



MEDIO AMBIENTE
SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES



COORDINACIÓN DE DESARROLLO PROFESIONAL E INSTITUCIONAL

SUBCOORDINACIÓN DE POSGRADO

TESIS

CONTROL BIOLÓGICO DE LOS FLORECIMIENTOS DE CIANOBACTERIAS TÓXICAS MEDIANTE LA ACTIVIDAD ALELOPÁTICA DE PLANTAS MEDICINALES MEXICANAS

que para obtener el grado de
Doctor en Ciencias y Tecnología del Agua

presenta
René Solano Jiménez

Tutora: Dra. Sofía Esperanza Garrido Hoyos
Cotutora: Dra. María Luisa Villareal Ortega

Jiutepec, Morelos

Año 2022





Con fundamento en los artículos 21 y 27 de la Ley Federal del Derecho de Autor y como titular de los derechos moral y patrimoniales de la obra titulada “CONTROL BIOLÓGICO DE LOS FLORECIMIENTOS DE CIANOBACTERIAS TÓXICAS MEDIANTE LA ACTIVIDAD ALELOPÁTICA DE PLANTAS MEDICINALES MEXICANAS”, otorgo de manera gratuita y permanente al Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, autorización para que fijen la obra en cualquier medio, incluido el electrónico, y la divulguen entre su personal, estudiantes o terceras personas, sin que pueda percibir por tal divulgación una contraprestación.

René Solano Jiménez

Jiutepec, Morelos, Junio de 2022





DOCTORADO EN CIENCIAS Y TECNOLOGÍA DEL AGUA

Ante el jurado integrado por:

Presidente: Dra. Gabriela Mantilla Morales

Secretario: Dra. Ana María Sandoval Villasana

Vocal 1: Dra. Sofía Esperanza Garrido Hoyos

Vocal 2: Dra. María Luisa Villareal Ortega

Vocal 3: Dr. José Roberto Villagómez Ibarra

Director de tesis

Dra. Sofía E. Garrido Hoyos

Jiutepec, Morelos, México, Junio 2022
Instituto Mexicano de Tecnología del Agua



DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

A toda mi familia, especialmente a mis padres, Raúl Solano Lagunas y Amparo Jiménez Miranda, por su apoyo incondicional en todos los proyectos que he emprendido en mi vida profesional.

A Zuri, por ser mi esposa, compañera y amiga y por darme todo el cariño que un hombre pudiera pedir.

Mis más sinceros agradecimientos al Posgrado del Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA) y al Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB) por permitirme desarrollar mi trabajo de investigación en sus laboratorios.

Un agradecimiento especial a la Dra. Ana María Sandoval Villasana por todos sus acertados comentarios y por seguir mi camino profesional desde la etapa de licenciatura hasta el doctorado.

A la Dra. Sofía E. Garrido Hoyos, a la Dra. María Luisa Villareal, al Dr. Roberto Villagómez y a la Dra. Gabriela Mantilla Morales por todas sus sugerencias que enriquecieron mi trabajo de investigación.

Toda mi gratitud a mis amigos que estuvieron al pendiente de mi trabajo de principio a fin.

“La ciencia siempre vale la pena, porque sus descubrimientos, tarde o temprano, siempre se aplican”

-Severo Ochoa-



CONTENIDO

RESUMEN.....	1
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN.....	6
CAPÍTULO 2:.....	8
MARCO TEÓRICO.....	8
2.1 Origen y evolución de las cianobacterias.....	8
2.2 Factores abióticos y bióticos que promueven la aparición de los CHABs.....	9
2.2.1 Factores abióticos.....	9
2.2.2 Factores bióticos.....	13
2.3 Géneros de cianobacterias formadoras de florecimientos tóxicos.....	17
2.3.1 Género <i>Microcystis</i>	17
2.3.2 Género <i>Anabaena</i>	18
2.4 Actividades bioquímicas de las cianobacterias y su relación con las Especies Reactivas de Oxígeno.....	19
2.4.1 Especies Reactivas de Oxígeno.....	19
2.4.2 Sistema antioxidante enzimático y no-enzimático.....	21
2.4.3 Síntesis de proteínas.....	22
2.4.4 Actividad fotosintética.....	22
2.4.5 Peroxidación lipídica.....	23
2.4.6 Oxidación de proteínas.....	23
2.4.7 Oxidación del ADN.....	24
2.5 Métodos para el control de los CHABs.....	24
2.5.1 Extractos de plantas terrestres y acuáticas y sus mecanismos de acción.....	25
2.5.2 Aleloquímicos y sus mecanismos de acción.....	27
2.6 Concentración efectiva media (CE ₅₀).....	33
CAPÍTULO 3:.....	36
HIPOTESIS, OBJETIVOS Y ALCANCES.....	36
3.1 Hipótesis.....	36
3.2 Objetivos.....	36
3.3 Alcances.....	37
CAPÍTULO 4: METODOLOGÍA.....	38
4.1 Plantas usadas en la medicina tradicional mexicana.....	38

4.2	Identificación taxonómica de las plantas y obtención de los extractos	38
4.3	Perfil fitoquímico cualitativo	40
4.4	Cuantificación de compuestos fenólicos totales.....	41
4.5	Cultivos de las cianobacterias	43
4.6	Curvas de crecimiento de las cianobacterias	44
4.7	Ensayos de inhibición de crecimiento en medio sólido	46
4.8	Ensayos alguicidas en medio líquido - Efectos fisiológicos	46
4.8.1	Efectos de los extractos metanólicos en la densidad celular de <i>M. aeruginosa</i>	46
4.8.2	Efectos alguistáticos y efectos alguicidas	48
4.9	Ensayos alguicidas en medio líquido – Efectos bioquímicos.....	48
4.9.1	Cuantificación de Chl-a.....	48
4.9.2	Contenido de MDA	49
4.10	Cálculo de la CE ₅₀	50
4.11	Análisis de los extractos mediante GC-MS.....	51
CAPÍTULO 5: RESULTADOS		54
5.1	Búsqueda de las especies de plantas.....	54
5.2	Identificación taxonómica de las especies de plantas	65
5.3	Rendimientos de los extractos crudos	66
5.4	Análisis fitoquímico cualitativo de los extractos	67
5.5	Cuantificación de compuestos polifenólicos totales en los extractos.....	69
5.6	Pruebas alguicidas en medio sólido	71
5.7	Pruebas alguicidas en medio líquido	74
5.7.1	Efectos de los extractos metanólicos en el crecimiento de <i>M. aeruginosa</i>	74
5.7.2	Efectos alguistáticos y alguicidas en <i>M. aeruginosa</i>	81
5.7.3	Efectos de los extractos metanólicos en la concentración de Chl-a de <i>M. aeruginosa</i>	85
5.7.4	Efectos de los extractos metanólicos en el contenido de MDA en <i>M. aeruginosa</i>	89
5.7.5	Efectos en la densidad celular de <i>A. cylindrica</i> expresada como concentración de Chl-a.	93
5.7.6	Efectos alguistáticos y alguicidas en <i>A. cylindrica</i>	100
5.7.7	Efectos de los extractos metanólicos en la concentración de MDA en <i>A. cylindrica</i>	103
5.7.8	Efectos en la densidad celular de <i>Anabaena sp.</i> expresados como concentración de Chl-a.	107

5.7.9 Efectos alguistáticos y alguicidas en <i>Anabaena sp.</i>	114
5.7.10 Efectos de los extractos metanólicos en la concentración de MDA en <i>Anabaena sp.</i> .	117
5.8 Concentración efectiva 50 (CE ₅₀).....	121
5.9 Identificación y cuantificación de los aleloquímicos de <i>A. mexicana</i> , <i>B. spectabilis</i> , <i>L. tridentata</i> y <i>A. adstringens</i>	122
CAPÍTULO 6: DISCUSIÓN DE RESULTADOS	130
CAPÍTULO 7: CONCLUSIONES.....	141
REFERENCIAS	141
ANEXO 1.....	159
ANEXO 2.....	174
ANEXO 3.....	182

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. El cambio climático beneficiará a los CHABs.....	9
Fig. 2. EPS en cianobacterias: a, <i>Aphnanothece saxicola</i> ; b, <i>Aphanocapsa gravillei</i> ; c, <i>Gloeocapsa caldariorum</i> ; d, <i>Gloeothece rupestris</i> ; e, <i>Asterocapsa submerse</i> ; f, <i>Porphyrosiphon notarisii</i>	15
Fig. 3. Ocurrencia global de florecimientos de <i>Microcystis</i> y presencia de microcistina... ..	17
Fig. 4. Vías celulares de la producción de ROS en microalgas.....	20
Fig. 5. Diagrama esquemático del mecanismo alelopático en células de microalgas.. ..	33
Fig. 6. CE ₅₀ de extractos de plantas acuáticas y terrestres sobre algunas cianobacterias.....	35
Fig. 7. CE ₅₀ de algunos aleloquímicos sobre <i>M. aeruginosa</i> . ..	35
Fig. 8. Proceso de obtención de los extractos.....	39
Fig. 9. Curvas de crecimiento de <i>M. aeruginosa</i> , <i>A. cylindrica</i> y <i>Anabaena sp.</i> ..	45
Fig. 10. Determinación de la densidad celular en <i>M. aeruginosa</i> . ..	47
Fig. 11. Ejemplar de <i>A. mexicana</i> en Cuauchichinola, Morelos.	54
Fig. 12. Ejemplar de <i>B. spectabilis</i> en Jiutepec, Morelos.....	56
Fig. 13. Ejemplar de <i>L. tridentata</i> en Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí.....	58
Fig. 14. Ejemplar de <i>T. zebrina</i> en Jiutepec, Morelos.....	59
Fig. 15. Ejemplar de <i>T. spathacea</i> en Jiutepec, Morelos.....	61
Fig. 16. Ejemplar de <i>A. adstringens</i> en Apaxtla de Castrejón, Guerrero.	62
Fig. 17. Ejemplar de <i>A. ludoviciana</i> en Mazatepec, Morelos.....	63
Fig. 18. Ejemplar de <i>J. spicigera</i> en Mazatepec, Morelos.	64
Fig. 19. Curva patrón de ácido gálico.....	70
Fig. 20. Compuestos polifenólicos totales en los extractos etanólicos y metanólicos de las especies de plantas.....	70
Fig. 21. Halo de inhibición de los extractos en <i>M. aeruginosa</i> en medio sólido.	72
Fig. 22. Halo de inhibición de los extractos sobre <i>A. cylindrica</i> en medio sólido.	73
Fig. 23. Efectos de los extractos metanólicos en la densidad celular de <i>M. aeruginosa</i>	77
Fig. 24. Tasas de inhibición de los extractos metanólicos en <i>M. aeruginosa</i>	79
Fig. 25. Cultivos de <i>M. aeruginosa</i> después de 12 días de exposición a los extractos a una concentración de 75 mg/L.	80
Fig. 26. Efectos alguistáticos y alguicidas de los extractos metanólicos sobre <i>M. aeruginosa</i>	84
Fig. 27. Efectos de los extractos metanólicos en el contenido de Chl-a de <i>M. aeruginosa</i> . ..	88

Fig. 28. Contenido de MDA en <i>M. aeruginosa</i> después de 12 días de exposición a los extractos metanólicos.	92
Fig. 29. Efectos de los extractos metanólicos en el contenido de Chl-a en <i>A. cylindrica</i>	96
Fig. 30. Tasas de inhibición de los extractos metanólicos en <i>A. cylindrica</i>	98
Fig. 31. Cultivos de <i>A. cylindrica</i> después de 8 días de exposición a los extractos a 125 mg/L.	99
Fig. 32. Efectos alguistáticos y alguicidas de los extractos metanólicos en <i>A. cylindrica</i>	102
Fig. 33. Contenido de MDA en <i>A. cylindrica</i> después de 12 días de exposición a los extractos metanólicos.	106
Fig. 34. Efectos de los extractos metanólicos en el contenido de Chl-a en <i>Anabaena sp.</i>	110
Fig. 35. Tasas de inhibición de los extractos metanólicos en <i>Anabaena sp.</i>	112
Fig. 36. Cultivos de <i>Anabaena sp.</i> después de 8 días de exposición a los extractos a 125 mg/L.	113
Fig. 37. Efectos alguistáticos y alguicidas de los extractos metanólicos en <i>Anabaena sp.</i>	116
Fig. 38. Contenido de MDA en <i>Anabaena sp.</i> durante la exposición a los extractos metanólicos.	120
Fig. 39. Exopolisacáridos en <i>A. cylindrica</i> y <i>Anabaena sp.</i>	137
Fig. 40. Espectro de GC-MS del extracto metanólico de <i>A. mexicana</i>	182
Fig. 41. Espectro de GC-MS del extracto metanólico de <i>B. spectabilis</i>	183
Fig. 42. Espectro de GC-MS del extraxcto metanólico de <i>L. tridentata</i>	184
Fig. 43. Espectro de GC-MS del extracto metanólico de <i>A. adstringens</i>	185

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Algunas especies de plantas terrestres con efectos anticianobacteriales.....	26
Tabla 2. Aleloquímicos identificados en plantas terrestres y acuáticas.	31
Tabla 3. Curva estándar de ácido gálico.....	42
Tabla 4. Reactivos utilizados para el medio de cultivo BG-11.	44
Tabla 5. Tabla de Finney para la transformación del porcentaje de mortalidad en valores probit (Finney, 1952).....	50
Tabla 6. Parámetros utilizados para el análisis mediante GC-MS.	53
Tabla 7. Temperaturas utilizadas en la corrida cromatográfica.....	53
Tabla 8. Actividad antibacterial de <i>A. mexicana</i>	55
Tabla 9. Actividad antibacterial de <i>B. spectabilis</i>	57
Tabla 10. Actividad antibacterial de <i>L. tridentata</i>	59
Tabla 11. Actividad antibacterial de <i>T. zebrina</i>	60
Tabla 12. Actividad antibacterial de <i>T. spathacea</i>	61
Tabla 13. Actividad antibacterial de <i>A. adstringens</i>	63
Tabla 14. Actividad antibacterial de <i>J. spicigera</i>	65
Tabla 15. Identificación de las especies de plantas.	66
Tabla 16. Rendimientos de los extractos etanólicos y metanólicos de las diferentes especies de plantas.	67
Tabla 17. Metabolitos secundarios presentes en los extractos etanólicos.	68
Tabla 18. Metabolitos secundarios presentes en los extractos metanólicos.	69
Tabla 19. Valores de CE ₅₀ de los extractos metanólicos sobre las cianobacterias obtenidos con el método Probit.....	121
Tabla 20. Valores de CE ₅₀ de los extractos metanólicos sobre las cianobacterias obtenidos con el método de ajuste logístico.....	122
Tabla 21. Aleloquímicos identificados en los extractos metanólicos de <i>A. mexicana</i> , <i>B. spectabilis</i> , <i>L. tridentata</i> y <i>A. adstringens</i> mediante GC-MS.....	126
Tabla 22. Valores de CE ₅₀ de diferentes extractos de plantas sobre cianobacterias.	139
Tabla 23. Densidades celulares de <i>M. aeruginosa</i> durante los 12 días de exposición a los extractos metanólicos.	159

Tabla 24. Porcentajes de inhibición de crecimiento de <i>M. aeruginosa</i> durante los 12 días de exposición a los extractos metanólicos.....	161
Tabla 25. Valores de crecimiento celular de <i>M. aeruginosa</i> expresados como DO después de los 12 días de exposición a los extractos metanólicos.....	163
Tabla 26. Contenido de Chl-a en <i>M. aeruginosa</i> durante los 12 días de exposición a los extractos metanólicos.	164
Tabla 27. Contenido de MDA en <i>M. aeruginosa</i> durante los 12 días de exposición a los extractos metanólicos.	165
Tabla 28. Contenido de Chl-a en <i>A. cylindrica</i> durante los 8 días de exposición a los extractos metanólicos.....	166
Tabla 29. Porcentajes de inhibición de crecimiento de <i>A. cylindrica</i> durante los 8 días de exposición a los extractos metanólicos.....	167
Tabla 30. Valores de crecimiento celular de <i>A. cylindrica</i> expresados como DO después de los 8 días de exposición a los extractos metanólicos.....	168
Tabla 31. Contenido de MDA en <i>A. cylindrica</i> durante los 12 días de exposición a los extractos metanólicos.	169
Tabla 32. Contenido de Chl-a en <i>Anabaena sp.</i> durante los 8 días de exposición a los extractos metanólicos.....	170
Tabla 33. Porcentajes de inhibición de crecimiento de <i>Anabaena sp.</i> durante los 8 días de exposición a los extractos metanólicos.....	171
Tabla 34. Valores de crecimiento celular de <i>Anabaena sp.</i> expresados como DO después de la exposición a los extractos metanólicos.....	172
Tabla 35. Contenido de MDA en <i>Anabaena sp.</i> durante los 8 días de exposición a los extractos metanólicos.	173
Tabla 36. Lista completa de los compuestos presentes en el extracto de <i>A. mexicana</i>	174
Tabla 37. Lista completa de los compuestos presentes en el extracto de <i>B. spectabilis</i>	176
Tabla 38. Lista completa de los compuestos presentes en el extracto de <i>L. tridentata</i>	178
Tabla 39. Lista completa de los compuestos presentes en el extracto de <i>A. adstringens</i> ...	180

Lista de abreviaturas

¹O₂	Oxígeno singlete
CAT	Enzima catalasa
CIBYC	Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación
CHABs	<i>Cyanobacterial Harmful Algal Blooms</i>
Chl-a	Clorofila-a
[Chl-a]	Concentración de Clorofila-a
CE₅₀	Concentración Efectiva 50
CO₂	Dióxido de carbono
DO₆₈₀	Dispersión óptica a 680 nm
DO₇₅₀	Dispersión óptica a 750 nm
EPS	Exopolisacáridos
GC-MS	<i>Gas Chromatography–Mass Spectrometry</i>
GEO	Gran Evento de Oxidación
GSH	Glutatiión reducido
H₂O₂	Peróxido de hidrogeno
HO[•]	Radical hidroxilo
MC	Microcistina
MDA	Malondialdehído
[MDA]	Concentración de malondialdehído
mgAGEq/gES	mg de ácido gálico equivalentes/g de extracto seco
N	Nitrógeno
N₂	Nitrógeno atmosférico
NH₃	Amoníaco
O₂^{+•}	Radical anión superóxido
O₂	Oxígeno molecular
PFTBA	Perfluorotributilamina
PSI	<i>Photosystem I</i>
PSII	<i>Photosystem II</i>
POD	Enzimas peroxidasa
RAI	Red de Apoyo a la Investigación
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	Enzima superóxido dismutasa
UAEM	Universidad Autónoma del Estado de Morelos
UV-C	Radiación ultravioleta tipo C

RESUMEN

Se estudiaron por primera vez, según la revisión bibliográfica que se realizó, los efectos de los extractos de ocho especies de plantas usadas en la medicina tradicional mexicana en tres especies de cianobacterias formadoras de florecimientos tóxicos, *Microcystis aeruginosa*, *Anabaena cylindrica* y *Anabaena sp.*, con el objetivo de demostrar que algunos de estos extractos pueden inhibir significativamente el crecimiento de estas cianobacterias, planteando la hipótesis de que debido a que los extractos contienen varias familias de aleloquímicos, estos podrían inhibir el crecimiento de las cianobacterias mediante diferentes mecanismos de acción. Las especies de plantas fueron seleccionadas mediante una búsqueda bibliográfica, las cuales fueron: *Argemone mexicana*, *Bougainvillea spectabilis*, *Larrea tridentata*, *Tradescantia zebrina*, *Tradescantia spathacea*, *Amphipterygium adstringens*, *Artemisia ludoviciana* y *Justicia spicigera*. Estas especies se recolectaron en diferentes puntos de la República Mexicana y se identificaron taxonómicamente. Una vez verificada su naturaleza, se llevó a cabo el proceso para la obtención de los extractos, utilizando la mitad de cada planta para cada uno de los disolventes, etanol y metanol. Los extractos obtenidos se almacenaron en refrigeración hasta su uso.

Las familias de aleloquímicos presentes en los extractos de especial interés fueron: compuestos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides, cumarinas y taninos), alcaloides, terpenoides y ácidos grasos. Para determinar de manera cualitativa la presencia o ausencia de estas familias y precisar si existen diferencias significativas entre los extractos etanólicos y metanólicos, se realizaron varias pruebas haciendo reaccionar una muestra del extracto con diferentes compuestos. Los resultados mostraron que los extractos etanólicos dieron positivo a 43 pruebas, mientras que los metanólicos a 40 y una considerable presencia de compuestos fenólicos. Con base en esto, se llevó a cabo la cuantificación de polifenoles totales en los extractos etanólicos y metanólicos mediante el método de Folin-Ciocalteu, encontrándose que el extracto metanólico de *L. tridentata* y el etanólico de *A. adstringens* poseían los mayores contenidos de polifenoles totales, 363.51 ± 13.63 y 317.49 ± 4.61 mg de ácido gálico equivalentes/g de extracto seco (mgAGEq/gES) y no se detectaron diferencias significativas

entre los extractos etanólicos y metanólicos, a excepción de los resultados obtenidos con *L. tridentata*.

Para definir los extractos que iban a ser utilizados en las pruebas en medio líquido, si los etanólicos o metanólicos, fue necesario realizar pruebas de inhibición de crecimiento en medio sólido, donde las respuestas se cuantificaron mediante el diámetro de la zona de inhibición expresado en milímetros (mm) después de 9 días de exposición. Los resultados indicaron que *M. aeruginosa* fue la especie más afectada, debido a que todos los extractos mostraron diferentes grados de inhibición de crecimiento, siendo los extractos metanólicos de *L. tridentata* y *A. adstringens* los que presentaron los mayores efectos, con diámetros inhibitorios de 28.67 y 33.33 mm, respectivamente. *A. cylindrica* mostró ser más resistente, ya que solo seis extractos mostraron cierto grado de inhibición, con los extractos metanólicos de *L. tridentata* y *A. adstringens* como los más efectivos, con diámetros inhibitorios de 28.67 y 27.33 mm, respectivamente. Con base en estos resultados, se seleccionaron los extractos metanólicos para las pruebas en medio líquido.

En las pruebas en medio líquido fueron estudiados los efectos de los extractos metanólicos en la densidad celular, la actividad fotosintética, expresada como contenido de Clorofila-a (Chl-a) y en la estructura celular, expresados como contenido de malondialdehído (MDA) de las tres especies de cianobacterias. Estos parámetros fueron monitoreados cada dos días durante 12 días, a concentraciones de 10, 25, 50 y 75 mg/L para *M. aeruginosa* y a 50, 75, 100 y 125 mg/L para *A. cylindrica* y *Anabaena sp.* durante 8 días. En relación a la densidad celular, *M. aeruginosa* fue la única especie con la cual fue posible llevar a cabo el conteo celular con un hemocitómetro, expresando los resultados en número de células/mL. Los extractos de *L. tridentata* y *A. adstringens* mostraron los mayores efectos a 100 mg/L en el día 12, con inhibiciones de 93.80% y 90.37% ($p < 0.0001$, ANOVA). También los extractos de *A. mexicana* y *B. spectabilis* mostraron inhibiciones importantes, del 85.57% y 87.66%, en relación a control ($p < 0.0001$, ANOVA).

En el caso de las cianobacterias filamentosas, el contenido de Chl-a puede expresar tanto la densidad celular como la actividad fotosintética de las cianobacterias. En este estudio se optó

por la segunda opción. En *M. aeruginosa*, los mayores efectos se observaron con *A. adstringens* y *L. tridentata*, con disminuciones del 96.79% y 91.51% en relación al control ($p < 0.0001$, ANOVA). *A. cylindrica* mostró ser especialmente sensible al extracto de *A. mexicana*, el cual disminuyó su contenido de Chl-a en un 94.64%, seguido de *A. adstringens* y *L. tridentata* con 92.40% y 90.11% ($p < 0.001$, ANOVA), respectivamente. En relación a *Anabaena sp.*, las mayores disminuciones en el contenido de Chl-a se obtuvieron con los extractos de *L. tridentata*, *A. mexicana* y *A. adstringens*, siendo de 93.26%, 91.98% y 90.52% ($p < 0.0001$, ANOVA), con respecto al control.

El MDA es un parámetro importante que refleja la integridad de la membrana de las cianobacterias. Después de 12 días de exposición, el extracto de *L. tridentata* fue el que provocó la mayor producción de MDA en *M. aeruginosa*, 6.51 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 6.33 veces más que el control ($p < 0.0001$, ANOVA), seguido de *A. adstringens* y *A. mexicana* con valores de 6.09 y 5.29 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, lo que significó aumentos de 5.91 y 5.14 veces más que el grupo de control ($p < 0.001$, ANOVA). En cuanto a *A. cylindrica*, los extractos que causaron los mayores aumentos de MDA fueron los de *B. spectabilis*, *L. tridentata* y *A. mexicana*, con valores de 4.98, 4.59 y 4.33 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, es decir, con aumentos 4.74, 4.37 y 4.12 veces superiores al observado en el control ($p < 0.001$, ANOVA). Finalmente, los mayores efectos en el contenido de MDA de *Anabaena sp.* fueron ocasionados por los extractos de *A. adstringens* y *B. spectabilis*, los cuales aumentaron este valor 6.45 y 6.44 veces más que registrado en el control ($p < 0.001$, ANOVA). Los extractos de *L. tridentata* y *A. mexicana* también mostraron aumentos muy similares, de 5.57 y 5.55 veces más que el control, respectivamente ($p < 0.001$, ANOVA).

También se realizaron pruebas para observar si después de los tratamientos, los cultivos de las cianobacterias eran capaces de retomar o no su crecimiento si se inoculaban en un medio de cultivo nuevo, es decir, si los extractos poseían efectos alguistáticos o alguicidas. En *M. aeruginosa*, los extractos de *A. mexicana* y *B. spectabilis* a 75 mg/L y *L. tridentata* y *A. adstringens* a 50 y 75 mg/L fueron los que mostraron efectos alguicidas. En el caso de *A. cylindrica*, únicamente fueron los extractos de *A. mexicana* y *A. adstringens* a 100 y 125 mg/L y *L. tridentata* a 125 mg/L. Por último, en *Anabaena sp.* los extractos que causaron

efectos alguicidas fueron los de *A. mexicana* y *A. adstringens* a 100 y 125 mg/L, *L. tridentata* a 75, 100 y 125 mg/L.

Además, se obtuvo la Concentración Efectiva 50 (CE₅₀) de los extractos que mostraron las mayores inhibiciones, *A. mexicana*, *B. spectabilis*, *L. tridentata*, *A. adstringens*, *A. ludoviciana* y *J. spicigera*. Los resultados mostraron que para *M. aeruginosa* los extractos más efectivos fueron *L. tridentata*, *A. adstringens* y *B. spectabilis* con valores de CE₅₀ de 13.39±2.29, 14.66±1.87 y 16.53±3.93 mg/L. En relación a *A. cylindrica*, los extractos fueron *A. mexicana*, *A. adstringens* y *L. tridentata* con 63.19±4.58, 65.89±3.87 y 69.81±6.94 mg/L. Y en cuanto a *Anabaena sp.*, los extractos fueron *L. tridentata*, *A. mexicana* y *A. adstringens* con valores de 47.24±4.35, 61.77±4.17 y 62.47±7.00 mg/L.

Con base en los resultados de las pruebas alguicidas en medio líquido y en los valores de CE₅₀, los extractos metanólicos de *A. mexicana*, *B. spectabilis*, *L. tridentata*, *A. adstringens* resultaron ser los más eficaces, por lo que fueron analizados mediante Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas o (GC-MS, por sus siglas en inglés) para determinar de manera cuantitativa la presencia de las diferentes familias de aleloquímicos. En total, se identificaron 83, 82, 72 y 74 compuestos, respectivamente, entre los que destacan los compuestos fenólicos, compuestos con nitrógeno (N), ácidos orgánicos, terpenoides y fitoesteroles. En la categoría de los compuestos fenólicos, el extracto de *L. tridentata* fue el que presentó el mayor número de estos aleloquímicos con 12, seguido de *A. adstringens* con 7, *A. mexicana* con 5 y, por último, *B. spectabilis* con 4. Por el contrario, el extracto de *B. spectabilis* fue el que mostró el mayor número de los compuestos con N con 26, seguido de *A. mexicana* con 22, *L. tridentata* con 12 y *A. adstringens* con 3. En cuanto a los ácidos orgánicos, en el extracto de *A. adstringens* se indentificaron 27 de estos aleloquímicos, en *A. mexicana* 24, en *B. spectabilis* 23 y en *L. tridentata* 19. Los terpenoides fueron identificados únicamente en el extracto de *A. adstringens*. Por último, en *A. mexicana* se encontraron 2 fitoesteroles, 1 en *L. tridentata* y 3 en *A. adstringens*.

Todos los resultados obtenidos en la presente investigación confirman que los extractos de *A. mexicana*, *B. spectabilis*, *L. tridentata* y *A. adstringens* poseen la capacidad de inhibir significativamente el crecimiento de dos de las principales especies de cianobacterias formadoras de florecimientos tóxicos, *Microcystis* y *Anabaena*, por lo que son fuertes candidatos para realizar pruebas en campo. Por lo que se comprobó satisfactoriamente la hipótesis y se alcanzó el objetivo principal planteados al inicio de la investigación.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

Las cianobacterias son organismos fotosintéticos que pueden formar densas floraciones tóxicas (CHABs, siglas en inglés para *Cyanobacterial Harmful Algal Blooms*) que causan problemas importantes para la calidad del agua, como aumentar la turbidez y sofocar la vegetación acuática sumergida, el agotamiento de oxígeno por la degradación microbiana de las floraciones senescentes que puede inducir hipoxia y anoxia, causando la muerte de peces e invertebrados bentónicos. Entre los principales géneros formadores de CHABs se incluyen *Anabaenopsis*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Dolichospermum*, *Gloeotrichia*, *Lyngbya*, *Microcystis*, *Nodularia*, *Nostoc*, *Phormidium*, *Planktothrix*, *Raphidiopsis*, *Synechococcus* y *Trichodesmium*. Varios géneros de cianobacterias producen compuestos de sabor y olor, que interfieren con la función recreativa de los lagos y el uso de reservorios para el agua potable. Además, también pueden producir una variedad de cianotoxinas que causan enfermedades hepáticas, digestivas y neurológicas cuando son ingeridas por aves, mamíferos y seres humanos (Paerl *et al.*, 2016; Huisman *et al.*, 2018).

En los últimos años, numerosos estudios han indicado que la eutrofización, el calentamiento global y el aumento de los niveles de dióxido de carbono (CO₂), entre otros, pueden aumentar la frecuencia, la intensidad y la duración de las CHABs en muchos ecosistemas acuáticos de todo el mundo. Esta tendencia es de gran preocupación, ya que puede tener efectos negativos en la biodiversidad y el funcionamiento de las redes alimentarias acuáticas y amenaza el uso de las aguas afectadas para el agua potable, el baño, la pesca y otros usos recreativos (Huisman *et al.*, 2018). Por ello, se han desarrollado diferentes métodos para el control de los florecimientos de cianobacterias, los cuales se pueden categorizan en físicos, químicos y biológicos. Los métodos físicos han mostrado resultados muy variables, costosos y difícilmente aplicables en cuerpos de agua naturales. Con los métodos químicos se han reportado resultados excelentes en la inhibición de cianobacterias, pero también atacan a todos los organismos no dañinos, pudiendo causar un colapso de todo el ecosistema. El

enfoque biológico, ha venido adquiriendo una mayor importancia y estudio, especialmente el aprovechamiento de la actividad alelopática de una gran variedad de especies de plantas acuáticas y terrestres que pueden inhibir selectivamente el crecimiento de diferentes especies de cianobacterias tóxicas.

Los géneros de plantas acuáticas *Myriophyllum* y *Potamogeton* han sido ampliamente estudiados para el control de los CHABs debido a su capacidad de biosintetizar una variedad de aleloquímicos, especialmente ácidos fenólicos y ácidos orgánicos, los cuales pueden actuar de manera sinérgica, inhibiendo el crecimiento, causando estrés oxidativo al aumentar el contenido de MDA, dañando irreversiblemente la membrana y la pared celular de las cianobacterias al aumentar los contenidos del radical anión superóxido ($O_2^{+ \cdot}$) e inhibir las actividades de las enzimas fosfatasa alcalina y la esterasa (Wang *et al.*, 2010; Takeda *et al.*, 2011; Pakdel *et al.*, 2013; Svanys *et al.*, 2014; Ghobrial *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016). Diferentes especies de plantas terrestres también han mostrado efectos inhibitorios significativos sobre las cianobacterias, tal es el caso de los extractos de *Cinnamomum camphora* (Chen *et al.*, 2018), *Punica granatum* (Chen *et al.*, 2019) y *Cosmos caudatus* (Sinang *et al.*, 2019), debido a que contienen diferentes familias de aleloquímicos como terpenoides y flavonoides, los cuales han mostrado varios mecanismos de acción en contra de las cianobacterias.

Por lo anterior, resulta importante la identificación de nuevas especies de plantas que biosinteticen aleloquímicos capaces de inhibir efectiva y selectivamente el crecimiento de las diferentes especies de cianobacterias formadoras de florecimientos nocivos. En esta investigación se analizaron por primera vez los extractos de ocho especies de plantas usadas en la medicina tradicional mexicana, como un método de control biológico de los CHABs y sus diferentes mecanismos de acción sobre tres especies de cianobacterias.

CAPÍTULO 2:

MARCO TEÓRICO

2.1 Origen y evolución de las cianobacterias

Las cianobacterias son bacterias productoras de oxígeno que utilizan la luz solar como fuente de energía para convertir el CO₂ en biomasa (Huisman *et al.*, 2018). Su origen resulta controversial, ya que autores como Schirmer *et al.*, 2015, afirman que las cianobacterias surgieron a mediados del Eón arcaico, hace unos 3 mil millones de años, como lo demuestran los niveles de oxígeno libre. A lo largo del Precámbrico, las cianobacterias fueron uno de los impulsores más importantes de las innovaciones biológicas y tuvieron un fuerte impacto en los entornos de la tierra primitiva. Al final del Eón arcaico, fueron responsables de la rápida oxigenación de la atmósfera de la Tierra durante un episodio conocido como el Gran Evento de Oxidación (GEO).

Por otro lado, los microfósiles de *Eoentophysalis*, *Polybessurus* y *Eohyella*, analizados por el equipo de Demoulin *et al.* (2019), presentan una combinación de morfologías distintivas, modos de división y ecología que son diagnósticos del filo de las cianobacterias. Por lo tanto, su ubicación en este filo está fuertemente respaldada, a diferencia de otros microfósiles proterozoicos que muestran una morfología más simple extendida entre otros procariotas, concluyendo que el registro fósil de cianobacterias comienza inequívocamente en 1,890 – 1,840 millones años y la edad mínima para la fotosíntesis oxigenada comienza con el GEO alrededor de 2,400 millones de años. La transición a la multicelularidad antes del GEO, resultó una innovación evolutiva selectiva importante que pudo haber proporcionado movimiento dentro de las esteras microbianas para evitar dosis letales de radiación ultravioleta tipo C (UV-C) y mejor adherencia a las superficies durante la formación inicial de la estera que puede haber aumentado sustancialmente el éxito de las comunidades de esteras dominadas por cianobacterias y permitido la adaptación a nuevos hábitats, esto dio

origen a la diversificación de la variedad de morfotipos que se observan en las cianobacterias en la actualidad (Schirrmeister *et al.*, 2015).

2.2 Factores abióticos y bióticos que promueven la aparición de los CHABs

2.2.1 Factores abióticos

Numerosos estudios han indicado que la eutrofización de los cuerpos de agua debido a la agricultura y la urbanización ha resultado en la proliferación de algunas especies de cianobacterias. Los cambios en los flujos ambientales naturales de los sistemas fluviales, el aumento de los niveles de CO₂, el calentamiento global y la contaminación del agua por herbicidas también podrían ser responsables del aumento de la frecuencia e intensidad de las floraciones de cianobacterias en muchos ecosistemas acuáticos de todo el mundo (Fig. 1). Esta tendencia es de gran preocupación, ya que puede tener efectos negativos en la biodiversidad y el funcionamiento de las redes alimentarias acuáticas y amenaza el uso de las aguas afectadas para el agua potable, la pesca y otros usos recreativos (Huisman *et al.*, 2018).

