

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y PERFIL FITOQUÍMICO DE
Ariocarpus fissuratus (Engelmann) Shumann¹**

E. Gutiérrez-Reyes, N. De La Fuente-Salcido, Ma. Del S. Linaje-Treviño. F. Hernández-Terán., C. M. Valencia-Castro

Bioprospección y Bioprecesos, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Campus-Torreón. Blvd. Torreón Matamoros, km 7.5, CP 27104 Torreón, Coahuila, México
cmanuel53@yahoo.com.mx

¹Proyecto financiado por el Programa de Desarrollo del Profesorado (PRODEP-SEP)

RESUMEN:

A diferencia de otras especies del género *Ariocarpus*, en *A. fissuratus* no existe información de su actividad biológica en microorganismos patógenos. Por este motivo, se consideró importante evaluar la actividad antibacteriana así como el perfil fitoquímico de diferentes extractos de la corona y del tallo-raíz de *A. fissuratus*. Se determinó por tamizaje fitoquímico la presencia de metabolitos y grupos funcionales, así como la actividad antibacteriana de extracciones sucesivas de *Ariocarpus fissuratus*, con un aparato soxhlet y el uso de extractos con solventes en orden por polaridad contra cultivos de *S. agalactiae*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *S. uberis*, *Serratia marcescens*, *E. coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, por el método de difusión en pozos. Se destacaron las pruebas positivas encontradas con etanol para todos los compuestos fitoquímicos de interés, seguido por el metanol y la acetona. Los extractos de etanol y metanol de corona y tallo-raíz de la planta, tuvieron un mayor efecto inhibitorio ($P < .05$) contra *S. agalactiae*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri* y *S. uberis*. Los mismos extractos tuvieron un efecto significativo sobre *S. marcescens* Nima, *E. coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

ABSTRACT:

Unlike other species of *Ariocarpus*, *A. fissuratus* There are no reports about the antibacterial activity of *Ariocarpus* or *fissuratus* species against pathogenic microorganisms. For this reason, the phytochemical profile of different extracts of the crown and stem-root and the antibacterial activity of *A. Fissuratus* were determined. Here, diverse metabolites and functional groups were detected by phytochemical screening of increasing polarity of organic solvents. Likewise the antibacterial activity was evaluated against *S. agalactiae*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *S. uberis*, *Serratia marcescens* Nima, *E. coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*s, by well diffusion method. Ethanol extracts, show evidence of all the compounds, followed by methanol and acetone. *The ethanol and methanol extract of stem-crown and root of the plant, had a greater inhibitory effect (P < .05) against S. agalactiae, S. aureus, Klebsiella pneumoniae, Shigella flexneri and S. uberis. These extracts had a significant effect against S. marcescens, E. coli, Bacillus cereus and Pseudomonas aeruginosa*.

Palabras clave: *Ariocarpus*, fitoquímicos, patógenos.

Keywords: *Ariocarpus*, phytochemicals, pathogens.

Área: Microbiología y Biotecnología

INTRODUCCIÓN

Las plantas de la especie *Ariocarpus fissuratus* crecen al nivel del suelo, de color gris-verde que se va cambiando a amarillo con la edad, pueden tener de 5-15 cm de

diámetro, de tubérculos triangulares formando una corona la cual a menudo presenta fisuras en su superficie (de ahí su nombre). Contiene areolas de pelos las cuales se extienden por toda la parte central del tubérculo y flores de color magenta de 2.5 a 4.5 cm de diámetro que sólo duran tres días después de la floración (Anderson, 2001). Es una especie endémica del Desierto Chihuahuense. Está fuertemente asociada al matorral xerófito, así como a la presencia de *Larrea tridentata*, *Agave lechuguilla*, *Agave striata*, y *Yucca spp.* De acuerdo a la NOM-059-SEMARNAT-2010, es una especie en peligro de extinción y se encuentra en la lista del CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) debido al tráfico de la misma.

Algunos estudios en otras especies del género como *A. retusus* y *A. kotschoubeyanus*, se ha encontrado que tienen potencial como antifúngicos y antimicrobianos, probándose su efecto contra *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Microsporium gypseum* y *Microsporium nanum* (Rodríguez *et al.*, 2010).

