



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**Correlación entre parámetros edáficos, composición química y
actividad antimicrobiana de inflorescencias de *Prosopis laevigata***

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

URIEL NAVA SOLIS

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. María Margarita Canales Martínez

Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM

COMITÉ TUTOR: Doctor César Mateo Flores Ortiz

Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM

Doctor Manuel Jiménez Estrada

Instituto de Química, UNAM

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, Abril, 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

OFICIO CPCB/246/2021

ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Subcomité de Biología Experimental y Biomedicina del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **08 de febrero de 2021** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Biología Experimental** del estudiante **NAVA SOLIS URIEL** con número de cuenta **414107629** con la tesis titulada **“Correlación entre parámetros edáficos, composición química y actividad antimicrobiana de inflorescencias de *Prosopis laevigata*”**, realizada bajo la dirección de la **DRA. MARÍA MARGARITA CANALES MARTÍNEZ**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente:	DR. RICARDO REYES CHILPA
Vocal:	DR. FERNANDO AYALA NIÑO
Vocal:	DRA. MARÍA DEL ROCÍO CRUZ ORTEGA
Vocal:	DRA. MARGARITA COLLAZO ORTEGA
Secretario:	DR. MANUEL JIMÉNEZ ESTRADA

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 24 de marzo de 2021

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Unidad de Posgrado, Edificio D, 1º Piso. Circuito de Posgrados, Ciudad Universitaria
Alcaldía Coyoacán. C. P. 04510 CDMX Tel. (+5255)5623 7002 <http://pbiol.posgrado.unam.mx/>

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Gracias al **Posgrado en Ciencias Biológicas** de la **Universidad Nacional Autónoma de México** por brindarme la oportunidad de cursar la Maestría.

Por su apoyo económico a:

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) con número de CVU:
964806.

UNAM-PAPIIT IN205020

A mi directora de tesis:

Dra. María Margarita Canales Martínez

A los miembros del comité tutorial:

Dr. César Mateo Flores Ortiz

Dr. Manuel Jiménez Estrada

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

A los miembros del jurado:

Dr. Ricardo Reyes Chilpa

Dr. Fernando Ayala Niño

Dra. María del Rocío Cruz Ortega

Dra. Margarita Collazo Ortega

Dr. Manuel Jiménez Estrada

Por sus valiosas aportaciones, comentarios y observaciones para la culminación de este trabajo.

Al equipo de trabajo de los laboratorios de Farmacognosia e Investigación Biomédica en Productos Naturales, sin cuya invaluable ayuda y soporte este trabajo no habría sido posible.

A los equipos de trabajo de los laboratorios de Edafología y Biogeoquímica de la Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO) por el apoyo para la realización de varias técnicas en este trabajo.

A Maurino Reyes, por toda la ayuda y enseñanzas en campo que fueron clave para este proyecto.

A Héctor, Martín y Marco, incansables colaboradores, guías y amigos, por su ayuda durante el trabajo en campo.

DEDICATORIA

A mi madre, Isabel Solis, por todas sus enseñanzas, amor y paciencia, así como la férrea voluntad que me ha transmitido desde siempre para lograr todas mis metas.

A mi abuela, Clara Crooke, inconmensurable ejemplo de humanidad y tenacidad. Hasta donde estés, gracias.

A mi hermana, Guadalupe Nava, cuyo optimismo contagioso siempre ha sido un apoyo constante.

A mi tía Marta Ortega, que desde la lejanía fue una inspiración y motivación constantes.

A Arturo Romero, instructor, guía y padre, ejemplo incomparable de carácter, disciplina y voluntad.

A Natalie, Cecilia, Daniel, Ivonne, Thayde y Leticia, cuya amistad valoro enormemente, cuyo ánimo a la distancia fue motivación en los momentos más tensos.

“Es prácticamente imposible entender cómo funciona la biología fuera del
contexto del entorno.”

Robert Sapolsky.

RESUMEN GENERAL

RESUMEN	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN	3
Clasificación de metabolitos secundarios	4
Importancia de los metabolitos secundarios.....	8
Metabolitos secundarios y su relación con el ambiente.....	10
Zona de estudio	12
Importancia del género <i>Prosopis</i> y antecedentes	13
Biología de la flor	17
HIPÓTESIS	18
OBJETIVO GENERAL.....	18
OBJETIVOS PARTICULARES	18
MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
a) Obtención de los extractos	20
1. Obtención del material biológico	20
2. Obtención de los extractos metanólicos.....	20
b) Pruebas químicas	21
1. Cuantificación de Fenoles Totales	21
2. Flavonoides Totales	21
3. Evaluación de la actividad antioxidante.....	22
4. Alcaloides totales.....	23
5. Caracterización química de los extractos.....	23
5.1 Cromatografía en placa fina (CCF)	24
5.2 Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM)	
.....	24
5.3 Cromatografía Líquida de Alta Resolución con arreglo de Diodos	
(CLAR-DAD).....	24
c) Pruebas biológicas	24
1. Actividad antibacteriana	24
1.1 Prueba de difusión en agar de Kirby-Baüer.....	25
1.2 Evaluación cuantitativa.....	25
1.3 Determinación de fuga de proteínas de microorganismos.....	26

1.4 Bioautografía de los extractos	27
2. Actividad antifúngica	27
2.1 Evaluación cualitativa sobre hongos levaduriformes.....	27
2.2 Evaluación cuantitativa sobre hongos levaduriformes	27
2.3 Evaluación cualitativa de hongos filamentosos	28
2.4 Evaluación cuantitativa sobre hongos filamentosos	28
c) Caracterización fisicoquímica de las muestras de suelo	29
1. Color del suelo	29
2. Textura	29
3. Densidad y porosidad	30
3.1 Densidad aparente	30
3.2 Densidad real (método del picnómetro)	30
3.3 Porosidad.....	31
4. Conductividad eléctrica	31
5. pH del suelo	32
6. Capacidad de Intercambio Catiónico Total (CICT)	32
4. Contenido de materia orgánica.....	33
8. Nitrógeno Total.....	33
d) Pruebas estadísticas	34
RESULTADOS.....	36
a) Obtención de los extractos metanólicos	36
1. Obtención del material biológico.....	36
2. Obtención de extractos metanólicos.....	36
b) Pruebas químicas	39
1. Cuantificación de Fenoles Totales, Flavonoides Totales y Alcaloides Totales	39
2. evaluación de la actividad antioxidante	41
3. Caracterización Química de los extractos	43
3.1. Cromatografías en placa fina	43
3.2 Cromatografía Líquida de Alta Resolución con arreglo De Diodos (HPLC-DAD).....	45
3.3 Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS)	49

c) Pruebas biológicas	52
1. Actividad antibacteriana	52
1.1 Prueba cualitativa.....	52
1.2 Prueba cuantitativa	55
1.3 Determinación de fuga de proteínas.....	56
1.4 Bioautografía de los extractos	57
2. Actividad antifúngica	58
2.1 Actividad sobre hongos levaduriformes	58
2.2 Concentración Fungicida Media (CF₅₀)	60
2.3 Hongos filamentosos	61
2.3.1 Concentración fungicida media (CF₅₀)	61
c) Caracterización fisicoquímica de las muestras de suelo.	62
d) Análisis de rutas	64
DISCUSIÓN	70
Caracterización química de los extractos metanólicos	71
1. Cuantificación de grupos de metabolitos secundarios	71
Análisis cromatográficos.....	77
Actividad antimicrobiana.....	79
Relación suelo-desarrollo vegetal	84
CONCLUSIONES	92
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
APÉNDICES	115
Apéndice	115
Apéndice II	117
Apéndice III	121
 ÍNDICE DE CUADROS	
Cuadro 1. Antecedentes de estudios sobre la actividad antimicrobiana diferentes especies del género <i>Prosopis</i>.....	15
Cuadro 2. Rendimientos de los extractos de ambas zonas.....	37
Cuadro 3. Concentraciones de Fenoles, Flavonoides y Alcaloides totales de los organismos de ambas zonas.	40
Cuadro 4. Valores de la Capacidad Antioxidante Media (CA₅₀) de los extractos por zona.....	42
Cuadro 5. Espectros de UV con los picos máximos de absorción de la zona ZMA.	46

Cuadro 6. Espectros de UV con los picos máximos de absorción de la zona CCA	48
Cuadro 7. Compuestos identificados en los extractos de la zona ZMA por GC-MS	50
Cuadro 8. Compuestos identificados en los extractos de la zona CCA por GC-MS	52
Cuadro 9. Sensibilidad de las bacterias Gram positivas utilizadas a diferentes antibióticos.....	53
Cuadro 10. Sensibilidad de las bacterias Gram negativas utilizadas a diferentes antibióticos.....	53
Cuadro 11. Actividad antibacteriana de los extractos de la zona ZMA.....	54
Cuadro 12. Actividad antibacteriana de los extractos de la zona CCA.....	54
Cuadro 13. Valores de CMI y CBM de los extractos de la zona ZMA	56
Cuadro 14. Valores de CMI y CBM de los extractos de la zona CCA	56
Cuadro 15. Valores promedio del experimento de fuga de proteínas con los extractos de las zonas ZMA y CCA	57
Cuadro 16. Actividad anti-Candida de los extractos de la zona ZMA.....	59
Cuadro 17. Actividad anti-Candida de los extractos de la zona CCA.....	59
Cuadro 18. CF ₅₀ de los extractos de la zona ZMA..	61
Cuadro 19. CF ₅₀ de los extractos de la zona CCA	61
Cuadro 20. Comparación de la CF ₅₀ de los extractos de cada zona.....	62
Cuadro 21. Caracterización fisicoquímica de las dos zonas de estudio	63
Cuadro 22. Variables y efectos que constituyen el modelo de flujo del análisis de rutas de la correlación entre los parámetros edáficos	65
Cuadro 23. Variables y efectos que constituyen el modelo de flujo del análisis de rutas de la correlación entre parámetros edáficos y metabolitos secundarios	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Origen de metabolitos secundarios a partir de las reacciones del metabolismo primario (Modificado de Ávalos y Pérez-Urrutia, 2009)	4
Figura 2. Algunos compuestos nitrogenados.....	5
Figura 3. Isopreno y ejemplos de terpenoides.....	6
Figura 4. Ejemplos de compuestos fenólicos	6
Figura 5. Principales factores bióticos y abióticos involucrados en la producción de metabolitos secundarios (Modificado de Buchanan et al., 2000).....	8
Figura 6. Quetzalmizquitl (Identificado como <i>P. laevigata</i>) (tomada de Linares y Bye, 2013)	14
Figura 7. Ubicación del área de estudio	20
Figura 8. Ubicación de las dos zonas de trabajo	36
Figura 9. Rendimiento de extracto metanólico floral de cada individuo por zona.	38
Figura 10. Comparación del rendimiento promedio de extracto de las inflorescencias de ambas zonas con desviación estándar obtenido a partir de los rendimientos totales de las inflorescencias de cada organismo.....	39

Figura 11. Comparación de la concentración promedio de Fenoles Totales de los extractos metanólicos de inflorescencias colectados en ambas zonas	40
Figura 12. Comparación de la concentración promedio de Flavonoides Totales de los extractos metanólicos de inflorescencias obtenidas en ambas zonas	41
Figura 13. Comparación de la concentración promedio de Alcaloides Totales de los extractos metanólicos de inflorescencias colectadas en ambas zonas	41
Figura 14. Valores de CA ₅₀ de los extractos de las inflorescencias colectadas en la zona ZMA por organismo.....	42
Figura 15. Valores de CA ₅₀ de los extractos de las inflorescencias colectadas en la zona CCA por organismo.....	43
Figura 16. Comparación entre los promedios de CA ₅₀ de los extractos metanólicos de las inflorescencias colectadas de ambas zonas	43
Figura 17. Cromatografía en placa fina de los extractos de ambas zonas	44
Figura 18. Cromatografías en placa fina reveladas con diferentes reveladores	45
Figura 19. Cromatograma de muestra de los extractos metanólicos florales de los organismos de la zona ZMA obtenido a diferentes longitudes de onda (254 nm, 280 nm y 364 nm).....	46
Figura 20. Cromatograma de muestra de los extractos metanólicos florales de los organismos de la zona CCA obtenido a diferentes longitudes de onda (254 nm, 280 nm y 364 nm).....	48
Figura 21. Cromatograma de la muestra mezclada de los extractos metanólicos florales obtenidos de los individuos de la zona ZMA	50
Figura 22. Cromatograma de la muestra mezclada de los extractos metanólicos florales de los organismos pertenecientes a la zona CCA.....	51
Figura 23. Comparación de la actividad antibacteriana promedio de los extractos metanólicos florales de ambas zonas	55
Figura 24. Comparación promedio de la concentración de proteínas en el medio después de la aplicación de la aplicación promedio de la CMI de los extractos en intervalos de 30 minutos	57
Figura 25. Bioautografía de los extractos	58
Figura 26. Comparación de la actividad promedio de los extractos metanólicos florales de ambas zonas sobre hongos levaduriformes.....	60
Figura 27. Comparación entre las CF ₅₀ promedio de los extractos metanólicos florales de ambas zonas	62
Figura 28. Diagrama de análisis de ruta de la correlación entre parámetros edáficos	66
Figura 29. Diagrama de análisis de rutas de correlación entre parámetros edáficos y metabolitos secundarios	69

RESUMEN

Prosopis laevis es una especie de amplia distribución en nuestro país, y cuyo potencial para el aprovechamiento agrícola, ganadero, alimenticio y terapéutico ha sido conocido y estudiado desde hace varias décadas. En el presente trabajo se evaluó la actividad antimicrobiana de las flores de *Prosopis laevis* obtenidas en dos zonas del municipio de Zapotitlán Salinas, Puebla (una considerada como Mezquital Abierto (ZMA) y la otra como Campo de Cultivo Abandonado (CCA)) y su relación con variables edáficas.

Las inflorescencias fueron colectadas y separadas por organismo y zona en el mes de marzo de 2018; así mismo, se tomaron muestras de suelo para su posterior análisis en laboratorio. Se obtuvieron los extractos metanólicos de las inflorescencias de cada árbol, y se valoró su contenido de fenoles, flavonoides y alcaloides totales, la capacidad antioxidante; y se caracterizaron por medio de las técnicas de Cromatografía en Capa Fina, Cromatografía Líquida de Alta Resolución con arreglo de Diodos (CLAR-DAD) y Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM). Adicionalmente, se evaluó la actividad antimicrobiana por el método de difusión en agar, microdilución en caldo, bioautografía e inhibición del crecimiento radial empleando 2 bacterias Gram positivas, 2 Gram negativas, 3 especies de hongos del género *Candida* y una especie de hongo filamentoso, *Fusarium sporotrichoides*. Así mismo, se evaluaron las características fisicoquímicas del suelo a través del análisis de textura, densidad, porosidad, porcentaje de materia orgánica, color, pH, capacidad de intercambio catiónico total (CICT), conductividad eléctrica, salinidad y nitrógeno total.

Los resultados indican que la Zona de Mezquital Abierto (ZMA) presenta en promedio, una concentración mayor de fenoles, flavonoides y alcaloides, pudiéndose determinar además la presencia de grupos de metabolitos como flavonas, isoflavonas, flavonoles, y ácidos grasos. En cuanto a la actividad antibacteriana, se observó que los extractos de esta zona tienen en promedio actividades más altas que los reportados para los de la zona de Campo de Cultivo Abandonado (CCA) sobre *Staphylococcus aureus* (MIC en un rango de 0.312 a 1.25 mg/mL), *Vibrio cholera* y *Candida albicans* (rango de CF₅₀ de 5 a 10 mg/mL) y una fuerte inhibición sobre *Fusarium sporotrichoides* (CF₅₀ de 0.51458 mg/mL). Así mismo, se encontró en la bioautografía una relación entre el contenido alcaloidal y la inhibición bacteriana. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre las dos zonas.

Finalmente, con los resultados obtenidos se realizó un análisis de rutas para identificar la posible influencia entre los parámetros edáficos y la composición química de los extractos, identificando que las características edáficas más influyentes en la producción de metabolitos secundarios son el contenido de materia orgánica, la estructura del suelo y la salinidad (determinada a través de la conductividad eléctrica).

Palabras clave: *Prosopis laevis*, inflorescencia, actividad antimicrobiana, parámetros edáficos, metabolitos secundarios.

ABSTRACT

Prosopis laevigata is a widely extended species in our country arid areas, and its potential for agricultural, livestock, food, and pharmaceutical use has been known and studied for several decades. In the present study, the antimicrobial activity of *P. laevigata* inflorescences was obtained in two areas of Zapotitlan Salinas, Puebla (one considered as Open Mezquital (ZMA), and the other as Abandoned Cultivation Field (CCA), and their relationship with edaphic variables was evaluated.

The inflorescences were collected and separated by organism and zone in March 2018; additionally, soil samples were taken for subsequent laboratory analysis. The methanolic extracts of the inflorescences of each tree were obtained. Subsequently, their total phenols, flavonoids, alkaloids, and antioxidant capacity were evaluated, and there were characterized employing of the techniques of Thin Layer Chromatography (TLC), High-Performance Liquid Chromatography with Diode Arrangement (HPLC-DAD), and Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS). Furthermore, their antimicrobial activity was evaluated by the agar diffusion method, microdilution in broth, bioautography, and inhibition of radial growth using 2 Gram-positive bacteria, 2 Gram-negative bacteria, 3 species of fungi of the genus *Candida*, and one species of a filamentous fungus, *Fusarium sporotrichoides*. Besides, the soil samples were characterized by parameters such as texture, density, porosity, percentage of organic matter, color, pH, Total Cation Exchange Capacity (CIC), electrical conductivity, salinity, and total nitrogen content.

The results indicate that the Open Mezquital ZMA presents, on average, a higher concentration of phenols, flavonoids, alkaloids, and the presence of groups of metabolites such as flavones, isoflavones, flavonols, and fatty acids can also be determined. Regarding antibacterial activity, it was observed that the extracts from this zone have on average higher activities than those from the CCA zone on *Staphylococcus aureus* (MIC in a range of 0.312 to 1.25 mg / mL), *Vibrio cholera*, and *Candida albicans* (CF₅₀ range from 5 to 10 mg / mL) and strong inhibition on *Fusarium sporotrichoides* (CF₅₀ of 0.51458 mg / mL). Likewise, a relationship between alkaloidal content and bacterial inhibition was found in the bioatugraphy. However, no significant differences were found between the two zones.

Finally, a Path Analysis was made to identify the possible influence between edaphic parameters and the chemical composition of the extracts, identifying that the most influential edaphic characteristics in the production of secondary metabolites are the content of organic matter, the soil structure and salinity (determined through electrical conductivity).

Key words: *Prosopis laevigata*, Inflorescence, antimicrobial activity, edaphic parameters, secondary metabolites.

INTRODUCCIÓN

El conjunto de reacciones químicas que se llevan a cabo dentro de las células de cualquier organismo recibe el nombre de *metabolismo*. Dichas reacciones pueden ser de síntesis de compuestos esenciales (proceso denominado *anabolismo*) o la obtención de moléculas más sencillas a partir de la degradación de polímeros (proceso llamado *catabolismo*). Los dos conjuntos de reacciones anteriormente mencionados son interdependientes, y la ausencia o presencia anormal de una o más reacciones (sean anabólicas o catabólicas) puede comprometer la homeostasis del organismo, llegando incluso a significar la muerte de éste (Rabasa y Dickson, 2016; Meraj et al., 2020).

La mayor parte de los denominados bioelementos (carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, azufre y fósforo), así como la energía necesaria para las funciones del organismo, son almacenados en diversas moléculas comunes a todos los organismos, necesarias para el mantenimiento y correcto funcionamiento de éstos. Estas moléculas se clasifican en aminoácidos, nucleótidos, lípidos y carbohidratos, y en su conjunto son denominados *metabolitos primarios* por estar presentes en todas las formas de vida y ser indispensables para la vida (Katz y Baltz, 2016; Rao et al., 2019). Por otro lado, existe otro grupo de reacciones de síntesis que es denominado *metabolismo secundario* (Sepúlveda-Jiménez et al., 2003; Ávalos y Pérez-Urrutia, 2009), en el que parte del carbono asimilado y la energía sintetizada en el metabolismo primario son empleados para la fabricación de moléculas que no están implicadas en las funciones vitales y que, por tanto, son denominados *metabolitos secundarios*. Además de que no participan en los procesos biológicos principales, algunas familias están restringidas únicamente a ciertos grupos biológicos, siendo característicos de familias, grupos, géneros e incluso especies. Otra diferencia entre éstos y los metabolitos primarios es que, los metabolitos primarios son el objetivo principal de las diversas rutas de síntesis metabólicas, en tanto que los secundarios tienden a ser derivados (Ávalos y Pérez-Urrutia, 2009; Ringuelet y Viña, 2013 (Figura 1).

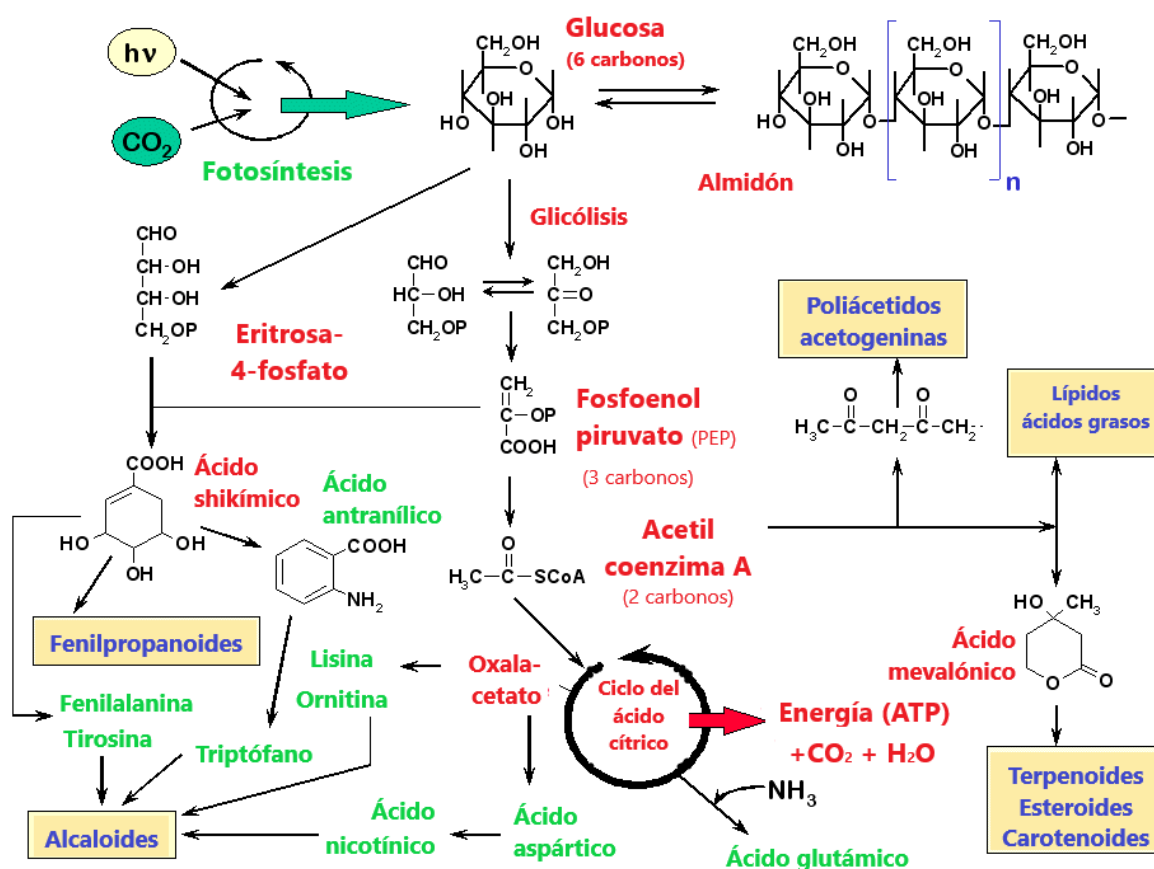


Figura 1. Origen de metabolitos secundarios a partir de las reacciones del metabolismo primario (Modificado de Ávalos y Pérez-Urrutia, 2009).

Clasificación de metabolitos secundarios

De forma general, los metabolitos secundarios se agrupan de acuerdo con sus vías de síntesis en:

Compuestos nitrogenados

Como su nombre indica, son moléculas orgánicas que presentan, por lo menos, un átomo de nitrógeno en su estructura. Los **glucósidos cianogénicos**, son capaces de producir, al momento de degradarse, sustancias tóxicas, destacándose el cianuro de hidrógeno (HCN). Los **alcaloides**, por su parte, constituyen un numeroso grupo de moléculas (más de 15,000) y presentan tres características básicas que los definen de otros compuestos: son solubles en solución acuosa con un pH entre 7.2 y 5 (valores correspondientes al citosol y a la vacuola, respectivamente), presentan por lo menos un átomo de nitrógeno y todos tienen alguna actividad biológica. Además, la mayoría son heterociclos,

aunque existen compuestos nitrogenados alifáticos que son clasificados en esta familia (Figura 2) (Henning, 2013; Henning y Yordaz, 2013).

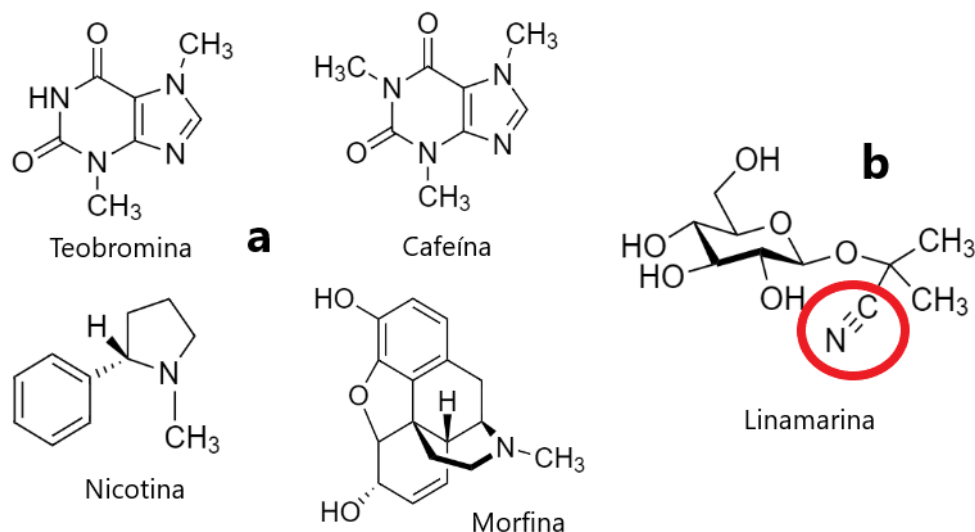


Figura 2. Algunos compuestos nitrogenados. a) ejemplos de alcaloides; b) Linamarina, ejemplo de glicósido cianogénico, marcando en rojo el radical que es precursor de cianuro. (Fórmulas realizadas en ChemDraw ® JS)

Terpenos

Son el grupo más abundante de metabolitos (más de 40,000 compuestos distintos) e incluyen hormonas, pigmentos carotenoides, esteroides, glicósidos cardíacos, látex y aceites esenciales, es decir, tanto metabolitos primarios como secundarios. Sus rutas de síntesis son la del ácido mevalónico (en el citosol) y la ruta del metileritritol fosfato (MEP) (en el cloroplasto). Sin importar la ruta de síntesis, se puede decir que la gran mayoría de estos compuestos son insolubles en agua y se forman por uniones de isopreno (molécula de 5 átomos de carbono). Debido a que el isopreno es la unidad de los terpenos, estos últimos se clasifican en monoterpenos (2 unidades de isopreno o 10 átomos de carbono), sesquiterpenos (15 átomos de carbono), diterpenos (20 átomos de carbono), triterpenos (30 átomos de carbono), tetraterpenos (40 átomos de carbono) y politerpenos (más de 8 unidades de isopreno) (Figura 3) (Ávalos y Pérez-Urrutia, 2009; Ringuelet, 2013).

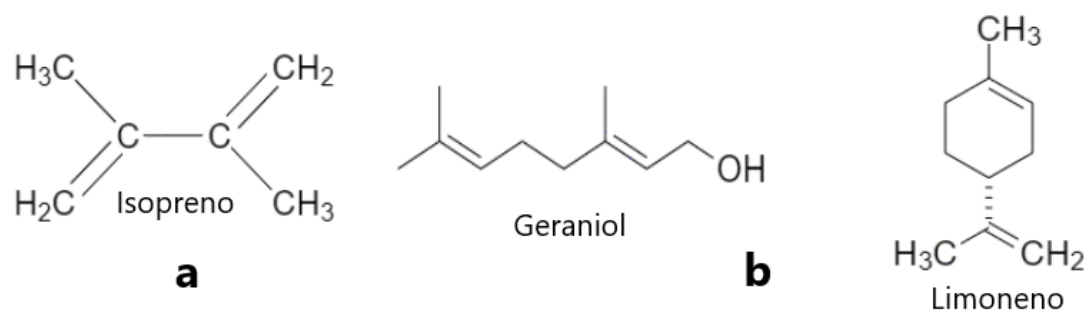


Figura 3. a) Estructura del isopreno. b) Ejemplos de terpenos. (Fórmulas realizadas en ChemDraw® JS)

Fenilpropanoides.

Son moléculas abundantes y muy diversas, presentes en plantas, hongos e incluso bacterias. Se caracterizan por presentar al menos un anillo aromático (como los **ácidos fenólicos**), o ser polímeros de alta complejidad (como **los taninos** o la **lignina**). Un grupo bastante extendido de compuestos fenólicos son los **flavonoides**, moléculas que tienen un esqueleto carbonado de 15 átomos de carbono ordenados en 2 anillos aromáticos unidos por un puente de 3 carbonos. De acuerdo con el grado de oxidación del puente de tres carbonos, se clasifican en **antocianinas** (pigmentos), **flavonas**, **flavonoles** e **isoflavonas** (absorben longitudes de onda más cortas que las antocianinas, por lo que sus colores son visibles únicamente para organismos capaces de captar el rango ultravioleta (UV) (Sepúlveda-Jiménez et al., 2003; Ávalos y Pérez-Urrutia, 2009; Brusotti et al., 2013; Ardoino et al., 2013) (Figura 4).

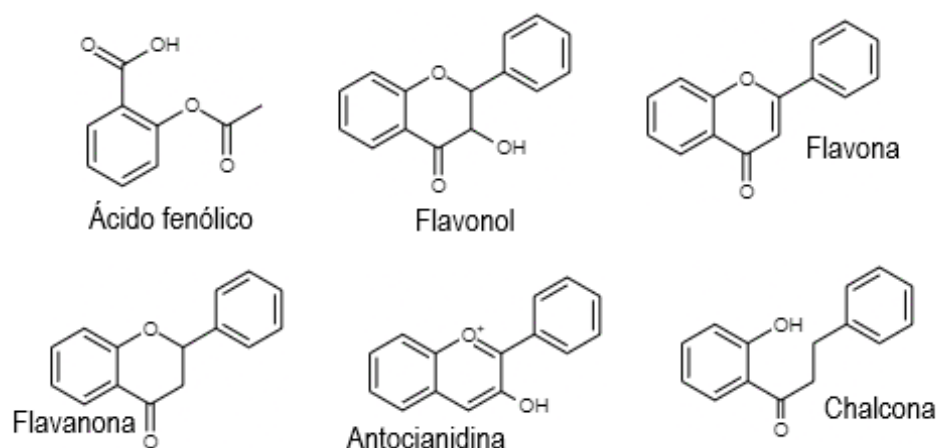


Figura 4. Ejemplos de compuestos fenólicos. (Fórmulas realizadas en ChemDraw® JS)

La principal importancia biológica de los metabolitos secundarios radica en las relaciones inter e intraespecíficas que los organismos que las producen establecen en las comunidades en las que se desarrollan, teniendo, por tanto, un valor ecológico muy importante, e incluso crucial, al depender de ellos, en ciertos momentos, el desarrollo de la planta y su supervivencia. Esto se debe a que suelen ser fundamentales en procesos de defensa contra depredadores (ya sea degradándose como sustancias tóxicas (como es el caso de los glicósidos cianogénicos), produciendo sabores o sensaciones desagradables (como las saponinas, algunos alcaloides y los taninos) o afectando sistemas o procesos fisiológicos (como algunos ácidos fenólicos, alcaloides, glicósidos cardiacos y terpenos)), atracción de polinizadores (por medio de fragancias o de colores visibles en rangos sólo apreciables por el grupo polinizador específico de la planta) y amortiguadores de diversos tipos de estrés, entre los que se destacan el estrés nutrimental, estrés hídrico, estrés lumínico y/o por temperatura, entre otros, siendo algunos de tipo especie-específicos y encontrándose, en algunos casos, restringidos a algún órgano o bien, ser producidos durante una etapa del ciclo biológico determinada (Sepúlveda-Jiménez et al., 2003; Vilela et al., 2011; Pérez-Alonso y Jiménez, 2011) (Figura 5).

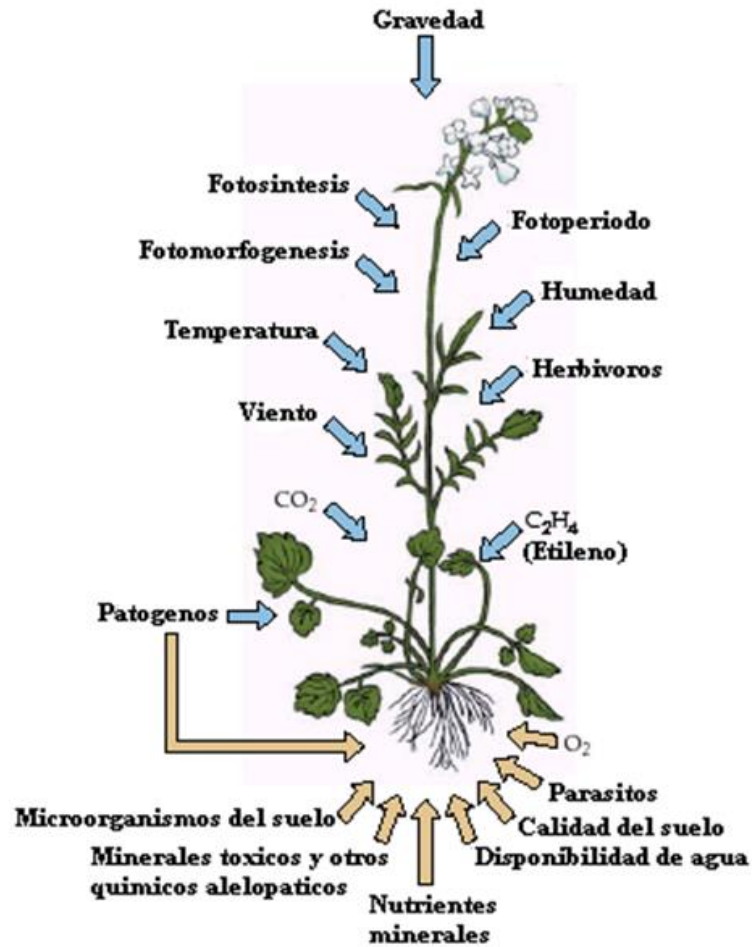


Figura 5. Principales factores bióticos y abióticos involucrados en la producción de metabolitos secundarios (Modificado de Buchanan et al., 2000).

Importancia de los metabolitos secundarios

Desde su descubrimiento, los metabolitos secundarios han sido de gran interés para la comunidad científica, ya que muchos de ellos han resultado tener propiedades biológicas y médicas importantes. Aunque en un principio fueron considerados como desechos metabólicos o productos de desintoxicación (Reznik, 1960; Vilela et al., 2011), estudios posteriores determinaron que estas moléculas tienen su origen en la interacción de la planta con factores bióticos y abióticos diversos (Figura 5).

Actualmente, la Hipótesis del Balance Carbono-Nutriente (Loomis, 1932; Herms y Mattson, 1992, Vilela et al., 2011) realiza la predicción de que la concentración de metabolitos secundarios orgánicos está correlacionada positivamente con la relación carbono/nutriente de la planta, significando que la disponibilidad de nutrientes influiría en la producción de metabolitos, de forma tal que, entre

mayores restricciones haya, mayor será la producción de metabolitos secundarios, para aprovechar el carbono en la síntesis de compuestos secundarios como polifenoles o lignina (Wardle, 2003; Kakani et al., 2003).

Por otro lado, la Hipótesis del Balance Crecimiento-Diferenciación añade a todos los factores que afecten el proceso de la fotosíntesis (radiación solar, humedad absoluta y relativa, temperatura, precipitación, etcétera) y el crecimiento en intensidades diferentes. Un ejemplo que apoya esta hipótesis es la exudación de gomas en plantas semi-leñosas de ambientes áridos con baja disponibilidad de agua y nitrógeno (Vilela y Ravetta, 2005).

Las Hipótesis del Balance Carbono-Nutriente y la del Balance Crecimiento-Diferenciación en conjunto, predicen el posible comportamiento del metabolismo vegetal al evaluarse los diversos factores ambientales a los que está expuesta cotidianamente la planta (Vilela et al., 2011; Ramakrishna et al., 2011; Yang et al., 2018). Un ejemplo claro es la fisiología de las plantas de zonas áridas y semi-áridas. Estas zonas se caracterizan por presentar condiciones ambientales muy limitantes para el crecimiento y desarrollo vegetal (temperaturas extremas, baja disponibilidad de agua, baja concentración de diversos nutrientes minerales en el suelo, alta radiación solar, etcétera), lo que se traduce en una mayor asimilación de carbono, que comúnmente pasa a ser parte de los diferentes tejidos en forma de carbohidratos y otras sustancias, que en conjunto protegen al organismo (Yang et al., 2018).

El estudio de los metabolitos secundarios es importante para el ser humano, debido a que no sólo le permite conocer el comportamiento y los mecanismos de adaptación de los organismos a su entorno, sino que, además le provee de recursos novedosos para la solución de diversas problemáticas, que van desde el descubrimiento de nuevas sustancias que permitan la prevención, tratamiento y/o la cura de diversas enfermedades (tanto microbianas como fisiológicas), hasta productos de interés industrial (como saborizantes, aditivos, conservadores, pigmentos, esencias, impermeabilizantes, cosméticos, o con fines recreativos). Además, el hecho de descubrir especies que contengan dichos compuestos, en lugar de contribuir a su aprovechamiento excesivo o a su extinción, podría, con el enfoque adecuado, contribuir a la conservación no solo

de la especie, sino de su ecosistema (Lira et al., 2001; Sepúlveda-Jiménez et al., 2003; Ávalos y Pérez-Urrutia, 2009; Vilela et al., 2011; Yang et al., 2018).

