las manchas cromatográficas, consideradas como la abundancia de los compuestos.

El perfil de composición química del extracto metanólico revelado con vainillina evidenció seis compuestos, el más abundante fue el de Rf 0.62 con 52% de área relativa, los otros cinco compuestos presentaron áreas similares que oscilaron de 5% a 12% (Figura 22b). La cromatografía con sulfato cérico presentó cinco compuestos, el compuesto con Rf 0.62 presentó 75% de área, tres compuestos polares con Rf de 0.06, 0.08 y 0.12 con áreas relativas de 1 a 3% (Figura 22a). La cromatografía con reactivo Dragendorff mostró un solo alcaloide con Rf de 0.1 (Figura 22c, Cuadro 11).

Cuadro 11. Factor de retención y abundancia cromatográfica de los compuestos del extracto metanólico *Dysphania ambrosioides*

| Perfil químico | % de abundancia cromatográfica |                                            |             |
|----------------|--------------------------------|--------------------------------------------|-------------|
|                | Sulfato cérico                 | Vanillina y H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | Dragendorff |
| 0.62           | 75%                            | 52%                                        | -           |
| 0.58           | 0                              | 10%                                        | -           |
| 0.53-0.54      | 15%                            | 12%                                        | -           |
| 0.44           | -                              | 9%                                         | -           |
| 0.42           | -                              | 11%                                        | -           |
| 0.12-0.38      | 3%                             | -                                          | -           |
| 0.08           | 3%                             | -                                          | -           |
| 0.1-0.06       | 1%                             | 0-                                         | 100%        |

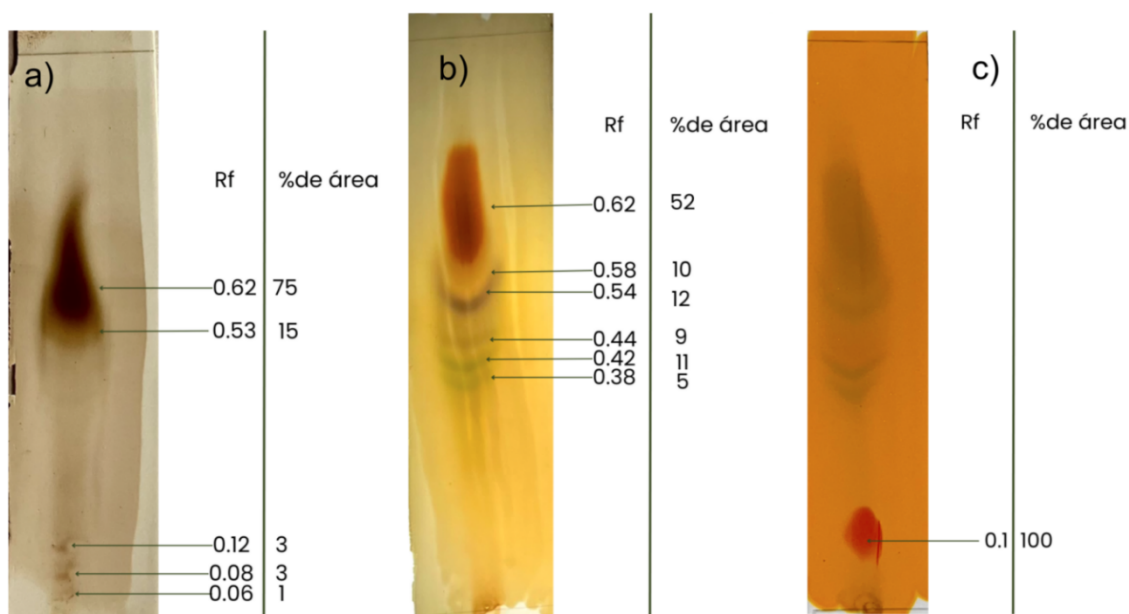


Figura 22. Cromatografía de capa fina del extracto metanólico de *Dysphania ambrosioides*, revelada con a) Sulfato cérico; b) vainillina en ácido sulfúrico; y c) reactivo Dragendorff

### 7.3.2. Fraccionamiento del extracto metanólico de *D. ambrosioides*

El extracto metanólico fue separado en columna cromatográfica de sílica gel como fase estacionaria (Figura 23), con la elución de tres fases móviles con polaridad progresiva (hexano/ acetato de etilo/ metanol). Se obtuvieron nueve fracciones y se unieron de acuerdo con sus perfiles cromatográficos, resultando seis fracciones, denominadas fracción hexánica (2.1), fracción AcoEt (2.2.1-2.2.3), fracciones metanólicas FI (2.3.1), FII (2.3.2), FIII (2.3.3-2.3.4) y FIV (2.4). Las fracciones FII, FIII y FIV formaron cristales de color marrón y blancos.

### 7.3.3. Perfil cromatográfico de las fracciones de *D. ambrosioides*

Solo los perfiles cromatográficos de las fracciones metanólicas II y IV reveladas dieron positivas a la presencia de alcaloides, ambas con un solo compuesto y por ende con el 100% de área relativa (Figura 28c y 25c).

El perfil de la fracción metanólica FII revelada con vainillina y sulfato cérico mostró la presencia de tres compuestos, dos de ellos ( $R_f$  de 0.1 y 0.25) fueron los más abundantes (área 52% y 46%); mientras que la fracción FI presentó dos compuestos similares con ambos reveladores (Figura 28a y b).

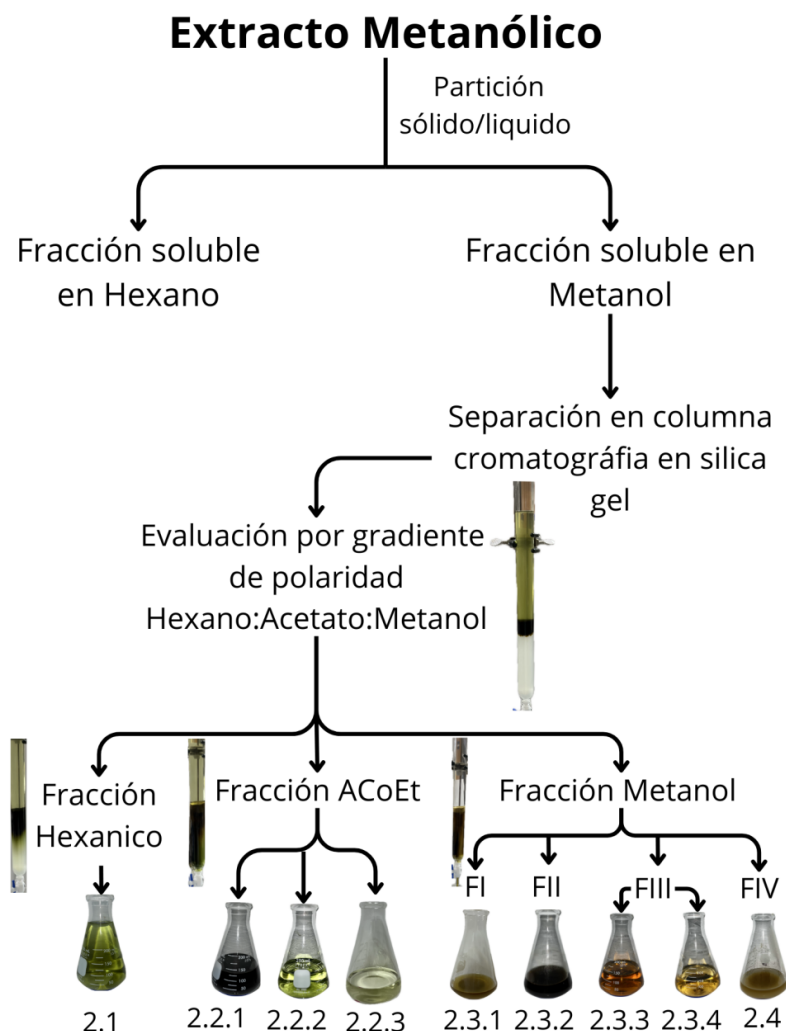


Figura 23. Columna cromatográfica empacada con sílica gel. Elaboración propia. 2024

Las fracciones FIII (2.3.3 y 2.3.4) no mostraron presencia de compuestos orgánico con ninguno de los reveladores por lo que se reunieron como una sola fracción (Figura 28 y 29). El perfil cromatográfico de las fracciones de AcOEt (2.2.1, 2.2.2 y 2.2.3) mostraron los mismos compuestos con sulfato cérico y vainillina (Figura 27).

Las cromatografías de la fracción hexánica con sulfato cérico y vainillina mostraron dos compuestos con  $R_f$  similares de 0.68-0.77 y 0.80-0.87 y áreas cromatográficas de 46-56% y 54-44% (Figura 26a y b) respectivamente, mientras que el perfil químico de la fracción soluble hexánica (Figura 24a y b) revelado con sulfato cérico mostró cuatro compuestos, el de  $R_f$  0.65 fue el de mayor % de área (67%) y tres compuestos al revelarse con vainillina.



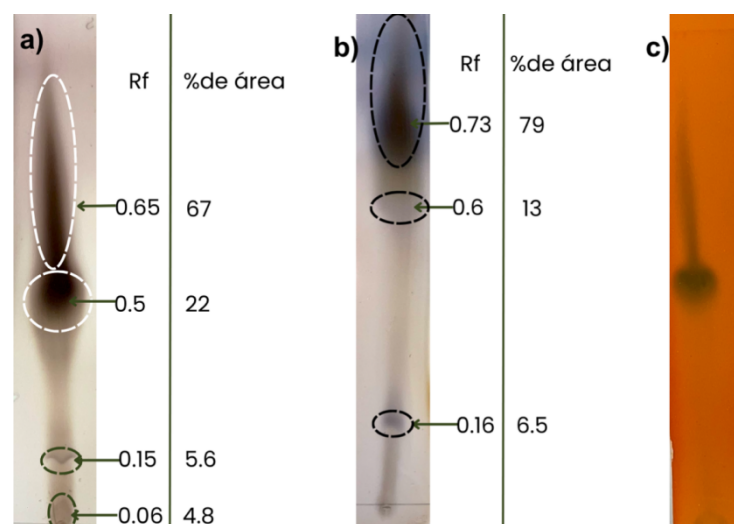


Figura 24. Cromatografía de capa fina de la fracción soluble en hexano de *Dysphania ambrosioides*, revelada con a) Sulfato cérico; b) vainillina en ácido sulfúrico; y c) reactivo Dragendorff

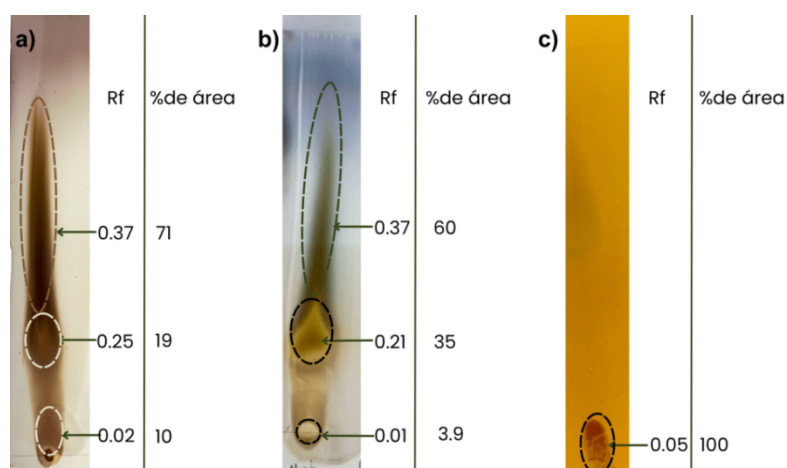


Figura 25. Cromatografía de capa fina de la fracción soluble en metanol de *Dysphania ambrosioides*, revelada con a) Sulfato cérico; b) vainillina en ácido sulfúrico; y c) reactivo Dragendorff

