

**ESTUDIO PRELIMINAR DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Ariocarpus fissuratus*,
Prosopis glandulosa Y *Agave lechuguilla* TORREY**

A. Pimentel^{a,*}, A. Valenzuela^a, E. Gutiérrez^a, D. Ontiveros^a, A. Sandoval^a, V. Rodríguez^a, M. A. Díaz^a, F. Hernández^a, Ma. Del S. Linaje^a, J. M. Villarreal^a, N. De La Fuente^a, C. M. Valencia^a.

^a Universidad Autónoma de Coahuila, Escuela de Ciencias Biológicas
Carretera Torreón Matamoros, km 7.5 C.P. 27104, Torreón, Coahuila, México
cmanuel53@yahoo.com.mx

RESUMEN:

El objetivo del presente estudio fue medir el efecto inhibitorio de los extractos acuosos de diferentes partes del *Prosopis glandulosa*, de *Ariocarpus fissuratus*, y *Agave lechuguilla*, sobre 23 cepas de bacterias grampositivas y gramnegativas. Se pesaron de 3 a 5 g de las muestras, y se procesaron con un equipo para extracción soxhlet, utilizando éter grado reactivo, tomando un tiempo de 2.5 h. Los extractos se almacenaron en oscuridad mientras que los residuos se secaron a 37±3°C por espacio de 24 h para evaporar el solvente restante, luego se homogenizaron al 10% en agua destilada (p/v) y se llevaron a ebullición por espacio de 3 min. Las muestras se filtraron y se separaron en una centrífuga y finalmente los sobrenadantes acuosos obtenidos se esterilizaron por filtración con membrana de 0.20 µ. Para la actividad antimicrobiana, se probaron contra distintos patógenos los cuales se incubaron en caldo soya tripticaseína a la temperatura de cada microorganismo toda la noche. Bajo las condiciones preliminares en las que se llevó el estudio, se concluye que los extractos acuosos de *P. glandulosa* y de *A. lechuguilla*, mostraron un importante potencial de inhibición del crecimiento bacteriano.

ABSTRACT:

The aim of this study was to measure the inhibitory effect of aqueous extracts from different parts of *P. glandulosa*, and *A. fissuratus* and *Agave lechuguilla*, about 23 strains of gram-positive and gram-negative bacteria. Was weighed 3 -5 g of samples, and processed with a soxhlet extraction using reagent grade ether, taking time 2.5 h. The extracts were stored in the dark while residues were dried at 37 ± 3 ° C for 24 h to evaporate the remaining solvent, then homogenized at 10% in distilled water (w / v) and were boiled for space 3 min. The samples were filtered and separated in a centrifuge and finally the obtained aqueous supernatants were sterilized by filtration with 0.20 µ membrane. For antimicrobial activity, they were tested against various pathogens which were incubated in tryptic soy broth to each microorganism temperature overnight. Under the preliminary conditions under which the study was concluded that the aqueous extracts of *P. glandulosa* and *A. lechuguilla*, showed significant potential for inhibition of bacterial growth.

Palabras clave:

Ariocarpus, *Prosopis*, *Agave lechuguilla*

Keyword:

Ariocarpus, *Prosopis*, *Agave lechuguilla*

Área: Microbiología y Biotecnología

INTRODUCCIÓN

En las zonas áridas y semiáridas del norte de México, en especial la ecoregión conocida como Desierto Chihuahuense, se encuentra una gran riqueza de especies vegetales, entre las que destacan los cactus, los agaves y otras especies como los arbustos, que forman parte del matorral xerófito.