Metabolitos secundarios y su relación con el ambiente

Como se dijo anteriormente, la producción de metabolitos secundarios responde a diferentes factores, los cuales pueden ser intrínsecos (genéticos, ontogénicos y morfogenéticos) y extrínsecos o ambientales (Verma y Shukla, 2015; Katz y Blatz, 2016). Los factores extrínsecos, a su vez, se pueden dividir en atmosféricos y edáficos.

Atmosféricos

Radiación lumínica.

La luz juega un papel indispensable en las rutas metabólicas de los organismos vegetales, promoviendo el crecimiento e induciendo o regulando el metabolismo. Las plantas son capaces de adaptarse a los diferentes factores involucrados con la luz (duración del fotoperiodo, intensidad y longitud de onda) a través de la acumulación de compuestos fenólicos, terpenoides, flavonoides y alcaloides con propiedades antioxidantes (Anasori y Asghari, 2008; Regvar et al., 2012; Arena et al., 2017; Yang, 2018).

Temperatura.

Cambios en la temperatura se encuentran relacionados con la síntesis de diferentes moléculas, destacando el incremento diferenciado de alcanos y ácidos grasos de cadena larga, favoreciendo los de tipo saturado en condiciones de incremento y los insaturados en condiciones de bajas temperaturas (Mizusawa y Wada, 2012; Carvalho y Caramujo, 2018). Además, se ha observado que el aumento en la temperatura ambiental favorece el incremento de metabolitos secundarios de tipo terpénico, fenólico, polifenólico y alcaloidal (Yang et al., 2018; Alfarhan et al., 2020).

Edáficos

Estos factores se encuentran relacionados con la textura del suelo (es decir, el contenido de arcillas, limos y arenas), ya que la composición y tipo de partículas

influye significativamente en la disponibilidad de agua, de nutrientes y en la capacidad de formar asociaciones simbióticas de las plantas con diferentes microorganismos, lo que favorece su nutrición (García-Ruiz y Lana-Renault, 2011; Hernández-González et al., 2018).

Humedad

El estrés hídrico es un factor limitante para el crecimiento vegetal, ya que afecta la concentración, composición y distribución, tanto de metabolitos primarios como secundarios (Mundim y Pringle, 2018). En el caso de estos últimos, desencadena una serie de señales que promueven la síntesis de moléculas que aminoren el impacto del déficit hídrico en el medio, especialmente compuestos fenólicos y alcaloides (Ramakrishna y Ravishankar, 2011; Verma y Sukla, 2015; Yang et al., 2018).

Salinidad

Es uno de los factores que más restringe el metabolismo debido a que causa estrés oxidativo ya que se favorece una producción elevada de especies reactivas de oxígeno (ERO's), alterando significativamente el desarrollo vegetal. En condiciones de alta salinidad, las plantas producen una gran cantidad de compuestos con actividad antioxidante, destacando compuestos terpénicos, fenólicos, flavonoides y alcaloides (Hanen et al., 2008; Lim et al., 2012; Borgognone et al., 2014; Falcinelli et al., 2017).

Fertilidad

Este factor está íntimamente relacionado con los minerales presentes en el suelo y estimula el crecimiento vegetal además de influenciar el contenido de metabolitos secundarios (Yang et al., 2018). Deficiencias en macronutrientes (como el nitrógeno, el fósforo y el potasio) y micronutrientes (el hierro, el cobre, el zinc y el manganeso), el están relacionadas con el incremento en la concentración de compuestos fenólicos; además, el déficit de nitrógeno se ha realizado con una disminución drástica en el contenido alcaloideo al utilizarse estas moléculas como fuentes de este elemento (Ibrahim et al., 2010; Arena et al., 2017; Ullrich et al., 2017).

Zona de estudio

Nuestro país se caracteriza por presentar regiones áridas y semi-áridas en más del 60% del territorio nacional. Sin embargo, a diferencia de otros países que presentan coberturas similares, el llamado “desierto mexicano” se caracteriza por la presencia de enormes extensiones de matorrales xerófilos (González, 2012), en los cuales, de acuerdo con las características ambientales de la zona, puede predominar una especie o un grupo específico de plantas a partir de las cuales se asigna el nombre a la asociación vegetal de dicha localidad. De esta forma, tenemos las *tetecheras*, en las que predominan las cactáceas de la especie *Neobauxmia tetetzo* (F.A.C. Weber) Backeb (cuyo nombre común es “tetecho”); *nopaleras*, que se caracterizan por la presencia de una o varias especies del género *Opuntia* (conocidos popularmente como “nopales”); *pastizales y/o zacatonales* (dominadas por una o varias especies de gramíneas); y *mezquiales* (en donde hay predominancia de organismos del género *Prosopis*, denominados genéricamente como “mezquites”) (Gómez-Pompa, 1965).

El cambio de uso de suelo en estas regiones ha propiciado el crecimiento de diversas actividades productivas, destacando las agrícolas (las cuales encuentran limitadas por la disponibilidad de agua, la cual se obtiene de ríos cercanos y mantos freáticos), ganadería (mayor preponderancia del ganado bovino en el norte del país, en donde los animales pueden dispersarse mejor al haber grandes extensiones de pastizales y poca presencia de cactáceas y otras especies espinosas; y una amplia variedad de ganado ovino y caprino en las zonas centrales del país, donde tanto cabras como ovejas se adaptan con mayor facilidad a las condiciones ambientales de dichas regiones) y actividades de recolección (principalmente de flores y frutos de temporada provenientes principalmente de cactáceas, árboles y arbustos), además de obtención de materiales de construcción (principalmente costillas de cactáceas columnares secas y hojas de palma como cubierta de techos de casas, establos y gallineros) (Montoya, 2002; Vilela et al., 2011; González, 2012).

Una zona de importancia para los estudios de producción de metabolitos secundarios y la influencia del ambiente sobre los mismos es el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla, insertado dentro de la reserva de la Biosfera de

Tehuacán-Cuicatlán, región que se caracteriza por la presencia de un clima árido, el cual se destaca por precipitaciones escasas (entre 200 y 450 mm), altos niveles de radiación solar y un alto grado de evapotranspiración (Apéndice 2). Desde el punto de vista edafológico, presenta suelos alcalinos y con alta salinidad, originada por el material parental que la conforman (López-Galindo et al., 2003). La aridez del ambiente se ha visto acrecentada por las prácticas agrícolas y ganaderas de los habitantes, situación que ha provocado que muchos de los ecosistemas se vean afectados por la pérdida de nutrientes y el ataque de herbívoros, destacándose el ataque constante del ganado caprino perteneciente a la población circundante (Montoya et al., 2004; García-Ruiz y Lana-Renault 2011).

Importancia del género *Prosopis* y antecedentes

Un grupo vegetal, anteriormente mencionado y que ha sido explotado para toda clase de actividades productivas en las zonas áridas del territorio nacional, es el grupo de los mezquites, los cuales pertenecen al género *Prosopis*, que se encuentra ampliamente extendido en el continente Americano. En México, las especies con mayor cobertura son *P. glandulosa* Torr., *P. velutina* Wooton 1898, *P. strombulifera* (Lam.) Benth, *P. pubescens* Benth. 1846, *P. juliflora* (Sw.) DC. 1825 y *P. laevigata* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) M.C. Johnst (Ffolliot y Thames, 1983) distribuyéndose especialmente en estados como Jalisco, Zacatecas y Aguascalientes; así mismo, su distribución en Estados Unidos se extiende hasta el sur de Texas, el sudoeste de Kansas, y del sudeste de California al sudoeste de Utah y hasta el límite sur del desierto de Sonora (Rzedowski, 1988).

Una de las especies dominantes en la zona centro-este del país es *Prosopis laevigata* (Apéndice 1), un elemento de la flora representativo de la región. Los individuos de *P. laevigata* son aprovechados por los pobladores para actividades económicas como la agricultura, la cría de ganado (particularmente bovino y caprino), la recolección de frutos (tanto de cactáceas asociadas a los mezquites y de las vainas de mezquite para ser utilizadas como forraje en épocas de sequía) y la obtención de madera y carbón. La madera de mezquite es conocida por su dureza, lo que la coloca en la categoría de madera preciosa; por otro lado, el carbón obtenido de esta especie es muy apreciado por sus

capacidades inflamables, su duración y el calor que produce (Cervantes y Concepción, 2002; Paredes-Flores et al., 2007; Salas, 2013; Rodríguez et al., 2014; Castro, 2016).

Estos aspectos han originado la sobreexplotación de este recurso vegetal por parte de los pobladores, situación que origina problemas ecológicos a largo plazo, debido a la importancia de esta especie como nodriza y fertilizador de los suelos, provocando la agudización de la aridez (CONAZA, 1994). En consecuencia, es relevante ahondar en estudios alrededor de *P. laevigata*, ya que dichos estudios podrían arrojar datos que permitan, a la larga, favorecer actividades de protección a partir del uso racional de la especie.

Tres áreas importantes para el estudio de *Prosopis laevigata* son la etnobotánica, la farmacognosia y la fisiología vegetal que, a través del estudio de plantas medicinales y sus metabolitos secundarios, es posible proponerlos para procesos industriales o farmacéuticos. En el caso del género *Prosopis*, se tiene registro del uso de las partes aéreas desde la época prehispánica, conocimiento recogido en el Códice de la Cruz-Badiano (Linares y Bye, 2013), recopilación de las plantas medicinales de la entonces Nueva España; en dicho código del siglo XVI, se menciona al *quetzalmizquitl* (identificado como *Prosopis laevigata*) como parte de las plantas utilizadas para “el remedio contra la purulencia ya agusanada”, afección que se refiere a heridas infectadas e invadidas por gusanos (Figura 6).



Figura 6. Quetzalmizquitl (Identificado como *P. laevigata*) (tomada de Linares y Bye, 2013).

En 1980, Toursarkissian hizo una revisión acerca de las plantas medicinales de Argentina, y menciona a los mezquites como parte de las plantas que se utilizan para las afecciones respiratorias y para el alivio de infecciones oculares. Argueta et al. 1994, en su *Atlas de Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana* registran el uso de infusiones de hojas y ramas provenientes de *P. laevigata* para el tratamiento de tos, dolor estomacal e infecciones bucales y oculares, registro que coincide con

Monroy y Castillo (2000), en su trabajo sobre plantas medicinales del estado de Morelos.

Los registros etnobotánicos del género *Prosopis* han derivado en investigaciones acerca de la composición química de distintas especies, con la finalidad de encontrar compuestos de interés biomédico, entre los que se pueden destacar los que se encuentran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Antecedentes de estudios sobre la actividad antimicrobiana de diferentes especies del género *Prosopis*.

Autor	Especie	Parte(s) utilizada(s)	Actividad
Ardoino, 2006	<i>Prosopis flexuosa</i>	Hojas y corteza	Actividad <i>in vitro</i> de los extractos etanólicos sobre <i>Brucella canis</i> .
Darogha, 2009	<i>Prosopis farcta</i>	Hojas	Actividad antimicrobiana de extractos acuosos y etanólicos sobre varias cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> meticilin-resistentes.
Kolapo et al., 2009	<i>Prosopis africana</i>	Raíz y tallos	Actividad antimicrobiana de un extracto etanólico sobre <i>Candida albicans</i> , <i>Staphylococcus saprophyticus</i> y <i>Streptococcus mutans</i> .
Raghavendra et al., 2009	<i>Prosopis juliflora</i>	Hojas	Actividad antifúngica del extracto acuoso sobre <i>Alternaria alternate</i> ; determinación de la actividad antifúngica de la fracción alcaloidea con una concentración mínima inhibitoria de 1000 ppm
Salinas et al., 2009	<i>Prosopis laevigata</i>	Hojas	Actividad antimicrobiana de extractos hexánicos y cetónicos.
Moorthy y Kumar, 2011	<i>Prosopis glandulosa</i>	Hojas	Moderada a media actividad antimicrobiana sobre <i>C. neoformans</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Shigella flexneri</i> , <i>Proteus vulgaris</i> y <i>Vibrio parahaemolyticus</i> observada en el método por difusión en disco.
Cunha, 2012	<i>Prosopis juliflora</i>	Hojas y corteza	Actividad antifúngica de extractos etanólicos sobre cepas de <i>Candida albicans</i> , <i>Candida guilliermondii</i> y <i>Candida tropicalis</i> .
Tajbakhsh et al., 2015	<i>Prosopis juliflora</i>	Vainas inmaduras	Actividad de un extracto obtenido con una mezcla de agua bidestilada:metanol:acetato de etilo 30:180:90 sobre <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> ,

Correlación entre parámetros edáficos, composición química y actividad antimicrobiana de inflorescencias de Prosopis laevigata

			<i>Escherichia coli</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , encontrando un mayor efecto en las bacterias Gram positivas.
Thakur et al., 2014.	<i>Prosopis juliflora</i>	Hojas	Moderada a mediana actividad antibacteriana de extractos butanólicos, etanólicos y metanólicos obtenidos por maceración y por Soxhlet, destacando la actividad sobre <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Streptococcus pyogenes</i> .
Kavita et al., 2017	<i>Prosopis cinerea</i>	Vainas inmaduras	Actividad inhibitoria del extracto clorofórmico de las vainas contra <i>Klebsiella pneumoniae</i> y actividad inhibitoria del extracto bencénico contra <i>Escherichia coli</i> y <i>Bacillus subtilis</i>
Moreno, 2019	<i>Prosopis laevigata</i>	Hojas	Actividad antifúngica del extracto metanólico sobre cepas tanto de catálogo como aislamientos clínicos de <i>Candida albicans</i> , <i>Candida tropicalis</i> y <i>Candida glabrata</i> .
Melgoza, 2020	<i>Prosopis laevigata</i>	Hojas	Actividad antifúngica del extracto metanólico sobre cepas tanto de catálogo como aislamientos clínicos de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> .

Como se mencionó anteriormente, uso de hojas, corteza y ramas para la curación de afecciones, especialmente en las especies *P. juliflora* y *P. cinerea* es muy conocido (Sharifi-Rad et al., 2019); sin embargo, hay poca información con respecto a la actividad antimicrobiana de las inflorescencias. Estudios con mieles monoflorales producidas a partir del néctar de las flores de especies de este género demostraron tener altas capacidades bactericidas (Maidana, 2008); en 2016, Castro reportó que las flores de la especie *Prosopis laevigata* presentan una alta actividad antibacteriana, y en 2017, Nava reportó diferencias de actividad antimicrobiana entre flores colectadas en el año 2015 en dos momentos distintos del año: época de secas (la cual comprende de septiembre a abril), que es la época de floración normal (que sucede entre febrero y marzo), y una temporada de lluvias tempranas (la cual comenzó ese año a finales de febrero y se extendió hasta mayo), suceso que provocó un fenómeno llamado

coloquialmente como “floración loca”, en la que hay producción de flor fuera de la temporada normal.

Biología de la flor

La transición de la fase vegetativa a la reproductiva es un proceso fundamental en el ciclo de vida de una planta, ya que es por medio de ella que la especie se perpetúa y depende de que el organismo llegue a un estadio adecuado para que la floración se produzca en condiciones favorables para la polinización y anticipando que las condiciones ambientales sean las adecuadas para el desarrollo de las semillas (Cruz y Rosas, 2013). Este proceso implica, por lo tanto, la coordinación entre la percepción de diferentes estímulos ambientales tales como la disponibilidad de agua, la longitud del día, la calidad lumínica y la temperatura ambiental (Gamboa-de Buen et al., 2013a).

De forma general, se puede decir que las plantas de zonas áridas presentan poca respuesta al fotoperiodo, ya que son organismos que están adaptados a resistir altas radiaciones lumínicas, por lo que sus procesos de floración y fructificación dependen especialmente de la disponibilidad de agua o la humedad relativa del ambiente (Lesica y Kittelson, 2010). Otro factor recientemente estudiado es la concentración de CO₂ ambiental y se ha observado que, en algunas especies pertenecientes a la familia Rubiaceae, Solanaceae y algunas Fabaceae especialmente del grupo de las Fabales, puede adelantar ligeramente los procesos de diferenciación y desarrollo floral. Debido a esto, se puede inferir que la composición química de las flores de momentos diferentes en el año, o sometidas a condiciones ambientales diferentes, presentarían diferencias visibles en las moléculas que las conforman (Crimmins et al., 2010; Gamboa-de Buen et al., 2013b).

Por esta situación, y considerando el estrés adicional de las actividades humanas en los mezquites, se hace necesario el estudio de la variación de metabolitos en diferentes órganos. Un órgano de interés de la especie *P. laevigata* es la inflorescencia, ya que, durante su desarrollo, muchos metabolitos (entre los que destacan flavonoides como la crisina, la pinocembrina y la quercetina; alcaloides propios del género *Prosopis* como la juliflorina, la juliprosopina, la prosofilina y la cassina; pigmentos accesorios como la luteína,

entre otros) son sintetizados para su protección y propagación (Pakrashi y Chatterjee, 1992; Castro, 2016; Henciya et al., 2017; Nava, 2017), en este sentido, cambios en el medio circundante podrían verse reflejados en la producción y concentración de dichos metabolitos, ya sea favoreciendo o inhibiendo aquellos que potencialmente podrían ser de interés para el ser humano, y por ende, podrían ser excelentes indicadores del estrés y las condiciones ligadas a la perturbación ambiental a la que esta especie se encuentra expuesta.

Por lo antes mencionado, surge el planteamiento de este trabajo de investigación que pretende resolver la siguiente pregunta:

¿Habrá variación en la composición química y actividad antimicrobiana en los extractos florales procedentes de diferentes árboles de *P. laevigata* colectados en la misma zona, pero en áreas con diferente grado de perturbación antropogénica?

HIPÓTESIS

Las plantas producen compuestos que les permiten amortiguar las presiones ambientales a las que se ven expuestas, por lo que modificaciones ambientales antropogénicas relacionadas con cambios en diversas características del suelo, estimularán la síntesis de compuestos que permitirán a la inflorescencia y al futuro vástago de *Prosopis laevigata* la supervivencia en dichas condiciones ya sea amortiguando dicho estrés o protegiendo del ataque microbiano.

OBJETIVO GENERAL

Correlacionar la concentración y tipo de metabolitos secundarios presentes en las flores de *P. laevigata* y factores edáficos como la salinidad, el pH, materia orgánica y nitrógeno totales.

OBJETIVOS PARTICULARES

De los extractos metanólicos de las inflorescencias de *P. laevigata*:

1. Comparar la composición química por métodos cuantitativos y cualitativos.
2. Determinar la Capacidad Antioxidante Media (CA₅₀).

3. Comparar la actividad antibacteriana y antifúngica, obteniendo los halos de inhibición, Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), Concentración Mínima Bactericida, Concentración Fungicida Media (CF₅₀) y Concentración Fungicida Mínima (CFM).
4. Identificar la, o las fracciones, con mayor actividad antibacteriana por medio de una Bioautografía, determinando, además, uno de los posibles mecanismos de acción de los extractos por medio de la técnica de cuantificación de fuga de proteínas.
5. Correlacionar las actividades y la presencia de compuestos con diferentes características del suelo (contenido de materia orgánica, densidad, salinidad, nitrógeno total, y conductividad eléctrica) a partir de un análisis de rutas.

MATERIALES Y MÉTODOS

a) Obtención de los extractos

1. Obtención del material biológico

El material biológico fue colectado en las épocas de floración de *P. laevis*, en el mes de marzo de 2018 en Zapotitlán Salinas, Puebla (Figura 7, Apéndice 2), en dos áreas, una de cultivo abandonado (caracterizado por la presencia de surcos de cultivo y delimitación de espacios de origen antropogénico) (CCA) y otra de mezquital abierto (caracterizado por una distribución discontinua de *P. laevis* y presencia de organismos pertenecientes a las familias Poaceae, Cactaceae y Crassulaceae de naturaleza halófila) (ZMA) (García-Ruiz y Lana-Renault 2011; Hernández-González et al., 2018). Adicionalmente durante la colecta se tomaron muestras del suelo siguiendo un recorrido en forma zigzag. Cada dos metros se tomó una muestra, obtenidas a 50 centímetros de profundidad y fueron tomadas en 5 puntos separados a 2 m cada uno, procurando que dichos puntos estuvieran cerca de los organismos de *P. laevis* de cada zona. Se obtuvieron aproximadamente 100 gramos de cada punto de muestreo y se procedió a hacer una muestra mezclada de cada zona para su transporte y posterior análisis en laboratorio (NOM-021-RECNAT-2000).

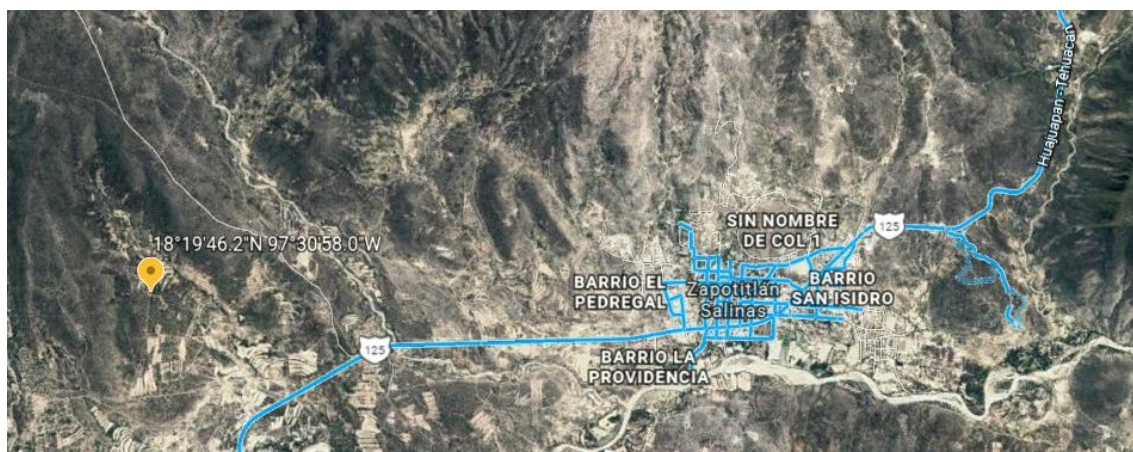


Figura 7. Macrolocalización del área de estudio (color amarillo).

2. Obtención de los extractos metanólicos

Las muestras de inflorescencias se secaron en un lugar sombreado y ventilado a temperatura ambiente (aproximadamente 20°C). Se midió el peso de cada muestra. Se realizaron extractos metanólicos utilizando metanol grado reactivo ACS (marca Fermont S.A. de C.V.) de cada organismo colectado por la técnica

de maceración, hasta el agotamiento de los compuestos solubles, descrita por Domínguez (1973). El exceso de solvente se destiló bajo presión reducida en un rotavapor y se pesó el extracto obtenido. Para calcular el rendimiento total se utilizó la siguiente fórmula:

$$R = \frac{Pe \times 100}{Pm}$$

R= Rendimiento
Pe= Peso del extracto
Pm= Peso seco de la muestra vegetal

b) Pruebas químicas

1. Cuantificación de Fenoles Totales

La Concentración de Fenoles Totales (CFT) se cuantificó por espectrofotometría con base en una reacción colorimétrica redox por el método modificado de Singleton et al. (1999). Se realizó una curva de calibración con ácido gálico en una solución estándar de 200 µg/mL. A partir de esta solución se tomaron alícuotas correspondientes para obtener las concentraciones seriadas de ácido gálico (0.00625, 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1 y 0.2 mg/mL). La absorbancia se midió a 760 nm. Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramos de extracto de inflorescencia de mezquite (mg eAG/g).

2. Flavonoides Totales

Se determinaron por medio del método de Dowd (Ramamoorthy y Bono, 2007), empleando una solución de AlCl₃ al 2%. Se realizó una solución inicial de quercetina (marca Sigma-Aldrich, pureza ≥ 95%). Pesando 3 mg de este reactivo y disolviéndolos en 3 mL de metanol puro grado HPLC (marca Sigma-Aldrich, pureza ≥ 99%). A partir de esta solución se realizó una curva patrón con diferentes concentraciones (1-100 µg/mL) en tubos de ensayo de 5 mL, y posteriormente agregando 1 mL de la solución de AlCl₃ al 2%; de estas soluciones, se tomaron alícuotas de 200 µL y se colocaron por triplicado en una placa de ELISA de 96 pozos de fondo plano.

Así mismo, se realizó una solución de cada extracto metanólico en las mismas condiciones que la solución inicial de quercetina, de la cual se tomó 1 mL y se pasó a un tubo de ensayo, para posteriormente colocar 1mL de solución de AlCl₃ al 2%, para posteriormente tomar alícuotas de 200 µL. Posteriormente se colocó

en tres pozos metanol puro y en otros tres 200 µL en cada uno de la solución inicial del extracto como blancos.

La placa de Elisa se leyó en un lector de placas marca Thermo, modelo Multiskan EX, tipo No. 355, serie No. 3550902720 determinando la absorbancia a 415 nm, y los resultados se expresaron como microgramos equivalentes de quercetina por gramo de extracto de inflorescencia de mezquite (µg eQ/g) (Ramamoorthy y Bono, 2007; Nava, 2017).

3. Evaluación de la actividad antioxidante

Se determinó por el método de reducción del radical 2,2-difenil-1picrilhidracil (DPPH) (marca Sigma-Aldrich). Se realizó una solución de cada extracto pesando 5 mg y disolviéndolos en 5 mg de metanol grado HPLC marca Sigma-Aldrich, pureza $\geq 99\%$). A partir de estas soluciones iniciales se realizó un abanico de concentraciones desde de 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 y 1000 µg/mL y a partir de cada una de éstas, se tomaron alícuotas de 50 µL por triplicado para colocarlas en placas de ELISA de 96 pozos de fondo plano.

Posterior a la preparación de las concentraciones, se realizó una solución de DPPH a una concentración de 100 µM en un matraz aforado, y de esta solución se tomaron alícuotas de 150 µL para colocarlas en los pozos de los extractos anteriormente mencionados. Como control positivo se realizó una curva de quercetina (marca Sigma-Aldrich, pureza $\geq 95\%$) con concentraciones de 1 a 1000 µg/mL. Como blanco se usaron pozos con 200 µL de metanol grado HPLC. Cada placa se cubrió de la luz con papel aluminio y se incubó durante 30 minutos en una estufa de cultivo marca Ecoshel modelo 9082 (Ecoshel Technology, TX., EE.UU) para posteriormente ser leídas en un lector de placas marca Thermo, modelo Multiskan EX, tipo No. 355, serie No. 3550902720, determinando la absorbancia a 540 nm (Okusa et al., 2007; Nava, 2017).

Con los resultados obtenidos se calculó el el porcentaje de reducción, a partir de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de reducción del DPPH} = \frac{C - E}{C} \times 100$$

C=Absorbancia del DPPH disuelto en MeOH

E= Absorbancia experimental (Mezcla DPPH (150 µL) + solución problema (50µL)).

4. Alcaloides totales.

Se determinaron por medio de la técnica descrita por Shamsa et al. (2008).

Se preparó una solución de verde de bromocresol pesando 69.8 mg de este reactivo, los cuales se disolvieron en 3 mL de una solución de hidróxido de sodio (NaOH) 2 N. Una vez disuelto el colorante, se añadieron otros 5 mL de agua destilada. Una vez disuelto perfectamente, Se aforó a un litro añadiendo agua destilada.

Para la curva patrón, Se preparó una solución de atropina (Sigm-Aldrich, pureza $\geq 99\%$) a una concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$ en agua destilada. A partir de esta solución, se tomaron alícuotas que fueron colocadas en tubos de ensayo de 10 mL para finalmente obtener concentraciones de 0.02 a 0.1 mg/mL

Posteriormente, se realizaron soluciones de los extractos metanólicos a una concentración de 2 mg/mL en agua destilada. De cada una de estas soluciones se tomaron alícuotas de 1.2 mL y se colocaron en tubos de ensayo de 10 mL tanto a los tubos de la curva patrón como a los de los extractos se agregaron 2.5 mL de una solución 2 M de fosfato de sodio (con pH de 4.7) y 2.5 de la solución de verde de bromocresol. A cada tubo se realizó una serie de lavados con cloroformo grado reactivo ACS (marca Fermont S.A. de C.V.) utilizando cada vez 0.5 mL y mezclando perfectamente, para posteriormente recuperar la parte clorofórmica con el uso de pipetas Pasteur. Los lavados se realizaron hasta obtener 5 mL, que fueron recuperados en tubos de ensayo de 10 mL.

Finalmente, se determinó la absorbancia a 470 nm y los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de atropina por gramo de extracto de inflorescencia de mezquite (mg eA/g) (Shamsa et al., 2008; Nava, 2017).

5. Caracterización química de los extractos.

La composición química de los extractos se estudió mediante Las siguientes técnicas cromatográficas:

5.1 Cromatografía en placa fina (CCF)

Se realizó utilizando cromatofolios de aluminio con sílica gel 60 F₂₅₄, utilizando una fase móvil de acetona:cloroformo:metanol acidulado con 1% de ácido fosfórico en una proporción 6:2:2.

5.2 Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM)

Se realizó utilizando un Cromatógrafo De Gases modelo 6850 y Espectrómetro de Masas modelo 5975 C, marca Agilent Technologies EE.UU; condiciones de corrida: Temperatura inicial del horno:150 °C mantenida durante 2 minutos, con rampa de calentamiento de 5 °C/min hasta 200 °C y una segunda rampa de 10°C hasta 300 °C mantenida por 4 minutos; tipo de inyección Spitless con temperatura del inyector de 250°C; columna RTX-50 30 m de largo por 0.25mm de diámetro interno y 25 micras de película marca Restek Corp con flujo inicial de 1.0mL/min; Detector de Masas con modo de adquisición de datos Full Scan, rango de masas de 35-600 m/z; temperatura de cuadrupolo de 150 °C; temperatura de la fuente de ionización de 230 °C e impacto electrónico de 70 eV.

5.3 Cromatografía Líquida de Alta Resolución con arreglo de Diodos (CLAR-DAD)

Se realizó utilizando un equipo modelo Hewlett-Packard HP serie 1100 (Hewlett-Packard, Wilmington, EE. UU) equipado con un Detector con Arreglo de Diodos 1100 operado con una estación móvil ChemStation AO903; condiciones de corrida: Fase metanol-acetonitrilo-agua-ácido fosfórico 1% (25:25:50); columna Allsphere ODS-1 de 250 x 4.6 mm con película de 5 micras; flujo de 1 mL/min; detector de 254, 280 y 364 nm; DAD: 200-450nm.

c) Pruebas biológicas

1. Actividad antibacteriana

Características de los cultivos utilizados para los ensayos: Las bacterias de cada cepa se dejaron crecer 24 horas antes de cualquier ensayo, en 10 mL de caldo Müller-Hinton en tubos estériles en una estufa de cultivo marca Ecoshel modelo 9082 (Ecoshel Technology, TX., EE.UU). De cada tubo se tomaron

alícuotas para ajustar la turbidez al patrón 0.5 de McFarland equivalente a 1.5×10^8 unidades formadoras de colonia (UFC) (CLSI, 2019¹).

Así mismo, se evaluó la sensibilidad de cada cepa utilizada a diferentes antibióticos de uso comercial empleando multidiscos marca BIORAD ® (Gram positivos II y Gram negativos).

1.1 Prueba de difusión en agar de Kirby-Baüer

Se determinó la actividad antibacteriana mediante la técnica de difusión en agar de Kirby-Baüer, para lo cual, 24 h previas al ensayo se impregnaron sensidiscos con 2 mg del extracto a probar; como control positivo se usaron sensidiscos impregnados con 25 µg de cloranfenicol, como control negativo se utilizaron sensidiscos impregnados con 10 µL de metanol. Las bacterias utilizadas fueron 2 cepas Gram positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) y dos cepas Gram negativas (*Escherichia coli*, caso clínico y *Vibrio cholera* CDBB-1159) (CLSI, 2019¹).

Se sembraron placas con agar Müeller-Hinton y se colocaron tres discos de cada extracto y 3 de cloranfenicol por cada cepa utilizada. Posteriormente, se incubaron durante 24 h a 37°C en una estufa de cultivo marca Ecoshel modelo 9082 (Ecoshel Technology, TX., EE. UU). Después del periodo de cultivo, se midieron los halos de inhibición.

1.2 Prueba de microdilución en caldo

Para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y de la Concentración Bactericida Mínima (CBM) se realizó la microtécnica de dilución en caldo, con una serie de diluciones seriadas (0.312, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 y 20 mg/mL) del extracto metanólico. El extracto se disolvió en caldo Müeller-Hinton, por lo cual no fue necesario incluir un control negativo, colocándose por triplicado en cajas de ELISA de 96 pozos con fondo cóncavo. Posteriormente, las cajas se inocularon con 50 µL de un cultivo bacteriano a una concentración de 1×10^5 UFC/mL y se incubaron por 24 horas a 37°C en una estufa de cultivo marca Ecoshel modelo 9082 (Ecoshel Technology, TX., EE. UU) (CLSI 2019²). Posterior al tiempo de incubación, se añadieron a cada pozo 50 µL de cloruro de trifetil tetrazolio (TTC) al 0.08% y se volvió a incubar durante 30 minutos,

después de lo cual, se observó la placa, buscando aquellas concentraciones en las que se viera una disminución drástica del crecimiento bacteriano (CMI) o la inhibición completa de éste (CBM) a partir de la coloración del inóculo bacteriano en el fondo de cada pozo.

1.3 Determinación de fuga de proteínas de microorganismos.

Una vez identificada la actividad de los extractos sobre organismos bacterianos, se determinó si las moléculas que los componen afectan la membrana celular, favoreciendo la lisis de ésta utilizando la CMI de cada extracto y siguiendo la técnica descrita por de Akinpelu et al., 2015.

Previo al experimento, se inoculó un tubo con 20 mL de caldo Müeller-Hinton a partir de un cultivo de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y se incubó en una estufa de cultivo marca Ecoshel modelo 9082 (Ecoshel Technology, TX., EE. UU) a 37°C durante 24 h. De este tubo se extrajeron alícuotas de 1.5 mL que fueron depositadas en tubos Eppendorf™ de 2 mL, los cuales se centrifugaron en una microcentrífuga a 10,000 rpm x 10 min, para después decantar el sobrenadante y resuspender la pastilla en 1.5 mL de solución salina isotónica. Este procedimiento se realizó por triplicado, y después del tercer lavado se agregó 1.5 mL de una solución con la Concentración Mínima Inhibitoria de cada extracto en tubos por separado.

Cada 30 minutos, los tubos fueron centrifugados a 10,000 rpm x 10 min, luego de lo cual se tomaron alícuotas de 100 µL, las cuales fueron colocadas en placas de ELISA de fondo plano. Esto se hizo en el periodo comprendido de 0 a 90 min, después de lo cual, se realizó la técnica de micro Bradford, utilizando una curva de albumina de suero fetal bovino (Sigma, pureza de $\geq 96\%$) para determinar la concentración de proteínas en el medio extracelular. El procedimiento se realizó por triplicado y se determinó la absorbancia a 595 nm en un lector de placas marca Thermo, modelo Multiskan EX, tipo No. 355, serie No. 3550902720. Los resultados fueron expresados en microgramos equivalentes de albúmina por mililitro (µg e BSA/mL).

1.4 Bioautografía de los extractos

Una vez determinados los extractos que presentaron la mayor actividad antimicrobiana, se realizó una bioautografía de cada uno para identificar la fracción o fracciones más activas de cada extracto (Colorado et al., 2007), utilizando las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Vibrio cholera* CDBB-1159 (que fueron las cepas más sensibles a los extractos). Pasado el tiempo de incubación, las bioautografías se revelaron con TTC para identificar la o las fracciones con actividad antimicrobiana.

2. Actividad antifúngica en hongos levaduriformes

2.1 Evaluación de la actividad del extracto sobre hongos levaduriformes

Se realizó de acuerdo con el método de difusión en agar. Los sensidiscos se prepararon 24 horas antes de realizar el ensayo, se impregnaron con 4 mg del extracto metanólico. Para el control positivo se utilizaron sensidiscos impregnados con 25 µg de nistatina (marca Sigma-Aldrich), como control negativo se usaron sensidiscos impregnados con 10 µL de metanol. Las cepas que se utilizaron fueron *Candida albicans* ATCC1023, *C. albicans* caso clínico; *C. tropicalis* caso clínico, y *C. glabrata* caso clínico (CLSI, 2019²).

Se sembraron placas con agar Papa Dextrosa (PDA) y se colocaron tres discos de cada extracto y 3 de nistatina por cada cepa utilizada. Posterior a esto, se incubaron durante 24 h a 37°C en una estufa de cultivo marca Ecoshel modelo 9082 (Ecoshel Technology, TX., EE. UU). Pasado el tiempo de incubación, se midieron los halos de inhibición.

2.2 Determinación de la Concentración Fungicida Media (CF₅₀) y de la Concentración Fungicida Mínima (CFM) en hongos levaduriformes

Para la determinación de la Concentración Fungicida Media (CF₅₀) y de la Concentración Fungicida Mínima (CFM) se realizó la microtécnica de dilución en caldo, con una serie de diluciones seriadas (0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 20 y 40 mg/mL) de cada extracto metanólico en placas de ELISA de fondo cóncavo colocadas por triplicado. El extracto se disolvió en caldo Sabouraud, por lo que no fue necesario colocar un control negativo. Las placas se inocularon con 50 µL de un cultivo de levaduras a una concentración de 1X10⁵ UFC/mL y se incubaron

en una estufa de cultivo marca Ecoshel modelo 9082 (Ecoshel Technology, TX., EE. UU) a 37° C por 24 horas (CLSI 2019²). Pasado el tiempo de incubación, se observaron las placas, buscando aquellas concentraciones en las que se viera una disminución drástica del crecimiento de las levaduras (CF₅₀) o la inhibición completa de éste (CFM).

2.3 Inhibición del crecimiento radial en hongos filamentosos

Se realizó la técnica de inhibición del crecimiento radial usando una concentración de 4mg por disco del extracto metanólico, como control positivo Ketoconazol a una concentración de 7 µg por sensidisco, como control negativo se usaron sensidiscos impregnados con 10 µL de metanol. La cepa utilizada fue *Fusarium sporotrichoides* ATCC NRLL3299. Para la realización del ensayo se obtuvo un botón micelial de 5 mm de diámetro a partir de un cultivo previamente realizado, y se colocó en el centro de una caja de Petri con agar PDA. Esto se repitió 14 veces, y en cada caja se pusieron 3 sensidiscos de cada extracto o de los controles. Las cajas se mantuvieron a temperatura ambiente (20-25 °C) y se monitorearon hasta que el micelio se extendiera hasta los sensidiscos, buscando evidencias de deformación (Wang y Bun, 2002).

