



Concentración Mínima Inhibitoria del extracto hidroalcohólico de tallos y hojas de *Baccharis genistelloides*, *Perezia multiflora*, *Senecio sublutescens* y *Jungia paniculata* del Parque Nacional Huascarán (Perú) frente a cepas bacterianas de interés clínico

Minimum Inhibitory Concentration of hydroalcoholic extract of stems and leaves of *Baccharis genistelloides*, *Perezia multiflora*, *Senecio sublutescens*, and *Jungia paniculata* from Huascarán National Park (Peru) against bacterial strains of clinical interest

Edwin Vega Portalatino¹ y Eloy López Medina²

¹Tesista de la Escuela AP de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo (UNT), Trujillo, Perú.

²Departamento de Ciencias Biológicas, UNT.

RESUMEN

En trabajos previamente realizados en algunas plantas altoandinas han registrado la presencia de metabolitos secundarios que presentan acciones terapéuticas contra diferentes enfermedades. El objetivo de la investigación fue determinar la Concentración Mínima Inhibitoria del extracto hidroalcohólico de tallos y hojas de *Baccharis genistelloides*, *Perezia multiflora*, *Senecio sublutescens* y *Jungia paniculata* del Parque Nacional Huascarán (Perú) frente a cepas bacterianas de interés clínico. Para ello se trabajó con extractos hidroalcohólicos 50% de las muestras de las plantas a concentraciones de 25, 20, 15, 10 y 5 mg/mL, los cuales fueron inoculados con las cepas bacterianas en microplacas en un ambiente estéril. La evaluación se realizó mediante la observación del crecimiento bacteriano y se reportó crecimiento e inhibición total para el cálculo de la Concentración Mínima Inhibitoria. Se concluye que solamente *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* dentro de los microorganismos usados son inhibidos en los ensayos realizados.

Palabras clave: *Baccharis genistelloides*, *Perezia multiflora*, *Senecio sublutescens* y *Jungia paniculata*, concentración mínima inhibitoria, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*

ABSTRACT

Previous works in some Andean plants have recorded the presence of secondary metabolites that have therapeutic actions against different diseases. The objective of the research was to determine the minimum inhibitory concentration of the hydroalcoholic extract of stems and leaves of *Baccharis genistelloides*, *Perezia multiflora*, *Senecio sublutescens* and *Jungian paniculata* obtained in Huascarán National Park against bacterial strains of clinical interest. For this, we worked with 50 % hydroalcoholic extracts of plant samples at concentrations of 25, 20, 15, 10 and 5 mg / mL, which were inoculated with the bacterial strains in microplates in a sterile environment. The evaluation was performed by observing the growth and bacterial growth and total inhibition for the calculation of the

minimum inhibitory concentration was reported. We conclude that only *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* within the microorganisms used are inhibited in trials.

Keywords: *Baccharis genistelloides*, *Perezia multiflora*, *Senecio sublutescens* y *Jungia paniculata*, concentración mínima inhibitoria, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*



INTRODUCCIÓN

El Parque Nacional Huascarán cuenta con un alta diversidad en flora con tres familias predominantes: Asteraceae, Poaceae y Scrophulariaceae. El género con más especies es *Senecio*, con 39 especies, seguida por *Calamagrostis*, *Werneria*, *Poa*, *Solanum*, *Calceolaria*, *Lupinus*, *Baccharis*, *Valeriana*, etc¹.

Muchas de las plantas altoandinas de interés medicinal presentan metabolitos secundarios en sus tallos y/o hojas que inhiben el crecimiento de bacterias Gram positivas y Gram negativas, tales como, entre otras: *Oreocallis grandiflora*, *Senecio rhizomatus*, *Satureja elliptica*, *S. sericea*, *Alonsoa linearis*, *Senecio calvus*, *S. comosus*, *Tagetes multiflora*, *Satureja elliptica*, *Peperomia rotundata*^{2,3,4,5,6,7,8}.