Una especie emblemática del Desierto Chihuahuense es el mezquite (*Prosopis glandulosa*), el cual es utilizado principalmente como fuente de forraje para el ganado, en particular su vaina, y

para la producción de leña y carbón. Estos usos han ocasionado que el tamaño de las poblaciones de la planta disminuyan e incluso en algunos casos desaparezcan. Recientemente, se ha investigado su actividad biológica contra bacterias y hongos, mostrando un importante potencial de los extractos obtenidos, como una nueva fuente de agentes antimicrobianos (Thakur *et al.* 2014). En el caso de los agaves, uno de los más abundantes, pero también de los más subestimados, es el *Agave lechuguilla*. Su aprovechamiento, además de exigir jornadas de trabajo extenuantes, es muy poco remunerativo. La obtención del ixtle es su principal uso. También se le atribuyen efectos de actividad antimicrobiana, actividad citotóxica (Reséndiz *et al.*, 2010) y de bio absorción de metales pesados (Medellín *et al.*, 2014), relacionados con las sustancias bioactivas presentes en su composición, tales como las saponinas, esteroides, compuestos fenólicos y fibra (Ramos *et al.*, 2012). Los cactus del género *Ariocarpus*, son conocidas como plantas parecidas al peyote (*Lophophora williamsii*). En comunidades como las de la Reserva Ecológica Municipal Sierra y Cañón de Jimulco, se utiliza por los pobladores para curar el dolor de la artritis, existe la idea de que se trata del peyote, lo que ha intensificado su extracción al grado de estar en la NOM-059-Semarnat 2010 como especies en peligro de extinción, este es el caso del *A. kotschoubeyanus* y del *A. fissuratus* presentes en la reserva. Algunos estudios muestran que los extractos obtenidos a partir de estas especies, en particular de la primera, presentan actividad antimicrobiana sobre *Bacillus cereus* y *B. subtilis* a una dosis de 100 mg/ml, sin embargo, el extracto metanólico de otra especie el *A. retusus*, cuenta con un mayor espectro de actividad antimicrobiana contra *B. subtilis*. Así mismo, ambos extractos presentan efectos antifúngicos sobre *Micosporum gypseum* y *Mycosporum nanum* (dosis de 125 mg/ml) (Rodríguez *et al.*, 2010). Igualmente, se ha reportado que el extracto de *A. retusus* también presenta actividad contra *Trichophyton tonsurans* y *Micosporum cookei* (Rodríguez-Garza *et al.*, 2011).

Acorde con lo anterior y, debido al uso inadecuado de fármacos así como al incremento de microorganismos resistentes que se ha convertido en un problema a nivel mundial, es necesario encontrar nuevos compuestos con propiedades antibacterianas, siendo los extractos de plantas una fuente fundamental para obtener dichos compuestos.

El objetivo principal del presente estudio preliminar fue: medir el efecto inhibitorio de los extractos acuosos de la hoja y flor de mezquite, de la corona y tallo-raíz de dos especies de falso peyote, y de la hoja, cogollo y piña-raíz de lechuguilla, sobre 23 cepas de bacterias grampositivas y gramnegativas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Para la recolección de la muestra de *Ariocarpus fissuratus*, se obtuvo un permiso de colecta científica de la Dirección General de Vida Silvestre, Subsecretaría de Gestión para la Protección Ambiental de la SEMARNAT, según consta en el Oficio Núm. SGPA/DGVS 02824¹⁵, la cual se llevó a cabo en la Reserva Ecológica Municipal Sierra y Cañón de Jimulco. La misma reserva donó un ejemplar de *Agave lechuguilla* y las muestras de *Prosopis glandulosa* se obtuvieron en ejemplares presentes en el Campus Universitario.

Preparación del material vegetal

Las especies vegetales *Ariocarpus fissuratus* y *Agave lechuguilla* se lavaron para eliminar el exceso de tierra y cuerpos extraños, separando el *Ariocarpus* en corona y tallo-raíz. Las plantas de *A. lechuguilla* se separaron en hojas, cogollo, piña-raíz. De las muestras de *Prosopis glandulosa* únicamente se enjuagaron las hojas, separando la flor de la rama. Todas las muestras se secaron en un horno (Thermo) a $40\pm 3^{\circ}\text{C}$ por espacio de 48 h. Posteriormente se redujo el tamaño de las muestras de *Ariocarpus* y *Prosopis* mediante un mortero con pistilo. Las muestras de *A. lechuguilla* se trituraron en un molino (Wiley). Las muestras se almacenaron hasta su uso.