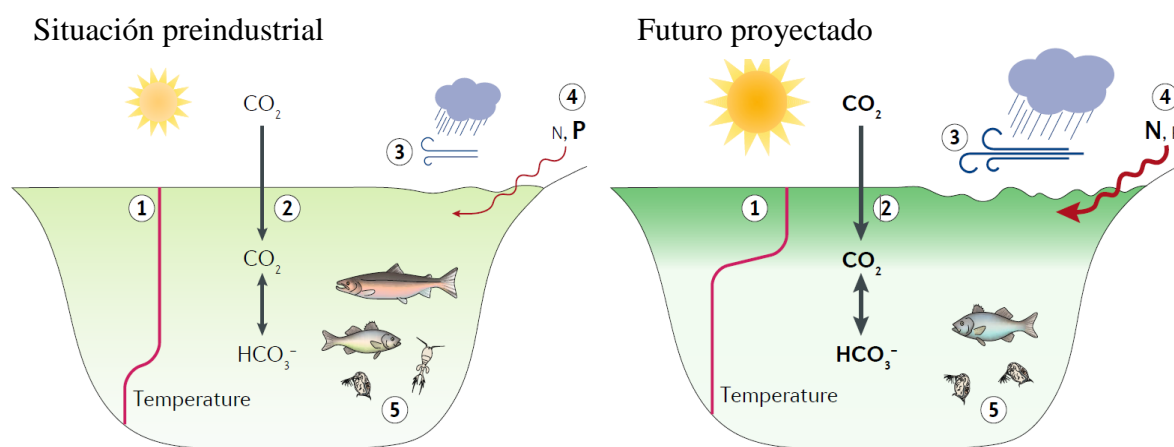


Fig. 1. El cambio climático beneficiará a los CHABs. Se predice que el cambio climático afectará varios factores ambientales que influyen en la formación de los florecimientos. (1) Las altas temperaturas favorecen una estratificación de temperatura más estable en comparación con la situación preindustrial, que suprime la mezcla vertical y, por lo tanto,

permite que las cianobacterias flotantes formen floraciones superficiales más fácilmente. (2) El aumento de las concentraciones atmosféricas de CO₂ aumentará su entrada en las aguas superficiales agotadas con CO₂ cubiertas por densas floraciones de cianobacterias, lo que intensificará el desarrollo de la floración. (3, 4) El cambio climático aumentará la variabilidad del clima, lo que puede provocar tormentas más intensas y eventos de lluvia, trayendo más nutrientes y sequías prolongadas con largos tiempos de residencia en el agua. (5) El cambio climático puede causar cambios importantes en la estructura de la red alimentaria, lo que puede o no beneficiar las floraciones de cianobacterias. Fuente: Huisman *et al.*, 2018.

2.2.1.1 Calentamiento global

Las temperaturas más cálidas favorecen a los CHABs sobre las algas eucariotas porque las tasas máximas de crecimiento de la mayoría de los CHABs se producen a temperaturas >25 °C. Las tasas de crecimiento eucariota disminuyen en respuesta al calentamiento, cuando el crecimiento de las cianobacterias es más rápido. El calentamiento de las aguas superficiales también mejora la estratificación vertical, lo que favorece los géneros flotantes de CHABs como *Aphanizomenon*, *Dolichospermum*, *Microcystis* y *Nodularia*. La fuerza de la estratificación depende de las diferencias de densidad entre el agua superficial más cálida y el agua más fría debajo. A medida que aumentan las temperaturas medias, el agua se estratifica más temprano en la primavera y persiste durante más tiempo en el otoño, lo que extiende la periodicidad y el rango de los CHABs (Paerl *et al.*, 2016).

Estudios recientes sobre la abundancia cianobacterial y los cambios hidroclimáticos en el milenio pasado muestran que la abundancia de las cianobacterias ha sido significativamente más alta en los periodos más cálidos, incluido el periodo cálido actual (año 1900 - presente), debido probablemente a que el clima cálido no solo favorece el crecimiento de las cianobacterias sino que también concentra los nutrientes del agua del lago a través de los presupuestos entre la evaporación y la precipitación. Además, debido a que el aumento de las temperaturas resulta en una mayor estratificación vertical en lagos profundos, las cianobacterias pueden haber explotado estas condiciones estratificadas y acumulado en densas floraciones superficiales. Anticipamos que, en condiciones de calentamiento

antropogénico, la biomasa cianobacteriana puede continuar aumentando en lagos profundos subtropicales a medida que continúe el calentamiento global (Yan *et al.*, 2020).

2.2.1.2 Eutrofización

La eutrofización natural y antropogénica de los cuerpos de agua es otro de los principales impulsores de los CHABs. Lüring *et al.* (2017), demostraron que los efectos combinados del calentamiento global y la eutrofización aumentan significativamente las densidades celulares del fitoplancton y de las cianobacterias e incrementan las concentraciones de microcistina, ejemplificando la vulnerabilidad de las aguas urbanas eutróficas a los efectos futuros pronosticados del cambio climático que podrían agravar dichos florecimientos. Zong *et al.* (2019), utilizando imágenes satelitales Landsat de series temporales de Google Earth Engine, estudiaron 30 grandes lagos y 10 embalses de la cuenca media-baja del río Yangtze, descubriendo que todos los embalses y más del 60% de los lagos exhibían una frecuencia y un área de cobertura crecientes de floraciones cianobacterianas bajo las presiones del cambio climático, las altas temperaturas y las interferencias antropogénicas, siendo los embalses los más propensos a verse afectados por el consumo de fertilizantes de sus alrededores regionales que los lagos.

2.2.1.3 Aumento en las concentraciones de CO₂

Es probable que las crecientes concentraciones de CO₂ en la atmósfera afecten a muchos ecosistemas en todo el mundo. Sandrini *et al.* (2016), concluyeron que el aumento de las concentraciones de carbono induce cambios adaptativos rápidos en la composición del genotipo de las floraciones de cianobacterias dañinas. El agotamiento del CO₂ disuelto por densas floraciones de cianobacterias crea un gradiente de concentración a través de la interfaz aire-agua. Un gradiente más pronunciado a concentraciones elevadas de CO₂ atmosférico conducirá a una mayor afluencia de CO₂, que puede ser interceptada por las floraciones que habitan en la superficie, intensificando así las floraciones de cianobacterias y aumentando las concentraciones de cianotoxinas en aguas eutróficas. Las cianobacterias formadoras de

florecimientos muestran una diversidad inesperada en las respuestas de CO₂, porque diferentes cepas combinan sus sistemas de absorción de CO₂ y bicarbonato de diferentes maneras. Por lo tanto, la composición genética de las floraciones de cianobacterias puede cambiar. En particular, las cepas con sistemas de absorción de carbono de alto flujo pueden beneficiarse del aumento anticipado en la disponibilidad de carbono inorgánico. Los modelos y estudios de lagos indican que la respuesta del crecimiento de cianobacterias a las crecientes concentraciones de CO₂ y las temperaturas elevadas puede suprimirse mediante la limitación de nutrientes. Por lo que se espera que la mayor respuesta de las floraciones de cianobacterias al cambio climático ocurra en lagos eutróficos e hipertróficos (Visser *et al.*, 2016).

2.2.1.4 Intensidad y calidad de luz

La intensidad y la calidad de la luz son otros factores importantes en el crecimiento del fitoplancton. El fitoplancton puede realizar la fotosíntesis, utilizando los pigmentos Chl-a y -b, por lo que, a una cierta intensidad de luz, dependiendo de la especie, las algas estarán en máxima productividad. Los pigmentos también son sensibles a longitudes de onda específicas: luz azul y roja. Usando dos especies como ejemplo, *Aphanizomenon flos-aquae* es menos dependiente de la luz que *Dolichospermum flos-aquae*, por lo que en situaciones donde hay menos luz, *A. flos-aquae* estaría en la producción máxima. El mecanismo de captación de luz de las cianobacterias es diferente al de las algas eucariotas y contiene ficobiliproteínas, que permiten que las cianobacterias absorban la luz de un amplio espectro. En el entorno de luz que cambia rápidamente, las cianobacterias tienen un mecanismo de fotoadaptación, que reduce el número de mecanismos de recolección y convierte la energía en calor. También existe un mecanismo fotoprotector que utilizan las cianobacterias: el mecanismo de disipación de energía. También tienen un mecanismo de fotoprotección UV: aminoácidos similares a las micosporinas y escitonemina que absorbe la luz UV y les ayuda a sobrevivir con un alto nivel de irradiancia (Benayache *et al.*, 2019).

2.2.1.5 pH

Las fluctuaciones del pH de un cuerpo de agua también influyen en la predominancia de unas u otras especies de cianobacterias. Cuanto mayor es el pH, mayor diversidad de cianobacterias se puede encontrar con una prevalencia de no fijadores (*Microcystis spp.*), mientras que los fijadores de N son más dominantes a pH bajo (Benayache *et al.*, 2019).

2.2.1.6 Tipo de cuerpo de agua

Esto se considera un factor vital para el dominio de las especies de cianobacterias y está recibiendo gradualmente mucha atención debido a la evolución frecuente de las CHABs. El comportamiento de las especies de cianobacterias puede diferir completamente en diferentes columnas de agua. Varias investigaciones indicaron que lagos poco profundos eran propicios para *Microcystis sp.*, *Aphanizomenon sp.* y *Cylindrospermopsis sp.*, mientras que algunos lagos profundos favorecen a *Planktothrix sp.* También se descubrió que la reducción del nivel del agua o el secado temporal pueden no favorecer la formación de CHABs, mientras que el aumento del nivel del agua puede promover su desarrollo. Los resultados sugieren que la profundidad del agua, la morfometría, el tiempo de retención del agua y la calidad del agua de entrada pueden explicar el dominio de las especies de cianobacterias que conducen a la aparición de las floraciones (Massey *et al.*, 2020).

2.2.2 Factores bióticos

2.2.2.1 Vesículas de gas

Las especies de cianobacterias tienen numerosas adaptaciones fisiológicas que les permiten aprovechar los nutrientes y la luz de manera diferencial. Algunas especies pertenecientes a los géneros *Microcystis*, *Anabaena*, *Planktothrix*, *Aphanizomenon* y *Cylindrospermopsis*, entre otras, poseen vesículas de gas que les proporcionan flotabilidad y movimiento vertical a través de la columna de agua y, por lo tanto, pueden dominar eficazmente otras algas

planctónicas pelágicas para obtener luz solar y nutrientes disponibles. Esta capacidad fisiológica confiere una ventaja ecológica sustancial a estas especies, ya que pueden congregarse en una masa densa en la columna de agua de los lagos estratificados y moverse hacia arriba y hacia abajo en la columna de agua para maximizar la fotosíntesis en las capas superficiales donde hay más radiación fotosintéticamente activa y para absorber nutrientes en capas oscuras más profundas donde la concentración de nutrientes es mayor (Benayache *et al.*, 2019).

2.2.2.2 Fijación de nitrógeno

La fijación de nitrógeno, la conversión bioquímica de N atmosférico (N₂) "inerte" en amoníaco (NH₃) biológicamente disponible. A través de su larga historia evolutiva, las cianobacterias han desarrollado adaptaciones bioquímicas y estructurales, así como asociaciones bióticas para optimizar la fijación de N₂ mientras dependen de la fotosíntesis oxigénica para proporcionar energía y compuestos orgánicos de carbono (C) para apoyar el metabolismo y el crecimiento. Las adaptaciones incluyen (1) limitar la fijación de N₂ en la noche, cuando la fotosíntesis está "apagada", (2) formar colonias y agregados para reducir la iluminación y formar "microzonas" bajas en O₂, (3) participar como endosimbiontes en asociaciones biológicas y (4), formando heterocistos (células no fotosintéticas, libres de O₂) en algunos taxones filamentosos, lo que permite que la fijación de N₂ continúe mientras se reciben fotorreductores y C orgánico a través de la fotosíntesis de las células adyacentes. Estas adaptaciones les ofrecen una ventaja ecológica sobre otras especies fitoplanctónicas (Paerl, 2017).

2.2.2.3 Exopolisacáridos

Muchas cianobacterias y algas verdes están rodeadas por una cubierta mucilaginosa especial alrededor de sus células o filamentos. El análisis químico reveló que estos se componen principalmente de carbohidratos producidos y secretados fuera de la célula y se denominan exopolisacáridos (EPS). Estos EPS forman diferentes tipos de capas alrededor de las células

dependiendo de la especie y se denominan limos, vainas y/o cápsulas (Fig. 2); sin embargo, estas terminologías no se siguen estrictamente. Se informa que la producción de polisacáridos exocelulares responde a cambios en varios factores externos, como la temperatura, la concentración de nitrógeno o la irradiación de luz (Kumar *et al.*, 2018).

En la naturaleza, los EPS de cianobacterias puede desempeñar una variedad de funciones, como la adhesión, la estructura, la protección contra el estrés abiótico, los procesos de biometeorización, la motilidad deslizante y los depósitos de nutrientes en biopelículas fototróficas o costras biológicas del suelo. La cantidad y compacidad de los carbohidratos puede ayudar a clasificar los diferentes tipos de polisacáridos unidos a las células. Las vainas y cápsulas son más compactas que tienen como objetivo proteger el ambiente celular, del estrés abiótico o biótico, mientras que las excreciones de baba son menos compactas y permiten que las cianobacterias tengan motilidad deslizante (Cruz *et al.*, 2020).

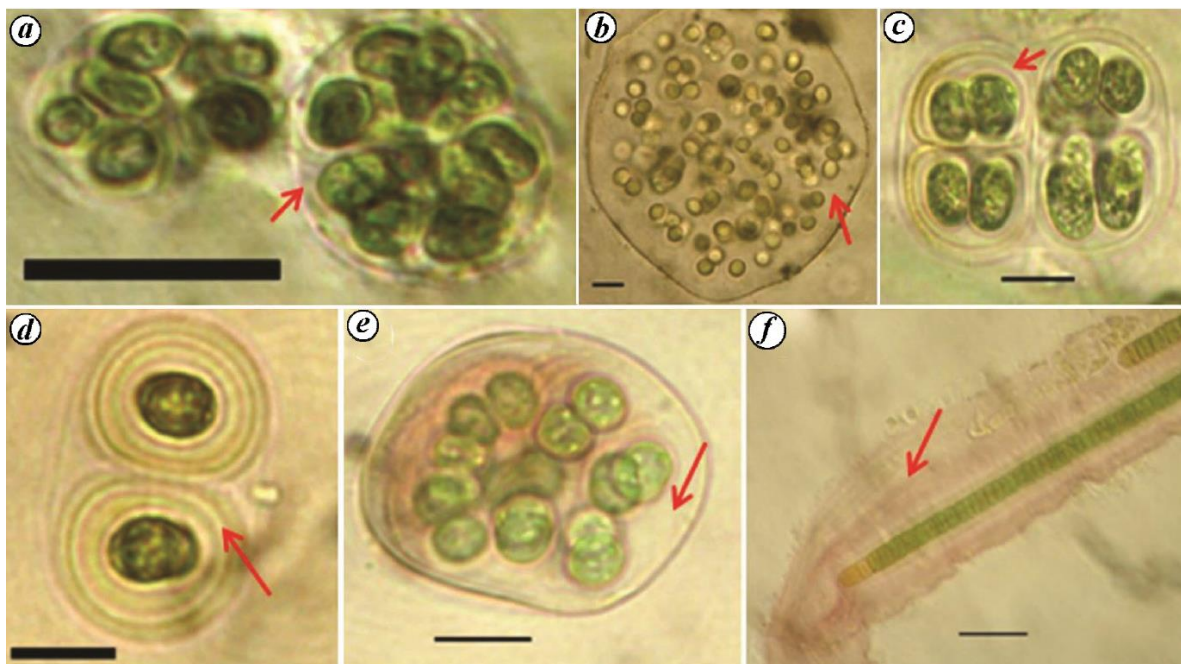


Fig. 2. EPS en cianobacterias: a, *Aphnanothece saxicola*; b, *Aphanocapsa gravillei*; c, *Gloeocapsa caldariorum*; d, *Gloeotheca rupestris*; e, *Asterocapsa submerse*; f, *Porphyrosiphon notarisii*. Escala de la barra = 10 μm . Fuente: Kumar *et al.*, 2018.

2.2.2.4 Actividad alelopática

El término “alelopatía” fue utilizado originalmente por Molish en 1937 para describir las interacciones bioquímicas entre plantas en ambientes terrestres. En 1984, Rice definió la alelopatía como cualquier efecto directo o indirecto, negativo o positivo de sustancias químicas, producidas y secretadas por plantas y microorganismos, sobre otras plantas y microorganismos. Esta definición fue desarrollada aún más por la *International Allelopathy Society* (IAS) en 1996. Según IAS, el término “alelopatía” se refiere a cualquier proceso inducido por metabolitos secundarios producidos por bacterias, hongos, algas y plantas, que afecta el crecimiento y desarrollo de sistemas biológicos y agrícolas. La alelopatía, sin embargo, no se limita a los ambientes terrestres. Las interacciones causadas por los aleloquímicos son generalizadas y comunes en los hábitats de agua dulce, salobre y marina. En ambientes acuáticos, los aleloquímicos pueden funcionar como agentes capaces de incapacitar o matar a los competidores. Por lo general, la influencia es negativa y el efecto más común observado es la inhibición del crecimiento de las especies objetivo (Žak y Kosakowska, 2016).

Una de las principales razones detrás del interés en la alelopatía acuática es que los metabolitos secundarios bioactivos podrían ser uno de los factores clave que promueven el predominio de la proliferación de algas nocivas marinas y de agua dulce. Las cianobacterias, por ejemplo, se consideran una fuente de una gran variedad de sustancias con potencial bioactivo, los compuestos alelopáticos aislados de éstas incluyen péptidos de bajo peso molecular, fenoles, ácidos grasos, polisacáridos, terpenoides y alcaloides, que afectan a otras *Cyanophyta*, algas eucariotas, bacterias, zooplancton, plantas superiores, peces y mamíferos. Estos efectos están regulados por diversas condiciones abióticas y bióticas, como la disponibilidad de nutrientes, la temperatura y la intensidad de la luz, pero también la densidad celular y la fase de crecimiento de la comunidad cianobacteriana. Se han demostrado consecuencias ecológicas como la disminución de la biodiversidad y la acumulación de toxinas en la cadena alimentaria (Žak y Kosakowska, 2016; Pei *et al.*, 2018).

2.3 Géneros de cianobacterias formadoras de florecimientos tóxicos

Como se mencionó anteriormente, existe una amplia variedad de géneros de cianobacterias formadoras de florecimientos tóxicos, tanto en cuerpos de agua dulce como en el mar. Sin embargo, en la presente investigación solo se estudiaron los géneros *Microcystis* y *Anabaena*.

2.3.1 Género *Microcystis*

El género *Microcystis* es uno de los formadores de florecimientos más comunes en los sistemas de agua en todos los continentes excepto en la Antártida. Una actualización sobre la distribución geográfica global de las floraciones de *Microcystis* mediante una búsqueda bibliográfica de registros de 257 países y territorios informa su presencia en 108 países, confirmando la presencia de microcistinas en 79 países (Fig. 3) (Harke *et al.*, 2016).

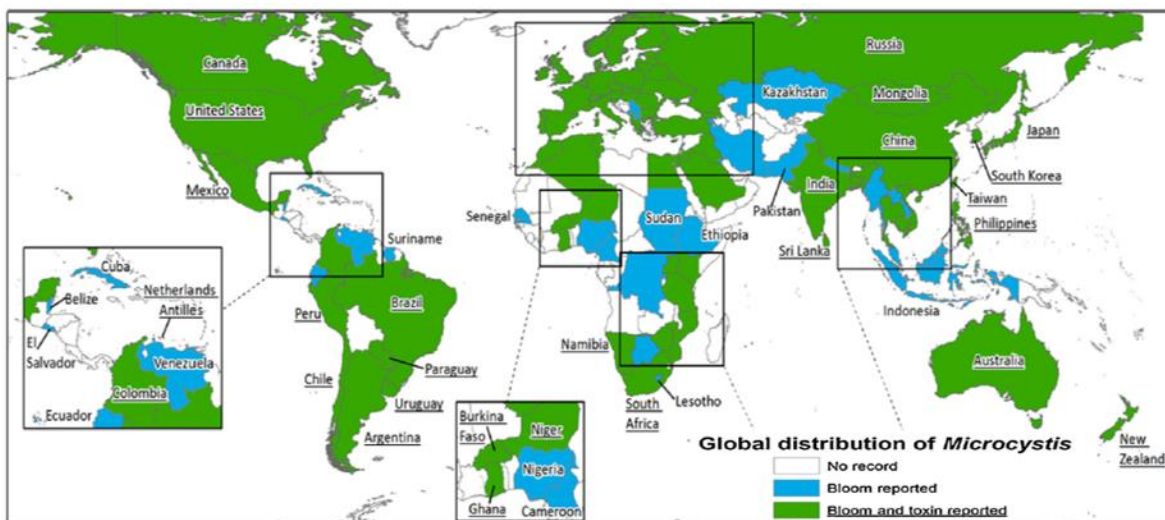


Fig. 3. Ocurrencia global de florecimientos de *Microcystis* y presencia de microcistina.

Fuente: Adaptado de Harke *et al.*, 2016.

Microcystis puede producir un conjunto de compuestos potencialmente dañinos que incluyen microcistina, existiendo al menos 246 variantes diferentes, siendo microcistina-LR (MC-LR) la más común y potente, seguida de la MC-RR y la MC-YR, anatoxina-a (ANTX-a) y la beta-metilamino-L-alanina (BMAA). Sin embargo, no todas las células de *Microcystis* producen

microcistinas ya que las poblaciones de los florecimientos generalmente están compuestas por cepas productoras y no productoras. Existe evidencia que indica que el cambio climático global en los ecosistemas acuáticos, el aumento de la temperatura, la carga de nutrientes y las concentraciones de CO₂ afectarán el dominio y la toxicidad de *Microcystis* (Chen *et al.*, 2016; Huisman *et al.*, 2018). Se ha observado que *Microcystis* tiene importantes efectos alelopáticos sobre el fitoplancton, lo que contribuye significativamente a su éxito competitivo. Wang *et al.* (2017), demostraron que los exudados de *M. aeruginosa* inhibieron significativamente el crecimiento de las algas verdes *Scenedesmus quadricauda* y *Chlorella pyrenoidosa* y de la diatomea *Cyclotella meneghiniana*.

2.3.2 Género *Anabaena*

Anabaena es un género ubicuo de agua dulce que se encuentra en todo el mundo, pero que generalmente prevalece en cuerpos de agua lénticos como lagos, embalses, ríos que dejan de fluir y presas. *Anabaena* es un diazótrofo filamentosos que pertenece al orden de los *Nostocales* y que forma *akinetes*. Algunas especies de este género producen las toxinas MC, ANTX-a, anatoxina-a(S) y cilindrospermopsina (CYN), mientras que otras, principalmente *Anabaena circinalis*, producen una saxitoxina (STX). Como diazótrofo, *Anabaena* es tolerante a condiciones de nitrógeno bajo, pero es sensible a la mezcla y a la poca luz, utilizando la regulación de la flotabilidad para contrarrestar esta sensibilidad. Además, esta capacidad fisiológica permite a *Anabaena* superar a los fijadores que no son de nitrógeno e incluso otros diazótrofos como *Aphanizomenon*. Hay dos especies principales formadoras de CHABs, *A. circinalis* y *A. flos-aquae*. El fósforo parece ser un nutriente limitante clave para las floraciones superficiales de este género. Además, se ha observado que tanto la tasa de crecimiento como las concentraciones intracelulares de MC aumentan con el aumento de las concentraciones de fósforo (O'Neil *et al.*, 2012).

El aumento de la temperatura es uno de los principales factores que se ha propuesto como beneficioso para las cianobacterias, tanto directa como indirectamente al aumentar la estratificación térmica, existe evidencia de que estos procesos promoverán específicamente

a *Anabaena*. La fuerte estratificación que minimiza la disponibilidad de nutrientes remineralizados en las aguas superficiales debería favorecer a los diazótrofos como *Anabaena* y también favorece específicamente su fisiología debido a su capacidad para controlar la flotabilidad en la columna de agua. Finalmente, la temperatura también tendrá impactos fisiológicos diferenciales en el fitoplancton. O'Neil *et al.* (2012), descubrieron que el aumento de la temperatura del agua de 18 a 23 °C aumenta el rendimiento fotosintético de *Anabaena* en comparación con las cianobacterias *Microcystis* y *Arthrospira*.

2.4 Actividades bioquímicas de las cianobacterias y su relación con las Especies Reactivas de Oxígeno

2.4.1 Especies Reactivas de Oxígeno

Las especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés para *Reactive Oxygen Species*) se generan en los cloroplastos, peroxisomas, citosol y mitocondrias y son un subproducto de la respiración (Fig. 4). Las ROS se producen en las membranas tilacoides cuando la absorción de luz supera el requisito del aparato fotosintético. El fotosistema I (PSI, por sus siglas en inglés para *Photosystem I*) es la principal fuente de producción de ROS debido a la finalización de la transferencia de electrones en la membrana tilacoide en su lado estromal. El fotosistema II (PSII, por sus siglas en inglés para *Photosystem II*) provoca la producción de ROS cuando se limita el suministro de energía de excitación al centro de reacción del PSII y la cadena de transporte de electrones entre los fotosistemas. La actividad de ROS disminuye en el orden $\text{HO}^{\bullet} > {}^1\text{O}_2 > \text{H}_2\text{O}_2 > \text{O}_2^{\bullet -}$ (radical hidroxilo, oxígeno singlete, peróxido de hidrógeno, radical anión superóxido, respectivamente) en ambientes biológicos (Rezayian *et al.*, 2019).

El HO^{\bullet} puede crear una escisión homolítica del agua ($\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HO}^{\bullet} + \text{H}^{\bullet}$). Los radicales HO^{\bullet} atacan rápidamente a las proteínas y lípidos y provocan una lesión oxidativa. El desequilibrio entre la homeostasis pro-oxidante y antioxidante aumenta las ROS y el daño oxidativo. Las ROS interrumpen la función celular mediante la peroxidación de lípidos, oxidando proteínas y dañando los ácidos nucleicos. El ${}^1\text{O}_2$ contrarresta los principales compuestos biológicos,

como los ácidos grasos insaturados de los lípidos de la membrana y es electrofílico. El H_2O_2 se produce al disminuir el oxígeno en dos electrones. La superóxido dismutasa provoca la generación de H_2O_2 por dismutación de $\text{O}_2^{\cdot-}$. El oxígeno molecular (O_2) reacciona con el estado excitado singlete o triplete de una molécula de pigmento y produce $^1\text{O}_2$ en los tejidos fotosintéticos (Rezayian *et al.*, 2019).

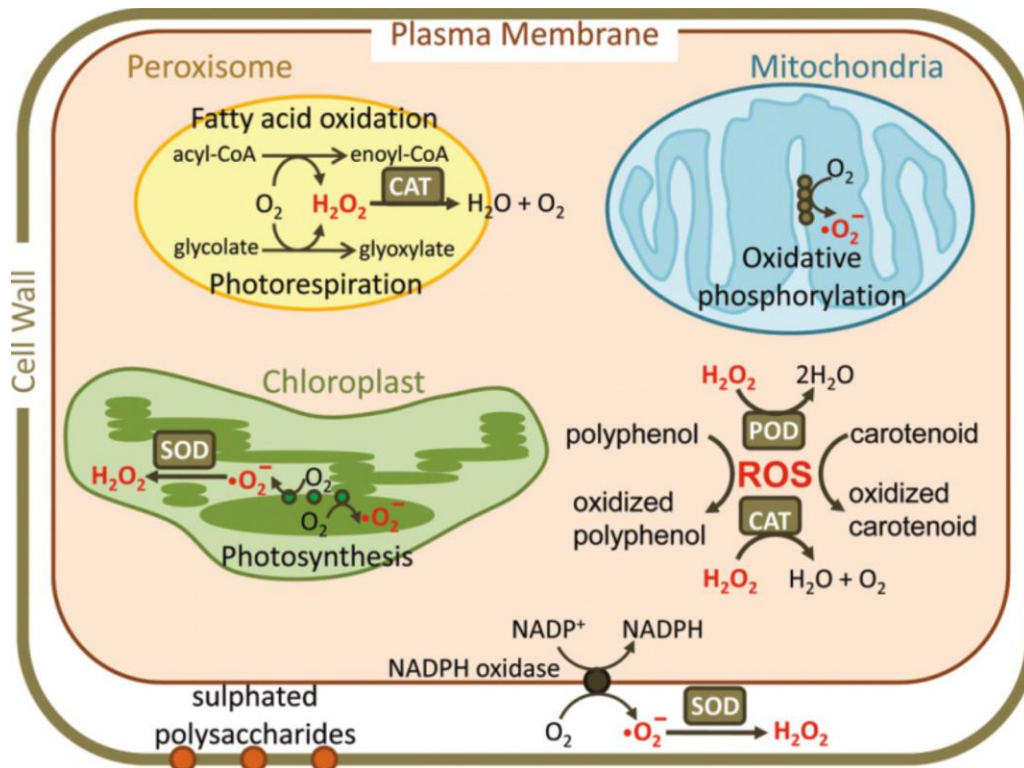


Fig. 4. Vías celulares de la producción de ROS en microalgas. El reciclaje de glicolato de la fotorrespiración produce H_2O_2 en los peroxisomas. La oxidación de ácidos grasos puede ocurrir en los peroxisomas de microalgas y también producir H_2O_2 . La catalasa está presente en los peroxisomas para mitigar el H_2O_2 producido. La fosforilación oxidativa en las mitocondrias tiene $\text{O}_2^{\cdot-}$ producido por la ubiquinona en la cadena de transporte de electrones. Con la fotosíntesis, el PSI produce $\text{O}_2^{\cdot-}$ en el estroma de los cloroplastos cuando el NADP es limitante y el PSII puede transferir electrones al agua de manera inadecuada y liberar $\text{O}_2^{\cdot-}$ en el tilacoide. En el citosol, la catalasa y las peroxidasas neutralizan el H_2O_2 y los polifenoles y carotenoides son oxidados por las ROS. La NADPH oxidasa en la membrana plasmática es otra fuente de $\text{O}_2^{\cdot-}$ (Cirulis *et al.*, 2013).

2.4.2 Sistema antioxidante enzimático y no-enzimático

La enzima superóxido dismutasa (SOD) es un importante antioxidante enzimático en los organismos y es la primera línea de defensa que afecta la toxicidad de las ROS (Wen *et al.*, 2018). Una vez que se produce $O_2^{\cdot -}$ un precursor de ROS, la SOD podría jugar un papel importante en la eliminación de $O_2^{\cdot -}$ para reducir el daño celular. Cataliza la dismutación de $O_2^{\cdot -}$ y da como resultado la producción de H_2O_2 y O_2 (Li *et al.*, 2016; Rodríguez *et al.*, 2016). Una disminución de la actividad de la SOD reduce la capacidad de desintoxicación de O_2 , provocando daños en la primera línea de defensa de las células algales. La interrupción de la actividad de la SOD es considerada como una clave para la inhibición del crecimiento de algunas especies de cianobacterias como *M. aeruginosa* (Wen *et al.*, 2018).

De manera similar, las enzimas peroxidasa (POD) y catalasa (CAT) tienen un papel clave en la prevención del daño oxidativo celular, al catalizar la reacción en la que el H_2O_2 se puede convertir en moléculas de O_2 y H_2O inofensivas, evitando así los efectos nocivos de los radicales oxidativos y los procesos de iniciación de la peroxidación lipídica. El exceso de ROS puede provocar lesiones celulares graves e incluso la muerte, por lo que es de gran importancia mantener la acción normal del sistema de defensa antioxidante celular (Li *et al.*, 2016; Ni *et al.*, 2015; Rodríguez *et al.*, 2016).

El glutatión reducido (GSH) es un importante antioxidante no enzimático que no solo está vinculado a la desintoxicación de H_2O_2 en el ciclo de ascorbato-glutatión, sino que también desempeña un papel en la protección de proteínas contra la desnaturalización al eliminar los radicales libres. El aumento del contenido de GSH puede indicar que la producción de H_2O_2 se ha incrementado, también implica que el GSH está participando en la reacción del sistema de defensa antioxidante contra el estrés. Sin embargo, el contenido de GSH puede disminuir drásticamente debido a la acumulación continua de las ROS (Li *et al.*, 2016; Wen *et al.*, 2018).

Se ha informado que el ácido ascórbico actúa como antioxidante no enzimático y funciona como un cosustrato de peroxidasas vegetales, como el sistema de ascorbato peroxidasa que

produce deshidroascorbato. El ácido ascórbico también actúa como un inhibidor efectivo de O_2^{+} , 1O_2 y H_2O_2 (Ni *et al.*, 2012a).

2.4.3 Síntesis de proteínas

Las proteínas juegan un papel importante dentro de las células. Quizás el papel más conocido de las proteínas es como enzimas, que facilitan las reacciones bioquímicas en el metabolismo celular. Entonces, el contenido de proteína soluble podría reflejar la actividad del metabolismo celular. La deficiencia de proteínas afectaría o alteraría el funcionamiento normal del metabolismo fisiológico, incluso resultando en la muerte de las cianobacterias, siendo uno de los principales mecanismos inhibidores de éstas (Ni *et al.*, 2012a).

2.4.4 Actividad fotosintética

En la fotosíntesis cianobacteriana, el pigmento absorbente de luz más relevante es la Chl-a, que tiene una absorbancia máxima a 420-460 nm y 670-700 nm. El complejo de antena ficolibosomas, además, absorbe entre 550-680 nm. El PSI También contiene un complejo de antenas menores que se ha demostrado que se ha cambiado de rojo a ~710-730 nm. La energía se transfiere de manera eficiente de las antenas a los centros de reacción del PSII y PSI (P_{680} y P_{700} , respectivamente). En este proceso ligero, los electrones del agua se transfieren secuencialmente a través de una serie de especies redox para finalmente reducir la $NADP^+$ a utilizar para la fijación de carbono. Se crea un gradiente de motivos protones entre el lumen de la membrana tilacoide y el citoplasma, lo que resulta en la transferencia de electrones acoplados a protones, que sirve como la fuerza motriz para la producción de ATP (Saper *et al.*, 2016).

2.4.5 Peroxidación lipídica

Los lípidos, como componentes clave de la membrana, son el objetivo principal de las ROS y conducen a la peroxidación de los lípidos al eliminar el hidrógeno de la cadena insaturada de ácidos grasos. Por tanto, la peroxidación de lípidos determina los daños celulares en el organismo vivo sometido a estrés oxidativo. La peroxidación lipídica produce una amplia variedad de productos citotóxicos a partir de ácidos poliinsaturados como el MDA y los aldehídos. Por lo tanto, el nivel de MDA es un índice importante que refleja indirectamente la magnitud del daño oxidativo. Los cloroplastos tienen un sistema compuesto de membranas ricas en ácidos grasos poliinsaturados, que son los principales objetivos de la peroxidación, sometiendo a las células cianobacterianas a un estrés oxidativo grave (Li *et al.*, 2016; Rezayian *et al.*, 2019).

Cuando la concentración de agentes exógenos, como ROS y aleloquímicos, supera el rango de tolerancia de las cianobacterias, los sistemas antioxidantes se dañan significativamente. El sistema inmune de las cianobacterias no puede hacer frente a la interferencia y es destruido. Por lo tanto, las cianobacterias sufren una peroxidación lipídica, lo que causa daños considerables y la muerte (Wen *et al.*, 2018).

2.4.6 Oxidación de proteínas

Las ROS provocan la oxidación de los aminoácidos, el cambio de la carga eléctrica de las proteínas, la ruptura de la cadena peptídica, el entrecruzamiento de proteínas y aumentan la susceptibilidad a la proteólisis por las proteasas. Los residuos de cisteína y metionina son principalmente más susceptibles a la oxidación. La oxidación de restos de metionina o grupos sulfhidrilo conduce a alteraciones conformacionales, proteínas de desdoblamiento y degradación. Las ROS generan enlaces disulfuro entre aminoácidos que contienen azufre y destruyen la función y estructura de las proteínas. Las proteínas oxidadas provocan una disfunción celular que hace necesaria su eliminación. Normalmente son reconocidos y degradados por complejos proteasomales. Si las proteínas oxidadas no se eliminan, se recolectan y cambian la función celular (Rezayian *et al.*, 2019).

2.4.7 Oxidación del ADN

Los OH^+ atacan a la base y al sacárido en el ADN y provocan la fragmentación del sacárido y la rotura de la hebra. Las roturas de hebras son más destructivas y letales que el daño básico en las células. Las ROS pueden provocar alteraciones en las bases del ADN, por ejemplo, los residuos de timina y guanina en el ADN pueden hidroxilarse o degradarse. La oxidación de los residuos de timina detiene la replicación por la ADN polimerasa y la transcripción por la ARN polimerasa (Rezayian *et al.*, 2019).