2.4 Evaluación de la Concentración Fungicida Media (CF₅₀) y la Concentración Fungicida Mínima (CFM) sobre hongos filamentosos

Para la determinación de la Concentración Fungicida Media (CF₅₀) y la Concentración Fungicida Mínima (CFM) se realizó el método de inhibición del crecimiento radial reportado por Wang y Bun, 2002. Se realizaron diluciones seriadas en agar PDA de 0.5 a 8 mg/mL de los extractos, colocándose posteriormente por triplicado en cajas de cultivo celular de 24 pozos; además, se colocaron 3 pozos con agar sin extracto como testigo. Una vez solidificado el agar, se colocó en el centro de cada pozo un botón micelial de 1 mm de diámetro obtenido de un cultivo previo. Las cajas fueron guardadas a temperatura ambiente (20-25 °C) y monitoreadas diariamente hasta observar que los botones correspondientes a los testigos se extendieran por toda la superficie del pozo. Se midieron los diámetros de los botones de los pozos con extracto y se obtuvo el porcentaje de inhibición a partir de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{Diámetro de hongo filamentoso} \times 100}{\text{Diámetro del pozo}}$$

c) Caracterización fisicoquímica de las muestras de suelo

Para la realización de las pruebas de caracterización de las muestras de suelo, éstas fueron colocadas en contenedores cubiertos para su secado a temperatura ambiente (rango de 20 a 25°C) durante 3 días; posteriormente, se pasaron por un tamiz de malla N° 10 para retirar material vegetal y se guardaron en bolsas de poliuretano para su posterior análisis en laboratorio. Dado que se trataba de muestras mezcladas, para cada prueba se realizaron 3 repeticiones.

Las muestras de suelo fueron analizadas en el Laboratorio de Edafología de la Unidad de Biotecnología y Prototipos, en la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

1. Color del suelo

Se determinó utilizando las Tablas de Munsell (Munsell Soil Color Charts, 1975). Para tal efecto, se tomó una porción de aproximadamente 5 gramos de cada muestra y se colocó en una placa de porcelana de 12 concavidades, procurando que la muestra quedara al ras. Posterior a esto se procedió a comparar la muestra con las tablas de Munsell hasta identificar el tono al que correspondían, anotando el valor correspondiente al eje y, y después el del eje x. Esta operación se repitió con la muestra humedecida con agua destilada, y los valores obtenidos permitieron identificar el color de las muestras a partir de las valoraciones de las tablas.

2. Textura

El porcentaje de arcillas, arenas y limos en cada muestra se determinó por el método del hidrómetro (Bouyoucos, 1962). Para tal efecto, Se tomó una muestra de 60 g de suelo a la que se agregaron 15 mL de peróxido de hidrógeno para eliminar la materia orgánica. La muestra se dejó secar durante 24 h. Posterior a esto, se colocó la muestra en una batidora mecánica marca Oster modelo 2523 (John "Oster Manufacturing Company, WI, EE. UU), agregando 5 mL de solución

de hexametafosfato de sodio (Calgón) al 10% y aforando con agua corriente hasta la segunda marca del vaso. Se agitó la muestra durante 10 minutos y después se pasó a una probeta de 1 L, aforando a 1L con agua corriente. La probeta se agitó manualmente por un minuto y se dejó reposar por 40 segundos, después de lo cual se tomó la primera lectura con el hidrómetro, tomando también la temperatura de la mezcla con cuidado de no agitarla demasiado. Posterior a esto se dejó reposar durante dos horas y se realizó una segunda lectura con el hidrómetro y el termómetro. Para obtener los porcentajes de limos, arcillas y arenas se realizaron los siguientes cálculos:

$$\% \text{ de arcillas} + \% \text{ de limos} = \frac{\text{primera lectura}}{\text{g de suelo}} \times 100$$

$$\% \text{ de arenas} = 100 - (\% \text{ de limos} + \% \text{ de arcillas})$$

$$\% \text{ de arcillas} = \frac{\text{segunda lectura}}{\text{g de suelo}} \times 100$$

$$\% \text{ de limos} = (\% \text{ de limos} + \% \text{ de arenas}) - \% \text{ de arcillas}$$

Los porcentajes obtenidos se compararon con el triángulo de texturas propuesto por el Soil Survey Manual (USDA, 1993).

3. Densidad y porosidad

3.1 Densidad aparente

Se determinó por el método volumétrico o de la probeta (Beavers y Stephen, 1958). Para tal fin, se pesó una probeta de 10 mL a la que posteriormente se agregó suelo hasta completar 10 mL. La probeta se golpeó ligeramente sobre una superficie plana 5 veces y se procedió a agregar más suelo hasta completar nuevamente 10 mL, golpeando nuevamente la probeta y pesando. A este valor se le restó el peso de la probeta vacía y la densidad se obtuvo a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{Densidad aparente} = \frac{\text{Peso del suelo}}{\text{Volumen}}$$

3.2 Densidad real (método del picnómetro)

Se midió por el método del picnómetro (Aguilera y Domínguez, 1980). Para tal efecto se pesó un matraz aforado de 25 mL, al que se agregaron 5 g de suelo. Posteriormente, se adicionó agua hasta $\frac{3}{4}$ parte del matraz, para agitarlo durante

30 minutos con la intención de desalojar el aire y se llenó con agua destilada hasta el aforo, dejándolo reposar hasta el aforo por 15 minutos y pesándolo.

Luego de esto, se desalojó la mezcla de agua-suelo del matraz, el cual fue enjuagado perfectamente y se llenó con agua destilada hasta el aforo, para ser pesado nuevamente. A partir de estos resultados se calculó la densidad real con la siguiente fórmula:

$$\text{Densidad real} = \frac{S}{(S + A) - (M)}$$

S= peso del suelo
A= Peso del agua (restándole el peso del matraz)
M= Peso de la mezcla suelo-agua (restándole el peso del matraz)

3.3 Porosidad

La porosidad se expresa en porcentaje y se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{Porosidad (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Densidad aparente}}{\text{Densidad real}} \right) \times 100$$

4. Conductividad eléctrica

Se determinó por el método del puente de conductividad de Wheatstone (USDA, 1993). Para tal fin, se colocaron 400 g de suelo seco en un recipiente de plástico y se agregó, con el uso de una bureta, agua destilada, mezclando con una espátula hasta saturar la muestra por completo, anotando el gasto de agua en el proceso. La pasta se dejó reposar por una hora, luego de lo cual se revisó que la mezcla no se hubiera agrietado o acumulado agua en la superficie. Posterior a esto, se tapó y se dejó reposar por 24 horas.

Pasado este tiempo, se colocó un disco de papel filtro en un embudo Buchner y se humedeció ligeramente con agua destilada, colocando el embudo después en un matraz Kitasato. La mezcla de suelo se volvió a mezclar y se vertió en el interior del embudo Buchner. Se aplicó vacío al matraz Kitasato hasta reunir una muestra de 50 mL.

La conductividad de la muestra se midió con un conductímetro Milwaukee MI-170. Rangos CE-TDS-NaCl-Temp (Milwaukee instruments, RM, EE. UU), reportando el resultado en mmhos/cm.

5. pH del suelo

Se determinó por el método potenciométrico o electrométrico (Bates, 1954; Willard, Merrit y Dean, 1958). Se procedió a pesar 10 g de suelo, que fueron colocados en un vaso de precipitados de 50 mL, al que se añadieron 25 mL de agua destilada. La mezcla se agitó y se dejó reposar por 30 minutos. El pH de la solución se midió con un potenciómetro Milwaukee modelo Mi 150 ((Milwaukee instruments, RM, EE. UU), registrando la lectura una vez que ésta se hubiera estabilizado.

6. Capacidad de Intercambio Catiónico Total (CICT)

Se determinó por el método volumétrico del versenato (Schollenberger y Simon, 1945). Se pesaron 5 g de suelo y se colocaron en un embudo con papel filtro. Posteriormente se agregaron 10 mL de solución de cloruro de calcio 1 N pH 7.5 veces, eliminando posteriormente este precipitado. Se procedió a agregar 10 mL de alcohol etílico al 90% 5 veces, desechando también este filtrado. El embudo se trasladó a un vaso de precipitados limpio y se añadieron 10 mL de solución de cloruro de sodio 1 N pH 7.5 veces. Este filtrado se guardó y se aforó a 50 mL con la misma solución, para después agregar 10 mL de solución *buffer* pH 10, 5 gotas de solución de cianuro de potasio al 2%, 5 gotas de clorhidrato de hidroxilamina al 4.5% y 5 gotas de solución indicadora de negro de eritrocromo T.

La mezcla resultante se tituló con una solución de EDTA (versenato) al 0.02 N hasta que haya un vire de color de púrpura a azul. Para calcular la CICT, se utiliza la siguiente fórmula:

$$CICT \text{ (mol (+))Kg}^{-1} = \frac{\text{mL de EDTA} \times N \times FC}{\text{g de suelo}} \times 100$$

N= normalidad del EDTA.
FC= factor de corrección del EDTA

El factor de corrección se obtiene a partir de la titulación de dos blancos compuesto únicamente de una solución de cloruro de calcio 0.02 N, a la cual se añaden 10 mL de *buffer* pH 10, 5 gotas de solución de cianuro de potasio al 2%, 5 gotas de clorhidrato de hidroxilamina al 4.5% y 5 gotas de solución indicadora de negro de eritrocromo T, para después aplicar la siguiente relación:

$$FC = \frac{10 \text{ mL de cloruro de calcio al } 0.02 \text{ N}}{\text{gasto promedio de EDTA en los blancos}}$$

7. Contenido de materia orgánica

El porcentaje de materia orgánica se determinó por el método de oxidación con ácido crómico y ácido sulfúrico (Walkley y Black, 1947). Se pesaron 5 g de suelo, los cuales fueron colocados en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Posteriormente se agregaron 5 mL de una solución de dicromato de potasio 1N y 10 mL de ácido sulfúrico. La mezcla se agitó q minuto y se dejó reposar por 30 minutos. Pasado ese tiempo, se agregaron 100 mL de agua destilada, 5 mL de ácido fosfórico y 3 gotas de solución indicadora de difenilamina, para finalmente titular con una solución de sulfato ferroso 0.5 N obteniendo los siguientes vires de color: negro, verde oscuro, azul y verde esmeralda. Se realizó además un blanco con una mezcla similar al problema omitiendo añadir el suelo y los resultados se calcularon a partir de la siguiente fórmula:

$$MO(\%) = \frac{5 - (\text{mL de FESO}_4 \times N \times FC)}{\text{g de muestra}} \times 0.69$$

N= Normalidad del sulfato ferroso
FC= Factor de corrección

El factor de corrección se calcula con la siguiente fórmula:

$$FC = \frac{10}{\text{mL de FESO}_4 \text{ Gastados en el blanco}}$$

8. Nitrógeno Total

Se determinó medio del método de micro-Kjeldahl (Bremer, 1965). Se pesó 1 g de suelo y se colocó en un matraz de Kjeldahl, añadiendo 2 g de mezcla de catalizadores y 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Esta solución se colocó en un digestor de 6 unidades modelo KJ6DI (Novatech, México), y se dejó digerir durante 3 horas, después de lo cual se apagó el digestor y después de que se enfriara y salieran todos los vapores, se taparon los matraces.

Se añadieron 25 mL de agua destilada y se mezcló vigorosamente. Posteriormente se agregaron 5 o 6 perlas de ebullición, 3 granallas de zinc y 15 mL de una solución de hidróxido de sodio 10 N, para después destilar en un microdestilador Kjeldahl modelo MKD-100 (CRAFT Instrumentos Científicos, México). En la salida del aparato se colocó un vaso de precipitados de 50 mL con 10 mL de solución de ácido bórico con indicador de verde de bromocresol y

rojo de metilo. Se destiló hasta alcanzar un volumen de 30 mL en el vaso de precipitados y esta mezcla se tituló con ácido sulfúrico 0.01 N hasta obtener un viraje de verde a rosado fuerte. Como blanco se realizó una solución similar sin la muestra de suelo.

Para calcular la concentración de nitrógeno, se realizó la siguiente fórmula:

$$\text{Nitrógeno total (\%)} = \frac{(T - B) \times N \times 1.4}{S}$$

T= mL de ácido sulfúrico gastados en la muestra
B= mL de ácido sulfúrico gastados en el blanco
N= normalidad del ácido sulfúrico
S= peso de la muestra

d) Pruebas estadísticas

Para los resultados de las pruebas de actividad antimicrobiana y concentración de metabolitos se realizaron análisis de varianza entre los organismos de cada zona y entre zonas para determinar diferencias significativas por medio del uso del software GraphPad Prism 6. Así mismo, con los parámetros edáficos determinados se realizó un análisis de rutas para identificar las correlaciones causales y no causales de los parámetros ambientales con los resultados obtenidos al probar los extractos (Ortiz-Pulido, 2000).

El análisis de rutas permite la identificación de correlaciones causales y no causales de cualquier par de variables (Ortiz-Pulido, 2000; Rosas, 2006). Para su elaboración, se llevan a cabo los siguientes pasos:

1. Elaboración de diagrama de flujo

Consiste en la ordenación de las variables del sistema analizadas de acuerdo con una hipótesis lógica viable, la cual se desprende de los antecedentes. Además, debe tomarse en cuenta las variables desconocidas (no medibles o no consideradas) que pudieran afectar al sistema, las cuales serán señaladas con la letra U en el diagrama de flujo. Todas las variables, con excepción de las desconocidas, se encuentran encerradas en cajas conectadas por medio de líneas rectas o curvas. Las líneas rectas indican una relación causal entre las variables conectadas, en tanto que las líneas curvas indican una correlación sin relación causal entre las variables.

2. Determinación de la influencia entre variables

Los datos de las variables que interactúan en el modelo se estandarizan mediante la siguiente fórmula (Zar, 1999; Rosas, 2006):

$$VE = \frac{(x_1 - \bar{x})}{Ds}$$

VE= Valor estandarizado
 x_1 = Dato original de la variable
 $\bar{x}$ =Media de los datos de la variable considerada
Ds= Desviación estándar de los datos en la variable considerada

A partir de los datos estandarizados, se procede a determinar la influencia cuantitativa de las variables, la cual se denomina “coeficiente de ruta” Este valor indica la intensidad en el modelo con la que una variable independiente afecta a otra dependiente. Este coeficiente se puede determinar por medio del coeficiente de regresión entre dichas variables. En el caso de las variables desconocidas (U), su efecto se obtiene a partir del efecto de las variables conocidas sobre una variable dependiente de acuerdo con la siguiente fórmula (Rosas, 2006):

$$U = \sqrt{1 - r^2}$$

r^2 = Variabilidad explicada del sistema considerando como causas las variables desconocidas.

Posteriormente se definieron los efectos directos, indirectos y totales. Los efectos directos equivalen al coeficiente de correlación, en tanto que los efectos indirectos se obtienen al multiplicar los efectos que actúan sobre las variables. Los efectos totales se obtienen por la suma de los efectos directos e indirectos (Ortiz-Pulido, 2000; Rosas, 2006).

3. Determinación de la fortaleza del modelo

Para evaluar estadísticamente la fortaleza del modelo para predecir los fenómenos observados en la naturaleza, se realizó una prueba de χ^2 , comparando los coeficientes de correlación observados con los esperados. Mientras más similitud exista entre la matriz observada y esperada, mejor será el ajuste del modelo de rutas propuesto (Ortiz-Pulido, 2000).

RESULTADOS

a) Obtención de los extractos metanólicos

1. Obtención del material biológico

El material biológico fue colectado en la época de floración de *P. laevigata*, ocurrida en el mes de marzo de 2018 en Zapotitlán Salinas, Puebla, en dos áreas: campo de cultivo abandonado (CCA) y zona de mezquital abierto (ZMA). Para definir el tamaño de muestra, se contabilizaron los organismos en floración, obteniendo un total de 12 organismos por área, de los cuales se escogieron aleatoriamente 6 (50%) (figura 8).

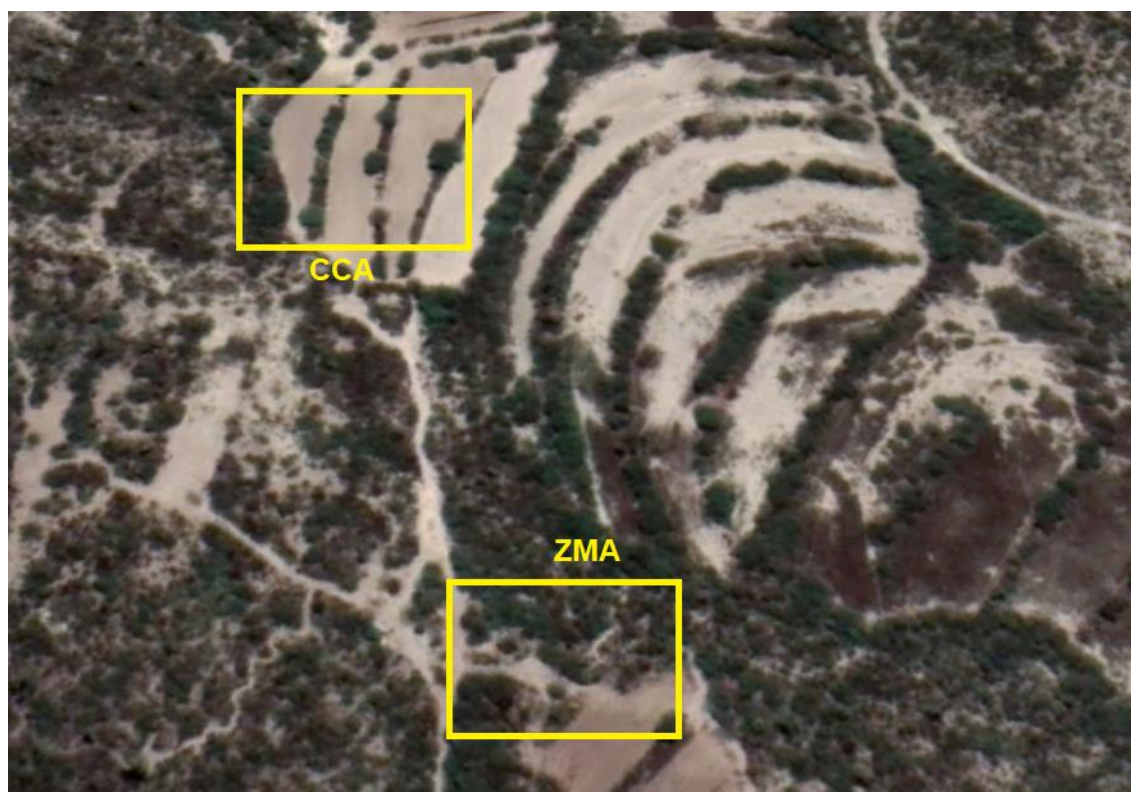


Figura 8. Ubicación de las dos zonas de trabajo. ZMA= Zona de Mezquital Abierto; CCA= Campo de Cultivo Abandonado

2. Obtención de extractos metanólicos

Los rendimientos de los extractos obtenidos por zona se muestran en el cuadro 2, y fueron calculados a partir del peso seco de las muestras de cada organismo. Se puede observar que existe una cantidad promedio mayor en las muestras de

la zona ZMA (figura 10). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre ambas zonas ($t=2.738$; valor crítico= 2.306; $\alpha= 0.05$).

Cuadro 2. Rendimientos de los extractos metanólicos de las inflorescencias obtenidas en cada organismo por zona.

Campo de Cultivo		Zona de Mezquital Abierto	
Abandonado (CCA)		(ZMA)	
Peso	Rendimiento	Peso	Rendimiento
(gramos)	(porcentaje)	(gramos)	(porcentaje)
5.95	32.21%	9.02	35.12%
2.79	34.87%	5.55	35.77%
5.98	31.33%	3.91	37.84%
17.67	36.49%	4.34	37.02%
4.18	32.57%	8.14	32.79%
1.87	28.65%	4.08	35.67%

Correlación entre parámetros edáficos, composición química y actividad antimicrobiana de inflorescencias de Prosopis laevigata

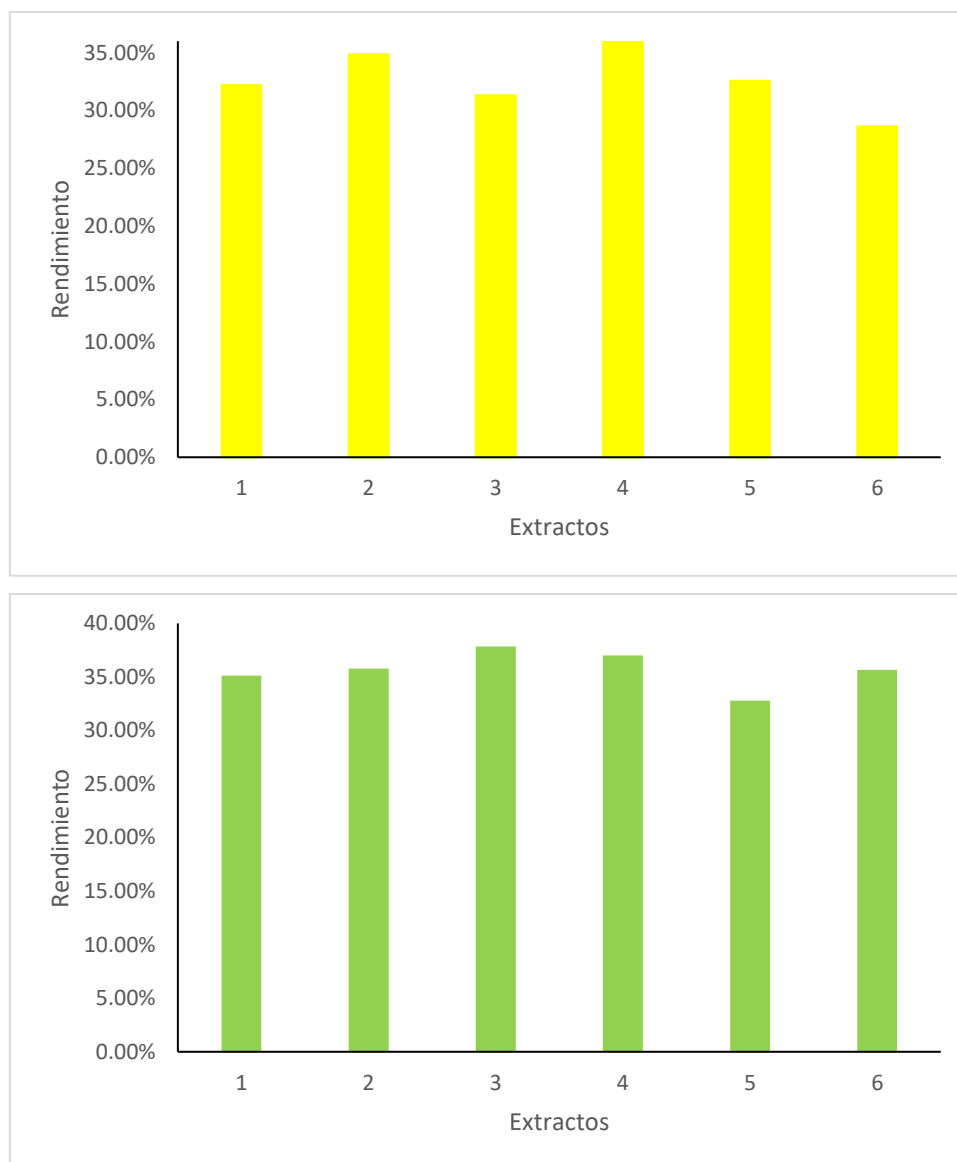


Figura 9. Rendimiento de extracto metanólico floral de cada individuo por zona. En la parte superior se encuentran los valores de los extractos florales metanólicos obtenidos en la zona CCA y en la parte inferior los extractos florales metanólicos obtenidos de los individuos de la zona ZMA.

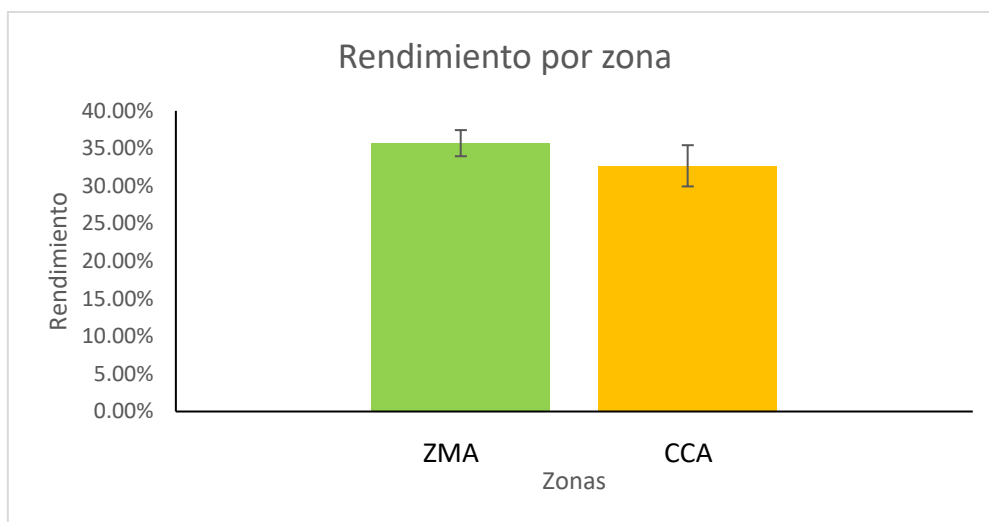


Figura 10. Comparación del rendimiento promedio de extracto de las inflorescencias de ambas zonas con desviación estándar obtenido a partir de los rendimientos totales de las inflorescencias de cada organismo (6 organismos por grupo) Se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos ($t=2.2738$; valor crítico= 1.8595; $\alpha= 0.05$).

b) Pruebas químicas

1. Cuantificación de Fenoles Totales, Flavonoides Totales y Alcaloides Totales

Se realizaron las pruebas relativas a la cuantificación de fenoles, flavonoides y alcaloides de los extractos de cada zona de estudio para posteriormente ser comparadas entre sí. Los resultados se encuentran en el cuadro 3 y en las figuras 11, 12 y 13, en donde se observa que los extractos de la zona ZMA, en promedio, tienden a presentar concentraciones más altas de los grupos de metabolitos cuantificados, pudiendo indicar que los organismos de esta zona se encuentran en condiciones que favorecen su síntesis. Las pruebas estadísticas mostraron que existen diferencias significativas en la cantidad de fenoles totales ($t= 2.7596$; valor crítico= 2.2622; $\alpha= 0.05$); en la cantidad de flavonoides totales ($t=2.8603$; valor crítico=2.3646; $\alpha= 0.05$) y en la cuantificación de alcaloides totales ($t= 2.6209$; valor crítico=2.364; $\alpha= 0.05$).

Cuadro 3. Concentraciones de Fenoles, Flavonoides y Alcaloides totales de los organismos de ambas zonas.

	ZMA			CCA		
Organismo	Fenoles (mg eAg/g)	Flavonoides (mg eQ/g)	Alcaloides (mg eA/g)	Fenoles (mg eAg/g)	Flavonoides (mg eQ/g)	Alcaloides (mg eA/g)
1	87.47 ± 0.00	3.46 ± 0.00	85.49 ± 0.00	71.86 ± 0.00	1.54 ± 0.00	64.02 ± 0.0
2	89.12 ± 0.00	3.17± 0.00	104.48± 0.00	109.82 ± 0.0	3.72 ± 0.00	51.23 ± 0.0
3	102.64 ± 0.00	2.45 ± 0.00	111.08 ± 0.00	73.85 ± 0.00	1.18 ± 0.00	69.39 ± 0.0
4	106.18 ± 0.00	3.25 ± 0.00	98.28 ± 0.00	73.85 ± 0.00	1.34 ± 0.00	66.91 ± 0.0
5	106.08 ± 0.00	2.38 ± 0.00	75.95 ± 0.00	70.85 ± 0.00	1.16 ± 0.00	73.52 ± 0.0
6	113.39 ± 0.00	3.23 ± 0.00	52.46 ± 0.00	81.84 ± 0.00	1.35 ± 0.00	52.15 ± 0.0
Promedio	100.81±10.32	2.99±0.45	87.95±21.56	80.35±14.95	1.72±0.99	62.87±9.21

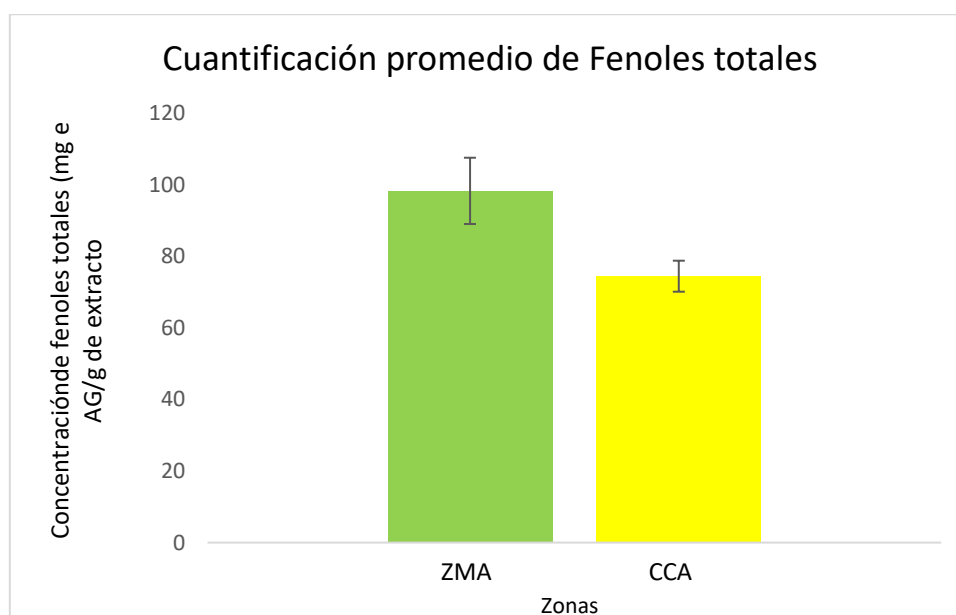


Figura 11. Comparación de la concentración promedio de Fenoles Totales de los extractos metanólicos de inflorescencias colectados en ambas zonas (6 organismos por grupo; $t = 2.7596$; valor crítico = 2.2622; $\alpha = 0.05$).

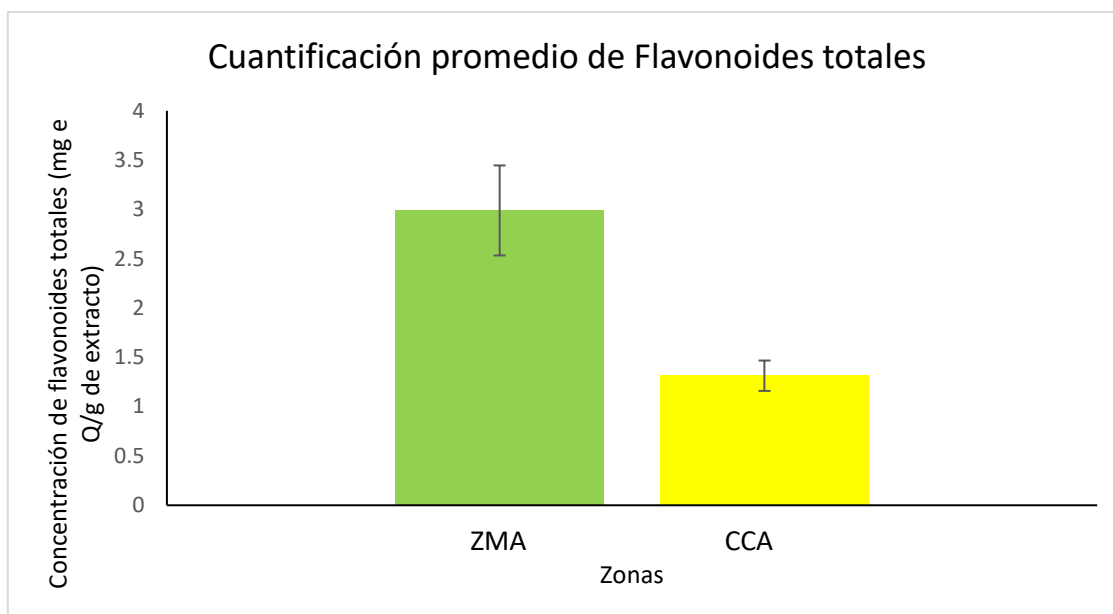


Figura 12. Comparación de la concentración promedio de Flavonoides Totales de los extractos metanólicos de inflorescencias obtenidas en ambas zonas (6 individuos por grupo) ($t=2.8603$; valor crítico= 2.3646 ; $\alpha=0.05$).

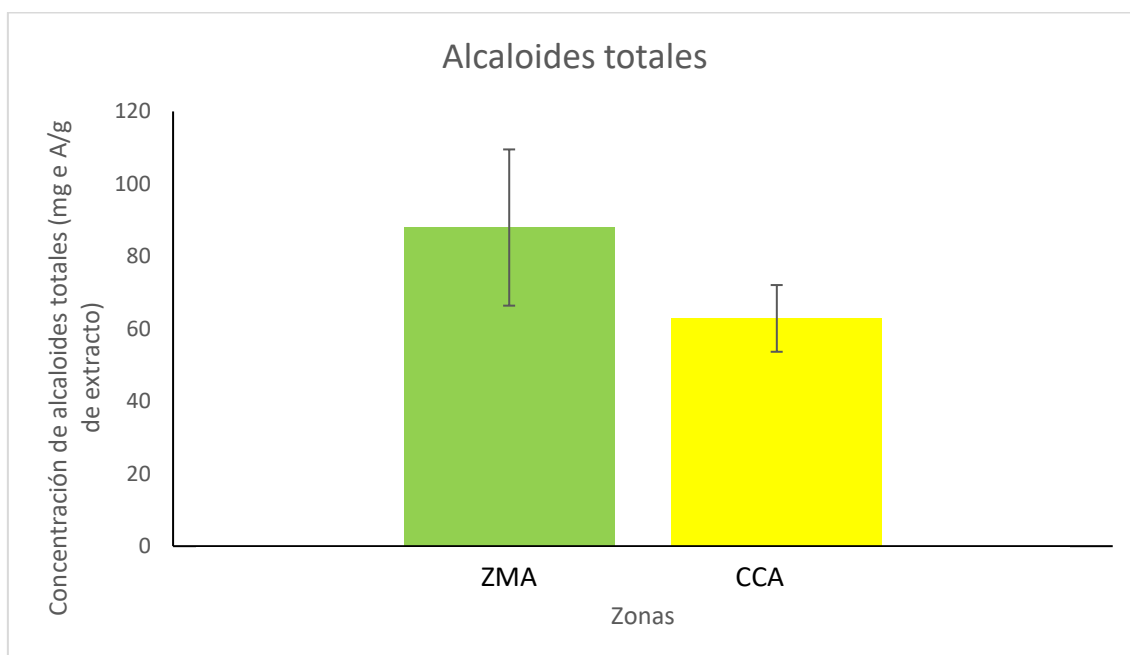


Figura 13. Comparación de la concentración promedio de Alcaloides Totales de los extractos metanólicos de inflorescencias colectadas en ambas zonas (6 individuos por grupo) ($t=2.6209$; valor crítico= 2.364 ; $\alpha=0.05$).

2. Evaluación de la capacidad antioxidante

Después de realizar la prueba para evaluar la capacidad antioxidante, se obtuvieron los valores que se presentan en el cuadro 4, y la comparación promedio en la figura 16. Se observa que, en promedio, se requieren

concentraciones más altas de los extractos de la zona CCA para lograr la reducción del radical DPPH, lo cual a su vez podría estar relacionado con los metabolitos cuantificados anteriormente. Sin embargo, ambas zonas presentan una baja capacidad antioxidante. La prueba estadística mostró que no existen diferencias significativas entre ambas zonas ($t=-1.8177$; valor crítico=2.262; $\alpha=0.05$).

Cuadro 4. Valores promedio de la Capacidad Antioxidante Media (CA₅₀) de los extractos metanólicos florales de los organismos por zona a partir de 3 repeticiones. Los valores están dados en partes por millón (ppm) de cada extracto necesarias para lograr una reducción al 50% del DPPH.

ORGANISMO	ZMA	CCA
1	494.848	354.139
2	556.402	589.343
3	494.848	620.554
4	494.848	616.554
5	352.316	689.546
6	397.603	535.7142
PROMEDIO	465.144±68.64	567.642±105.77

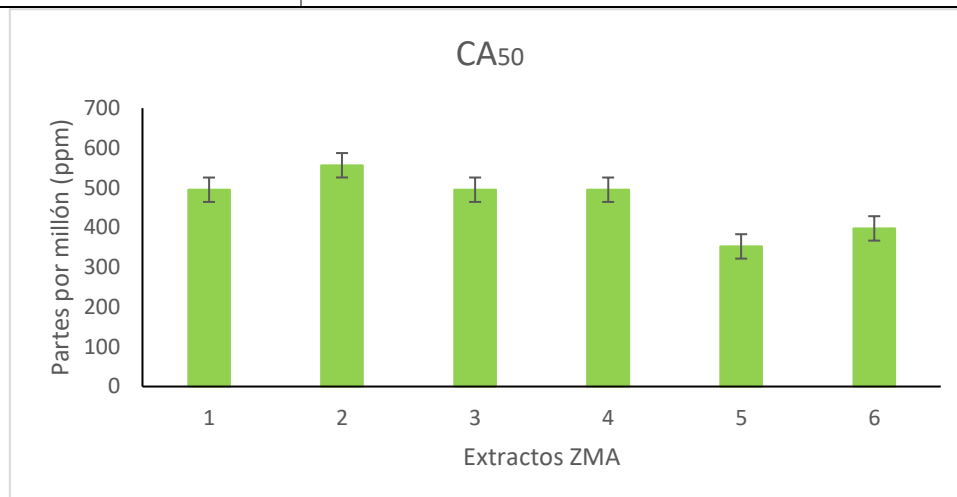


Figura 14. Valores de CA₅₀ de los extractos de las inflorescencias colectadas en la zona ZMA por organismo.

