

ANÁLISIS FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL DE EXTRACTOS METANÓLICOS DE *Acrocomia aculeata*: PALMA ADULTA Y GERMINADA *in vitro*

PHYTOCHEMICAL ANALYSIS AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF METHANOL EXTRACTS OF *Acrocomia aculeata*: ADULT AND *in vitro* GERMINATED PALM

Cruz-Rodríguez, R.I.^{1*}; Alfonso-Santiago, C.R.¹; Culebro-Ricaldi, J.M.¹; Meza-Gordillo, R.¹; Ayora-Talavera, G.²; Ayora-Talavera, T.R.³

¹Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez. Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica. Carretera Panamericana km 1080, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. ²Universidad Autónoma de Yucatán. Centro de Investigaciones Regionales Dr. Hideyo Noguchi. Avenida Itzáes, No. 490 x Calle 59, Colonia Centro. Mérida, Yucatán, México. ³Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología del Estado de Jalisco. Unidad Mérida. Parque Científico Tecnológico de Yucatán. Carretera Sierra Papacal-Chuburná Puerto km 5.5. Mérida, Yucatán, México.

*Autor para correspondencia: vikrose1@gmail.com

ABSTRACT

Objective: To evaluate the antibacterial effect of the methanolic extracts of different parts (leaf, stem and root) of the adult palm of *Acrocomia aculeata* and the palm germinated *in vitro*.

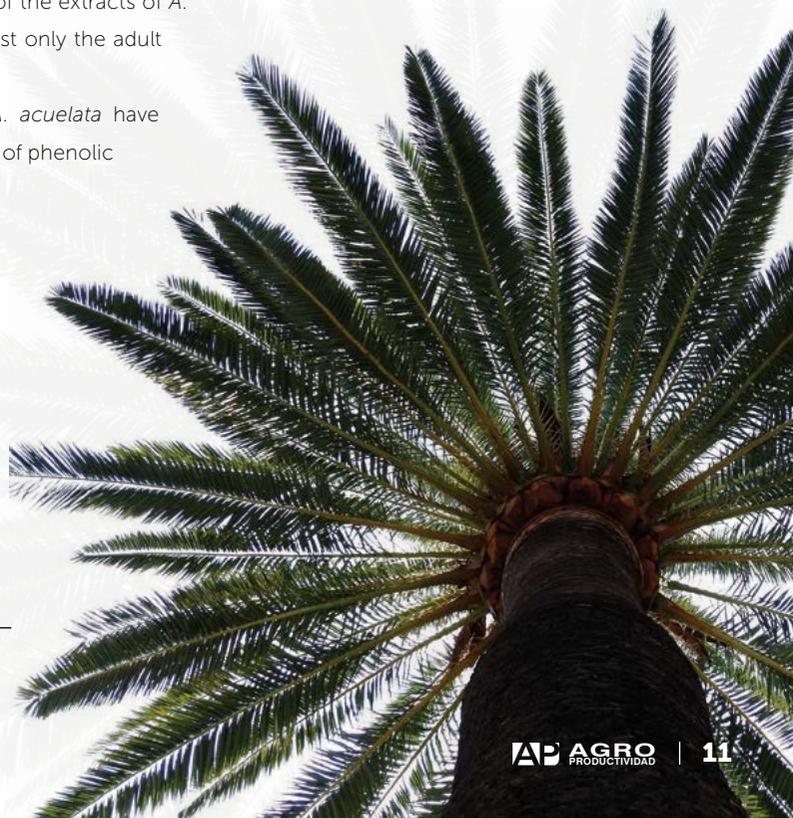
Design / methodology / approximation: The phytochemical study was carried out by means of thin layer chromatography and visible light spectrophotometry; The diffusion method in well and microdilution in plate allowed to evaluate the antibacterial activity of the methanolic extracts, besides determining its cytopathic effect in MDCK cells. A simple variance analysis was performed applying a Tukey mean comparison test at the 5% confidence level.

Results: The palm of *A. aculeata* was propagated *in vitro* from zygotic embryos. The methanolic extracts were obtained from adult and *in vitro* samples. The phytochemical study revealed the presence of flavonoids, coumarins, anthraquinones, saponins and tannins, being the methanolic extracts of *A. aculeata* adult the compounds with the highest phenolic content, and the only ones with bactericidal effect against the Gram+ strains studied, with halos of inhibition of 13 to 18 mm. The MIC was determined between 125 to 250 mg gallic acid equivalents · mL⁻¹. The CC₅₀ values were determined between 125 and 31.25 µg·mL⁻¹.

Limitations of the study / implications: For the CC₅₀ values of the extracts of *A. aculeata*, it is recommended to use for the purpose of the test only the adult root extract and the *in vitro* extracts.