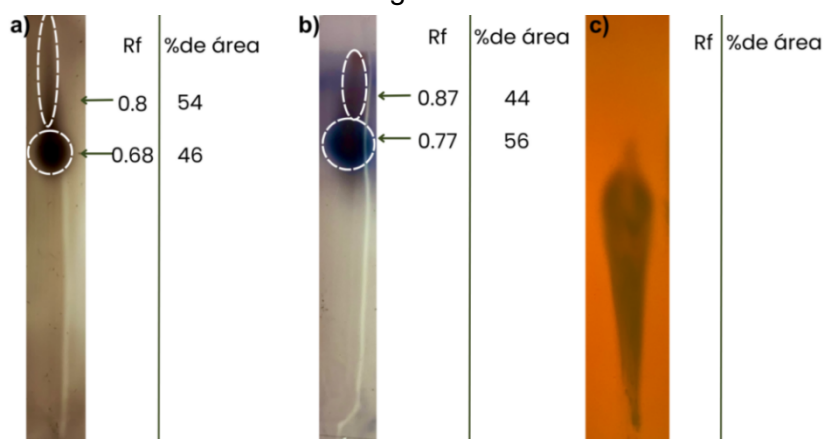


Figura 26. Cromatografía de capa fina de la fracción hexánica de *Dysphania ambrosioides*, revelada con a) Sulfato cérico; b) vainillina en ácido sulfúrico; y c) reactivo Dragendorff



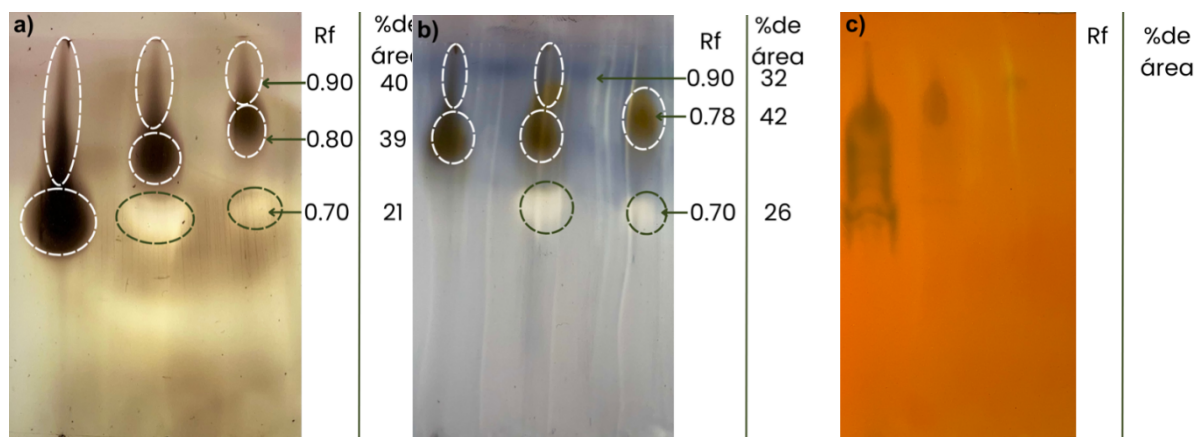


Figura 27. Cromatografía de capa fina de la fracción AcoEt de *Dysphania ambrosioides*, revelada con a) Sulfato cérico; b) vainillina en ácido sulfúrico; y c) reactivo Dragendorff

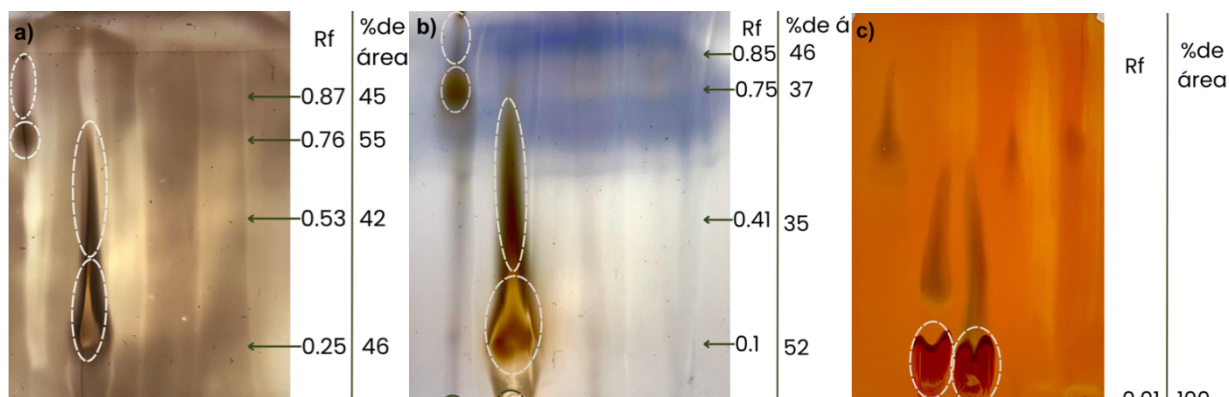


Figura 28. Cromatografía de capa fina de la fracción AcoEt de *Dysphania ambrosioides*, revelada con a) Sulfato cérico; b) vainillina en ácido sulfúrico; y c) reactivo Dragendorff

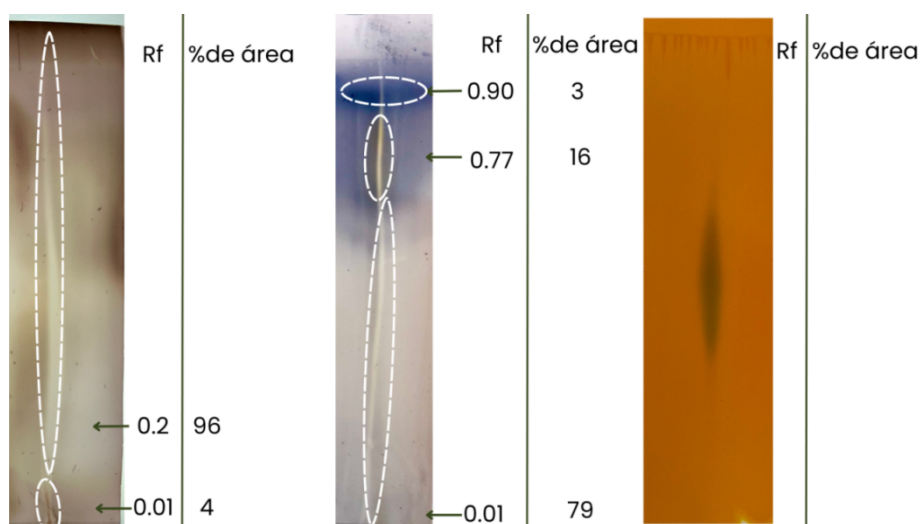


Figura 29. Cromatografía de capa fina de la fracción FIV de *Dysphania ambrosioides*, revelada con a) Sulfato cérico; b) vainillina en ácido sulfúrico; y c) reactivo Dragendorff

### 7.3.4. Actividad antifúngica de las fracciones de *D. ambrosioides*

Las fracciones hexánicas a  $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  inhibieron mejor a *C. lunata* (77-81%) que las fracciones de AcOEt, FI, FII y FIII que mostraron una inhibición media del 35, 29, 37 y 34% respectivamente; la fracción soluble en metanol y la fracción FIV presentaron una actividad inhibitoria de 17% (Cuadro 12).

Aunque las fracciones individuales mostraron actividad significativa, el extracto crudo metanólico, del cual se derivaron las fracciones, presentó una actividad inhibidora más potente (69-82%). Esto podría indicar que la sinergia entre los compuestos en el extracto crudo contribuye a una mayor potencia inhibitoria, que puede perderse al fraccionarse.

Cuadro 12. Actividad antifúngica de las fracciones de *Dysphania ambrosioides*

| Fracción    | Concentración                        |            |          | Kruskal-Wallis                                             |
|-------------|--------------------------------------|------------|----------|------------------------------------------------------------|
|             | 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ |            |          |                                                            |
|             | $\bar{x}$                            | $\sigma^2$ | $\sigma$ |                                                            |
| Hexanico    | 81%A                                 | 14         | 3        | <div>Chi<sup>2</sup>= 33.54</div> <div>p= 0.00001927</div> |
| So. Hexano  | 77%A                                 | 18         | 4        |                                                            |
| FII         | 37%B                                 | 7          | 3        |                                                            |
| AcOEt       | 35%B                                 | 14         | 4        |                                                            |
| FIII        | 34%B                                 | 20         | 5        |                                                            |
| FI          | 29%B                                 | 43         | 7        |                                                            |
| FIV         | 17%C                                 | 33         | 6        |                                                            |
| So. Metanol | 17%C                                 | 40         | 6        |                                                            |



Control

+

Inhibición

-

Se presenta el promedio ( $\bar{x}$ ), la varianza ( $\sigma^2$ ) y la desviación estándar ( $\sigma$ ). Las comparaciones entre tratamientos se realizaron mediante el análisis de Kruskal-Wallis, seguidas de una prueba entre pares de Mann-Whitney al 95% de probabilidad. Las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos

## VIII. DISCUSIÓN

La actividad antifúngica de los tipos de extractos de *D. ambrosioides* sobre *F. oxysporum*, *C. lunata* y *C. gloeosporioides* evidencia la amplia quimiodiversidad que esta especie biosintetiza. Estudios previos señalan por lo menos la presencia de 315 metabolitos, entre ellos terpenos, alcaloides, fenoles y derivados de ácidos grasos (Kandsi *et al.*, 2021). En este estudio se exploraron extractos generales y selectivos, por lo que de alguna manera se abarcó la quimiodiversidad del epazote, en total, se identificaron 13 compuestos en el aceite esencial, 11 alcaloides, ocho compuestos en el extracto metanólico y 21 compuestos distribuidos en las ocho fracciones.

Los extractos de alcaloides y de aceites esenciales fueron los menos abundantes, ello es consistente con la literatura ya que se reportan rendimientos de 0.1-0.3% de este tipo de extractos (Jardim *et al.*, 2010; Sidi *et al.*, 2015).

En extractos generales como el metanólico pudo determinarse la presencia de varios tipos de metabolitos, este disolvente es considerado de mediana a alta polaridad, por lo que tiene la capacidad de extraer una mayor variedad de metabolitos, incluyendo algunas moléculas primarias como azúcares, así que aun cuando el extracto pueda poseer una mayor variedad y rendimiento puede contener metabolitos no activos (Askun *et al.*, 2009).