Baccharis genistelloides (Asteraceae) habita las zonas andinas de Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y Chile, entre los 3000 y 4000 m.s.n.m, recibe los nombres comunes de “callua callua”, “carqueja”, “karkeja”, “cuchu cuchu”, “kimsa cuchu”, “ischutullma” y es usada para trastornos gastrointestinales, enfermedades reumáticas, fiebre, diabetes, problemas de hígado, cicatrizante de heridas, quemaduras, llagas y ulceraciones, en virtud a que presenta terpenoides, diterpenoides, sesquiterpenos, triterpenoides, aceites esenciales, flavonoides, cumarinas y otras compuestos fenólicos^{5,6,7,8}.

Por su lado, *Jungia paniculata* (Asteraceae) es una planta herbácea que habita en los andes peruanos, alrededor de los 2500 a 3000 m.s.n.m, es conocida como “matico” o “caramati”¹⁸ se utiliza para tratar afecciones de la garganta, como antiinflamatoria y antiinfectiva del aparato urinario^{18,19}, gracias al efecto de flavonoides, compuestos polifenólicos con efectos antiinflamatorios, antimicrobianos, antivirales, antiulceroso, antioxidante, antihepatotóxico y antihipertensivo que presenta^{6,7,8}.

Comúnmente llamada escorzonera, *Perezia multiflora* (Asteraceae) también es una planta herbácea, rizomatoza, postrada, con hojas dentadas, propia de los Andes Peruanos que habita entre 3600 y 3800 m.s.n.m. y los esteroides, alcaloides, saponinas, taninos, aceites esenciales, flavonoides y compuestos fenólicos derivados del catecol la convierten en una planta útil para evitar faringitis y amigdalitis, puesto que los flavonoides (asparaguina) presentes permiten buena acción antiinflamatoria^{6,7,8}.

Senecio sublutescens es una planta sufrutice; endémica de los departamentos de Ancash y Lima, se la encuentra en condiciones microclimáticas altoandinas a partir de los 4 500 m.s.n.m. no tiene reportes escritos, sin embargo, *S. graveolens* poseen actividad sobre *Micrococcus luteus*, *S. aureus* y *C. albicans*, *S. longipenicillatus* sobre *S. aureus* y *Enterococcus faecalis* y *S. aegyptius* sobre *B. subtilis* y *C. albicans*^{2,3,9,10}

La metodología para la selección de plantas en base a la etnobotánica o etnofarmacología selecciona las plantas que son usadas en medicina tradicional y ha demostrado ser la más eficiente y habiéndose encontrado significativa concordancia entre el método de selección etnofarmacológico y químico, siendo los extractos el mod de empleo más frecuente^{11,12,13,14,15}. Sin embargo, en muchos países en desarrollo ha ocurrido una pérdida importante del conocimiento tradicional sobre el uso de plantas medicinales; debido a ello, la disponibilidad de éstas se ha visto reducida por la degradación de los bosques y su conversión a bosques secundarios y campos agrícolas^{6,8,14}.

La elección del tipo de extracto a preparar dependerá de los objetivos de la investigación; entre ellos se puede citar los extractos acuosos (imitan el uso popular) e hidroalcohólico 50% (para estudios preliminares y porque las sustancias con actividad antimicrobiana pueden ser extraídas con más eficiencia); también se puede emplear una secuencia de varios solventes de diferentes polaridades^{6,8,15}. Por ejemplo, empezando con hexano y aumentando la polaridad hasta llegar al acetato de etilo para arrastrar sustancias de polaridad intermedia, terminando con el empleo de alcohol que extrae del vegetal compuestos más polares; este procedimiento ayuda a que la extracción con alcohol arrastre diferentes metabolitos secundarios y de esta forma poder purificarlos más fácilmente^{16,17,18}.

A lo largo de la historia, los metabolitos secundarios de las plantas han sido utilizados por la humanidad convirtiéndose en una fuente inagotable de compuestos químicos y complejas sustancias activas, que desde hace muchos años han sido explotadas por el hombre^{6,8}. La biosíntesis de metabolitos secundarios suele estar restringida a estados específicos del desarrollo y a periodos de estrés; algunas células vegetales producen metabolitos secundarios importantes en las interacciones de la plantas con el medio ambiente o que están relacionadas con la maquinaria reproductiva de la planta⁶. Los metabolitos



secundarios como derivados de los metabolitos primarios, pero su distribución en el reino vegetal es más limitada y para determinados compuestos queda restringida a ciertas especies e incluso a algunos grupos dentro de una misma especie, por lo tanto es improbable que desarrollen un papel fundamental en el metabolismo primario^{18,19}.