El daño en el sistema de transferencia de electrones puede dar lugar a la formación de ROS, como el $\text{O}_2^{+ -}$, H_2O_2 y OH^+ , y luego puede causar daños por peroxidación tanto en el plasmalema como en las membranas intracelulares, que finalmente conducen a disfunción celular y muerte. En condiciones normales, las células tienen procesos específicos de protección antioxidante para combatir el peligro que representan las ROS en cierta medida, de modo que las células vivas puedan mantener un equilibrio dinámico entre la generación y la eliminación de las ROS. Pero los radicales excesivos, si no se eliminan de manera oportuna, pueden finalmente conducir al daño celular y la muerte. Se ha informado que los aleloquímicos de las plantas podrían inducir la producción de ROS y luego producir daños por oxidación en las células de *M. aeruginosa* (Zhang *et al.*, 2011a; Li *et al.*, 2016).

2.5 Métodos para el control de los CHABs

Actualmente, los métodos para el control de los CHABs pueden clasificarse en tres categorías principalmente. Los métodos físicos, químicos y biológicos. Al utilizar extractos de plantas medicinales, el enfoque de esta investigación cae en la categoría de los métodos de control biológicos. Si se desea conocer detalladamente estas tres categorías, consultar la investigación anterior del presente autor en:

<http://repositorio.imta.mx/handle/20.500.12013/2009>

2.5.1 Extractos de plantas terrestres y acuáticas y sus mecanismos de acción

Es bien sabido que tanto los extractos crudos como los compuestos aislados de las plantas pueden ejercer más de un mecanismo de acción a la vez sobre las cianobacterias. Por ejemplo, Yi *et al.* (2012), analizaron 40 plantas medicinales usadas en la medicina tradicional de Asia, encontrando que los extractos de la raíz de *Salvia miltiorrhiza*, del rizoma de *Acorus tatarinowii*, del rizoma de *Polygonum cuspidatum*, de la corteza de *Phellodendron amurense* y de los frutos de *Crataegus pinnatifida*, mostraron los efectos más significativos en la disminución de la densidad celular de *M. aeruginosa* (Tabla 1).

Los extractos acuosos de las hojas de *Achillea ageratum* L., *Origanum compactum*, *Artemisia herba alba* y *Thymus satureioides* inhiben el crecimiento de *M. aeruginosa*, al disminuir la densidad celular, la concentración de Chl-a y al dañar la estructura celular (Tebaa *et al.*, 2017; Tebaa *et al.*, 2018). El extracto etanólico de la corteza de *Ailanthus altissima* disminuye significativamente la densidad celular de *M. aeruginosa*, acelera la lisis celular, destruye la estructura relacionada con la fotosíntesis, disminuye la síntesis de proteínas, la actividad de la SOD, aumenta el contenido de MDA y provoca la liberación de proteínas intracelulares. Además, *A. altissima* disminuye la cantidad de MCs extracelulares (Meng *et al.*, 2015). El extracto acuoso de las hojas de *Dracontomelon duperreanum* inhibe el crecimiento de *M. aeruginosa* al dañar la membrana celular, disminuye la actividad del PSI y PSII y reduce la actividad esterasa (enzimas que existen en todos los organismos y su actividad es una variable útil para la cuantificar la actividad metabólica de las microalgas) (Wang *et al.*, 2016a).

Uno de los géneros de macrófitas acuáticas más ampliamente estudiados para el control de los florecimientos de cianobacterias es *Myriophyllum*, específicamente las especies *M. spicatum* y *M. verticillatum*, las cuales producen una variedad de aleloquímicos como el ácido pirogálico, ferúlico, elágico, gálico, ρ -cumárico, vanílico, ρ -hidroxibenzoico y (+)-catequina, que actúan de manera sinérgica, inhibiendo el crecimiento, causando estrés oxidativo al aumentar el contenido de MDA, dañan irreversiblemente la membrana y la pared celular al aumentar los contenidos del radical $O_2^{\cdot-}$, la peroxidación lipídica, inhiben las actividades de las enzimas fosfatasa alcalina y la esterasa (Švanys *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2016). Otro género es *Potamogeton*, varias especies como *P. crispus*, *P. cristatus*, *P.*

illinoensis, *P. lucens*, *P. maackianus*, *P. malaianus*. *P. pectinatus* y *P. pusillus* han mostrado su efectividad alelopática sobre varias especies de cianobacterias al liberar al medio aleloquímicos como ácidos orgánicos (ácido palmítico, benzoico y láctico) que inhiben el crecimiento de *M. aeruginosa*, *Anabaena variabilis* y *Oscillatoria tenuis* (Wang *et al.*, 2010; Takeda *et al.*, 2011; Pakdel *et al.*, 2013; Ghobrial *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2015).

Tabla 1. Algunas especies de plantas terrestres con efectos anticianobacteriales.

Especie	Extracto	Cianobacteria	Referencia
<i>Achillea ageratum</i>	Acuoso	<i>M. aeruginosa</i>	Tebaa <i>et al.</i> , 2017
<i>Ailanthus altissima</i>	Etanólico	<i>M. aeruginosa</i>	Meng <i>et al.</i> , 2015
<i>Artemisia herba alba</i>	Acuoso	<i>M. aeruginosa</i>	Tebaa <i>et al.</i> , 2018
<i>Cosmos caudatus</i>	Metanólico	<i>Microcystis</i> , <i>Oscillatoria</i> y <i>Anabaena</i>	Sinang <i>et al.</i> , 2019
<i>Dracontomelon duperreanum</i>	Acuoso	<i>M. aeruginosa</i>	Wang <i>et al.</i> , 2016a
<i>Ephedra equisetina</i>	Acuoso	<i>M. aeruginosa</i>	Yan <i>et al.</i> , 2012; Matthijs <i>et al.</i> , 2016
<i>Eucalyptus grandis</i>	Acuoso	<i>M. aeruginosa</i>	Zhao <i>et al.</i> , 2019
<i>Iris tectorum</i>	Acuoso	<i>Microcystis</i>	Cheng <i>et al.</i> , 2017a
<i>Iris wilsonii</i>	Acuoso	<i>M. aeruginosa</i>	Li <i>et al.</i> , 2016
<i>Ligustrum lucidum</i>	Acuoso	<i>M. aeruginosa</i>	Wu <i>et al.</i> , 2014
<i>Melastoma malabathricum</i>	Metanólico	<i>Microcystis</i> , <i>Oscillatoria</i> y <i>Anabaena</i>	Sinang <i>et al.</i> , 2019
<i>Moringa oleifera</i>	Filtrado	<i>M. aeruginosa</i>	Lürling y Beekman, 2010
<i>Origanum compactum</i>	Acuoso	<i>M. aeruginosa</i>	Tebaa <i>et al.</i> , 2017
<i>Phragmites australis</i>	Acuoso	<i>M. aeruginosa</i>	Chicalote <i>et al.</i> , 2017
<i>Polygonum cuspidatum</i>	Metanólico	<i>M. aeruginosa</i>	Yi <i>et al.</i> , 2012
<i>Salix atronicerea</i>	Acuoso	<i>Planktothrix agardhii</i>	Le Rouzic <i>et al.</i> , 2016
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	Metanólico	<i>M. aeruginosa</i>	Yi <i>et al.</i> , 2012; Zhang <i>et al.</i> , 2013b
<i>Thymus satureioides</i>	Acuoso	<i>M. aeruginosa</i>	Tebaa <i>et al.</i> , 2018

2.5.2 Aleloquímicos y sus mecanismos de acción

A diferencia de los extractos crudos, donde se encuentran presentes una extensa familia de compuestos, de las cuales se desconoce el grado de efectividad individual, también existen numerosos reportes donde se ha comprobado que los aleloquímicos individuales y sus mezclas, pueden inhibir el crecimiento de diferentes especies de cianobacterias tóxicas mediante varios mecanismos de acción de manera simultánea (Fig. 5). De acuerdo con las rutas biosintéticas, estos aleloquímicos se pueden clasificar en cuatro categorías principales: polifenoles, compuestos que contienen N, ácidos grasos/ésteres y terpenoides. En la Tabla 2 se enlistan algunos aleloquímicos identificados en plantas acuáticas y terrestres y las especies de cianobacterias objetivo.

2.5.2.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son los aleloquímicos más importantes y comunes y representan un gran grupo de compuestos orgánicos. Son compuestos de arilo cuyas estructuras moleculares contienen al menos un grupo hidroxilo y posiblemente otros sustituyentes unidos directamente al anillo de benceno. Actualmente los compuestos fenólicos están categorizados como fenoles simples, flavonoides, estilbenos, cumarinas, lignanos y taninos, de acuerdo a sus diferentes estructuras. Hasta la fecha, se han identificado alrededor de 8000 metabolitos secundarios naturales pertenecientes a este grupo (Li *et al.*, 2020).

Los ácidos ginkgólicos presentes en la especie *Ginkgo biloba*, causan daño morfológico o lisis en las células de *M. aeruginosa*, inducen daño oxidativo aumentando el contenido de MDA y disminuyen la actividad de la SOD. También inhiben la transcripción de los genes fotosintéticos *psaB*, *psbD* y *rbcL* y de dos genes relacionados con la captación de los nutrientes N y P (*ntcA* y *phoU*). Finalmente, también afectan el contenido de MC y la transcripción de los genes *mcyA*, *mcyD*, y *mcyH* relacionados con ésta (Zhang *et al.*, 2013a). Los ácidos gálico y pirogálico y catecol aumentan el contenido de proteínas, el contenido de azúcar soluble, disminuyen las actividades de la SOD y CAT de *M. aeruginosa*, sugiriendo que la producción de ROS y H₂O₂ se incrementa bajo el estrés causado por los polifenoles,

indicando que las células se dañaron irreversiblemente lo que condujo a la muerte celular (Ni *et al.*, 2013).

El flavonoide eriodictiol detectado en *Eleocharis dulcis* inhibe el crecimiento de *M. aeruginosa*, al disminuir seriamente la actividad de la SOD, CAT y GSH y aumentar el contenido de MDA, provocando un severo estrés oxidativo y la posterior muerte celular (Wen *et al.*, 2018). Leu *et al.* (2002), reportaron que el tanino telimagrandina II inhibió la actividad del PSII de *Anabaena sp.* y *Anabaena variabilis sp.* Además, sus mediciones de la evolución de oxígeno con cianobacterias y clorofitas intactas revelaron que los aleloquímicos pueden atravesar las membranas celulares y llegar a sus sitios objetivo. Esto sugiere que es probable que dicha inhibición se produzca *in situ*.

2.5.2.2 Compuestos que contienen N

En esta categoría se pueden encontrar la familia de los alcaloides y aminoácidos. Los alcaloides son compuestos de bajo peso molecular que contienen nitrógeno y, debido a la presencia de un anillo heterocíclico que contiene un átomo de nitrógeno, son típicamente alcalinos. Estos metabolitos se pueden dividir en diferentes clases según su precursor (por ejemplo, los alcaloides indólicos son alcaloides derivados del triptófano), que abarcan más de 20 clases diferentes (Matsuura y Fett-Neto, 2015). Los aminoácidos son constituyentes de las proteínas y se clasifican ampliamente como tipos esenciales y no esenciales en función de su síntesis en humanos. Los aminoácidos esenciales (leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina, arginina, histidina, triptófano, valina, treonina y lisina) son sintetizados únicamente por las plantas, mientras que los aminoácidos no esenciales (alanina, β -alanina, asparagina, cisteína, glutamina, aspártico ácido, glicina, prolina, serina y tirosina) son sintetizados tanto por plantas como por humanos (Kumar *et al.*, 2017a).

Los alcaloides queleritrina, sanguinarina, berberina y coptisina encontrados en el extracto de *Chelidonium majus* mostraron fuertes efectos inhibitorios sobre *M. aeruginosa* (Jančula *et al.*, 2010). El alcaloide gramina ha sido reportado como uno de los aleloquímicos alguicidas más

potentes, al disminuir drásticamente el contenido de Chl-a, β -caroteno y de las ficobilinas aloficocianina, ficoeritina causando un daño irreparable a la actividad fotosintética de *M. aeruginosa* (Hong *et al.*, 2010). Además, Hong *et al.*, 2009, reportaron que la gramina aumentó significativamente el contenido de ROS, MDA y disminuyó la actividad de la SOD y CAT provocando un severo daño oxidativo en *M. aeruginosa*.

La N-fenil-1-naftilamina provocó una disminución de la actividad de la enzima esterasa y aumentó notablemente las ROS intracelulares, lo que causó serios daños a la estructura celular de *M. aeruginosa*, debido a que este aleloquímico puede biotransformarse en 1,4-naftoquinona, la cual puede inducir una sobreproducción de ROS intracelulares, provocando un grave daño oxidativo (Cheng *et al.*, 2017b). Estudios anteriores como el de Hehmann *et al.* (2002) reportaron que el aminoácido L-lisina fue extremadamente tóxico sobre varias especies de *Microcystis*. Curiosamente, además de la lisina, otros aminoácidos básicos, como la arginina y la ornitina, no afectaron en absoluto el crecimiento de *Microcystis*. También, Takamura *et al.* (2004) indicaron que la L-lisina disminuyó la flotabilidad y el contenido de Chl-a y provocó la lisis celular de dos especies axénicas de *Microcystis*, comprobando estos resultados en tanques experimentales al aire libre, donde la fumigación con L-lisina hizo que desaparecieran las colonias de *Microcystis* en dos días siendo reemplazadas por *Euglena sp.* y/o *Phormidium tenue*.

2.5.2.3 Ácidos grasos/ ésteres

Los ácidos grasos son cadenas largas de hidrocarburos alifáticos que contienen un ácido carboxílico en un extremo y generalmente en forma de ésteres en varios componentes lipídicos, mientras que los ácidos grasos libres son raros en el medio ambiente natural. Hasta el momento, se han aislado más de 100 tipos de ácidos grasos de los organismos vivos, y estos ácidos grasos se pueden dividir en tres tipos según la saturación de la cadena hidrocarbonada: ácidos grasos saturados, ácidos grasos monoinsaturados y ácidos grasos poliinsaturados (Li *et al.*, 2020).

Wang *et al.* (2014) indicaron que *Typha latifolia* y *Arundo donax* contenían los ácidos dodecanoico, tetradecanoico, hexadecanoico, octadecanoico y linoleico, los cuales habían sido reportados anteriormente como potentes agentes alguicidas en contra de *M. aeruginosa*. De manera similar, Nakai *et al.* (2005) reportaron que los ácidos nonanoico, cis-6-octadecenoico y cis-9-octadecenoico inhibieron significativamente el crecimiento de *M. aeruginosa*.

2.5.2.4 Terpenoides

Los terpenoides son el nombre general de una clase de hidrocarburos y sus derivados que contienen oxígeno (por ejemplo, alcoholes, aldehídos, ácidos carboxílicos y ésteres, etc.) que existen en la naturaleza, y sus fórmulas moleculares generales son $(C_5H_8)_n$. Su marco molecular puede considerarse como un polímero de isopreno. Los terpenoides son los tipos más diversos de sustancias naturales con un número total de más de 26,000 especies (Li *et al.*, 2020).

La artemisinina, un terpenoide aislado de *Artemisia annua*, disminuye el contenido de proteína soluble, aumenta la actividad de la SOD y el contenido de ácido ascórbico, lo que sugiere que el mecanismo de acción puede ser el incremento de las ROS en las células de *M. aeruginosa* (Ni *et al.*, 2012a). Además, la artemisinina bloquea la transferencia de electrones en el PSII de *M. aeruginosa* (Ni *et al.*, 2012b). El alcanfor, el α -terpineol y el linalool, tres terpenoides principales en el extracto de las hojas de *Cinnamomum camphora* pueden inhibir el crecimiento celular de *M. aeruginosa* induciendo la degradación del pigmento fotosintético y disminuyendo la eficiencia del PSII (Chen *et al.*, 2018).

Tabla 2. Aleloquímicos identificados en plantas terrestres y acuáticas.

Especie terrestres	Aleloquímicos	Cianobacteria	Referencia
<i>Artemisia annua</i>	Artemisinina	<i>M. aeruginosa</i>	Ni <i>et al.</i> , 2011; Ni <i>et al.</i> , 2012a; Ni <i>et al.</i> , 2012b
<i>Camellia sinensis</i>	Epigallocatequina-3-galato, epicatequina-3-galato	<i>M. aeruginosa</i>	Lu <i>et al.</i> , 2013
<i>Chelidonium majus</i>	Queleritrina, sanguinarina, berberina y coptisina	<i>M. aeruginosa</i>	Jančula <i>et al.</i> , 2010
<i>Cinnamomum camphora</i>	Alcanfor, α -terpineol y linalool	<i>M. aeruginosa</i>	Chen <i>et al.</i> , 2018; Yakefu <i>et al.</i> , 2018
<i>Eleocharis dulcis</i>	Eriodictiol	<i>M. aeruginosa</i>	Wen <i>et al.</i> , 2018
<i>Eupatorium fortune</i>	8,9,10-trihidroxitimol	<i>M. aeruginosa</i>	Pham <i>et al.</i> , 2018
<i>Ginkgo biloba</i>	Ácidos ginkgólicos	<i>M. aeruginosa</i>	Zhang <i>et al.</i> , 2013a
<i>Hordeum vulgare</i>	Ácidos elágico, benzoico, (+)-catequina, floroglucinol, resorcinol, 2-fenilfenol, benzaldehído, ácido 3-metilbutanoico, <i>p</i> -cresol, salcolina A y B.	<i>Microcystis sp.</i>	Macioszek <i>et al.</i> , 2010; Murray <i>et al.</i> , 2010; Xiao <i>et al.</i> , 2014
<i>Ludwigia hexapetala</i>	Prunina	<i>M. aeruginosa</i>	Santonja <i>et al.</i> , 2018
<i>Portulaca oleracea</i>	Ácidos dodecanoico, tetradecanoico, hexadecanoico, linoleico, oleico, octadecanoico, <i>p</i> -hidroxibenzoico, vanílico.	<i>M. aeruginosa</i>	Wang <i>et al.</i> , 2016b
<i>Punica granatum L.</i>	Quercetina y luteonina	<i>M. aeruginosa</i>	Chen <i>et al.</i> , 2019
<i>Rheum palmatum</i>	Aloe-emodina, emodina, crisofanol, reína y reocrisidina	<i>M. aeruginosa</i>	Cao <i>et al.</i> , 2020

Especies acuáticas			
<i>Arundo donax</i> L.	Gramina	<i>M. aeruginosa</i>	Hong <i>et al.</i> , 2010
<i>Potamogeton cristatus</i> , <i>P. maackianus</i> , <i>P. lucens</i> , <i>Vallisneria spinulosa</i> , <i>Ceratophyllum demersum</i>	β -ionona, ácidos dodecanoico, tetradecanoico, hexadecanoico y linoleico, dihidroactinidiolida	<i>M. aeruginosa</i>	Wang <i>et al.</i> , 2015
<i>Hydrilla verticillata</i>	Ácidos cafeico y protocatéquico	<i>M. aeruginosa</i>	Gao <i>et al.</i> , 2011
<i>Myriophyllum spicatum</i>	Ácidos elágico, gálico, pirogálico, nonanoico, cis-6-octadecenoico y cis-9-octadecenoico, (+)-catequina, telimagrandina II.	<i>M. aeruginosa</i>	Nakai <i>et al.</i> , 2000; Leu <i>et al.</i> , 2002; Nakai <i>et al.</i> , 2005
<i>Oryza sativa</i> L.	Ácidos felúrico, salicílico, siríngico y benzoico, β -sitosterol- β -D-glucósido, dicitlohexanil orizano y oleoil- β -D-arabinósido	<i>M. aeruginosa</i>	Park <i>et al.</i> , 2006; Park <i>et al.</i> , 2009; Ahmad <i>et al.</i> , 2013
<i>Phragmites communis</i> Tris.	2-metilacetoacetato de etilo	<i>M. aeruginosa</i>	Li <i>et al.</i> , 2005
<i>Typha latifolia</i> L.	β -sitosterol, (20S) 24-metilenofenol y estigmast-4-eno-3,6-diona, ácido α -linolénico y linoleico.	<i>Anabaena flosaquae</i>	Aliotta <i>et al.</i> , 1990
<i>Vallisneria spiralis</i> L.	2-etil-3-metilmaleimida, dihidroactinidiolida, 4-oxo- β -ionona, 3-hidroxi-5,6-epoxi- β -ionona, loliolida y 6-hidroxi-3-oxo- α -ionona	<i>M. aeruginosa</i>	Xian <i>et al.</i> , 2006

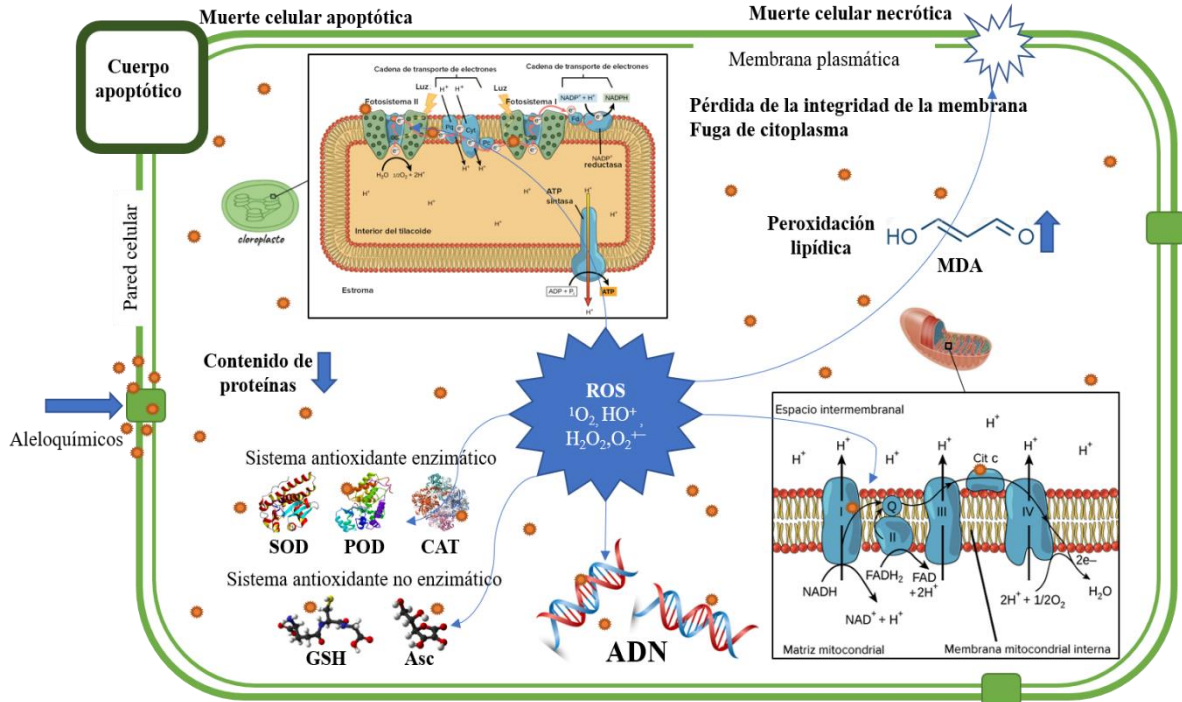


Fig. 5. Diagrama esquemático del mecanismo alelopático en células de microalgas. (a) Los aleloquímicos atacan la membrana plasmática y penetran en el citoplasma; (b) Los aleloquímicos alteran la actividad fotosintética y generan un exceso de ROS; (c) Las ROS intracelulares inducidas por aleloquímicos activan y arruinan el sistema antioxidante; (d) Las ROS destruyen aún más la membrana celular provocando una fuga de inclusión celular; (e) Los aleloquímicos y las ROS alteran la expresión génica y varios procesos de biosíntesis esenciales; (f) Los aleloquímicos y las ROS interfieren en la respiración celular; (g) Los aleloquímicos y las ROS desintegran el PS; (h) Los aleloquímicos y las ROS interrumpen la síntesis de proteínas. Fuente: Adaptado de Zhu *et al.*, 2021.

2.6 Concentración efectiva media (CE₅₀)

La concentración efectiva media o de inhibición media (CE₅₀), es la concentración de una sustancia que presenta algún efecto en el 50% de los organismos expuestos (Vázquez *et al.*, 2018), este valor puede ser útil para determinar la eficiencia de un extracto o un aleloquímico sobre las cianobacterias (Fig. 6 y Fig. 7). Por ejemplo, los extractos de algunas macrófitas acuáticas como el de *A. calamus* mostraron valores de CE₅₀ similares sobre *M. aeruginosa*,

Aphanizomenon flosaquae y *Anabaena flosaquae*, 13.59, 14.87 y 19.73 mg/L, respectivamente. De manera similar, la CE₅₀ de *O. javanica* sobre *Aphanizomenon flosaquae* y *Anabaena flosaquae* fue de 13.57 y 12.38 mg/L, respectivamente. Sin embargo, *M. aeruginosa* resultó ser más sensible al extracto de *S. sagittifolia* que *Anabaena flosaquae*, con valores de CE₅₀ de 9.23 y 26.69 mg/L, respectivamente (Zhang *et al.*, 2015). Algunas especies terrestres han mostrado diferencias significativas en el grado de inhibición dependiendo del disolvente empleado en la extracción. Por ejemplo, la CE₅₀ de los extractos de acetato de etilo, de éter de petróleo y de etanol de *C. canadensis* sobre *M. aeruginosa* fue de 31.5, 111.5 y 250 mg/L, respectivamente. Cuando se analizó a *E. annuus*, se observó que la CE₅₀ fue de 24.3, 200 y 95 mg/L, respectivamente. Finalmente, *A. annua*, mostró valores de CE₅₀ de 121, 143 y 275 mg/L, respectivamente (Ni *et al.*, 2011).

Por otro lado, el uso de aleloquímicos puros y algunas mezclas ha mostrado tener un mayor grado de efectividad en comparación con los extractos crudos, es decir, que pueden inhibir el crecimiento de las cianobacterias a concentraciones más bajas que las observadas con los extractos crudos. Por ejemplo, los alcaloides queleritrina, sanguinarina, berberina y cospitina mostraron valores de CE₅₀ de 0.57, 0.29, 0.27 y 0.54 mg/L sobre *M. aeruginosa*, respectivamente (Jančula *et al.*, 2010) (Fig. 7). De manera similar, el terpenoide artemisinina presentó un valor de CE₅₀ de 3.2 mg/L sobre *M. aeruginosa* (Ni *et al.*, 2012a).

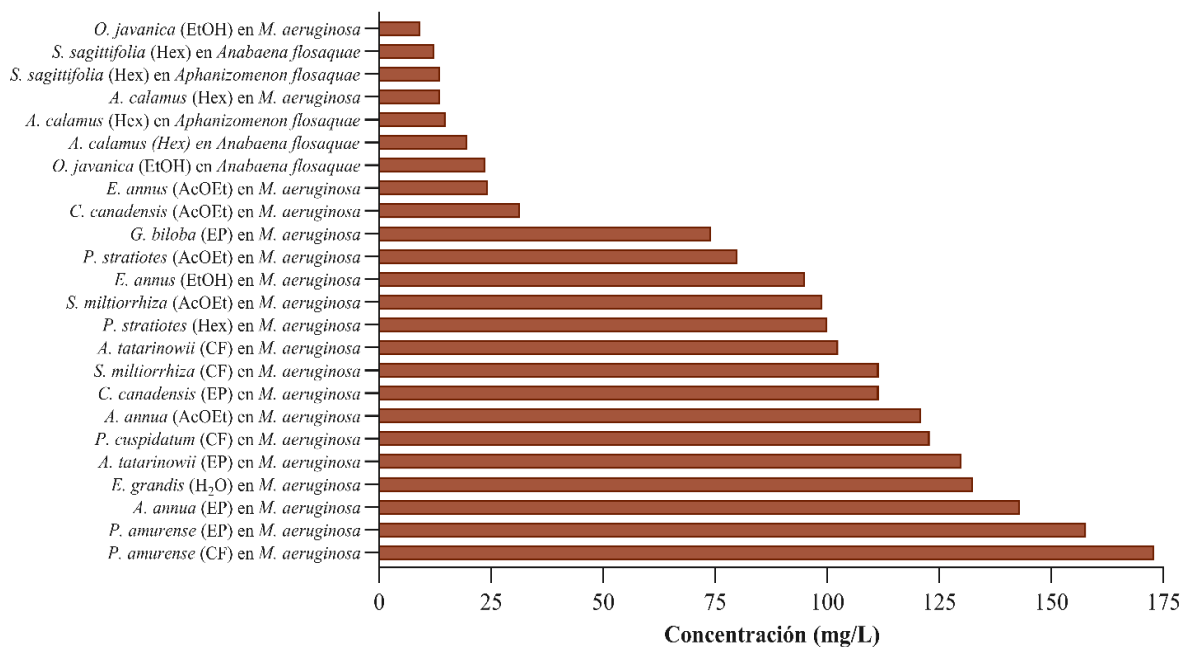


Fig. 6. CE₅₀ de extractos de plantas acuáticas y terrestres sobre algunas cianobacterias.

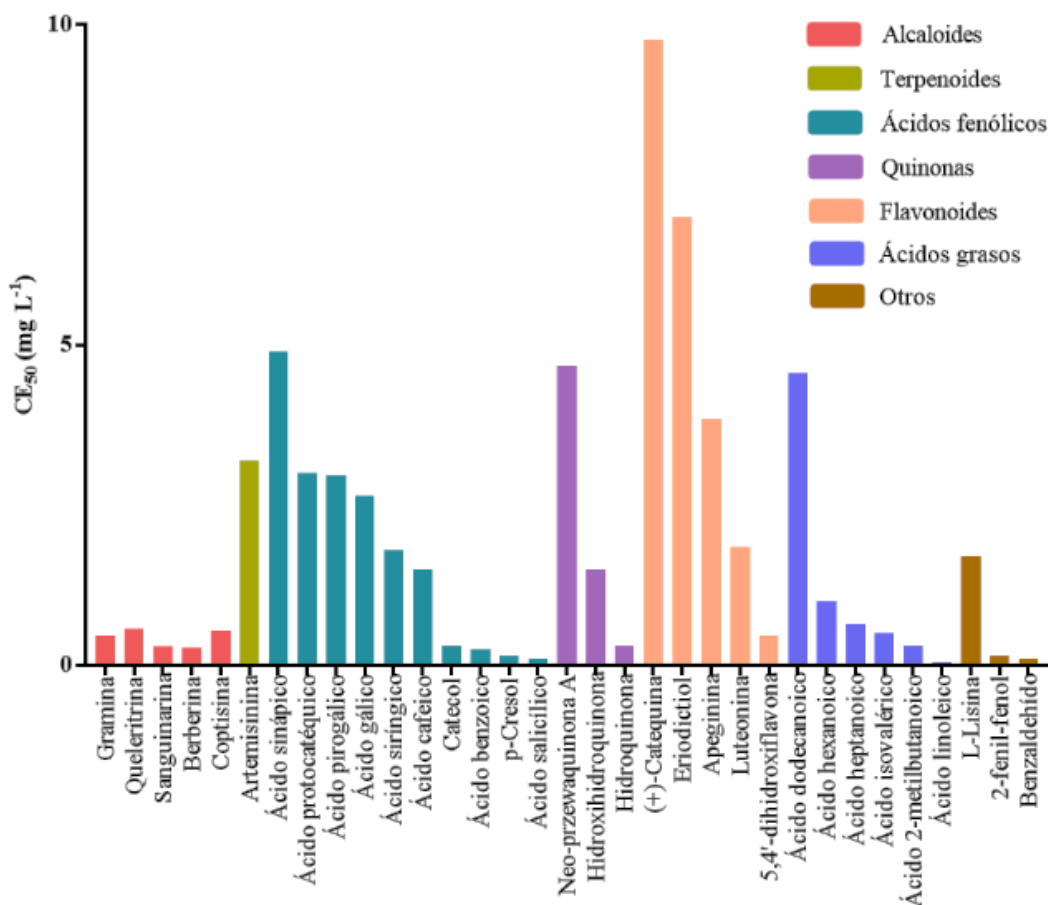


Fig. 7. CE₅₀ de algunos aleloquímicos sobre *M. aeruginosa*.

CAPÍTULO 3:

HIPOTESIS, OBJETIVOS

Y ALCANCES

3.1 Hipótesis

Los metabolitos secundarios presentes en los extractos de algunas especies de plantas mexicanas exhiben una fuerte actividad alguicida en contra de varias especies de cianobacterias productoras de toxinas, debido a una sobreproducción de ROS, inhibiendo su crecimiento mediante diferentes mecanismos de acción, por ejemplo, daño a la estructura celular, disminución de la actividad fotosintética y daño a la actividad enzimática.

3.2 Objetivos

General

Demostrar que los extractos de algunas plantas usadas en la medicina tradicional mexicana pueden utilizarse como un método de control biológico eficiente y ecológico para el control de los florecimientos de cianobacterias tóxicas.

Específicos

- Comparar mediante pruebas en medio sólido el grado de eficacia de los extractos etanólicos y metanólicos y seleccionar los que hayan mostrado los mejores resultados.

- Establecer las concentraciones efectivas necesarias a las cuales los extractos pueden ejercer efectos alguicidas sobre las tres especies de cianobacterias.
- Comprobar si existen diferencias significativas en el grado de sensibilidad de las cianobacterias a los diferentes extractos.
- Establecer relaciones entre las familias de aleloquímicos identificados y las respuestas de las cianobacterias debido a su exposición.
- Explicar los diferentes mecanismos de acción que los aleloquímicos encontrados en los extractos de las plantas pudieron ejercer para inhibir el crecimiento de las tres especies de cianobacterias estudiadas.

3.3 Alcances

Los mecanismos de acción de los aleloquímicos sobre las cianobacterias son muy amplios. En esta investigación únicamente se analizaron los efectos en la densidad celular, en la actividad fotosintética (contenido de Chl-a) y en la peroxidación lipídica. En tanto, los otros mecanismos de acción como el daño en la actividad enzimática solo serán sugeridos.

Por otra parte, el análisis de los extractos de las plantas mediante la técnica de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS, siglas en inglés para *Gas Chromatography–Mass Spectrometry*) solo se llevará a cabo en aquellos que muestren los mayores efectos inhibitorios en cada una de las especies de cianobacterias estudiadas.

CAPÍTULO 4: METODOLOGÍA

4.1 Plantas usadas en la medicina tradicional mexicana

Se llevó a cabo un búsqueda de plantas medicinales mexicanas tomando en cuenta cinco factores principalmente: 1) Que sean usadas en la medicina tradicional de nuestro país, 2) Que sean fáciles de conseguir en la cantidad requerida, 3) Que exhiban actividad antibacterial, 4) Que biosinteticen compuestos como ácidos fenólicos, flavonoides, quinonas, taninos, alcaloides y terpenoides y 5) Que no existan reportes de su aplicación contra cianobacterias.

4.2 Identificación taxonómica de las plantas y obtención de los extractos

Un ejemplar de cada especie recolectada fue depositado en el herbario HUMO del Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIBYC) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM) para su identificación, obteniendo un número de folio para cada especie. Una vez identificadas taxonómicamente todas las especies de plantas, se llevó a cabo el proceso de obtención de los extractos (Fig. 8). Para ello, las plantas se secaron a la sombra a temperatura ambiente. Deshidratadas completamente, las plantas se pulverizaron de manera manual utilizando un pisón de acero. El proceso de maceración se realizó a temperatura ambiente durante 15 días, utilizando garrafas de polietileno de 20 L donde se mezcló la mitad de cada planta con etanol y la otra mitad con metanol.

Transcurrido el tiempo de maceración, los extractos se filtraron con papel filtro Whatman de 2.5 μm . Al final de cada proceso de filtración, fue necesario limpiar el filtro de vidrio con una mezcla sulfocrómica de ácido sulfúrico concentrado y dicromato de potasio con el propósito de evitar contaminación cruzada. Los extractos se concentraron utilizando un rotavapor y una bomba de vacío BUCHI modelo R-100, un termocirculador digital LabTech

de 8 L (temperatura de enfriamiento 7–12°C). Se programó el equipo con una temperatura de calentamiento de 39°C para evitar la pérdida de los compuestos fenólicos. Los extractos líquidos se colocaron en tubos Falcon de 50 mL y se almacenaron en un equipo de ultracongelación a -30°C. Para obtener extractos secos se realizó el proceso de liofilización con la ayuda de una liofilizadora y una concentradora LABCONCO a una temperatura de -52°C. Los extractos líquidos fueron pasaron a frascos de vidrio en cantidades de 100 mL, se congelaron a -80°C y se colocaron en ambos equipos por 6 horas continuas durante tres días. Finalmente, los extractos se trituraron y pesaron para obtener los rendimientos.