A su vez, el aceite esencial mostró varios terpenos evidenciados con el reactivo de vainillina, estudios anteriores han reportado hasta 92% de terpenos en este tipo de extracto, entre ellos el ascaridol (Almeida *et al.*, 2019; Kasrati *et al.*, 2024). Dado el bajo rendimiento en este estudio no se determinó su actividad antifúngica. Existen trabajos que sí lo han hecho, Almeida *et al.* (2019) evaluaron la actividad del aceite contra *Candida albicans*, el aceite presentó una mejor actividad ( $CI_{50} < 19 \mu\text{g/mL}$ ) que el antifúngico comercial fluconazol, ( $22 \mu\text{g/mL}$ ), además, el aceite logró incrementar sinérgicamente el efecto del fluconazol ( $CI_{50}$  de  $0.1 \mu\text{g/mL}$ ). Por otro lado, Marangon *et al.* (2008) evaluó el aceite esencial a  $3000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  sobre *F. oxysporum* y *C. gloeosporioides* inhibiéndolos totalmente. Cabe señalar que ambos trabajos se realizaron con material vegetal fresco logrando un rendimiento del 0.3-0.5%.

El extracto alcaloidal mostró ocho compuestos. Ibironke y Ajiboye (2007) identificaron un solo alcaloide (1-piperoilpiperidina) y recientemente Kandsi y

colaboradores (2022) aislaron nueve alcaloides, trisphaeridina, galantamina, crinina, desmetilmaritidina, anhidrolicorina, norgalantamina, N-formilnorgalantamina, peramina y ergovalina. Por lo que el extracto evaluado parece haber extraído buena parte de metabolitos secundarios nitrogenados.

En este estudio destaca la potencia inhibitoria sobre *C. lunata*, pues es el primer trabajo que reporta la actividad de *D. ambrosioides* contra este fitopatógeno (Ramírez-Mares y Hernández-Carlos, 2015; De la Cruz-Chacón y Santiago-Martínez, 2024).

También este estudio presenta el primer reporte de la actividad del extracto acuoso de *D. ambrosioides* frente a *C. lunata* y *C. gloeosporioides*, particularmente fue el más potente sobre *C. lunata*, inhibiendo su crecimiento micelial hasta 91% a 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Aunque no existen estudios específicos contra *C. lunata*, se han evaluado extractos de otras especies sobre este hongo. Por ejemplo, Cruz-Cerino (2022) evaluó la actividad del extracto acuoso de *Byrsonima bucidifolia* y *Morella cerifera* a 30000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (treinta veces más concentrado que el de *D. ambrosioides*) pero con una capacidad de inhibición casi cuatro veces menos potente que el del epazote.

Por otro lado, Moo-Koh *et al.* (2014) reportaron que el extracto acuoso de *Bonellia flammea* a la misma concentración que la de este estudio logró una inhibición el crecimiento micelial de 82%, semejante al obtenido en este trabajo (91%). Bedoya-Castañeda *et al.* (2021) evaluaron el extracto acuoso de *Allium sativum* sobre *C. lunata*, encontraron que a 50000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  no presentó actividad alguna, pero a 150000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  alcanzó un 94% de inhibición. Estas evidencias permiten relativizar la fuerte actividad del extracto acuoso de *D. ambrosioides*, pues a menor concentración provoca tasas inhibitorias altas.

Por otro lado, la actividad del extracto acuoso sobre *F. oxysporum* y *C. gloeosporioides* fueron bajos (de 0-7% y -3 a 46% respectivamente), el valor negativo observado en el crecimiento micelial señala que el extracto pareció estimular ligeramente el crecimiento en lugar de inhibirlo, respuestas similares han sido reportadas por Vásquez *et al.* (2014) y Garduño-Pizaña *et al.* (2010) sobre *F. oxysporum* e incluso observaron la estimulación del crecimiento; algo semejante se observó con *C. gloeosporioides*. Estos autores atribuyen el efecto a los requerimientos energéticos y nutricionales del hongo y proponen que el

extracto acuoso proporciona compuestos ricos en carbono y nitrógeno que el hongo es capaz de asimilar y aprovechar para su beneficio.

Vivanco *et al.* (2005) y Vásquez *et al.* (2014) atribuyen las respuestas diferenciales en la actividad inhibitoria a mecanismos de resistencia propia del fitopatógeno, los cuales le permiten aprovechar, evitar o detoxificar alguno de los compuestos de los extractos vegetales. No hay estudios sobre la composición de extracto acuoso de hojas, pero si de semillas, Annaz *et al.* (2023) identificaron ácidos fenólicos y flavonoides y Campos-Montiel *et al.* (2024) polifenoles y flavonoides. La actividad descrita de flavonoides de esta planta es su capacidad antioxidante y antihipertensiva (Mushagalusa *et al.*, 2021), pero no hay reportes de actividad antifúngica.

En cuanto al extracto alcaloidal, tampoco se encontraron trabajos de la actividad antifúngica sobre fitopatógenos, solo estudios de la actividad analgésica y tóxica (Shoaib *et al.*, 2016, Kandsi *et al.*, 2022). Sin embargo, es conocido que los alcaloides exhiben efectos antimicrobianos y antifúngicos (Balam-Díaz, 2024). Por ejemplo, Silva *et al.* (2022) determinaron la actividad antifúngica de los alcaloides licorina y la crinina aislados de *Crinum americanum*, presentes también en *D. ambrosioides*. Algo similar sucede con los alcaloides galantamina, crinina y desmetilmaritidina de la familia Amaryllidaceae (también presentes en el epazote) con actividad antifúngica contra *Candida* CIM de 512  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (Ločárek *et al.*, 2015). La posible presencia de estos compuestos en el extracto alcaloidal evaluado sobre los fitopatógenos explicaría la buena actividad inhibitoria encontrada (68-80%).

El extracto hexánico a 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  inhibió completamente el crecimiento de *C. gloeosporioides* (100%), de *C. lunata* en 82% y de *F. oxysporum* en 61%. Jardim y colaboradores (2010) evaluaron la actividad antifúngica de este extracto sobre *C. gloeosporioides* y *F. oxysporum* a 3000, 2000 y 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; a 3000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  *F. oxysporum* fue completamente inhibido y *C. gloeosporioides* hasta 94%. Sin embargo, a 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  la tasa inhibitoria sobre *C. gloeosporioides* y *F. oxysporum* fue de 70 y 30% respectivamente, lo que indica dos cosas, que el extracto en este estudio fue más potente y que concentraciones muy altas mejorarían la potencia antifúngica, en particular sobre *F. oxysporum*.

Por su parte, Garduño-Pizaña *et al.* (2010) obtuvieron inhibición completa de *F. oxysporum* a 5000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  y señalan que el extracto hexánico está

compuesto principalmente por terpenos, siendo el (Z)-ascaridol (54%), (E)-ascaridol (17.3%), y  $\alpha$ -terpineno (11.2%) los principales constituyentes. Estos hallazgos coinciden con los de MacDonald *et al.* (2004), quienes indicaron que estos compuestos son extraídos principalmente con hexano. Ello sugiere que los terpenos pudieran ser los principios activos del extracto hexánico.

El extracto metanólico fue el único que inhibió el crecimiento de los tres fitopatógenos en la misma proporción (81%-82%), esto fue confirmado a través del PCA. Cabrera-Calderón y colaboradores en (2016) evaluaron el efecto antifúngico del extracto sobre *C. gloeosporioides* y *F. oxysporum* con resultados similares, a  $1000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  inhibió 85% del crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* y 80% a *F. oxysporum*, mientras que a  $3000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  se inhibió completamente a ambos fitopatógenos. Sin embargo, en el trabajo de Garduño-Pizaña *et al.* (2010) el extracto metanólico a  $5000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  apenas inhibió un 29% del crecimiento micelial de *F. oxysporum*. Estas diferencias podrían deberse al método de extracción, ya que Garduño-Pizaña *et al.* (2010) realizaron una extracción seriada, reutilizando el mismo material vegetal, es decir fueron eliminados previamente metabolitos pocos polares con hexano. En contraste, en este estudio y en el de Cabrera-Calderón *et al.* (2016) se utilizó material vegetal exclusivo para cada extracto y por ende pudieron arrastrarse compuestos también no polares, que como ya se comentó, son potentes antifúngicos.

Aunado a ello, Cabrera-Calderón *et al.* (2010) reportaron compuestos fenólicos, mientras que Garduño-Pizaña *et al.* (2010) indicaron un bajo porcentaje de compuestos fenólicos. Recientemente Melo *et al.* (2023) detectaron la presencia de fenoles, flavonoides, saponinas y alcaloides en los extractos metanólicos y Zohra *et al.* (2018) identificaron flavonoides como rutina, miricetina y quercetina. Es decir, el extracto metanólico es altamente complejo en su composición química.

Otros estudios reafirman la actividad antifúngica de *D. ambrosioides*, Javaid y Amin (2009) reportaron que el extracto hexánico y metanólico de hojas inhibieron el crecimiento micelial del fitopatógeno *Macrophomina phaseolina* con tasas de 60-70% y 76-86% respectivamente.

La diversidad de metabolitos antifúngicos del epazote, también fue encontrada por Garduño-Pizaña *et al.* (2010) quienes detectaron que el extracto metanólico presentó mayor actividad en comparación con el extracto acuoso y

hexánico aunque solo con *F. oxysporum*; esta actividad diferencial debe estar relacionada con el tipo de compuestos y el disolvente utilizado en el proceso de extracción (Askun *et al.*, 2009), ya que el metanol tiene una mayor capacidad de extracción de moléculas orgánicas en comparación con el agua.

En el presente trabajo, se exploró la composición química del extracto metanólico con cromatografía en capa fina, a través del revelado químico, se visualizaron la presencia de terpenoides, fenoles y alcaloides. Jesús *et al.* (2018) determinaron la presencia de alcaloides, taninos y flavonoides; al igual que Gutiérrez (2017) quien reportó compuestos fenólicos, alcaloides, aceites volátiles y en menor proporción triterpenos y flavonoides. Kandsi *et al.* (2021) además de lo anterior señalaron la presencia de aminos, ácido siríngico, quercetina, hesperetina y luteolina. Esta diversidad de compuestos presentes en el extracto metanólico de *D. ambrosioides* explicaría la buena actividad presentada sobre los tres fitopatógenos.

Las fracciones del extracto metanólico de *D. ambrosioides* presentaron baja actividad antifúngica, excepto las fracciones hexánicas. Fue evidente que el extracto crudo metanólico del cual derivaron las fracciones presentó una mejor actividad inhibitoria. Esto coincide con Kandsi y colaboradores (2021) quienes reportaron un mayor efecto antiespasmódico en el extracto hidroetanólico crudo que en las fracciones de acetato de etilo y cloroformo.

Este comportamiento puede atribuirse a posibles interacciones sinérgicas entre los compuestos presentes en el extracto crudo, las cuales pueden potenciar su actividad biológica, la separación en fracciones puede reducir estas interacciones y en algunos casos, dar lugar a efectos antagónicos que disminuyen la eficacia del extracto. Bano *et al.* (2022) y Boutkhli evaluaron el efecto antimicrobiano de diversos extractos de *D. ambrosioides* y destacaron que la actividad antimicrobiana de los extractos no solo depende de sus componentes mayoritarios, sino que los compuestos minoritarios también pueden desempeñar un papel significativo en su eficacia.

Por su parte, Marangon *et al.* (2008) señalaron que el aceite esencial de *D. ambrosioides* está compuesto principalmente por ascaridol. Sin embargo, la fracción activa presentó una alta proporción de *p*-cimeno sin un aumento en la fungitoxicidad, lo que sugiere que este compuesto puede no estar directamente involucrado en la actividad antifúngica. Este hallazgo refuerza la hipótesis de que

la fungitoxicidad total del extracto podría depender no solo de los compuestos mayoritarios, sino también de la interacción con otros componentes en menor proporción, los cuales pueden ejercer efectos aditivos o sinérgicos.