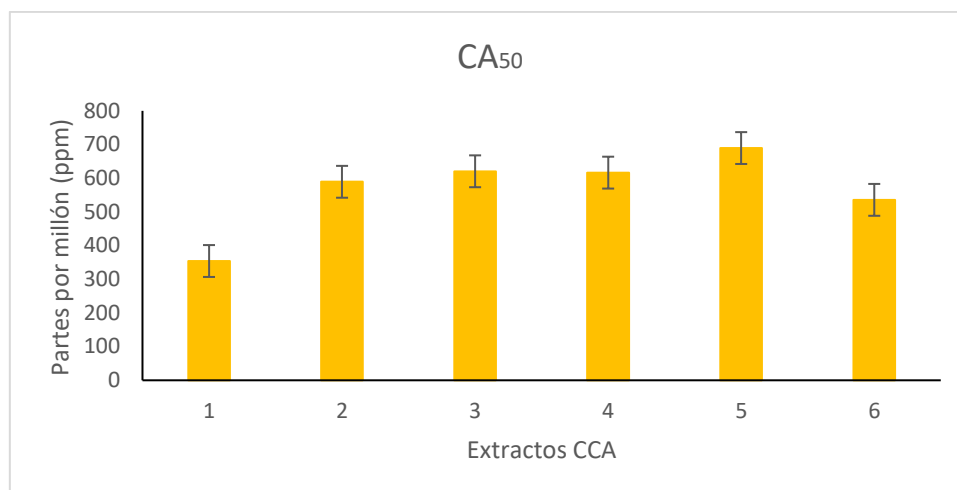


Figura 15. Valores de CA₅₀ de los extractos de las inflorescencias colectadas en la zona CCA por organismo.

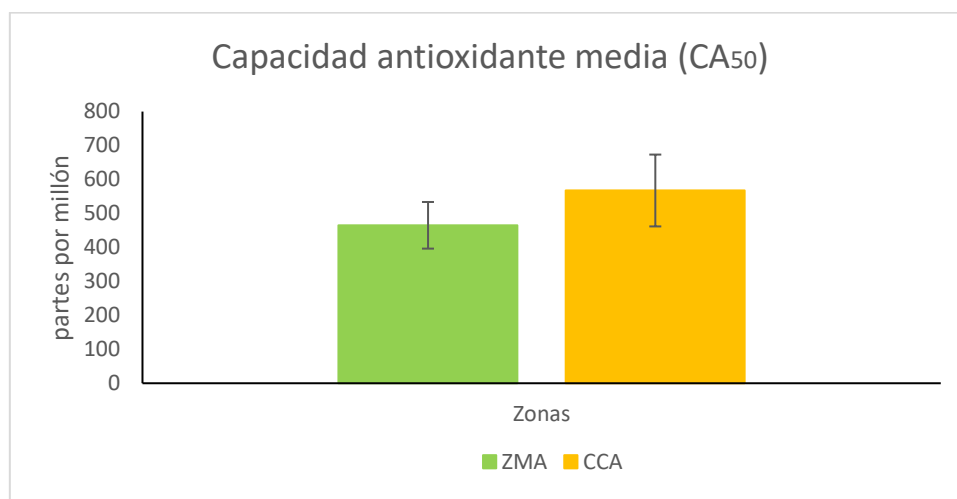


Figura 16. Comparación entre los promedios de CA₅₀ de los extractos metanólicos de las inflorescencias colectadas de ambas zonas (6 organismos por grupo) con desviación estándar. No se observan diferencias significativas ($t=-1.8177$; valor crítico=2.262; $\alpha=0.05$).

3. Caracterización Química de los extractos

3.1. Cromatografías en placa fina

Para identificar los principales grupos de metabolitos secundarios y observar posibles diferencias entre los extractos, se procedió a realizar una serie de cromatografías en placa fina utilizando una fase móvil de acetona:cloroformo:metanol acidulado con 1% de ácido fosfórico (6:2:2), las cuales fueron reveladas con sulfato cérico, cloruro férrico, reactivo de New y reactivo de Dragendorff. Los resultados se muestran en las figuras 17 y 18. En

ambos resultados se observan similitudes en cuanto a la presencia de compuestos, si bien los extractos 1 y 6 de las plantas colectadas en la zona ZMA y los 4 y 6 de las plantas de la zona CCA muestran una presencia ligeramente mayor de algunos compuestos señalados con las flechas en el panel b de la figura 17. En la figura 18 se observó, gracias al uso de los reveladores anteriormente mencionados, una alta concentración de compuestos fenólicos (señalados en el panel b con el número 1), así como una gran variedad de compuestos de tipo flavonoide, esto con base en lo observado en el panel c y señalados con el número 3, en tanto que el número 4 señala los posibles compuestos nitrogenados que se han quedado en el punto de aplicación. Por otro lado, se destaca la concentración de la fracción nitrogenada, que sugiere una naturaleza alcaloidea por reaccionar con el reactivo de Dragendorff (d) y la fluorescencia en c.

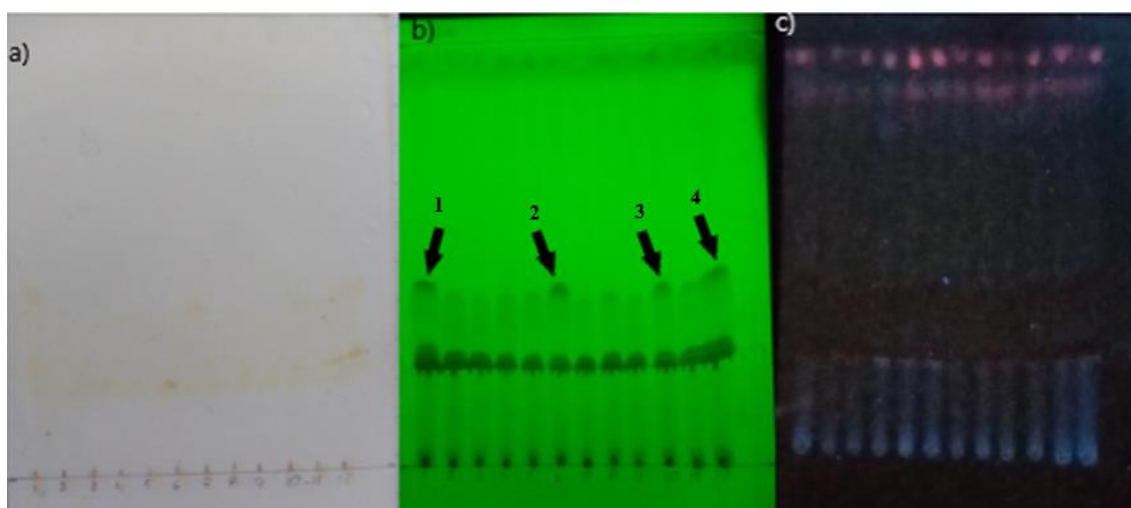


Figura 17. Cromatografía en placa fina de los extractos de ambas zonas. De izquierda a derecha se encuentran ordenados los extractos de ambas zonas; los primeros seis corresponden a los extractos florales de los individuos de zona ZMA y los siguientes 6 a los pertenecientes a la zona CCA. a) Observación a luz visible; b) Observación en cámara de luz UV con longitud de onda corta (254 nm) en donde 1 y 2 señalan los extractos con una diferencia de compuestos en los extractos de los organismos de la zona ZMA y 3 y 4 los extractos florales con mayores diferencias obtenidos de los individuos del a zona CCA; c) Observación con longitud de onda larga (366 nm).

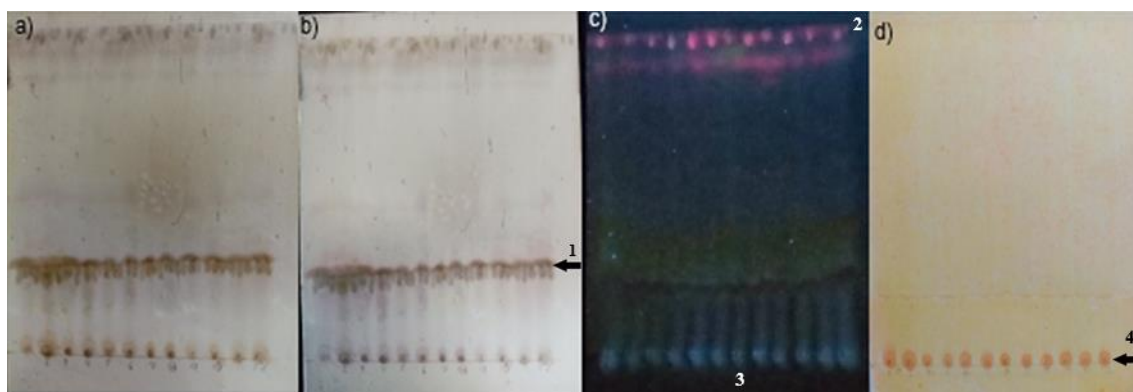


Figura 18. Cromatografías en placa fina. a) Revelada con sulfato cérico; b) revelada con cloruro férrico; el número 1 señala la zona de posible concentración de compuestos fenólicos; c) revelada con reactivo de New (observada a longitud de onda de 366nm), en donde el número 2 señala los posibles pigmentos y el número 3 los compuestos nitrogenados; c) revelada con reactivo de Dragendorff en donde el número 4 señala los compuestos nitrogenados presentes en las muestras.

Debido a las pocas diferencias encontradas entre los extractos de cada zona, se decidió preparar una muestra, pesando 1 mg del extracto de inflorescencias de cada árbol por zona formando un pool con los extractos de cada grupo, para comparar los compuestos presentes en los organismos de la zona CCA con los presentes en los de la zona ZMA por medio de las técnicas de Cromatografía Líquida de Alta Resolución con arreglo de Diodos (HPLC-DAD) y Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS).

3.2 Cromatografía Líquida de Alta Resolución con arreglo De Diodos (CLAR-DAD).

Los resultados se observan en las figuras 19 y 20 que son los cromatogramas obtenidos a diferentes longitudes de onda (254 nm, 280 nm y 364 nm; En el Apéndice III se encuentran los barridos por separado), y en los cuadros 5 y 6, que corresponden a los compuestos detectados por el equipo. El barrido con diferentes longitudes de onda observados en los distintos cromatogramas muestra una diferencia promedio en la cantidad de picos detectados, siendo mayor en la muestra de los árboles de la zona CCA que en la de la zona ZMA. Sin embargo, los picos detectados en ambos cromatogramas no pudieron ser determinados por la biblioteca del equipo, por lo que sólo se determinó el grupo químico al que pertenecen con base a los datos de los espectros de UV reportados en Harbone 1994. Los resultados de esta búsqueda están

expresados en los cuadros 5 y 6, en los cuales se puede señalar un predominio de flavonas y flavonoles en los extractos de los individuos de la zona ZMA, en oposición a la presencia de isoflavonas, flavonas y rotenoides en los extractos obtenidos de los organismos de la zona CCA.

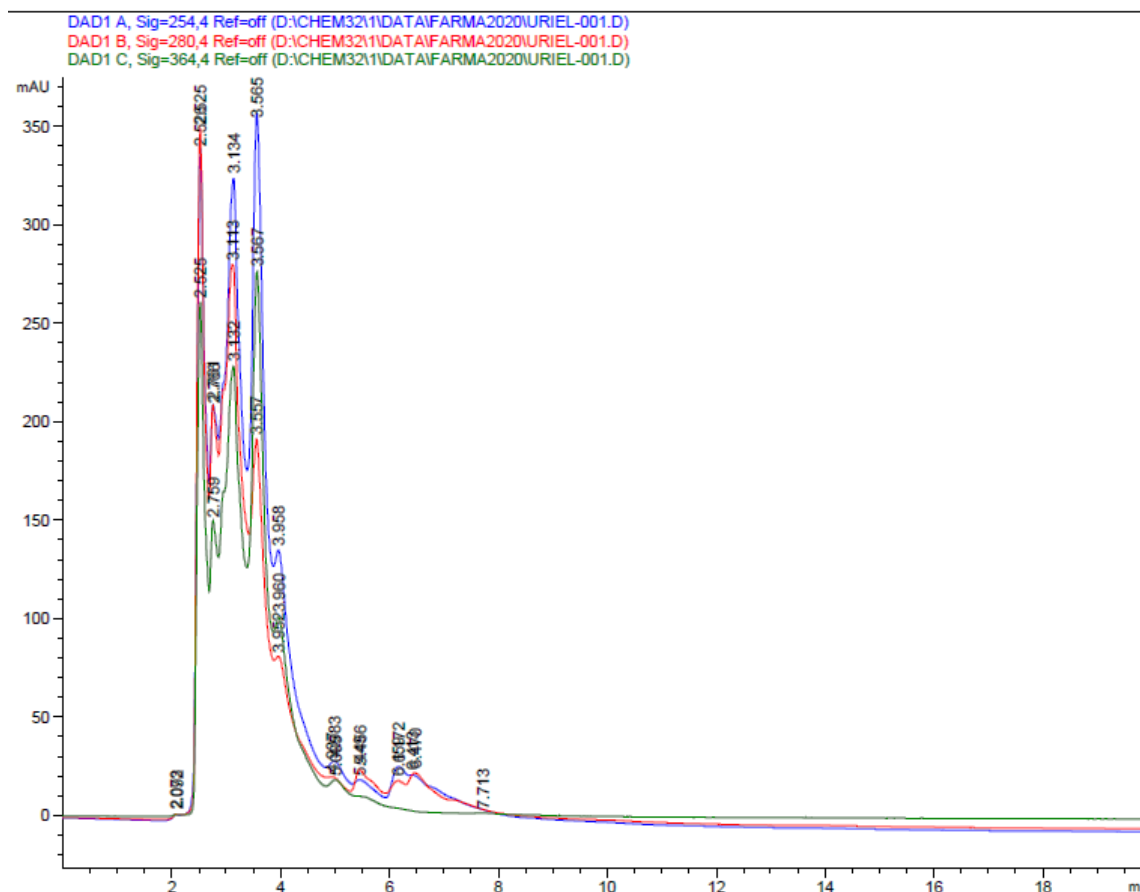
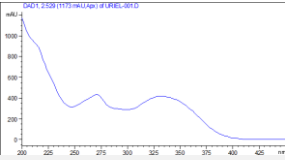
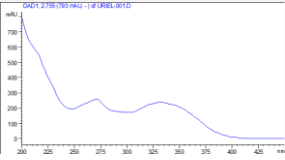
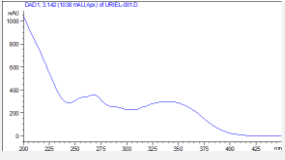
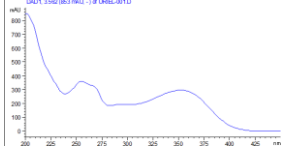
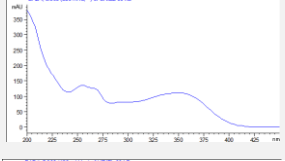
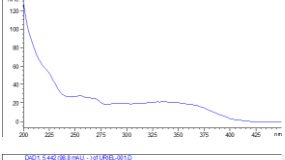
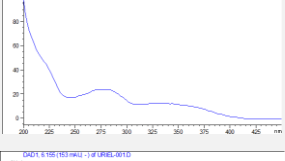
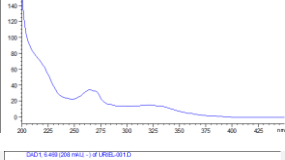
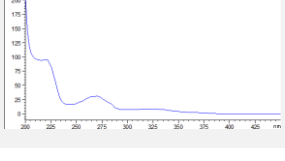


Figura 19. Cromatograma de muestra de los extractos metanólicos florales de los organismos de la zona ZMA obtenido a diferentes longitudes de onda (254 nm, 280 nm y 364 nm).

Cuadro 5. Espectros de UV con los picos máximos de absorción de los extractos florales de los organismos de la zona ZMA.

Tiempo de retención (min)	UV λ máx (nm)	Espectro	Tipo de compuesto
2.529	272, 332		Flavona
2.755	272, 332		Flavona
3.142	268,338		Isoflavona
3.562	254,268,352		Flavonol
3.969	254, 268, 348		Flavonol
5.009	256, 348		Isoflavona
5.442	272, 284, 352		Flavonol
6.155	264, 270, 318		Flavona
6.469	220, 270		Fenilpropanoide

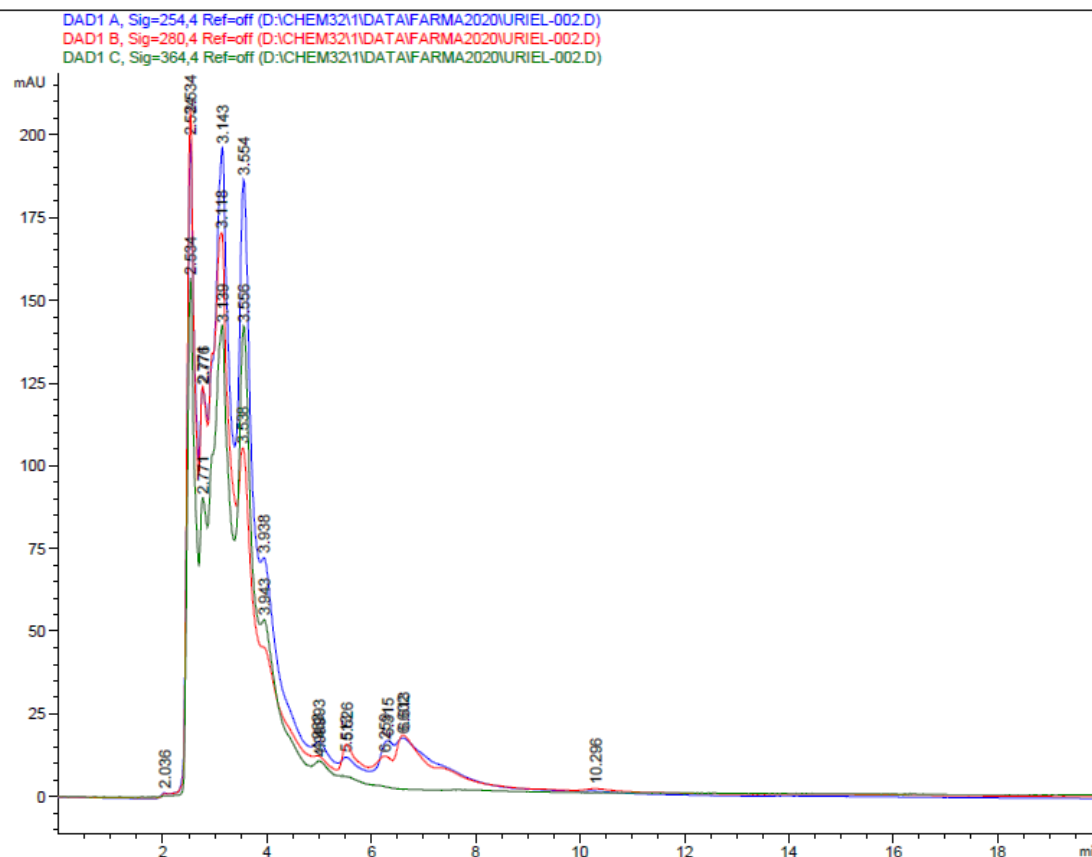
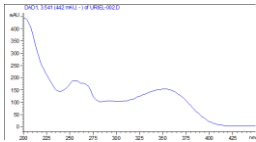
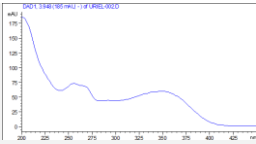
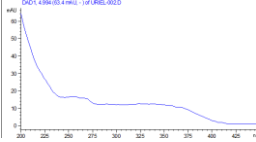
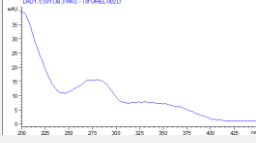
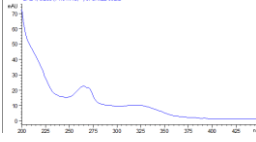
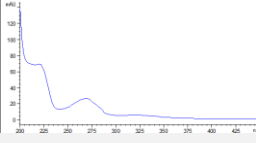
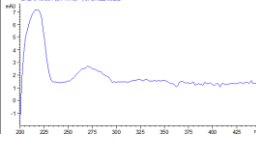


Figura 20. Cromatograma de muestra de los extractos metanólicos florales de los organismos de la zona CCA obtenido a diferentes longitudes de onda (254 nm, 280 nm y 364 nm).

Cuadro 6. Espectros de UV con los picos máximos de absorción de los extractos florales de los organismos la zona CCA.

Tiempo de retención (min)	UV λ máx (nm)	Espectro	Tipo de compuesto
2.534	272, 334		Flavona
2.768	272, 332		Flavona
3.148	268, 338		Flavona

Correlación entre parámetros edáficos, composición química y actividad antimicrobiana de inflorescencias de Prosopis laevigata

3.541	256, 352		Isoflavona
3.948	256, 352		Isoflavona
4.994	254, 256, 348		Fenilpropanoide
5.501	272, 282, 350		Isoflavona
6.288	264, 324		Isoflavona
6.601	220, 268		Rotenoide
10.301	218, 270		Rotenoide

3.3 Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM)

Los resultados obtenidos por medio de esta técnica se observan en las figuras 21 y 22 (que son los cromatogramas obtenidos) y en los cuadros 7 y 8 que son los compuestos identificados. En este análisis, en el cual se identifican compuestos de naturaleza volátil y/o no polar, se lograron identificar algunos ácidos grasos (por ejemplo el ácido palmítico y esteárico (saturados) y el Ácido 9,12- octadecadia-noico (Z,Z)- metil éster (insaturado)), que se encuentran presentes en las muestras de los árboles de ambas zonas, y dos alcanos (el heptacosano en la zona ZMA y el heneicosano en la zona CCA) que constituyen la única diferencia apreciable entre las muestras analizadas.

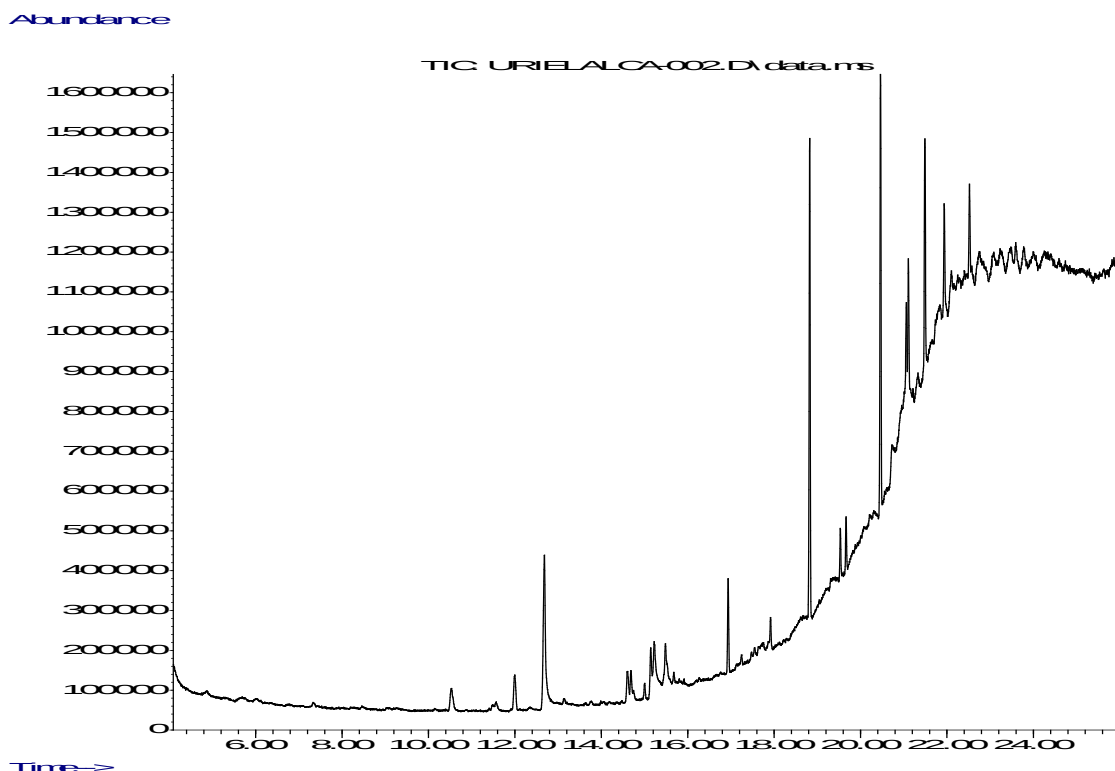
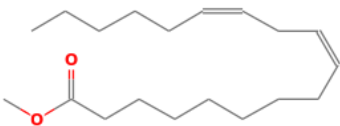
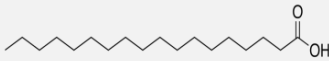


Figura 21. Cromatograma de la muestra mezclada de los extractos metanólicos florales obtenidos de los individuos de la zona ZMA.

Cuadro 7. Compuestos identificados en los extractos de las inflorescencias colectadas en la zona ZMA por CG-EM.

Pico	Tiempo de retención (min)	% Área	Compuesto	Estructura	Actividad
2	12.681	3.01	Ácido palmítico	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>	Antibacteriano (Zheng et al., 2005; Bhattacharjee et al., 2005; Huang et al, 2011); Anticancerígeno (Kumar et al., 2010).

Correlación entre parámetros edáficos, composición química y actividad antimicrobiana de inflorescencias de *Prosopis laevigata*

3	14.608	0.49	Ácido 9,12-octadecadienoico (Z,Z)-metil éster		
7	15.485	1.06	Ácido esteárico		Antibacteriano (Jubie et al., 2012). Actividad antibacteriana (Akhbari et al., 2017); componente de cera cuticular de plantas de zonas áridas (Alfarhan et al., 2019)
15	22.461	4.12	Heptacosano		

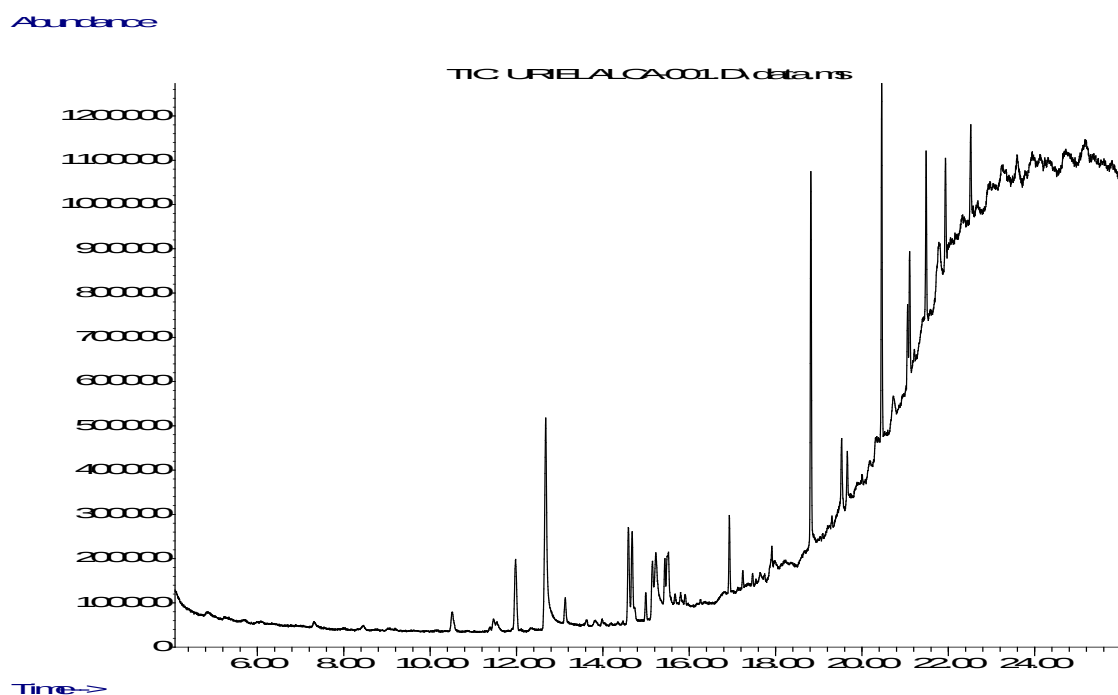
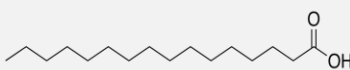
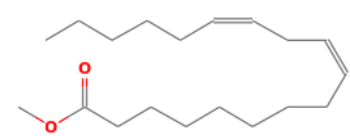
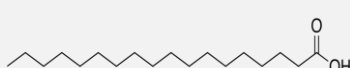


Figura 22. Cromatograma de la muestra mezclada de los extractos metanólicos florales de los organismos pertenecientes a la zona CCA.

Cuadro 8. Compuestos identificados en los extractos de las inflorescencias colectadas en la zona CCA por CG-EM.

Pico	Tiempo de retención (min)	% Área	Compuesto	Estructura	Actividad
2	12.677	6.00	Ácido palmítico		Antibacteriano (Zheng et al., 2005; Bhattacharjee et al., 2005; Huang et al., 2011); Anticancerígeno (Kumar et al., 2010).
3	14.595	1.78	Ácido 9,12-octadecadienoico (Z,Z)-metil éster		
7	15.438	0.79	Ácido esteárico		Antibacteriano (Jubie et al., 2012).
15	20.461	4.07	Heneicosano		Actividad antibacteriana (Vanat et al., 2020).

c) Pruebas biológicas

1. Actividad antibacteriana

1.1 Prueba de difusión en agar de Kirby-Baüer

Los resultados obtenidos se muestran en los cuadros 11 y 12 y la comparación entre los árboles de ambas zonas en la figura 23. En el experimento se observaron halos de mayor diámetro de los extractos sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Vibrio cholera* CDBB-1159; además, se observa una

inhibición ligeramente mayor con los extractos de la zona ZMA, así como una mayor uniformidad con respecto a la inhibición obtenida con los extractos de la zona CCA, lo cual podría explicarse por las características de estrés de esta última. No obstante, no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los grupos. Así mismo, se incluyen los datos de sensibilidad de las cepas utilizadas a diversos antibióticos de uso comercial (Cuadro 9).

Cuadro 9. Sensibilidad de las bacterias Gram positivas utilizadas a diferentes antibióticos. Los datos se encuentran expresados en mm de diámetro de inhibición. Am=ampicilina; E=eritromicina; CF= cefalotina; PE= penicilina; FEP= cefepime; CXM= cefuroxima; SXT= trimetoprim-sulfametoxazol; DC= dicloxacilina; GE= gentamicina; TE= tetraciclina. S=sensible; I= sensibilidad intermedia; R= resistente.

Cepa/antibiótico	Am	E	CF	PE	FEP	CXM	CTX	SXT	DC	GE	TE
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	8 (R)	22 (S)	8 (R)	14 (R)	8 (R)	8 (R)	8 (R)	16 (S)	8 (R)	13 (I)	25 (S)
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	10 (R)	15 (I)	10 (R)	10 (R)	22 (S)	10 (R)	15 (I)	30 (S)	13 (S)	15 (S)	12 (R)

Cuadro 10. Sensibilidad de las bacterias Gram negativas utilizadas a diferentes antibióticos. Los datos se encuentran expresados en mm de diámetro de inhibición. LEV=levofloxacina; FEP= cefepime; CF= cefalotina; CTX= cefotaxima; SXT= trimetoprim-sulfametoxazol; Am= ampicilina; CRO= ceftriaxona; NF= nitrofurantoina; NET= netilmicina; GE=gentamicina; AK= amikacina; CL= cloranfenicol. S=sensible; I= sensibilidad intermedia; R= resistente.

Cepa/antibiótico	LEV	FEP	CF	CTX	SXT	Am	CRO	NF	NET	GE	AK	CL
<i>Escherichia coli</i> caso clínico	20 (S)	9 (R)	8 (R)	15 (I)	28 (S)	8 (R)	11 (R)	23 (S)	22 (S)	18 (S)	25 (S)	21 (S)
<i>Vibrio cholera</i> CDBB-1159	25 (S)	20 (S)	20 (S)	26 (S)	22 (S)	17 (S)	28 (S)	25 (S)	26 (S)	15 (S)	19 (S)	30 (S)

Cuadro 11. Actividad antibacteriana (halos de inhibición) de los extractos de la zona ZMA. Control positivo=cloranfenicol (25µg). No se encontraron diferencias significativas entre los resultados por cepa.

Extracto/ cepa	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<i>Escherichia coli</i> Caso clínico	<i>Vibrio cholera</i> CDBB-1159
1	15.00 ± 0.00	10.66 ± 0.57	6.00 ± 0.00	13.00 ± 0.00
2	15.00 ± 0.00	10.66 ± 0.57	6.00 ± 0.00	13.00 ± 0.00
3	14.66 ± 0.57	11.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00	14.00 ± 0.00
4	14.00 ± 0.00	8.33 ± 0.57	6.00 ± 0.00	12.00 ± 0.00
5	14.33 ± 0.57	9.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00	11.33 ± 0.57
6	13.00 ± 0.00	5.33 ± 0.57	6.00 ± 0.00	9.66 ± 0.57
Control +	19.66 ± 0.57	27.66 ± 1.52	24.66 ± 0.58	31.00 ± 1.00

Cuadro 12. Actividad antibacteriana de los extractos de la zona CCA. Control positivo=cloranfenicol (25µg). No se encontraron diferencias significativas entre los resultados por cepa.

Extracto/ cepa	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<i>Escherichia coli</i> Caso clínico	<i>Vibrio cholera</i> CDBB-1159
1	15.00 ± 0.00	11.66 ± 0.58	6.00 ± 0.00	12.00 ± 0.00
2	12.66 ± 0.58	5.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00	9.66 ± 0.58
3	12.00 ± 0.00	5.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00	9.33 ± 0.58
4	16.00 ± 0.00	8.66 ± 0.58	6.00 ± 0.00	13.33 ± 0.58
5	15.00 ± 0.00	7.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00	12.00 ± 0.00
6	14.33 ± 0.58	7.00 ± 1.00	6.00 ± 0.00	10.33 ± 0.58
Control +	19.66 ± 0.57	27.66 ± 1.52	24.66 ± 0.58	31.00 ± 1.00

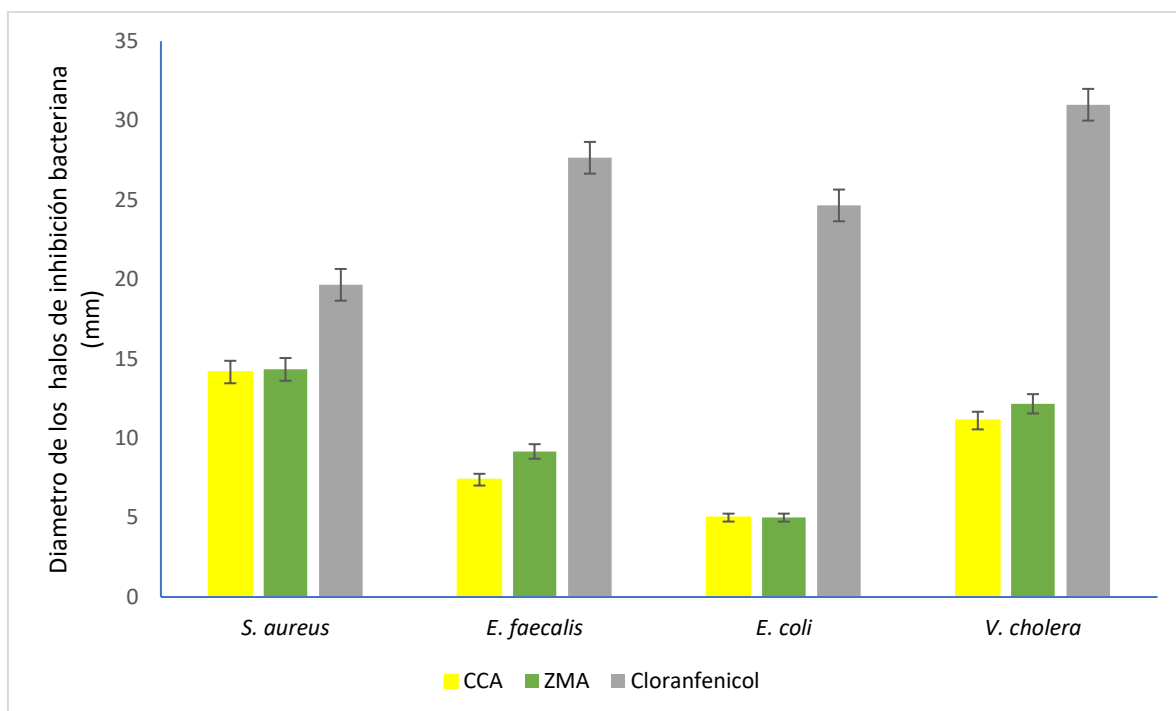


Figura 23. Comparación de la actividad antibacteriana promedio de los extractos metanólicos florales de ambas zonas (3 repeticiones por extracto y por cepa; 6 organismos por zona).

1.2 Determinación de la CMI y CBM

Los resultados de la prueba para la obtención de CMI y CBM se muestran en los cuadros 13 y 14. Se puede observar que, para el caso de las bacterias Gram positivas, las CMI y CBM tienden a ser similares entre las dos zonas; sin embargo, no es el caso de *E. coli*, la cual presenta valores menores con el uso de los extractos de la zona ZMA, en tanto que *V. cholera* muestra una inhibición más marcada con los extractos de la zona CCA.

Cuadro 13. Valores de CMI y CBM de los extractos metanólicos florales de los organismos de la zona ZMA.

Cepa/ extracto	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212		<i>Escherichia coli</i> Caso clínico		<i>Vibrio cholera</i> CDBB-1159	
	CMI	CBM	CMI	CBM	CMI	CBM	CMI	CBM
	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)
1	0.312	0.625	0.312	0.625	2.5	>20	20	>20
2	0.312	0.625	0.312	0.625	2.5	>20	>20	>20
3	1.25	2.5	0.625	1.25	5	>20	>20	>20
4	2.5	5	5	1.25	10	>20	>20	>20
5	0.625	1.25	2.5	1.25	>20	>20	10	>20
6	1.25	2.5	10	20	>20	>20	>20	>20

Cuadro 14. Valores de CMI y CBM de los extractos metanólicos florales de los organismos de la zona CCA.

Cepa/ extracto	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212		<i>Escherichia coli</i> Caso clínico		<i>Vibrio cholera</i> CDBB-1159	
	CMI	CBM	CMI	CBM	CMI	CBM	CMI	CBM
	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)
1	0.312	1.25	0.312	1.25	20	>20	20	>20
2	0.312	0.625	0.312	0.625	5	>20	0.125	>20
3	0.625	1.25	0.312	1.25	10	>20	0.625	1.25
4	0.625	1.25	0.625	1.25	20	>20	1.25	2.5
5	0.625	1.25	0.625	1.25	10	>20	10	>20
6	1.25	2.5	1.25	2.5	10	>20	10	>20

1.3 Determinación de fuga de proteínas

Los resultados de la prueba de fuga de proteínas se muestran en el cuadro 15 y la figura 24, en los cuales se observa el comportamiento promedio de los extractos florales de los árboles de cada zona y su comparación con el testigo. Se observa que, en promedio, los extractos de la zona ZMA afectaron a la

integridad de las membranas celulares, fenómeno inferido por el aumento de la concentración de proteínas en el medio, que los extractos de la zona CCA.