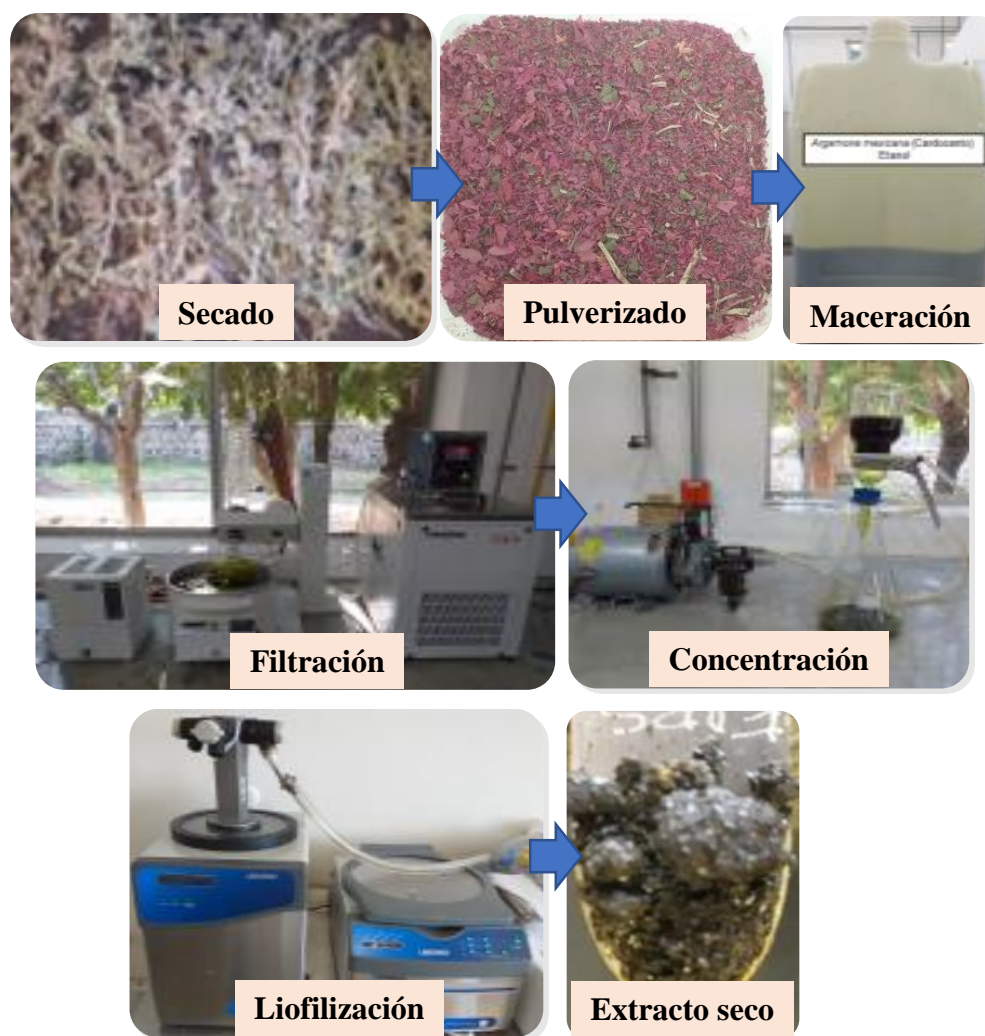


Fig. 8. Proceso de obtención de los extractos.

4.3 Perfil fitoquímico cualitativo

El análisis cualitativo de los extractos consiste en una serie de pruebas colorimétricas que indican la presencia (+) o ausencia (-) de diferentes familias de metabolitos secundarios, como fenoles, flavonoides, cumarinas, terpenoides, entre otros, dependiendo de los compuestos con los que se haga reaccionar el extracto.

Test para compuestos fenólicos (Prueba de FeCl_3). Se disuelven 10 mg de extracto 2 mL de etanol y se agregan 2 mL de solución de FeCl_3 acuoso al 5%. La formación de una solución verde azulada profunda, azul oscuro o negro indica la presencia de fenoles (Ugochukwu *et al.*, 2013; Khan y Bhadauria, 2018). La aparición de coloración varía de acuerdo con la cantidad y posición de los oxhidrilos fenólicos presentes: amarilla indica la presencia de 1 -OH, verde grisáceo 2 -OH y azul negro 3 -OH adyacentes (Ardoino *et al.*, 2013).

Test para taninos (Prueba de Braymer). Se tratan 2 mL de extracto con una solución de FeCl_3 alcohólico al 10%. La formación de una solución de color azul o verdoso indica la presencia de taninos (Ugochukwu *et al.* 2013).

Test para quinonas. 1) Solubilidad en NaOH al 5%. 10 mg de extracto, 0.2 mL de etanol y 0.4 mL de NaOH al 5%. El cambio de coloración nos indica la presencia de compuestos quinónicos. Las quinonas α y β -hidroxiladas con la solución de hidróxido de sodio al 5% dan soluciones coloreadas, que van del amarillo pasando por el rojo al violeta, 2) HCl concentrado. 5 mg de extracto se trata con HCl concentrado y se observa la formación de un precipitado amarillo (o coloración) (Ugochukwu *et al.* 2013).

Test para cumarinas. 2 mg de muestra se disuelven en NaOH al 10 %. La prueba es positiva cuando se desarrolla coloración amarilla que se elimina al acidular la mezcla (Bañuelos *et al.*, 2018).

Test para flavonoides. 1) Prueba de reactivo alcalino: se tratan 2 mL del extracto con 2 mL de NaOH al 20%. La formación de color amarillo intenso, que se vuelve incolora al agregar

HCl diluido, indica la presencia de flavonoides (Ugochukwu *et al.* 2013; Khan y Bhadauria, 2018). 2) Reacción de Shinoda: a 1 mL de extracto, se agregan limaduras de magnesio. Se adicionan cuidadosamente unas gotas de HCl concentrado. Esperar la disolución de la granalla. La presencia de flavonoides se comprueba al desarrollarse una coloración anaranjada, roja, rosa, azul y violeta (Ardoino *et al.*, 2013; Bañuelos *et al.*, 2018). 3) Prueba de H₂SO₄: 2 mg de extracto se disuelven en H₂SO₄ concentrado. La coloración amarilla indicó la presencia de flavonoides, naranja-guinda la de flavonas, rojo-azuloso la de chalconas y rojo-púrpura la de quinonas (Bañuelos *et al.*, 2018).

Test para terpenoides (Prueba de Salkowki). Se añade 1 mL de cloroformo a 2 mL de extracto seguido de unas gotas de ácido sulfúrico concentrado. Un precipitado marrón rojizo producido inmediatamente indica la presencia de terpenoides (Ugochukwu *et al.*, 2013).

4.4 Cuantificación de compuestos fenólicos totales

El ensayo de Folin-Ciocalteu (F-C) es un método colorimétrico basado en la reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu (una mezcla de molibdato de sodio, tungstato de sodio y otros reactivos) a través de la transferencia de electrones simples de fenol a Mo (VI) complejo (Mo (VI) + e → Mo (V)). En medio alcalino (pH ~10 ajustado por una solución de carbonato de sodio), la disociación de un protón fenólico conduce a un anión fenolato que puede reducir el reactivo F-C. El resultado de la reacción entre los compuestos fenólicos y el reactivo F-C es el desarrollo del complejo azul, que presenta una longitud de onda de absorción máxima cercana a 760 nm (Araujo *et al.*, 2018). Sin embargo, el reactivo de F-C es significativamente reactivo con otros compuestos además de los fenoles, como vitaminas (como el ácido ascórbico), aminas, aldehídos, cetonas, aminoácidos (tirosina, triptófano y cisteína), proteínas, carbohidratos, ácidos orgánicos, pigmentos (clorofilas), nucleótidos, tioles, iones inorgánicos (como Fe⁺², Mn²⁺, I⁻ y SO₃²⁻) y complejos metálicos, por lo que las interferencias de estos compuestos pueden sobreestimar el contenido de fenoles totales en una muestra (Everette *et al.*, 2010; Castro y Rosana, 2014).

Procedimiento:

Se preparó una solución patrón de ácido gálico (1 g/L), pesando 0.025 g de ácido gálico y se llevaron a volumen 25 mL en un matraz aforado con agua destilada grado HPLC, enseguida se preparó una dilución 1:10 para tener una concentración de 0.1 g/L. También se preparó una solución de carbonato de sodio al 20%, pesando 5 g de carbonato de sodio y se llevaron a un volumen de 25 mL en un matraz aforado. Finalmente, se preparó una solución 1N del reactivo de Folin-Ciocalteu, por medio de una dilución 1:2 v/v del reactivo comercial (2N); el reactivo se protegió de la luz y se colocó en refrigeración hasta su uso. A partir de la disolución de ácido gálico (0.1 g/L) se realizó la siguiente serie (Tabla 3) en viales protegidos de la luz, para obtener las diferentes concentraciones de la curva patrón (0, 1, 2.5, 5, 7.5, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20 mg/L).

Tabla 3. Curva estándar de ácido gálico.

No.	Ácido gálico (μL)	Sol. F-C 1N (μL)	Na_2CO_3 (μL)	$\text{H}_2\text{O}_{\text{HPLC}}$ (μL)	[Final] mg/L
1	0	250	1,250	500	0
2	20	250	1,250	480	1
3	50	250	1,250	450	2.5
4	100	250	1,250	400	5
5	150	250	1,250	350	7.5
6	200	250	1,250	300	10
7	220	250	1,250	280	11
8	240	250	1,250	260	12
9	260	250	1,250	240	13
10	280	250	1,250	220	14
11	300	250	1,250	200	15
12	320	250	1,250	180	16
13	340	250	1,250	160	17
14	360	250	1,250	140	18
15	380	250	1,250	120	19
16	400	250	1,250	100	20
Vol. utilizado	3,620	4,000	20,000	4,380	

Se tomaron los μL de la solución de ácido gálico para cada punto en viales color ámbar, a cada uno se le añadieron 250 μL del reactivo F-C 1N, se agitaron durante 5 min; posteriormente, se adicionaron 1,250 μL de la disolución de Na_2CO_3 al 20%, se llevó a un

volumen final de 2 mL con agua destilada grado HPLC y se dejó reposar por 2 h. También se preparó un blanco con todos los componentes excepto la disolución de ácido gálico. Finalmente, se leyó la absorbancia a 760 nm en el espectrómetro de ultravioleta-visible.

Para la determinación del contenido de fenoles totales en los extractos se tomaron 2 mg de cada extracto liofilizado y se suspendieron en 3 mL de etanol (para los extractos etanólicos) y en 3 mL de metanol (para los extractos metanólicos) y se llevaron a 10 mL con agua destilada para tener una concentración de 200 mg/L. Enseguida se tomaron 500 μ L de cada una de estas disoluciones y se mezclaron con 250 μ L del reactivo F-C 1N, se agitaron durante 5 min, se agregaron 1,250 μ L de Na_2CO_3 al 20 %. La reacción se dejó reposar durante 2 h a temperatura ambiente, después de este tiempo se midió la absorbancia a 760 nm. Este procedimiento se realizó con cada uno de los 16 extractos por triplicado.

4.5 Cultivos de las cianobacterias

En este trabajo se utilizaron dos especies de cianobacterias, *Microcystis aeruginosa* aislada de una muestra ambiental, *Anabaena cylindrica* (UTEX B 629). Para *M. aeruginosa* y *Anabaena sp.* se utilizó el medio BG-11 y para *A. cylindrica* el medio BG-11(-N).

A 900 mL de agua destilada, se le añadieron los 9 componentes en el orden especificado en la Tabla 4. Se llevó el volumen total a 1 L y se esterilizó en autoclave. A un matraz de 250 mL se le añadieron 100 mL del medio BG-11 y 3 mL del cultivo madre de *M. aeruginosa*, se utilizó un fotoperiodo de 12:12 h luz/oscuridad y una intensidad de luz de 80 μmol de fotones $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Los matraces se agitaron 3 veces al día hasta que alcanzaron la fase de crecimiento exponencial. Para *A. cylindrica* se preparó el medio BG-11(-N), el cual no contiene NaNO_3 y se siguió el mismo procedimiento.

Tabla 4. Reactivos utilizados para el medio de cultivo BG-11.

No.	Componente	Cantidad	Stock
1	NaNO ₃	10 mL	30 g/200 mL
2	K ₂ HPO ₄	10 mL	0.8 g/200 mL
3	MgSO ₄ ·7H ₂ O	10 mL	1.5 g/200 mL
4	CaCl ₂ ·2H ₂ O	10 mL	0.72 g/200 mL
5	Ácido cítrico	10 mL	0.12 g/200 mL
6	Citrato de amonio férrico	10 mL	0.12 g/200 mL
7	Na ₂ EDTA·2H ₂ O	10 mL	0.02 g/200 mL
8	NA ₂ CO ₃	10 mL	0.4 g/200 mL
9	Solución de metales traza	1 mL	
<i>Solución de metales traza</i>			
1	H ₃ BO ₃		2.86 g/L
2	MnCl ₂ ·4H ₂ O		1.81 g/L
3	ZnSO ₄ ·7H ₂ O		0.22 g/L
4	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O		0.39 g/L
5	CuSO ₄ ·5H ₂ O		0.079 g/L
6	Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O		0.049 g/L

4.6 Curvas de crecimiento de las cianobacterias

En esta investigación, las pruebas aliguidas se llevaron a cabo cuando las cianobacterias se encontraban en su fase de crecimiento exponencial. Por lo tanto, con el propósito de conocer los tiempos de cada fase de crecimiento de las cianobacterias y poder establecer los periodos óptimos de exposición a los extractos, se elaboraron las curvas de crecimiento de cada especie. El monitoreo del crecimiento de *M. aeruginosa* se realizó mediante el conteo celular con el hemocitómetro Neubauer y en el caso de *Anabaena* se midió mediante dispersión óptica a 750 nm (DO₇₅₀). En la Fig. 9 se muestran las curvas de crecimiento de *M. aeruginosa*, *A. cylindrica* y *Anabaena sp.* Se observó que, con *M. aeruginosa*, la fase de crecimiento exponencial se alcanzó en el día 14 y duro 4 días, es decir, concluyó en el día 18 y a partir de ahí y hasta el día 30, se presentó la fase estacionaria. Finalmente, se alcanzó la fase de muerte en el día 32. En el caso de caso de *A. cylindrica* y *Anabaena sp.* los periodos de crecimiento fueron similares, ambas especies alcanzaron su punto máximo de crecimiento en el día 8, sus fases estacionarias duraron 6 días (del día 8 al día 14) y ambas alcanzaron la fase de muerte en el día 14.

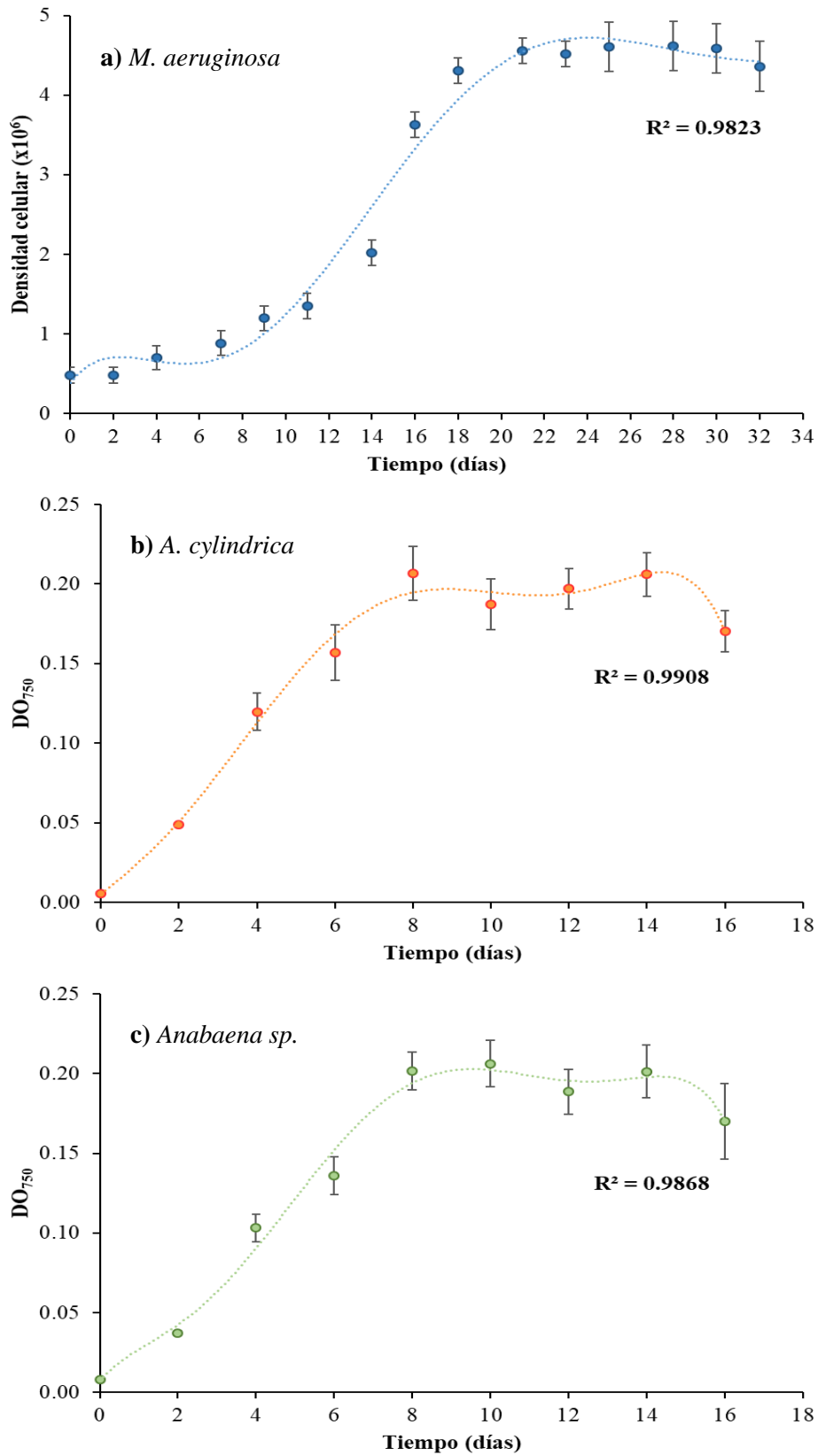


Fig. 9. Curvas de crecimiento de *M. aeruginosa*, *A. cylindrica* y *Anabaena sp.*

4.7 Ensayos de inhibición de crecimiento en medio sólido

Este método permite evaluar el efecto de los extractos en la inhibición de crecimiento de las cianobacterias, mediante el valor del diámetro inhibitorio, el cual se usará para la comparación entre los extractos etanólicos y metanólicos de las plantas. Para llevar a cabo estos ensayos se siguió el procedimiento realizado por El Amrani Zerrifi *et al.* (2019), con ligeras modificaciones. La actividad alguicida del extracto en las cianobacterias se evaluó utilizando la técnica de difusión en agar en placas de Petri. 50 mg de cada extracto fue resuspendido en 1 mL de metanol. Los discos de papel de filtro estériles de 9 mm de diámetro (Whatman No. 1) se cargaron con 20, 60 y 100 μL (1, 3 y 5 mg) de los diferentes extractos, también se utilizaron discos impregnados con sulfato de cobre y metanol como controles positivos y negativos y se secaron al aire. Los discos se colocaron sobre el medio BG11 con 3% de agar bacteriológico y 500 μL de *M. aeruginosa*, previamente inoculada. Todas las placas se sellaron con parafilm y se expusieron a las mismas condiciones de cultivo de *M. aeruginosa* anteriormente mencionadas. Los efectos inhibidores se midieron por el valor del diámetro inhibitorio después de 9 días. Todos los experimentos se repiten tres veces para validar estadísticamente los hallazgos.

4.8 Ensayos alguicidas en medio líquido - Efectos fisiológicos

4.8.1 Efectos de los extractos metanólicos en la densidad celular de *M. aeruginosa*

Para determinar los efectos de los extractos metanólicos a diferentes concentraciones (10, 25, 50 y 75 mg/L) en la densidad celular de *M. aeruginosa*, se preparó un nuevo cultivo de esta cianobacteria y se mantuvo hasta que alcanzara la fase de crecimiento exponencial (1×10^6 células/mL, aproximadamente). En matraces Erlenmeyer de 250 mL, se agregaron 100 mL de medio de cultivo BG-11 y 3 mL de cultivo de *M. aeruginosa*, con un fotoperiodo de 12:12 h luz/oscuridad y una intensidad de luz de 80 μmol de fotones $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Los cultivos se dejaron en crecimiento durante siete días.

Transcurrido ese tiempo, 50 mg de todos los extractos metanólicos fueron resuspendidos en 1 mL de DMSO, de los cuales se utilizaron 0.15 mL para cada matraz en el grupo de 75 mg/L, 0.1 mL para el grupo de 50 mg/L, 0.05 mL para el grupo de 25 mg/L y 0.02 para el grupo de 10 mg/L. Además, se utilizó un cultivo de *M. aeruginosa* sin tratar como control, para lograr los valores necesarios para el tratamiento de resultados, todas las muestras se hicieron por triplicado (Fig. 10). La densidad celular fue monitoreada cada dos días durante doce días como dispersión óptica a 650 nm y después transformada a células/mL. Los efectos inhibitorios de los extractos metanólicos sobre las cianobacterias se estimaron por el porcentaje de inhibición, utilizando la siguiente ecuación.

$$\text{Inhibición(\%)} = \left(\frac{N_0 - N_s}{N_s} \right) \times 100$$

Donde N_0 y N_s corresponden al número de células en los cultivos de control y los cultivos tratados con los extractos metanólicos, respectivamente.

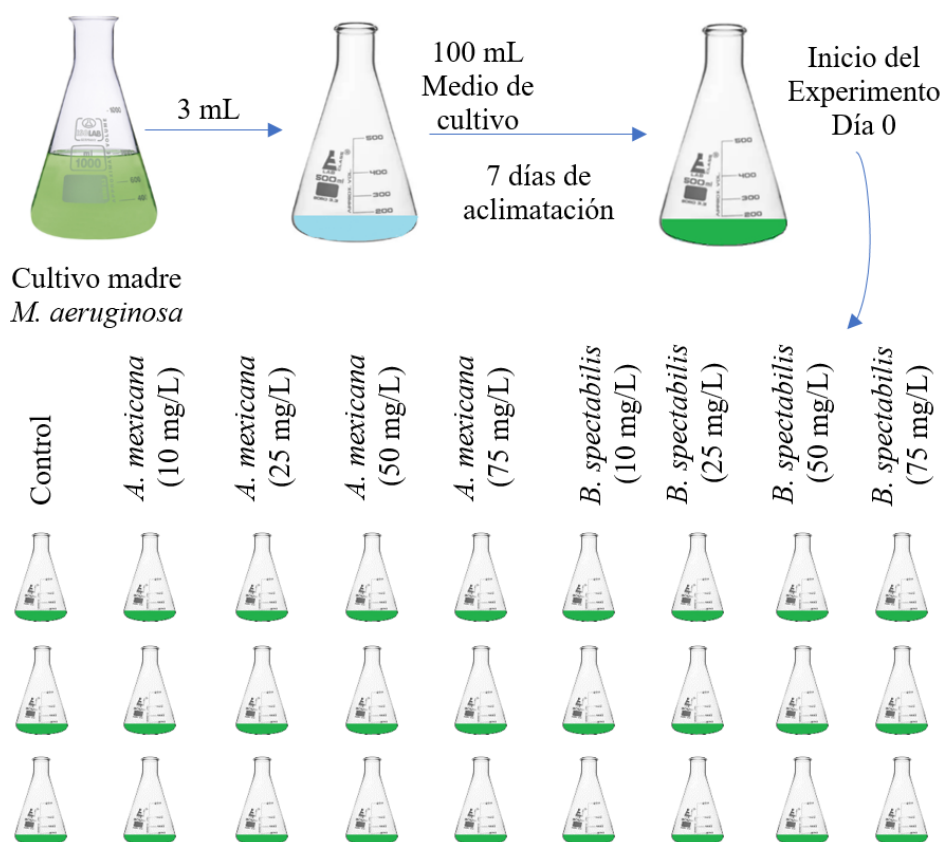


Fig. 10. Determinación de la densidad celular en *M. aeruginosa*.

4.8.2 Efectos alguistáticos y efectos alguicidas

Para diferenciar entre las propiedades alguistáticas (prevenir el crecimiento de algas) y alguicidas (matar algas) de los extractos, se utilizó la prueba estándar. Se toma 1 mL del cultivo de *M. aeruginosa* de la exposición a los extractos (12 días) y se resiembra en nuevas condiciones de cultivo estándar, y se contrarresta el número de células para verificar si el alga revivió y reinició el crecimiento. Cuando se observó crecimiento en el subcultivo, el extracto se considera alguistático. Cuando no apareció crecimiento se considera alguicida (Wu *et al.*, 2014).

4.9 Ensayos alguicidas en medio líquido – Efectos bioquímicos

4.9.1 Cuantificación de Chl-a

Los efectos de los extractos metanólicos en la actividad fotosintética de *M. aeruginosa*, *A. cylindrica* y *Anabaena sp.* se midieron como concentración de Chl-a, tomando el mismo diseño de experimento realizado para la densidad celular y siguiendo la metodología para la cuantificación indirecta de Chl-a establecida en *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Hein, 2017), publicada de manera conjunta por la *American Public Health Association* (APHA), la *American Water Works Association* (AWWA) y la *Water Environment Federation* (WEF) en el 2005.

Extracción de los pigmentos: Se filtran a presión negativa 5 mL de cada tratamiento de *M. aeruginosa* utilizando un filtro de fibra de vidrio. Con unas pinzas se recupera el filtro con la muestra, se dobla a la mitad, se retira el exceso del papel filtro y se coloca en un tubo Falcon de 50 mL cubierto con papel aluminio. Posteriormente, se adicionan 10 mL de acetona al 90% y se homogeniza la muestra durante un minuto con un homogenizador de tejidos y se recupera la pulpa que quede atrapada en las aspas. Las muestras se almacenan en refrigeración a 4 ± 2 °C en oscuridad hasta el siguiente día.

Medición: Para realizar las mediciones de absorbancia se utilizó el espectrofotómetro UV-Vis 1800 (Shimadzu), el cual se encendió 2 horas antes de realizar las mediciones. Las muestras se retiran del refrigerador y se centrifugan a 2,500 rpm durante 10 min. En el equipo, se programan las mediciones de absorbancia a 665 y 750 nm. Se usa acetona al 90% como blanco y se mide la absorbancia. Las celdas se lavan con agua destilada tres veces. Ahora, se toman 3 mL del sobrenadante de las muestras y se registran las absorbancias, inmediatamente después, se agregan 0.1 mL de HCl al 0.1 N, se agita suavemente durante unos segundos, dejando reaccionar durante 90 segundos, se realiza la segunda lectura se registran las nuevas absorbancias. Los volúmenes de muestra, de ácido y el tiempo después de la acidificación son fundamentales para obtener resultados precisos y consistentes. La concentración de Chl-a (mg/m³) se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$[\text{Chl a}] = \frac{26.7(664_b - 665_a) \times V_1}{V_2 \times L}$$

Donde 664b y 665a: valores de las absorbancias antes y después de la acidificación, V₁: volumen del extracto en litros, V₂: volumen de la muestra en m³ y L: recorrido de la luz en la cubeta en cm. Los resultados se transformaron a mg/L.

4.9.2 Contenido de MDA

La peroxidación lipídica se reflejó en el nivel de MDA y se determinó de acuerdo con el trabajo de Li *et al.* (2016), con algunas modificaciones. Nuevamente se siguió el mismo diseño de experimento para la obtención de las muestras a analizar. Se recogieron 5 mL de cada matraz y se centrifugaron a 4000 × g durante 20 min. Los sedimentos celulares se homogeneizaron luego con 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 10% (p/v) y se centrifugaron a 12,000 × g durante 10 minutos. Después de la centrifugación, 2 mL del sobrenadante de cada muestra se mezclaron con 2 mL de ácido tiobarbitúrico al 0.6% (en TCA al 10%) y se calentaron en agua hirviendo durante 15 minutos. La reacción se detuvo transfiriendo los tubos de reacción a un baño de hielo. Después del enfriamiento, las muestras se centrifugaron nuevamente a 12,000 × g durante 10 min. La absorbancia del sobrenadante

se midió a 3 longitudes de onda, 532, 600 y 450 nm, tomando una mezcla de 2 mL de agua ultrapura y 2 mL de TBA al 0.6% como referencia. El nivel de MDA ($\mu\text{mol/L}$) se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación.

$$[\text{MDA}] = 6.45 \times (\text{DO}_{532} - \text{DO}_{600}) - 0.56 - \text{DO}_{450}$$

Donde DO_{532} , DO_{600} y DO_{450} , son los valores de las dispersiones ópticas a 532, 600 y 450 nm.

4.10 Cálculo de la CE_{50}

Método Probit: Para calcular la CE_{50} mediante este método lo primero que se hace es transformar las concentraciones estudiadas (10, 25, 50 y 75 mg/L) a Log_{10} , quedando como 1, 1.397940009, 1.698970004 y 1.875061263, respectivamente. Posteriormente, los porcentajes de inhibición promedio obtenidos anteriormente, se convierten a valores Probit utilizando la Tabla 5. A continuación, se realiza una regresión lineal tomando los valores de Log_{10} para el eje de las X y los valores Probit para el eje de las Y. Se toman los coeficientes de intercepción y de la variable x, y se sustituyen en la ecuación de la recta ($y=ax+b$), se despeja la variable x y se calcula su antilog, ese valor es la EC_{50} para ese grupo de datos.

Tabla 5. Tabla de Finney para la transformación del porcentaje de mortalidad en valores probit (Finney, 1952).

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	8.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.25	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.0
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

4.11 Análisis de los extractos mediante GC-MS

La espectrometría de masas se utiliza para determinar la masa molecular de los analitos y, en combinación con la fragmentación de analitos, puede proporcionar información estructural que ayude a la identificación de moléculas pequeñas en una muestra. Dada la complejidad del material biológico, la espectrometría de masas suele combinarse con la cromatografía para reducir la complejidad de la muestra. La GC-MS se ha utilizado para estudiar varias clases de metabolitos, en comparación con otros métodos, la GC-MS requiere más mano de obra, ya que requiere la derivatización de analitos para permitir su separación en la columna de cromatografía de gases; sin embargo, proporciona un método para medir de manera confiable varias clases de biomoléculas metabólicamente importantes, como ácidos orgánicos, aminoácidos y ácidos grasos de una manera robusta y económica (Grimm *et al.*, 2016).

El análisis mediante GC-MS se llevó a cabo únicamente en los extractos que mostraron los mayores efectos en la densidad celular, contenido de Chl-a y MDA en las tres especies de cianobacterias estudiadas, es decir, *A. mexicana*, *B. spectabilis*, *L. tridentata* y *A. adstringens*. Una muestra de cada uno de estos extractos fue ingresada a la Unidad de Metabolómica y Proteómica de la Red de Apoyo a la Investigación (RAI) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Metodología

Reactivos

- Clorhidrato de metoxiamina (Sigma-Aldrich)
- N,O-Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (MBSTFA- Sigma-Aldrich)
- Clorotrimetilsilano (TMCS Sigma-Aldrich)
- Helio al 99.9999% de pureza
- Perfluorotributilamina (PFTBA)

Equipo utilizado:

- Cromatógrafo de gases marca Agilent modelo 5977A.
- Espectrómetro de masas marca Agilent modelo 7890B GC–MS.
- Centrifuga marca Eppendorf modelo 5810.
- Columna analítica marca Agilent modelo HP5-MS (30 m x 250 μm x 0.25 μm).
- Sistema de purificación de H₂O a grado miliQ marca Millipore modelo Integral 10.

Derivatización de la muestra

Se derivatizó el equivalente a 1 mg de los extractos secos. El extracto se disolvió en 160 μL de clorhidrato de metoxiamina disuelto en piridina (20 mg/mL) hasta disolver y se incubó durante 90 minutos a 37°C. Se centrifugó a 14000 rpm y se guardó el sobrenadante. Posteriormente se tomaron 40 μL del sobrenadante y se añadieron 80 μL de MBSTFA 1% TMCS y se incubó durante 30 min a 37°C. Finalmente, se inyectó 1 μL de la mezcla anterior.

Análisis en el equipo

Se empleó un sistema de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, ambos de la marca Agilent (5977A/7890B GC–MS). Se utilizó la columna HP5-MS (30 m x 250 μm x 0.25 μm) de la marca Agilent para llevar a cabo la separación de los analitos. La fase móvil fue helio al 99.9999% de pureza.

La calibración del equipo se llevó a cabo con el estándar PFTBA de la marca Agilent. Se realizó un análisis tipo no dirigido (*untargeted*) con un rango de adquisición de 50 a 600 Da con una energía de ionización de 70 eV. Se utilizó una velocidad de escaneo de 3 scan/s con un escaneo digital de 20 Hz. Se emplearon los parámetros especificados en la Tabla 6 para llevar a cabo la corrida cromatográfica y la detección por espectrometría de masas.

Tabla 6. Parámetros utilizados para el análisis mediante GC-MS.

Parámetro	Característica
Temperatura del inlet	200 °C
Temperatura del cuadrupolo	150 °C
Temperatura de la fuente	250 °C
Velocidad de flujo	1 mL/min
Sistema de inyección	Automático G4513A
Tipo de inyección	Estándar
Volumen de inyección	1 µL (splitless)
Split	1/30

La corrida cromatográfica fue de 37 minutos totales y consistió en el programa de temperaturas indicado en la Tabla 7.

Tabla 7. Temperaturas utilizadas en la corrida cromatográfica.

Velocidad °C/min	Temperatura	Tiempo mantenido	Tiempo de corrida
Inicial	60	1	1
10	325	0	37

Deconvolución y alineamiento

Una vez obtenidos los datos cromatográficos, se utilizó el software mzMine 2.54 para realizar el proceso de deconvolución, en un sentido amplio, es el proceso de separar computacionalmente una señal de una mezcla compleja de señales. Se obtuvieron los datos de tiempo de retención y área de pico.

Resultados

Se anexan en archivo de Excel los resultados de las identificaciones empleando la librería espectral NIST 2.0. Solo aquellas identificaciones con un valor de coincidencia arriba del 70% fueron incluidas (Columna ID).

CAPÍTULO 5: RESULTADOS

5.1 Búsqueda de las especies de plantas

La búsqueda bibliográfica dio como resultado la recolección de 60 artículos enfocados al estudio fitoquímico y medicinal de 31 especies de plantas usadas en la medicina tradicional mexicana. Sin embargo, se seleccionaron ocho especies (Figs. 11-18) que cumplieron con los cinco factores establecidos en la estrategia experimental, las cuales se describen a continuación.

1. *Argemone mexicana* (Fig. 11). Esta especie se recolectó en la localidad de Cuauchichinola, perteneciente al municipio Mazatepec, Morelos, en las coordenadas 18.670007, -99.375895, el 15 de enero de 2019.



Fig. 11. Ejemplar de *A. mexicana* en Cuauchichinola, Morelos.

Foto: M.C. René Solano Jiménez

Comúnmente conocida como “amapola espinosa”, “chicalote” o “cardosanto”, esta planta pertenece a la familia *Papaveraceae*, es una especie endémica de México y las Indias Occidentales (Antillas y Bahamas). Se ha naturalizado en varios países de África, Europa y América del Sur (Mariod *et al.*, 2017; More *et al.*, 2017). En la República Mexicana se

encuentra en los estados de Aguascalientes (AGS), Baja California Norte (BCN), Baja California Sur (BCS), Campeche (CAM), Chiapas (CHIS), Chihuahua (CHIH), Coahuila (COAH), Colima (COL), Durango (DGO), Guanajuato (GTO), Guerrero (GRO), Hidalgo (HGO), Jalisco (JAL), Estado de México (MEX), Michoacán (MICH), Morelos (MOR), Nayarit (NAY), Nuevo León (NLE), Oaxaca (OAX), Puebla (PUE), Querétaro (QRO), Quintana Roo (QROO), San Luis Potosí (SLP), Sinaloa (SIN), Sonora (SON), Tabasco (TAB), Tamaulipas (TAMS), Tlaxcala (TLAX), Veracruz (VER), Yucatán (YUC) y Zacatecas (ZAC) (Villaseñor, 2016).