Findings / conclusions: The methanolic extracts of adult *A. aculeata* have bactericidal activity against Gram+ strains, and a high content of phenolic compounds.

Key words: *Acrocomia aculeata*, cytotoxicity, bactericidal activity, phenolic compounds, minimum inhibitory concentration.



RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto antibacteriano de los extractos metanólicos de diferentes partes (hoja, tallo y raíz) de la palma adulta de *Acrocomia aculeata* y la palma germinada *in vitro*.

Diseño/metodología/aproximación: Se realizó el estudio fitoquímico mediante cromatografía en capa fina y espectrofotometría de luz visible; el método de difusión en pozo y microdilución en placa permitieron evaluar la actividad antibacteriana de los extractos metanólicos, además se determinó su efecto citopático en células MDCK. Se realizó un análisis de varianza simple aplicando una prueba de comparación de medias de Tukey a un nivel del 5% de confianza.

Resultados: Se propagó *in vitro* la palma de *A. aculeata* a partir de embriones cigóticos. Los extractos metanólicos se obtuvieron de muestras adultas e *in vitro*. El estudio fitoquímico reveló la presencia de flavonoides, cumarinas, antraquinonas, saponinas y taninos, siendo los extractos metanólicos de *A. aculeata* adulta los de mayor contenido de compuestos fenólicos, y los únicos con efecto bactericida frente a las cepas Gram+ estudiadas, con halos de inhibición de 13 a 18 mm. La CMI se determinó entre 125 a 250 mg equivalentes de ácido gálico·mL⁻¹. Los valores de CC₅₀ se determinaron entre 125 y 31.25 μg·mL⁻¹.

Limitaciones del estudio/implicaciones: Por los valores de CC₅₀ de los extractos de *A. aculeata*, se recomienda utilizar para pruebas posteriores únicamente el extracto de raíz adulta y los extractos *in vitro*.

Hallazgos/conclusiones: Los extractos metanólicos de *A. aculeata* adulta tienen actividad bactericida frente a cepas Gram+, y un alto contenido de compuestos fenólicos.

Palabras clave: *Acrocomia aculeata*, citotoxicidad, actividad bactericida, compuestos fenólicos, concentración mínima inhibitoria.

geográfica en el neotrópico, que habita tanto en ecosistemas naturales como antropogénicos (Henderson *et al.*, 1995). En el sureste de México, principalmente en el estado de Chiapas es una especie amenazada debido a que de la savia del tallo se obtiene y se produce una bebida fermentada llamada taberna. La palma *Acrocomia aculeata* está adaptada a climas tropicales y subtropicales húmedos y secos, soportando temperaturas -4 °C por períodos cortos y sequías prolongadas con precipitaciones de 500 mm (FAO, 2007). Esta especie es perenne con una fase juvenil extendida, de ciclo reproductivo largo y se propaga exclusivamente por semillas (Manfio *et al.*, 2012). Por ello la producción de cultivares puede tardar varias décadas en lograrse (Henry *et al.*, 1994). Lanes *et al.* (2015) informaron que *A. aculeata* muestra amplia variabilidad tanto fenotípica y genotípica, lo que dificulta garantizar la uniformidad de las plantas. Se han realizado diversos estudios con esta especie en varias áreas, que incluyen ecofisiología (Pires *et al.*, 2013), sistema de cruzamiento (Lanes *et al.*, 2016), desarrollo vegetativo (Berton *et al.*, 2013; Machado *et al.*, 2016), desarrollo de la fruta (Montoya *et al.*, 2016), diversidad fenotípica (Ciconini *et al.*, 2013; Lanes *et al.*, 2015; Coser *et al.*, 2016) y aplicaciones biotecnológicas (Moura *et al.*, 2009; Zanderluce-Gomes y Scherwinski-Pereira, 2014; Padilha *et al.*, 2015). Estudios fitoquímicos han revelado la presencia de triterpenos pentacíclicos, flavonoides, esteroides y saponinas de plantas de la familia Arecaceae a la cual pertenece el género *Acrocomia* (Galotta y Boaventura, 2005; Lima *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2016). Diversas partes de esta especie presentan propiedades químicas y biológicas de interés