Extracción del material vegetal

Del *A. fissuratus*, *A. lechuguilla* y *P. glandulosa* se pesaron de 3 a 5 g de las muestras, usando la corona y tallo-raíz para el *Ariocarpus* así como la hoja, cogollo y piña-raíz para *A. lechuguilla*, mientras que con *P. glandulosa* se usaron las 2 muestras obtenidas. Cada muestra se procesó con un equipo para extracción soxhlet, utilizando éter grado reactivo, tomando un tiempo de 2.5 h.

Los extractos obtenidos se almacenaron en oscuridad para su posterior concentración y uso, mientras que los residuos se secaron a $37\pm 3^{\circ}\text{C}$ por espacio de 24 h para evaporar el solvente restante. Pasado este tiempo se homogenizaron al 10% en agua destilada (p/v) y se llevaron a ebullición por espacio de 3 min. Transcurrido este tiempo y una vez atemperadas las muestras se filtraron con gasa para posteriormente separarlas en una centrifuga (Hermle Labortechnik GmbH) a 10,000 rpm x 20 min a 4°C . Finalmente los sobrenadantes acuosos obtenidos se esterilizaron por filtración con membrana de $0.20\ \mu\text{m}$ (Filtro Milipore).

Determinación de actividad antimicrobiana mediante difusión en pozos

La actividad antimicrobiana, ocasionada por los extractos acuosos, fue evaluada en distintos patógenos. Éstos se incubaron en caldo soya tripticaseína (CST, DIBCO) a la respectiva temperatura de cada microorganismo toda la noche (Tabla 1). Posteriormente se tomó su OD y se sembró en CST fresco por 2 horas, midiendo nuevamente su OD e inoculándose al 0.7 % (v/v) con agar de pozos fundido y templado (AP; 0.012% agar bacteriológico BIOXON, 0.15% CST, p/v). A las placas solidificadas se les realizaron pocillos de 8 mm de diámetro.

A cada uno de estos pocillos se les añadió un volumen de 100 μL de cada extracto acuoso. Posteriormente se difundieron los extractos en refrigeración a 4°C toda la noche. Pasado este tiempo se incubaron por 24 horas a la temperatura respectiva de cada microorganismo. De control se utilizó una solución de yodo al 1%.

La determinación de la actividad antimicrobiana de cada extracto se realizó por medio de la fórmula:

$$A = \pi r^2 = \pi \left(\frac{D}{2}\right)^2 = \pi \frac{D^2}{4}$$

De acuerdo al área (A) calculada según el diámetro (D) o radio (r) del halo de inhibición. Los resultados se expresaron en UA, definiéndose 1 UA= 1 mm^2 del halo de inhibición del crecimiento bacteriano.

Grampositivas	T ($^{\circ}\text{C}$)	Gramnegativas	T ($^{\circ}\text{C}$)
<i>S. aureus</i>	35°	<i>Salmonella spp.</i>	35°
<i>B. cereus 183</i>	28°	<i>S. tify</i>	35°
<i>S. agalactiae</i>	35°	<i>E. coli</i>	35°

<i>S. uberis</i>	35°	<i>E. cloacae</i>	35°
<i>L. monocytogenes</i> Scott A	28	<i>P. aeruginosa</i>	35°
<i>M. luteus</i>	28°	<i>S. flexneri</i>	35°
<i>B. subtilis</i>	28°	<i>S. marcescens</i> NIMA	35°
<i>L. innocua</i>	28°	<i>P. vulgaris</i>	35°
<i>E. faecalis</i>	35°	<i>K. pneumoniae</i>	35°
<i>E. faecium</i>	35°	<i>S. tiphymurium</i>	35°
<i>S. pyogenes</i>	35°		
<i>S. xyloso</i>	35°		
<i>L. monocytogenes</i>	28°		

Resultados y Discusión

En este estudio, se utilizó la extracción acuosa para obtener compuestos químicos fitosanitarios a partir de las partes secas de las plantas ya mencionadas. De acuerdo con Zhang y Lewis (1997), a través de la extracción acuosa se pueden obtener compuestos solubles en agua como polisacáridos y poli péptidos que actúan como inhibidores de patógenos microbianos.