La buena actividad de las fracciones hexánicas puede atribuirse a la capacidad del disolvente de extraer compuestos monoterpénicos, los cuales han sido considerados los principales responsables de la actividad biológica de esta planta (Melo *et al.*, 2023). Entre ellos, la pulegona, el ascaridol y el geraniol tigolato (Garduño-Pizaña *et al.*, 2010). Aunque es evidente la presencia de otros compuestos antifúngicos como alcaloides en extractos metanólicos.

Por otro lado Jesús *et al.* (2017) mencionan que diversos estudios han reportado el potencial antimicrobiano de los compuestos fenólicos como la rutina, la quercetina y la crisina presentes en el extracto metanólico, a través de la permeación y desestabilización de la membrana bacteriana; este efecto genera alteraciones en la fuerza motriz del protón, el flujo de electrones, la coagulación y la fuga del contenido celular causando un efecto bactericida (Saritha *et al.*, 2015; Ahmed *et al.*, 2016 y Penido *et al.*, 2016). Por otra parte, Cabrera-Calderón *et al.* (2016) menciona que los compuestos fenólicos pueden reducir la velocidad de crecimiento del patógeno al afectar los sitios activos de las enzimas y el metabolismo celular. Kandsi *et al.* (2021) mencionan que el efecto inhibitorio del extracto etanólico de *D. ambrosioides* se debe a la presencia de compuestos fenólicos, los cuales actúan mediante diversos mecanismos, entre ellos la alteración de la membrana celular, la interferencia con la síntesis de ergosterol, el daño a la pared celular y la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS); además, los polifenoles pueden provocar daño mitocondrial en los hongos, principalmente como consecuencia del estrés oxidativo inducido por las ROS (Davidova *et al.*, 2024), debido a la generación de superóxido, el peróxido, el alcóxido y el hidróxido, los cuales contribuyen a desestabilizar las estructuras celulares del hongo y, por ende, a su inhibición.



## IX. CONCLUSIONES

- *Dysphania ambrosioides* tiene la capacidad de producir metabolitos secundarios antifúngicos que inhiben el desarrollo de fitopatógenos. Estas moléculas pueden ser extraídas con extracciones selectivas y generales.
- Tanto extractos generales como extractos selectivos de *D. ambrosioides* tienen moléculas que inhiben el crecimiento micelial de *Curvularia lunata*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Fusarium oxysprum*.
- Aunque con diferencia en la potencia inhibitoria sobre los fitopatógenos, el extracto acuoso tiene mejor actividad sobre *C. lunata* (91% de inhibición), el hexánico es más potente sobre *C. gloeosporioides* (100%) y el extracto de alcaloides es más activo a *F. oxysporum* y el extracto metanólico fue el único extracto que inhibió el crecimiento micelial de los tres fitopatógenos en la misma proporción (81-82%).
- El extracto metanólico con la potencia más homogéneo contiene una quimioidiversidad amplia que incluyen terpenos, fenoles y alcaloides, se necesitan más estudios para la identificación de los compuestos activos.
- Aunque las fracciones del extracto metanólico tienen actividad inhibitoria significativa sobre *C. lunata*, el extracto crudo, del cual se derivaron las fracciones es más potente, lo que señala la posible existencia de efectos sinérgicos en la mezcla del extracto completo.
- Este es el primer reporte de la actividad antifúngica de extractos de *D. ambrosioides* sobre *C. lunata*, un fitopatógeno de relevancia en el cultivo del maíz y otros cereales
- Los resultados fortalecen el uso tradicional de *D. ambrosioides*, al demostrar su actividad antifúngica sobre fitopatógenos. Además, muestran su potencial biotecnológico como fuente de compuestos con aplicación agrícola.
- Los hallazgos motivan la continuidad de los estudios para el aislamiento y caracterización de compuestos bioactivos de *D. ambrosioides*

## X. RECOMENDACIONES

- Realizar cromatografía en capa fina para el extracto acuoso y hexánico con el fin de identificar su composición química y posibles compuestos bioactivos.
- Profundizar en el estudio fitoquímico del extracto metanólico y sus fracciones para identificar y caracterizar los compuestos responsables de la actividad antifúngica.
- Ampliar los ensayos de actividad antifúngica de las fracciones obtenidas, evaluándolas sobre *F. oxysporum* y *C. gloeosporioides*, incluso sobre otros fitopatógenos.
- Evaluar la actividad antifúngica de los extractos y fracciones en modelos biológicos *in vivo*, con la finalidad de determinar su efectividad en condiciones más cercanas a la aplicación agrícola.

## XI. REFERENCIAS DOCUMENTALES

- Albarracín, H. 2012. Plantas medicinales en el tratamiento de la enfermedad de Chagas. Propuesta de intervención presentada para optar al título de Especialista en Interculturalidad y Salud. Universidad Mayor de San Andrés. Cochabamba, Bolivia.
- Ahmed, S. I., Hayat, M. Q., Tahir, M., Mansoor, Q., Keck, M. I. K. y Bates, R. 2016. Pharmacologically active flavonoids from the anticancer, antioxidant and antimicrobial extracts of *Cassia angustifolia* Vahl. *BMC Complementary Alternative Medicine*. 16 (460): 1-9.
- Almeida Bezerra J. W., Rodríguez, A., de Freitas, M. A., Rodríguez, F. C., de Souza, M. A., da Silva, A. R. P., Dos Santos, A. T. L., Vieiralses, K., Melo-Coutinho, H. D., de Lima Silva J. R. y. Bezerra M. F. 2019. Chemical composition, antimicrobial, modulator and antioxidant activity of essential oil of *Dysphania ambrosioides* L. Mosyakin & Clemants. *Comparative Immunology Microbiology Infectious Diseases*. 65: 58-64.
- Almadiy, A. A. 2020. Chemical profile, mosquitocidal, and biochemical effects of essential oil and major components of *Dysphania ambrosioides* against *Culex quinquefasciatus* Say. *Environmental Science and Pollution Reserch*. 27 (33): 41568-41576.
- Althobaiti, F. 2020. Evaluation of the *Chenopodium ambrosioides* leaf extract from Taif region, Saudi Arabia on antimicroorganisms and the assessment of its genetic diversity using the RAMP Assay. *Biomedical and Pharmacology Journal*. 13 (2): 725-736.
- Álvarez, E., Ospina, C. A., Mejía, J. F. y Llano, G. A. 2004. Caracterización morfológica, patogénica y genética del agente causal de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en guanabana (*Annona muricata*) en el valle de Cauca. *Fitopatología Colombiana*. 28 (1): 1-8.
- Álvarez-Chimal, R., García-Pérez, V. I., Álvarez-Pérez, M. A. y Arenas-Alatorre, J. A. 2021. Green synthesis of ZnO nanoparticles using a *Dysphania ambrosioides* extract. Structural characterization and antibacterial properties. *Materials Science and Engineering*. 1(18): 11-23.
- Álvarez-Chimal, R., García-Pérez, V. I., Álvarez-Pérez, M. A., Tavera-Hernández, R., Reyes-Carmona, L., Martínez-Hernández, M. y Arenas-Alatorre, J. A.

2022. Influence of the particle size on the antibacterial activity of green synthesized zinc oxide nanoparticles using *Dysphania ambrosioides* extract, supported by molecular docking analysis. *Arabian Journal of Chemistry*. 15 (6): 1-19.
- Amini, J. y Sidovich. D. F. 2010. The effects of fungicides on *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici associated with fusarium of tomato. *Journal of Plant Protection Research*. 50 (2): 172-178.
- Annaz, H., Abdelaal, S., Mandour, D. A., Mahdi, I., Mahmoud, M. F. y Sobeh, M. 2023. Mexican tea (*Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin y Clements) seeds attenuate tourniquet-induced hind limb ischemia-reperfusion injury by modulating ROS and NLRP3 inflammasome pathways. *Journal of Functional Foods*. 108. ISSN 1756-4646
- Arena, J. S., Omarini, A. B., Zunino, M. P., Peschiutta, M. L., Defago, M. T. y Zygadlo, J. A. 2018. Essential oils from *Dysphania ambrosioides* and *Tagetes minuta* enhance the toxicity of a conventional insecticide against *Alphitobius diaperinus*. *Industrial Crops and Products*. 1(22): 190-194.
- Aros, J., Silva-Aguayo, G., Fischer, S., Figueroa, I., Rodríguez- Maciel, J. C., Lagunes-Tejeda, A., Castañeda-Ramírez, G. S. y Aguilar-Marcelino, L. 2019. Actividad insecticida del aceite esencial del paico *Chenopodium ambrosioides* L. Sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*. 35 (3): 282-292.
- Assaidi, A., Dib, I., Tits, M., Angenot, L., Bellahcen, S., Bouanani, N. y Ziyyat, A. 2019. *Chenopodium ambrosioides* induces an endothelium-dependent relaxation of rat isolated aorta. *Journal of Integrative Medicine*. 17(2): 115-124.
- Askun, T., Tumen, G., Satil, F. y Ates, M. 2009. *In vitro* activity of methanol extracts of plants used as spices against *Mycobacterium tuberculosis* and other bacteria. *Chemistry Food*. 116: 289-294.
- Avasthi S. 2015. Occurrence of leaf spot diseases on *Aloe vera* L. Burm.f. caused by *Curvularia* species from Madhya Pradesh, India. *Biodiversitas Journal of Biological Biodiversity*. 16 (1): 79-83.
- Azeem, M., Zaman, T., Abbasi, A. M., Abid, M., Mozūratīs, R., Alwahibi, M. S. y Elshikh, M. S. 2022. Pesticidal potential of some wild plant essential oils

- against grain pests *Tribolium castaneum* Herbst, 1797 and *Aspergillus flavus* Link, 1809. *Arabian Journal of Chemistry*. 15 (1): 103482.
- Balam-Díaz, J. S. 2024. Los alcaloides: escudos de las plantas. Desde el Herbario CICY. 16: 101-104.
- Bano, S., Waleed Baig, M., Okla, M. K., Saniya Zahra, S., Akhtar, N., Al-Qahtani, W. H., AbdElgawad, H. y Ihsan-UI, H. 2022. Antioxidant, Antimicrobial, and Protein Kinase Inhibition Profiling of *C. ambrosioides* Seed Extracts along with RP-HPL. *Journal of Chemistry*. ID 6486717.
- Barrera-Necha, L. L.; Bautista-Baños, S. 2008. Actividad antifúngica de polvos, extractos y fracciones de *Cestrum nocturnum* L. sobre el crecimiento micelial de *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb. Fr.) Vuill. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 26(001): 27-31.
- Borges, A. R., De Albuquerque Aires, J. R., Higino, T. M. M., De Medeiros, G. F. 2012. Trypanocidal and cytotoxic activities of essential oils from medicinal plants of Northeast of Brazil. *Experimental Parasitology*. 132 (2): 123-128.
- Bedoya-Castañeda, D. C., Piniciroli, M., Bezus, R. y Sisterna, M. 2021. Alternativas de biocontrol antifungico *in vitro* para el manchado de grano / semilla en arroz. *Brazilian Journal of Development*. 7(6): 55457-55466.
- Boutkhil, S., El Idrissi, M., Chakir, S., Derraz, M., Amechrouq, A., Chbicheb, A. y El Badaoui, K. 2011. Antibacterial and antifungal activity of extracts and essential oils of *Seriphidium herba-alba* (Asso) Soják and their combination effects with the essential oils of *Dysphania ambrosioides* (L) Mosyakin & Clemants. *Acta Botanica Gallica*, 158 (3): 425-433.
- Berruzo, L. A. 2018. Caracterización morfológica, biológica y molecular de los complejos *Fusarium oxysporum* *Fusarium solani* asociados al cultivo de *Nicotiana tabacum* L. en el Noroeste Argentino. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Salta. Salta, Argentina.
- Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana. 2009. Epazote, *Teloxys ambrosioides* L. Weber-Chenopodiaceae. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=epazote>. Consultado el 16 de abril de 2024.
- Blanckaert, I., Paredes-Flores, M., Espinosa-García, F.J. 2012. Ethnobotanical, morphological, phytochemical and molecular evidence for the incipient