Ariocarpus fissuratus no ha sido descrito en términos de sus componentes activos fitoquímicos ni como posible inhibidor del crecimiento bacteriano o fúngico, aunque por el conocimiento tradicional sabemos que es utilizado con éxito como antirreumático, para curar fiebres y en ocasiones en heridas cutáneas superficiales (Estrada-Castillón *et al.* 2012; Batis y Rojas., 2002). En base a los resultados encontrados en otras especies de *Ariocarpus*, es posible que *A. fissuratus* tenga actividad inhibitoria en microorganismos patógenos, acorde a esto, se planteó la presente investigación con el siguiente objetivo: Evaluar la actividad antibacteriana y el perfil fitoquímico de diferentes extractos de la corona y del tallo-raíz de *Ariocarpus fissuratus*

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 02824^{/15}, la cual se llevó a cabo en la Reserva Ecológica Municipal Sierra y Cañón de Jimulco.

Obtención de los extractos.

Se elaboraron cartuchos para extracción en aparato Soxhlet con 4g de cada muestra. 4g de muestra se metieron a reflujo con aparato Soxhlet con etanol absoluto por 4 horas, luego se llevaron a cabo extracciones consecutivas por 2h con los siguientes solventes enlistados en orden de polaridad; hexano, éter di etílico, cloroformo, cloruro de metileno y acetona. El extracto metanólico fue elaborado poniendo 2g en 50mL de metanol en agitación por 5 días y luego filtrado con ayuda de un embudo y papel Whatman No.1. Los extractos se dejaron evaporar a sequedad a temperatura ambiente y fueron re disueltos en 20 mL del solvente correspondiente.

Cada uno de los extractos se evaluó cualitativamente para diferentes grupos funcionales de interés como; insaturaciones, oxidrilos fenólicos (taninos vegetales), carbohidratos, cumarinas, alcaloides y esteroides y triterpenos, de acuerdo a las metodologías propuestas por (Herborne, 1998).

Pruebas de actividad bactericida por difusión en pozos

La actividad antimicrobiana fue evaluada en distintos patógenos causantes de mastitis, en este caso, se usó la metodología descrita por Barboza *et al.*, (2007), la cual fue probada contra agentes causantes de la mastitis bovina. Asimismo, contra algunos enteropatógenos. Éstos se incubaron en caldo soya tripticaseína (CST, MCD LAB, México) a la respectiva temperatura de cada microorganismo toda la noche (Tabla I). Posteriormente se tomó su OD y se resembró en CST fresco por 2h, midiendo nuevamente su OD e inoculándose al 0.7 % (v/v) con agar de pozos fundido y templado (AP; 1.5% agar bacteriológico MCD LAB, 3% CST, p/v). A las placas solidificadas se les realizaron pocillos de 8 mm de diámetro.

Tabla I. Microorganismos sensibles y temperatura de crecimiento	
Microorganismo	T (° C)
Grampositivas	
<i>S. aureus</i>	35
<i>B. cereus</i>	28
<i>S. agalactiae</i>	35
<i>S. uberis</i>	35
Gramnegativas	
<i>E. coli</i>	35
<i>K. pneumoniae</i>	35
<i>S. marcescens Nima</i>	35
<i>P. aeruginosas</i>	35
<i>S. flexneri</i>	35

A cada uno de estos pocillos se les añadió un volumen de 100 µL de cada extracto (Hex, Et, Cl, DCM, Ac, EtOH, MetOH). 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:

$$A = \pi r^2 = \pi D^2/4$$

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 mm² del halo de inhibición del crecimiento bacteriano.