Actividad antibacteriana del extracto de *Ariocarpus fissuratus*

Para el caso de patógenos grampositivos, *A. fissuratus* no mostró actividad inhibitoria (Tabla 2). No obstante, el extracto del tallo-raíz del *A. fissuratus* inhibió ligeramente a *S. flexneri*, y el extracto de la corona del mismo, tuvo un efecto inhibitorio sobre *P. vulgaris* (Tabla 3). No se encontraron reportes similares para *A. fissuratus*, aunque se sabe que especies de la familia *Cactaceae* presentan actividad antibacteriana y antifúngica. De acuerdo con Rodríguez et al., (2010) extractos de *Ariocarpus retusus* y *Ariocarpus kotschoubeyanus* presentan actividad antimicrobiana sobre *Bacillus cereus* y *Bacillus subtilis* a una dosis de 100 mg/mL, sin embargo, el extracto metanólico de *A. retusus* cuenta con un mayor espectro de actividad antimicrobiana contra *B. Subtilis*.

Actividad antibacteriana del extracto de *Agave lechuguilla*

Los extractos acuosos de las diferentes partes estudiadas del *A. lechuguilla*, mostraron actividad inhibitoria en algunas de las bacterias grampositivas. Es importante mencionar que *B. subtilis* fue inhibida por el extracto de la piña-raíz y del cogollo (Tabla 2). Los extractos acuosos del de la lechuguilla mostraron una importante actividad inhibitoria del crecimiento bacteriano de: *S. tiphy*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. marcescens* NIMA, *P. vulgaris* y *K. pneumoniae* (Tabla 3). Otros autores (Reséndiz et al, 2010) reportan una importante actividad antimicrobiana de *Agave lechuguilla*.

Tabla 2. Actividad antimicrobiana (UA/100 µL) de los extractos acuosos contra microorganismos patógenos grampositivos

	<i>Ariocarpus fissuratus</i>		<i>Prosopis glandulosa</i>		<i>Agave lechuguilla</i>		
	Corona	Raíz-tallo	Hoja	Flor	Hoja	Cogollo	Piña
<i>S. aureus</i>	0	0	126	28	0	146	82
<i>B. cereus</i> 183	0	0	151	0	28	0	0
<i>S. agalactiae</i>	0	0	233	45	45	6.5	14
<i>S. uberis</i>	0	0	233	63	0	0	13
<i>L. monocytogenes</i> Scott A	0	0	126	45	0	6.5	45.5

<i>M. luteus</i>	0	0	264	126	0	0	0
<i>B. subtilis</i>	0	0	0	0	0	116.5	296
<i>L. innocua</i>	0	0	177	0	0	0	0
<i>E. faecalis</i>	0	0	264	0	0	0	0
<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. pyogenes</i>	0	0	233	13	104	0	0
<i>S. xylosus</i>	0	0	126	0	28	0	28
<i>L. monocytogenes</i>	0	0	0	0	0	0	0

Actividad Antibacteriana del extracto de *Prosopis glandulosa*

Como puede observarse en las Tablas 2 y 3, la mayor actividad antimicrobiana se encontró en la hoja y flor de *P. glandulosa*, respectivamente. En las bacterias grampositivas, sólo *B. subtilis*, *E. faecium* y *L. monocytogenes*, no fueron sensibles al extracto acuoso de la hoja del mezquite. Las mismas bacterias fueron resistentes a los extractos de la flor.