INTRODUCCIÓN

Los productos naturales derivados de plantas ha cobrado importancia gracias a sus principios activos útiles en farmacología y en biología química. Muchas de las drogas actuales tienen estructuras que se derivan total o parcialmente de componentes fitoquímicos que han demostrado actividad biológica o antioxidante, tal es el caso de los flavonoides, un grupo importante de polifenoles, que pueden reducir el estrés oxidativo en enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, diabetes mellitus, asma y trastornos oculares (Andreescu *et al.*, 2011; Parejo *et al.*, 2002). En los últimos años ha aumentado el interés en extraer metabolitos de fuentes vegetales, con el fin de obtener una alternativa segura, natural y de bajo costo, que no posean efectos tóxicos y mutagénicos. El aumento de microorganismos resistentes a agentes antimicrobianos es el principal problema en la ciencia médica para el tratamiento de enfermedades infecciosas, y la necesidad de ampliar el arsenal terapéutico ha conducido al análisis de extractos obtenidos de diversas plantas en búsqueda de nuevos compuestos naturales bioactivos que conduzcan al desarrollo de fármacos. La palma *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. Ex Mart., también conocida en México como coyol, es un miembro monoico de la familia Arecaceae con una amplia distribución

farmacológico. Por ejemplo, en la raíz se identificó un compuesto hipoglucémico llamado coyolosa (Pérez et al., 1997); mientras que en el fruto se aisló galactoglucomanano, un polisacárido inmunoestimulante (Silva et al., 2009).

Esta investigación está orientada al análisis fitoquímico de *A. aculeata*, y su actividad antibacteriana sobre agentes causales de enfermedades infecciosas como lo son *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*, así como evaluar la citotoxicidad de los compuestos fenólicos presentes en los extractos de *A. aculeata* adulta y germinada *in vitro* sobre la línea celular de epitelio de riñón canino Madin-Darby (MDCK) que es estable genéticamente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Los racimos de frutos, hojas, tallo y raíces de la palma de *Acrocomia aculeata* se recolectaron de la zona ubicada a una altitud de 620 msnm, 16° 47' 48" latitud norte y 93° 48' 25.4" longitud oeste, en los ejidos de San Sebastián y Triunfo Madero del municipio de Cintalapa, Chiapas, México.

Propagación *in vitro* de la palma *Acrocomia aculeata*

El endospermo se extrajo de cada fruto, se sumergió en una solución de etanol al 70% durante 5 minutos; luego se colocó en una solución de hipoclorito de sodio al 20% durante 10 minutos, después de cada tratamiento se enjuagó con agua destilada estéril 3 y 5 veces, respectivamente, y en condiciones asépticas se retiró el embrión. Estos se sembraron en un medio de cultivo con sales MS (Murashige y Skoog, 1962)

al 50%, 20 g·L⁻¹ de sacarosa, 2.5 g·L⁻¹ de fitagel, 2 g·L⁻¹ de carbón activado, 175 mg·L⁻¹ de ácido cítrico y 170 mg·L⁻¹ de ácido ascórbico, el pH final del medio fue ajustado a 5.7 con NaOH 0.1 N. Los embriones cigóticos se incubaron en cámara bioclimática a 20 °C en oscuridad las 24 h durante el primer mes de germinación y posteriormente con fotoperiodo de 16 h luz y 8 h oscuridad.

Preparación de extractos

Se maceraron 2 gramos de material vegetal previamente secado y molido en 25 mL de metanol durante 120 min a temperatura ambiente a 180 rpm. Posteriormente la mezcla se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se concentró a presión reducida a una temperatura de 45 °C en un rotavapor (BÜCHI) y el residuo obtenido se resuspendió en 1 mL de metanol y se almacenó en congelación hasta su análisis.

Análisis fitoquímico

El análisis cualitativo de compuestos fitoquímicos se realizó por cromatografía de capa fina (CCF); utilizando como fase estacionaria placas de gel de sílice 60 F₂₅₄ de 10×10 cm (SANPONT) y como fase móvil: hexano:acetato de etilo:ácido acético (31:14:5), (Harborne, 2000). Se aplicaron 10 µL de cada uno de los extractos en la placa de gel de sílice, después la placa se colocó en un cromatotank previamente saturado y las muestras se eluyeron durante 20 minutos.

Las placas de cromatografía se revelaron empleando luz visible y UV ($\lambda=254$ y 365 nm) utilizando una lámpara fluorescente de luz ultravioleta de onda corta (Chromatovue[®] C-75), o bien asperjando

sobre la placa. El reactivo revelador correspondiente: flavonoides: 2-aminoetil difenilborinato al 1% en metanol; cumarinas, antronas y antraquinonas: KOH al 5% en etanol; las placas para saponinas y taninos fueron rociadas con el reactivo de vainillina al 8% en metanol y H₂SO₄, con calentamiento en Parrilla (OHAUS) a 100 °C durante 5 min (Wagner et al., 1996).

El análisis cuantitativo de los grupos de metabolitos secundarios presentes en los extractos se realizó utilizando un espectrofotómetro de luz visible (DR5000-03 HACH). Los estándares químicos utilizados fueron equivalentes de quercetina (Chang et al., 2002); el contenido total de flavonoides se estimó como equivalentes de rutina (Robertson y Hall, 1989) y el contenido de fenoles totales se estimó como equivalentes de ácido gálico (Singleton et al., 1999).