Análisis fitoquímicos en *A. mexicana* revelan que los extractos etanólico y metanólico de las hojas, tallos y flores dan resultados positivos para compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, terpenoides, alcaloides y esteroides, siendo el metanol el mejor disolvente para exhibir un alto contenido fenólico. El contenido fenólico total más alto se ha encontrado en los tallos seguido de las flores y las hojas. El mayor contenido de flavonoides está en las flores, seguido de las hojas y el tallo (Brahmachari *et al.*, 2013; Mariod *et al.*, 2017; Khan y Bhadauria, 2018). La mayoría de los compuestos aislados son alcaloides como berberina, protropina, benzofenantridina, pancorina, (\pm) reticulina, angolina, (\pm) argenaxina y sanguinarina (Brahmachari *et al.*, 2013; Khan y Bhadauria, 2018). Brahmachari *et al.*, 2013 y More *et al.*, 2017, han demostrado que los extractos de *A. mexicana* exhiben efectos inhibitorios hacia diferentes especies de bacterias Gram(+) y Gram(-) (Tabla 8).

Tabla 8. Actividad antibacteriana de *A. mexicana*.

Gram(+)	Gram(-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Klebsiella Oxytoca</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Vibrio damsella</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Enterobacter aerogens</i>
<i>Clostridium botulinum</i>	<i>Shigella sp.</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>

2. *Bougainvillea spectabilis* (Fig. 12). La recolección de esta planta fue en el municipio de Jiutepec, Morelos, en las coordenadas 18.893975, -99.168232, el 4 de marzo de 2019.



Fig. 12. Ejemplar de *B. spectabilis* en Jiutepec, Morelos.

Foto: M.C. René Solano Jiménez

Es conocida simplemente como “bugambilia”, forma parte de la familia *Nyctaginaceae*, la cual es nativa de Sudamérica, y está ampliamente distribuida en México (Mohamed, 2016).

Abarca y Petricevich (2018), indicaron que los tallos, flores y hojas de *B. spectabilis* contiene ácidos grasos y alcoholes grasos como el ácido dodecanoico y el ácido 2-metilpropanoico, compuestos volátiles como formiato de butilo, acetato de butilo, 2-metilbutanoato de metilo, hexadecanoato de metilo, hexadecanoato de etilo, hexadecanoato de propilo, hexanal, heptanal, 3-hidroxi-hexanoato de etilo, linolenato de metilo, (E)-crotonato de etilo, (Z)-2-hexenal, linalol, 2-heptadecanona, tolueno, *o*-xileno, 2-furfural, terpinoleno, terpinen-4-ol, salicilato de metilo, trans-dihidrocarvona, verbenona, pulegona, dihidroedulano II, teaspirano B, deshidroioneno, α -copaeno, (E)- β -damascenona, α -(E)-ionona, 2,5-dimetil-4-hidroxi-3-(2H)-furanona, aromadendreno, cadina-1.4-dieno, salicilato de (Z)-3-hexenilo, α -santalol y (Z,Z)-farnesol; peltoginenoides (un tipo raro de flavonoides modificados) como bougainvinona A-M y flavonoides como 5,7,3',4'-tetrahidroxi-3-metoxi-6,8-dimetilflavona, 5,7,4'-trihidroxi-3-metoxi-6,8-dimetilflavona. Además de compuestos como β -sitosterol, isofitol, fitol y pinitol.

Por su parte, Mohamed, 2016, analizó los extractos etanólicos de hojas, tallos y flores de *B. spectabilis* mediante HPLC/ESI-MS, identificando 25 compuestos fenólicos, entre ellos un ácido fenólico (ácido sinápico), 3 betacianinas (betanidina, gomfrenina I y bougainvilleina V) y 21 flavonoides (catequina, crisoeriol, isorhamnetina, miricetina, dihidromiricetina, apigenina, quercetina, 7-hidroxi, 3'metoxiflavona, kaempferol-3-O-rutinosido, dihidromiricetina diglucósido, rutina, kaempferol 7-O-diglucosido, crisoeriol-7-O-rutinósido, rutinósido de genesteina, naringina, hesperdina, eupatilina-7-O- β -D-galactopiranosido, kaempferol 3-O-hidroxiferuloil diglucósido-7-O-glucósido, quercetina 3-O-feruloil diglucósido 7-O-glucósido, metil-dihidromiricetina diglucósido y quercetina 3,7 diglucósido). Ghogar *et al.*, 2016; Mohamed, 2016 y Abarca y Petricevich, 2018 indicaron que, *B. spectabilis* ha mostrado efectos inhibitorios hacia diferentes especies de bacterias Gram(+) y Gram(-) (Tabla 9).

Tabla 9. Actividad antibacterial de *B. spectabilis*.

Gram(+)	Gram(-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Sarcina lutea</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Micrococcus aureus</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>
	<i>Serratia marcescens</i>
	<i>Vibrio cholerae</i>
	<i>Vibrio mimicus</i>
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

3. *Larrea tridentata* (Fig. 13). Esta planta se recolectó en la localidad de Los Gómez, situada en el Municipio de Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí, en las coordenadas 22.153655, -100.886267, el 12 de diciembre de 2018.



Fig. 13. Ejemplar de *L. tridentata* en Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí.

Foto: M.C. René Solano Jiménez

Esta especie es mejor conocida como “gobernadora”, forma parte de la familia *Zygophyllaceae*, es una especie endémica de México. En la República Mexicana se ha reportado su presencia en AGS, BCN, BCS, SON, CHIH, COAH, DGO, GTO, HGO, JAL, NLE, QRO, SLP, SIN, SON, TAMS, VER y ZAC (Villaseñor, 2016).

En las hojas y tallos de *L. tridentata* se han identificado más de 20 agliconas flavonoides, una gran cantidad de lignanos fenólicos incluyendo al ácido nordihidroguaiarético (ANDG), alcaloides halógenos, saponinas y compuestos fenólicos. El ANDG, es un potente antioxidante y es el principal componente fenólico de la resina que produce *L. tridentata*, además de fenoles, saponinas y terpenoides (Delgado *et al.*, 2014). También, Bañuelos *et al.*, 2018, demostraron que el extracto de *L. tridentata* contiene flavonoides y fenoles como timol y carvacrol. Las flores, las hojas, los tallos verdes y algunos leñosos contienen ANDG. La concentración más alta fue observada en las hojas con 38.3 mg g^{-1} y tallos verdes con 32.5 mg g^{-1} (Peñuelas *et al.*, 2017). Recientemente, Itza-Ortíz *et al.*, 2019, Turner *et al.*, 2021 y Morales-Ubaldo *et al.*, 2021, evidenciaron que diferentes extractos de *L. tridentata* tienen actividad antibacteriana contra diferentes especies de bacterias Gram(+) y Gram(-) (Tabla 10).

Tabla 10. Actividad antibacterial de *L. tridentata*.

Gram(+)	Gram(-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas syringae</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Xanthomonas campestris</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Salmonella gallinarum</i> (Klein)
<i>Clavibacter michiganensis</i>	<i>Escherichia coli</i>
sbsp. <i>Michiganensis</i>	

4. *Tradescantia zebrina* (Fig. 14). La recolección de esta planta se llevó a cabo en el municipio de Jiutepec, Morelos, en las coordenadas 18.884940, -99.160087, el 15 de enero de 2019. Las partes de interés son las hojas, flores y tallos.



Fig. 14. Ejemplar de *T. zebrina* en Jiutepec, Morelos.

Foto: M.C. René Solano Jiménez

Esta especie es conocida vulgarmente como “judío errante”, está asociada a la familia *Commelinaceae*, es originaria de la región de la Costa del Golfo del este de México, pero se ha naturalizado en varias partes del mundo (Kumar *et al.*, 2017b). Se ha documentado su presencia en los estados de AGS, BCS, CAM, CHIS, CHIH, COAH, COL, CDMX, DGO, GTO, GRO, HGO, JAL, MEX, MICH, MOR, NAY, NLE, OAX, PUE, QRO, QROO, SLP, SIN, SON, TAB, TAMS, TLAX, VER, YUC y ZAC (Villaseñor, 2016).

El extracto metanólico de las hojas de *T. zebrina* exhibe un alto contenido de compuestos fenólicos totales, taninos, flavonoides, y una elevada actividad antioxidante. Aproximadamente el 82% de su contenido fenólico consiste en taninos, una clase de compuestos fenólicos con un potente antioxidante y actividades antibacterianas (Tan *et al.*, 2014). Por otra parte, Cheah *et al.*, 2017, encontraron que el contenido de fenoles totales y de flavonoides totales del extracto metanólico de *T. zebrina* contenía 33.5 ± 2.58 mg de ácido gálico equivalentes/g de extracto y 9.4 ± 1.06 mg de catequina equivalente/g de extracto, respectivamente. En este mismo contexto, Baghalpour *et al.*, 2021, reportaron que el análisis fitoquímico preliminar del extracto de *T. zebrina* mostró una importante presencia de terpenoides y flavonoides y en menor cantidad alcaloides, taninos y saponinas, además de un contenido de polifenoles totales de 76.88 ± 0.14 μ g de ácido gálico equivalente/g de extracto seco. Algunos estudios como el de Tan *et al.*, 2014 y Kumar *et al.*, 2017b, demuestran que *T. zebrina* tiene actividad contra bacterias Gram(+) y Gram(-) (Tabla 11).

Tabla 11. Actividad antibacterial de *T. zebrina*.

Gram(+)	Gram(-)
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Micrococcus luteus</i>	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	
<i>Enterococcus faecalis</i>	

5. *Tradescantia spathacea* (Fig. 15). Esta especie se recolectó en el municipio de Jiutepec, Morelos, en las coordenadas 18.884940, -99.160087, el 15 de enero de 2019. Las partes de interés son las hojas.



Fig. 15. Ejemplar de *T. spathacea* en Jiutepec, Morelos.

Foto: M.C. René Solano Jiménez

Esta especie es tradicionalmente conocida como “maguey morado”, pertenece a la familia *Commelinaceae*, es endémica del Golfo de México, y está distribuida en América Central, el Caribe y las Indias Occidentales (García *et al.*, 2015). En la República Mexicana se puede encontrar en los estados de CAM, CHIS, QROO, TAB, VER y YUC (Villaseñor, 2016).

Pruebas fitoquímicas han revelado que *T. spathacea* contiene taninos, alcaloides, esteroides, terpenoides/esteroles, flavonoides (epigalocatequina, rutina, peltatosida), saponinas, antocianinas (rheonina) y ácidos fenólicos como el ácido felúrico, clorogénico, vanílico y *p*-cumárico (Tan *et al.*, 2013; García *et al.*, 2015). Por otra parte, estos mismos autores concluyeron que *T. spathacea* tiene actividad antibacterial contra las siguientes especies de bacterias (Tabla 12).

Tabla 12. Actividad antibacterial de *T. spathacea*.

Gram(+)	Gram(-)
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>
<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	
<i>Staphylococcus mutans</i>	
<i>Listeria innocua</i>	

6. *Amphipterygium adstringens* (Fig. 16). La recolección de esta especie se dio en el municipio de Apaxtla de Castrejón, Guerrero, en las coordenadas 18.132047, -99.930947, el 29 de enero de 2019. La parte de interés de este árbol es su corteza.



Fig. 16. Ejemplar de *A. adstringens* en Apaxtla de Castrejón, Guerrero.

Foto: M.C. René Solano Jiménez

Esta especie es conocida de manera tradicional como “cuachalalate” y pertenece a la familia *Anacardiaceae*. Es un árbol endémico de México y América Central. Su ubicación geográfica en la costa mexicana del Pacífico abarca desde NAY a OAX y en los estados de PUE, MOR, AGS, DGO, MEX, SLP, VER y ZAC (Rodríguez *et al.*, 2015; Rodríguez *et al.* 2016; Villaseñor, 2016).

En la corteza se han identificado los triterpenos ácidos 3- α y 3 epi-masticadienónico, isomasticadionónico y epi-oleanónico, los ácidos instipolinásico, oleanólico, masticadienónico y 3-alfa-hidroxi-masticadienónico; ácidos 6-heptadecil-, 6-nonadecil- y 6-pentadecil-salicílico, β -sitosterol, una mezcla de ácidos anacárdicos y aldehídos fenólicos. En las hojas se ha identificado el triterpeno ácido cuachalálico (Castillo *et al.*, 2013). Rodríguez *et al.* 2016, mediante HPLC identificaron los flavonoides catequina, naringina y pinocembrina y el fenol catecol; y mediante GC-MS, identificaron 13 ácidos grasos (ácidos mirístico, pentadecanoico, palmítico, palmitelaídico, linoleico, oleico, hexadecanoico y esteárico), un monoterpeno (α -terpineol) y el fenol cardanol. Además, el extracto etanólico de *A. adstringens* presentó una concentración de fenoles totales de 276.0 mg de ácido gálico/g y

un contenido de flavonoides de 49.4 mg quercetina/g de extracto seco. Por otro lado, Castillo *et al.*, 2013 y Rodríguez *et al.* 2015, han documentado que el extracto de *A. adstringens* tiene actividad antibacteriana contra las siguientes especies de bacterias Gram(+) y Gram(-) (Tabla 13).

Tabla 13. Actividad antibacteriana de *A. adstringens*.

Gram(+)	Gram(-)
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Salmonella typhi</i>

7. *Artemisia ludoviciana* (Fig. 17). Esta especie se recolectó en la localidad de Cuauchichinola, municipio de Mazatepec, Morelos, en las coordenadas 18.669974, -99.375649, el 20 de febrero de 2019. Las partes de interés son las hojas, tallos y flores.



Fig. 17. Ejemplar de *A. ludoviciana* en Mazatepec, Morelos.

Foto: M.C. René Solano Jiménez

Esta especie forma parte de la familia *Asteraceae*, es endémica de Mesoamérica, aunque también se encuentra distribuida en Europa, Asia y América del Norte. Es una especie ampliamente esparcida en todo el territorio mexicano (AGS, BCN, BCS, CAM, CHIS,

CHIH, COAH, COL, CDMX, DGO, GTO, GRO, HGO, JAL, MEX, MICH, MOR, NAY, NLE, OAX, PUE, QRO, QROO, SLP, SIN, SON, TAB, TAMS, TLAX, VER, YUC y ZAC) y se conoce comúnmente como “estafiate” (Damian *et al.*, 2010, Villaseñor, 2016).

Estudios han informado que el extracto de la hoja de *A. ludoviciana* contiene flavonoides, eupatilina, jaseocidina, arglanina; fenilpropenos: metil eugenol; terpenos: linalool, limoneno, β -ocimeno, α -pineno, canfeno, 1,8-cineol, camfor, borneol, \pm salvinina, z-epoxiocimeno y terpineno; sesquiterpno lactonas, arteanuina B, artemisinina; monoterpenoides y sesquiterpenos, germacreno D, β -selineno, β -cariofileno, β -tujona; ácido dicafeoilquínico; fenoles, timol y carvacrol y cumarinas (Damián *et al.*, 2010; Anaya *et al.*, 2014; Baldemir *et al.*, 2017; Bañuelos *et al.*, 2018). Anaya *et al.*, 2014, apuntan que *A. ludoviciana* tiene actividad antibacteriana contra dos especies de bacterias, la especie Gram(+) *Mycobacterium tuberculosis* y la Gram(-) *Helicobacter pilori*.

8. *Justicia spicigera* (Fig. 18). Esta especie se recolectó en la localidad de Cuauchichinola, municipio de Mazatepec, Morelos, en las coordenadas 18.669974, -99.375649, el 15 de enero de 2019. Las partes de interés son las hojas, tallos y flores.



Fig. 18. Ejemplar de *J. spicigera* en Mazatepec, Morelos.

Foto: M.C. René Solano Jiménez

J. spicigera o “muicle”, como se conoce normalmente, se encuentra en la familia *Acanthaceae*, es una especie endémica de Mesoamérica, crece desde México hasta el sur de Colombia y en algunas áreas de Norteamérica (Vega *et al.*, 2012; Baqueiro y Guerrero, 2014). En México, *J. spicigera* se registra en los estados de BCS, CAM, CHIS, COL, DGO, GTO, GRO, HGO, JAL, MEX, MICH, MOR, NAY, OAX, PUE, QRO, QROO, SLP, SIN, TAB, TAMS, VER y YUC (Villaseñor, 2016).

La diversidad de metabolitos secundarios presentes en *J. spicigera* incluye fenoles, alcaloides, lignanos, flavonoides (camferitrina), cumarinas, antocianinas, taninos, terpenoides, esteroides, ácidos grasos (ácido docosanoico), y ácido salicílico (Navarrete *et al.*, 2016; Fernández *et al.*, 2017). En el análisis de fenoles totales de extractos de las partes de planta, se ha encontrado que el extracto acuoso de la flor tiene el contenido fenólico total más alto que en hojas y tallos. También se ha observado un mayor contenido de flavonoides en el extracto de metanol de los tallos. Los flavonoides como la kaempferitrina, kaempferol trirhamnósido, hesperidina y narigenina se han aislado de las hojas y los taninos de las flores (Baqueiro y Guerrero, 2014; Fernández *et al.*, 2017). Vega *et al.* (2012), reportaron que los extractos de *J. spicigera* tienen actividad antibacteriana en diferentes especies de bacterias Gram(+) y Gram(-) (Tabla 14).

Tabla 14. Actividad antibacteriana de *J. spicigera*.

Gram(+)	Gram(-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Salmonella typhi</i>
	<i>Salmonella typhimurium</i>
	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Porphyromonas gingivalis</i>

5.2 Identificación taxonómica de las especies de plantas

La correcta identificación de las diferentes especies de plantas, proporciona la certeza de que se está recolectando y analizando la que se desea, al poder discernir entre las diferentes características que diferencian a varias subespecies dentro de la misma especie. Con la ayuda

del biólogo Gabriel Flores Franco del herbario HUMO del CIBYC de la UAEM, se logró identificar satisfactoriamente las ocho especies de plantas (Tabla 15) de interés requeridas en esta investigación.

Tabla 15. Identificación de las especies de plantas.

Familia	Nombre científico	No. folio HUMO
<i>Papaveraceae</i>	<i>Argemone mexicana</i> L.	38871
<i>Nyctaginaceae</i>	<i>Bougainvillea spectabilis</i> Willd.	38872
<i>Zygophyllaceae</i>	<i>Larrea tridentata</i> (DC.) Coville	38873
<i>Commelinaceae</i>	<i>Tradescantia zebrina</i> Bosse	38874
<i>Commelinaceae</i>	<i>Tradescantia spathacea</i> SW.	38875
<i>Anacardiaceae</i>	<i>Amphipteryngium adstringens</i> (Schltdl.) Standl.	38876
<i>Asteraceae</i>	<i>Artemisa ludoviciana</i> Nutt.	38877
<i>Commelinaceae</i>	<i>Justicia spicigera</i> Schltdl.	38878

5.3 Rendimientos de los extractos crudos

Una vez realizados los procesos de maceración, evaporación de los disolventes, liofilización y concentración, se obtuvieron los extractos en polvo. El cálculo de los rendimientos se llevó a cabo tomando como base la cantidad en gramos de la planta seca y pulverizada según la siguiente ecuación y se resumen en la Tabla 16.

$$\text{Rendimiento}(\%) = \frac{\text{g de extracto}}{\text{g de planta seca}} \times 100$$

Tabla 16. Rendimientos de los extractos etanólicos y metanólicos de las diferentes especies de plantas.

Especie	Disolvente	Cantidad (g)	Extracto húmedo (mL)	Extracto seco (g)	Rendimiento (%)
<i>A. mexicana</i>	Etanol	640	70	37.9267	5.92
	Metanol	640	140	80.5636	12.58
<i>B. spectabilis</i>	Etanol	320	280	20.7614	6.48
	Metanol	320	280	50.275	15.71
<i>L. tridentata</i>	Etanol	1,470	385	166.0242	11.29
	Metanol	1,470	420	241.21	16.4
<i>T. zebrina</i>	Etanol	150	105	5.1122	3.4
	Metanol	150	140	17.5804	11.72
<i>T. spathacea</i>	Etanol	137	105	4.7675	3.47
	Metanol	137	70	12.6831	9.25
<i>A. adstringens</i>	Etanol	2,382	455	204.6191	8.59
	Metanol	2,382	595	301.1646	12.64
<i>A. ludoviciana</i>	Etanol	490	140	27.0335	5.51
	Metanol	490	140	58.2732	11.89
<i>J. spicigera</i>	Etanol	1,375	210	30.935	2.24
	Metanol	1,375	210	103.5055	7.52

5.4 Análisis fitoquímico cualitativo de los extractos

En los extractos etanólicos (Tabla 17), *A. mexicana*, *L. tridentata*, *A. adstringens* y *A. ludoviciana* mostraron resultados positivos a 6 pruebas de las 9 pruebas. *B. spectabilis*, *T. spathacea* y *J. spicigera* presentaron resultados positivos a 5 pruebas. *T. zebrina* fue la única especie en dar resultados positivos solo a 4 pruebas. *B. spectabilis* fue la única especie que dio un resultado positivo para la presencia de quinonas utilizando HCl concentrado. La presencia de cumarinas solo se presentó en *T. spathacea*, *A. ludoviciana* y *J. spicigera*. La prueba de H₂SO₄ resultó ser la mejor en la detección de flavonoides, dando resultado negativo únicamente en *B. spectabilis*. De manera similar, la presencia de taninos se confirmó en todas las especies, a excepción de *J. spicigera*. Los compuestos fenólicos estuvieron ausentes en *T. spathacea* y *J. spicigera*. De manera análoga, los terpenoides estuvieron ausentes en *B. spectabilis* y *T. spathacea*.

En cuanto a los extractos metanólicos (Tabla 18), se observaron algunas diferencias en comparación con los etanólicos. *L. tridentata* dio resultados positivos a 8 pruebas, *A. adstringens* a 7 pruebas, *A. ludoviciana* a 5 pruebas y *A. mexicana*, *B. spectabilis*, *T. zebrina*, *T. spathacea* y *J. spicigera* a 4 pruebas. En esta ocasión, las pruebas de Braymer para taninos y con H₂SO₄ para flavonoides dieron resultados positivos en todas las especies. Las quinonas con NaOH estuvieron más ausentes, encontrándose solo en *L. tridentata* y *A. adstringens*, y con HCl concentrado, solo en esta última especie. La presencia de cumarinas solo se observó en *L. tridentata* y *A. ludoviciana*. A diferencia del extracto etanólico, en el extracto metanólico de *T. zebrina*, no se observó la presencia de compuestos fenólicos. Por último, también se registró una mayor ausencia de terpenoides, reportando su presencia solo en *L. tridentata*, *T. zebrina*, *A. adstringens*, *J. spicigera*.

Tabla 17. Metabolitos secundarios presentes en los extractos etanólicos.

Pruebas cualitativas		Especie							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Fenoles	Prueba de FeCl ₃	+	+	+	+	-	+	+	-
Taninos	Prueba de Braymer	+	+	+	+	+	+	+	-
Quinonas	NaOH al 5%	-	+	+	-	+	+	-	+
	HCl concentrado	-	+	-	-	-	-	-	-
Cumarinas	NaOH al 10%	-	-	-	-	+	-	+	+
	NaOH al 20%	+	+	-	-	+	-	+	+
Flavonoides	Prueba de Shinoda	+	-	+	-	-	+	-	-
	Prueba de H ₂ SO ₄	+	-	+	+	+	+	+	+
Terpenoides	Prueba de Salkowki	+	-	+	+	-	+	+	+

1) *A. mexicana*, 2) *B. spectabilis*, 3) *L. tridentata*, 4) *T. zebrina*, 5) *T. spathacea*, 6) *A. adstringens*, 7) *A. ludoviciana*, 8) *J. spicigera*.

Tabla 18. Metabolitos secundarios presentes en los extractos metanólicos.

Pruebas cualitativas	Especie								
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Fenoles	Prueba de FeCl ₃	+	+	+	-	-	+	+	-
Taninos	Prueba de Braymer	+	+	+	+	+	+	+	+
Quinonas	NaOH al 5%	-	-	+	-	-	+	-	-
	HCl concentrado	-	-	-	-	-	+	-	-
Cumarinas	NaOH al 10%	-	-	+	-	-	-	+	-
Flavonoides	NaOH al 20%	+	+	+	-	+	-	+	+
	Prueba de Shinoda	-	-	+	+	+	+	-	-
	Prueba de H ₂ SO ₄	+	+	+	+	+	+	+	+
Terpenoides	Prueba de Salkowki	-	-	+	+	-	+	-	+

1) *A. mexicana*, 2) *B. spectabilis*, 3) *L. tridentata*, 4) *T. zebrina*, 5) *T. spathacea*, 6) *A. adstringens*, 7) *A. ludoviciana*, 8) *J. spicigera*.

5.5 Cuantificación de compuestos polifenólicos totales en los extractos

Los resultados de la cuantificación de compuestos fenólicos totales en los 16 extractos de las plantas, expresados en mg de ácido gálico equivalentes/g de extracto seco (mgAGEq/gES), se obtuvieron con la ecuación de la recta $y=bx+a$, donde b =pendiente y a =intercepto (Fig. 19). Se observó que los extractos etanólicos y metanólicos de *Amphipteryngium adstringens* (Schltdl.) Standl. y *Larrea tridentata* (DC.) Coville presentan las mayores concentraciones de compuestos fenólicos totales (317.49 ± 4.61 , 315.8 ± 21.88 y 266.49 ± 12.29 , 363.51 ± 13.63 , respectivamente); por el contrario, los extractos etanólico y metanólico de *Tradescantia spathacea* SW., resultaron poseer las concentraciones más bajas de fenoles totales (19.78 ± 1.04 y 14.17 ± 0.77 , respectivamente) (Fig. 20).

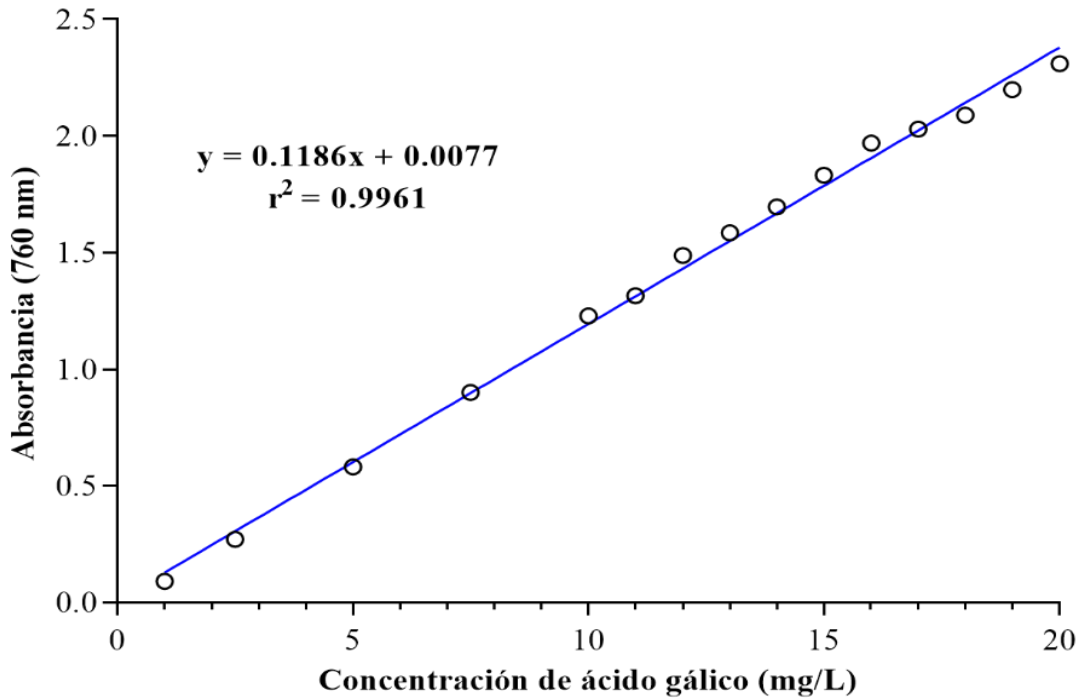


Fig. 19. Curva patrón de ácido gálico.

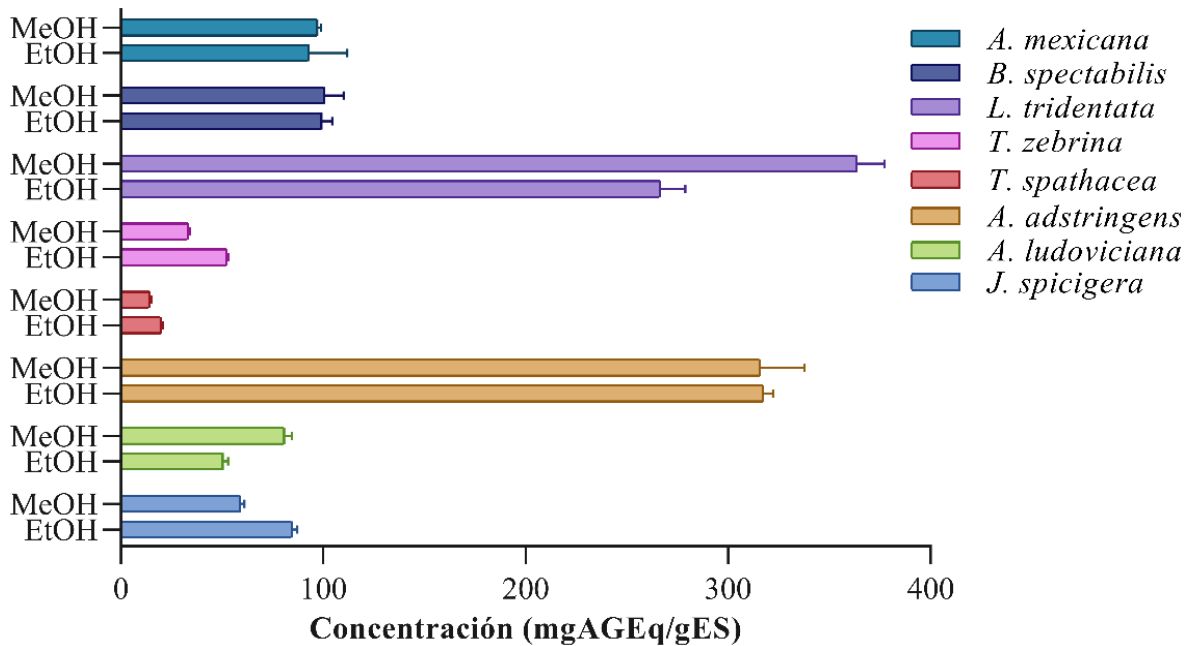


Fig. 20. Compuestos polifenólicos totales en los extractos etanólicos y metanólicos de las especies de plantas.

5.6 Pruebas alguicidas en medio sólido

Después de 9 días de crecimiento, se llevó a cabo la medición de las zonas de inhibición y los resultados se muestran en las Fig. 21 y 22. La mayoría de los extractos metanólicos mostraron efectos ligeramente superiores a los etanólicos, con algunas excepciones. En *M. aeruginosa* (Fig. 21a y 21b), los mayores halos de inhibición se obtuvieron con 5 mg de los extractos metanólicos y etanólicos de *A. adstringens* (33.33 ± 1.53 mm y 31.33 ± 1.77 mm) y *L. tridentata* (28.67 ± 0.58 mm y 26.33 ± 0.58 mm). Las pruebas con 3 y 5 mg del extracto etanólico de *A. ludoviciana*, mostraron una mejora sutil en comparación al extracto metanólico, 17.67 ± 2.31 mm y 20.67 ± 2.52 mm; 16.67 ± 1.15 mm y 20.33 ± 0.58 mm, respectivamente. Los extractos metanólicos de *B. spectabilis*, *A. mexicana* y *J. spicigera* (5 mg) fueron sutilmente mejores a los etanólicos, mostrando halos de inhibición de 21.00 ± 1.00 mm, 20.33 ± 1.53 mm y 18.33 ± 1.53 mm, respectivamente. Por último, los extractos etanólicos de *T. spathacea* y *T. zebrina* fueron los que presentaron los efectos más bajos, 11.33 ± 0.58 mm y 10.33 ± 0.58 mm.

Según los resultados obtenidos, *A. cylindrica* resultó ser más resistente a los diferentes extractos en comparación con *M. aeruginosa* (Fig. 22a y 22b). Las pruebas con 5 mg de los extractos metanólicos de *L. tridentata* (28.67 ± 0.58 mm) y *A. adstringens* (27.33 ± 1.15 mm) resultaron ser ligeramente mejores a los etanólicos, 27.67 ± 0.58 mm y 25.33 ± 1.15 mm, respectivamente. El extracto etanólico de *A. ludoviciana* (5 mg) mostró una leve mejora en comparación al metanólico, con inhibiciones de 21.67 ± 2.08 mm y 20.00 ± 1.00 mm. Con 3 y 5 mg del extracto metanólico de *J. spicigera* se registraron inhibiciones de 11.33 ± 1.53 y 17.00 ± 2.65 mm y con 5 mg del extracto etanólico la inhibición fue de 15.67 ± 4.04 mm. Sin embargo, con 1 y 3 mg del extracto etanólico y 1 mg del metanólico, no se observó halo de inhibición. Los extractos metanólicos y etanólicos de *A. mexicana* y *B. spectabilis* mostraron efectos similares con 5 mg, 14.67 ± 1.15 mm y 13.67 ± 1.15 mm para *A. mexicana*; y 15.00 ± 1.00 mm y 14.00 ± 1.00 mm para *B. spectabilis*. Nuevamente *T. spathacea* y *T. zebrina* mostraron los menores efectos, con 5 mg los extracto metanólico y etanólico de *T. spathacea* mostraron inhibiciones de 14.33 ± 1.53 mm y 13.00 ± 3.46 mm. Finalmente, ningún extracto de *T. zebrina* presentó halo de inhibición en *A. cylindrica*.

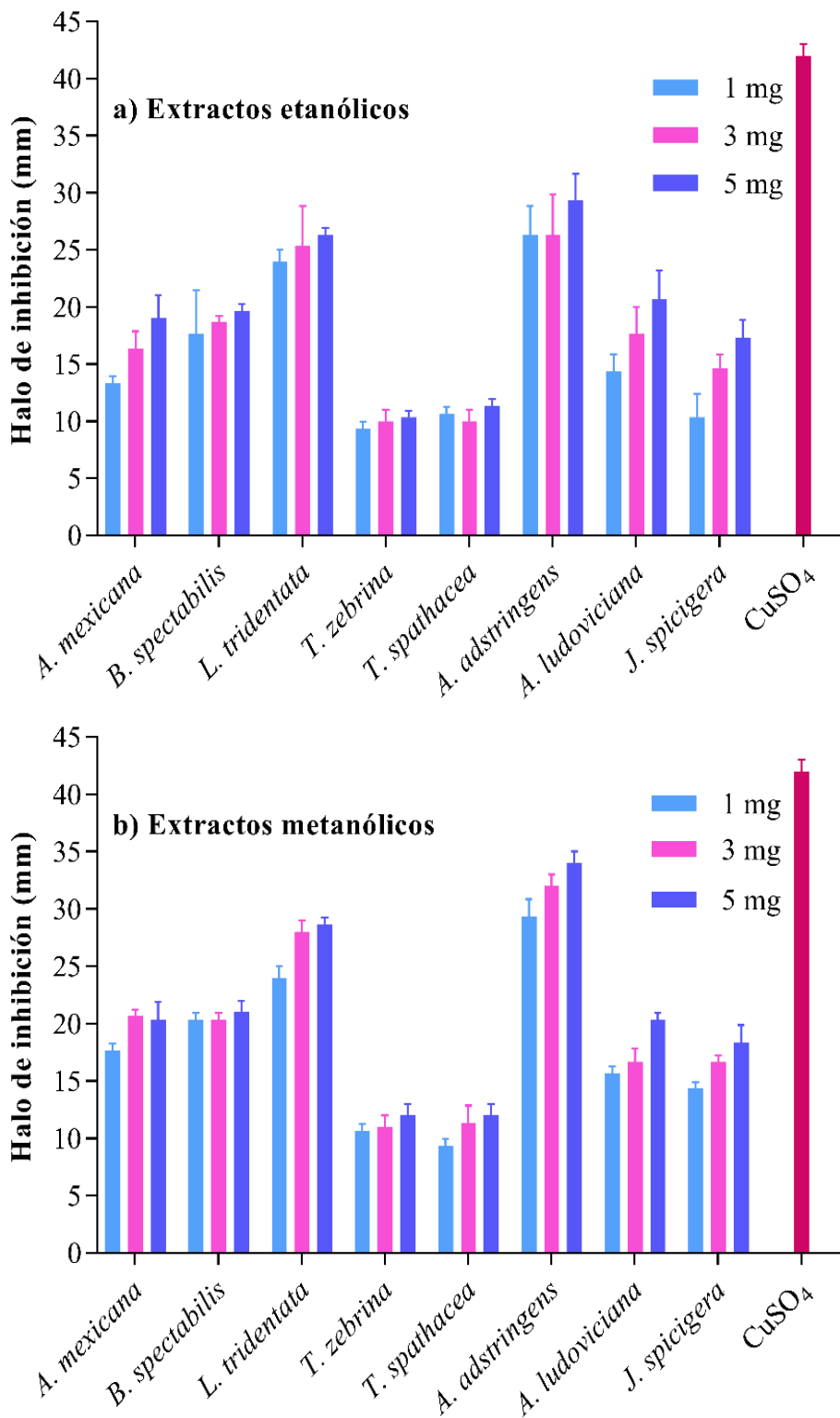


Fig. 21. Halo de inhibición de los extractos en *M. aeruginosa* en medio sólido.