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la Concentración Mínima Inhibitoria del extracto hidroalcohólico de tallos y hojas de *Baccharis genistelloides*, *Perezia multiflora*, *Senecio sublutescens* y *Jungia paniculata* del parque nacional huascarán frente a cepas bacterianas de interés clínico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Selección del material vegetal

Para hacer la selección de las plantas se utilizó la metodología etnobotánica o etnofarmacológica²⁹, que consiste en hacer la búsqueda de bibliografía en textos especializados de investigación etnobotánicos, etnofarmacológicos, fitoquímicos y quimiotaxonómicos de las plantas medicinales existentes en la zona de colecta o en todo caso de las especies cercanas a estas.

Colecta y preparación del material vegetal⁶

Para la colecta se obtuvo el permiso de colecta otorgado por el Servicio Nacional De Áreas Naturales Protegidas (SERNANP), por tratarse de una Parque Nacional. Las muestras se colectaron durante el mes de junio entre el 10 y 11 del 2012, períodos en los que gran parte de las plantas altoandinas se encuentran en floración y no hay lluvias. Se registraron los datos de ubicación de cada una de las plantas colectadas utilizando un GPS. Solo *Jungia paniculata* fue adquirido en la feria de plantas medicinales de la ciudad de Huaraz. Cuatro ejemplares de cada muestra fueron prensados para su determinación y depósito en el Herbario David Smith de la Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo (Huaraz). La determinación botánica se hizo mediante la técnica de comparación. El material vegetal se lavó con agua corriente, se dejó escurrir y luego se puso a secar en un ambiente oscuro a temperatura ambiental por 3 a 4 meses aproximadamente; luego, se molió a un diámetro de partícula de aproximadamente 2 mm y se almaceno en bolsas herméticamente cerradas a temperatura ambiental.

Preparación del extracto hidroalcohólico²⁰

Se maceró 5g de muestra con 50 ml de una mezcla etanol al 50%⁶¹. Se dejó por 15 días bajo condiciones de oscuridad, temperatura ambiental de 18 – 25 °C y agitación diaria³³. Cumplido el tiempo se filtró al vacío sobre papel filtro Whatman N° 1³. Los extractos filtrados fueron concentrados en un rotavapor a 40 °C del baño María^{33 y 61} y a una presión inicial de 110 mbar. Los extractos concentrados fueron llevados a sequedad en viales de 20 mL de color ámbar estériles en una estufa a 24 °C.

Preparación de muestras para la microdilución¹³

Se preparó de acuerdo a Tamariz, 1999. Pero duplicando la concentración, para lo cual los extractos secos fueron disueltos con dimetil sulfoxido (DMSO) y agua a una proporción de 4% DMSO y 96% de H₂O a una concentración final de 100 mg/mL. Ver Anexo N° 2; bajo condiciones de esterilidad utilizando una cámara de Bioseguridad AII vertical. Su almacenamiento se hizo bajo refrigeración a 4 °C.

Pruebas de actividad antimicrobiana¹⁶

Se realizó mediante la metodología de microdilución, descrita en el manual de la clinical and laboratory standards institute (NCCLS). De acuerdo esta norma estándar, el inóculo fue preparado como una suspensión directa de colonia (Direct Colony suspensión), bajo la siguiente consideración: El inóculo se preparó a partir de cultivos frescos de 16 horas. Primero se obtuvo una suspensión de 0.08 de DO a 620 nm utilizando un espectrofotómetro, el cual correspondía 1x10⁸ CFU/mL. Luego la suspensión fue diluida en caldo MH II (Muller y Hinton II) a una proporción de 1:20 para obtener 5x10⁶ CFU/mL. Finalmente se inóculo 10 µl de cepa por cada pozo. El volumen de las diversas diluciones de la muestra fue de 100 µl