- domestication of Epazote *Chenopodium ambrosioides* L.: Chenopodiaceae in a semi-arid region of Mexico. 59: 557–573.
- Brahim, M. A. S., Fadli, M., Hassani, L., Boulay, B. Markouk, M. Bekkouche, K. y Larh-Sini, M. 2015. *Chenopodium ambrosioides* var. *ambrosioides* used in Moroccan traditional medicine can enhance the antimicrobial activity of conventional antibiotics. *Industrial Crops and products*. 7(1): 37-43.
- Britos, M., Torres, E., Gayozo, E. y Ferreira, M. 2018. Actividad larvica del extracto etanólico de *Dysphania ambrosioides* L. Ka'are sobre larvas de *Aedes aegypti*. *Steviana*. 10 (2): 32–40.
- Cabrera-Calderón, S., Rivera-Rebollar, R., Lira-Vargas, A., Trejo-Márquez, M. y Pascual-Bustamante, S. 2016. Efecto antifúngico del extracto de epazote *Chenopodium ambrosioides* sobre hongos postcosecha. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 1 (2): 236-241.
- Calado, G. P., Lopes, A. J., Costa, L. M., Lima, F. D. C., Silva, L. A., Pereira, W. S., Amaral, F. M., Garcia, J. B., Cartágenes, S. y Nascimento, F. R. 2015. *Chenopodium ambrosioides* L. Reduces Synovial Inflammation and Pain in Experimental Osteoarthritis. *PLoS One*. 10 (11): e0141886.
- Calzada, F., Yépez-Mulia, L. y Aguilar, A. 2006. *In vitro* susceptibility of *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* to plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. *Journal of ethnopharmacology*, 108 (3): 367-370.
- Calzada, F., Yépez-Mulia, L. y Tapia-Contreras, A. 2007. Effect of Mexican medicinal plant used to treat trichomoniasis on *Trichomonas vaginalis* trophozoites. *Journal of ethnopharmacology*. 113 (2): 248-251.
- Campos-Montiel, R. G., Castro-Parra, L., Gómez de Anda, F. R. y Zepada-Velázquez, A. P. 2024. Hallazgos histopatológicos en nematodos Anisakidae, expuestos a extractos acuosos vegetales con capacidad nematocida *in vitro*. *Revista MVZ Córdoba*. 29(3): 1-11.
- Cardona-Piedrahíta, L.F. y Castaño-Zapata, J. 2019. Comparación de métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f. *sp.lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen, causante del marchitamiento vascular del tomate. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales*. 43(167): 227-233.

- Carrillo-Fasio, J. A., Garcí-Estrada R. S., Muy-Rangel, M. D., Sañudo-Barajas, A., Márquez-Zequera, I., Allende-Molar, R., de la Garza-Ruiz, Z., Patiño-Vera, M., y Galindo-Fentanes, E. 2005. Control biológico de antracnosis [*Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Penz. y Sacc.] y su efecto en la calidad poscosecha del mango *Mangifera indica* L. en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 23 (1): 24-32.
- Castañeda, R. Cáceres, A., Cruz, S. M., Aceituno, J. A., Marroquín, E. S., Barrios, A. C., Strangman, W. K. y Williamson, R. T. 2023. Nephroprotective plant species used in traditional Mayan Medicine for renal-associated diseases. *Journal of Ethnopharmacology*. ISSN 0378-8741.
- Chambi, D. L. y Pacheco, K. P. 2017. Evaluación del efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto y el aceite esencial de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" en cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa* y *Cándida albicans*. Tesis de licenciatura. Universidad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas. Universidad Católica de Santa María. Arequipa, Perú.
- Chekem M. S, Lungu P. K., Tamokou, J. D., Kuate J. R., Tane, P., Vilarem, G. y Cerny, M. 2010. Antifungal properties of *Chenopodium ambrosioides* essential oil against *Candida* species. *Pharmaceuticals Basel*. 1 (39): 2900-2909.
- Chong, E. A. 2020. Alcaloides antifúngicos de *Sapranthus campechianus* (Kunth) Standl.: Un recurso natural de la biodiversidad chiapaneca. (Tesis de maestría) Universidad de Ciencia y Artes de Chiapas. Tuxtla Gutierrez, Chiapas.
- Cubides, J. S. y Sarmiento, F. D. 2022. Evaluación de formulaciones a base de *Chenopodium ambrosioides* o sus metabolitos secundarios en el modelo experimental de leishmaniasis cutánea. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia.
- Cruz-Cerino, P. 2022. Efecto antifúngico de plantas nativas de la Península de Yucatán en patógenos del chile habanero. Tesis de Doctorado. Posgrado en Ciencias Biológicas. Centro de investigación Científica de Yucatan, A. C. Mérida, Yucatán, México.

- Cysne D. N., Fortes, T. S., Reis, A.S., De Paulo-Ribeiro, A., Dos Santos-Ferreira, F. M., Doamaral, R. N., Guerre, C. R., Marinho, R. y Nicolete F.R., 2016. Antimalarial potential of leaves of *Chenopodium ambrosioides* L. *Parasitology Research*. 115 (11): 4327-4334.
- Da Silva, J. K., Betmin, C. B., Batista, A. G. y Maróstica, M. 2014. Effects of passion fruit (*Passiflora edulis*) byproduct intake in antioxidant status of Wistar rats tissues. *LWT - Food Science and Technology*. 59(2): 1213-1219.
- Dagni, A., Hegheş, S. C., Suharoschi, R., Pop, O. L., Fodor, A., Vulturar, R., Cozma, A., Aniq-filali, O., Vodnar, D. C., Soukri, A y El Khalfi, B. 2022. Essential oils from *Dysphania* genus: Traditional uses, chemical composition, toxicology, and health benefits. *Frontiers in Pharmacology*. 13: 1024274.
- Davidova, S., Galabov, A. S., & Satchanska, G. 2024. Antibacterial, Antifungal, Antiviral Activity, and Mechanisms of Action of Plant Polyphenols. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12122502>
- De Lacerda Neto, L.J., Ramos, A. G. B., Da Silva, R. E. R., Pereira-De-Morais, L., Silva, F. M., Da Costa, R.H.S., Rodrigues Dantas, L. B., Da Costa, J. G. M., Coutinho, H. D. M. y Kowalska, G. 2021. Myorelaxant Effect of the *Dysphania ambrosioides* Essential Oil on *Susscrofa domesticus* coronary artery and Its toxicity in the *Drosophila melanogaster* Model. *Molecules*. 26 (7): 1-15.
- De Moraes Oliveira-Tintino, C. D., Tintino, S. R., Limaverde, P. W., Figueredo, F. G., Campina, F. F., Da Cunha, F. A. y Da Silva, T. G. 2018. Inhibition of the essential oil from *Chenopodium ambrosioides* L. and  $\alpha$ -terpinene on the NorA efflux-pump of *Staphylococcus aureus*. *Food chemistry*. 262: 72-77.
- Deepu, A., Dongmei, L., Richard, C. y Stephen M. P. 2013. Identification of *Curvularia lunata* by polymerase chain reaction in a case of fungal endophthalmitis. *Medical Mycology Case Reports*. 2: 137-140.
- Degenhardt, R. T., Farias, I. V., Grassi, L. T., Franchi, G. C, Nowill, A. E., Bittencourt, C. M. D. S y Malheiros, A. 2016. Characterization and evaluation of the cytotoxic potential of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 26: 56-61.



- Dougnon, G., y Ito, M. 2020. Role of ascaridole and p-cymene in the sleep-promoting effects of *Dysphania ambrosioides* essential oil via the GABAergic system in a ddY mouse inhalation model. *Journal of Natural Products*. 84 (1): 91-100.
- Eguale, T. y Giday, M. 2009. *In vitro* anthelmintic activity of three medicinal plants against *Haemonchus contortus*. *International Journal of Green Pharmacy*. 3 (1): 29-34.
- Estrada, G, y Sandoval, I. 2004. Patogenicidad de especies de *Curvularia* en arroz. *Fitosanidad*. 8 (4): 23-26.
- Esparza Abad, M. A. 2019. *Tolerancia de cultivares de arroz (Oryza sativa L.), al complejo del manchado de grano en la época lluviosa en la zona de Babahoyo*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Técnica de Babahoyo. Babahoyo, Ecuador.
- Esse, H. P., Reuber, T. L. y Van der Does, D. 2019. Genetic modification to improve disease resistance in crops. *New Phytologist*
- Ez-Zriouli R., Yacoubi, E., Imtara, H., Mesfioui, H., Elhessni, A., Al-Kamaly, A., Zuhair-Alshawwa, O., Nasr, S., Benziane-Ouaritini, F. A., y Rochdi, A. 2023. Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities and Acute Toxicity of *Cedrus atlantica*, *Chenopodium ambrosioides* and *Eucalyptus camaldulensis* Essential Oils. *Molecules*. 28 (7): 1-16.
- Flores, K. M. y E. Vasquez. 2021. Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles del extracto metanólico de las hojas de *Dysphania ambrosioides* "PAICO". Tesis de Licenciatura. Facultad de Salud. Universidad Catolica los Angeles Chimbote. Chimbote, Perú.
- Figuerola-Merma, A., Chirinos, R., García-Rios, D., Pedreschi, R., Aguilar-Galvez, A., y Campos, D. 2023. Bioactive compounds characterization of Peruvian *Dysphania ambrosioides* L. Mosyakin & Clematis leaves by GC/MS and UPLC–ESI–Q/TOF–MSn techniques. *International Journal of Food Science & Technology*. 58 (3): 1219-1229.
- Fraenza, L. B., Druetta, S., Raga, A., Aguada, L. L., Zalazar, V. y Farfalli, L. 2015. Onicomycosis por *Curvularia lunata* var. *aeria*: presentación de un caso clínico. *Revista Argentina de Microbiología*. 47 (1): 54-56.