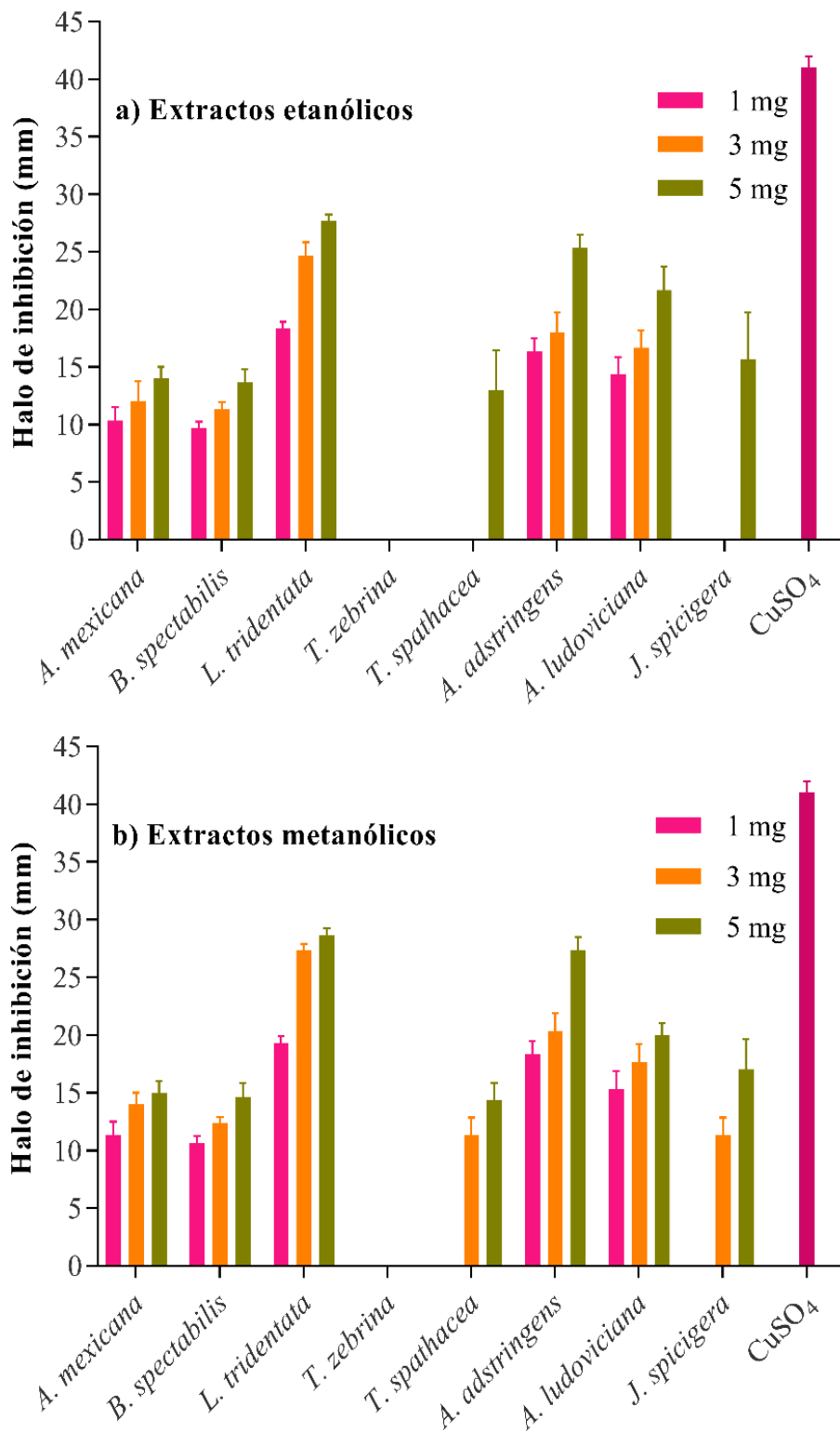


Fig. 22. Halo de inhibición de los extractos sobre *A. cylindrica* en medio sólido.

5.7 Pruebas alguicidas en medio líquido

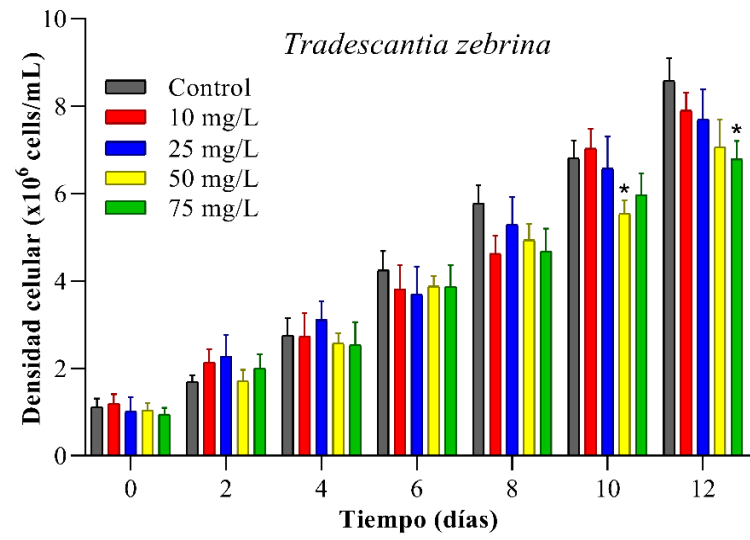
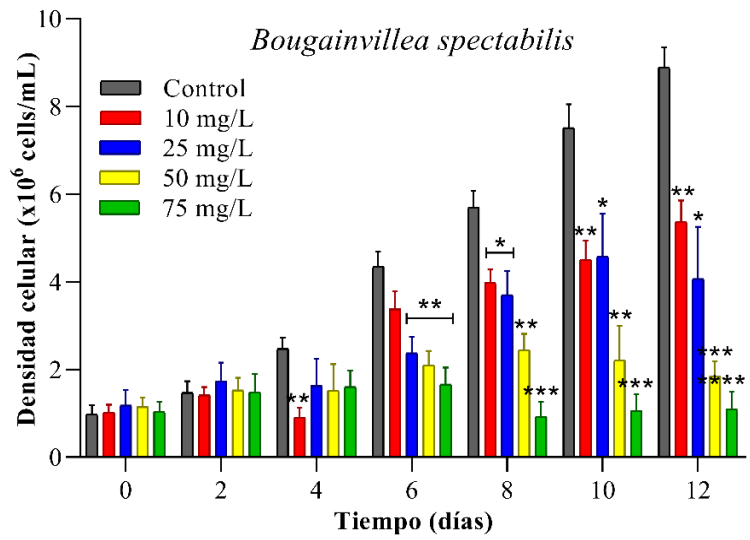
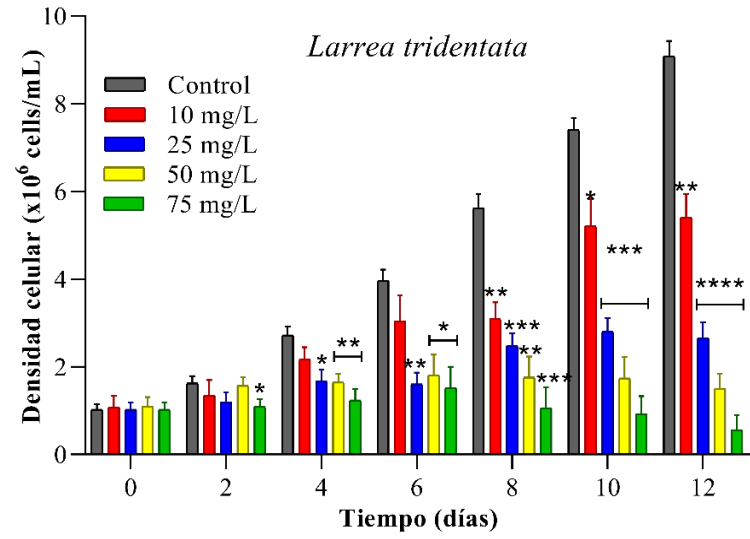
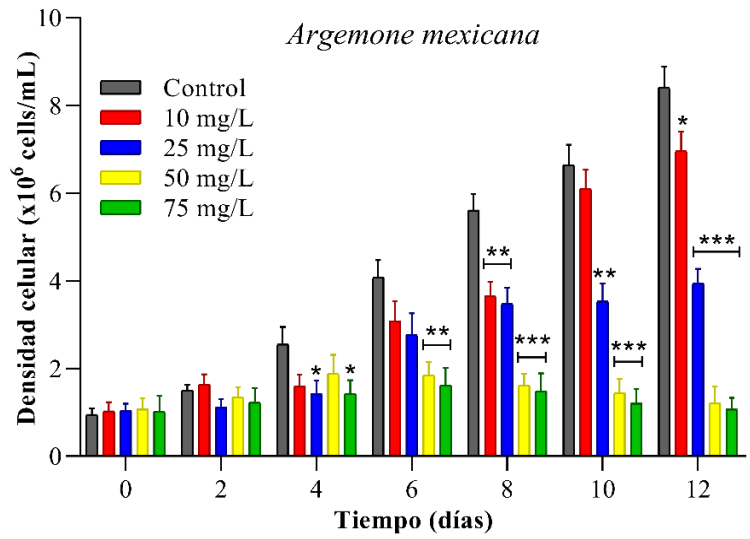
5.7.1 Efectos de los extractos metanólicos en el crecimiento de *M. aeruginosa*

Los efectos en el crecimiento de *M. aeruginosa* debido a la exposición a los extractos metanólicos a concentraciones de 10, 25, 50 y 75 mg/L durante 12 días se presentan en el Anexo 1 y en las Fig. 23, 24 y 25. *L. tridentata* fue la especie que registró los mayores efectos inhibidores. A partir del día 8, se observó una disminución significativa en el crecimiento de *M. aeruginosa* en todas las concentraciones estudiadas, manteniendo esta tendencia hasta el final del experimento. Para el día 12 a 25, 50 y 75 mg/L, las densidades celulares fueron de 2.656, 1.509 y 0.563×10^6 cél/mL, lo que significó inhibiciones de 70.77%, 83.39% y 93.80% ($p < 0.0001$, ANOVA) con respecto al control. De manera similar, con *A. adstringens* se mostraron efectos significativos en todas las concentraciones a partir del día 10, siendo los más importantes a 50 y 75 mg/L, con inhibiciones del 68.76% ($p < 0.001$, ANOVA) y 86.43% ($p < 0.0001$, ANOVA), respectivamente, alcanzando en el día 12 inhibiciones del 81.54% ($p < 0.001$, ANOVA) y 90.37% ($p < 0.0001$, ANOVA) en relación al control, respectivamente.

En orden descendente de eficacia, las siguientes especies fueron *B. spectabilis* y *A. mexicana*, las cuales presentaron resultados similares. En el grupo de *B. spectabilis*, a 10 y 25 mg/L el grado de eficacia del extracto fue similar en el transcurso del experimento, pero en el día 12, se alcanzaron inhibiciones del 39.63% ($p < 0.01$, ANOVA) y 54.20% ($p < 0.05$, ANOVA), con respecto al control. A 50 y 75 mg/L, se presentó una clara tendencia descendente a partir del día 10 y 6 y hasta el final del experimento, respectivamente, donde se cuantificó una densidad de 1.854 y 1.097×10^6 cél/mL, lo que significó inhibiciones del 79.14% ($p < 0.001$, ANOVA) y 87.66% ($p < 0.0001$, ANOVA). En cuanto al grupo tratado con *A. mexicana* a 10 mg/L solo se observó un leve descenso en la densidad celular. A 25 mg/L a partir del día 8, se mostró un estancamiento en la densidad celular, la cual en el día 12 fue de 3.943×10^6 cél/mL con una inhibición del 53.13% ($p < 0.001$, ANOVA). Por último, a 50 y 75 mg/L, comenzó una pronunciada tendencia descendente desde el día 6 y hasta el final del experimento, donde las densidades celulares fueron de 1.214 y 1.066×10^6 cél/mL, con inhibiciones del 85.57% ($p < 0.001$, ANOVA) y 87.33% ($p < 0.001$, ANOVA), en relación al control.

Con la exposición al extracto de *A. ludoviciana* a 10 y 25 mg/L, solo se presentó un ligero efecto negativo en *M. aeruginosa*, para el día 12, las densidades celulares registradas fueron de 7.666 y 5.941×10^6 cél/mL, provocando inhibiciones del 16.38% ($p > 0.05$, ANOVA) y 35.20% ($p < 0.05$, ANOVA). Mientras tanto, a 50 y 75 mg/L, se presentó un constante efecto negativo sobre *M. aeruginosa*, a partir del día 8 y al final del experimento las densidades celulares fueron de 3.509 y 3.109×10^6 cél/mL con inhibiciones de 61.73% ($p < 0.001$, ANOVA) y 66.09% ($p < 0.05$, ANOVA), con respecto al control. Por otra parte, en el grupo tratado con *J. spicigera*, de manera inesperada a 10 mg/L a partir del día 8 y hasta el final del experimento, empezó a mostrar mayores efectos que a 25 mg/L, alcanzando en el día 12 inhibiciones de 32.13% ($p < 0.05$, ANOVA) y 24.50% ($p < 0.05$, ANOVA), respectivamente. Los efectos a 50 mg/L fueron similares a los observados a 10 y 25 mg/L en los primeros 6 días de experimentación. Sin embargo, a partir del día 8, ocurrió un visible descenso en la densidad celular de *M. aeruginosa* y para el día 12, el grado de inhibición fue del 49.88% ($p < 0.001$, ANOVA). Con 75 mg/L el máximo efecto se alcanzó en el día 6, donde se registró una densidad celular de 1.574×10^6 cél/mL y una inhibición de 65.77% ($p < 0.001$, ANOVA) con respecto al control, la cual fue disminuyendo ligeramente hasta el final del experimento.

Finalmente, los menores efectos los presentaron las especies de la familia *Commelinaceae*, *T. zebrina* y *T. spathacea*. En cuanto a *T. zebrina*, en los primeros dos días de experimentación se visualizaron inhibiciones negativas en todas las concentraciones estudiadas, es decir, la densidad celular en los tratamientos superó al grupo de control, siendo la más pronunciada a 25 mg/L con -34.03%, seguida de -26.09% a 10 mg/L y -17.80% a 75 mg/L. Para el día 12, las densidades celulares de *M. aeruginosa* fueron de 7.898, 7.699, 7.064 y 6.783×10^6 cél/mL, lo que significó efectos del 7.93%, 10.25%, 17.66% ($p > 0.05$, ANOVA) y 20.94% ($p < 0.05$ ANOVA), respectivamente. El extracto de *T. spathacea* resultó ser sutilmente más efectivo que su homónimo, aun cuando a 10 y 25 mg/L se registraron inhibiciones negativas en los primeros 6 y 4 días, respectivamente, siendo la más pronunciada en el día 2 a 10 mg/L (-28.29%). A 50 y 75 mg/L las inhibiciones apenas superaron en 20% a partir del 10 día, siendo las más importantes las registradas en el día 12, con 22.11% y 25.45% ($p < 0.05$, ANOVA), en relación al control.



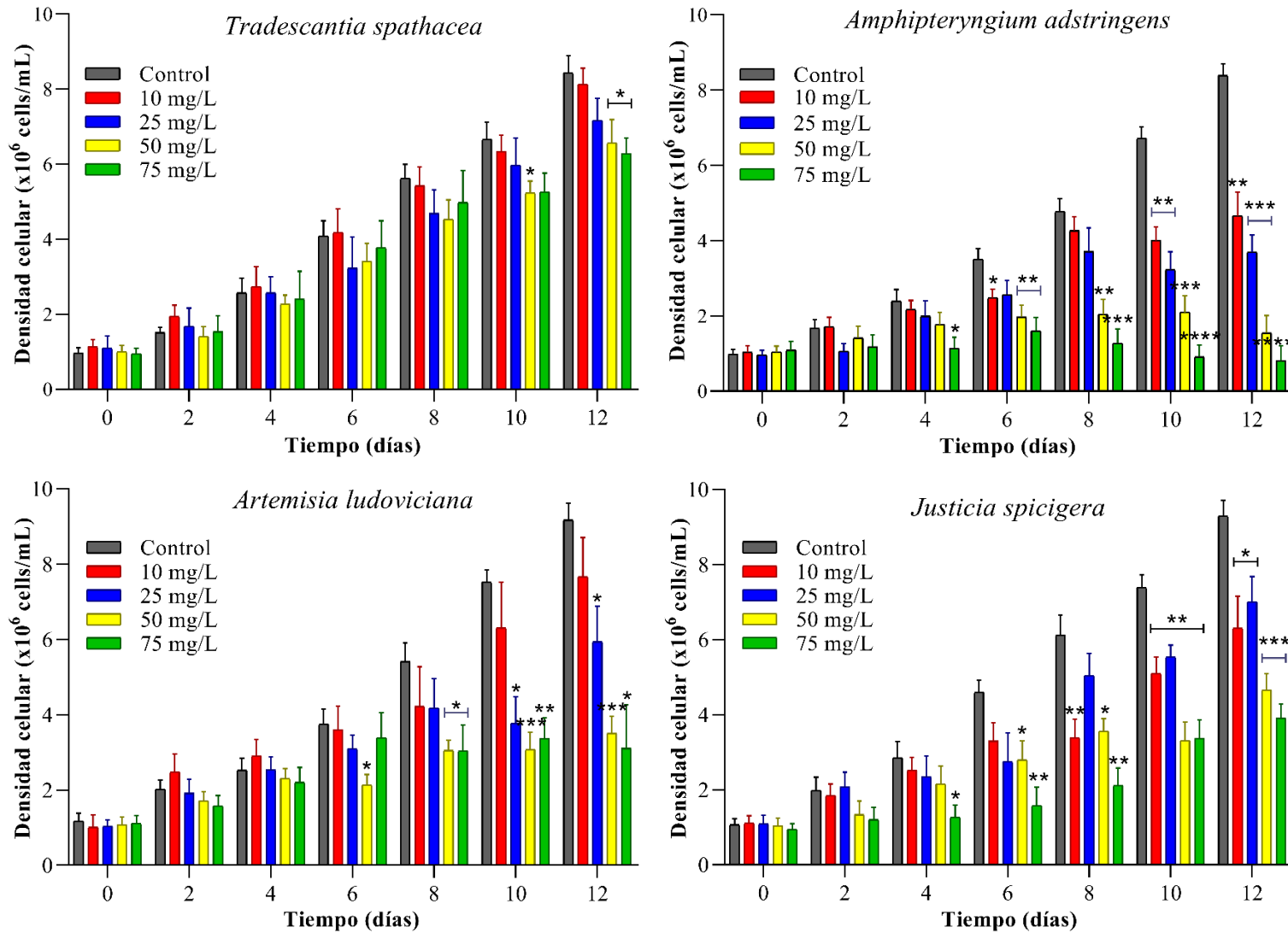
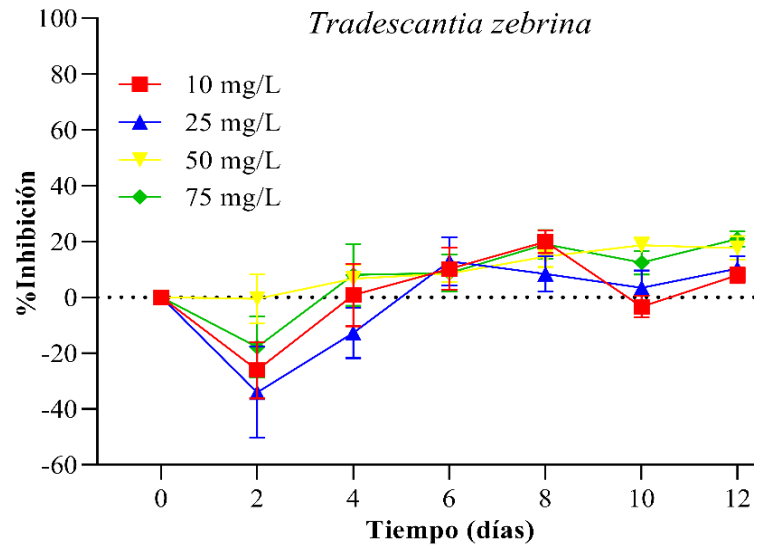
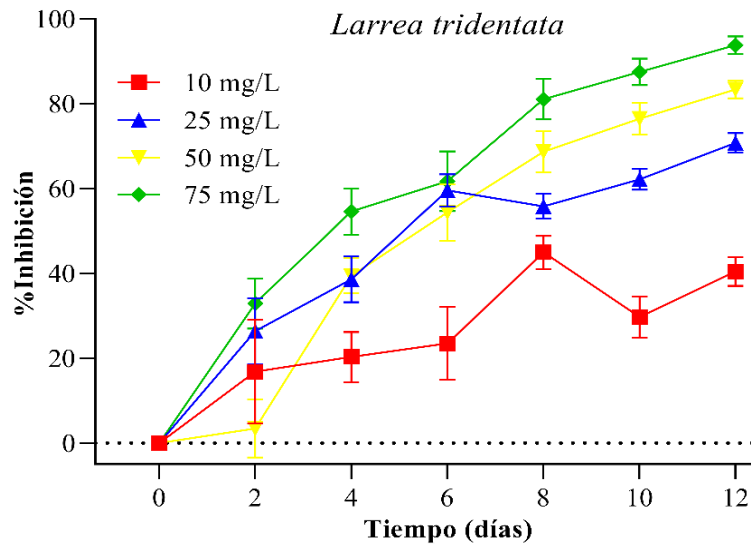
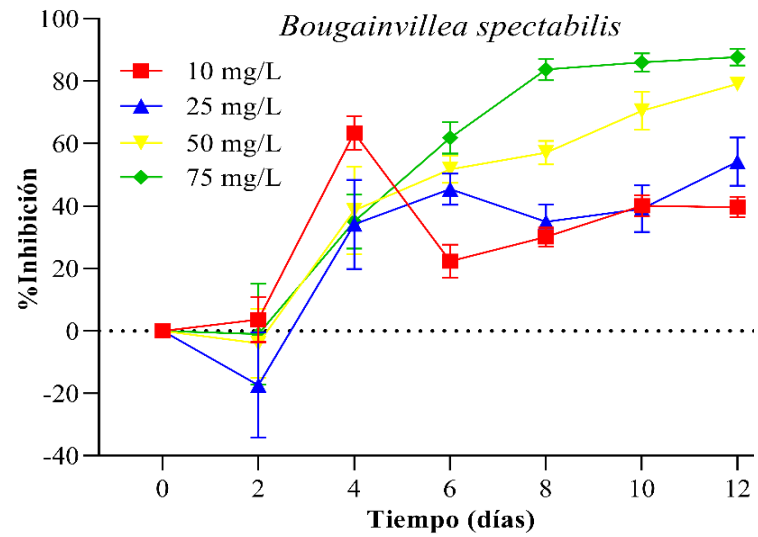
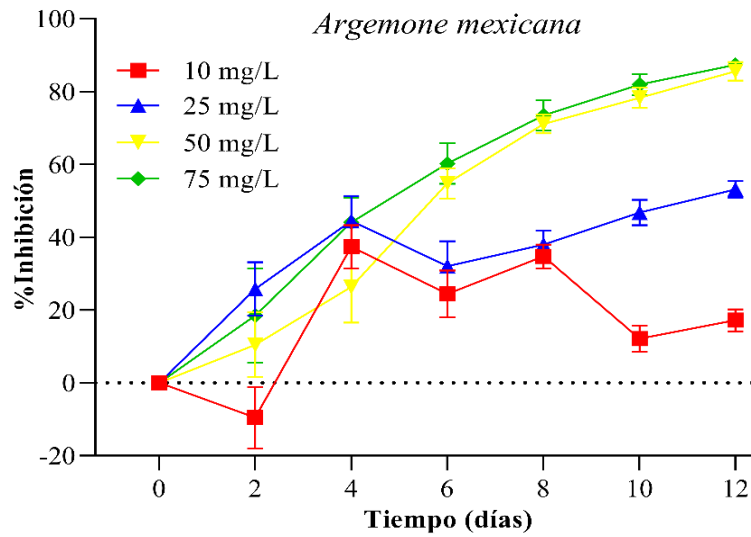


Fig. 23. Efectos de los extractos metanólicos en la densidad celular de *M. aeruginosa*.



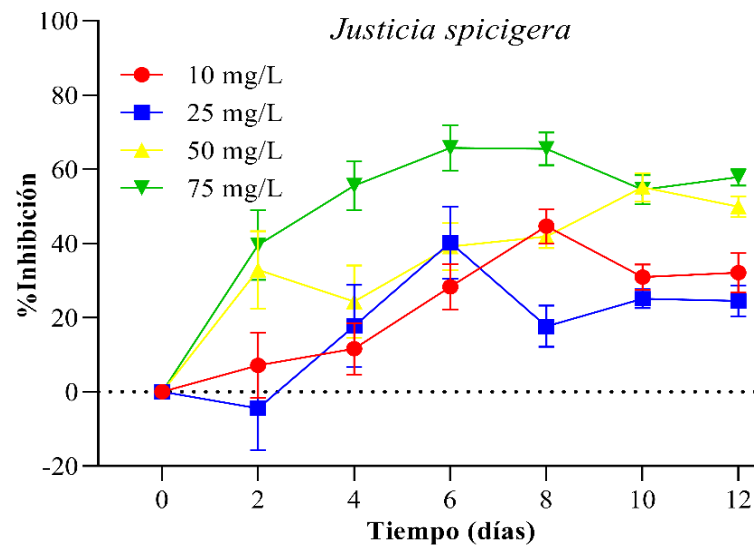
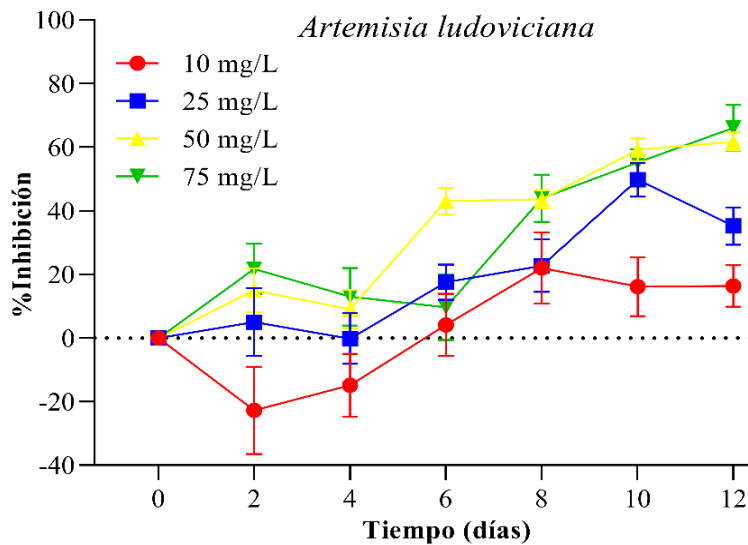
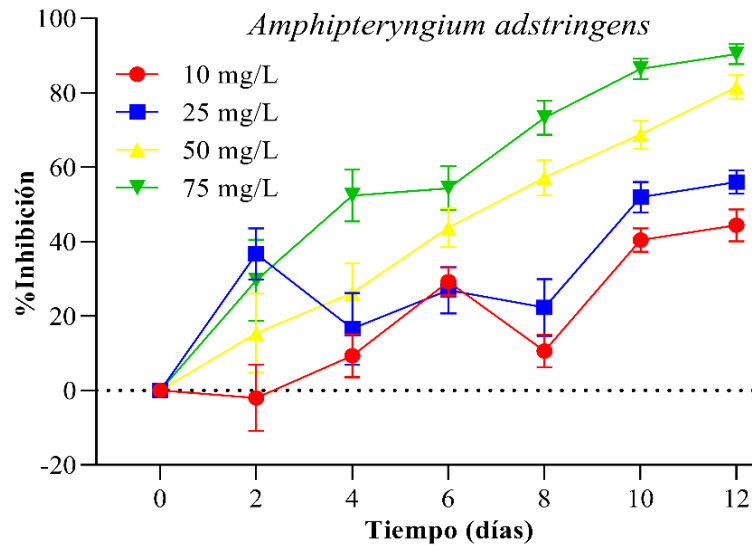
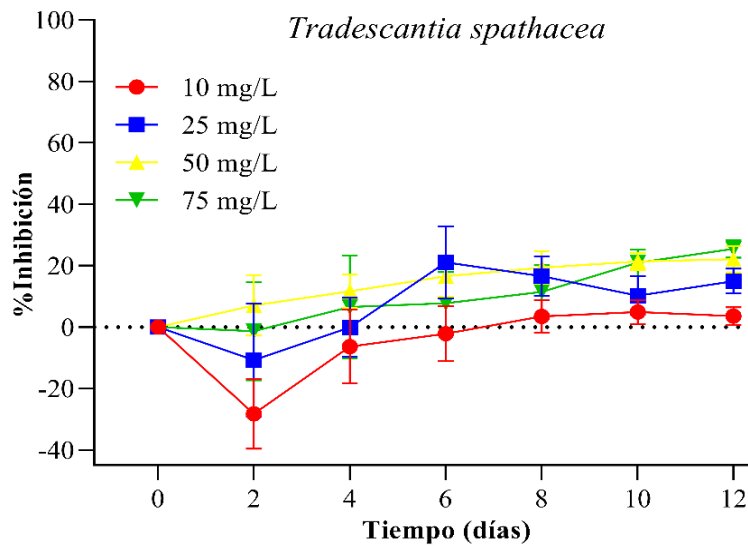


Fig. 24. Tasas de inhibición de los extractos metanólicos en *M. aeruginosa*.

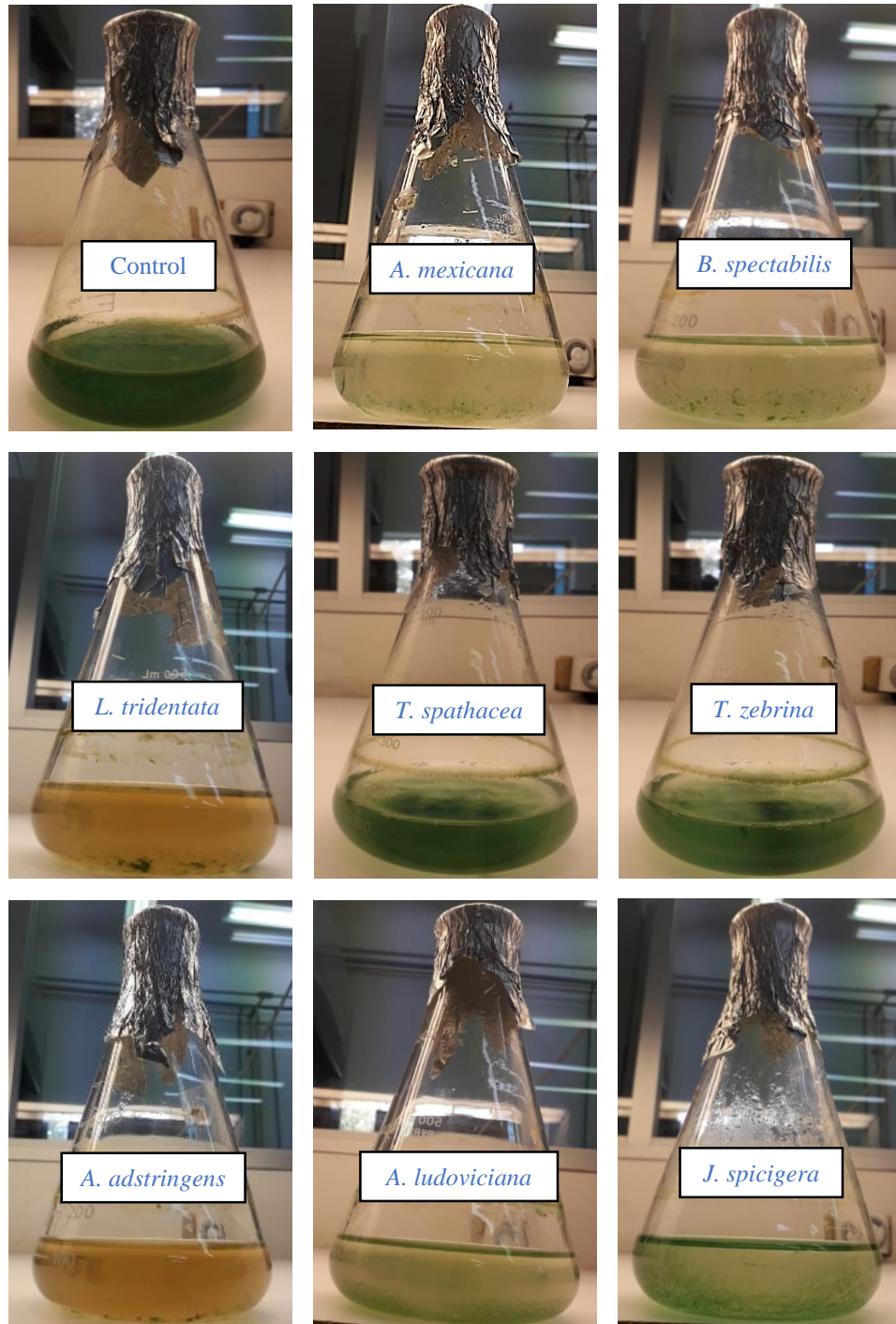


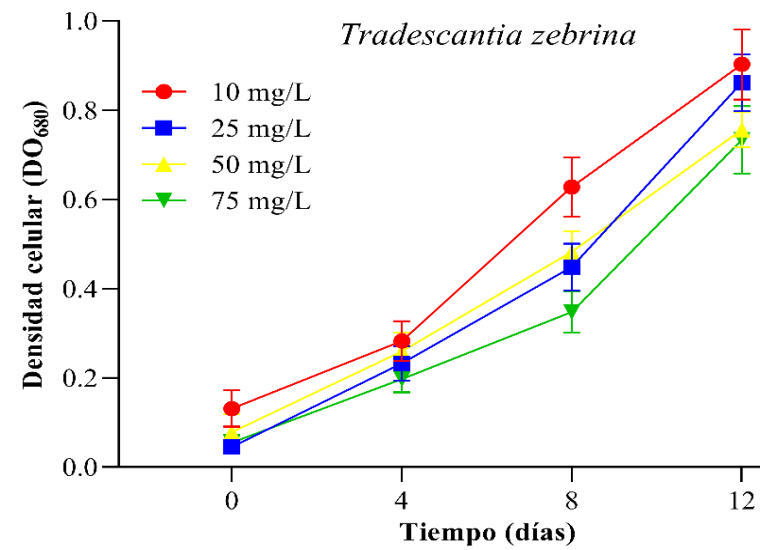
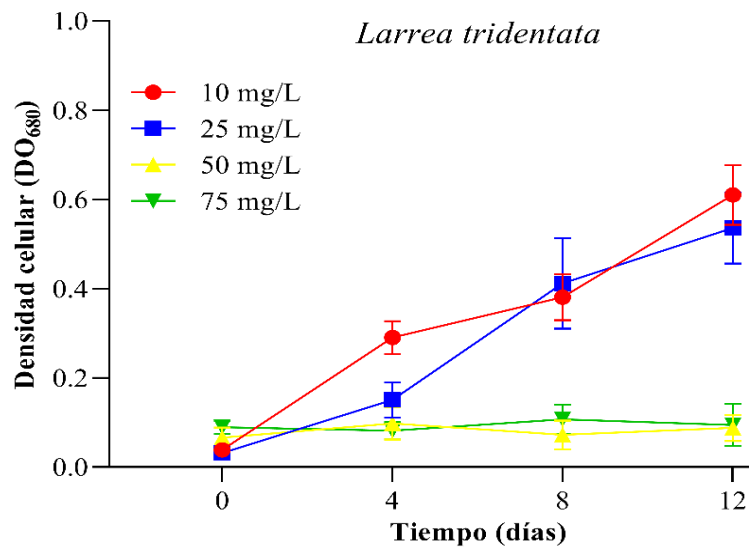
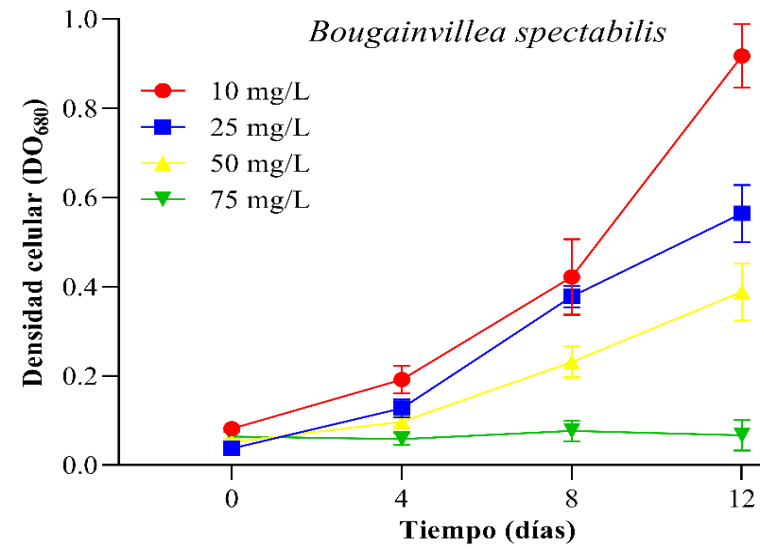
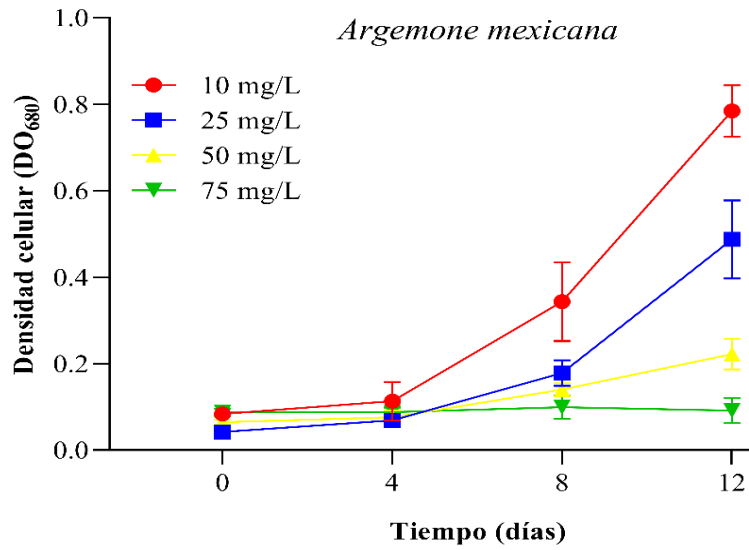
Fig. 25. Cultivos de *M. aeruginosa* después de 12 días de exposición a los extractos a una concentración de 75 mg/L.