Actividad antibacteriana

Microorganismos

Las cepas Gram+ fueron: *Staphylococcus aureus* (ENCB-16883), *Staphylococcus epidermidis* (IHO-8580) y *Bacillus subtilis*, (NRRL-B-941); la cepa Gram- fue *Escherichia coli* (IHO-1879). Todas las cepas se obtuvieron de la colección de laboratorio de microbiología del Tecnológico Nacional de México, Campus Tuxtla Gutiérrez.

Método de Difusión en Pozo

La actividad bactericida de extractos metanólicos de *A. aculeata* se basó en el método de difusión en pozo. Se colocaron 20 mL de agar Müller-Hinton en cajas Petri y se inocularon con 100 µL de una suspensión del microorganismo correspondiente, a

una concentración de 1×10^6 UFC·mL⁻¹. Posteriormente, se realizaron tres orificios en el agar ($\varnothing=0.6$ cm). En cada pozo se depositaron 80 μ L de extracto (1 mg equivalentes de ácido gálico mL⁻¹), usando metanol como control negativo y ampicilina a una concentración de 0.2 mg mL⁻¹ como control positivo. La prueba se realizó por triplicado. Los halos de inhibición se determinaron en milímetros.

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

La concentración mínima inhibitoria se evaluó sólo a los extractos que evidenciaron inhibición frente a las bacterias de referencia, utilizando el método de microdilución en caldo usando placas de 96 pozos. Se utilizó caldo Müeller-Hinton, las concentraciones de extracto evaluadas fueron de 1 a 0.0625 mg de equivalentes de ácido gálico·mL⁻¹. La concentración de los inóculos bacterianos se ajustó a 1×10^6 UFC·mL⁻¹, el control negativo fue metanol y el control positivo ampicilina. Se leyó la absorbancia en un lector VICTOR X3 Perkin Elmer 2030 Multilabel a 490 nm en el tiempo 0 y 24 h después de la inoculación. Las microplacas se incubaron a 37 °C. Las pruebas se evaluaron por triplicado. Los pozos que no presentaron crecimiento se resembraron en cajas Petri que contenían agar Müeller-Hinton para corroborar la ausencia de bacterias viables en ellos.

Citotoxicidad

Se evaluó el efecto citopático de los extractos de *A. aculeata* de acuerdo con el método descrito por Kujungiev *et al.* (1999) y Mothana *et al.* (2010). Con este fin, las células de riñón canino Madin-Darby (MDCK) se sembraron en placas de 96 pozos con una densidad celular de 1×10^5 células por pozo que fueron incubadas a 37 °C con 5% de CO₂ por 24 h. Se hicieron diluciones seriadas de cada extracto de *A. aculeata* a concentraciones de 250 hasta 15.625 μ g de equivalentes de ácido gálico·mL⁻¹, en medio Eagle modificado Dulbecco (DMEM) (InvitroGen); después de lavar las células 2 veces con una solución amortiguadora de fosfatos (PBS), se agregó a cada pozo 120 μ L de la dilución correspondiente y se incubaron por 72 h a 37 °C con 5% de CO₂. Estas pruebas se realizaron por cuadruplicado y también se incluyó un control celular, que solo contenía DMEM. Después de 72 h de incubación, las células se lavaron dos veces con PBS y posteriormente se tiñeron con 50 μ L de una solución de cristal violeta al 0.4% en metanol durante 30 min (Smee *et al.*,

2002). La viabilidad celular se determinó comparando la densidad óptica (OD) de las células en un lector VICTOR X3 Perkin Elmer 2030 Multilabel a 490 nm en presencia de las diferentes concentraciones de extracto, considerando a las células control como el 100% de células viables.

$$\% \text{viabilidad celular} = \left[\frac{\text{DO células con muestra}}{\text{DO control de células}} \right] \times 100$$

La citotoxicidad celular media (CC₅₀) se determinó graficando la concentración de fenoles totales (μ g·mL⁻¹) evaluadas para cada muestra frente a la viabilidad celular expresada en porcentaje (%) a través de un análisis de regresión exponencial.

Análisis estadístico

Los resultados se evaluaron estadísticamente con el programa Statgraphics Centurion XVI, mediante un análisis de varianza simple aplicando una prueba de comparación de medias de Tukey con $\alpha=0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis fitoquímico

El tamizaje fitoquímico de los extractos metanólicos de *A. aculeata* reveló la presencia de diferentes clases de compuestos químicos, tales como: flavonoides, cumarinas, antraquinonas, saponinas y taninos, excepto antroanas (Cuadro 1). El extracto de hojas adultas (HA) mostró mayor abundancia de flavonoides, antraquinonas y saponinas, mientras que los extractos de palma *in vitro* (HI, TI y RI), tuvieron poca presencia de flavonoides y saponinas y nula presencia de taninos. La presencia de flavonoides se observó en todos los extractos, mientras que taninos sólo se identificaron en los extractos de palma adulta.