por pozo. Los extractos hidroalcohólicos evaluados a las concentraciones de 25, 22.5, 20, 17.5, 15, 12.5, 10, 7.5 y 5 mg/mL. Como blancos se incorporaron blanco de crecimiento y un blanco de muestra, también se preparó un blanco de contaminación. Para todos los casos se prepararon 3 repeticiones. Se usaron placas de microdilución estériles y con tapa marca Costar. Las primeras evaluaciones se realizaron usando las concentraciones iniciales de 25, 20, 15, 10 y 5 mg/mL. De acuerdo a los resultados iniciales se



prepararon concentraciones intermedias (23.5, 17.5, 12.5, 7.5 mg/mL) entre la concentración mínima que muestra inhibición y la concentración máxima que muestra crecimiento. Una vez inoculados las microplacas, estas fueron incubadas a una temperatura de 35 °C por 24 horas y la evaluación se realizó mediante la observación del crecimiento bacteriano y se reportó crecimiento e inhibición total para el cálculo de la Concentración Mínima Inhibitoria. Se utilizaron los siguientes microorganismos: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomona aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Bacillus subtilis* (ATCC 11774).

RESULTADOS

Se encontró que la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de *Senecio sublutescens*, *Jungia paniculata*, *Perezia multiflora* y *Baccharis genistelloides* tuvo actividad antibacteriana solo sobre bacterias Gram positivas (Tabla 1 y Figs. 1 y 2).

Tabla 1. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), mg/mL, extractos hidroalcohólicos de tallos y hojas de seis especies vegetales de la Reserva Nacional Huascarán (Perú) sobre las cepas de cuatro especies bacterianas de interés clínico.

Especie vegetal	Órgano	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Senecio sublutescens</i>	Tallo	-	-	20	-
<i>Senecio sublutescens</i>	Hoja	-	-	3	10
<i>Jungia paniculata</i>	Hoja	-	-	7.5	15
<i>Jungia paniculata</i>	Tallo	-	-	10	5
<i>Perezia multiflora</i>	Hoja	-	-	15	15
<i>Baccharis genistelloides</i>	Tallo	-	-	20	10

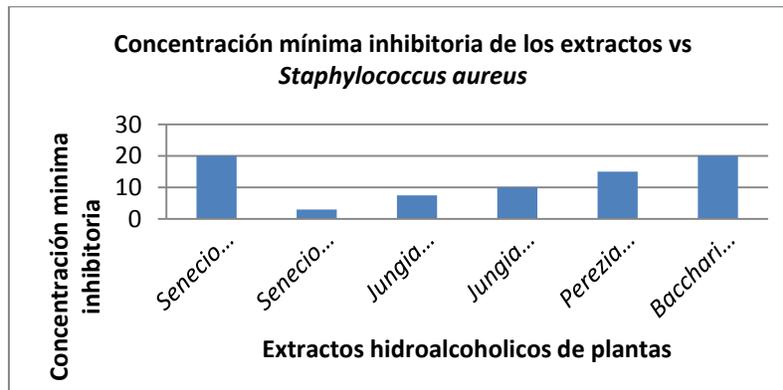


Fig. 2: Concentraciones mínimas inhibitorias de los extractos hidroalcohólicos vegetales (mg/mL) vs *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

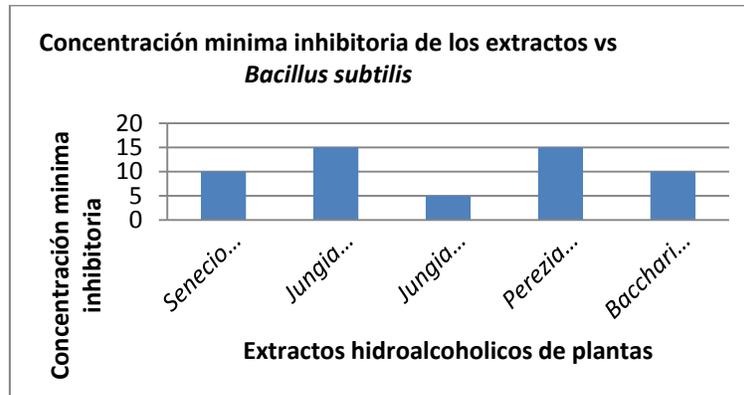


Fig. 3: Concentraciones mínimas inhibitorias de los extractos hidroalcohólicos vegetales (mg/mL) vs *Bacillus subtilis* ATCC 11774