Cuadro 15. Valores promedio (3 repeticiones por extracto, 6 extractos por zona) del experimento de fuga de proteínas con los extractos metanólicos florales de las zonas ZMA y CCA. Los valores están expresados en μg e BSA/mL.

Zona/tiempo	0 min	30 min	60 min	90 min
ZMA	0.00 ± 0.00	0.87 ± 0.13	5.99 ± 1.55	7.17 ± 1.29
CCA	0.00 ± 0.00	0.87 ± 0.13	0.00 ± 0.00	3.79 ± 0.46
Testigo	0.00 ± 0.00	0.87 ± 0.13	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

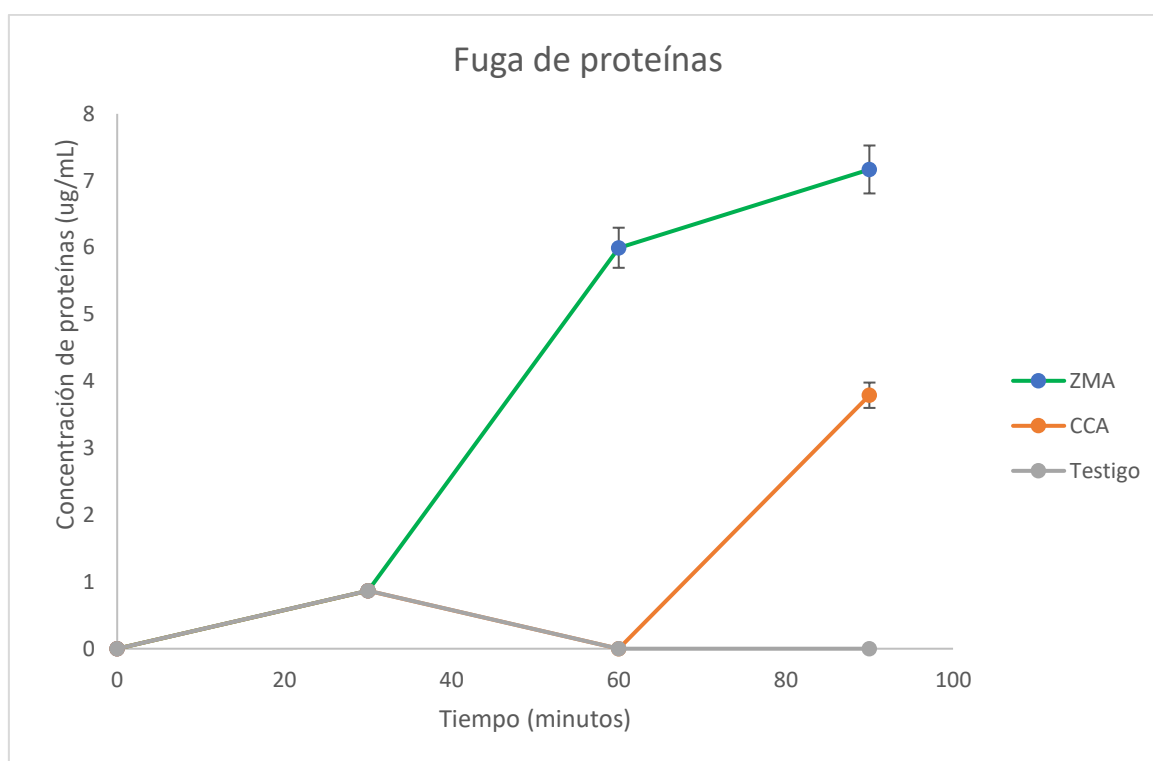


Figura 24. Comparación promedio de la concentración de proteínas en el medio después de la aplicación promedio de la CMI de los extractos en intervalos de 30 minutos.

1.4 Bioautografía de los extractos

Una vez determinado el efecto antibacteriano de los extractos metanólicos florales obtenidos de los organismos de ambas zonas, y luego de comprobar que los efectos entre los extractos de cada zona no tienen diferencias significativas, se realizó una Bioautografía con el extracto con mejor actividad antimicrobiana promedio de cada zona. Los resultados se muestran en la figura 25. Nótese que

las zonas blancas (señaladas con flechas) se corresponderían con las zonas en las que se concentra la fracción alcaloidea y algunos flavonoides de acuerdo con las cromatografías en placa fina mostradas en la figura 18, indicando la naturaleza de los compuestos con actividad antibacteriana de los extractos, los cuales (con excepción de la zona de inhibición en la parte superior de la placa del extracto de la zona ZMA utilizada con *S. aureus* ATCC 25923) presumiblemente son los mismos.

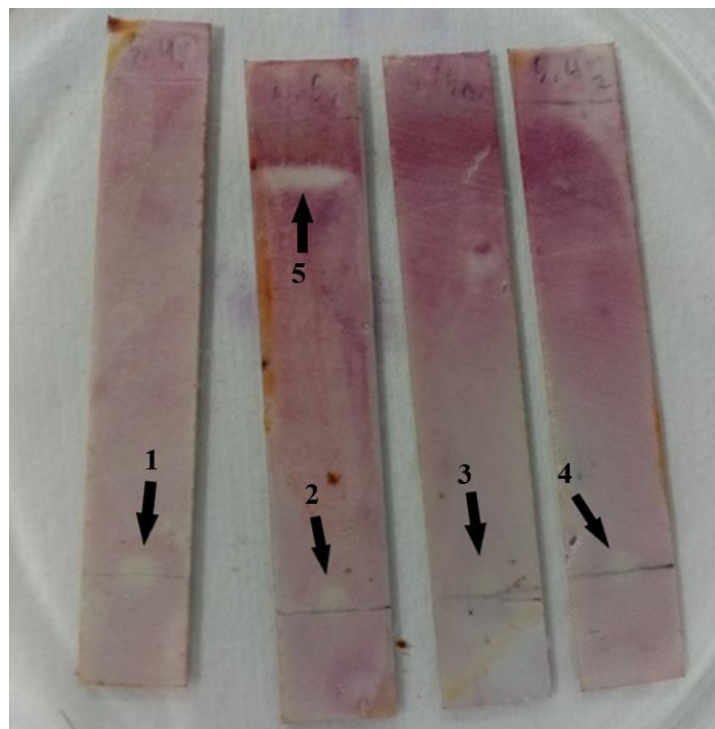


Figura 25. Bioautografía de los extractos. De derecha a izquierda, las 2 primeras placas corresponden al extracto 4 de la zona CCA y al extracto 5 de la zona ZMA después de haber estado en contacto con *S. aureus* ATCC 25923; las otras dos placas corresponden al extracto 5 de la zona ZMA y al extracto 4 de la zona CCA después de estar en contacto con *V. cholera* CDBB-1159. Las flechas 1,2,3, y 4 indican las zonas de inhibición producidas por los compuestos nitrogenados en tanto que 5 indica la zona de inhibición producida por flavonoides

2. Actividad antifúngica

2.1 Actividad sobre hongos levaduriformes

Los resultados obtenidos se muestran en los cuadros 16 y 17 y la comparación entre los individuos de las dos zonas en la figura 26. Se observa uniformidad de inhibición en todas las cepas, teniendo un efecto ligeramente mayor, pero no significativo, sobre *Candida albicans* ATCC1023.

Cuadro 16. Diámetros de inhibición (cm) de los extractos metanólicos florales de los organismos de la zona ZMA sobre cuatro especies del género *Candida*. Control positivo= Nistatina (25 µg). Se muestran los resultados a partir de 3 repeticiones con desviación estándar. No se encontraron diferencias significativas en los diámetros de los halos entre extractos ni entre cepas.

Extracto/ cepa	<i>Candida albicans</i> ATCC10231	<i>Candida albicans</i> caso clínico	<i>Candida tropicalis</i> caso clínico	<i>Candida glabrata</i> caso clínico
1	11.33 ± 0.57	10.66 ± 0.57	11.33 ± 0.57	10.33 ± 0.57
2	10.00 ± 0.00	8.66 ± 0.57	11.00 ± 0.00	9.00 ± 0.00
3	11.00 ± 0.00	9.66 ± 0.57	12.00 ± 0.00	10.33 ± 0.57
4	8.33 ± 0.57	7.33 ± 0.57	6.33 ± 0.57	5.66 ± 0.57
5	10.33 ± 0.57	9.33 ± 0.57	10.00 ± 0.00	10.00 ± 0.00
6	9.00 ± 0.00	6.33 ± 0.57	5.33 ± 0.57	6.66 ± 0.57
Control +	13.00 ± 2.36	12.83 ± 1.33	13.16 ± 1.33	12.16 ± 1.72

Cuadro 17. Diámetros de inhibición (cm) de los extractos metanólicos florales de los organismos de la zona CCA sobre cuatro especies del género *Candida*. Control positivo= Nistatina (25 µg). Se muestran los resultados a partir de 3 repeticiones con desviación estándar. No se encontraron diferencias significativas en los diámetros de los halos entre extractos ni entre cepas.

Extracto/ cepa	<i>Candida albicans</i> ATCC10231	<i>Candida albicans</i> caso clínico	<i>Candida tropicalis</i> caso clínico	<i>Candida glabrata</i> caso clínico
1	10.66 ± 0.58	9.66 ± 0.58	11.00 ± 0.00	10.66 ± 0.58
2	10.00 ± 1.00	8.33 ± 0.58	9.66 ± 0.58	7.66 ± 0.58
3	10.00 ± 0.00	7.66 ± 0.58	8.00 ± 1.00	9.00 ± 1.00
4	10.66 ± 0.58	11.00 ± 0.00	12.00 ± 0.00	11.33 ± 0.58
5	11.33 ± 0.58	9.00 ± 0.00	11.00 ± 0.00	9.33 ± 0.58
6	10.00 ± 0.00	9.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	9.33 ± 0.58
Control+	13.00 ± 2.36	12.83 ± 1.33	13.16 ± 1.33	12.16 ± 1.72

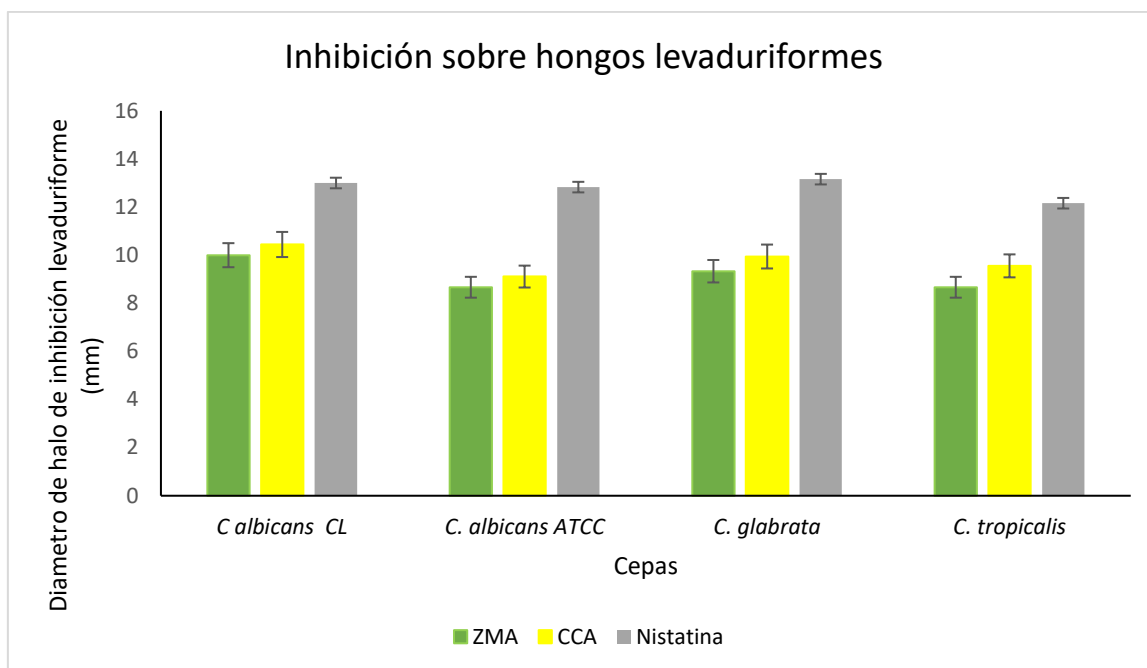


Figura 26. Comparación de la actividad promedio de los extractos metanólicos florales de ambas zonas sobre hongos levaduriformes. (3 repeticiones por extracto metanólico y 6 extractos por grupo). No se encontraron diferencias significativas ente cepas.

2.2 Concentración Fungicida Media (CF₅₀)

Los resultados obtenidos se muestran en los cuadros 18 y 19. No se observan diferencias significativas entre las concentraciones obtenidas con los extractos metanólicos de ambas, aunque se observa una sensibilidad ligeramente mayor, aunque no significativa, a los extractos de la zona ZMA en todas cepas utilizadas en el experimento, con excepción de la cepa de *C. glabrata*. La cual presenta de forma general una sensibilidad ligeramente mayor, aunque no significativa a los extractos de la zona CCA.

Cuadro 18. CF₅₀ de los extractos metanólicos florales de los organismos de la zona ZMA. Las cantidades se encuentran expresadas en mg/mL.

Extracto/cepa	<i>Candida albicans</i> ATCC10231	<i>Candida albicans</i> caso clínico	<i>Candida tropicalis</i> caso clínico	<i>Candida glabrata</i> caso clínico
1	10	2.5	2.5	1.25
2	10	5	1.25	1.25
3	5	5	5	5
4	5	5	5	10
5	5	2.5	2.5	10
6	10	2.5	10	10

Cuadro 19. CF₅₀ de los extractos metanólicos florales de los organismos de la zona CCA. Las cantidades se encuentran expresadas en mg/mL.

Extracto/cepa	<i>Candida albicans</i> ATCC10231	<i>Candida albicans</i> caso clínico	<i>Candida tropicalis</i> caso clínico	<i>Candida glabrata</i> caso clínico
1	10	10	2.5	5
2	20	1.25	1.25	0.625
3	5	10	5	5
4	5	5	2.5	2.5
5	5	10	2.5	5
6	10	>40	20	20

2.3 Hongos filamentosos

2.3.1 Concentración fungicida media (CF₅₀)

En el cuadro 20 se muestran los resultados de la prueba de CF₅₀ de ambas zonas y la comparación entre ambas zonas en la figura 27. Se observa una diferencia significativa ($t=-3.49$; valor crítico=2.77; $\alpha=0.05$) entre las concentraciones promedio de las zonas, siendo la más alta la de la zona CCA, implicando que la capacidad de inhibición de los extractos de las inflorescencias de esa zona es

considerablemente menor, algo que puede atribuirse a las concentraciones de metabolitos secundarios vistas anteriormente.

Cuadro 20. Comparación de la CF₅₀ de los extractos metanólicos florales de los individuos de cada zona. Las cantidades se encuentran expresadas en mg/mL.

Extracto/zona	ZMA	CCA
1	0.2934	1.256
2	0.174	0.4311
3	0.328	0.7877
4	1.4815	1.01238
5	0.4281	0.7277
6	0.3825	0.9352
Promedio	0.5146 ± 0.059	0.858 ± 0.107

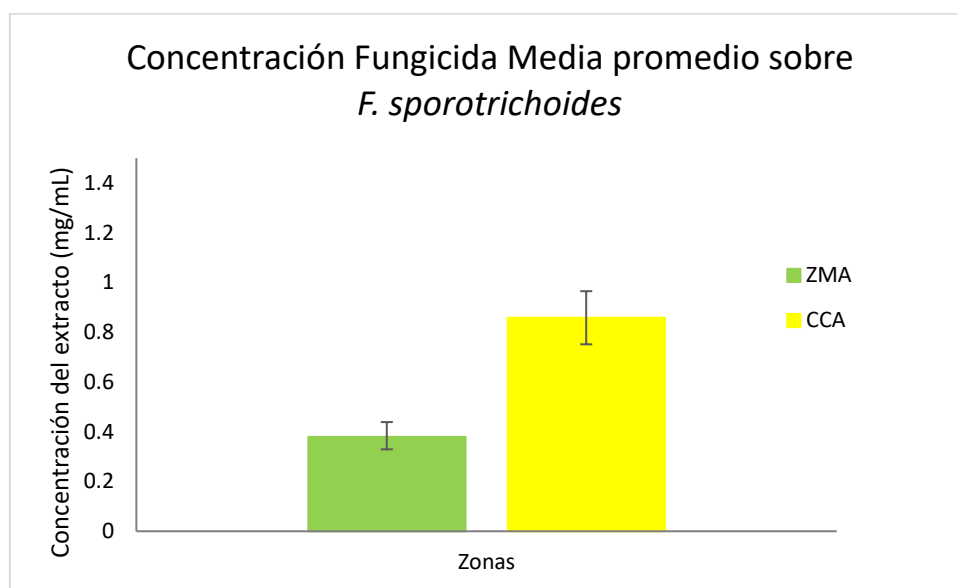


Figura 27. Comparación entre las CF₅₀ promedio de los extractos metanólicos florales de ambas zonas (6 organismos por zona). Se observaron diferencias significativas ($t=-3.49$; valor crítico=-2.77; $\alpha=0.05$)

c) Caracterización fisicoquímica de las muestras de suelo.

Las muestras de suelo fueron procesadas para determinar su caracterización fisicoquímica. Los resultados de esta caracterización se muestran en el cuadro 21. Se observan diferencias en el porcentaje de materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico total (CICT), conductividad eléctrica y el contenido total de nitrógeno. Estos valores se relacionan directamente con la disponibilidad de

nutrimentos en el suelo y que, como se observa, tienden a ser más altos en el suelo de la zona ZMA.

Cuadro 21. Caracterización fisicoquímica de las dos zonas de estudio

Característica	ZMA	CCA
1. Textura		
a) % de arcillas	32.8	22
b) % de limos	24.4	16
c) % de arenas	42.8	62
d) Tipo de suelo	Franco arcillosa	Arcilla arenosa
2. Densidad		
a) Aparente	1.11	1.05
b) Real	1.272264631	2.2172949
c) Valoración	Muy Baja	Baja
3. Porosidad	87.246	47.355
Valoración	Muy alta	Media
4. % de Materia orgánica	2.967	1.794
Valoración	Moderadamente rico	Pobre
5. Color		
a) Muestra seca	Gris claro pardusco	Gris olivo claro
b) Muestra húmeda	Pardo grisáceo oscuro	Café olivo oscuro
6. pH	7.89	8.08
Valoración	Ligeramente alcalino	Moderadamente alcalino
7. CICT (%)	22.175	18.447
Valoración (cmol (+) Kg ⁻¹)	Medio	Bajo
8. Conductividad eléctrica (mmhos/cm)	9.90756	2.68308
9. Salinidad	Muy salino	Ligeramente salino
10. Nitrógeno total (%)	0.089	0.04
Valoración	Medio	Pobre

d) Análisis de rutas

A partir de los resultados obtenidos se realizaron los análisis de rutas correspondientes a la interacción entre los parámetros edáficos (cuadro 22 y figura 28) y la interacción entre parámetros edáficos y producción de metabolitos secundarios (cuadro 23, figura 29).

En el cuadro 22 y la figura 28 se muestran, por un lado, las relaciones existentes entre los diferentes parámetros evaluados en la presente investigación. A partir de la literatura citada, y luego de aplicar la técnica de *Bootstrapping* (muestreo dentro de los datos ya obtenidos), se observó que, de acuerdo con las características del método de análisis de rutas, hay diferentes grados de correlación, entre los que se pueden destacar la correlación entre porosidad y densidad (coeficiente de ruta= 0.7747); el pH con la estructura del suelo, especialmente con la cantidad de limos (coeficiente de ruta= 0.8965) y de arenas (coeficiente de ruta= 0.7557). La relación entre la Capacidad de Intercambio catiónico con el contenido de arcillas (0.6155) y la conductividad eléctrica con la estructura del suelo (0.7822 con limos, 0.9285 con arenas y 0.6155 con arcillas). No obstante, hay que resaltar que aún existen otras variables no contempladas en este estudio y que corresponden a la sección de *desconocidas*, cuyo valor llega a ser más alto que el de las variables conocidas, siendo más evidente en el caso de la conductividad eléctrica.

Sin embargo, y pese a los valores de las variables desconocidas, el modelo, tal y como se ve en el diagrama de rutas (figura 26), es válido al presentar un valor de $\chi^2= 0.7336$, valor considerado alto dentro de los parámetros del análisis de rutas al ser cercano a 1.0.

Cuadro 22. Variables y efectos que constituyen el modelo de flujo del análisis de rutas de la correlación entre los parámetros edáficos.

Variables		Efectos		
Dependientes	Independientes	Directos	Indirectos	Totales
Porosidad	Densidad	0.6735	0.1012	0.7747
	Desconocidas	0.4746	---	0.4746
pH	CICT	0.3332	0.0797	0.4723
	Limos	0.6603	0.2362	0.8965
	Arenas	0.613	0.1498	0.7557
	Arcillas	0.4369	0.0993	0.5362
	Desconocidas	0.6115	---	0.6115
CICT	Nitrógeno	0.3379	0.0283	0.3662
	Arcillas	0.5719	0.0436	0.6155
	Limos	0.5003	0.0668	0.5671
	Arenas	0.4752	0.1200	0.5952
	pH	0.3332	0.0293	0.3625
	Desconocidas	0.7061	---	0.7061
Conductividad Eléctrica	CICT	0.4093	0.0453	0.4546
	pH	0.4423	0.0529	0.4252
	Limos	0.7132	0.069	0.7822
	Arenas	0.8229	0.1056	0.9285
	Arcillas	0.5719	0.0436	0.6155
	Desconocidas	0.5872	---	0.5872

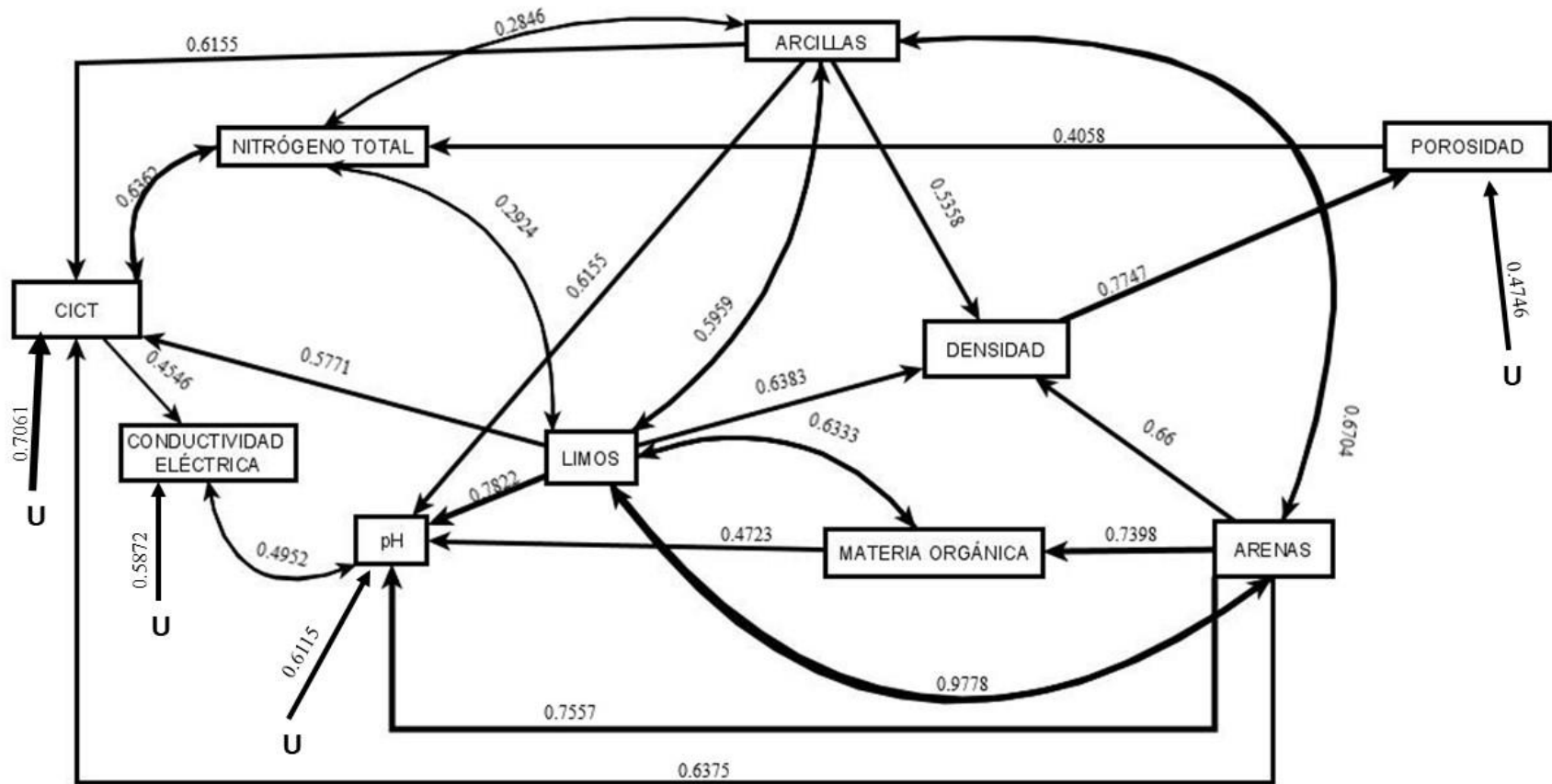


Figura 28. Diagrama de análisis de ruta de la correlación entre parámetros edáficos. El grosor de las líneas indica el grado de correlación entre las variables. U=variables desconocidas.

En el caso del análisis de rutas para la correlación de los parámetros edáficos y los grupos de metabolitos secundarios identificados, se debe hacer la aclaración de que debido a que la salinidad es un parámetro ligado a la conductividad eléctrica, esta última fue utilizada en el modelo para poder sacar los coeficientes de ruta correspondientes a la salinidad.

Se observa que, en el caso de la cuantificación de fenoles, podría haber una correlación entre la síntesis de estos compuestos y la materia orgánica disponible en el medio; así mismo, la salinidad estaría jugando un papel muy importante en la síntesis de estos grupos, ya que se observan valores altos en los coeficientes de ruta (0.4888 en el caso de fenoles, 0.5404 para flavonoides y 0.63 para alcaloides, siendo el más alto de los tres). Sin embargo, las variables desconocidas (presumiblemente parámetros atmosféricos) limitan el modelo propuesto, situación que es evidente en el bajo valor de χ^2 (9.39).

Cuadro 23. Variables y efectos que constituyen el modelo de flujo del análisis de rutas de la correlación entre parámetros edáficos y metabolitos secundarios.

Variables		Efectos		
Dependientes	Independientes	Directos	Indirectos	Totales
Fenoles	Conductividad eléctrica	0.4368	0.0519	0.4888
	Porosidad	0.5305	0.0185	0.549
	Materia orgánica	0.472	0.1129	0.5849
	Desconocidas	0.6776	---	0.6776
Flavonoides	Fenoles	0.5853	---	0.5853
	Densidad	0.548	0.0678	0.6158
	Conductividad eléctrica	0.4398	0.1006	0.5404
	Nitrógeno	0.331	0.0256	0.3566
	Desconocidas	0.6895	---	0.6895
Alcaloides	Nitrógeno	0.2779	0.0708	0.3488
	Conductividad eléctrica	0.5294	0.1006	0.6300
	Flavonoides	0.1599	0.0694	0.2293
	Desconocidas	0.7728	---	0.7728

Correlación entre parámetros edáficos, composición química y actividad antimicrobiana de inflorescencias de *Prosopis laevigata*

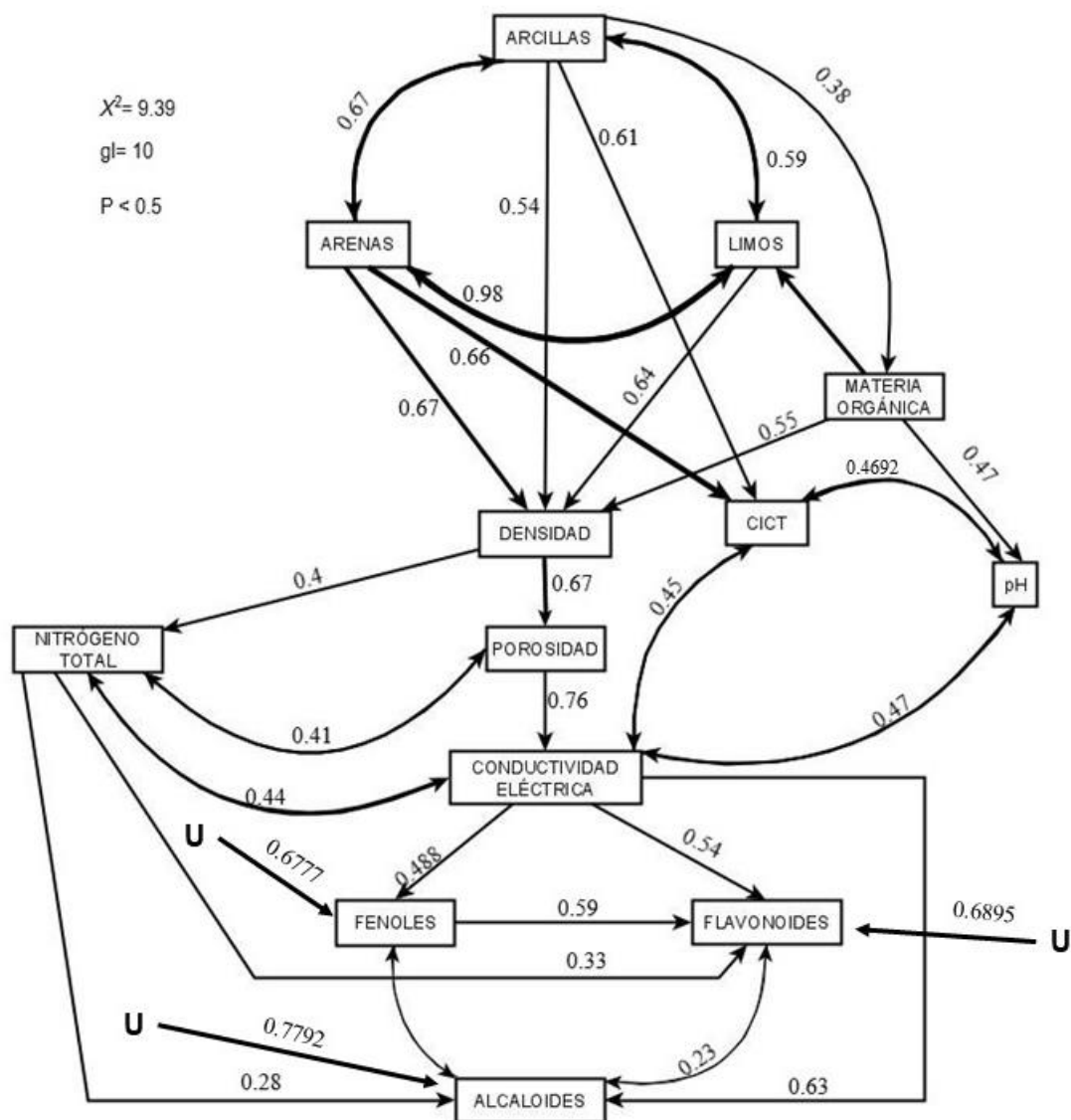


Figura 29. Diagrama de análisis de rutas de correlación entre parámetros edáficos y metabolitos secundarios. El grosor de las líneas indica el grado de correlación entre las variables. U= variables desconocidas.

DISCUSIÓN

Extractos metanólicos

Con la obtención de los extractos metanólicos por medio de maceración exhaustiva se obtuvieron porcentajes de rendimiento entre 32% y 40% con respecto al peso seco de las inflorescencias de *P. laevigata*. Estos datos son superiores a los reportados por Castro (2016) y Nava (2017), estudios en los que se trabajó con extractos metanólicos obtenidos de inflorescencias de organismos de la misma especie muestreados en San Rafael Coxcatlán, Puebla. Sin embargo, no resultan anormales en organismos de zonas áridas debido a que en estas zonas se han reportado rendimientos de hasta 40% con respecto a compuestos no volátiles (Ravetta et al., 1996). Aunque no existen diferencias significativas entre los rendimientos promedio por zona (figura 10), se observa que hay una tendencia hacia un mayor rendimiento en los individuos de la zona ZMA. Esto puede ser atribuido al hecho de que CCA ha sido alterada por actividades humanas, situación que podría influir en la producción de metabolitos por parte de los organismos que se desarrollan en esta zona, sobre todo debido a la disponibilidad de agua y nutrientes (García-Ruíz y Lana-Renault, 2011; Galieni et al., 2015; Arena et al., 2017).

Por último, al observar los datos de ambos grupos (cuadro 2, figuras 9 y 10), se observa una mayor variación en el rendimiento de los extractos entre los individuos de ZMA comparada con la presente en los extractos obtenidos de los organismos de CCA, evidenciando que el manejo de suelo actúa sobre la producción de metabolitos por parte de los organismos vegetales. De acuerdo con Coley et al. (1985), las plantas de zonas áridas y semiáridas suelen producir grandes cantidades de metabolitos tanto primarios como secundarios para la protección frente diferentes estímulos ambientales. No obstante, García-Ruiz y Lana Renault (2011) exponen que el uso intensivo de campos de cultivo agota la presencia de algunos nutrientes afecta la síntesis de diversos compuestos; Por ejemplo, se ha observado que la reducción en la concentración de potasio incide en el incremento de alcaloides en *Lupinus angustifolius* (Gremigni et al., 2001; Barlóg, 2002), *Lupinus albus* (Ciesiolka et al, 2005) y , en tanto que la reducción de fosfatos y nitrógeno afectarían significativamente el contenido

fenólico de especies como *Lycopersicon sculentum* ((Bongue-Bartelsman y Phillips, 1995; Stewart et al., 2001), *Daucus carota* (Rajendra et al., 1992), *Vitis vinífera* ((Savitha et al., 2006), *Labisia pumila* (Ibrahim et al., 2010) y *Beta vulgaris* (Tuteja y Mahajan, 2007).

Caracterización química de los extractos metanólicos

Durante la caracterización química de los extractos, se observaron variaciones en la concentración promedio de fenoles, flavonoides y alcaloides en los extractos metanólicos, mostrando una concentración promedio mayor en los obtenidos de los individuos de la zona ZMA con respecto a lo observado en los obtenidos de los organismos de la zona CCA (cuadro 3, figuras 11, 12 y 13). Esto puede ser explicado por las condiciones ambientales a los que están expuestos los individuos, ya que los compuestos fenólicos y los compuestos nitrogenados son sintetizados de acuerdo con la necesidad de los organismos para defenderse de los diferentes tipos de estrés, tanto bióticos como abióticos (Coley et al, 1985; Voegue y Marquis, 2005 Vilela et al, 2011).

Esto se ve reflejado en la diferencia en las variaciones de los grupos analizados, ya que, en el caso de la zona CCA, se observa una mayor variación entre los individuos con respecto a los estudiados en la zona ZMA, los cuales, probablemente al encontrarse en una zona con mayor grado de conservación, ven afectada la producción de metabolitos únicamente por la variabilidad genética entre ellos (Bongue-Bartelsman y Phillips, 1995; Galieni et al., 2015; Ulrich et al., 2017).

1. Cuantificación de grupos de metabolitos secundarios

Compuestos fenólicos

En el caso de los compuestos fenólicos, estos presentan diversas actividades entre las que se pueden destacar la protección contra la radiación ultravioleta, sequía, protección térmica, defensa alelopática y contra la herbivoría, además de interactuar con la microbiota edáfica, influyendo indirectamente en la descomposición y mineralización de la materia orgánica (Aerts y Chapin, 2000; Souto et al., 2000; González-Rodríguez et al., 2004; Vilela et al, 2011). Para las plantas de zonas áridas, esta protección se traduce en un aumento significativo

de lignina y diversos compuestos polifenólicos (Vilela y Ravetta, 2005; Vilela et al, 2011; Cisneros et al., 2013).

En el presente estudio, Se tuvieron valores promedio de 100.81 ± 10.32 mg eAg/g de extracto metanólico de las inflorescencias de la zona ZMA, y 80.35 ± 14.95 mg eAg/g de extracto metanólico de las inflorescencias de la zona CCA, presentando entre ambos grupos diferencias significativas ($t= 2.7596$; valor crítico= 2.2622 ; $\alpha= 0.05$) (cuadro 3, figura 11). Estos resultados son mayores a los obtenidos con trabajos realizados con harinas de algunas especies del género, como se reporta en el estudio de Cardozo et al. (2010), quienes evaluaron el contenido nutrimental de harinas producidas a partir de frutos de *Prosopis nigra* y *Prosopis alba*, determinando, por medio de extractos acuosos y etanólicos una concentración de compuestos fenólicos en un rango de 4 a 4.1 mg eAg/g de extracto y 1.8 a 1.9 respectivamente; otro trabajo sobre harinas es el realizado por Schmeda-Hirschman et al. (2015), quienes evaluaron el contenido fenólico de harinas de frutos de *P. chilensis* obtenidos en 5 zonas pertenecientes a 3 valles del norte de Chile, obteniendo valores en un rango de 8.2 a 25.7 mg eAG/ g de harina; Pérez et al. (2020), por otro lado, trabajaron con muestras de mesocarpo pulverizado de frutos de *P. nigra* de distinto tamaño de partícula (en un rango de 149 a >840 μm), reportando contenidos fenólicos en un rango de 1.43 a 1.47 mg eAG/g de polvo. En los tres estudios se observó que el grupo fenólico mayoritario fueron las antocianinas, las cuáles son consideradas relevantes para la atracción de dispersores de semillas al tiempo que protegen al fruto de la radiación ultravioleta (Cardozo et al., 2010; Schmeda-Hirschman et al., 2015; Pérez et al, 2020).

Igualmente, tienden a ser mayores que los reportes en estudios de extractos de hojas, como el estudio de García-Andrade et al. (2013) en el que se evaluaron la capacidad antioxidante y de protección cardiaca de las hojas de *P. laevigata* a partir de extractos fenólicos enriquecidos, reportando un contenido fenólico en un rango de 47.70 a 103.56 mg eAG/g de extracto, reportando como constituyentes principales ácidos fenólicos, flavonas y flavonoles. Por otro lado, Moreno (2019) y Melgoza (2020), al trabajar con un extracto metanólico de hojas de *P. laevigata* obtenidas en la zona ZMA del presente estudio reportaron un

contenido fenólico de 67 mg eAG/g de extracto, identificando solamente algunos ácidos fenólicos por medio de CLAR-DAD.