Los valores del contenido de flavonas y flavonoles, flavonoides totales y fenoles totales presentaron diferencias estadísticas significativas siendo mayor en los extractos metanólicos de palma adulta (HA, TA y RA), principalmente en hojas (Cuadro 2). En los extractos de palma *in vitro* (HI, TI y RI), se determinó un bajo contenido de fenoles totales, alrededor del 50% de éste correspondió a flavonoides.

Actividad antibacteriana

Los extractos de *A. aculeata* adulta presentaron actividad antibacteriana sobre las cepas Gram+ evaluadas (Cuadro 3). El análisis de los halos de inhibición indicó que

Cuadro 1. Identificación cualitativa de componentes fitoquímicos de extractos metanólicos de *Acrocomia aculeata*.

Extracto metanólico	Metabolitos secundarios					
	Flavonoides	Cumarinas	Antronas	Antraquinonas	Saponinas	Taninos
HA	+++	–	–	+++	+++	+
TA	++	++	–	–	–	+++
RA	++	++	–	–	–	+
HI	+	++	–	++	+	–
TI	+	++	–	+	+	–
RI	+	–	–	+	+	–

Presencia y abundancia cualitativa de los componentes fitoquímicos: muy abundante (+++), moderado (++), poco (+), no disponible (–), según lo reportado por Kamatenesi-Mugisha et al. (2013). H: hoja, T: tallo; R: raíz, A: adulto, I: *in vitro*.

Cuadro 2. Cuantificación de metabolitos secundarios en extractos metanólicos de *A. aculeata*.

Extracto metanólico	Metabolitos Secundarios		
	Flavonas y flavonoles	Flavonoides totales	Fenoles totales
HA	1911.67±35.20 a	8593.33±284.86 a	10712.38±136.69 a
TA	965.83±28.35 b	7126.67±346.36 b	7455.24±176.64 b
RA	438.65±25.77 cd	3793.33±201.23 c	3902.86±252.34 c
HI	432.5±21.60 cd	1393.33±96.36 e	3502.86±163.30 cd
TI	504.17±67.12 c	1793.34±104.28 d	3350.48±188.56 de
RI	220.83±42.81 e	1704.28±169.97 d	3226.67±58.71 e

Valores expresados en microgramos (equivalentes de quercetina, rutina y ácido gálico según corresponda) por mililitro ($\mu\text{g mL}^{-1}$). Promedios de seis repeticiones seguido por al menos una misma letra no son significativamente diferentes en $P \leq 0,05$, prueba de Tukey. H: hoja, T: tallo; R: raíz, A: adulto, I: *in vitro*.

Cuadro 3. Actividad antibacteriana de extractos metanólicos de *A. aculeata* usando el método de difusión en pozo.

Extracto metanólico	Halos de inhibición (mm)			
	Bacterias Gram+			Bacteria Gram–
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>
HA	14.57±0.25 ^b	18.37±0.58 ^a	13.07±0.87 ^c	--
TA	13.50±0.19 ^c	14.63±0.05 ^b	15.00±0.24 ^b	--
RA	13.23±0.31 ^c	14.53±0.21 ^b	11.80±0.24 ^d	--

Promedios de seis repeticiones seguido por al menos una misma letra no son significativamente diferentes en $P \leq 0,05$, prueba de Tukey. H: hoja, T: tallo; R: raíz, A: adulto, I: *in vitro*.

hay diferencia estadística significativa, siendo el extracto de hoja adulta (HA) el que mostró mayor efecto inhibitorio ante *S. epidermidis* observándose un halo de inhibición de 18.37 ± 0.58 mm, mientras que para *B. subtilis* el diámetro del halo fue de 13.07 ± 0.87 mm. No hubo diferencia estadística en el efecto de inhibición de los extractos de tallo y raíz de palma adulta (TA y RA) frente a las cepas del género *Staphylococcus*. La cepa menos sensible a la presencia de los extractos fue *S. aureus*, con halos de inhibición entre 14.57 ± 0.25 y 13.23 ± 0.31 mm. Chouna et al. (2009), indica que las bacterias Gram+ tienden a ser más susceptibles ya que su pared celular es menos compleja y carecen de una filtración efectiva

contra grandes moléculas y debido al tamaño de los poros en su envoltura celular son menos selectivas.

Los extractos de plántulas *in vitro* no presentaron actividad bactericida, debido a que las plántulas se mantuvieron aisladas del ataque de microorganismos por lo que los metabolitos secundarios producidos por parte de la planta no tienen la función específica de defensa ante un posible ataque de los mismos (bacterias).