- Gadano, A. B., Gurni, A.A., Carballo, M.A., 2006. Argentine folk medicine: Genotoxic effects of Chenopodiaceae family. *J. Ethnopharmacol.*, 103(3):246-251.
- Garcés, E., Orozco, M., Rocío, G. y Valencia, H. 2001. *Fusarium oxysporum*. El hongo que nos falta conocer. *Acta Biológica Colombiana*. 6 (1): 7-20.
- García-Aroca, T., Doyle, V., Singh, R., Price, P. y Collins, H. 2018. First report of *Curvularia* Leaf Spot of Corn, Caused by *Curvularia lunata*, in the United States. *Plant Health Progress*. 19: 140-142.
- García-Mateos, M. R., Acosta-Ramos, M., Rodríguez-Pérez, E., Vásquez-Sánchez, J. y Hernández-Ramos, L. 2021. Extractos vegetales para el control de *Colletotrichum gloeosporioides in vitro*, en periodo de floración y poscosecha del fruto de Carica papaya. *Polibotánica*. 51: 213-228.
- Garduño-Pizaña, C., Barrera-Necha, L. L. y Ríos-Gómez, M. Y. 2010. Evaluation of the fungicidal activity of leaves powders and extracts of fifteen Mexican plants against *Fusarium oxysporum* f.sp. gladioli (Massey) Snyder and Hansen. *Plant Pathology Journal*. 9 (3): 103-111.
- Gispert-Cruells, M. González-Esquinca, A. R., Rodríguez-González, H., Luna-Cazares L. y De La Cruz Chacón, I. 2004. La montaña de humo tesoros Zoques de Chiapas. Universidad Nacional Autónoma de México. P.p. 44.
- Gómez-Castellanos, J. R. 2008. Revisión a sus características morfológicas, actividad farmacológica, y biogénesis de su principal principio activo, ascaridol. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 7 (1): 3-9.
- González, I., Arias, Y. y Pereira, B. 2012. Aspectos generales de la interacción *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*-Tomate. *Revista Protección Vegetal*. 27(1): 1-7.
- Gutiérrez, C. C. 2017. Evaluación de la actividad antifúngica de extractos etanólicos de Paico *Chenopodium ambrosioides*, Khoa *Clinopodium bolivianum* y Ruda *Rut graveolens* frente a *Moniliophthora spp* aislada a partir de muestras de cacao con moniliasis. Tesis de Licenciatura. Facultad de ciencias farmacéuticas y bioquímicas. Universidad Mayor De San Andres. La Paz. Bolivia.
- Guyton, W. L. (1946). Poisoning due to oil of *Chenopodium*. *Journal of the American Medical Association*. 132 (6): 330–331.

- Haris, A., Azeem, M., Abbas, M. G., Mumtaz, M., Mozūratīs, R. y Binyameen, M. 2023. Prolonged Repellent Activity of Plant Essential Oils against Dengue Vector, *Aedes aegypti*. *Molecules*. 28 (3): 1351.
- Hernández, J., Hernández, E. M., López, E. y Álvarez, J. 2022. Aislamiento e identificación del fitopatógeno causal de viruela o “negrilla” en *Agave salmiana* de municipios del estado de Hidalgo, México. *Scientia Fungorum*. 53: e1425.
- Hou, S.Q., Li, Y. H., Huang, X. Z., Li, R., Lu, H., Tian, K., Ruan, R. S. y Li, Y. K. 2017. Polyol monoterpenes isolated from *Chenopodium ambrosioides*. *Natural Product Research*. 31 (21): 2467-2472.
- Huang, J., Hao, J., Nie, J., Qian, R., Li, H., Zhao, J. E. y Wang, Y. 2023. Possible Mechanism of *Dysphania ambrosioides* L. Mosyakin & Clemants seed extract suppresses the migration and invasion of human hepatocellular carcinoma Cells SMMC-7721. *Chemistry y Biodiversity*. 20 (3): e202200768.
- Ignacchiti, M. D. C., De Queiroz, V. T., Martins, I. V. F., Crico, K. B., Gonçalves, L. V., Fazolo, M. B. y Costa, A. V. 2022. Chemical composition and effect of *Dysphania ambrosioides* L. mosyakin & clemants essential oil on *Biomphalaria tenagophila* D'Orbigny, 1835. *Natural Product Research*. 36 (10): 2595-2598.
- Ibironnke, G.F. y Ajiboye, K. I. 2007. Studies on the anti-inflammatory and analgesic properties of *Chenopodium ambrosioides* leaf extract in rats. *International Journal of Pharmacology*. 3 (1): 11-115.
- Index Fungorum. (s.f). *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sac. [UUID: 1CB1842E-36B9-11D5-9548-00D0592D548C]. Index Fungorum. <https://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=158410>.
- Index Fungorum. (s.f). *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn, *Bull.* [UUID:1CB185D6-36B9-11D5-9548-00D0592D548C]. Index Fungorum. <https://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=269889>.
- Index Fungorum. (s.f). *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder & H.N. Hansen.[UUID:FEB951B4-2B74-40B6-B001-BCB524D35F19].

<https://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=346132>.

- Jaramillo, B. E., Duarte, E. y Delgado, W. 2012. Bioactividad del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* colombiano. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 17 (1): 54-64.
- Jardim, C. M., Jham, G. N., Dhingra, O. D. y Freire, M. M. 2008. Composition and antifungal activity of the essential oil of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. *Journal of Chemical Ecology*. 34 (9):1213-1218.
- Jardim, C. M., Jham, G. N., Dhingra, O. D. y Freire, M. M. 2010. Chemical composition and antifungal activity of the hexane extract of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 21 (10): 1814-1818.
- Javaid, A. y Amin, M. 2009. Antifungal activity of methanol and n-hexane extracts of three *Chenopodium* species against *Macrophomina phaseolina*. *Natural Product Research*. 23 (12):1120-1127.
- Jia-liang, W., Dan-wei, M., Ya-nan, W., Hong, Z., Bing, H., Qun, L. y Jing, F. 2013. Cytotoxicity of essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L against human breast cancer MCF-7 cells. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 12 (6): 929-933.
- Jesus, R. S., Piana, M., Freitas, R. B., Brum, T. F., Alves, C. F. S., Belke, B. V., Mossmann, N. J., Cruz, R. C., Santos, R. C. V., Dalmolin, T. V., Bianchini, B. V., Campos, M. M. A. y Bauermann, L. F. 2018. *In vitro* antimicrobial and antimycobacterial activity and HPLC-DAD screening of phenolics from *Chenopodium ambrosioides* L. *Brazilian journal of microbiology*. 49 (2): 296-302.
- Kandsi, F., Conte, R., Marghich, M., Lafdil, F. Z., Alajmi, M. F., Bouhrim, M., Mechchate, H., Hano, C., Aziz, M. y Gseyra, N. 2021. Phytochemical analysis, antispasmodic, myorelaxant, and antioxidant effect of *Dysphania ambrosioides* L. Mosyakin and clematis flower hydroethanolic extracts and its chloroform and ethyl acetate fractions. *Molecules*. 26 (23): 2-14.
- Kandsi, F., Elbouzidi, A., Lafdil, F. Z., Meskali, N., Azghar, A., Addi, M., Hano, C., Maleb, A. y Gseyra, N. 2022. Antibacterial and Antioxidant Activity of

- Dysphania ambrosioides* L. Mosyakin and Clemants Essential Oils: Experimental and Computational Approaches. *Antibiotics*. 11 (4): 482.
- Kandsi, F., Lafdil, F. Z., Elbouzidi, A., Bouknana, S., Miry, A., Addi, M., Conte, R., Hano, C. y Gseyra, N. 2022. Evaluation of Acute and Subacute Toxicity and LC-MS/MS Compositional Alkaloid Determination of the Hydroethanolic Extract of *Dysphania ambrosioides* L. Mosyakin and Clemants Flowers. *Toxins* 14 (7): 475.
- Kasrati, A., Sakar, E.H., Aljaiyash, A., Hirri, A., Tamegart, L. Abbad, I. y Alaoui Jamali, C. 2024. Chemical profiling, insecticidal, and phytotoxic effect of essential oils from leaves and inflorescence of Moroccan *Chenopodium ambrosioides* L. *Plants*. 13 (4): 2-11.
- Kavallieratos, N.G., Boukouvala, M. C., Ntalli, N., Kourti, A., Karagianni, E. S., Nika, E. P. y Benelli, G. 2020. Effectiveness of eight essential oils against two key stored product beetles, *Prostephanus truncatus* Horn and *Trogoderma granarium* Everts. *Food and Chemical Toxicology*, 139, 111255.
- Kiuchi F., Itano, Y., Uchiyama, N., Honda, G., Tsubouchi, A., Nakajima-Shimada, J. y Aoki, T. 2002. Monoterpene hydroperoxides with trypanocidal activity from *Chenopodium ambrosioides*. *Journal of Natural Products*. 65 (4): 509-512.
- Kumar, R., Mishra, A. K., Dubey, N. K. y Tripathi, Y. B. 2007. Evaluation of *Chenopodium ambrosioides* oil as a potential source of antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity. *International Journal of Food Microbiology*. 115 (2): 159-164.
- Kute, V. 2014. Physical, Hematological, and Histopathological Signs of Toxicity Induced by African Medicinal Plants. *Toxicological Survey of African Medicinal Plants*. 1 (22): 635-657.
- Koffi, K., Guyon, C., Christine, R., Jean-Pierre, C., Komla, S. y Nicod, L. 2009. Chemical Composition and Cytotoxic Activity of *Chenopodium ambrosioides* L. Essential Oil from Togo. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*. 44 (4): 435-440.
- Kola-Mustapha, A.T., Yohanna, K. A., Ghazali, Y. O. y Ayotunde, H. T. 2020. Design, formulation and evaluation of *Chasmanthera dependens* Hochst

- and *Chenopodium ambrosioides* Linn based gel for its analgesic and anti-inflammatory activities. *Heliyon*. 6 (9): e04894.
- Organización Panamericana de la Salud OPS. 2022. Enfermedad de Chagas. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/enfermedad-chagas>. Consultado el 28 de febrero del 2024.
- Landero-Valenzuela, N., Lara-Viveros, F. M., Andrade-Hoyos, P., Aguilar-Pérez, L. A., Aguado, G. J. 2016. Alternativas para el control de *Colletotrichum* spp. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 7 (5): 1189-1198.
- Li, J., Yang, X., Yu, J., Li, Z., Deng, Q., Cao, Y., *et al.* (2020). Chemical composition of the volatile oil of *Chenopodium ambrosioides* L. from Mianyang in Sichuan Province of China and its sub-chronic toxicity in mice. *Trop. J. Pharm. Res.* 19 (9), 1985–1991. doi:10.4314/tjpr.v19i9.26
- Ločárek, M., Nováková, J., Klouček, P., Hošťálková, A., Kokoška, L. Gábrlová, L., Šafratová, M., Opletal, L. y Cahlíková, L. 2015. Antifungal and Antibacterial Activity of Extracts and Alkaloids of Selected Amaryllidaceae Species. *Natural Product Communications*. 10 (9): 1537-1540.
- Neiva, V. D. A., Ribeiro, M. N. S., Nascimento, F. R., Cartágenes, M. D. S. S., Coutinho-Moraes, D. F. y Do-Amaral, F. M. 2014. Plant species used in giardiasis treatment: ethnopharmacology and *in vitro* evaluation of anti-Giardia activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 24 (2): 215-224.
- Machín L., Tamargo, B., Piñón, A., Atíes, R. C., Scull, R., Setzer, W. N., Monzote, L. y Bixa, L. 2019. Bixaceae and *Dysphania ambrosioides* L. Mosyakin & Clemants Amaranthaceae Essential Oils Formulated in Nanocochleates against *Leishmania amazonensis*. *Molecules*. 24 (23): 4222
- MacDonald, D., K. van Crey, P. Harrison, P.K. Rangachari, J. Rosenfeld, C. Warren and G. Sorger, 2004. Ascaridole-less infusions of *Chenopodium ambrosioides* contain anematocide that are not toxic to mammalian smooth muscle. *Journal Ethnopharmacol.* 92: 215-221.
- Maldonado-Garcia, M., Angulo, C., Vazquez-Martinez, J., Sanchez, V., Lopez, M. G. y Reyes-Becerril, M. 2019. Antioxidant and immunostimulant potentials of *Chenopodium ambrosioides* L. in Pacific red snapper (*Lutjanus peru*). *Aquaculture*. 513: 734414.