DISCUSIÓN

La actividad antibacteriana de *S. sublutescens* con los resultados obtenidos, concuerdan con los resultados reportados para otras especies de *Senecio* por ejemplo la metodología utilizada en este trabajo fue dilución-estrías donde *S. rhizomatus* tuvo actividad antibacteriana sobre *S. aureus* (ATCC 25923) a una CMI de 6387 mg/mL, *Senecio calvus* tuvo actividad antibacteriana sobre *S. aureus* (ATCC 25923) a una CMI de 4000 mg/mL, *S. comosus* tuvo actividad antibacteriana sobre *S. aureus* (ATCC 25923) a una CMI de 4000 mg/mL^{2,3}. Las CMI obtenidas por los autores varían significativamente, por el cual no se puede hacer la comparación respectiva por la metodología empleada debido a que los valores obtenidos por este autor fue mucho mayor a la hallada en el presente trabajo.

La metodología utilizada donde se reportó que *S. desiderabilis* presenta actividad antibacteriana sobre *S. aureus* (ATCC 25923) a CMI de 2500 µg/mL indican que su CMI fue menor a lo hallado en este trabajo³ y de acuerdo a los resultados solo tuvieron efecto sobre *S. aureus* y *B. subtilis* pero no hubo actividad sobre *E. coli* y *P. aeruginosa*, estas dos últimas son bacterias Gram negativas y acorde a la literatura reportada, las Gram negativas son usualmente menos sensibles a los productos naturales que las Gram positivas.

La actividad antibacteriana podría deberse a los efectos separados o sinérgicos de los flavonoides, alcaloides, triterpenos, esteroides, terpenoides, etc reportados para el Género *Senecio*^{2,3}. Por ejemplo los terpenoides tienen actividad sobre los microorganismos por que alteran su estructura y función de la membrana citoplasmática y los flavonoides actúan como bacteriostáticos por que inhiben la síntesis del ácido nucleico, dañan la membrana bacteriana e inhiben su metabolismo energético^{7,12}.

En el presente trabajo se reportaron las hojas y tallos de *S. sublutescens* donde se observa adicionalmente que la actividad antibacteriana de los tallos solo tuvo efecto sobre *S. aureus* (ATCC 25923) a una CMI de 20 mg/mL mientras que las hojas presentó efecto sobre *S. aureus* (ATCC 25923) y *B. subtilis* (ATCC 11774) a CMI, de 3 y 10 mg/mL, respectivamente. Otra posible razón de esta inhibición se podría decir que se debe a que las hojas acumulan mayores concentraciones de metabolitos secundarios por el cual permite inhibir o reducir el crecimiento de ciertos microorganismo^{17,18}.

No hay reportes en la literatura sobre los usos medicinales de *Senecio sublutescens* sin embargo se escogió esta plantas por el reporte de actividad antibacteriana en el Género *Senecio* y también porque es una planta endémica del Perú⁶. La actividad podría estar relacionada a los aceites esenciales observados en hojas y tallos durante el estudio anatómico realizado por Tamariz¹.

Tanto las hojas y tallos de *J. paniculata* mostraron efecto sobre *S. aureus* (ATCC 25923) y *B. subtilis* (ATCC 11774), donde la hoja tuvo efecto *S. aureus* y *B. subtilis* a una CMI de 7,5 y 15 mg/mL. En el tallo se observó efecto sobre *S. aureus* (ATCC 25923) y *B. subtilis* (ATCC 11774) a unas CMI de 10 y 5



mg/mL respectivamente. Debido que no se han reportado trabajos similares referentes a actividad antimicrobiana en el Género *Jungia* no se pudo hacer la comparación de los resultados obtenidos en este

trabajo. Pero con respecto a los compuestos activos de este género *Jungia* se han identificado flavonoides, compuestos fenólicos que han demostrado efectos antiinflamatorios, antimicrobianos, antivirales, antiulceroso, antioxidante, antihepatotóxico y antihipertensivo^{17,18}. En tal sentido, los resultados obtenidos permiten que se encuentre en relación con el uso tradicional de *J. paniculata* en el tratamiento de afecciones respiratorias que en algunas situaciones son causadas por bacterias Gram positivas tales como *S. aureus*, tendría sustento científico^{19,20}.