La actividad bactericida positiva de los extractos de *A. aculeata* frente a las bacterias Gram+ se atribuye a la presencia de compuestos fenólicos principalmente

flavonoides y taninos. El esqueleto carbonado de los flavonoides puede tener diversas clases de sustituyentes que le permiten interactuar con las membranas de bacterias Gram+ y Gram-, los grupos hidroxilos y los azúcares aumentan la solubilidad de los flavonoides en agua, lo cual le brinda la capacidad de migrar a través del medio acuoso extracelular y formar complejos con proteínas que se encuentran en las membranas (Grange y Davey, 1990). Mientras que la presencia de otros sustituyentes como grupos metilésteres o unidades modificadas de isopentilo les brinda un carácter lipofílico (hidrofóbico), con lo que es posible explicar la nula sensibilidad de la bacteria *E. coli* una cepa Gram-, cuya membrana está compuesta principalmente de lipopolisacáridos, que forman una barrera de permeabilidad hidrofílica proporcionando efectos de protección contra compuestos hidrofóbicos. En el caso de los taninos, se ha reportado que actúan como antimicrobianos provocando la desnaturalización de las proteínas ya que reducen la tensión superficial y también actúan sobre los lípidos de la membrana, además tienen la capacidad para inactivar la adherencia de células microbianas e inhibir enzimas hidrolíticas (Murphy, 1999).

También se ha reportado que las catequinas (taninos no hidrolizables o condensados) parecen tener una mayor actividad frente a Gram+ que las bacterias Gram-, por lo cual se han presentado dos teorías al respecto, primero que este gru-

po de polifenoles afecta a la membrana bacteriana al perturbar la función de barrera debido a que atacan directamente a la bicapa de lípidos al penetrarlas. Alternativamente, las catequinas pueden causar la fusión de la membrana, un proceso que resulta en la fuga de los materiales y agregación intramembranal (Ikigai et al., 1993).

Concentración mínima inhibitoria (CMI)

El crecimiento bacteriano fue interrumpido en un lapso de 24 horas, donde se determinó que la CMI de

de 0.125 mg equivalentes de ácido gálico·mL⁻¹. Esta concentración también fue la mínima inhibitoria de todos los extractos evaluados frente a la cepa *Staphylococcus epidermidis* (Figura 1).

Las tres cepas evaluadas mostraron ser muy sensibles a los compuestos presentes en los extractos de palma adulta de *A. aculeata* según lo reportado por Avellaneda et al. (2005), debido a que la CMI fue inferior a 12.5 mg·mL⁻¹.

Citotoxicidad

Con el propósito de detectar efectos adversos de los compuestos presentes en los extractos de *A. aculeata* de palma adulta e *in vitro*, para la supervivencia, proliferación y función celular, se realizó el bioensayo de citotoxicidad sobre la línea MDCK, la prueba demostró que a medida que se incrementa la concentración del extracto, se afecta la viabilidad celular. Después de 72 h de incubación se determinó que la concen-

tración citotóxica media (CC₅₀) para los extractos de palma *in vitro* y de raíz adulta es por debajo de 250 µg equivalentes de ácido gálico·mL⁻¹, lo que evidencia su carácter tóxico en las células (Cuadro 4).

No fue posible determinar la CC₅₀ para los extractos de tallo y hoja adulta debido a que estos afectaron al 100% de las células aplicando la mínima concentración evaluada que correspondió a 15.625 µg equivalentes de ácido gálico mL⁻¹.

CONCLUSIONES

Los extractos de hojas, tallo y

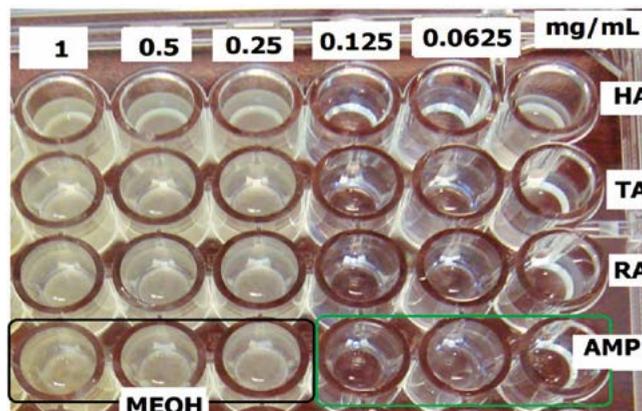


Figura 1. Concentración mínima inhibitoria de los extractos de *A. aculeata* frente a *S. epidermidis*. R=raíz, H=hoja, T=tallo, A=adulto, AMP=ampicilina, MEOH=metanol.

los extractos de tallo y raíz de *A. aculeata* adulta frente a las cepas *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* fue de 0.25 mg equivalentes de ácido gálico·mL⁻¹, mientras que con el extracto de hoja la CMI fue

Cuadro 4. Evaluación del efecto citopático en células MDCK de los extractos metanólicos de *A. aculeata* después de 72 h de incubación.