5.7.2 Efectos alguistáticos y alguicidas en *M. aeruginosa*

En el Anexo 1 y la Fig. 26 se muestran los valores de DO y las curvas de crecimiento de *M. aeruginosa* después de inocularse en un cultivo nuevo. *L. tridentata* y *A. adstringens* fueron las únicas especies en mostrar efectos alguistáticos a 10 y 25 mg/L y efectos alguicidas a 50 y 75 mg/L, debido a que, a estas últimas concentraciones, no se presentó un nuevo crecimiento de *M. aeruginosa*. En el caso de *L. tridentata* a 25 mg/L, esta respuesta resultó inesperada, porque al final de la prueba de inhibición de crecimiento, a esta misma concentración se empezaba a presentar una tendencia descendente en la densidad celular de *M. aeruginosa*. Sin embargo, posiblemente el cultivo nuevo aportó los nutrientes necesarios para que *M. aeruginosa* pudiera superar los daños causados por este extracto.

A concentraciones de 10, 25 y 50 mg/L, *A. mexicana* y *B. spectabilis* mostraron un rebrote significativo en el crecimiento de *M. aeruginosa* después de 12 y 8 días, respectivamente, estos resultados indican efectos alguistáticos. Sin embargo, a 75 mg/L, no se observó un nuevo crecimiento, por lo que esta concentración es suficiente para que estas especies muestren efectos alguicidas. Estos hallazgos resultan interesantes debido a que, en las pruebas de inhibición de crecimiento, a 50 y 75 mg/L, después del día 6 y 8, respectivamente, se pudo observar una clara tendencia descendente en el crecimiento. No obstante, la concentración de 50 mg/L, no se fue suficiente para evitar que *M. aeruginosa* creciera nuevamente. *A. ludoviciana* y *J. spicigera* mostraron efectos alguistáticos en todas las concentraciones estudiadas. Resulta llamativo que *A. ludoviciana*, a pesar de haber mostrado inhibiciones del 61.73% y 66.09% a 50 y 75 mg/L, respectivamente, esto no fuera suficiente para llevar a *M. aeruginosa* a la extinción, observándose un repunte significativo en el crecimiento a partir del día 12. En el caso de *J. spicigera*, los efectos alguistáticos presentados por esta especie eran de esperarse, ya que se hipotetizó que inhibiciones del 49.88 y 57.84% no serían suficientes para causar efectos alguicidas sobre *M. aeruginosa*. Con todo esto, un punto a favor de estas especies es que a 75 mg/L, solo se observó un leve crecimiento de *M. aeruginosa*, por lo que es muy probable que a concentraciones un poco más elevadas estas especies también presenten efectos alguicidas.

Era evidente que los cultivos de *M. aeruginosa* tratada con *T. zebrina* y *T. spathacea*, reanudarían inmediatamente su crecimiento en todas las concentraciones estudiadas. Ambas especies mostraron un crecimiento significativo desde el día 4, por lo tanto, los efectos alguistáticos de estas especies resultaron ser los más leves.



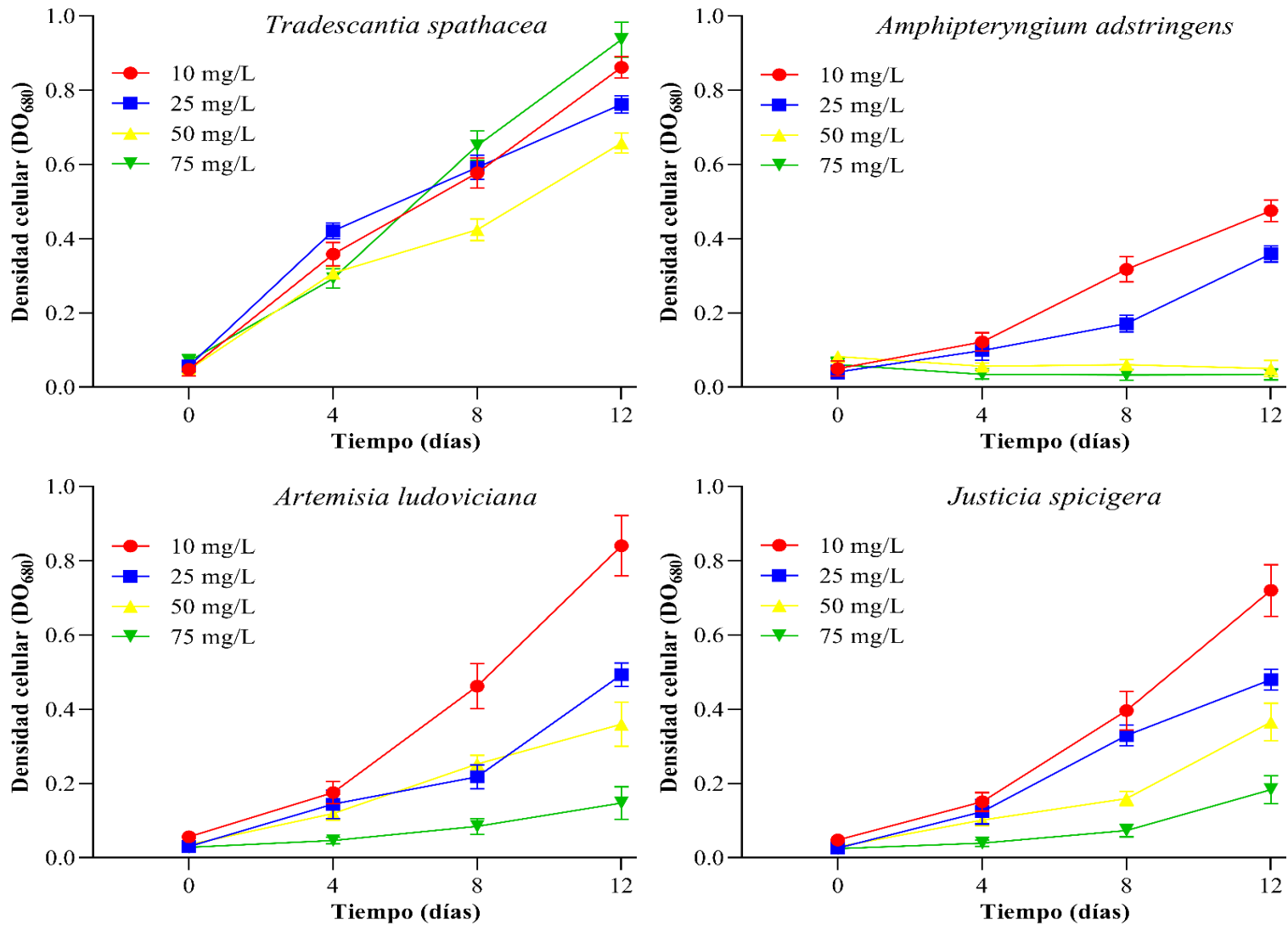


Fig. 26. Efectos alguistáticos y alguicidas de los extractos metanólicos sobre *M. aeruginosa*.

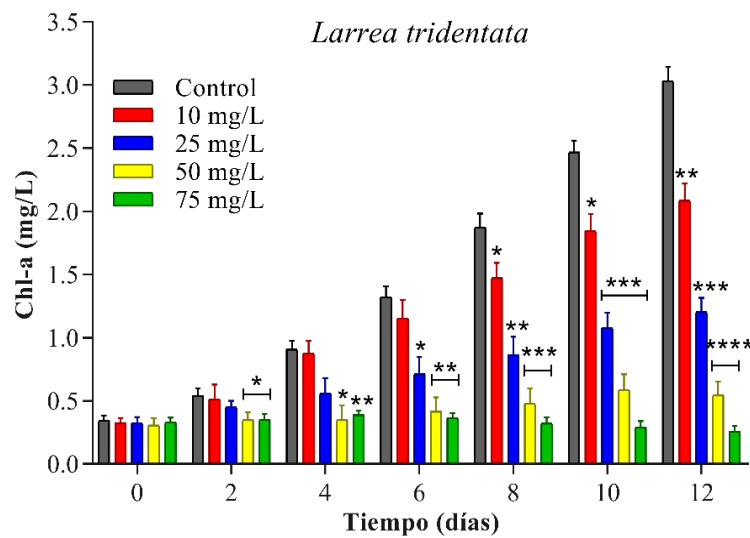
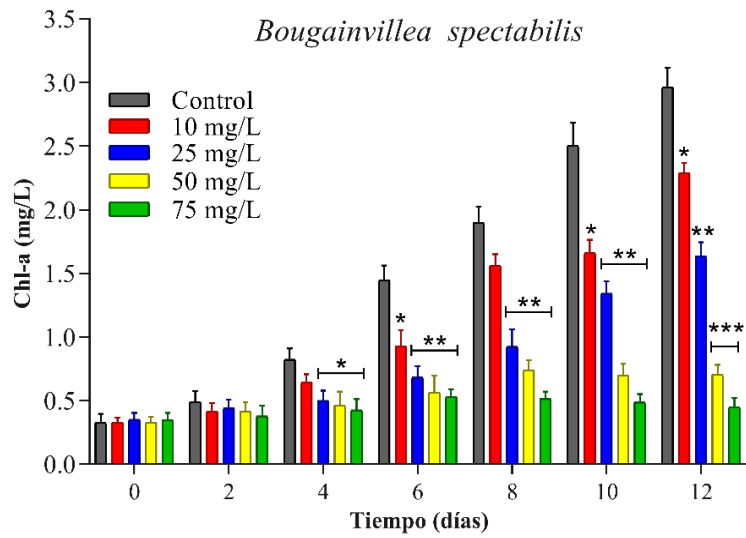
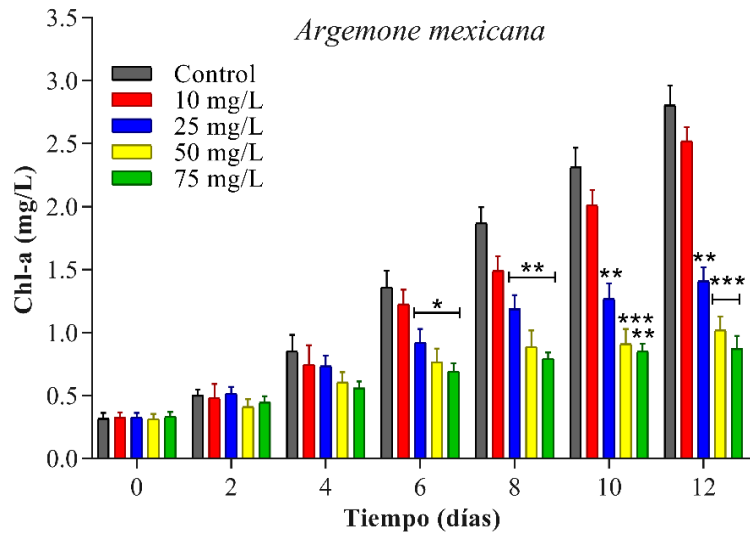
5.7.3 Efectos de los extractos metanólicos en la concentración de Chl-a de *M. aeruginosa*

Los efectos en la concentración de Chl-a expresada como [Chl-a] en *M. aeruginosa* durante los 12 días de exposición a los extractos metanólicos se presentan en el Anexo 1 y la Fig. 27. La especie *A. adstringens* fue la que mostró los mayores efectos, desde el día 4 y hasta el final del experimento se registraron disminuciones significativas en la [Chl-a] en todas las concentraciones estudiadas. En los días 10 y 12 a 50 mg/L, se presentaron [Chl-a] = 0.217 y 0.173 mg/L, disminuciones del 90.73% ($p < 0.001$, ANOVA) y 94.03% ($p < 0.0001$, ANOVA), con respecto al control. A 75 mg/L, a partir del día 8 se sobrepasó el 90% de disminución de la [Chl-a], con valores de 0.144, 0.122 y 0.093 mg/L, es decir, con decrementos del 90.98%, 94.77% y 96.79% ($p < 0.001$, $p < 0.001$ y $p < 0.0001$, ANOVA), comparados con el control. De manera similar, el grupo tratado con *L. tridentata* también presentó importantes efectos en la [Chl-a], en el periodo del día 8 al 12, la [Chl-a] descendió drásticamente en todas las concentraciones. Al final del experimento, a 10 y 25 mg/L, se obtuvieron valores de [Chl-a] = 2.120 y 1.203 mg/L, respectivamente, indicando inhibiciones del 29.99% ($p < 0.05$, ANOVA) y 60.27% ($p < 0.01$, ANOVA), en relación al control. A 50 mg/L en el día 12, se obtuvo una [Chl-a] = 0.544 mg/L, una disminución del 82.04% ($p < 0.001$), y a 75 mg/L, en el mismo día, se observó una reducción superior al 90%, registrándose una [Chl-a] = 0.257 mg/L (91.51%) ($p < 0.001$, ANOVA), en relación al control.

Los resultados obtenidos en grupo tratado con *B. spectabilis* fueron semejantes a los observados con *A. adstringens* y *L. tridentata*. En esta ocasión, los efectos significativos en todas las concentraciones se alcanzaron en el día 6 y hasta el final de la prueba, a excepción del día 8 a 10 mg/L ($p > 0.05$, ANOVA). A 25 mg/L, los mayores efectos se registraron en el día 6, los cuales fueron disminuyendo paulatinamente hasta el día 12, con inhibiciones de 52.96%, 51.29%, 46.40% y 44.77% ($p < 0.01$, ANOVA), en relación al control. A 50 y 75 mg/L se manifestaron los mayores efectos inhibitorios. A estas concentraciones, la disminución de la [Chl-a] fue gradual en todo el experimento, alcanzando en el día 12, inhibiciones del 76.18% y 84.86% ($p < 0.001$, ANOVA), en relación al control. En cuanto al tratamiento con *A. mexicana*, a 10 mg/L no se percibió ningún efecto significativo en todo el transcurso del experimento ($p > 0.05$, ANOVA). Sin embargo, a 25 mg/L, la disminución de

Chl-a fue gradual, para el día 12 el valor fue de [Chl-a] = 1.443 mg/L, un decremento del 48.54% ($p < 0.01$, ANOVA). Como era de esperarse, los mayores efectos se registraron a 50 y 75 mg/L, los cuales mostraron resultados similares en todo el periodo de prueba, para el día 10 las inhibiciones fueron de 59.16% ($p < 0.001$) y 63.16% ($p < 0.01$, ANOVA), respectivamente, y en el último día alcanzaron el 63.68% y 68.94% de inhibición ($p < 0.001$), con respecto al control.

En relación a los tratamientos con *A. ludoviciana*, en los primeros 4 días de exposición no se observó ningún efecto significativo a ninguna concentración. A 10 mg/L, solo se registró un ligero efecto significativo en el día 10 (17.33%, $p < 0.05$, ANOVA). Las inhibiciones en el grupo de 25 mg/L fueron variables en el transcurso del experimento, alcanzando el valor máximo en el día 10 con 42.53% ($p < 0.01$, ANOVA), disminuyendo sutilmente en el día 12. Algo semejante se presentó a 50 mg/L, donde en el día 10 se presentó en valor máximo inhibitorio, 52.68% ($p < 0.001$, ANOVA) el cual disminuyó levemente en el día 12. Por el contrario, a 75 mg/L la disminución en la [Chl-a] fue constante a partir del día 6, alcanzando el máximo en el día 12, con una inhibición del 59.51% ($p < 0.001$, ANOVA), en relación al control. Finalmente, con el extracto de *A. ludoviciana* hubo una disminución significativa en la [Chl-a] a partir del día 8 en todas las concentraciones. Es la única especie que a 10 mg/L, presentó inhibiciones negativas en los primeros 4 días de exposición (-11.11% y -6.38%, respectivamente). La variabilidad en el grado de inhibición a 25 mg/L fue algo notorio, en los días 2, 6, 8 y 12 las inhibiciones fueron de 34.67% ($p > 0.05$, ANOVA), 36.78% ($p < 0.05$, ANOVA), 31.97% ($p < 0.05$, ANOVA) y 37.89% ($p < 0.01$, ANOVA). Algo parecido se registró a 50 mg/L, donde en el día 12 la inhibición fue del 47.92% ($p < 0.001$, ANOVA), no obstante, en los días 6 y 8 los resultados fueron casi los mismos, 46.22% y 44.06% ($p < 0.01$, ANOVA). A 75 mg/L, la máxima inhibición se alcanzó en el día 10 (58.93%, $p < 0.01$, ANOVA), aunque en los días 8 y 12 fue similar 53.09% ($p < 0.01$, ANOVA) y 54.93% ($P < 0.001$, ANOVA), con respecto al control.



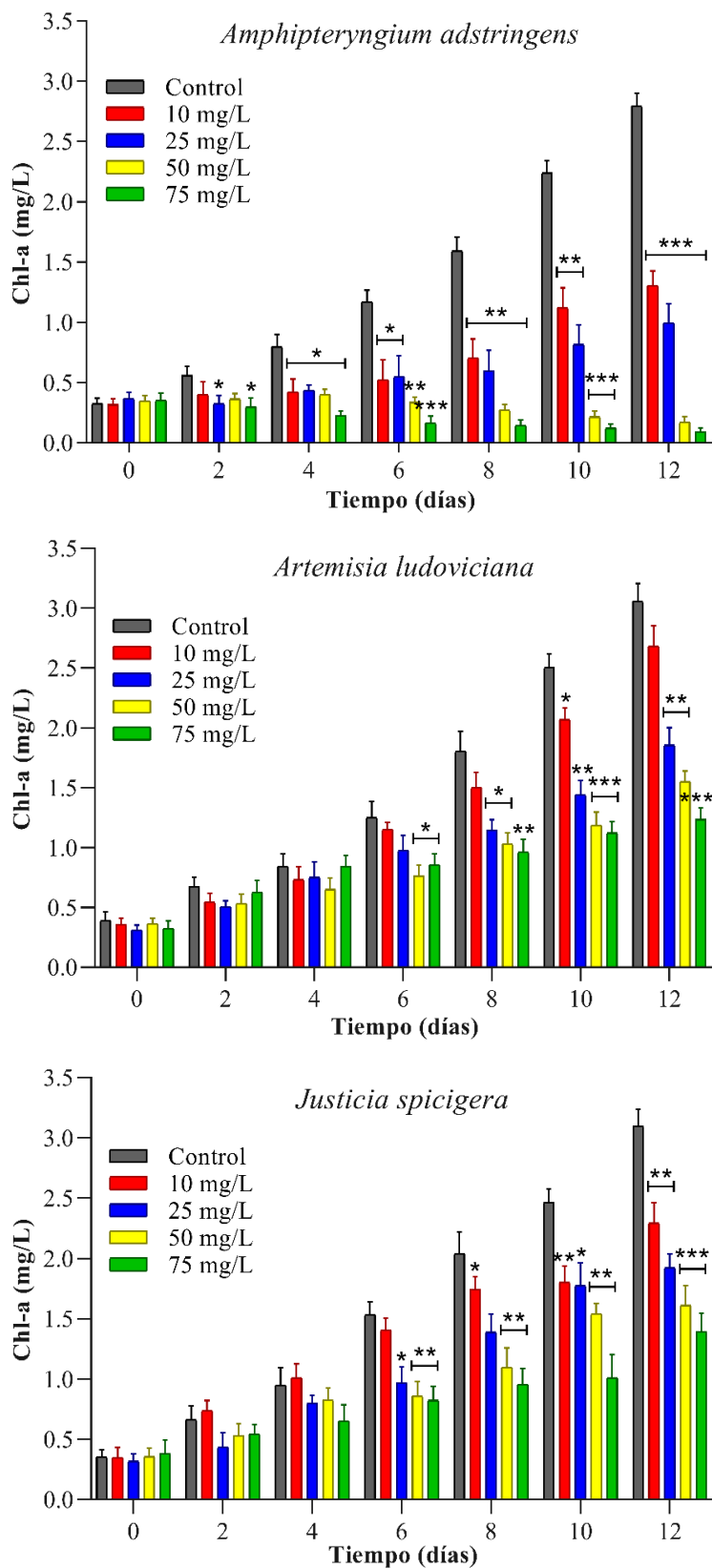


Fig. 27. Efectos de los extractos metanólicos en el contenido de Chl-a de *M. aeruginosa*.

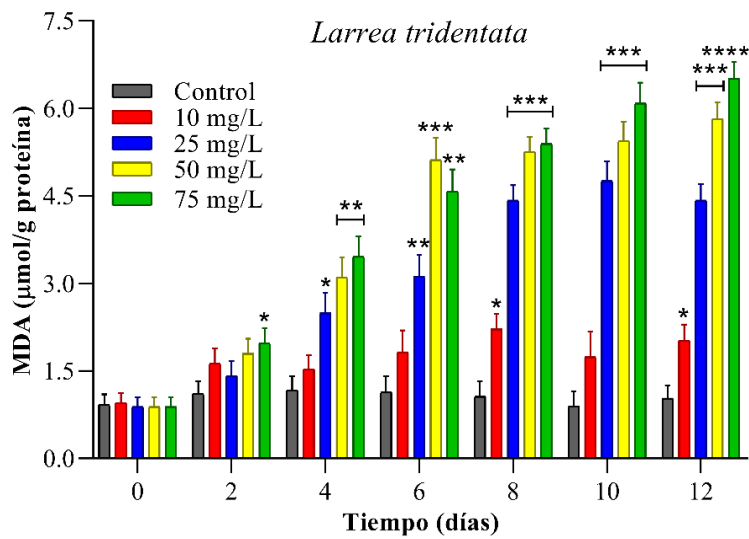
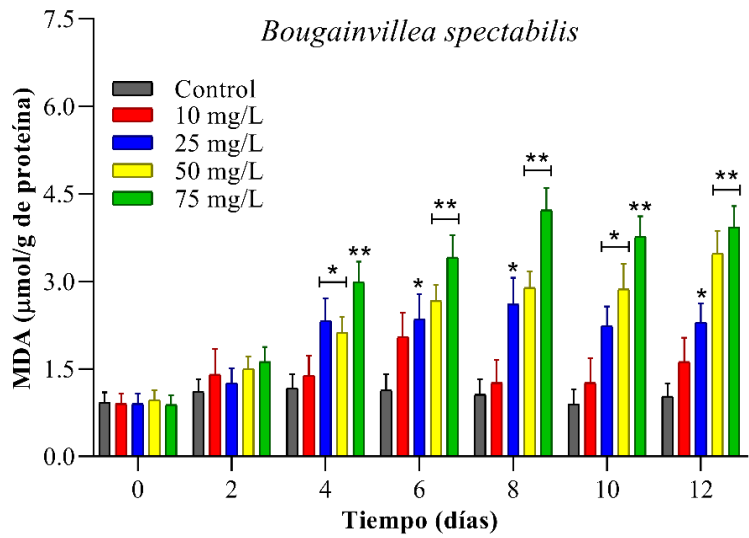
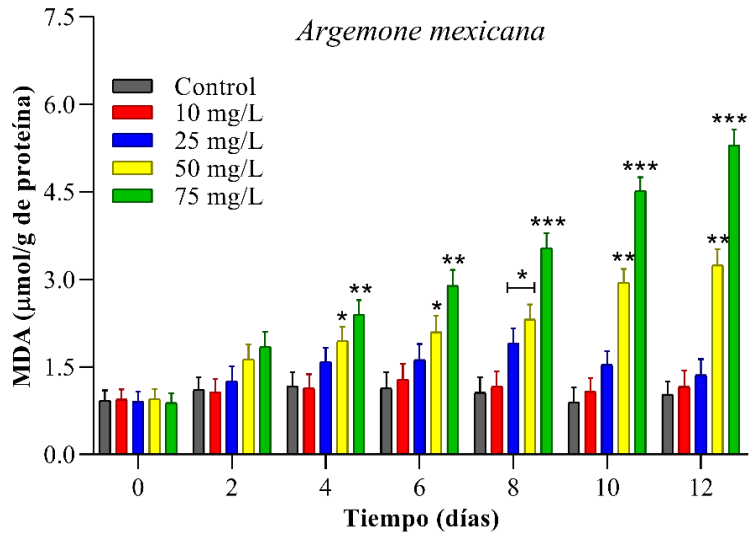
5.7.4 Efectos de los extractos metanólicos en el contenido de MDA en *M. aeruginosa*

Los efectos en la concentración de MDA expresada como [MDA] en *M. aeruginosa* durante 12 días de exposición a los extractos metanólicos se presentan en el Anexo 1 y la Fig. 28. *L. tridentata* fue la especie que presentó los mayores efectos en la [MDA]. A 25 mg/L en el día 10, ocurrió el mayor aumento, 4.76 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 5.33 veces más en comparación al control ($p < 0.001$, ANOVA), disminuyendo ligeramente en el día 12. A 50 y 75 mg/L, se observó un comportamiento similar en todo el transcurso del experimento, a excepción del día 6, donde el grupo de 50 mg/L superó brevemente al de 75 mg/L. Al día 12, el grupo de 75 mg/L mostró un efecto ligeramente superior al tratado con 50 mg/L, con [MDA] = 6.51 y 5.82 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 6.33 ($p < 0.0001$, ANOVA) y 5.66 veces más ($p < 0.001$, ANOVA) con respecto al control, respectivamente. En cuanto al grupo tratado con *A. adstringens* a 10 mg/L, solo se presentó un aumento significativo de la [MDA] en el día 10, con un valor de 2.40 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 2.7 veces más en comparación al control ($p < 0.05$, ANOVA). A 25 mg/L el mayor efecto se registró en el día 8, [MDA] = 3.33 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 3.87 veces más en relación a control ($p < 0.01$, ANOVA), disminuyendo ligeramente hasta el final del experimento. Por último, a 50 y 75 mg/L, los mayores efectos se obtuvieron en el día 12, [MDA] = 4.21 y 6.09 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, respectivamente, lo que significó aumentos de 4.09 y 5.91 veces más con respecto al control ($p < 0.001$, ANOVA).

En relación al grupo tratado con *A. mexicana*, a 10 mg/L, el aumento en la [MDA] fue insignificante en todo el transcurso del experimento ($p > 0.05$, ANOVA). De manera semejante, a 25 mg/L, el día 8 fue el único donde se registró un aumento significativo en la [MDA], 1.91 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 2.24 veces más en relación al control ($p < 0.05$, ANOVA), pero disminuyó paulatinamente hasta que en el día 12 alcanzó un valor muy similar al obtenido a 10 mg/L. A 50 y 75 mg/L, los efectos fueron ampliamente superiores a las primeras dos concentraciones, alcanzando su punto máximo en el día 12 con valores de [MDA] = 3.24 y 5.29 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 3.15 ($p < 0.01$, ANOVA) y 5.14 ($p < 0.001$, ANOVA) veces más en relación al control, respectivamente. El extracto de *J. spicigera* mostró un comportamiento similar al de *A. mexicana*. A 10 mg/L no se presentó ningún cambio significativo ($p > 0.05$, ANOVA). Por el contrario, los efectos significativos se hicieron

visibles desde el día 4, a 50 y 75 mg/L ($p < 0.05$, ANOVA). En los días 6 y 8 se observó un ligero aumento de la [MDA] a 25 y 50 mg/L en relación al día 4, pero ocurrió un brusco aumento de la [MDA] a 75 mg/L, con valores de 4.00 y 4.95 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 3.54 ($p < 0.01$, ANOVA) y 5.76 ($p < 0.001$, ANOVA) veces más en relación al control, respectivamente. Para el día 10 hubo un descenso en la [MDA] a 75 mg/L, registrándose al final del experimento un valor de [MDA] = 4.82 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 4.68 veces en comparación con el control ($p < 0.001$, ANOVA).

En el caso de *B. spectabilis*, a 10 mg/L no se presentó ningún efecto significativo en la [MDA] en todo el desarrollo del experimento ($p > 0.05$, ANOVA). A 25 y 50 mg/L, mostraron resultados muy similares desde el inicio de la prueba y hasta el día 8, para el día 12 las diferencias si hicieron notorias, con los valores de [MDA] = 2.30 y 3.48 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 2.24 ($p < 0.05$, ANOVA) y 3.38 ($p < 0.01$, ANOVA) veces más con relación al control, respectivamente. A 75 mg/L, los mayores efectos se presentaron en el día 8, con un valor de [MDA] = 4.22 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 4.1 veces más en relación al control ($p < 0.01$, ANOVA) el cual disminuyó ligeramente hasta el final del tratamiento. Para terminar, el extracto de *A. ludoviciana* fue el que presentó los menores efectos en la [MDA] de *M. aeruginosa*. A 10 y 25 mg/L no se alcanzó ningún impacto significativo en todo el desarrollo del experimento, a excepción del día 12 a 10 mg/L, donde sucedió un leve incremento. En los días 6 y 8 el comportamiento a 50 y 75 mg/L fue muy similar, casi sin cambios, con valores de [MDA] = 2.43, 2.43; 2.73 y 2.68 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, respectivamente. Los registros más sobresalientes se obtuvieron en el día 10 a 50 y 75 mg/L, con valores de [MDA] = 2.70 y 3.32 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 3.04 ($p < 0.01$, ANOVA) y 3.23 ($p < 0.05$, ANOVA) veces más en relación al control, respectivamente. Estos valores disminuyen sutilmente en el último día de prueba.



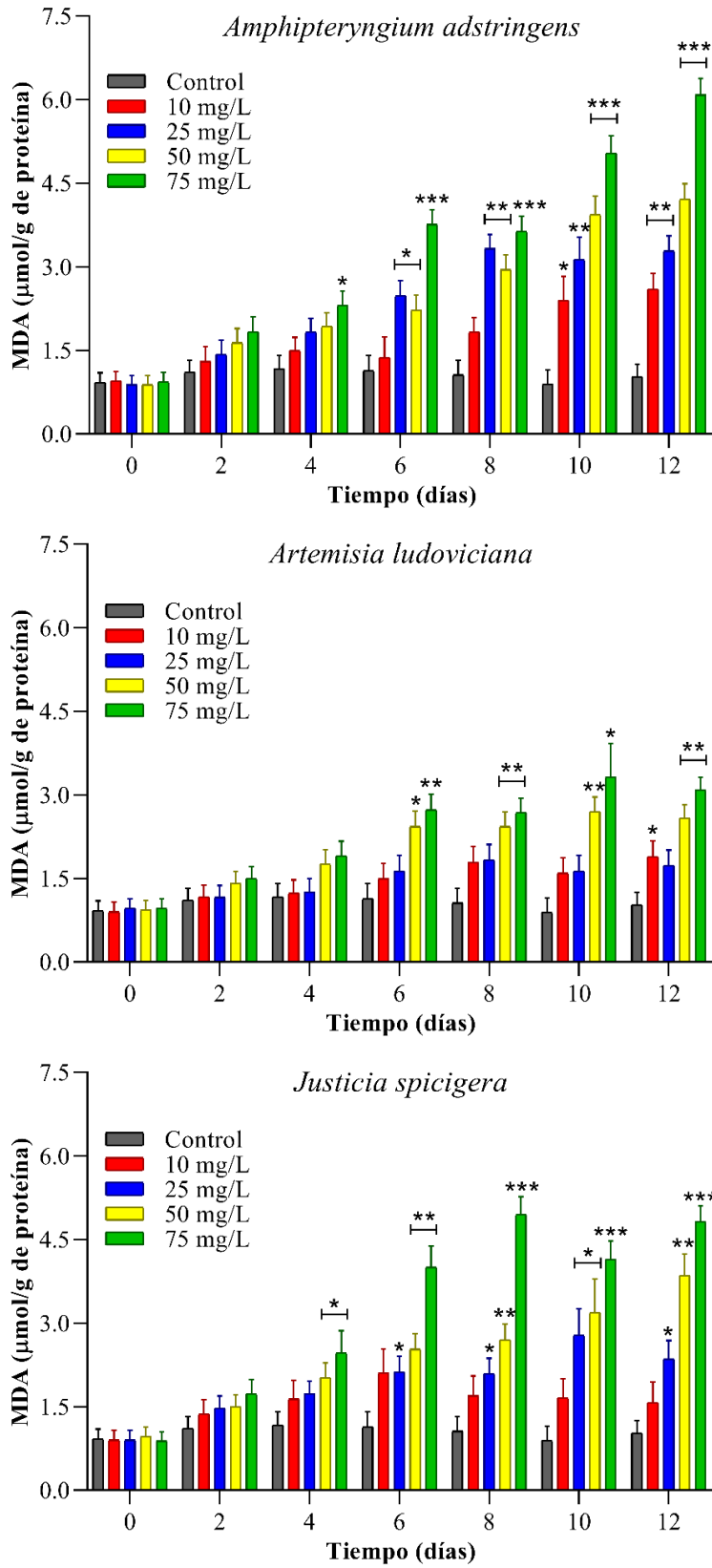


Fig. 28. Contenido de MDA en *M. aeruginosa* después de 12 días de exposición a los extractos metanólicos.