Por último, en el caso de las inflorescencias, se observa que las concentraciones promedio son mayores a la reportada por Castro (2016), quien reporta una concentración de 61 mg eAG/g en un extracto metanólico floral de inflorescencias de *P. laevigata* colectadas durante la época de sequía de San Rafael Coxcatlán (febrero de 2015), aunque mucho menores que el valor reportado por Nava (2017), quien reporta una concentración de 488 mg eAG/g de extracto en un extracto obtenido en la misma zona que Castro, pero durante una época de lluvias adelantadas (marzo de 2015).

Flavonoides

Los flavonoides son un grupo con una amplia gama de funciones en los organismos, que van desde la atracción de polinizadores y la fotoprotección, hasta la defensa contra depredadores y organismos patógenos (Sepúlveda-Jiménez et al., 2003; Gutiérrez y Mendoza, 2005; Ávalos y Pérez-Urrutia, 2009; Brussoti et al., 2013). En el presente estudio se obtuvo una concentración promedio de flavonoides producidos en los individuos de 2.99 ± 0.45 mg eQ/g en los de la zona ZMA y 1.72 ± 0.99 mg eQ/g en los de la zona CCA (cuadro 3, figura 12). Estos valores son ligeramente menores a los reportados por Pérez et al (2014), quienes al estudiar la composición de harinas obtenidas de *P. nigra* y *P. alba*, encontrando un rango de 3.47 a 13.88 mg eQ/g de harina y 3.30 a 8.75 mg eQ/g de harina respectivamente, además de encontrar que la mayoría de estos corresponderían a antocianinas; por otro lado, son similares a los reportados por Schmeda-Hirshmann et al. (2015), que reportaron en harinas realizadas con el mesocarpo de frutos de *P. chilensis* en un rango de 1.7 a 5.6 mg eQ/g de harina; mayores a los reportados por Rodríguez et al. (2018), quienes al comparar la composición de muestras de harina de *P. alba* encontraron concentraciones de flavonoides de 0.2 a 1.2 mg EQ/g de harina. Estas diferencias entre el contenido de flavonoides entre el fruto y las inflorescencias podrían deberse a las características de cada órgano, ya que en el caso del primero algunos pigmentos de tipo flavonoide, como las antocianinas, podrían atraer dispersores en tanto que las inflorescencias dependerían más de

otros compuestos fenólicos y metabolitos primarios como los azúcares contenidos en el néctar para atraer polinizadores además de protegerse de los diferentes tipos de estrés ambiental.

Al compararse con algunos reportes de hojas, se observa que las concentraciones, éstas son bastante más altas que las encontradas en el presente estudio. Ejemplo de esto es el estudio de Malik et al. (2013), quienes realizaron extractos de diferente polaridad con el uso de acetato de etilo, acetona y cloroformo de hojas de *P. cineraria*, reportando concentraciones de flavonoides en estos extractos en un rango de 504 a 5095 mg eQ/g de extracto; Ibrahim et al. (2013), a partir de extracciones dirigidas en muestras de hojas de *P. juliflora* reportaron un contenido de 16% de flavonoides, en tanto que Pathak y Kumar (2017) trabajaron con extractos acuosos y etanólicos de corteza y hojas de *P. cineraria*, reportando un porcentaje de 6.1652% en el caso del extracto de corteza y 21.0386% para el extracto de hojas; Por otro lado, Moreno (2019) y Melgoza (2020) reportaron una concentración de flavonoides de 2.6 mg eQ/g de extracto en hojas provenientes de la zona ZMA del presente trabajo, y que es similar a la concentración promedio de flavonoides de extractos florales de organismos de la misma zona. En este caso, se puede inferir que las diferencias entre las concentraciones de hojas y de inflorescencias podría responder a la permanencia de ambos órganos en el ciclo de vida de los organismos a los que pertenecen, ya que se conoce que, en general, las especies del género *Prosopis* tienden a ser perennifolias, lo que favorece la acumulación de diversos compuestos en las hojas, a diferencia de las inflorescencias, cuya presencia es únicamente anual (Ffolliott y Thames, 1983; CONAZA, 2000; Gamboa- de Buen et al., 2013₁; Rodríguez et al, 2014).

Por último, al comparar con los resultados reportados por Castro (2016) y Nava (2017) en extractos metanólicos florales de inflorescencias de *P. laevigata*, se observan diferencias muy grandes, ya que en promedio son mayores que el valor reportado en el primer estudio (0.364 mg eQ/g de extracto) en tanto que el segundo estudio reportó una concentración de 23.2 mg eQ/g de extracto; Estas diferencias podrían explicarse por los estímulos ambientales a los que se ven sometidos los organismos de las diferentes zonas, lo que repercutiría de forma

visible en la síntesis de compuestos, tanto cualitativa como cuantitativamente (Gutiérrez y Mendoza, 2005; Ávalos y Pérez-Urrutia, 2009; Brusotti et al., 2013).

Alcaloides

Uno de los grupos más estudiados en el género *Prosopis* son los alcaloides, los cuales presentan diversas actividades de interés biomédico, destacando la actividad antimicrobiana y el efecto neuroprotector que se ha asociado a su presencia en diferentes especies del género, además de la alta toxicidad reportada en animales de ganado que han consumido frutos maduros de estos organismos. (Samoylenko et al., 2008; Rahman et al., 2011; Sukirta y Growther, 2012; Jagan Mhan Reddy et al., 2014; Valli et al., 2014; Reina et al., 2016; Henciya et al., 2017). Entre los estudios que se pueden mencionar acerca de las concentraciones de alcaloides, se encuentra el realizado por Tapia y colaboradores (2000), quienes estudiaron la composición y actividad de extractos alcaloidales de diferentes especies de *Prosopis*, y reportaron una concentración alcaloidal de 0.13% para muestras de *P. alpataco*, 0.006% para *P. argentina*, 0.53% para *p. argentina*, 0.198% para *P flexuosa* y 0.097 para *P. pugionata*; Kolapo et al. (2009) estudiaron la composición química y actividad antimicrobiana de tallos y raíces de *P. africana* y reportaron una concentración de 0.104 mg/g y 0.0732 mg/g respectivamente de alcaloides en los extractos etanólicos obtenidos; Ibrahim et al. (2013), reportaron una concentración promedio de 3.6% de alcaloides en muestras de *P. juliflora*; en tanto que Moreno (2019) y Melgoza (2020) reportan una concentración de 11.87 mg eA/g, un valor cercano al 0.011% con respecto al peso de extracto; En el caso de Castro (2016) y Nava (2017), reportaron concentraciones similares, es decir, 66.97 mg eA/g y 67.39 mg eA/g de extracto respectivamente; Al comparar con los valores promedio del presente estudio, que fueron 87.85 ± 21.56 para los organismos de la zona ZMA y 62.87 ± 9.21 m eA/g de extracto para los organismos de la zona CCA (cuadro 3, figura 13), se observa que los valores son muy variables, situación que se puede atribuir tanto a los estímulos ambientales como a las necesidades de protección contra depredación que las distintas especies tienen a lo largo de su ciclo de vida; por otro lado, y en el caso particular de *P. laevigata* al considerar los trabajos de Castro (2016) y Nava (2017), no se encuentra una influencia directa de los cambios ambientales, recordando que los extractos

fueron obtenidos de material biológico colectado en la misma zona, pero en diferentes circunstancias climáticas (sequía y lluvias tempranas), de lo que se infiere, al ver las variaciones entre las concentraciones de alcaloides del presente estudio, que podría haber una influencia directa de los estímulos provenientes del suelo para la síntesis y almacenamiento de metabolitos que permitan la supervivencia de la inflorescencia al ataque microbiano y por herbivoría, además de brindar preparar la protección para que el futuro embrión se desarrolle adecuadamente en las condiciones ambientales a las que se encuentra adaptado el organismo progenitor ((Gutiérrez y Mendoza, 2005; Ávalos y Pérez-Urrutia, 2009; Brusotti et al., 2013)

Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante está ligada a la presencia de compuestos fenólicos en diversas plantas, aunque no se restringe únicamente a estos compuestos. Existen reportes de la capacidad de captura de radicales libres por parte de los alcaloides del género *Prosopis*, observados especialmente en hojas de *P. juliflora* (Tapia et al., 2000; Sathiva y Muthuchelian, 2008; Lakshimibai et al., 2015); Los valores obtenidos en el presente trabajo fueron de 465.114 ppm para la zona ZMA y 567.642 ppm para la zona CCA (cuadro 4 y figuras 14, 15 y 16) estos valores son comparablemente menores a los reportados por Lakshimibai et al. (2015), quienes determinaron una concentración de 1000 ppm de extracto etanólico de hojas de *P. juliflora* para alcanzar una reducción del radical DPPH del 22.3% así como un valor de 50,000 ppm del mismo extracto para lograr una reducción del 98%; por otro lado, son menores a los valores obtenidos por García-Andrade et al. (2013), (312 ppm y 93 ppm) con extracciones de compuestos fenólicos de hojas *P. laevigata* a partir de extractos acetónicos obtenidos de organismos muestreados en el estado de Durango, México; no obstante, los valores obtenidos en el presente estudio son muy similares a los reportados por Castro en 2016 (591.38 ppm), menores a los reportados por Nava en 2017 (907 ppm) y mayores a los reportados por Moreno (2019) con extractos crudos de hojas de *P. laevigata* (reportando un valor de 334.87 ppm).

Análisis cromatográficos

Cromatografía en Placa Fina (CCF)

Con los análisis cromatográficos, se evidencian pocas diferencias entre los compuestos presentes en los extractos de ambas zonas.

En el caso de las cromatografías en placa fina, se observan los tres grupos de metabolitos cuantificados en este estudio (Figuras 17 y 18). Se resalta el hecho de que en la figura 16, y más específicamente se puede observar en el panel c, se infiere la presencia de pigmentos y flavonoides (en el frente de la placa, con coloraciones rojizas y violáceas), mientras que en el punto de aplicación se puede inferir que se trata de compuestos de naturaleza alcaloidea (coloraciones azules y verdosas) (Wagner y Bladt, 1996). Esta idea se refuerza al utilizar el cloruro férrico, el reactivo de New y el reactivo de Dragendorff como reveladores. De esta forma, algunos flavonoides de tipo flavona y flavonol resaltan a lo largo de la placa (figura 18 c) con las tonalidades características (violáceas, rojizas y algunas azules) en el frente (Greenham et al., 2003); el uso del reactivo de Dragendorff, por otra parte, confirma la presencia de alcaloides y otros compuestos nitrogenados en el punto de aplicación, que, aunado con la primera observación, haría falta el uso de una fase móvil únicamente para la separación de los alcaloides presentes en los extractos (Bladt, 1996; Molyneux et al., 2002).

Cromatografía Líquida de Alta Resolución con arreglo de Diodos (CLAR-DAD).

En el análisis por medio de HPLC-DAD, pese a que no fue posible determinar compuestos presentes en ninguna de las muestras, se lograron identificar algunos grupos presentes en los extractos (flavonas, flavonoles, isoflavonas, fenilpropanoides y rotenoides) (cuadros 5 y 6, figuras 19 y 20).

Bragg et al. 1978, realizaron una recopilación sobre los distintos flavonoides presentes en el género *Prosopis* y que podrían servir para identificar aquellos que son característicos del género, mencionando las similitudes entre *P. laevigata* y *P. juliflora* al señalar la presencia de 6 flavonas (entre las que

destacan la apigenina, la luteolina y algunos glucósidos) y 6 flavonoles (algunos glicósidos de quercetina, kaempferol e isoarhamnetina).

Por otro lado, Almaraz-Abarca et al. (2007), reportaron inhibición en la peroxidación lipídica y defensa contra el estrés oxidativo en general, propiedades encontradas en extractos de polen de *P. juliflora*, y que fueron atribuidas al perfil fenólico de dichos extractos y en el que destacan varias flavonas (principalmente derivadas de la apigenina y la luteolina) y flavonoles (derivados de la quercetina y la isorhamnetina), compuestos también encontrados de forma mayoritaria en los extractos florales metanólicos de la zona ZMA y presentes en los de los individuos de la zona CCA del presente estudio.

Castro en 2016 reporta varios compuestos pertenecientes a los grupos detectados en este trabajo, identificando, además por medio de Cromatografía Líquida de Alta Resolución acoplada a Espectrometría de Masas algunos compuestos fenólicos como la vainillina, el ácido cafeico, la crisina y la acacetina; en tanto que Nava (2017), se reportó la presencia de algunas flavonas (como apigenina y la naringenina) y algunos flavonoles (como el kaempferol y quercetina), en tanto que Moreno (2019) y Melgoza (2020) reportan la presencia de varios fenoles simples por CLAR-DAD, compuestos que no fueron detectados en ninguna de las zonas de este trabajo. De forma general, se puede decir que las flavonas y flavonoles son compuestos comunes en los extractos vegetales (Harbone, 1989), presentando actividades tales como protección contra la radiación UV, ataque de insectos, hongos, bacterias y virus. Así mismo, son atrectores de polinizadores y pueden incluso actuar como agentes alelopáticos (McClure, 1975), características importantes para el desarrollo de la flor y que podrían ser cruciales para la supervivencia del futuro vástago, pudiendo protegerlo, además, de infecciones y ataques anteriormente mencionados (Jain et al., 2019).

Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM)

Por otro lado, en el análisis de CG-EM, se detectaron varias moléculas no polares, de las cuales, solo se pudieron identificar el ácido palmítico, el esteárico, el ácido 9,12-octadecadianoico (ácidos grasos), el heptacosano y el heneicosano (alcanos de cadena larga) (cuadros 7 y 8 y figuras 21 y 22).

En trabajos previos con las inflorescencias de *P. laevigata* (Castro, 2016; Nava, 2017) se reportó la presencia de ácidos grasos como el ácido linoleico, el ácido linolénico, y el ácido palmítico, que presentan actividades antibacterianas (Zheng et al., 2005; Bhattachartjee et al., 2011; Huang et al., 2011), antiinflamatorias (Haro et al., 2006; Saeed et al., 2012) y anticancerígenas (Kumar et al., 2010).

Los ácidos grasos son moléculas que se encuentran en todos los organismos, y que son constituyentes fundamentales de las membranas plasmática, mitocondrial y tilacoidal (Falcone et al., 2004; Mizusawa y Wada, 2012; Carvalho y Caramujo, 2018). La presencia de ácidos grasos saturados e insaturados en las membranas se encuentra influida especialmente por las condiciones ambientales en las que se desarrolla el organismo; en el caso de las plantas, se ha observado la capacidad de regular la concentración de ácidos grasos dependiendo especialmente de la temperatura ambiental, de tal forma que las plantas de zonas cálidas o áridas (como *P. laevigata*) tienden a presentar ácidos grasos saturados (como los encontrados en el presente estudio), situación que les confiere la habilidad de adaptarse a las temperaturas a las que se ven expuestas (Falcone et al., 2004). Este fenómeno es especialmente relevante en las membranas tilacoidales para asegurar la termoestabilidad del proceso fotosintético (Mizusawa y Wada, 2012; Carvalho y Caramujo, 2018). Eso se confirma al observar que los ácidos palmítico y esteárico son los ácidos identificados con mayor abundancia (3.01% y 1.06% respectivamente) en la zona ZMA, en tanto que el ácido palmítico y el heneicosano (6.00% y 4.07% respectivamente) en la zona CCA.

Actividad antimicrobiana

En el caso de la actividad antimicrobiana observada, se evidenció una diferencia entre los efectos observados sobre bacterias y hongos levaduriformes.

Actividad antibacteriana

En el caso de las bacterias, se observa una tendencia de la ZMA a tener una mayor inhibición, aunque no es significativa, en el crecimiento registrado en la prueba de difusión en agar de Kirby Baüer (Cuadros 11 y 12 y figura 23).

Es resaltable el hecho de que se observa una mayor sensibilidad por parte de *S. aureus* y *V. cholera* a los extractos de ambas zonas, situación que resulta llamativa al momento de observar la resistencia de la cepa de *S. aureus* utilizada durante el experimento a una alta variedad de antibióticos (cuadro 9), la mayoría de los cuales, actúan sobre la síntesis de la pared celular o alteran el funcionamiento ribosomal (Etebu y Arikekpar, 2016). El diámetro de los halos de inhibición es comparable al obtenido por Castro (2016), cuando trabajó con flores obtenidas en la época normal de floración de *P. laevigata* (es decir, temporada seca) con las mismas cepas, y algo menores a los obtenidos en un trabajo previo (Nava, 2017). Por otro lado, se observa una sensibilidad mayor de *S. aureus* y de *V. cholera*, fenómeno también observado en los trabajos antes mencionados (Castro, 2016; Nava, 2017).

Observando los valores de CMI y CBM, se hace evidente que hay una diferencia apreciable entre la actividad de los extractos sobre las bacterias Gram positivas y las Gram negativas, siendo estas últimas las que presentan una mayor resistencia, siendo, en el caso de los extractos de la zona CCA aquellos con un menor efecto sobre ambas cepas (en un rango de 0.312 a 1.25 mg/mL). Al considerar las bacterias Gram negativas, se observa el mismo fenómeno con la cepa *V. cholera*, en la cual se lograron determinar los valores de CMI (en un rango de 0.125 A 20 mg/mL) en comparación con las concentraciones presumiblemente mayores a 20 mg/mL de los extractos florales metanólicos de los organismos de la zona ZMA (cuadros 13 y 14). La diferencia entre los resultados de la prueba de difusión en agar de Kirby Baüer y los resultados de la microtécnica en caldo podrían ser explicados por la polaridad y la solubilidad de los compuestos con actividad antimicrobiana.

Los resultados muestran un mayor efecto que los encontrados por Salinas et al. 2009, quienes compararon diversas plantas de la Sierra de Huautla, incluyendo un extracto acetónico y uno metanólico de los órganos aéreos de *P. laevigata*, los cuales presentaron una CMI mayor para *S. aureus* ATCC 6358 (4 mg/mL). No obstante, son mayores a los obtenidos por Khan et al. 2010, quienes evaluaron la actividad de extractos de *P. spicigera* sobre varios microorganismos multirresistentes, encontrando una alta sensibilidad al extracto etanólico en cepas de *E coli*, *Streptococcus mutans* y *S. bovis* (valores de CMI de 78.125,

9.76 y 4.88µg/mL respectivamente). Así mismo, en 2011, Sachi et al., utilizaron extractos ricos en alcaloides de hojas, ramas y flores de *P. juliflora* sobre una batería de bacterias resistentes que incluían cepas de *E. coli* y *S. aureus*, determinando Concentraciones Mínimas Inhibitorias por debajo de los 100 µg/mL. Por otro lado, Melgoza en 2020, al evaluar el extracto metanólico de hojas de *P. laevigata* obtenidas de los árboles de la zona ZMA del presente estudio, reporta una actividad ligeramente menor que la obtenida en el presente trabajo con cepas de *S. aureus* (obteniendo una CMI de 0.62 y 1.25 mg/mL con las dos cepas que utilizó en comparación con el rango de 0.312 a 1.25 mg/mL de la zona CCA de este estudio) y mayor con las cepas de *E. coli* (10 y 1.25 mg/mL en comparación con las CMI mayores a 20 mg/mL del presente estudio).

Con la prueba de fugas de proteínas (cuadro 15, figura 24), se observó uno de los posibles mecanismos de acción de los extractos probados, ya que se enfoca en la capacidad de alterar la membrana plasmática lo suficiente como para provocar la eyección del contenido citoplasmático o la lisis celular (Akinpelu et al., 2015), fenómeno evidenciado en el incremento de la concentración proteica en el medio. Esto fue observado en el comportamiento promedio de los extractos de cada zona plasmados en la figura 24, resaltando un incremento importante en la concentración de proteínas inducido por los extractos de la zona ZMA a partir de los 30 minutos del inicio del experimento. Esta observación podría explicarse, en parte, por el contenido alcaloideo de los extractos. En diversos estudios con fracciones alcaloidales de diferentes especies del género *Prosopis* (destacando *P. juliflora*, *P. cineraria*, *P. africana*, *P. nigra* y *P. glandulosa* var. *glandulosa*) han mostrado que los alcaloides tipo piperidínico (como la prosopina, la juliprosopina, juliflorina, prosoflorina y la cassina) interactúan con la membrana plasmática de diversos organismos, ya sea intercalándole entre los fosfolípidos o afectando diversos canales iónicos (como los canales de Ca^{+} y K^{+}) pudiendo comprometer la integridad de esta y originando la pérdida total o parcial del contenido citoplasmático (Ahmad et al., 1989; Ahmad et al., 1997; Samoylenko et al., 2008; Rahman et al., 2011; Sukirta y Growther, 2012; Jagan Mhan Reddy et al., 2014; Valli et al., 2014; Reina et al., 2016). Los resultados del presente estudio también sugieren una posible correlación entre el contenido

alcaloideo y la concentración creciente de proteínas medida a lo largo de este experimento (véase cuadro 3 y figuras 11 y 26).

Actividad sobre hongos levaduriformes

Por otro lado, la inhibición observada sobre hongos levaduriformes muestra resultados más uniformes entre las dos zonas, siendo este fenómeno más evidente al observar la similitud entre los valores de diámetro de inhibición (cuadros 16 y 17 y figura 26) y las Concentraciones Fungicidas Medias (cuadros 18 y 19). Los resultados obtenidos son comparables a los registrados por Nava en 2017 con el extracto metanólico de inflorescencias de *P. laevigata* obtenido durante la época de en la población de San Rafael Coxcatlán en 2015, el cual fue trabajado por Castro (2016) sobre las mismas levaduras. En 2010, Khan et al. reportaron actividad antifúngica de extractos de diferente polaridad de *P. spicigera* sobre un grupo de hongos levaduriformes multirresistentes, reportando a *C. tropicalis* como sensible al extracto etanólico con una CF_{50} de 625 $\mu\text{g/mL}$. En 2018, Farboodniay Jahromi et al. determinaron la actividad antifúngica del extracto etanólico del fruto de *P. farcta* sobre *Candida albicans*, determinando una CF_{50} de 32 $\mu\text{g/mL}$; Moreno en 2019 reportó, al utilizar el extracto metanólico de hojas de *P. laevigata* de la zona ZMA del presente estudio una alta actividad sobre diversas cepas de *Candida albicans*, *Candida glabrata*, y *Candida tropicalis* tanto de catálogo como casos clínicos por debajo de los 0.312 mg/mL.

Actividad sobre *Fusarium sportrichoides*.

En la evaluación de la actividad sobre hongos filamentosos, se encontraron diferencias significativas entre las zonas de trabajo, siendo la zona ZMA la que, en promedio, presenta un valor más bajo de CF_{50} promedio (0.5146 mg/mL). No obstante, la Concentración Fungicida Mínima encontrada en ambas zonas es bastante menor a la reportada en un trabajo anterior (Nava, 2017), en el que se compararon los extractos metanólicos de inflorescencias de *P. laevigata*, uno obtenido en época de sequía y otro de lluvias tempranas (el material fue colectado en febrero y marzo, respectivamente, del año 2015) reportando dos

concentraciones (4.28 y 5.00 mg/mL respectivamente) para la inhibición de la misma cepa (*Fusarium sporotrichioides* ATCC NRLL3299) utilizada en el presente estudio. Esta diferencia podría estar relacionada con la concentración de algunos metabolitos en los extractos, y las cuales, como se han mencionado con anterioridad, son diferentes en ambos estudios.

Por otro lado, si bien es cierto que no existe literatura con respecto a la actividad de *P. laevigata* sobre este grupo de organismos, si existen evidencias de la actividad del género *Prosopis* sobre distintas especies de interés agrario y médico, como es el caso del estudio de Raghavendra et al. (2009), en el que se reportó la actividad inhibitoria de extractos de diferente polaridad de hojas de *P. laevigata* sobre el fitopatógeno *Alternaria alternata*, encontrando una concentración fungicida mínima de 1000 ppm; además, realizaron una extracción dirigida de alcaloides, encontrando que la fracción alcaloidea del extracto etanólico utilizado presentaba una concentración fungicida de 2000 ppm; Por otro lado, Azab (2018), reportó una actividad inhibitoria de extractos de diferente polaridad de *P. farcta* sobre *Rhizopus stolonifera*, utilizando 2 concentraciones de cada extracto (10 y 20% de extracto en el medio de crecimiento), encontrando que el extracto con mayor actividad antifúngica fue el hexánico al llegar a una inhibición de 36.8%; Solanki et al. 2018, detectaron, extrajeron y probaron una proteína presente en las semillas de *P. cinerea* sobre los fitopatógenos *Aspergillus fumigates* y *Lasiodiplodia theobromae*, obteniendo una importante inhibición del crecimiento de ambas cepas. Estos estudios, junto con los resultados obtenidos en la presente investigación, muestran la capacidad del género *Prosopis* para la producción de moléculas que actúen contra especies fúngicas fitopatógenas.

Las actividades antimicrobianas encontradas en las flores, por tanto, podrían estar relacionadas con la necesidad de la especie por proteger este órgano antes, durante y después de la fecundación; además, como se dijo anteriormente, las moléculas involucradas en dichas actividades podrían ser responsables directa o indirectamente de la protección de la futura semilla, tal y como se ha visto en trabajos con frutos de otras especies, cuyas actividades antimicrobianas son destacables por su alta eficacia para la inhibición de diferentes organismos microbianos (Bernier et al., 2005; Sachi et al., 2011;

Gamboa-de Buen et al., 2013(2); Bouché et al., 2016; Nava, 2017; Solanki et al., 2018).

Relación suelo-desarrollo vegetal

En los resultados obtenidos del análisis de suelos, se encontraron diversas variaciones en propiedades físico-químicas que son sumamente importantes en el desarrollo no sólo de *P. laevigata*, sino de la cobertura vegetal en general.

La floración de cualquier especie es un evento que se ve influenciado por factores intrínsecos (destacando el desarrollo del organismo y las señales genéticas involucradas en el proceso) y factores ambientales (Koorneef et al., 1998; Putterill et al., 2004; Blümer et al., 2015). Estudios realizados en el modelo de *Arabidopsis thaliana* han mostrado que la floración es un fenómeno multifactorial cuyo inicio se debe a la coincidencia de una serie de factores ambientales que favorecen el inicio de la diferenciación de los meristemos para la formación de estructuras florales (Martínez et al., 1994; Bernier y Périlleux, 2005; Bouché et al., 2016). En la mayoría de las especies estudiadas se ha determinado como una señal de inicio general el cambio en la temperatura ambiental y luminosidad, también se considera que la presencia e intensidad de algunos factores edáficos, como son la conductividad eléctrica, el pH (concentración de iones H en el suelo), la materia orgánica y la estructura del suelo son parámetros que tienen una influencia en el desarrollo de los diferentes órganos de la planta. Estos factores intervienen en la absorción de nutrientes que incidirá en la síntesis de metabolitos primarios y secundarios ocurrida antes, durante y después de la floración, provocando que ésta presente diferencias entre individuos de la misma especie, fenómeno que, a su vez, sería activado por las reacciones desencadenadas en la parte aérea por los cambios de las condiciones atmosféricas (Ramakrishna y Ravishankar, 2011; Gamboa-de Buen et al., 2013^{1 y 2}; Bouché et al., 2016).

La producción de metabolitos secundarios está influenciada positiva o negativamente con el estrés ambiental. Un ejemplo de esto son los fenil-

propanoides, que están implicados en un amplio abanico de respuestas a diferentes tipos de estrés (Ramakrishna y Ravishankar, 2011; Yang et al., 2018). La presencia de algunas clases de estos, como son las flavonas, los flavonoles, isoflavonoides prenilados, auronas, estilbenos, se encuentran asociados al ataque de patógenos, siendo considerados como una forma de resistencia adquirida (Rasmusen et al., 1991; Dixon y Paiva, 1995); Como se mencionó anteriormente, en la zona ZMA se encontró la presencia de flavonas y flavonoles, en tanto que en la zona CCA se encontraron flavonas e isoflavonas principalmente, además de otros compuestos, como rotenoides, con actividad antimicrobiana y como disuasora de ataque de herbívoros (Jain et al., 2019). Castro en 2016, reporta la presencia de numerosos fenilpropanoides, flavonoles e isoflavonas en flores de *P. laevigata* obtenidas durante la época de secas (meses invernales, es decir, de noviembre a marzo) en San Rafael Coxcatlán en 2015, correspondiendo a las condiciones consideradas “normales” durante la floración, en tanto que Nava (2017) reporta la presencia de antraquinonas, flavonas y flavonoles, entre otros durante una floración secundaria en una época de lluvias tempranas ocurrida en el mes de marzo en el mismo año y lugar. Aunque en el presente estudio no se determinó la composición específica de los extractos, se puede inferir que la concentración diferencial de los grupos de metabolitos encontrados en cada zona respondería no solo a la disponibilidad de nutrientes en el suelo, sino también a la necesidad de protección detectadas por los organismos (especialmente por raíces y hojas) a lo largo del periodo de prefloración (Bernier et al., 2005; Gamboa-de Buen et al., 2013₂; Bouché et al., 2016).

Los análisis de rutas realizados para el presente trabajo (figuras 28 y 29) fueron elaborados para esquematizar la posible correlación que existe entre los diferentes parámetros edáficos analizados y su impacto sobre la producción de metabolitos secundarios, lo que, a su vez, permitiría inferir cómo el suelo de las zonas estudiadas afectaría el desarrollo e influiría en el desarrollo de rutas metabólicas para la protección del organismo y de su futura progenie, esto expresado en las concentraciones determinadas de metabolitos en la inflorescencia.

Salinidad, pH y conductividad eléctrica.

Si se aborda la influencia del suelo en el desarrollo vegetal, uno de los primeros factores que deben ser considerados es la salinidad, ya que es considerada un factor de estrés determinante en la supervivencia de las especies vegetales en las zonas áridas. La salinidad ambiental puede provocar estrés iónico y osmótico, además de estar asociado con el estrés oxidativo por promover la producción de ERO's (Mahajan et al., 2005; Hanen et al., 2008; Lim et al., 2012; Borgognone et al., 2014; Falcinelli et al., 2017). En especies tolerantes a la salinidad, esta clase de estrés resulta en el incremento de diversos metabolitos, destacando los compuestos de carácter fenólico, ya que presentan características estructurales que neutralizan el efecto nocivo de las ERO's producidas en presencia de este estrés (Ramakrishna y Gokare, 2011; Lim et al., 2012; Borgognone et al., 2014; Falcinelli et al., 2017). Esto se ve reflejado en el presente estudio al observar la valoración de salinidad de ambas zonas, muy salino en el caso de la zona ZMA y ligeramente salino para la zona CCA (Cuadro 21) (de acuerdo con los criterios de Vázquez y Bautista, 1993), recordando que las concentraciones más elevadas de metabolitos secundarios se corresponden con la primera (Cuadro 3); si se observa el diagrama del análisis de rutas (figura 29), la salinidad se encuentra expresada a través de la conductividad del suelo, ya que ambos factores están íntimamente relacionados (Muñoz et al., 2018). En el esquema, se evidencía una fuerte correlación entre la salinidad y los grupos de metabolitos secundarios cuantificados, destacando la correlación con flavonoides (0.54) y con alcaloides (0.63) (Cuadro 23). Existen evidencias de la influencia de la salinidad sobre la producción de diversos metabolitos, como es el caso del estudio de Abd El-Azim y Ahmed (2009), quienes describen un incremento considerable de la concentración de taninos y de alcaloides en extractos de diferentes órganos de *Achillea fragrantissima*; Por otro lado, Haghighi et al. (2012), reportan una relación directamente proporcional en la concentración de compuestos de tipo flavonoide en raíces y vástago de plántulas de *Plantago ovata* sometidas a diferentes concentraciones salinas durante su desarrollo.

En el caso de la relación entre la salinidad y el género *Prosopis*, se ha observado que algunas especies del género como *P. juliflora*, *P. alpataco*, *P. argentina*, *P. pallida* y *P. alba* son tolerantes al estrés salino (Velarde et al., 2003; Villagra, 2009), presentando para ello diversas estrategias, destacando el ajuste

osmótico, el cual consiste en la acumulación y compartimentalización de solutos osmóticamente activos (como prolina, glicina, betaína, y iones como el Na^+) para mantener la osmolaridad necesaria para conservar la turgencia celular (Guo et al., 2013; Meloni, 2017; Meloni et al., 2019). En el caso de *P. laevigata*, se ha observado que plántulas de esta especie son capaces de crecer y desarrollarse en condiciones de salinidad elevadas (Ríos-Gómez et al., 2010; Meloni et al., 2019), presentando solamente modificaciones en el patrón de crecimiento de las raíces, el cual tiene una relación inversamente proporcional a la salinidad del suelo, siendo más afectada por la presencia de mezclas edáficas de cloruros y fosfatos que otro tipo de mezclas (Ríos-Gómez et al., 2010).

Otro factor ligado con las características electroquímicas del suelo y que está relacionado con los valores de salinidad es el pH. Las muestras de las zonas estudiadas en el presente trabajo se encuentran en el rango de ligeramente alcalino a moderadamente alcalino (7.89 en la zona ZMA y 8.08 en la zona CCA), y aunque los valores de pH obtenidos están relativamente cercanos entre sí, podrían tener una influencia importante en el desarrollo de *P. laevigata*. Muchos nutrientes importantes están condicionados al pH del suelo, el cual está íntimamente relacionado con el contenido de materia orgánica y la composición del suelo (Hong et al., 2018,) tal y como indican las correlaciones identificadas en las muestras analizadas en el presente estudio (Figuras 28 y 29). La disponibilidad de muchos nutrientes, como es el caso del nitrógeno, del fósforo, del calcio y del hierro puede verse afectada por el pH, el cual modifica la forma molecular en la que se encuentran presentes, situación que a su vez puede limitar su obtención por parte de la planta (Marinos y Bernhardt, 2010). Si bien en el análisis de rutas el pH aparentemente no se encuentra relacionado directamente con los metabolitos secundarios cuantificados, se observa que tiene un efecto indirecto sobre estos, actuando directamente sobre la conductividad eléctrica y la capacidad de Intercambio Catiónico Total. Estas relaciones se basan en la concentración y naturaleza de los compuestos catiónicos presentes en el suelo, los cuales afectan la presencia de iones H^+ (Figura 29) (Cortés et al., 2013). La relación entre pH, conductividad eléctrica y contenido mineral con el desarrollo y crecimiento vegetal ha sido estudiada en diversas especies vegetales a partir del análisis de la interacción entre

soluciones nutritivas y desarrollo vegetal. Lu et al. (2017) reportaron una relación inversamente proporcional entre la concentración de compuestos fenólicos tipo hidroxicinámico en las hojas de plántulas de *Perilla frutescens* al ser sometidas a soluciones nutritivas con diferente contenido mineral y valores de conductividad eléctrica de 1.0 a 3.0 dSm⁻¹; por otro lado, El-Nakhel et al. (2019) reportan una relación inversamente proporcional entre la conductividad eléctrica y el contenido mineral con respecto a la producción de compuestos fenólicos en *Lactuca sativa* var. capitata.

Materia orgánica, nitrógeno y textura del suelo

Otros factores que se encuentran íntimamente correlacionados entre sí son el porcentaje de Materia Orgánica (MO) y de Nitrógeno (N) en el suelo e influyen en la presencia de la microbiota debido a las diversas interacciones de los organismos edáficos entre ellos y con el ambiente (Ruiz et al., 2008; Verma et al., 2008; Yan et al., 2013; Chimal et al., 2018); esta relación puede verse en el presente estudio dentro de las mediciones de dichos parámetros (cuadro 21), al observar que un aumento en la materia orgánica incide en la cantidad de nitrógeno disponible ya que, mientras que las muestras de la zona ZMA presentan un contenido de materia orgánica de 2.967% y de nitrógeno de 0.089%, La CCA, la cual presenta valores de 1.794% y 0.04% respectivamente. En el diagrama de rutas (figura 28) se observa, además, que la influencia de la materia orgánica con el nitrógeno está mediada por la densidad del suelo, y esto responde al hecho de que la materia orgánica es un factor importante para la agregación de los materiales, ya que, al descomponerse, forma CO₂, incidiendo en el intemperismo de las rocas y mejorando con el tiempo la capilaridad y la permeabilidad de los suelos (Muñoz-Iniestra et al., 2018).

La presencia de nitrógeno en los suelos es fundamental para el desarrollo vegetal, y se encuentra íntimamente relacionado con la producción de metabolitos secundarios (Ramakrishna y Gokare, 2011; Yang et al, 2018; Li et al., 2020). Ibrahim et al. (2010) reportaron que existe una relación inversamente proporcional entre los niveles de nitrógeno en el suelo y la producción de compuestos fenólicos, incidiendo especialmente en la producción de flavonoides tanto en *Arabidopsis* como en *Lycopersicum esculentum*; Por otro lado, Arena

et al. (2017) estudiaron la relación entre la producción de compuestos fenólicos y diversos factores ambientales en cultivos de *Berberis microphylla*, determinando que el aumento en el contenido total de nitrógeno redujo el contenido de flavonoides aunque incremento significativamente el contenido de compuestos polifenólicos. Esta disminución en compuestos fenólicos totales puede encontrarse en el presente estudio al observar las diferencias en la producción de este grupo de compuestos entre los organismos de las dos zonas, la cual, como se mencionó anteriormente, es significativamente menor en el caso de los extractos obtenidos de los organismos de la zona CCA (cuadro 3, figuras 11 y 12). Por otro lado, en el caso de los alcaloides, se ha observado que hay una relación directamente proporcional entre el contenido de nitrógeno y la síntesis de estos compuestos. Barlóg (2002) y Ciesiolka et al. (2005) reportan el incremento de alcaloides y otros compuestos nitrogenados en cultivos de *Lupinus albus* al utilizar fertilizantes ricos en nitrógeno durante sus respectivos estudios, considerando que la producción de estas moléculas responde a una necesidad de acumular el nitrógeno abundante; Por otro lado, Al-Humaid (2005) reportó el incremento de alcaloides en plantas de *Datura innoxia* expuestas a tratamientos con diferentes grados de fertilización (0-800 kg ha⁻¹).