- Manamgoda, D., Cai, L., Crous, P., Madri, H., Chukeatirote, E. S. R. 2012. A phylogenetic and taxonomic revaluation of the Bipolaris-Co-chliobolus-*Curvularia* Complex. *Fungal Diversity*. 56: 131-144.
- Manal, Z., Amal, S., Lalla, A., Lydia, F., Tayeb, K., Kacem, M., Abdelkader, B., Mohamed, T., Abdelkarim, M., Khadija, S. y Mohamed, F. 2019. Composition of essential oil of Moroccan *Dysphania ambrosioides* and its antimicrobial activity against bacterial and fungal phytopathogens. *Journal of Plant Pathology*. 102: 47-58.
- Maradiaga, S. S. y Quant, C. A. 2022. Validación de actividad antihelmíntica en ratones Bal-C de productos fitofarmacéuticos jarabes y cápsulas de 500 mg conteniendo extracto de *Chenopodium ambrosioides* L. durante el periodo de Marzo-Noviembre 2021. Monografía para Licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. León, Nicaragua.
- Marangon, C. 2006. Composicao e actividade antifúngica de extractos de *Chenopodium ambrosioides*. Tesis de Maestria. Postgrado en Agroquímica. Universidad Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.
- Marangon-Jardim, C., Newandram Jham, G., Dev Dhingra, O. y Moreira Freire, M. 2008. Composition and Antifungal Activity of the Essential Oil of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. *Journal of Chemical Ecology*. 34:1213–1218
- Melo J.G., Rodríguez, M. D., Nascimento, S. C., Amorim, E. L. C. y Albuquerque, U. P. 2017. Cytotoxicity of plants from the Brazilian semi-arid region: a comparison of different selection approaches. *South African Journal of Botany*. 113: 47-53.
- Melo, R., Barbosa, M. B., Ribeiro, E., da Silva Ferreira, B., Possapp, L., Bezerra, G. A., Costa, J. y da Silva, E. C. 2023. Phytochemical compounds from *Dysphania ambrosioides* leaves: a review of bioactive constituents present in the phytocomplex. *Contemporary Journal*. 3(7): 9612-9635.
- Mendoza-Moreno, M. A., Parada-Palacios, E. A., Mejía-Valencia, J. G. y Espinoza-Madrid, P. A. 2013. Toxicología subcrónica de infusiones de *Chenopodium ambrosioides* (epazote) por infusión oral en ratones NIH. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 18 (1): 157-170.

- Mendoza, H. A. y Sánchez, M. G. 2022. Capacidad antifúngica *in vitro* de Quitosano y *Trichoderma spp* sobre *Bipolaris sp* y *Curvularia sp*, agentes causales del complejo de manchado del grano de arroz (*Oryza sativa L.*). Tesis de Licenciatura. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua.
- Moo-Koh, F. A., Alejo, C., Reyes-Ramírez, A., Tun-Suárez, M., Sandoval-Luna, R. y Ramírez-Pool, J. A. 2014. Actividad *in vitro* del extracto acuoso de *Bonellia flammea* contra hongos fitopatógenos. *Agrociencia*. 48: 833-845.
- Monroy-Ortiz, C. y Monroy, R. 2006. Las plantas, compañeras de siempre: La experiencia en Morelos. Universidad Autónoma del Estado Morelos. Cuernavaca. Morelos. México. Pp. 251-252.
- Monzote, L., Sariego, I., Montalvo, A. M., Garrido, N., Scull, R. y Abreu, J. 2004. Propiedades antiprotozoarias de aceites esenciales extraídos de plantas cubanas. *Revista Cubana Medica Tropical*; 563: 230-233.
- Monzote, L., García, M., Pastor, J., Gil, L., Scull, R., Maes, L. 2014. Essential oil from *Chenopodium ambrosioides* and main components: Activity against Leishmania, their mitochondria and other microorganisms. *Experimental Parasitology*. 136 (1): 20–26.
- Morán, J.J. 2022. Principales fungicidas químicos para el control del hongo *Fusarium verticillioides*, que afectan en el cultivo de maíz (*Zea mays L.*). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Técnica de Babahoyo. Babahoyo, Ecuador.
- Moreno, M. A., Parada, E. A., Mejía, J. G., y Espinoza, P. A. 2013. Toxicología subcrónica de infusión de *Chenopodium ambrosioides* (epazote) por administración oral en ratones NIH. *Revista Cubana de plantas medicinales*. 18(1): 157-170.
- Mushagalusa, F. M., Tusiimire, J., Kadima, J. N. y Agaba, A. G. 2021. Ethnomedical uses, chemical, constituents, and evidence-based pharmacological properties of *Chenopodium ambrosioides* L. extensive overview. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*. 7 (153): 1-36.
- Oliveira, A. P., Araújo, S., Lima, E. B. de S., Souza, L. K. M. de, Alvarenga, E. M., y Medeiros, J. V. R. 2015. Prospecção científica e tecnológica de *Chenopodium ambrosioides*, com ênfase nas atividades farmacológicas. *Cadernos De Prospecção*. 8 (4): 828–838.



- Oliveros-Barroyo, M. A. 2016. Determinación del rendimiento y caracterización fisicoquímica del aceite esencial de apazote (*chenopodium ambrosioides* L.) obtenido de plantas cosechadas en diferentes etapas de desarrollo a nivel laboratorio. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ingeniería. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Peláez-Álvarez, A., Santos-Villalobos, S., Yépez, E.A., Parra-Cota, F.I., Reyes-Rodríguez, R.T. 2016. Efecto sinérgico de *Trichoderma asperellum* T8A y captan 50® contra *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.). Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 7(6): 1401-1412.
- Pavela, R., Maggi, F., Lupidi, G., Mbuntcha, H., Woguem, V., Macaire, H., Barboni, L., Azefack, L. y Benelli, G. 2018. *Clausena anisata* and *Dysphania ambrosioides* essential oils: from ethno-medicine to modern uses as effective insecticides. Plant-borne compounds and nanoparticles: challenges for medicine, parasitology and entomology. *Environmental Science and Pollution Research*. 25 (3):1-11
- Pagotti M. C., Candido, A. C. B. B., Marçal, M. G., Vieira, T. M., Groppo, M., Silva, M. L. A., Ferreira, D. S., Esperandim, V. R., Crotti, A. E. M. y Magalhães, L. G. 2021. Trypanocidal Activity of *Dysphania ambrosioides*, *Lippia alba*, and *Tetradenia riparia* essential oils against *Trypanosoma cruzi*. *Chemistry y Biodiversity*. 18 (12): 1-11.
- Penido, A. B., Moraes, S. M., Ribeiro, A. B. y Silva, A. Z. 2016. Ethnobotanical study of medicinal plants in Imperatriz, State of Maranhão, Northeastern Brazil. *Acta Amazonica*. 46(4):345–354.
- Pereira, W.S.; Ribeiro, B.P.; Sousa, A.I.P.; Serra, I.C.P.B.; Mattar, N.S.; Fortes, T.S.; Reis, A.S.; Silva, L.A.; Barroqueiro, E.S.B.; Guerra, R.N.M. 2010. Evaluation of the subchronic toxicity of oral treatment with *Chenopodium ambrosioides* in mice. *J. Ethnopharmacol*. 127: 602–605.
- Pereira, L. P. L. A., Ribeiro, E. C. G., Brito, M. C. A., Araruna, F. O. S., Araruna, F. B., Leite, J. A. C., y Coutinho, D. F. 2022. Molluscicidal and cercaricidal activities of the essential oil of *Dysphania ambrosioides* L. Mosyakin & Clemants: Implications for the control of schistosomiasis. *Acta Tropica*, 230: 106393.
- Ramirez-Mares, M. V. y Hernandez-Carlos, B. 2015. Plant-derived natural products from the American continent for the control of phytopathogenic

- fungi: a review. *Journal of Global Innovations in Agricultural and Social Sciences*. 3(4): 96-118.
- Ramos, M. C. 2005. Caracterización parcial de los extractos de *Artemisia ludoviciana*, *Chenopodium ambrosioides*, *Flourensia cernua*, *Marrubium vulgare*, *Mentha spicata* y su determinación como actividad amebicida, giardicida y bactericida. Tesis Doctoral. Facultad de ciencias biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León. Monterrey.
- Ramsey, J. M. Ordoñez, R., Tello, A., Pohls, J. L., Sánchez, V. y Peterson, A. T. 2003. Actualidades sobre la epidemiología de la enfermedad de Chagas en México. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Andrew-Peterson-11/publication/230709892\\_Actualidades\\_sobre\\_la\\_epidemiologia\\_de\\_la\\_enfermedad\\_de\\_Chagas\\_en\\_Mexico/links/00b7d524067d2b322f000000/Actualidades-sobre-la-epidemiologia-de-la-enfermedad-de-Chagas-en-Mexico.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Andrew-Peterson-11/publication/230709892_Actualidades_sobre_la_epidemiologia_de_la_enfermedad_de_Chagas_en_Mexico/links/00b7d524067d2b322f000000/Actualidades-sobre-la-epidemiologia-de-la-enfermedad-de-Chagas-en-Mexico.pdf). Consultado el 23 de abril de 2024.
- Retana, K., Ramírez-Coché, J. A., Castro, O. y Blanco-Meneses, M. 2018. Caracterización morfológica y molecular de *fusarium oxysporum* f. sp. *apii* asociado a la marchitez del apio en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*. 42 (1): 115-126.
- Reyes-Becerril, M., Angulo, C., Sánchez, V., Vázquez-Martínez, J. y López, M. G. 2019. Antioxidant, intestinal immune status and anti-inflammatory potential of *Chenopodium ambrosioides* L. in fish: *In vitro* and *in vivo* studies. *Fish & Shellfish Immunology*. 86: 420-428.
- Rojas, J., Solís, H. y Palacios, O. 2010. Evaluación *in vitro* de la actividad anti *Trypanosoma cruzi* de aceites esenciales de diez plantas medicinales. *Anales de la Facultad de Medicina*. 71 (3): 161-5.
- Rojo-Báez, I., Álvarez-Rodríguez, B., García-Estrada, R. S., León-Félix, J., Sañudo-Barrajas, A. y Allende-Molar, R. 2017. Situación actual de *Colletotrichum* spp. en México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 35 (3): 549-566.
- Rodríguez-López, E. S., González-Prieto, J. M. y Mayek-Pérez, N. 2009. La Infección de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Penz. y Sacc. en Aguacatero *Persea americana* Mill: Aspectos Bioquímicos y Genéticos. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 27 (1): 53-63.