Extracto metanólico	CC ₅₀ (µg mL ⁻¹)
RA	125
HI	62.5
TI	62.5
RI	31.25

CC₅₀: concentración que provocó la reducción de células viables en un 50%.

R=raíz, H=hoja, T=tallo, A=adulto, I=*in vitro*.

raíz de la palma de coyol (*Acrocomia aculeata*) poseen fitoquímicos con potencial biológico principalmente compuestos fenólicos (flavonoides, cumarinas, taninos y antraquinonas). Los extractos de plantas de esta de edad adulta mostraron actividad bactericida frente a cepas Gram+ principalmente sobre *S. epidermidis* y carecen de tal efecto con cepas Gram-. Los compuestos fenólicos presentes en los extractos obtenidos de plántulas *in vitro* son menos tóxicos que los de palma adulta, pero no mostraron actividad antibacterial.

LITERATURA CITADA

- Andreescu S., Hepel M., Sen S., Chakraborty R. 2011. Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy, American Chemical Society, Washington, D. C., USA.
- Avellaneda S., Rojas N., Cuéllar A., Fonseca R. 2005. Actividad antibacteriana de *Diphyssa minutifolia* Rose. Revista Cubana de Plantas Medicinales 10(2): 42-47.
- Berton L.H.C., Azevedo Filho J.A., Siqueira W.J., Colombo C.A. 2013. Seed germination and estimates of genetic parameters of promising macaw palm (*Acrocomia aculeata*) progenies for biofuel production. Industrial Crops and Products 51: 258-266.
- Chang C.C., Yang M.H., Wen H.M., Chern J.C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, Journal of Food and Drug Analysis 10: 178-182.
- Chouna J.R., Nkeng-Efouet P.A., Lenta B.N., Devkota K.P., Neumann B., Stammler H.G. 2009. Antibacterial endiandric acid derivatives from *Beilschmiedia anacardioides*. Phytochemistry 70(5): 684-688.
- Ciconini G., Favaro S.P., Roscoe R, Miranda C.H.B., Tapeti C.F., Miyahira M.A.M., Bearari L., Galvani F., Borsato A.V., Colnago L.A. 2013. Biometry and oil contents of *Acrocomia aculeata* fruits from the Cerrados and Pantanal biomes in Mato Grosso do Sul, Brazil. Industrial Crops and Products 45: 208-214.
- Coser S.M., Motoike S.Y., Corrêa T.R., Pires T.P., Resende M.D.V. 2016. Breeding of *Acrocomia aculeata* using genetic diversity parameters and correlations to select accessions based on vegetative, phenological, and reproductive characteristics. Genetics and Molecular Research 15(4): gmr15048820
- FAO (2007). Ecocrop. Data sheet. *Acrocomia aculeata*. Retrieved from <http://ecocrop.fao.org/ecocrop/srv/en/dataSheet?id=2783>. (Consultado el 12 de marzo de 2018).
- Galotta A.L.Q.A., Boaventura M.A.D. 2005. Constituintes químicos da raíz e do talo da folha do açai (*Euterpe precatoria* MART. Arecaceae). Química Nova 28(4): 610-613.
- Grange J., Davey R. 1990. Antibacterial properties of propolis (bee glue). Journal of the Royal Society of Medicine 83(3):159-60.
- Harborne J.B., Williams C.A. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry. 55: 481-504.
- Henderson A., Galeano G., Bernal R. 1995. Field Guide to the Palms of the Americas. Princeton University Press, New Jersey.
- Henry Y., Vain P., De Buyser J. 1994. Genetic analysis of *in vitro* plant tissue culture responses and regeneration capacities. Euphytica 79: 45-58.
- Ikgai H., Nakae T., Hara Y., Shimamura T. 1993. Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. Biochimica et Biophysica Acta 1147: 132-136.
- Kamatenesi-Mugisha M., Buyungo J.P., Ogwal P., Kasibante A., Deng A.L., Ogendo J.O., Mihale M.J. 2013. Oral acute toxicity study of selected botanical pesticide plants used by subsistence farmers around the Lake Victoria Basin. African Journal of Environmental Science and Technology 7(3): 93-101.
- Kujumgiev A., Tsvetkova I., Serkedjieva Y., Bankova V., Christov R., Popov S. 1999. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. Journal of Ethnopharmacology 64: 235-240.
- Lanes E.C., Motoike S.Y., Kuki K.N., Nick C., Freitas R.D. 2015. Molecular characterization and population structure of the macaw palm, *Acrocomia aculeata* (Arecaceae), *ex situ* germplasm collection using microsatellites markers. Journal of Heredity 106: 102-112.
- Lanes E.C.M., Motoike S.Y., Kuki K.N., Resende M.D.V., Caixeta E.T. 2016. Mating system and genetic composition of the macaw palm (*Acrocomia aculeata*): implications for breeding and genetic conservation programs. Journal of Heredity 107: 527-536.
- Lima E.B.C., Sousa C.N.S., Meneses L.N., Ximenes N.C., Ximenes N.C., Santos Jr. M.A., Vasconcelos G.S., Lima N.B.C., Patrocínio M.C.A., Macedo D., Vasconcelos S.M.M. 2015. *Cocos nucifera* (L.) (Arecaceae): a phytochemical and pharmacological review. Brazilian Journal of Medical and Biological Research 48(11): 953-964.
- Machado W., Figueiredo A., Guimarães M.F. 2016. Initial development of seedlings of macauba palm (*Acrocomia aculeata*). Industrial Crops and Products 87: 14-19.
- Manfio C.E., Motoike S.Y., Resende M.D.V., Santos C.E.M., Sato A.Y. 2012. Avaliação de progênies de *A. aculeata* na fase juvenil e estimativas de parâmetros genéticos e diversidade genética. Pesquisa Florestal Brasileira 32: 63-68.
- Mothana R.A.A., Abdo S.A.A., Hasson S., Althawab F.M.N., Alaghbari S.A.Z., Lindequist U. 2010. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities and phytochemical screening of some yemeni medicinal plants. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine 7(3): 323-330.
- Montoya S.G., Motoike S.Y., Kuki K.N., Couto A.D. 2016. Fruit development, growth, and stored reserves in macauba palm (*Acrocomia aculeata*), an alternative bioenergy crop. Planta 244: 927-938.
- Moura E.F., Motoike S.Y., Ventrella M.C., Sá A.Q., Carvalho J.M. 2009. Somatic embryogenesis in macaw palm (*Acrocomia aculeata*) from zygotic embryos. Scientia Horticulturae 119(4): 447-454.
- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiology. 15: 473-479.
- Murphy C.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews 12: 564-582.
- Oliveira A.I.T., Mahmoud T.S., Nascimento G.N.L., Silva J.F.M., Pimenta R.S., Morais P.B. 2016. Chemical composition and antimicrobial potential of palm leaf extracts from babaçu (*Attalea speciosa*), buriti (*Mauritia flexuosa*), and macaúba (*Acrocomia aculeata*). The Scientific World Journal Article ID 9734181,
- Padilha J.H.D., Ribas L.L.F., Amano É., Quoirin M. 2015. Somatic embryogenesis in *Acrocomia aculeata* Jacq. (Lodd.) ex Mart