En el caso de los mezquiales, esta diversidad se ve influenciada precisamente por el comportamiento simbiótico de los mezquites, los cuáles exudan compuestos entre los que destacan flavonoides que sirven como señal de atracción a bacterias y hongos micorrízicos, con los que forman asociaciones que les permiten asimilar el nitrógeno ambiental y fósforo respectivamente, ya sea a través de reducciones de estos elementos presentes en el ambiente o de compuestos de origen orgánico (Salas, 2009; Villegas-Espinoza et al., 2014; Chimal et al., 2018). Por otro lado, se ha observado que, a pesar del carácter fijador de nitrógeno de las bacterias simbióticas de *Prosopis*, éste por sí mismo no siempre produce cambios significativos en la concentración de este elemento en el suelo, ya que su presencia también depende de la cantidad del porcentaje de materia orgánica en los diferentes horizontes (Zitzer et al., 1996; Wheeler et al., 2007; Throop y Archer, 2008).

Así mismo, La concentración de materia orgánica variará de acuerdo de al aporte proveniente en gran parte de la cubierta vegetal, y su degradación afectará la

disponibilidad de los nutrientes minerales (Six et al., 2004; Liao et al., 2006) ya que las reacciones involucradas en la descomposición afectan directamente el pH edáfico, el cual, como se ha mencionado anteriormente, influye positiva o negativamente en la disponibilidad de diversos nutrientes. (Ladd et al., 1993). En el caso de las muestras analizadas en el presente estudio, esto se observa en la posible relación existente entre la valoración de la materia orgánica (moderadamente rico para ZMA y pobre para CCA) y la textura de suelo (franco arcilloso en el caso de ZMA y arcilla arenosa para CCA). El porcentaje de arcillas, limos y arenas afectan la cantidad de agua disponible y los nutrientes en suspensión cuando la matriz edáfica se encuentra en suspensión (Ladd et al., 1993, Wheeler et al., 2007; Throop y Archer, 2008).

En los suelos, el contenido de arenas afecta la retención de agua y nutrientes, ya que las partículas que los conforman propician la presencia de poros grandes, lo que a su vez contribuye en la lixiviación y pérdida de agua y nutrientes, en especial nitrógeno (Fenu et al., 2012; Yan et al., 2013; Chimal et al., 2018). No obstante, la baja densidad que generan permite una penetración más profunda de las raíces de diversas especies vegetales, favoreciendo, como es el caso de las especies del género *Prosopis*, el acceso a los mantos freáticos de las zonas en las que se desarrollan (León et al., 2017; Muñoz-Iniestra et al., 2018). Por otro lado, la presencia de arcillas y limos favorece la retención de agua y nutrientes debido a que el tamaño de partículas que presentan (de 0.002 mm-0.05 mm en el caso de los limos y <0.002 mm en el caso de las arcillas) produce de poros de tamaño medio a fino, lo que influye en una mayor retención de agua y nutrientes (Blight, 2005; Balasubramanyan y Manivannan, 2008). La disponibilidad de nutrientes (que como se ha dicho, está influenciada por la proporción de arenas, arcillas y limos) es un factor que ha sido evaluado como promotor de estrés en diferentes especies cultivables, entre las que se puede mencionar a *Dacus carota*, que en condiciones de estrés por deficiencia de fósforo incrementa su porcentaje de antocianinas (Rajendra et al., 1992); en el caso de *Lycopersicum sculentum*, hay evidencia de que la deficiencia nutrimental induce una triplicación en la concentración de antocianidinas y una duplicación de la concentración de quercetin-3-O-glucósido, además de un incremento considerable de flavonoides como kaempferol, isorhamnetina y quercetina (Bongue-Bartelsman y Phillips,

1995; Stewart et al., 2001); el estrés producido por altas concentraciones de diversos minerales (como el calcio, magnesio, el cobre, el hierro y el cobalto) incrementan el contenido de betalaínas en *Beta vulgaris*, y de antocianinas en *Vitis vinífera* (Savitha et al., 2006; Tuteja y Mahajan, 2007). Por tanto, la textura del suelo tiene una influencia importante en el desarrollo del organismo e incide en la proporción de metabolitos en la flor durante su desarrollo (Wesley y Ross, 1990; Laidl et al., 1993; Zitzer et al., 1996; Troop et al., 2008). Esto se puede inferir al observar las relaciones entre los distintos parámetros utilizados para la construcción de los diagramas de rutas (figuras 30 y 31), en los cuales se observa (figura 31) como la textura del suelo (arcillas, arenas y limos) incide de forma significativa (valores casi en todos los casos superiores a 0.4) en las distintas características del suelo, siendo efectos indirectos importantes para la síntesis de metabolitos en la flor, ya sea como respuesta a las condiciones ambientales presentes durante el desarrollo morfológico de este órgano, o como un posible reservorio de moléculas que permitirán al vástago sobrevivir y prosperar una vez que haya comenzado su desarrollo en el ambiente en que ha crecido el organismo progenitor.

Finalmente, se debe señalar el hecho de que las variables desconocidas (marcadas como “U” en las figuras 30 y 31) presentan valores que llegan a rebasar los coeficientes de ruta (0.6777 en el caso de fenoles, 0.6895 para flavonoides y 0.7792 para alcaloides), que podría indicar que, en el caso de la inflorescencia, probablemente factores diferentes a los estudiados en el presente trabajo tienen una fuerte influencia en la síntesis de los metabolitos en este órgano vegetal (Anasori y Asghari, 2008; Regvar et al., 2012; Arena et al., 2017; Yang, 2018; Alfarhan et al., 2020).

CONCLUSIONES

- Se encontró una baja pero significativa correlación entre la concentración de fenoles, flavonoides y alcaloides con algunos parámetros edáficos, particularmente con la conductividad eléctrica (salinidad). Sin embargo, se requiere ahondar en el estudio de estas relaciones y el impacto de los parámetros atmosféricos.
- Los extractos metanólicos florales de los árboles de la zona ZMA presentaron de forma general mayores concentraciones de fenoles, flavonoides y alcaloides totales, en tanto que los obtenidos de los organismos de la zona CCA presentaron una mayor variación en la producción de metabolitos.
- En los extractos metanólicos florales de la zona ZMA predominan flavonoides tipo flavona, isoflavona y flavonol, en tanto que en los extractos de los individuos de la zona CCA predominan los tipos Isoflavona y tipo rotenoide.
- La CA_{50} promedio de ambas zonas presenta valores relativamente altos, sin tener diferencias significativas entre sí.
- La actividad antibacteriana fue mayor con los extractos de la zona ZMA, pudiendo tener como uno de los principales mecanismos de acción la interacción con la membrana celular.
- La actividad antifúngica fue en promedio mayor con los extractos de la zona ZMA.
- Las características edáficas de la zona ZMA como la salinidad, el contenido de materia orgánica, el contenido de nitrógeno y la densidad podrían tener un efecto positivo en la producción de metabolitos en la inflorescencia de *P. laevigata*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abd El-Azim, W. and Ahmed, S. 2009. Effect of salinity and cutting date on growth and chemical constituents of *Achillea fragrantissima* Forssk, under Ras Sudr conditions. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences. 5(6):1121-1129.
- Aerts, R. and Chapin, F. 2000. The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of processes and patterns. Advances in Ecological Research. 30: 1-67.
- Aguilera, H. y Domínguez, V. 1980. Metodología de análisis físico-químicos de suelos. México, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Ahmad, A., Ahmad, V., Khalid, S., Ansari, F., and Khan, K. 1997. Study of juliflorine and benzene-insoluble alkaloidal fraction of *Prosopis juliflora*. Phillipine Journal of Science. 126: 175:182.
- Alfarhan, A., Rajakrishnan, R., Al-Sheri, M., Al-Tamimi, A., Al-Obaid, S., and Khalaf, S. 2019. Analysis of the cuticular wax composition and ecophysiological studies in an arid plant- *Ziziphus numularia* (Burm. f.) Wight & Arn. Saudi Journal of Biological Sciences 27(1): 318-323.
- Ahmad, Ahmad V., Sultana A., and Qazi S. 1989. Alkaloids from the leaves of *Prosopis juliflora*. Journal of Natural Products, 52:497-501.
- Akhabari, M., yaghoobei, M. and Hamed, Sepideh. (2017). Composition of the oil compounds, phytochemical screening and biological activity of different aerial parts of *Smirnovia turkesana* Bunge. Natural Product Research. 32(22): 697-2700.
- Akinpelu, D., Aiyegoro, O., Akinpelu, O y Okoh, A. 2015. Stem Bark Extract and Fraction of *Persea americana* (Mill.) Exhibits Bactericidal Activities against Strains of *Bacillus cereus* Associated with Food Poisoning. Molecules, 20, 416-429.
- Almaraz-Abarca, N., Campos, M., Avila-Reyes, J., Naranjo-Jiménez, N., Herrera-Corral, J. and González-Valdez, L. 2007. Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite *Prosopis juliflora*, Leguminosae). Journal of Food Composition and Analysis. 20(2): 119-124.

- Anansori, P. and Asghari, G. 2008. Effects of light and differentiation on gingerol and zingiberene production in callus culture of *Zingiber officinale* Rosc. Research in Pharmaceutical Sciences. 3: 59-63.
- Ardoino, S., Boeris M. y Toso R. 2013. Caracterización fitoquímica de *Prosopis flexuosa* var. *flexuosa* (algarrobo) y *Prosopis flexuosa* var. *depressa* (alpataco), plantas con acción farmacológica. Revista Ciencias Veterinarias 15 (1):115-125.
- Arena, M., Pstemsky, P. and Curvetto, N. 2017. Changes in the phenolic compounds and antioxidant capacity of *Berberis microphylla* G. Forst. Berries in relation to light intensity and fertilization. Scientia Horticulturae. 218: 63-71.
- Argueta, A., Cano, L., Rodarte, M., 1994. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Instituto Nacional Indigenista (1-3): 86-88, 999-1000, 1073-1074, 1086-1087.
- Arias-Toledo, A., Valverde, M. y Reyes, J. 2000 Las plantas de la región de Zapotitlán Salinas. Instituto Nacional de Ecología. Red para el Desarrollo Sostenible A.C. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 80 p.
- Arriaga, L., Espinoza, J., Aguilar, C., Martínez, E. Gómez, L. y Loa, E. 2000. Regiones Terrestres Prioritarias de México. CONABIO.
- Ávalos, A. y Pérez-Urria, E. 2009 Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2(3), 119-145 pp.
- Azab, A. 2018. Antifungal and anti-termite activities, total phenolic content of *Prosopis farcta* extracts; attempts to develop weed biocontrol method against it. European Chemical Bulletin. 7(10): 293-302.
- Balasubramanyan, S. and Manivannan, M. 2008. Root pattern studies in acid lime in sitl clay soils. Asian Journal of horticulture. 3 (2): 241-245.
- Bhattacharjee, I., Ghosh, A., Chndra, G. 2005- Antimicrobial activity of essential oil of *Cestrum diurnum* (L) (Solanales: Solanaceae). African Journal of Biotechnology, 4(4): 371-374.
- Barlóg, P. 2002. Effect of magnesiun and nitrogenous fertilisers on the growth and alkaloid content in *Lupinus angustifolius* L. Journal of Agricultural and Crop Research. 53: 671-676.

- Beavers, A. and Stephen, I. 1958. Some Features of the Distribution of Plant-Opal in Illinois Soils. Soil Sciences. 86: 1-5.
- Bernier, G. and Périlleux, C. 2005. A physiological overview of the genetics of flowering time control. Plant Biotechnology. Journal, 3: 3–16.
- Blight, G. 2005. Desiccation of clay by grass, bushes and trees. Geotechnical and Geological Engineering. 23: 697-720.
- Blümel, M., Dally, N. and Jung, C. 2015. Flowering time regulation in crops—what did we learn from Arabidopsis? Current Opinion in Biotechnology., 32, 121–129.
- Bongue-Bartelsman, M. and Phillips, D. 1995. Nitrogen stress regulates gene expression of enzymes in the flavonoid biosynthetic pathway of tomato. Plant Physiology and Biochemistry 33: 539–546.
- Borgognone, D., Cardarelli, M., Rea, E., Lucini, L. and Colla, G. 2014. Salinity source-induced changes in yield, mineral composition, phenolic acids and flavonoids in leaves of artichoke and cardoon grown in floating system. Journal of the Science of Food and Agriculture. 94: 1231-1237.
- Bouché, F., Lobet, G., Tocquin, P., Périlleux, C. 2016. FLOR-ID: an intercatvide database of flowering-time genes networks in *Arabidopsis thaliana*. Nucleic Acids Research. 44: D1167–D1171.
- Bouyoucos, G. 1962. Hydrometer Method Improved for Making Particle Size Analyses of Soils. Agronomy Journal 54 (5), 464-465.
- Bradford, M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Annals of Biochemistry. 72, 248–254.
- Bragg, L., Bacon, J., McMillan, C & Marby, T. 1978. Flavonoid Patterns in the *Prosopis juliflora* Complex. Biochemical Systematics and Ecology, 6:113-116.
- Bremer, J. 1965. Total Nitrogen. En: Norman A. (Ed) “[Agronomy Monograph] Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. 1250 p.
- Brusotti, G., Cesari, I., Dentamaro, A., Caccialanza, G., Massolini, G. 2013. Isolation and characterization of bioactive compounds from plant resources: The role of analysis in the ethnopharmacological approach.

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2013.03.007>

- Buchanan, B., Guissem, W., Jones, R. 2000. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. 2nd Edition. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD. 1280 p.
- Cardozo, M., Ordoñez, R., Zampini, I., Cuello, A., Dibenedetto, G. and Isla, M. 2010. Evaluation of antioxidant capacity, genotoxicity and polyphenol content of non conventional foods: Prosopis flour. Food Research International. 43:1505-1510.
- Castro, A. 2016. Estudio preliminar de la actividad antibacteriana de la flor de *Prosopis laevigata* (Humb.et Bonpl. Ex Wild) M.C. Johnst. Tesis de Licenciatura, Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Tlalnepantla, México. 101.
- Cervantes, R. y Concepción, M. 2002. Plantas de importancia económica en las Zonas Áridas y Semiáridas de México. Primera Edición. México, D.F. 53-62.
- Chimal, E., Fregoso, L., Salazar, B., García, R., Montaña, N., Camargo, S. 2018. Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en islas de recursos de *Prosopis laevigata* en ecosistemas semiáridos de México. IX Simposio Nacional y VI Reunión Iberoamericana de la Simbiosis Micorrízica.
- Ciesiolka, D., Muzquiz, M., Burbano, C., Altares, P., Pedrosa, M., Wysocky, W. and Gulewicz, K. 2005. An efecto of various nitrogen forms used as fertilizer on *Lupinus albus* L. Yield and protein, alkaloid and α -galactosides content. Journal of Agricultural and Crop Sciences. 191: 458-463.
- CLSI, 2019¹. Clinical and Laboratory Standards Institute. M7: Methods for dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard- Eleventh Edition, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Pennsylvania, USA, 184 p.
- CLSI, 2019². M100: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing-Thirtieth Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Pennsylvania, USA, 184 p.

- Coley, P.; Bryant J. y Chapin F. 1985. Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science* 230:895-900.
- Colorado, J., Galeno, E. y Martínez A. 2007. Desarrollo de la bioautogradía como método de referencia para evaluar la actividad antimicrobiana de la gentamicina contra *Escherichia coli*. *Vitae*, 14(1) 67-71.
- CONAZA e INE. 2000. El mezquite *Prosopis spp.* Centro de Investigación Regional del Noroeste Campo Experimental Todos Santos. 52 pp.
- CONAZA. 1994. Mezquite, *Prosopis sp.* Cultivo alternativo para las zonas áridas y semiáridas de México. Comisión Nacional de las Zonas Áridas, Instituto de Ecología, México, 31 p.
- Corzo, A., Bravo, E., Serrano, F. y Vattuone, M. 2009. Actividad antibacteriana de extractos de hojas de *Prosopis alba*, Griseb, frente a cepas patógenas humanas y fitopatógenas. *Quebracho*, 17, 106-114 pp.
- Cruz, R. y Rosas, O. 2013. La Flor. En: *Biología de las Angiospermas*. Márquez, J., Collazo, M., Martínez, M., Orozco, A. y Vázquez, S. (Eds.). UNAM, Facultad de Ciencias: Coordinación de Investigación Científica. 632p.
- Crimmins, T., Crimmins, m. and Bertelsen, C. 2010. Complex responses to climate drivers in onset of spring flowering across a semi-arid elevation gradient. *Journal of Ecology*. 98: 1042-1051.
- Curtis, H. y Barnes, S. 2000. *Biología*. Editorial Médica Panamericana, 6° Edición, España. 1496 p.
- Dávila-Aranda, P., Villaseñor-Ríos, J.L., Medina-Lemos, R., Ramírez-Roa, A., Salinas-Tovar, A., Sánchez-Ken, J., Tenorio-Lezama, P., 1993, *Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán: México*, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología, Listado Florístico de México, 10, 195 p.
- Darogha, N. 2009. Phytochemical analysis and antibacterial activity of some medicinal plants against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Tikrit Journal of Pharmaceutical Sciences*. 5: 116-126.
- Domínguez, X.A. 1973. *Métodos de investigación fitoquímica*. Ed. Limusa, México. 281 pp.

- E-Nakhel, C., Pannico, A., Kyriacou, M., Giordano, M., De Pascale, S. and Roupshael, Y. 2019. Macronutrient deprivation eustress elicits differential secondary metabolites in red and green- pigmented butterhead lettuce grown in a closed soilless system. *Science of Food and Agriculture*.99(15): 6962-6972.
- Etebu, E. and Arikekpar, I. 2016. Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research*. 4: 90-101.
- Falcinelli, B., Sileoni, V., Marconi, O., Perretti, G., Quinet, M., Lutts, S., and Benincasa, P. 2017. Germination under moderate salinity increases phenolic content and antioxidant activity in rapeseed (*Brassica napus* var *oleifera* Del.) sprouts. *Molecules* 22: 1377.
- Falcone, D., Ogas, J., Somerville, C. 2004. Regulation of membrane fatty acid composition by temperature in mutants of *Arabidopsis* with alterations in membrane lipids composition. *BMC Plant Biology*. 4: 17.
- Farboodniay Jahromi, M., Etemadfard, H., Zebarjad, Z. 2018. Antimicrobial and Antioxidant Characteristics of Volatile Components and Ethanolic Fruit Extracto of *Prosopis farcta* (Bank &Soland.). *Trends in Pharmaceutical Sciences*. 4(3): 177-186).
- Fenu, G., Cogoni, D., Ferrara, C., Pinna, M. and Bacchetta, G. 2012. Relationships between coastal sand dune properties and plant community distribution: The case of Is Arenas (Sardinia). *Plant Biosystems- An International Journal Dealing with all Aspects of plants Biology*. 146 (3): 1-17.
- Fernández, R.E. y Galván, C.A. 1998. Métodos para la cuantificación de proteínas. Universidad de Córdoba, España. 7 p.
- Ffolliott, P. y Thames, J. 1983 Taxonomy of *Prosopis* in Latin America. FAO/CIRF. Proyecto Sobre Recursos Genéticos Forestales de Especies Arbóreas de Zonas Áridas y Semiáridas. FAO. Roma. Consultado en: <http://www.fao.org/3/Q2580S/Q2580S00.htm> el 20 de marzo de 2019.

- Flores, T. F. J., 1993. Atributos ecológicos y aprovechamiento del mezquite. Revista Investigación y Ciencia No. 9, edición cuatrimestral, año 3. Universidad Autónoma de Aguascalientes. 24 – 30 p.
- Galieni, A., Di Mattia, C., De Gregorio, M, Specia, S., Mastrocola, D., Pisante, M., and Stagnari, F. 2015. Effects of nutrient deficiency and abiotic enviromental stresses on yield, phenolic compounds, and antiradical activity in lettuce (*Lactuca sativa* L.). Scientia Horticulturae. 187: 93-101.
- Gamboa-de Buen, A., Burgeff d'hont, C. y Zúñiga, E. 2013(1). Cambio de la Fase vegetativa a la reproductora. En: Biología de las Angiospermas. Márquez, J., Collazo, M., Martínez, M., Orozco, A. y Vázquez, S. (Eds.). UNAM, Facultad de Ciencias: Coordinación de Investigación Científica. 632p.
- Gamboa-de Buen, A., Burgeff d'hont, C. y Zúñiga, E. 2013(2). Inducción floral por fotoperiodo y vernalización. En: Biología de las Angiospermas. Márquez, J., Collazo, M., Martínez, M., Orozco, A. y Vázquez, S. (Eds.). UNAM, Facultad de Ciencias: Coordinación de Investigación Científica. 632p.
- García, A. 2003. Estudio fitoquímico y antibacteriano de *Prosopis laevigata* (H.B. ex Wild) de Zapotitlán Salinas, Puebla. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas (Biología Experimental). Universidad Nacional Autónoma de México, México. 125p.
- García, A.H. y Vázquez, D.R. 1998. Cuantificación de proteínas. Una revisión. Biotecnología. México. 77-88.
García-Andrade M., González-Laredo, P., Rocha-Guzmán, F., Gallegos-Infante, J., Rosales-Castro. M., Medina-Torres, L. 2013. Mesquite leaves (*Prosopis laevigata*), a natural resource with antioxidant capacity and cardioprotection potential. Industrial Crpos and Products. 44:336-342.
- García-Martínez, M.G., 2002, Mapeo y caracterización de los suelos de las terrazas aluviales del Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla: México, Universidad Nacional Autónoma de México, Escuela Nacional de Estudios Superiores Iztacala, tesis profesional, 78 p.

- García-Ruiz, J. and Lana-Renault, N. 2011. Hydrological and erosive consequences of farmland abandonment in Europe, with special reference to the Mediterranean region- A Review. Agriculture, Ecosystems and Environment. 40: 317-338.
- Gómez-Pompa, A. 1965. La vegetación de México. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 29:76-120.
- González, F. 2012. Las zonas áridas y semiáridas de México y su vegetación. Primera edición. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), México. 194 p.
- González-Rodríguez, L. 2004. Relaciones alelopáticas. En: Reigosa, m., Pedrol, N., Sánchez, A. (eds). La Ecofisiología Vegetal. Una Ciencia de Síntesis. Thomson, Madrid.
- Greenham, J., Harbone, J. and Williams, C. 2003. Identification of lipophilic flavones and flavonols and UV spectral analysis. Phytochemical Analysis, 14: 100-118.
- Gros, E. G., Pomilio, A. B., Seldes, A. M., Burton, G. 1985. Introducción al estudio de los productos naturales. Secretaría general de la organización de los Estados Americanos. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington, D.C. 25-31 pp.
- Guo, R.; Zhou, J.; Ren, G.; Han, W. 2013. Physiological responses of linseed seedlings to iso osmotic polyethylene glycol, salt, and alkali stresses. Agronomic Science Journal. 105: 764-772.
- Gurib-Fakim, A. 2006. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Molecular Aspects of Medicine. 27:1, 1-93.
- Gutiérrez, A., Ortiz, G., y Mendoza, C. 2008. Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. Simposio de Metrología. Universidad Autónoma de Querétaro. 1-5.
- Haghighi, Z., Modarresi, M., Mollary, S. 2012. Enhancement of compatible solute and secondary metabolites production in *Plantago ovata* Forsk by salinity stress. Physiology and Molecular Biology of Plants. 23(2): 249-268.
- Hanen, F., Ksouri, R., Megdiche, W., Trabelsi, N, Boilaaba, M. and Abdelly C. 2008. Effecto of salinity on growth, leaf-phenolic content and

- antioxidant scavenging activity in *Cynara cardunculus* L. In: Biosaline Agriculture and High Salinity Tolerance. Abdelly, C., Öztürk, M., Ashraf, M. and Grignon, C. (Eds). Birkhäuser:Basel, Switzerland. 335-343.
- Harbone, J. 1989. The flavonoids: Advances in research since 1986. 1^o Edition, Editorial Chapman and Hall. Inglaterra.
 - Henciya, S., Seturaman, P., James, A., Tsai, Y.H., Nikam, R., Wu, Y-C-Dahms, H.U., Chang F. 2017. Biopharmaceutical potentials of *Prosopis* spp. (Mimosaceae, Leguminosa. Journal of Food and Drug Analysis. 25(1): 187-196.
 - Henning, C. 2013. Compuestos nitrogenados: Alcaloides. En: Productos Naturales Vegetales. Ringuelet, J y Viña, S. (Eds.). Universidad Nacional de la Plata. 261 p.
 - Henning, C. y Yordaz, R. 2013. Otros compuestos secundarios nitrogenados y compuestos azufrados. En: Productos Naturales Vegetales. Ringuelet, J y Viña, S. (Eds.). Universidad Nacional de la Plata. 261 p.
 - Hernández-González, D., Muñoz-Iniestra, D., López-Galindo, F. y Hernández-Moreno M. 2018. Impacto del uso de la tierra en la calidad del suelo en una zona semiárida del Valle del Mezquital, Hidalgo, México. BIOCYT Biología, Ciencia y Tecnología 11(43): 792-807.
 - Henciya, S., Seturaman, P., James, A., Tsai, Y., Nikam, R., Wu, Y, Dahms, H. and Chang, F. 2017. Biopharmaceutical potentials of *Prosopis* spp. (Mimosaceae, Leguminosa). Journal of Food and Drug Analysis. 25: 187-196.
 - Hong, S., Piao, S., Chen, A., Liu, Y., Liu, I, Peng, S., Sardans, J., Sun, Y., Peñuelas, J. and Zeng, H. 2018. Afforestation neutralizes soil pH.. Nature Communications. 9(1): 520.
 - Huang, C., Alimova, Y., Myers, T. & Ebersole, J. 2011. Short-and medium-chain fatty acids exhibit antimicrobial activity for oral microorganism. Archives of Oral Biology, 56(7): 650-654.
 - <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM21puebla/municipios/21209a.html>, consultada el 18 de enero de 2018

- Ibrahim, M., Jaafar, H., Rahmat, A. and Rahman, Z. 2010. The relationship between phenolics and flavonoids production with total no structural carbohydrate and photosynthetic rate in *Labisia pumila* Benth. Under high CO₂ and nitrogen fertilization. *Molecules*. 16: 162-174.
- Ibrahim, M., Nadir, M., Ali, A., Ahmad, V. and Rasheed, M. 2013. Phytochemical analyses of *Prosopis juliflora* Swartz DC. *Pakistan Journal of Botany*. 45(6): 2101-2014.
- INEGI. 2010. Censo de Población y Vivienda 2010. Consultado en: <https://www.inegi.org.mx/programas/ccpv/2010/> el 20 de marzo de 2019.
- Jain, C., Khatana, S. and Vijayvergia, R. 2019. Bioactivity of secondary metabolites of various plants: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 10(2): 494-504.
- Jubie, S, Ramesh, P., Dhanabal, P., Kalirajan, R., Muruganantham, N., Shanish, A. 2012. Synthesis, antidepressant and antimicrobial activities of some novel stearic acid analogues. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 54: 931-935.
- Jagan Mohan Reddy, P., Tejaswini, D., Ismail Shareef, M., Narashimha Murty, T. and Gopinath, S. 2014. Evaluation of antiulcer activity of *Prosopis juliflora* ethanol extract in ethanol induced gastric ulceration in rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 41: 17-20.
- Kakani, V., Reddy, K., Zhao, D. y Sailaja, K. 2003. Field crop responses to ultraviolet-B radiation: a review. *Agricultural and Forest Meteorology*. 120:191-218.
- Kalita, P., Barman, T., Pal, T. and Kalita, R. 2013. Estimation of total flavonoids content (TFC) and antioxidant activities of methanolic whole plant extract of *Biophytum sensitivum* Linn. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics* 3(4): 33-37.
- Katz, L. and Baltz, R. 2016. Natural product discovery: past, present, and future. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 43:155-176.
- Khan, R., Zakir, M., Afaq, S. H., Latif, A., Khan, A. U. 2010. Activity of solvent extracts of *Prosopis Spicigera*, *Zingiber officinale* and

- Trachyspermum ammi* against multidrug resistant bacterial and fungal strains. *Journal of Infection in Developing Countries*. 4(5), 292-300.
- Kolapo, A., Okunade, M., Adejumobi, J. and Ogundiya, M. 2009. Phytochemical composition and antimicrobial activity of *Prosopis Africana* against some selected oral pathogens. *World Journal of Agricultural Sciences*.5: 90-93.
 - Koornneef, M., Alonso-Blanco, C., Peeters, A. J. and Soppe, W. 1998. Genetic control of flowering time in *Arabidopsis*. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 49: 345–370.
 - Kumar, P., Kumaravel, S & Lalitha, C, 2010. Screening of antioxidant activity, total phenolics and GC-MS study of *Vitex negundo*. *African Journal of Biochemistry Research*. 4(7): 191-195.
 - Ladd, J.N., Foster, R.C., Skjemstad, J.O., 1993. Soil structure: carbon and nitrogen metabolism. *Geoderma* 56, 401–434
 - Lakshmibai, R., Amirtham, D., Radhika, S. 2015. Preliminary phytochemical analysis and antioxidant activities of *Prosopis juliflora* and *mimosa pudica* leaves. *International Journal of Science, Engineering and Technology Research*. 4: 5766-5770.
 - León, M., Silva, S., Sandoval, A., Aracena, I., Quiñones, F. y León-Lobos, P. 2017. El manejo del suelo salino usando arena afecta el crecimiento de raíces y la sobrevivencia de plántulas de *Prosopis tamarugo* Phil. Fabaceae. *Gayana Botánica*, 74(1): 158-166.
 - Lesica, P. and Kittelson, P. 2010. Precipitation and temperature are associated with advanced flowering phenology in a semi-arid grassland. *Journal of Arid Environments*. 4(9): 1013-1017.
 - Li, Y., Kong, D., Fu, X., Sussman, M. and Wu, Hong. 2020. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicine plants. *Plant Physiology and Biochemistry*: doi: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>
 - Lim, J., Park, K., Kim, B., Jeong, J. and Kim, H. 2012. Salinity stress on phenolic compounds and carotenoids in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) sprout. *Food Chemistry*. 135: 1065-1070.

- Linares, E. y Bye, R. 2013. Códice de la Cruz-Badiano. Medicina prehispánica; segunda parte. Arqueología mexicana. Edición especial 51. 82 p.
- Lira, R., Caballero, J. y Casas, A. 2001. Los recursos vegetales del Valle de Tehuacán-Cuicatlán desde una perspectiva etnobotánica. Informe Técnico. Proyecto CONACYT 400389G35- 450. México. 60 pp.
- Loomis, W. 1932. Growth-differentiation balance vs. carbohydrate-nitrogen ratio. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 29:240-245.
- López-Galindo, F., Muñoz-Inestra, D., Hernández-Moreno, M., Soler-Aburto A., Castillo-López, M. y Hernández-Arzate I. 2003. Análisis integral de la toposecuencia y su influencia en la distribución de la vegetación y la degradación del suelo en la Subcuenca de Zapotitlán Salinas, Puebla. Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana. Vol. 56, núm. 1; p. 19-41.
- Lu, N., Bernardo, E., Tippayadarapanich, C., Takagaki, M., Kagaza, N. and Yamori, W. 2017. Growth and Accumulation of Secondary Metabolites in Perilla as Affected by Photosynthetic Photon Flux Density and Electrical Conductivity of the nutrient Solution. Frontiers in Plant Sciences. 8:708 doi: 10.3389/fpls.2017.00708.
- Maidana, J., 2008. Actividad antibacteriana de mieles monoespecíficas de algarrobo, eucalipto y chilca frente a cepas meticilina resistentes de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aureoginosa* y *Escherichia coli*. Revista Espacio Apícola. 81.
- Malik, S., Mann, S., Gupta, D. and Gupta, R. 2013. Nutraceutical Properties of *Prosopis cineraria* (L) Druce Pods: a Component of “Panchkuta”. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2(2): 66-73.
- Martinez-Zapater, J.M., Coupland, G., Dean, C. and Koornneef, M. 1994. The transition to flowering in Arabidopsis. In: Meyerowitz, E.M. and Somerville, C.R. (eds). Arabidopsis, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY, pp. 403–433.
- Marinos, R. and Bernhardt, E. 2010. Soil carbon losses due higher pH offset vegetation gains due to calcium enrichment in an acid mitigation experiment. Ecology. 99(10) 2363-2373.

- Mathews, C. K., Holde, K. E., Ahern, K. G. 2002. Bioquímica. 3a ed. Addison Wesley. España. 166-170 pp. Monroy, C., Castillo, P., 2000. Plantas Medicinales Utilizadas en el Estado de Morelos, Centro de Investigaciones Biológicas. UAEM.
- McClure, 1975. En: The flavonoids. Harbone, J., Malory, T. and Malory H (Eds.). 1° Edition, Editorial Chapman and Hall. Inglaterra.
- Meloni, D. 2017. Fisiología Vegetal. Respuestas de especies leñosas al estrés salino. Editorial Universidad Nacional de Santiago del Estero. 176p.
- Meloni, D., Gulotta, M., Silva, D., Arraiza, M. 2019. Effects of salt stress on germination, seedling growth, osmotic adjustment, and chlorophyll fluorescence in *Prosopis alba* G. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo. 52(1): 69-78.
- Meraj, T., Fu, J., Raza, M., Zhu, C., Shen, Q., Xu, D and Wang, Q. 2020. Transcriptional Factors Regulate Plant Stress Responses Through Mediating Secondary Metabolism. Genes. 11(4): 346.
- Mizusawa, N. and Wada, H. 2012. The role of lipids in photosystem II. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Bioenergetics. 1817: 194-208.
- Molyneux, R., Gardner, D., James, L and Colegate, S. 2002. Polyhydroxy alkaloids: chromatographic analysis. Journal of Chromatography A. 967: 57-74.
- Montoya, A., García, J. y Padilla, J. 2004. Utilización de un SIG para la determinación del impacto ambiental generado por las actividades agrícolas, ganaderas e industriales: El caso del Valle de Zapotitlán en la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán. Boletín de la AGEN No. 38, España.
- Moorthy, K. and Kumar, R. 2011. Phytochemical and antimicrobial studies of leaf extract of *Prosopis glandulosa*. Journal of Ecotoxicology & Environmental Monitoring. 21: 143-149.
- Moreno, B. 2019. Evaluación de la actividad anti-*Candida* del extracto metanólico de las hojas de *Prosopis laevigata*. Tesis de Licenciatura, Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. 58 p.

- Mundim, F and Pringle, E. 2018. Whole-Plant Metabolic Allocation Under Water Stress. *Frontiers in Plant Science*. 9: 852. doi:10.3389/fpls.2018.00852
- Muñoz, D., Soler, A., López, F. y Hernández, M. 2018. Edafología. Manual de métodos de análisis de suelos. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Muroi, M., Shiragami, N., Nagao, K., Yamasaki, M. y Takatsuki, A. 1993. Folimycin (concanamycin A), a specific inhibitor of VATPase, blocks intracellular translocation of the glycoprotein of vesicular stomatitis virus before arrival to the Golgi apparatus. *Cell Structure and Function*. 18, 139–149.
- Nava, U. 2017. estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de las flores de *Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. ex Willd) M.C. Jhonst. Tesis de Licenciatura, Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 129 p.
- Neri-Gómez, D.M., 2000, Caracterización hidrológica de la Subcuenca Baja del Río Zapotitlán, Puebla: México, Universidad Nacional Autónoma de México, Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, tesis profesional, 85 p.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. Consultada en: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=717582&fecha=31/12/2002 el 20 de marzo de 2019.
- Okusa, P., Penge, O., Devleeschouwer, and M., Duez, P. 2007. Direct and indirect antimicrobial effects and antioxidant activity of *Cordia gillettii* De Wild (Boraginaceae). *Journal of Ethnopharmacology*. 112, 476-481.
- Oliveros-Galindo, O. 2000. Descripción estructural de las comunidades vegetales de las terrazas aluviales del Río Salado, en el Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla. Tesis de Licenciatura, FES-Iztacala, UNAM. 81 p.
- Ordoñez, A. 2002. Caracterización de pigmentos fotosintéticos y accesorios presentes en la asociación *Neobaubauxbaumia tetetzo* y *Prosopis laevigata*. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 67 p.

- Ortiz-Pulido, R., 2000. Análisis de rutas en Biología. Estadísticas para sistemas multicausales. Interciencia. Vol. 25, núm. 7. 329-336.
- Osorio-Beristain, O., Valiente-Banuet, A., Dávila, P. y Medina, R. 1996. Tipos de vegetación diversidad β en el Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. Boletín de la Sociedad Botánica de México 59: 35-58.
- Pakrashi, S., Chatterjee, A. 1992. The treatise on Indian medicinal plants. Vol. 2. Publication and Information Directorate. New Delhi, India. P112
- Paredes-Flores, M., Lira, R. y Dávila, P. 2007. Estudio etnobotánico de Zapotitlán Salinas, Puebla. Acta Botánica Mexicana 79: 13-61.
- Pathak, V. and Kumar, P. 2017. Phytochemical Screening of *Prosopis cineraria* (L.) Stem bark and Leaves. International journal of Innovative Science and Research Technology. 2 (8): 306-317.
- Pérez-Alonso, N.; Jiménez, E. 2011. Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo in Vitro. Biotecnología Vegetal Vol. 11, No. 4: 195-211.
- Pérez, M., Cuello, A., Zampini, I., Ordoñez, R., Alberto, M., Quispe, C., Schmeda-Hirschmann, G. and Isla, M. 2014. Polyphenolic compounds and anthocyanin content of *Prosopis nigra* and *Prosopis alba* pods flour and their antioxidant and anti-inflammatory capacities. Food Research international. 64: 762-771.
- Pérez, J., Rodríguez, I., Zampini, I., Cattaneo, F., Mercado, M., Ponessa, G. and Isla, M. 2020. *Prosopis nigra* fruits waste characterization, a potential source of functional ingredients for food formulation. Food Science and Technology. 132: 109828.
- Putterill, J., Laurie, R. and Macknight, R. 2004. It's time to flower: the genetic control of flowering time. BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology., 26, 363–373.
- Rabasa, C. and Dickson, S. 2016. Impact of stress on metabolism and energy balance. Current Opinion in Behavioral Sciences. 9: 71-77
- Raghavendra, M., Satish, S. and Raveesha, K. 2009. Alkaloid extracts of *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. (Mimosaceae) against *Alternaria alternata*. Journal of Biopesticides, 2(1):56-59.