- Rodríguez-López, E. S., Cárdenas-Soriano, E., Hernández-Delgado, S., Gutiérrez-Díez, A y Mayek-Pérez, N. 2013. Análisis de la infección de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Penz. & Sacc. de fruto de aguacatero. *Revista Brasileira Fruticultura*. 35 (3): 898-905.
- Ruffa, M.J., Ferraro, G., Wagner, M.L., Calcagno, M. L., Campos, R. H., y Cavallaro, L. 2002. Cytotoxic effect of Argentine medicinal plant extracts on human hepatocellular carcinoma cell line. *Journal of ethnopharmacology*, 79 (3): 335-339.
- Salinas, D. P. 2020. Efecto antihelmíntico del extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides*, comparada con albendazol, frente a *Áscaris lumbricoides*, *in vitro*. Tesis para obtener el título profesional de: Médico Cirujano. Facultad de ciencias de la salud. Universidad Cesar Vallejo. Trujillo. Perú.
- Santiago-Martínez, A. y De la Cruz-Chacón, I. *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin y Clemants (Amaranthaceae): la relevancia de sus actividades biológicas. *LACANDONIA*. 18 (1): 39-54.
- Saritha, K., Rajesh, A., Manjulatha, K., Setty, O. H. y Yenugu, S. 2015. Mechanism of antibacterial action of the alcoholic extracts of *Hemidesmus indicus* (L.) R. Br. Ex Schult, *Leucas aspera* (Wild.), *Plumbago zeylanica* L., and *Tridax procumbens* (L.) R. Br. ex Schult. *Frontier in Microbiology*. 6: 1-9.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. 2016. El epazote auténtico sabor mexicano. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/el-epazote-autentico-Sabor-mexicano>. Consultado el 16 de marzo de 2024.
- Svendsen A. B. & Verpoorter R. 1983. Chromatography of alkaloids part A: thin-layer chromatography. *Elsevier Scientific publishing company*.
- Shah, H. y Khan, A. A. 2017. Phytochemical characterisation of an important medicinal plant, *Chenopodium ambrosioides* Linn. *Natural Product Research*. 31 (19):2321-2324.
- Shoaib, M., Wadood, S., Ali, N., Shah, I., Ullah, S., Ghias, M., Nawaz, M., Gul, F., Akhtar, S., Ullah, A., Akbar, W. y Ullah A. 2016. Scientific investigation of crude alkaloid from medicinal plants for the management of pain. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 16 (178): 2-8.
- Sidi, M. A., Fadli, M., Hassani, L., Brahim, B., Markouk, M., Bekkouche, K., Abdelaziz, A., Ali, M. y Larhsini, M. 2015. *Chenopodium ambrosioides* var.

- ambrosioides used in Moroccan traditional medicine can enhance the antimicrobial activity of conventional antibiotics. *Industrial Crops and Products*. 71: 37-43.
- Siddiqui, Y. y Ali, A. 2014. Chapter 11-*Colletotrichum gloeosporioides* Anthracnose. *Postharvest Decay*. 337-371. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411552-1.00011-9>.
- Stegmayer, M. I., Fernández, L. N., Álvarez, N. H., Olivella, L., Gutiérrez, H. F., Favaro, M. A. y Derita, M. G. 2021. Aceites esenciales provenientes de plantas nativas para el control de hongos fitopatógenos que afectan a frutales. *Revista FAVE-Ciencias Agrarias*. 20 (1): 317–329.
- Singh, R. K., 2006. Fungitoxicity of some higher plants and synergistic activity of their essential oils against *Sclerotium rolfsii* sacc. causing foot-rot disease of barley. *Hindustan Antibiotics Bulletin*. 47-48 (1-4): 45-51.
- Smith, G. H., Roberts, J. M. y Pope, T. W. 2018. Terpene based biopesticides as potential alternatives to synthetic insecticides for control of aphid pests on protected ornamentals. *Crop Protection*. 110: 125-130.
- Sisalema, J. F. 2023. Evaluación del aceite esencial de paico *Chenopodium ambrosioides* como antiparasitario gastrointestinal en conejos *Oryctolagus cuniculus* bajo crianza traspatio. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Técnica de Ambato. Cevallos. Ecuador.
- Silva, L. C., Correia, A. F., Gomes, J. V. D., Romão, W., Motta, L. C., Fagg, C. W., Magalhães, P. O., Silveira, D. y Fonseca-Bazzo, Y. M. 2022. Lycorine Alkaloid and *Crinum americanum* L. (Amaryllidaceae) Extracts Display Antifungal Activity on Clinically Relevant *Candida* Species. *Molecules*. 27 (9): 2976.
- Srinivas, C., Nirvala-Devi, D., Narasimha Murthy, K., Dhananjaya Mohan, C., Lakshmeesha, T. R., Singh, B. P., Kumar Kalagatur, N., Niranjana, S. R., Hashem, A., Alqarawi, A., TabassuM, B., Abd\_Allah, E. F., Nayaka, S. C. y Srivastava, R. K. 2019. *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici causal agent of vascular wilt disease of tomato: Biology to diversity– A review. *Saudi Journal of Biological Sciences* 26: 1315–1324.
- Soares, M. H., Dias, H. J., Vieira, T. M., De Souza, M. G. M., Cruz, A. F. F., Badoco, F. R., Ni-Colella, H. D., Cunha, W. R., Groppo, M., Martins, C. H.G.,

- Tavares, D. C., Magalhães, L. G. y Crotti, A. E. M. 2017. Chemical Composition, Antibacterial, Schistosomicidal, and Cytotoxic Activities of the Essential Oil of *Dysphania ambrosioides* L. Mosyakin & Clemants Chenopodiaceae. *Chemistry y Biodiversity*. 14 (8): e1700149
- Song, K., Wang, H. Q., Liu, C., Jkang, L., Li, B. M. y Chen, R. Y. 2014. Chemical constituents from *Chenopodium ambrosioides*. *China Journal of Chinese Materia Medica*. 2: 254-257.
- Song, K., Zhang, J., Zhang, P., Wang, H. Q., Liu, C., Li, B. M., Kang, J. y Chen, R. Y. 2015. Five new bioactive compounds from *Chenopodium ambrosioides*. *J Asian The Natural Products Research*. 17 (5): 482-490.
- Sousa, Z. L., de Oliveira, F. F., da Conceição, A. O., Silva, L. A., Rossi, M. H., Santos Jda, S. y Andrioli, J. L. 2012. Biological activities of extracts from *Chenopodium ambrosioides* Lineu and *Kielmeyera neglecta* Saddi. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 11 (20): 1-7.
- Sowemimo, A. A., Fakoya, F.A., Awopetu, I., Omobuwajo, O.R., Adesanya, S.A. 2007. Toxicity and mutagenic activity of some selected Nigerian plants. *J. Ethnopharmacol.*, 113(3):427-432.
- Srinvas, C., Nirmala, D., Narasimha, K., Dhananjaya, C., Lakshmeesha, T. R., Singh, B. P., Kumar, N., Niranjana, S. R., Hashem, A., Alquarawi, A. A., Tabassum, B., Fathi, E., Chandra, S. y Srivastava, R. K. 2019. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato: Biology to diversity– A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 26: 1315-1324.
- Su, M., Li, Z., Zhou, S., ZHANG, H., XIAO, Y., Li, W., SHANG, H. y Li, J. 2023. Kaempferitrin, a major compound from ethanol extract of *Chenopodium ambrosioides*, exerts antitumour and hepatoprotective effects in the mice model of human liver cancer xenografts. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 75 (8):1066-1075.
- Tauchen, J., HUML, L., Bortl, L., Doskocil, I., Jarosova, V., Marsik, P., Frankova, A., Clavo-Peralta, Z. M., Chuspe-Zans, M. E., Havlik, J., Lapcik, O. y Kokoska, L. 2019. Screening of medicinal plants traditionally used in Peruvian Amazon for *in vitro* antioxidant and anticancer potential. *Natural Product Research*. 33 (18): 2718-2721.

- Trivellato-Grassi, L., Malheiros, A., Meyre-Silva, C., Silva Buss, Z., Monguilhott, E. D., Fröde, T. S. y de Souza, M. M. 2013. From popular use to pharmacological validation: a study of the anti-inflammatory, antinociceptive and healing effects of *Chenopodium ambrosioides* extract. *Journal of Ethnopharmacology*. 145 (1): 127-138.
- Vásquez, D. A., Montes, R., Jiménez, A. y Flores, H. E. 2014. Aceites esenciales y extractos acuosos para el manejo *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *F. solani*. *Revista mexicana de fitopatología*. 312: 170-179.
- Vásquez-Ramírez, L. M. y Castaño-Zapata, J. 2017. Manejo integrado de la marchitez vascular del tomate [*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (SACC.) w.c. snyder & h.n. hansen]: una revisión. *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica*. 20(2): 363-374.
- Vibrans H. 2012. *Chenopodium ambrosioides* L. en malezas de México. <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/chenopodiaceae/chenopodium-ambrosioides/fichas/ficha.htm>. Consultado el 12 de marzo de 2024.
- Villalobos-Delgado, L. H., González-Mondragón, E. G., Ramírez-Andrade, J., Salazar-Govea, A.Y. y Santiago-Castro, J.T. 2017. Potential application of epazote *Chenopodium ambrosioides* L. as natural antioxidant in raw ground pork. *LWT- Food Science and Technology*. 84: 306-313.
- Vivanco, J. M, Cosio, E., Loyola-Vargas, V. M. y Flores H. E. 2005. Mecanismos químicos de defensa en las plantas. *Investigación y Ciencia*. 341: 68-75.
- Ye, H., Liu, Y., Li, N., Yu, J., Cheng, H., Li, J. y Zhang, X. Z. 2015. Anti-Helicobacter pylori activities of *Chenopodium ambrosioides* L. *in vitro* and *in vivo*. *World Journal of Gastroenterol*. 21 (14): 4178-4183.
- Wang, Y.N., Zhu, X. H., Ma, H., DU, R. Y., LI, D. R. y DW, M.A. 2016. Essential Oil of *Chenopodium ambrosioides* Induced Caspase-Dependent Apoptosis in SMMC-7721 Cells. *Journal of Chinese medicinal materials*. 39 (5): 1124–1128.
- Wei, H., Liu, J., Li, B., Zhan, Z., Chen, Y., Tian, H. y Gu, X. 2015. The toxicity and physiological effect of essential oil from *Chenopodium ambrosioides* against the diamondback moth, *Plutella xylostella* Lepidoptera: Plutellidae. *Crop protection*, 76: 68-74.

- WHO, 2023. Chagas disease also known as American trypanosomiasis. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-american-trypanosomiasis>. Consultado el 16 de marzo del 2024.
- Zago, P. M. W., Dos Santos, S. J., Castelo Branco, M. V., De Albuquerque Bogéa, F. L., Car-Valho, L. T., Rocha, C. Q., Madeira, P. L. B., De Sousa, E. M., De Siqueira, F. S. F., Paschoal, M. A. B., Diniz, R. S. y Gonçalves, L. M. 2019. Anti-biofilm Action of *Chenopodium ambrosioides* extract, cytotoxic potential and effects on acrylic denture surface. *Frontiers in Microbiology*. 10:1724.
- Zhang, N., Rossman, A., Seifert, K., Bennett, J. W., Cai, G., Hillman, B., Hyde, K.D., Luo, J., Meyer, W., Molnar, T., Tadych, M., White, J., Cai, L., Manamgoda, D. y Schoch, C. 2013. Impacts of the international code of nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne code) on the scientific names of plant pathogenic fungi. APS. American Phytopathological Society.
- Zohra, T., Ovais, M., Talha, A., Qasim, M., Ayaz, M. y Khan, Z. 2019. Extraction optimization, total phenolic, flavonoid contents, HPLC-DAD analysis and diverse pharmacological evaluations of *Dysphania ambrosioides* L. Mosyakin & Clemants. *Natural Product Research*. 33 (1): 136-142.