La actividad antibacteriana de la hoja *Perezia multiflora* solo tuvo efecto sobre *S. aureus* (ATCC 25923) y *B. subtilis* (ATCC 11774) a unas CMI_s de 15 y 15 mg/mL. La actividad antibacteriana de *Perezia multiflora* con los resultados obtenidos concuerda con los resultados reportados para otras especies de *Perezia* por ejemplo *Perezia hebeclada* se trabajó con el método de difusión en discos de papel filtro por el cual tuvo actividad antibacteriana moderada sobre *S. aureus* resistente a la meticilina a CMI de 250 µg/disco del extracto metanólico de raíces y probablemente esta actividad se debió a las cumarinas y terpenoides descritas para esta especie^{7,14}. Las CMI obtenidas por este autor es muy diferente a la hallada en este trabajo, por el cual no se puede hacer una comparación por la metodología empleada y el organismo utilizado es más resistente a la empleada en este trabajo.

También se reportó que *P. nudicalis* presenta actividad antifúngica sobre *C. neoformans* (ATCC C13) a una CMI de 0.50 mg/mL¹¹. Cabe indicar también que ciertas especies del género *Perezia* tiene actividad sobre hongos, por el cual se podría concluir que este Género *Perezia* tiene actividad sobre un amplio rango de microorganismos bacterias y hongos.

La actividad antibacteriana de parte aérea de *B. genistelloides* solo tuvo efecto sobre *S. aureus* (ATCC 25923) y *B. subtilis* (ATCC 11774) a unas CMI_s de 20 y 10 mg/mL respectivamente. Parece indicar que el espectro antibacteriano es reducido, limitado solo a gérmenes Gram positivos, no manifestando ser sensibles las bacterias Gram negativo. Los resultados obtenidos en esta investigación se correlacionan con estudios anteriores realizados con otras especies pertenecientes a este género, por ejemplo el método del vertido se aplicó para evaluar a las 24 horas los tratamientos realizados con las concentraciones de 10 000 y 5 000 mg/L, confrontados con *B. subtilis* (ATCC 6633) y *S. aureus* (ATCC 25923), en las cinco especies *Baccharis* tales como *B. teindalensis*, *B. latifolia*, *B. buxifolia*, *B. trinervis* y *B. arbutifolia* obteniéndose un 90% de efectividad en actividad antibacteriana^{11,13,14}.

En comparación al trabajo realizado los valores obtenidos de en este trabajo fueron el doble a los encontrados por Verónica y es posible que se deba por la diferente metodología empleada en su trabajo. También se reportó que *B. microphylla*, *B. petiolata* y *B. santelicensis* usando la método de difusión agar-disco tuvo actividad antimicrobiana sobre *B. subtilis* (ATCC 6633) a una CMI de 7.8 µg/mL, 62.5 µg/mL y 15.6 µg/mL, pero *Baccharis santelicensis* tuvo actividad sobre *S. aureus* (ATCC 25923) a una CMI de 31.2 µg/mL¹⁰. De acuerdo a los valores reportados por este autor cabe indicar que no se pudo hacer la comparación respectiva a los valores hallados en este trabajo, debido a la diferente metodología empleada y cabe indicar que las especies del género *Baccharis* actúa sobre bacterias Gram positivas. Los componentes responsables de la actividad antimicrobiana en las especies del género *Baccharis* son terpenoides, constituyentes de sus aceites esenciales^{4,5}.