- Rahman, A., Samoylenko, V., Jacob, M., Sahu, R., Jain, S., Khan, S., Tekwani, B. and Muhammad I. 2011. Antiparasitic and antimicrobial indolizidines from the leaves of *Prosopis glandulosa* var. *glandulosa*. *Planta Medica*, 77: 1639-1643.
- Ramakrishna, R., Gokare, A. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior* 6(11): 1720-1731.
- Ramamoorthy, P. and Bono, A. 2007. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of *Morinda citrifolia* fruit extracts from various extraction processes. *Journal of Engineering Science and Technology*. 2(1), 70-80.
- Rao, T., Tan, Z., Peng, J., Guo, Y., Chen, Y., Zhou, H. and Ouyang, D. 2019. The Pharmacogenetic and Pharmacodynamic Perspective. *Pharmacological Research*. 146: 104283.
- Rasmussen, J.B., Hammerschmidt, R., and Zook, M.N. (1991). Systemic induction of salicylic acid accumulation in cucumber after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv *syringae*. *Plant Physiology*. 97: 1342-1347.
- Ravetta, D., Anouti, A. & McLaughlin, S. 1996. Resin production of *Grindelia* accessions under cultivation. *Industrial Crops and Products*. 5:197-201.
- Regvar, M., Bukovnik, U., Likar, M. and Kreft, I. 2012. UV-B radiation affects flavonoids and fungal colonization in *Fagopyrum esculentum* and *F. tataricum*. *Open Life Sciences*. 7: 275-283.
- Reina, L., Bottini, G., Bennadji, Z., Vinciguerra, V., Ferrerira, F., Menendez, P and Moyna, P. 2016. Aggregation Behavior of 6-Isocassine and N-Methyl-6-Isocassine: Insights into the Biological Mode of Action of Lipid Alkaloids. *Natural Products Communications*, 11(11):1641-1644.
- Reznik, H. 1960. Vergleichende biochemie derphenylpropane. *Ergebnisseder Biologie* 23:14-46.
- Ringuelet, J. 2013. Terpenoides. En: *Productos Naturales Vegetales*. Ringuelet, J y Viña, S. (Eds.). Universidad Nacional de la Plata. 261 p.

- Ringuelet, J. y Viña, S. 2013. Introducción a los productores naturales vegetales. En: Productos Naturales Vegetales. Ringuelet, J y Viña, S. (Eds.). Universidad Nacional de la Plata. 261 p.
- Ríos-Gómez, R., Salas-Gargáa, C., Monroy-Ata, A., Solano, E. 2010. Salinity effect on *Prosopis laevis* seedlings. Terra Latinoamericana. 28(2):99-107.
- Rodríguez, S., Rojo, M., Ramírez, V., Martínez, R., Cong, H., Medina, T. y Piña, R. 2014. Análisis técnico del árbol mezquite (*Prosopis laevis* Humb. & Bonpl. Ex Wild.) en México. Ra Ximhai. Edición Especial Universidad Autónoma Indígena de México Mochicahui, El Fuerte, Sinaloa. 10 (3), 173-193.
- Rosas, R. 2006. Aspectos etnobotánicos y demográficos de *Parkinsonia praecox* (Ruiz y Pavón) Hawkins, especie útil de Zapotitlán Salinas, Puebla. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas (Biología Ambiental). Universidad Nacional Autónoma de México, México. 69 p.
- Ruiz, T., Zaragoza, S., Cerrato, R. 2008. Fertility island around *Prosopis laevis* and *Pachycereus hollinaus* in the drylands por Zapotitlan Salinas, México. Journal of Arids Enviroments. 72. 1202-1212.
- Rzedowski, J. 1988. Análisis de la distribución del complejo *Prosopis* (Leguminosae, Mimosidae) en Norteamérica. Acta Botánica Mexicana. 3, 7-19.
- Saeed, N., El-Demerash, E., Abdel-Rahman, H., Algandarby, M., Al-Abassi, F. and Abde-Nim, A. 2012. Anti-inflammatory activity of methyl palmitate and ethyl palmitate in different experimental rat models. Toxicology and Applied Pharmacology. 264(1): 84-96.
- Salas, J. 2009. Aislamiento e identificación de polifenoles presentes en exudados de raíz de *Prosopis laevis* bajo condiciones de deficiencia en el suministro de nitrógeno. Tesis de Licenciatura, Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 65 p.
- Salas, J. 2013. Flavonoides de *Prosopis laevis* (mezquite) inductores de genes *nod* de rizobios. Tesis de Maestría, Ciencias Biológicas (Biología Experimental). Universidad Autónoma de México, México. 80 p.

- Salinas, D., Arteaga, G., León, I., Dorado, O., Vallarades, M. y Navarro, V. 2009. Antimicrobial activity of medicinal plants from the Hautla Sierra Biosphere in Morelos (México). *Polibotánica*. 28, 213-225.
- Samoylenko, V., Dunbar, D., Jacob, M., Joshi, V., Ashfaq, M. and Muhammad, I. 2008. Two new alkylated piperidine alkaloids from western honey mesquite: *Prosopis glandulosa* Torr. var. *torreyana*. *Natural Product Communications*, 3: 35-40.
- Sathiya, M., Muthuchelian, K. 2008. Investigation of phytochemical profile and antibacterial potential of ethanolic leaf extracts of *Prosopis juliflora* DC. *Ethnobotanic Leaflets*. 12: 1240-1245.
- Savitha, B., Thimmaraju, R., Bhagyalakshmi, N. and Ravishankar, G. 2006. Different biotic and abiotic elicitors influence betalain production in hairy root cultures of *Beta vulgaris* in shake-flask and bioreactor. *Process Biochemistry*. 41: 50-60.
- Secretaría de Desarrollo Social (SEDESOL). 2017. Informe anual sobre la situación de pobreza y rezago social 2017. En: http://diariooficial.gob.mx/SEDESOL/2017/Puebla_209.pdf consultado el 15 de enero de 2021.
- Sepúlveda-Jiménez, G., Porta-Ducoing, H. y Rocha-Sosa, M. 2003. La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21 (3): 355-363.
- Shamsa, F., Monsef, H., Ghamooshi, R. and Verdian-rizi, M. 2008. Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants. *Thai Journal Pharmacology Science*. 32, 17-20.
- Sharifi-Rad, J., Kobarfard, F., Ata, A., Ayatollahi, S., Khosravi-Dehaghi, N., Jugran, A., Tomas, M., Capanoglu, E., Kamiloglu, S., Sharopov, F., Choundhary, M. and Martins, N. 2019. *Prosopis* Plant Chemical Composition and Pharmacological Attributes: Targeting Clinical Studies from preclinical Evidence. *Biomolecules*. 9: 777.
- Schmeda-Hirschmann, G., Quispe, c., Soriano, M., Theoduloz, C., Jiménez-Aspeé, F., Pérez, M., Cuello, A. and Isla M. 2015. Chilean *Prosopis* Mesocarp Flour: Phenolic Profiling and Antioxidant Activity. *Molecules* 20: 7017-7033.

- Singleton, V., Orthofer, R. and Lamuela-Reventós, R. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*. 299, 152-178.
- Solanki, D., Kumar, S., Parihar, K., Tak, A., Gehlot, P., Pathak, R., Singh, S. 2018. Characterization of a novel seed protein of *Prosopis cineraria* showing antifungal activity. *International Journal of Biological Macromolecules*. 116:16-22.
- Souto, X., Chiapusio, G. and Pelliser, F. 2000. Relationships between phenolics and soil microorganisms in spruce forests: significance for natural regeneration. *Journal of Chemical Ecology*. 26: 1379-1389.
- Sukirtha, K. and Growther, L. 2012. Antibacterial, antifungal and phytochemical analysis of selected medicinal plants. *Journal of Natural Products Research*, 2: 644-648.
- Tajbakhsh, S., Barmal, A, Vakhshiteh, F. and Gharibi, M. 2015. In vitro antibacterial activity of the *Prosopis juliflora* seed pods on some common pathogens. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 9: 13-15.
- Tapia, A., Egl-Feresin, G., Bustos, D., Atudillo, L., Theoduloz, C., Schmeda-Hirschmann, G. 2000. Biologically active alkaloids and a free radical scavenger from *Prosopis* species. *Journal of Ethnopharmacology*. 71: 241-246.
- Schollenberger, C. and Simon, R. 1945. Determination of Exchange Capacity and Exchangeable Bases in Soil-Ammonium Acetate Method. *Soil Science*, 59: 13-24.
- Thakur, R., Singh, R., Saxena, R. and Mani, P. 2014. Evaluation of antibacterial activity of *Prosopis juliflora* (SW.) DC leaves. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 11: 182-188.
- Throop, H, Archer, S. 2008. Shrub (*Prosopis velutina*) encroachment in a semidesert grassland: a spatial-temporal changes in soil organic and nitrogen pools. *Global Change Biology*. 14(10): 2420-2431.
- Toursarkissian, M. 1980. Plantas Medicinales de la Argentina: sus nombres Botánicos, Vulgares, Usos y distribución Geográfica. Primera Edición. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina.

- Tuteja, N. and Mahajan, S. 2007. Calcium signaling network in plants. An overview. *Plant Signaling & Behavior*. 2(2): 79-85.
- Ullrich, S., Rothauer, A., Hagels, H. and Kayser, O. 2017. Influence of light, temperature, and macronutrients on growth and scopolamine biosynthesis in *Duboisia* species. *Planta Medica*. 83 937-945.
- USDA, 1993. Soil Survey Manual. Soil Survey Division Staff, USA.
- Valiente, B.L. 1991. Patrones de precipitación en el valle semiárido de Tehuacán, Puebla, México. Tesis de Licenciatura, Biología. Universidad Autónoma de México, México. 65.
- Valiente-Benuet, A., Casas, A., Alcántara A., Dávila, P., Flores-Hernández-N., Villaseñor, J. y Ortega, J. 2001. La vegetación del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 67: 25-74.
- Valli, S., Gokulshankar, S., Mohanthy, B., Rnjit, M., Ashutosh, S. and Remya, V. 2014. Antistreptococcal activity of alkaloid rich fraction of leaves of *Prosopis juliflora*- a future promising supplementary therapy for cryptococcosis and cryptococcal meningitis. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6: 490-495.
- Vanat, V., Vijayakumar, S., Nilavukkarasi, M., Punitha, V., Vidhya, E. & Praseetha, P. 2020. Heneicosane- a novel microbicidal alkane indentified from *Plumbago zeylanica* L. *Industrial Crops and Products* 154: 112748.
- Vanden Berghe, D. A. and Vlietinck, A. J. 1991. Screening methods for antibacterial agents from higher plants. En: *Methods in plant biochemistry*. Vol. 6 "Assays for Bioactivity". Hostettmann, K. Series editor Dey, P. M. Academic Press. New York, USA. p 47-71.
- Vázquez, A. y Bautista, N. 1993. Guía para interpretar el análisis químico de suelo y agua. México. Departamento de Suelos, Universidad Autónoma de Chapingo.
- Velarde, M., Felker, P., Degano, C. 2003. Evaluation of Argentine and Peruvian *Prosopis* germplasm for growth at seawater salinities. *Journal of Arid Environments*. 55: 515-531.

- Verma, N., Shukla, S. 2015. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants. 2(4): 105-113.
- Verma, N., Tarafdar, J., Srivastava, K., Panwar J. 2010. Arbuscular Mycorrhizal (AM) Diversity in *Prosopis cineraria* (L.) Druce Under Arid Agroecosystems. 7 (6): 754-776.
- Vilela, A., González-Paleo, L. y Ravetta, D. 2011. Metabolismo secundario de plantas leñosas de zonas áridas: mecanismos de producción, funciones y posibilidades de aprovechamiento. Ecología Austral 21:317-327.
- Vilela, A. y Ravetta, D. 2005. Gum exudation in South-American species of *Prosopis* L. (Mimosaceae). J. ARID ENVIRON. 60:389-395.
- Vilela, A., González-Paleo, L. y Ravetta, D. 2011. Metabolismo secundario de plantas leñosas de zonas áridas: mecanismos de producción, funciones y posibilidades de aprovechamiento. Ecología Austral 21:317-327.
- Villagra, P. 2009. Germination of *Prosopis argentina* and *Prosopis alpataco* seeds under saline conditions. Journal of Arid Environmental. 37: 261-267.
- Villegas-Espinoza, J., Rueda-Puente, E., Murillo-Amador, B., Puente, M., Ruiz-Espinoza, F., Zamora-Salgado, S., y Beltrán, F. 2014. Bacterias promotoras de crecimiento de plantas autóctonas y su efecto en *Prosopis chilensis* (Molina) Stunz. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 5 (6): 1041-1053.
- Walkley, A & IA Black. 1934. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Sciences. 37: 29-38.
- Wagner, H. and Blatt, S. 1996. Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas. 2° Edition, Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Berlin. 384 p.
- Wang, H. and Bun, T., 2002. Isolation of an antifungal thaumatin-like protein from kiwi fruits. Phytochemistry. 61, 1-6 pp.

- Wang, X. and Ng, T. 2007. Isolation and characterization of an antifungal with peptide with antiproliferative activity from seeds of Phaseolus vulgaris cv. "Spoted bean". Applied Microbiology and Biotechnology. 74, 125-130.
- Wardle, D. 2002. Communities and Ecosystems. Linking the Aboveground and Belowground Components. Princeton University Press.
- Wesley, M., Ross, a. 1990. Soil cation accumulation in mesquite woodland: sustained production and long-term estimates of water use and nitrogen fixation. Journal of Arin Environments. 18: 51-58.
- Wheeler, C., Archer, S., Asner, G., McMurtry, C. 2007. Climate and edaphic controls on soil carbon-nitrogen responses to woody plant encroachment in desert grassland. Ecological Applications. 17: 1911-1928.
- Yang, L., Kui-Shan, W., Xiao, R., Ying-Xian, Z., Feng, W. AND Qiang, W. 2018. Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. Molecules. Mr 27;23(4):762. doi: 10.3390/molecules23040762.
- Zavala, J. y Ravetta D. 2001. The effect of irrigation regime on biomass and resin production in Grindelia chiloensis. Field Crop Res. 69:227-236.
- Zheng, C., Yoo, J., Lee, T., Cho, H., Kim, Y. and Kim, W. 2005. Fatty acid synthesis is a target for antibacterial activity of insaturated fatty acids. Federation of European Biochemical Societies. 579: 5157-6162.
- Zitzer, S., Archer, S., Boutton, T. 1996. Spatial variability in the potencial for symbiotic N₂ fixation by woody plants in a subtropical savanna ecosystem. Journal of Applied Ecology. 33: 1125-1136).

APÉNDICES

Apéndice I

Descripción botánica de la especie. (CONAZA, 2000; Cervantes y Concepción, 2002; Rodríguez et al., 2014).

Taxonomía

Nombre común: Mezquite, mimosa, acacia.

Dominio: Eucarya

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Subfamilia: Mimosidae



Foto original de Marco Aurelio Rodríguez

Género: *Prosopis*

Especie: *Prosopis laevigata* (Humb. Et Bonpl. Ex Wild) M.C. Johnst

Prosopis laevigata es un árbol o arbusto espinoso, perenne, que llega a medir hasta 10 m de altura, de acuerdo con la profundidad del suelo.

Raíz. Su raíz principal puede alcanzar los 50 m de profundidad para llegar al manto freático más cercano y las raíces secundarias pueden abarcar un radio de hasta 15 m.

Troncos y ramas. El tronco es leñoso, de corteza oscura o negruzca; ramas flexuosas, formando una copa esférica o deprimida. Las ramas tiernas tienen espinas y con frecuencia carecen de hojas.

Hojas. Son compuestas (con el limbo subdividido), bipinnadas, con 12 a 15 pares de foliolos oblongos o lineares de 5 a 10 mm de largo, caducas en invierno. Los renuevos nacen desde marzo hasta mayo y permanecen hasta diciembre.

Flores. Son muy pequeñas, de color amarillo verdoso, agrupadas en inflorescencias en racimos en forma de espiga; producen un aroma y néctar agradable que atrae a los polinizadores. Son hermafroditas, de simetría radiada (actinomorfas), con cinco pétalos, sépalos y diez estambres; ovario súpero, unilocular, unicarpelar y de placentación parietal; el estigma es cóncavo. Florece durante un periodo corto que inicia entre los meses de febrero-marzo y puede extenderse hasta abril-mayo.

Fruto. Son vainas o legumbres alargadas, rectas o arqueadas, de 10 a 30 cm de longitud, de color paja a rojizo violáceo. El mesocarpio contiene de 12 a 20 semillas. La fructificación se extiende de mayo a agosto y se cosecha entre agosto y octubre.

Semilla. Es de forma oblonga o aplastada y dura; su color varía de café claro a oscuro. Su diseminación es zoófila y endozoica.

Distribución geográfica. Se localiza en las zonas desérticas y semidesérticas, formando parte de la vegetación de árboles poco densos y arbustos. Se distribuye en la vertiente del Pacífico, desde Michoacán hasta Oaxaca, y en la del Golfo de México en Nuevo León, Tamaulipas y Veracruz, en la depresión central de Chiapas y en regiones centrales del país. También hay reportes en las islas de Hawái, donde se considera una especie introducida.

Condiciones climáticas. Se considera una especie termo-xerófila, siendo particularmente abundante en las zonas áridas y semiáridas, aunque su amplio rango ecológico le permite ser localizado en zonas con temperaturas medias que van de 20 a 29° C, con precipitaciones que oscilan entre 350 y 1 200 mm anuales. Se le encuentra desde el nivel del mar hasta los 2200 msnm; crece preferentemente en llanuras y bajíos, sobre suelos profundos aptos para la agricultura. El aire seco y la luminosidad son esenciales para la fructificación.

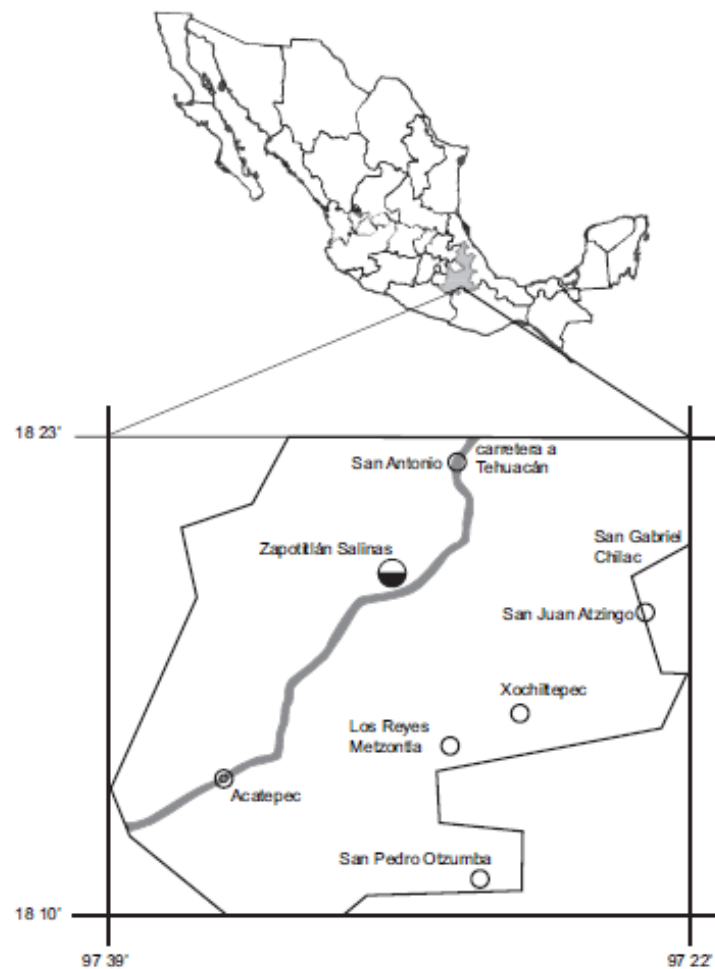
Condiciones edáficas. Se establece en una amplia gama de tipos de suelo, creciendo con mayor vigor en suelos profundos, prosperando en suelos

arcillosos y arcillo-arenosos. Puede tolerar un alto contenido de sales o mal drenaje del suelo (sierozem y chesnut).

Apéndice II

Zona de colecta

Las inflorescencias de *Prosopis laevis* fueron colectadas en la comunidad de Zapotitlán Salinas, que es la cabecera del municipio del mismo nombre. Se localiza dentro de la Reserva de la Biosfera de Tehuacán-Cuicatlán al sureste del estado de Puebla y al norte del Estado de Oaxaca. Se encuentra ubicada entre los paralelos 18° 07'18" y 18° 26' 00" Norte y los meridianos 97° 19' 24" y 97° 39' 06" Oeste. Presenta una superficie de 485 Km² y colinda al norte con Tehuacán, al sur con Caltepec, al oeste con Chilac y San José Miahuatlan, al este con el estado de Oaxaca y al noreste con San Martín Atexcala (Paredes, 2001; Rosas, 2006).



Ubicación del municipio de Zapotitlán. Tomado de Paredes-Flores et al., 2007

Clima

De acuerdo con la clasificación de Köppen, este clima se cataloga como un clima Bskw(w), semiseco templado con lluvias en veranos y escasas a lo largo del año. El verano es cálido, la temperatura anual media está entre 12 y 18°C, con el mes más frío entre -3 y 18°C y el más cálido superior a 18°C y con una precipitación anual entre 200 y 450 mm (Arias-Toledo, 2000; Rosas, 2006; Paredes-Flores et al., 2007).

Hidrografía

El municipio pertenece a la cuenca del Papaloapan en su mayor parte; solo el extremo sureste pertenece a la cuenca del Balsas, es recorrido por numerosos

arroyos intermitentes en varias direcciones concentrándose en un arroyo principal al centro-este llamado Agua el Gavilán principal afluente del Zapotitlán.

El Río Zapotitlán presenta gran cantidad de sales de sodio provenientes de las depresiones de Zapotitlán; se une al Tehuacán en el valle del mismo nombre y forman el Río Salado uno de los principales afluentes del Papaloapan, el extremo Sur-oeste presenta varios arroyos de los cuales destacan el Acatepec y Las Manzanas, afluentes del Acatlán perteneciente a la cuenca del Balsas. El arroyo Las Manzanas sirve en un tramo de 10 km como límite con Oaxaca. (<http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM21puebla/municipios/21209a.html>, consultada el 18 de enero de 2018).

Edafología

Las principales unidades de suelos citadas para la región son litosoles, cambisoles cálcicos y xerosoles cálcicos derivados de evaporitas del Cretácico Inferior y Medio, complementados con regosoles y fluvisoles calcáricos formados por materiales transportados, derivados de sedimentos aluviales (Olivero-Galindo, 2000; López-Galindo et al., 2003; Paredes-Flores et al., 2007).

Vegetación

En el año 2000, Valiente-Benut y colaboradores reportaron las siguientes comunidades vegetales:

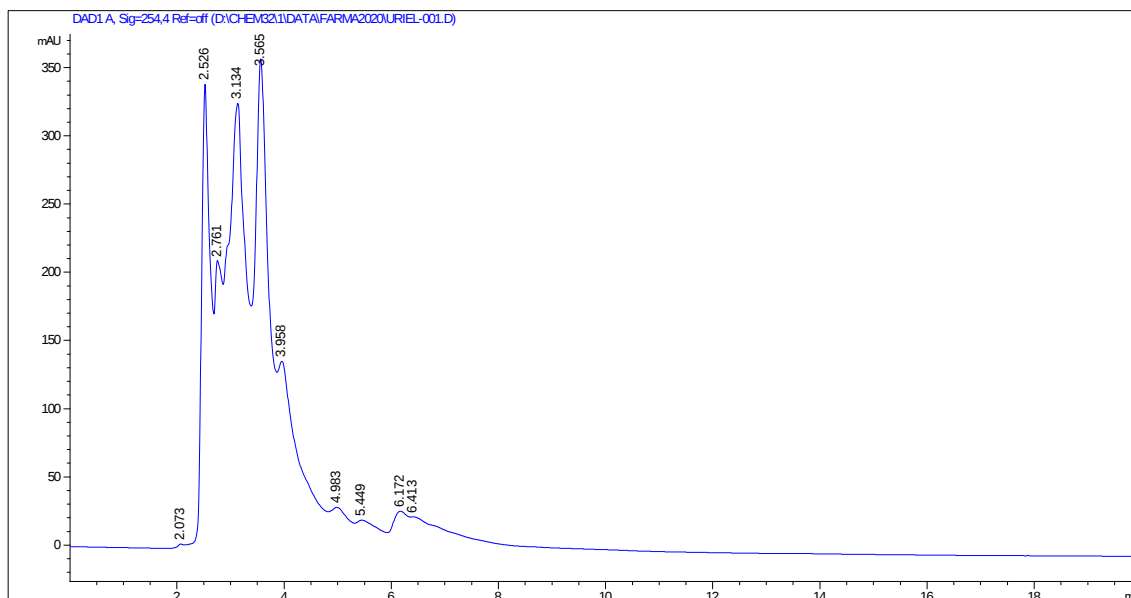
- a) Mezquital o selva baja perennifolia con espinas laterales (con prevalencia de *Prosopis laevis*).
- b) Matorral espinoso (con presencia de *Mimosa luisana*, *Acacia farnesiana*, *Cordia curassavica* y *Fouquieria formosa*).
- c) Tetechera (asociación con abundancia de *Neobuxbaumia tetetzo*).
- d) Cardonal (En donde destaca *Cephalocereus columna-trajani*).
- e) Izotal (matorral con *Yucca periculosa*).
- f) Chaparral o mexical (con *Brahea nitida* y *Dasyllirion serratifolium*)
- g) Tetechera-candelillar (con *Neobuxbaumia tetetzo* y *Euphorbia antisiphilitica*).
- h) Selva baja caducifolia (con *Myrtillocactus geometrizans*, *Bursera schlechtendalii* y *Bursera áptera*).

Población

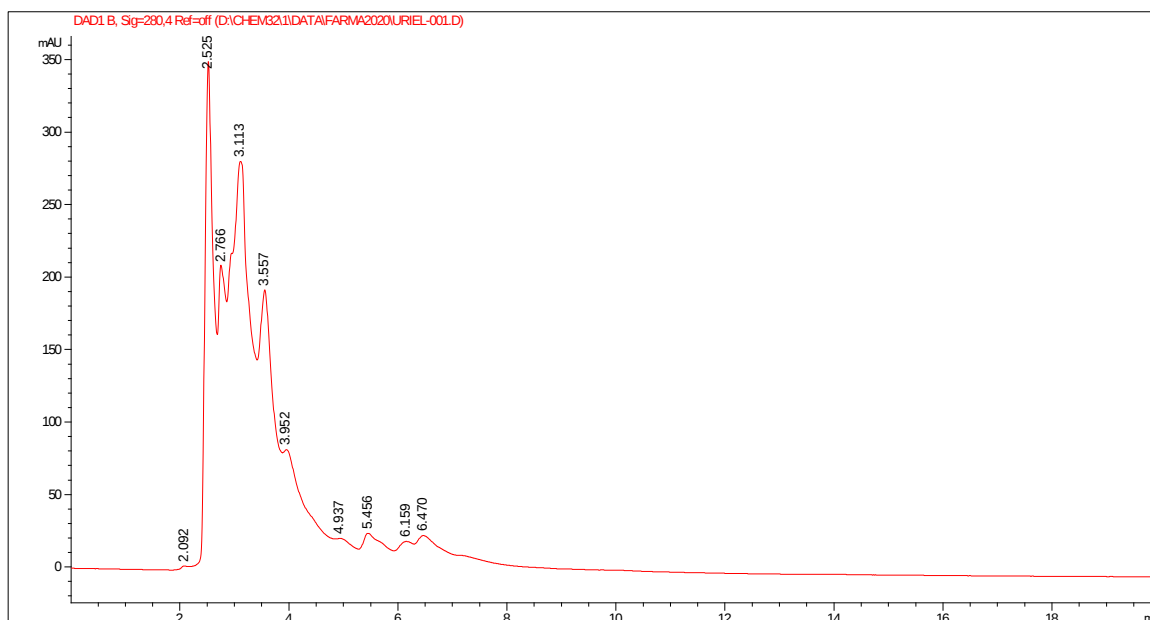
La población de Zapotitlán Salinas es de origen popoloca aunque un bajo porcentaje de la población conocen y/o utilizan la lengua original (Paredes-Flores et al., 2007). El último registro de población en 2015 contabiliza 8,495 habitantes (SEDESOL, 2017). Las principales actividades desarrolladas en la región corresponden a la agricultura de temporal con cultivos principalmente de maíz, huertos familiares, plantaciones de *Agave marmorata*, *Opuntia pilífera* e *Hylocereus undatus*; la ganadería de traspatio y la ganadería caprina. Las actividades comerciales más importantes en la región son los talleres de artesanías de mármol y ónix, la explotación de sal gema y graveras y granjas avícolas (Rosas, 2006).

Apéndice III

Cromatogramas obtenidos por CLAR-DAD de las muestras de los extractos de inflorescencias de *P. laevigata* colectadas en las zonas de Mezquital Abierto y Campo de Cultivo abandonado.

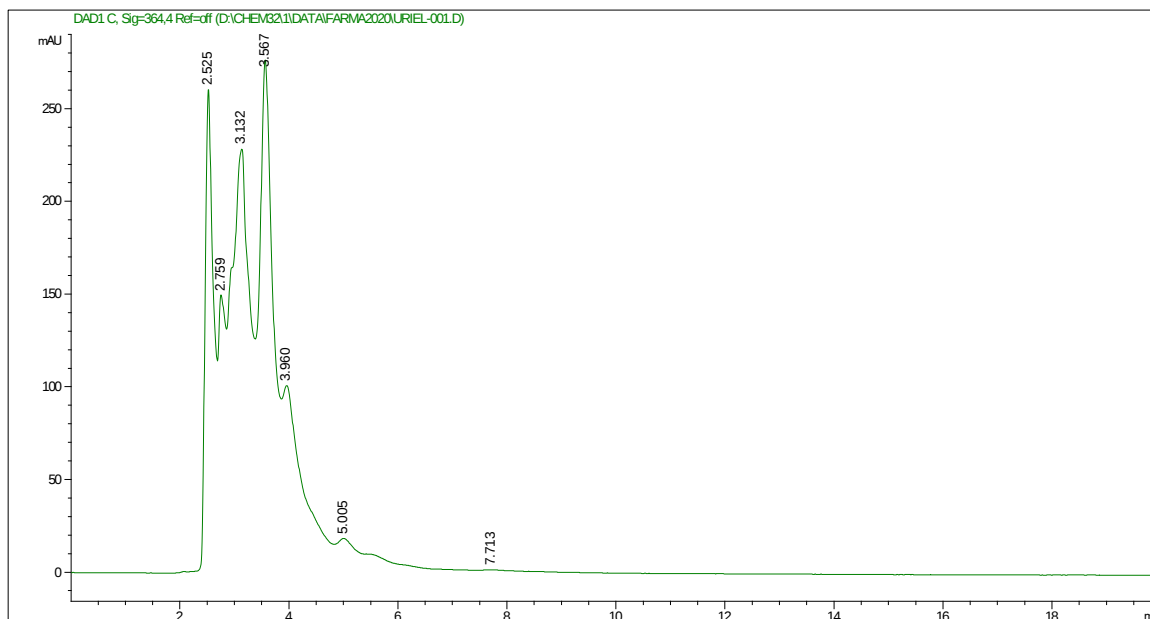


3.1 Cromatograma de la muestra de la muestra de los extractos metanólicos florales de la zona ZMA obtenido a partir de una longitud de onda de 254 nm.

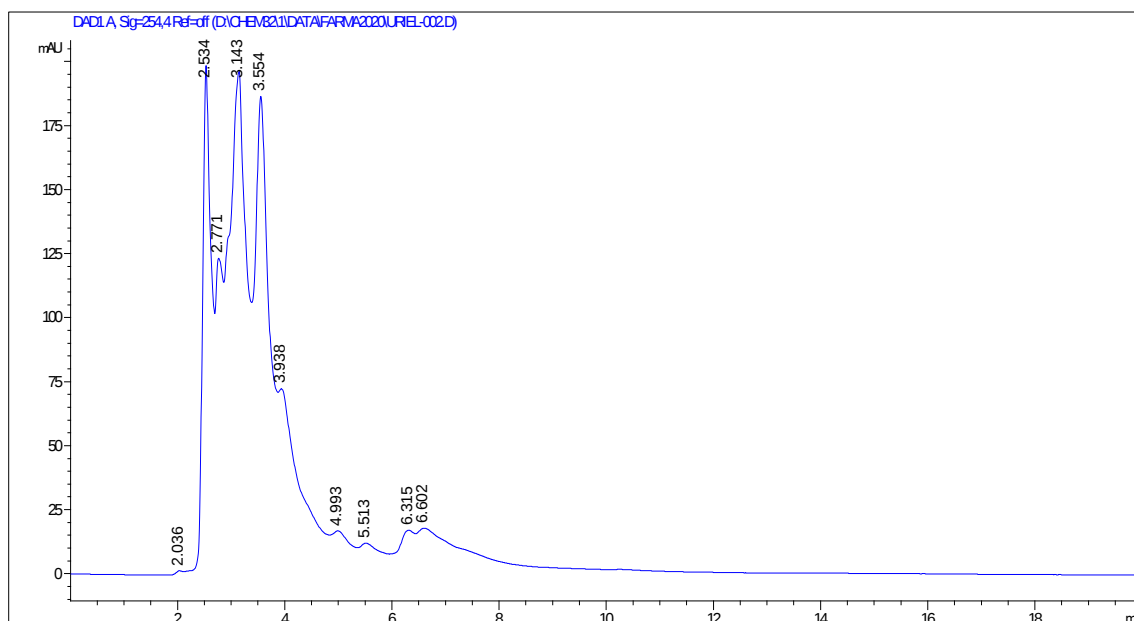


3.2 Cromatograma de la muestra de la muestra de los extractos metanólicos florales de la zona ZMA obtenido a partir de una longitud de onda de 280 nm.

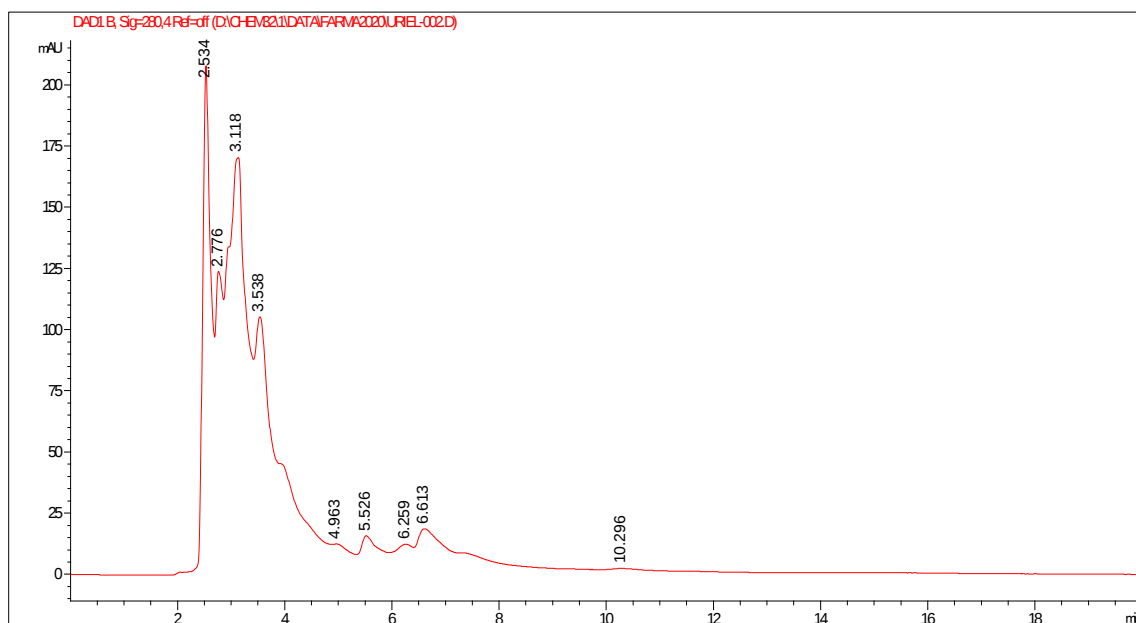
Correlación entre parámetros edáficos, composición química y actividad antimicrobiana de inflorescencias de Prosopis laevigata



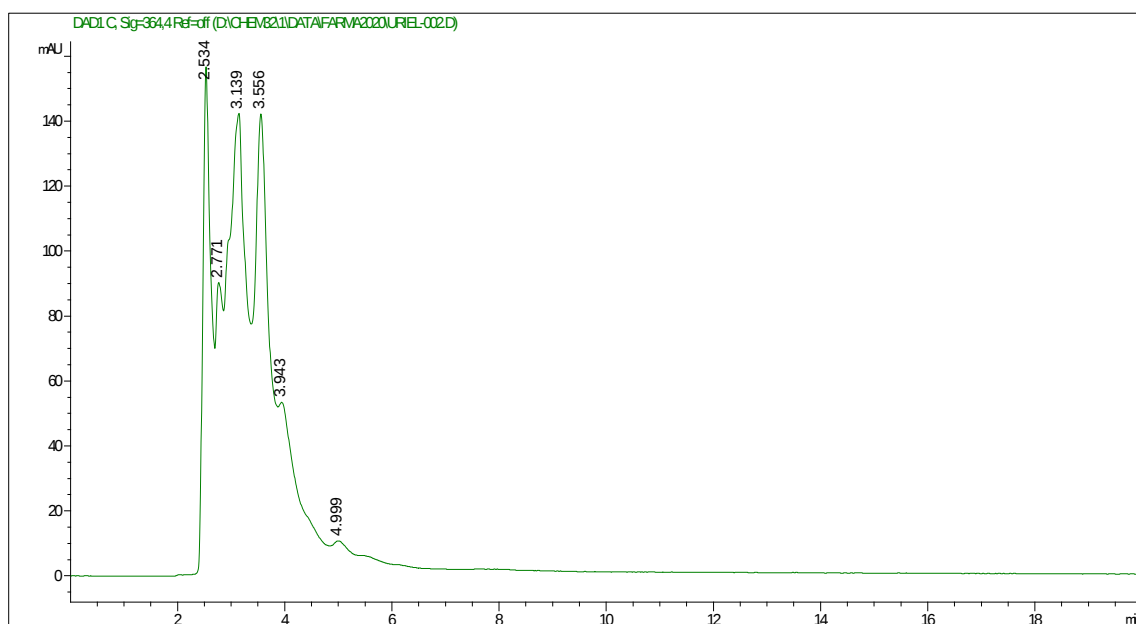
3.3 Cromatograma de la muestra de la muestra de los extractos metanólicos florales de la zona ZMA obtenido a partir de una longitud de onda de 364 nm.



3.4 Cromatograma de la muestra de la muestra de los extractos metanólicos florales de la zona CCA obtenido a partir de una longitud de onda de 254 nm.



3.5 Cromatograma de la muestra de la muestra de los extractos metanólicos florales de la zona ZMA obtenido a partir de una longitud de onda de 280 nm.



3.6 Cromatograma de la muestra de la muestra de los extractos metanólicos florales de la zona ZMA obtenido a partir de una longitud de onda de 364 nm.