Se utilizó estadística descriptiva para presentar la información resultante. El estudio de actividad antimicrobiana se llevó a cabo a través de un diseño experimental completamente al azar, con el factor de extractos de diferentes partes de la planta (corona y tallo-raíz) y variable dependiente la inhibición del crecimiento de diferentes bacterias patógenas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las Tablas II y III se muestran los resultados de las pruebas cualitativas con siete extractos de la parte de la corona así como del tallo-raíz del Falso peyote. Los resultados mostraron que el hexano únicamente arrojó una prueba positiva para esteroides y terpenos en la corona de la planta y fue negativa para el resto de los compuestos de interés. Resultados similares se encontraron con el extracto basado en hexano del tallo-raíz, aunque aparece positiva también la prueba para carbohidratos. Los resultados mostraron que el hexano únicamente arrojó una prueba positiva para esteroides y terpenos en la corona de la planta y fue negativa para el resto de los compuestos de interés. Resultados similares se encontraron con el extracto basado en hexano del tallo-raíz, aunque aparece positiva también la prueba para carbohidratos. Es importante destacar que el extracto obtenido a partir de éter resultó solamente en pruebas negativas para todos los compuestos en las dos partes de la planta consideradas.

Es importante destacar que el extracto obtenido a partir de éter demostró solamente pruebas negativas para todos los compuestos en las dos partes de la planta consideradas.

El extracto con cloroformo a partir de la corona de la planta presentó un resultado positivo para Carbohidratos, Cumarinas, alcaloides, esteroides y terpenos, algo similar se presentó en la fracción correspondiente al tallo-raíz. Del resto de los extractos vegetales, se destacan las pruebas positivas encontradas con etanol para todos los compuestos de interés, seguido por el metanol, la acetona y el extracto acuoso. Es importante hacer la observación, que en la mayoría de las pruebas, al menos tres compuestos de interés fueron identificados.

Tabla II. Detección cualitativa de componentes fitoquímicos en extractos de corona de *A. fissuratus*

Ensayo	Extracto						
	Hex	Ét	Cl	DCM	Ac	EtOH	MetOH
Insaturaciones							+
Oxidrilos fenólicos	-	-	-	-	-	+	+
Carbohidratos	-	-	+	-	+	+	+
Cumarinas	-	-	+	-	+	+	-
Alcaloides	-	-	+	+	+	+	-
Esteroides y terpenos	+	-	+	+	+	+	+

Hex (hexano), Et (éter), Cl (cloroformo), DCM (Diclorometano), Ac (acetona), EtOH (etanol), MetOH (metanol)

Tabla III. Detección cualitativa de componentes fitoquímicos en extractos de tallo-raíz de *A. fissuratus*

Ensayo	Extracto						
	Hex	Ét	Cl	DCM	Ac	EtOH	MetOH
Insaturaciones	-	-	-	-	+	+	+
Oxidrilos fenólicos	-	-	-	-	-	+	+
Carbohidratos	+	-	-	-	+	+	+
Cumarinas	-	-	+	-	+	+	+
Alcaloides	-	-	+	+	+	+	-
Esteroles y terpenos	+	-	+	+	+	+	+

Hex (hexano), Et (éter), Cl (cloroformo), DCM (Diclorometano), Ac (acetona), EtOH (etanol), MetOH(metanol)

En la Tabla IV se presenta el efecto inhibitorio del crecimiento de seis bacterias causantes de mastitis en rumiantes productores de leche.

Tabla IV. Inhibición promedio en UA y desviación estándar de los extractos contra las bacterias que causan mastitis.

<i>S. uberis</i> , corona							
Extracto	Hex	Ét	Cl	DCM	Ac	EtOH	MetOH
media	0.00±0.00	0.00±0.0	12.5±0.00	20.42±11.1	0.00±0.0	45.56± 46.55	116.2± 53.32
<i>S. uberis</i> , tallo-raíz							
media	0.00± 0.00	0.00±0.0	12.6± 0.00	26.7±33.32	3.14±0.00	116.2±53.31	15.71±17.78
<i>E. coli</i> , corona							
media	0.00±0.00	0.00±0.0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	157.07±62.2	0.00±0.00
<i>E. coli</i> , tallo-raíz							
media	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	78.54±0.00	81.68±44.43	0.00±0.00
<i>S. agalactiae</i> , corona							
media	0.00±0.00	0.0±0.0	0.00±0.00	0.00±0.00	15.7± 17.7	186.2±180.9	68.40±14.34
<i>S. agalactiae</i> , tallo raíz							
Media	0.00±0.00	0.0±0.0	0.00±0.00	0.00±0.00	15.71±17.7	186.21±180.9	68.40±14.34
<i>S. Aureus</i> , corona							
media	0.00±0.00	0.00±0.0	0.00±0.00	0.00±0.00	3.14±0.00	62.83±71.09	139.80±86.64
<i>S. Aureus</i> , tallo-raíz							

Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos

media	0.00±0.00	0.00±0.0	0.00±0.00	0.00±0.00	7.85±6.66	45.55±46.55	116.2±53.31
<i>Klebsiella pneumoniae</i> , corona							
Media	0.00±0.00	0.00±0.0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	20.71±12.56	5.34±12.56
<i>Klebsiella pneumoniae</i> , tallo-raíz							
Media	0.00±0.00	0.00±0.0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	45.84±46.24	53.41±35.54
<i>Shigella flexneri</i> , corona							
media	78.5±0.00	0.00±0.0	0.00±0.00	530.9±0.0	0.00±0.00	68.40±14.34	510.5±277.68
<i>Shigella flexneri</i> , tallo-raíz							
media	530.93±0.0	0.00±0.0	0.00±0.00	78.54±0.00	0.00±0.00	58.26±0.00	133.51±0.00

Se encontró que los extractos etanólico y metanólico de ambas partes de la planta tuvieron una actividad biológica importante ($p < .05$) contra la mayoría de las cepas. Sin embargo, en el caso particular de *Shigella flexneri* fue afectada ($p < .05$) por extractos como el diclorometano en corona y hexano en tallo-raíz. Estudios reportados, han encontrado resultados similares en extractos metanólicos de *A. retusus* y *A. kotschoubeyanus* (Rodríguez *et al*, 2010) en cepas como *S. aureus*, *E. coli* y *Bacillus cereus*. Algunos autores consideran que los fenoles encontrados en ciertas cactáceas pueden tener un efecto inhibitorio sobre patógenos (Obon-decastro *et al*, 2010), podemos encontrar en el screening fitoquímico que las fracciones etanólicas y metanólicas de ambas partes de la planta dieron positivo para oxidrilos fenólicos, por lo que podría atribuirse la intensidad de la inhibición sobre las cepas patógenas a estos grupos funcionales.

Efectos similares se encontraron en microorganismos enteropatógenos como *B. cereus*, *P. pneumoniae* y *S. marcescens* Nima.

CONCLUSIONES

Desde el punto de vista etnofarmacológico es prometedor el potencial de los extractos de *A. fissuratus* para utilizarse contra bacterias patógenas, con la ventaja de no causar resistencia como los antibióticos. Los resultados generados por el proyecto proporcionan información básica para la futura producción de biofármacos con potencial aplicación terapéutica o como aditivos bioconservadores en la industria de los alimentos. La información generada también plantea el aprovechamiento sustentable de *A. fissuratus* (Engelmann) Shumann permitiendo una revalorización de sus metabolitos secundarios detectados en el perfil fitoquímico de los extractos.

BIBLIOGRAFÍA

- Anderson, E. 2001. The cactus family. Timber press. Portland. Oregon. 766p.
 Barboza, C., Vázquez, A., Bideshi, D., & Salcedo, H. 2007. Bacteriocin-like inhibitor substances produced by Mexican strains of *Bacillus thuringiensis*. Archives of Microbiology. 187, 117–126.

Gutiérrez-Reyes et al. / Vol. 2 (2017) 210-216

- Batis, A. y M. Rojas 2002. El peyote y otros cactus alucinógenos de México. CONABIO. Biodiversitas 40:12-17
- CITES. 2013. Portal Convención sobre el comercio de especies amenazadas de fauna y flora silvestre. www.Cites.org/esp.
- Estrada-Castillón et al.: Medicinal plants in the southern region of the State of Nuevo León, México. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine 2012 8:45.
- Harborne J. B. 1998. Phytochemical Methods a guide to modern techniques of plant analysis. 3a Ed. Chapman & Hall, London, pp. 1-32.
- Obón-de-Castro, J. M., Díaz García, M. C., Castellar Rodríguez, M. R., & Lozano Berna, M. (2010). Beneficios para la salud de los frutos de *Opuntia* spp.
- 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