CONCLUSIONES

- Los extractos de tallo y hojas de *Senecio sublutescens* y *Jungia paniculata*, así como de las hojas de *Perezia multiflora* y de *Baccharis genistelloides paniculata*, a la concentración mínima inhibitoria, tiene actividad solamente frente a bacterias Gram positivas: *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* y no frente a las bacterias Gram negativas



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tamariz C. Estudio de algunas plantas medicinales del Parque Nacional Huascarán, Ancash: pruebas biológicas y fitoquímicas. Tesis de título de Biología. Universidad nacional agraria la Molina. Perú. 1999.
2. Zellagui A, Tijani S, Gherraf N, Rhouti S. Phytochemical screening and evaluation of antibacterial activity of alkaloids extract of *Senecio delphinifolius* Vahl. Scholars Research Library. Der Pharma Chemica 2012; pp.2080-2084.
3. Deuschle R, Camargo T, Francescato L. Actimicrobial activity of *Senecio desiderabilis* vellozo (Asteraceae). Programa de Posgrado en Ciencias e Tecnología Farmacéuticas. Universidad Federal de Santa María 2006; pp.356-359.
4. Rocha R, Hernández M, Lozano P, Hernández B, Santiago. Antibacterial activity of crude extracts from Mexican plants against methicillin-resistant Staphylococcus. African J Biotech. H. 2011; 10: 13202-13218.
5. Morales G, Paredes A, Sierra P, Loyola L. Antimicrobial activity of three *Baccharis* species used in the traditional medicine of northern Chile. Universidad de Antofagasta-Chile. 2010.
6. Mostacero J, Mejía F. Taxonomía de Fanerógamas Peruanas. 2da ed. Trujillo (Perú): Edit. Libertad. 2002.
7. Suttisri R. y K. Douglas, A. D. 1994. Neo-Clerodane Diterpenes and Other constituents from *Baccharis genistelloides*. Phytochemistry 35(2): 443-446.
8. Villanueva E, San Martín A. Estudio fitoquímico y espectroscópico preliminar de cinco plantas medicinales de Carmen pampa (Coroico) Bolivia. Rev Boliviana Quím 2012; 29(2): 16-23.
9. Tamariz C, Florez M. Estudio anatómico de plantas altoandinas. Adaptaciones morfoanatómicas de *Senecio sublutescens* Cuatrecasas. Arnoldoa 1999; 14: 75-85.
10. Perez C, Agnese A. The essential oil of *Senecio graveolens* (compositae): chemical composition and antimicrobial activity tests. J Ethnopharmacol 1999; 28: 91-96.
11. Rondon M, Araque M, Morales A, Gualtieri, et al. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Lasiocephaltis longipenicillatus* (*Senecio longipenicillatus*). Nat Prod Com 2006; 63: 701-707.
12. Rucker G, Manns D, Shenkel E, Hartmann R, Heinzmann B. Triterpenes with a new 9-epi-cucurbitan skeleton from *Senecio selloi*. Phytochem 1999; 26: 1587-1591.
13. Lizcano A, Vergara J. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá D.C. 2008.
14. Ali M, Yaghmour R, Faidi Y, Salem K, Nuri M. Antimicrobial Activity of 20 Plants used in Folkloric Medicine in the Palestinian Area. J Ethnopharmacol 1998; 19: 265-271.
15. Bauer A, Kirby W, Turck M. Antibiotic susceptibility by standardized single disk method. Am J Clin Pathol 1966; 45: 493-496.
16. Thornsberry C. Antimicrobial susceptibility testing: General Considerations. En: Balows A, et al (eds). Manual of Clinical Microbiology. 5ta. Ed. American Society for Microbiology. Washintong DC. 1991; pp.1095-1064
17. Mann C, Markham J. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. J Appl Bacteriol 79: 538- 544.
18. Peñaranda L, Sierra M. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos de partes aéreas de las especies *Bursera simanba* y *Bursera graveolens* contra algunos microorganismos patógenos. Facultad ciencias. Básicas. Universidad Javeriana. Bogotá D.C. 2003.
19. Tamariz A, Infantas D, Moreno P. Pruebas fitoquímicas y biológicas de algunas especies de *Senecio* del Parque Nacional Huascarán (Ancash-Perú). Facultad de Ciencias. Universidad Agraria la Molina (Lima, Perú). 1999.
20. Lock U. Investigación Fitoquímica: Métodos para el estudio de productos naturales. 2^{da} ed. Lima: Fondo Editorial PUC. 1994.