Los extractos acuosos del mezquite mostraron la mayor actividad inhibitoria del crecimiento de las bacterias gramnegativas (Tabla 3). Los microorganismos que no mostraron inhibición por los extractos acuosos fueron: *Salmonella spp*, *E. cloacae*, *S. tiphymurium*.

Tabla 3. Actividad antimicrobiana (UA/100 µL) de los extractos acuosos contra microorganismos patógenos gramnegativos

	<i>Ariocarpus fissuratus</i>		<i>Prosopis glandulosa</i>		<i>Agave lechuguilla</i>		
	Corona	Raíz-tallo	Hoja	Flor	Hoja	Cogollo	Piña
<i>Salmonella spp.</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. tiphy</i>	0	0	204	0	45	0	63
<i>E. coli</i>	0	0	0	0	0	0	28
<i>E. cloacae</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	264	28	45	0	0
<i>S. flexneri</i>	0	14	233	45	0	66	63
<i>S. marcescens NIMA</i>	0	0	330	177	0	0	0
<i>P. vulgaris</i>	132	0	177	82	104	52	165
<i>K. pneumoniae</i>	0	0	264	104	104	28	0
<i>S. tiphymurium</i>	0	0	0	0	0	0	0

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones preliminares y exploratorias en las que se llevó el presente estudio se concluye que *P. glandulosa* y de *A. lechuguilla* muestran un potencial antimicrobiano que puede investigarse para futuras aplicaciones prácticas. Actualmente se obtienen extractos con solventes de mayor a menor polaridad para complementar el estudio del espectro de la actividad antimicrobiana las plantas estudiadas.

BIBLIOGRAFÍA

- Medellín C. N. A., Hernández R. M. G., Carranza A. C., Loredó M. G. K., Hernández R. L. G., Mendoza B. J., Escoto C. S. E., Gallegos G. M. & Aldama A. C. 2014. Aprovechamiento de residuos de agave lechuguilla para la remoción de metales pesados en solución acuosa.
- Ramos C. F., Oranday C. A., Rivas M. C., Verde Star Ma. J. & Cruz V. D. E. 2012. Cytotoxic activity of Agave lechuguilla Torr. African Journal of Biotechnology Vol. 11(58), pp. 12229-12231.
- Reséndiz E., Montejano R. J. R., Almaguer V. G., Trejo G. M., Pérez M. V., Martín G. J. M. 2010. Fotoquímica, Efecto Antitumoral en un modelo de Linfoma L5178Y y toxicidad aguda oral del Agave lechuguilla Torrey (lechuguilla) en ratones CD1. Congreso internacional de QFB. En: San Nicolás de los Garza, México. 23 y 25 de Agosto.
- Rodríguez, R. G., Morales, M. E., Verde, M. J., Oranday, A., Rivas, C., Núñez, M. A., González, G. M. & Treviño, J. F. 2010. Actividad antibacteriana y antifúngica de las especies *Ariocarpus kotschoubeyanus* (Lemaire) y *Ariocarpus retusus* (Scheidweiler) (Cactaceae). Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas 41(1); 55-59
- Rodríguez-Garza¹, G. M., González-González², M. J., Verde-Star¹, M. E., Morales-Rubio, C., Rivas-Morales, A., Oranday-Cárdenas, M. A., Núñez-González & Treviño-Neáñez, J. F. 2011. Biosprección de la actividad antimicótica de extractos metanólicos de *Ariocarpus kotschoubeyanus* y *Ariocarpus retusus*. Polibotánica 31; 143-155.
- Thakur, R., Singh, R., Saxena, P., Mani, A., 2014. Evaluation of Antibacterial Activity of *Prosopis juliflora* (SW.) DC. Leaves. Afr Tradit Complement Altern Med. 11: 182-188.
- Zhang Y and Lewis k. Fabatins: New antimicrobial plant peptides FEMS microbial Litt. 1997; 149:59-64.