- using the thin cell layer technique. *Acta Botanica Brasílica* 29: 516-523.
- Parejo A., Viladomat F., Bastida J., Rosas-Romero A., Flerlage N., Burillo J., Codina C. 2002. Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled mediterranean herbs and aromatic plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 6882-6890.
- Pérez S.G., Perez-Gutierrez R.M., Perez G., Zavala C.S., Vargas R. 1997. Coyolosa: a new hypoglycemic from *Acrocomia mexicana*. *Pharmaceutica Acta Helvetiae* 72: 105-111.
- Pires T.P., dos Santos Souza E., Kuki K.N., Motoike S.Y. 2013. Ecophysiological traits of the macaw palm: a contribution towards the domestication of a novel oil crop. *Industrial Crops and Products* 44: 200-210.
- Robertson A., Hall M.N. 1989. A critical investigation into the flavonost Method for Thea flavin Analysis in Black Tea. *Food Chemistry* 34: 57-70.
- Silva B.P., Silva G.M., Parente J.P. 2009. Chemical properties and adjuvant activity of a galactoglucomannan from *Acrocomia aculeata*. *Carbohydrate Polymers* 75: 380-384.
- Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent, *Methods in Enzymology*. 299:152-178.
- Smee D.F., Morrison A.C., Barnard D.L., Sidwell R.W. 2002. Comparison of colorimetric, fluorometric, and visual methods for determining anti-influenza (H1N1 and H3N2) virus activities and toxicities of compounds. *Journal of Virological Methods* 106:71-79.
- Wagner H., Bladt S., Zgainsk E.M. 1996. *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography*. Springer-Verlag, Berlin.
- Zanderluce-Gomes L., Scherwinski-Pereira E.J. 2014. An improved protocol for somatic embryogenesis and plant regeneration in macaw palm (*Acrocomia aculeata*) from mature zygotic embryos. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 118: 485-496.