5.7.5 Efectos en la densidad celular de *A. cylindrica* expresada como concentración de Chl-a.

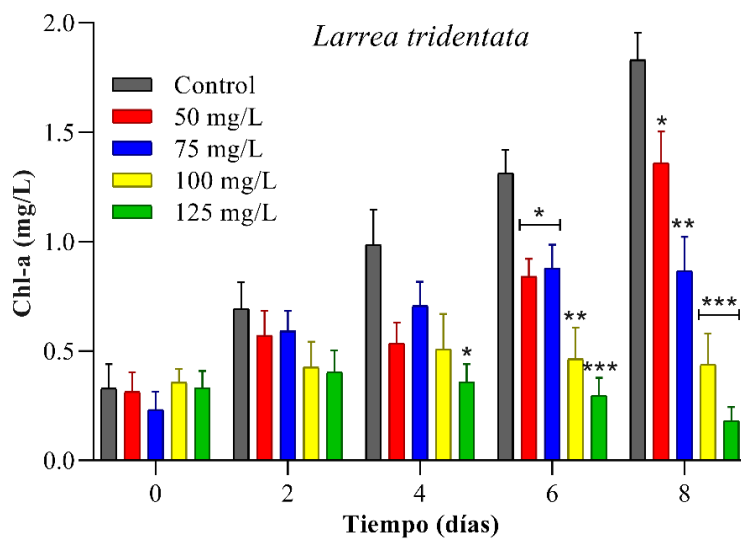
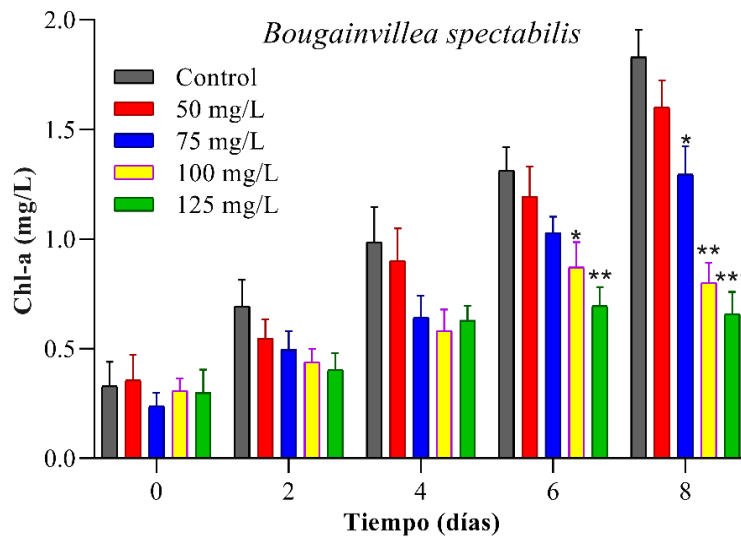
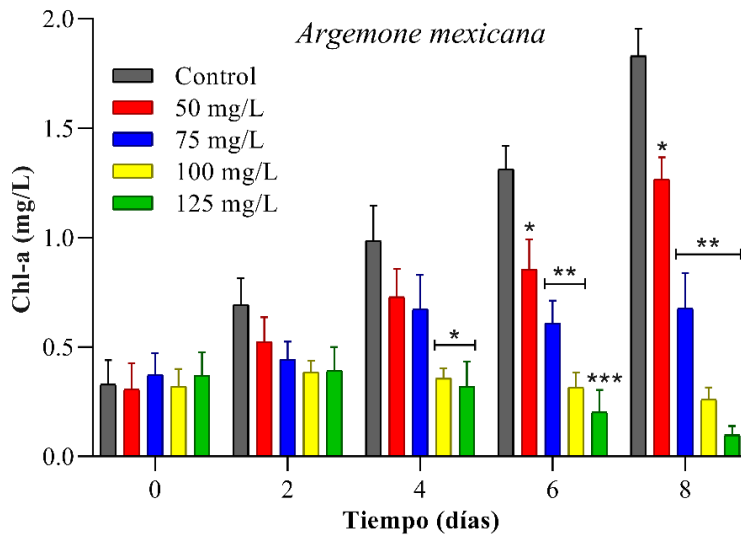
Los efectos en la [Chl-a] en *A. cylindrica* durante los 8 días de exposición a los extractos metanólicos se presentan en el Anexo 1 y en las Figs. 29, 30 y 31. Los resultados obtenidos permitieron dilucidar que, *A. cylindrica* resultó ser especialmente sensible a los extractos de *A. mexicana*, *A. adstringens* y de *L. tridentata*. En los experimentos aliguicidas realizados con *A. mexicana*, la [Chl-a] disminuyó significativamente en todas las concentraciones a partir del día 6, pero los mayores efectos registrados fueron a 100 y 125 mg/L, donde la [Chl-a] = 0.316 y 0.202 mg/L, respectivamente, esto significó inhibiciones del 75.95% ($p < 0.01$, ANOVA) y 84.60% ($p < 0.001$, ANOVA), con respecto al control. Para el día 8, los efectos inhibitorios obtenidos a estas mismas concentraciones de extracto fueron de 85.79% y 94.64% ($p < 0.01$, ANOVA), en relación al control.

En cuanto a las pruebas con *A. adstringens*, a 50 mg/L, el efecto significativo se alcanzó hasta día 8, siendo del 25.83% ($p < 0.05$, ANOVA). A 75 mg/L y 100 mg/L, los efectos fueron visibles desde el día 6, con valores de inhibición del 33.01% ($p < 0.05$, ANOVA) y 75.97% ($p < 0.01$, ANOVA), y para el día 8, los resultados fueron de 58.72% y 88.09%, en relación al control. Sin embargo, a 125 mg/L, los efectos se observaron desde el día 4 y hasta el final de la prueba, con valores de [Chl-a] = 0.337, 0.222 y 0.139 mg/L, lo que resultó en inhibiciones de 65.76%, 83.10% y 92.40%, respectivamente. En el caso de *L. tridentata*, se registró un comportamiento similar al visto con *A. adstringens*. En los primeros 4 días, solo se registró un efecto significativo a 125 mg/L, el cual fue de 63.67% ($p < 0.05$, ANOVA). En el día 6 los efectos se hicieron visibles en todas las concentraciones, a 50 y 75 mg/L, se obtuvieron disminuciones de 36.03% y 33.09% ($p < 0.05$, ANOVA) y a 100 y 125 mg/L, los valores obtenidos fueron de 64.76% ($p < 0.01$, ANOVA) y 77.39% ($p < 0.001$, ANOVA). Por último, en el día 8, los efectos se hicieron aún más severos, sobre a 100 y 125 mg/L, donde se alcanzaron inhibiciones de 76.06% y 90.11% ($p < 0.001$, ANOVA), con respecto al control.

Los extractos de las especies *B. spectabilis*, *A. ludoviciana* y *J. spicigera* mostraron efectos similares en *M. aeruginosa* en todo el transcurso de experimento. En relación a las pruebas con *B. spectabilis*, a 50 y 75 mg/L, prácticamente no se registró ningún efecto significativo

en la [Chl-a], a excepción del día 8 a 75 mg/L, donde se obtuvo una inhibición del 32.59% ($p < 0.05$, ANOVA). El mayor efecto inhibitorio a 100 mg/L se observó en el día 6, donde se anotó una [Chl-a] = 0.623 mg/L, es decir, una disminución del 52.60% ($p < 0.05$, ANOVA), no obstante, este valor disminuyó ligeramente al final del tratamiento. Al final del experimento a 125 mg/L, se registró la mayor inhibición la cual fue del 68.66% ($p < 0.001$, ANOVA), en relación al control.

En los tratamientos con *A. ludoviciana*, a 50 mg/L, no hubo ningún efecto importante en la [Chl-a] de *A. cylindrica*. De manera similar, a 75 mg/L, solo se registraron efectos significativos en los días 4 y 8, con inhibiciones de 34.74% ($p < 0.05$, ANOVA) y 29.26% ($p < 0.01$, ANOVA), con respecto al control. En el día 6, a 100 y 125 mg/L, los valores en la [Chl-a] fueron de 0.871 y 0.605 mg/L, lo que se tradujo en inhibiciones del 33.67% y 47.12% ($p < 0.01$, ANOVA), y para el final del tratamiento en estas mismas condiciones, las inhibiciones registradas fueron de 56.19% ($p < 0.01$, ANOVA) y 64.13% ($p < 0.001$, ANOVA), en relación al control. Finalmente, los efectos más bajos se obtuvieron con el extracto de *J. spicigera*. En esta ocasión, los efectos significativos se obtuvieron hasta el día 6 a 75, 100 y 125 mg/L, con valores de [Chl-a] = 0.646, 0.769 y 0.763 mg/L, estos resultados significaron disminuciones de 50.85% ($p < 0.01$, ANOVA), 41.44% y 41.92% ($p < 0.05$, ANOVA). Para el final del experimento, los efectos a 75 mg/L disminuyeron considerablemente, alcanzando un valor de solo 26.16% ($p < 0.05$, ANOVA), algo similar ocurrió a 100 mg/L, aunque no tan importante, ya que se registró una inhibición del 38.48% ($p < 0.01$, ANOVA), con respecto al control. Por último, a 125 mg/L, la [Chl-a] fue de 0.712 mg/L, lo que significó una inhibición del 61.09% ($p < 0.01$, ANOVA), en relación al control.



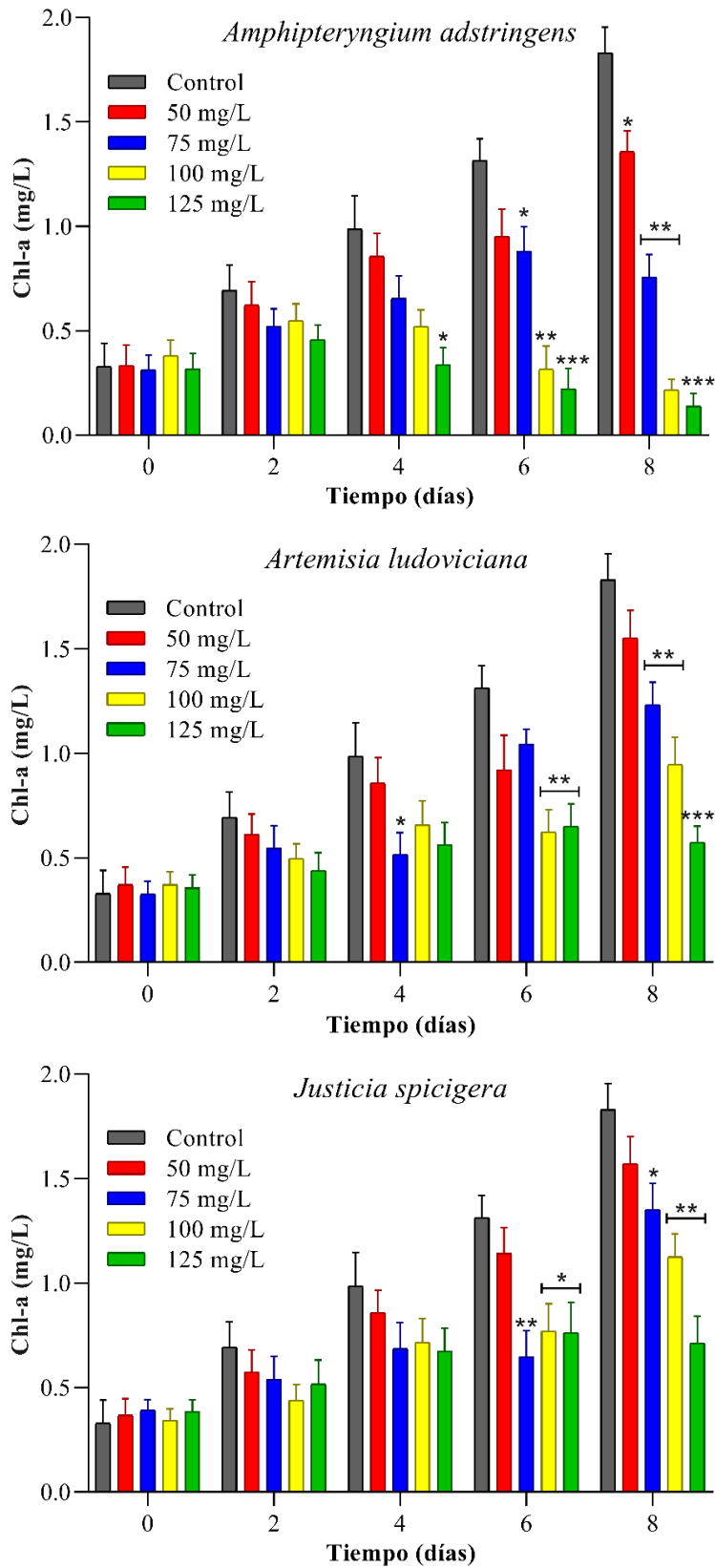
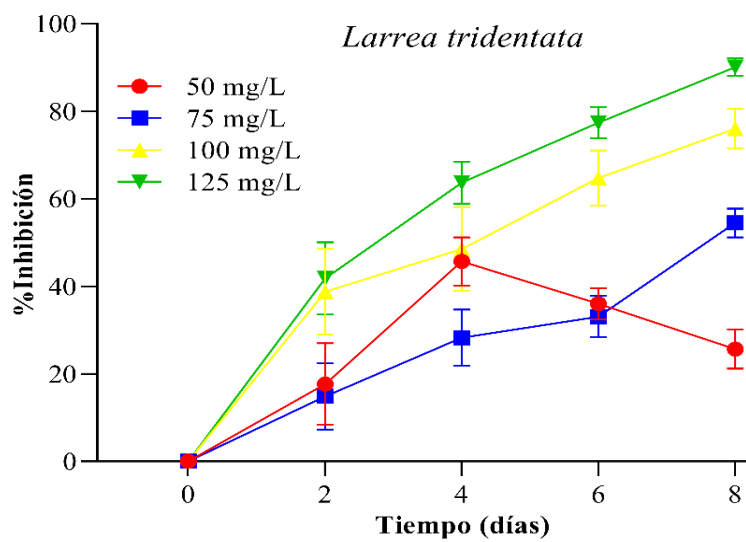
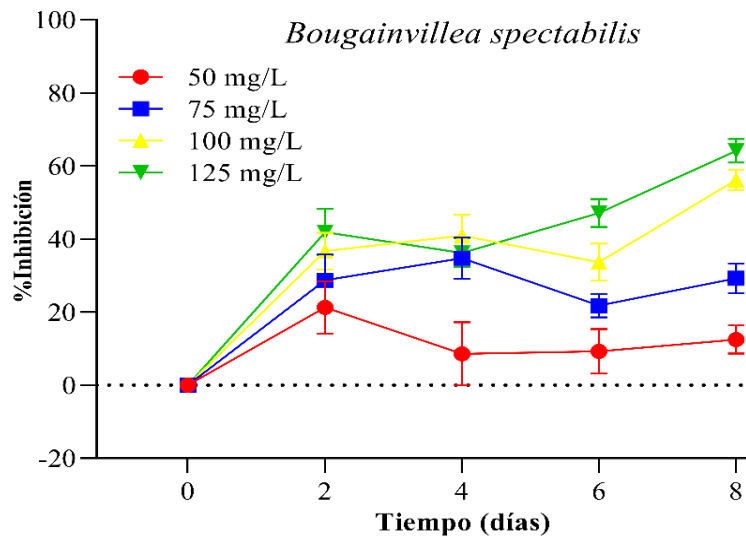
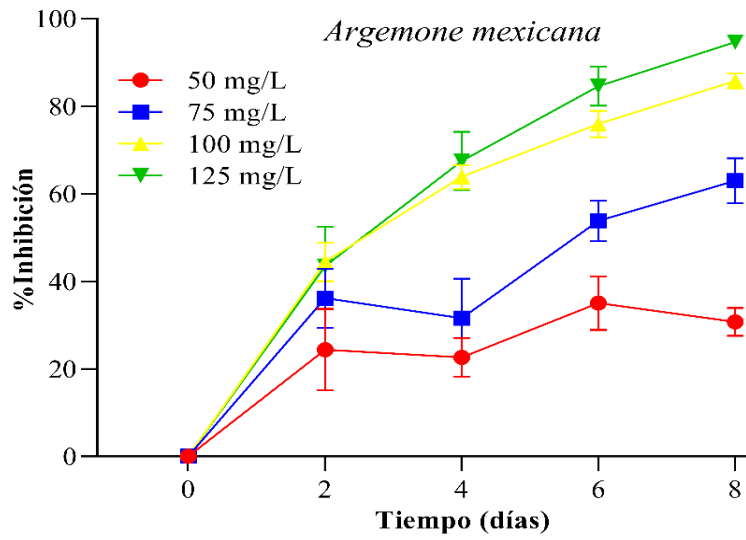


Fig. 29. Efectos de los extractos metanólicos en el contenido de Chl-a en *A. cylindrica*.



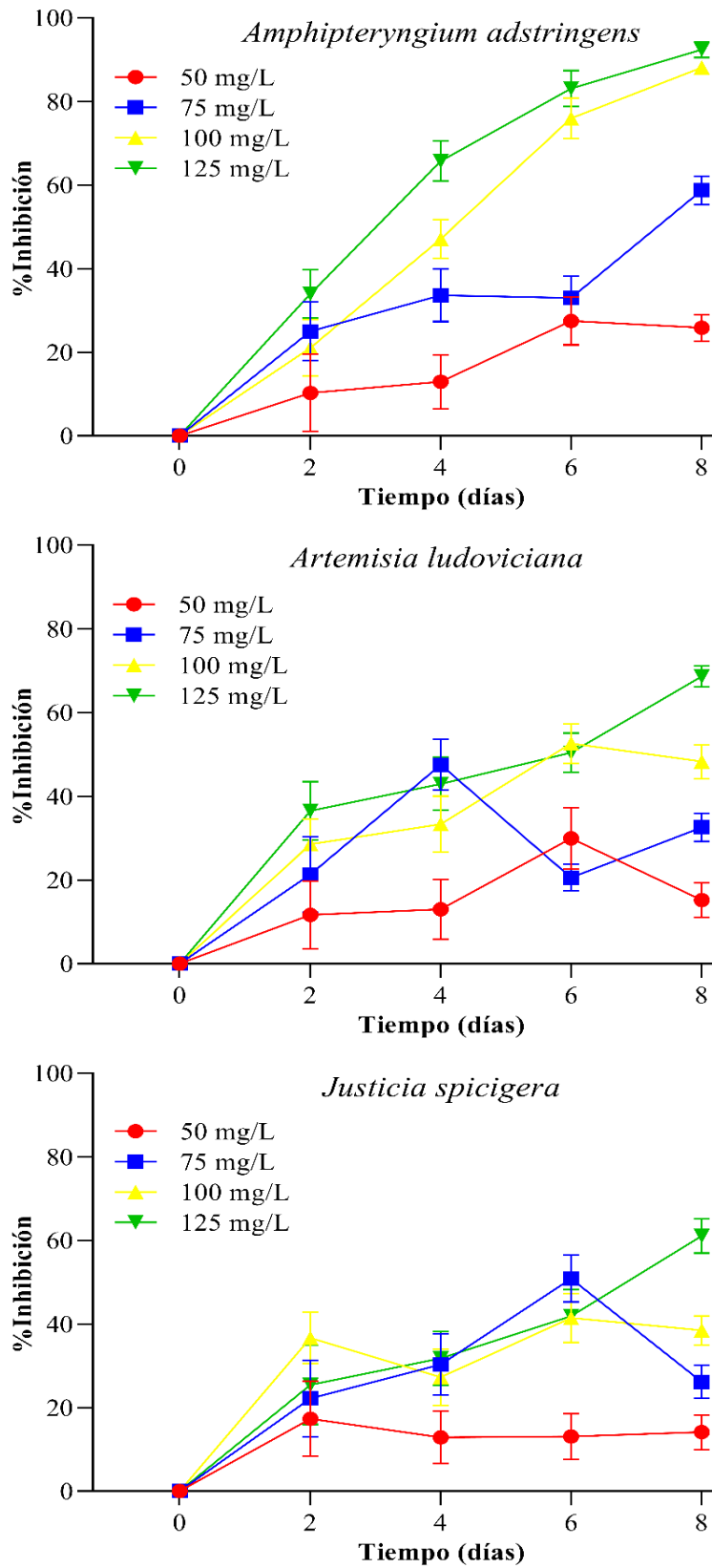


Fig. 30. Tasas de inhibición de los extractos metanólicos en *A. cylindrica*.

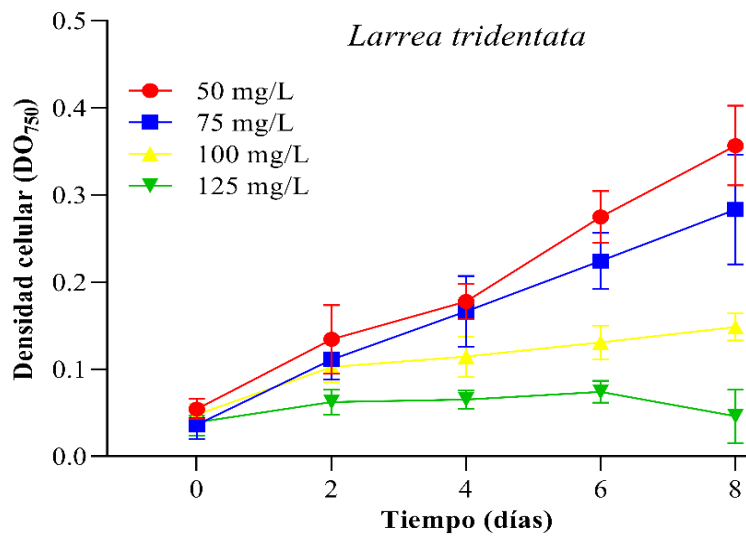
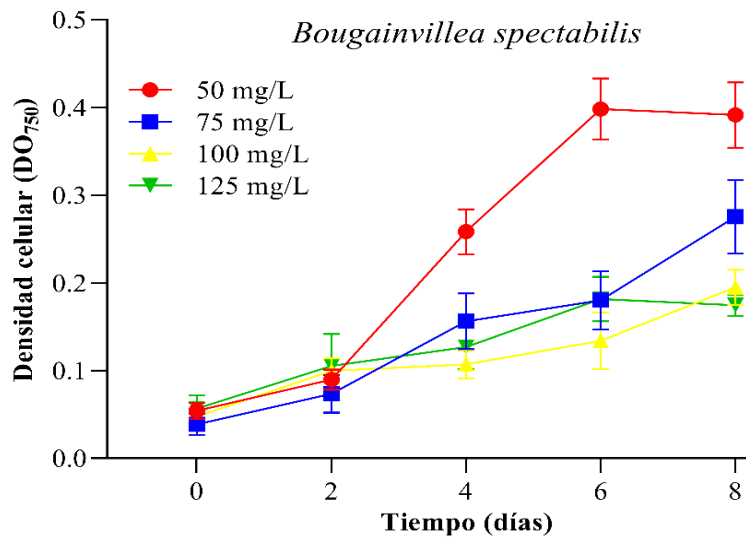
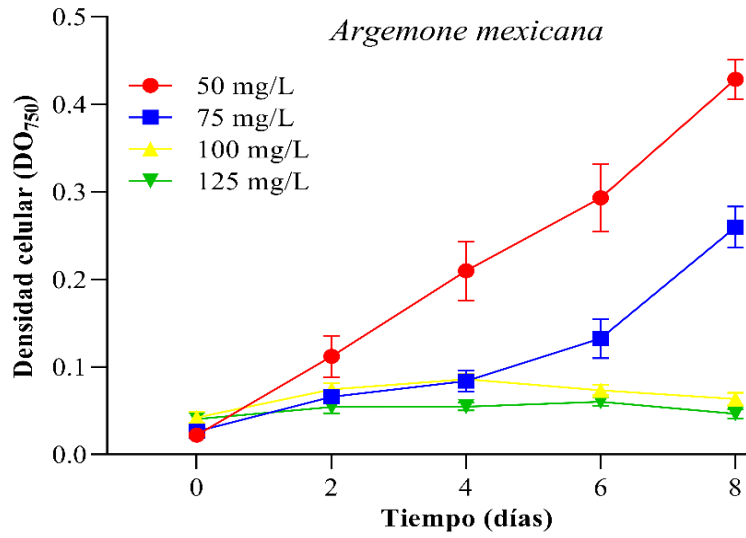


Fig. 31. Cultivos de *A. cylindrica* después de 8 días de exposición a los extractos a 125 mg/L.

5.7.6 Efectos alguistáticos y alguicidas en *A. cylindrica*

En el Anexo 1 y la Fig. 32 se muestran los valores de DO y las curvas de crecimiento de *A. cylindrica* después de inocularse en un cultivo nuevo. *A. mexicana* y *A. adstringens* fueron las únicas especies que mostraron efectos alguicidas a 100 y 125 mg/L. En relación a *A. mexicana*, a 50 y 75 mg/L, el nuevo crecimiento de *A. cylindrica* se observó desde el día 2 y hasta el final de la prueba. A 100 mg/L, hubo un ligero crecimiento en los primeros 4 días, sin embargo, del día 4 al 8 ese crecimiento disminuyó gradualmente. A 125 mg/L no se reportó ningún crecimiento. En el caso de *A. adstringens*, las respuestas fueron muy similares a las vistas con *A. mexicana*, a 50 y 75 mg/L el nuevo crecimiento de *A. cylindrica* se hizo visible desde el segundo día y a 100 y 125 mg/L, no se observó ningún aumento en la DO que indicara *A. cylindrica* estuviese creciendo nuevamente. En las pruebas con *L. tridentata*, con las primeras tres concentraciones, el crecimiento de *A. cylindrica* fue evidente, sobre todo a 50 y 75 mg/L. A 125 mg/L, durante los primeros seis días, *A. cylindrica* presentó un sutil crecimiento, el cual disminuyó visiblemente al final del experimento, lo que indicó un efecto alguicida.

A diferencia de las tres especies anteriores, *B. spectabilis*, *A. ludoviciana* y *J. spicigera*, demostraron únicamente efectos alguistáticos en todas las concentraciones estudiadas, posiblemente debido a que los mayores grados de inhibición de estas especies sobre *A. cylindrica* no superaron el 70%. Con *B. spectabilis* a 50 mg/L, el crecimiento de *A. cylindrica* se disparó a partir del día 4 y a 75, 100 y 125 mg/L el crecimiento de esta cianobacteria se hizo evidente a partir del día 6. De manera semejante, con *A. ludoviciana* y *J. spicigera*, hubo un crecimiento significativo de *A. cylindrica* a partir del día 4 y hasta el final del experimento en todas las concentraciones estudiadas.



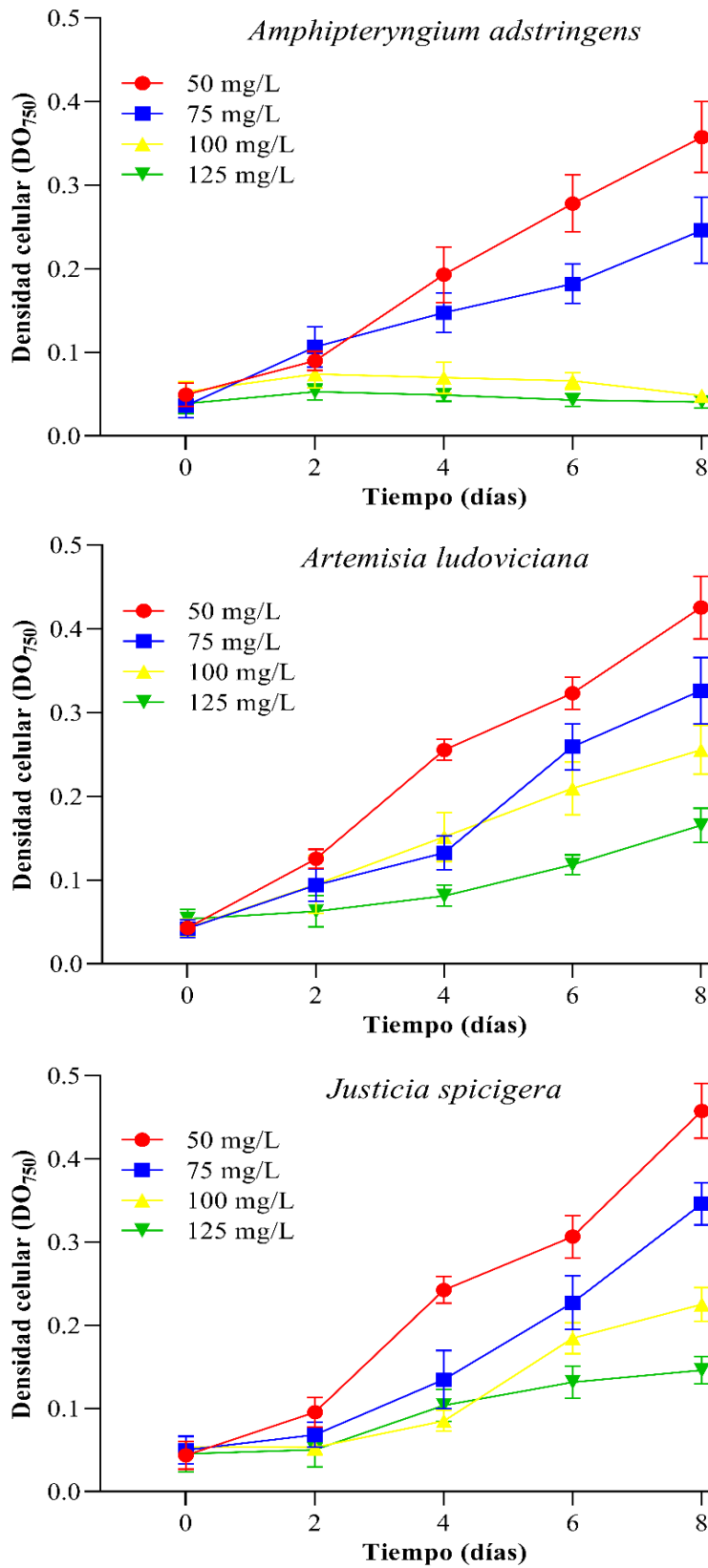


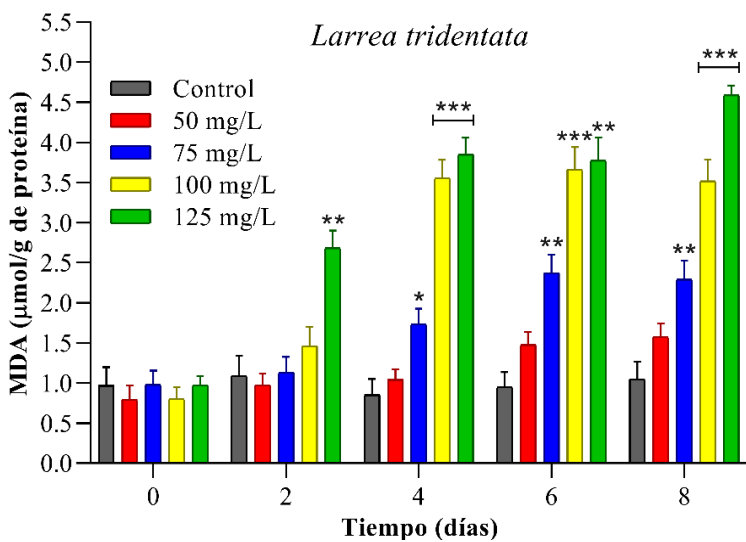
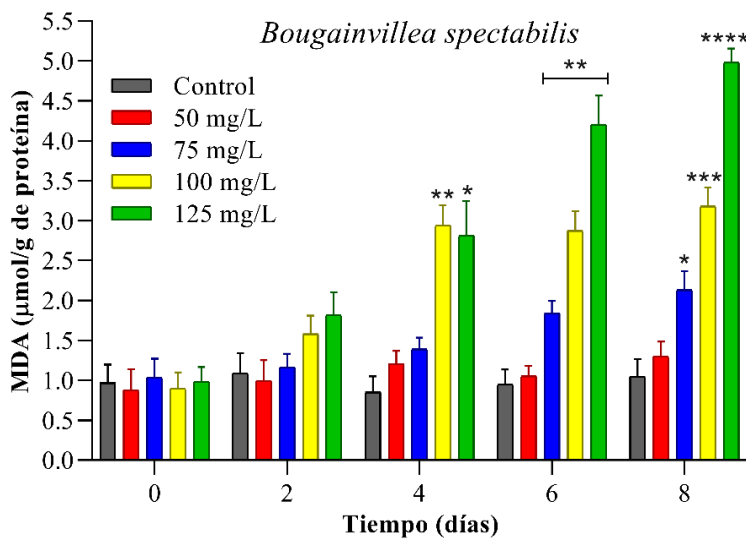
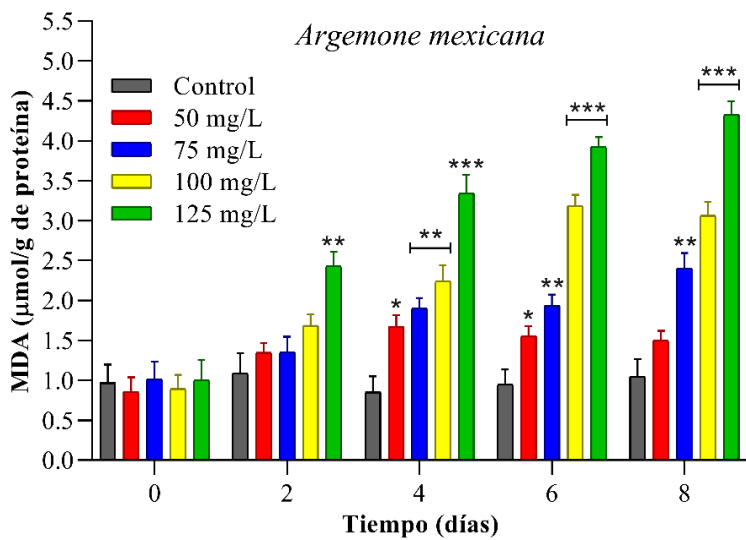
Fig. 32. Efectos alguistáticos y alguicidas de los extractos metanólicos en *A. cylindrica*.

5.7.7 Efectos de los extractos metanólicos en la concentración de MDA en *A. cylindrica*

Los efectos en la [MDA] en *A. cylindrica* durante los 8 días de exposición a los extractos metanólicos se presentan en el Anexo 1 y la Fig. 33. El extracto de *B. spectabilis* fue el que provocó el mayor aumento en la [MDA], a 50 mg/L no se observó ningún aumento significativo en la [MDA] en todo el transcurso de la prueba, algo similar ocurrió a 75 mg/L, sin embargo, a esta concentración si se alcanzó un efecto significativo en el día 8, donde se registró una [MDA] = 2.13 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 2.03 veces más en relación al control ($p < 0.05$, ANOVA). A 100 y 125 mg/L, los efectos fueron visibles a partir del día 4 y hasta el final del experimento, donde se registraron valores de [MDA] = 3.18 y 4.98 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 3.03 ($p < 0.001$, ANOVA) y 4.74 ($p < 0.0001$, ANOVA) veces más en relación al control, respectivamente. *L. tridentata* presentó efectos similares a los de *A. mexicana*, registrándose aumentos significativos en la [MDA] desde el segundo día a 125 mg/L. A partir del día 4 se obtuvieron efectos significativos a 75, 100 y 125 mg/L, y para el día 8, se obtuvieron valores de [MDA] = 2.29, 3.52 y 4.59 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 2.18 ($p < 0.01$, ANOVA), 3.35 ($p < 0.0001$, ANOVA) y 4.37 ($p < 0.0001$, ANOVA) veces más en comparación al control, respectivamente.

En cuanto a los ensayos con *A. mexicana*, se obtuvieron efectos significativos en todas las concentraciones a partir del día 4, sobre todo a 125 mg/L, donde se registró una [MDA] = 3.34 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 3.93 veces más con respecto al control ($p < 0.001$, ANOVA). Al final del ensayo, solo se registraron efectos significativos a 75, 100 y 125 mg/L, con valores de [MDA] = 2.40, 3.06 y 4.33 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 2.29 ($p < 0.01$, ANOVA), 2.91 y 4.12 veces más ($p < 0.001$, ANOVA), en relación a control, respectivamente. En el caso de *A. adstringens* ocurrió un caso particular, debido a que en el día 4, los efectos a 75 mg/L fueron superiores a los registrados a 100 y 125 mg/L (3.66, 3.18 y 2.53 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, respectivamente). En los días 6 y 8, las respuestas obtenidas a estas mismas concentraciones fueron muy similares, especialmente en el día 8, donde los valores obtenidos de [MDA] fueron de 3.95, 4.13 y 4.19 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 3.76, 3.93 y 3.99 veces más ($p < 0.001$, ANOVA) con relación a control, respectivamente.

En relación a las pruebas con *A. ludoviciana*, los efectos significativos fueron observados desde el día 4 en todas las concentraciones, especialmente a 100 y 125 mg/L, donde se registraron valores de [MDA] = 3.73 y 3.85 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 4.39 y 4.53 veces más en relación al control, respectivamente ($p < 0.001$, ANOVA). A 75 mg/L en el día 6, la [MDA] aumentó considerablemente (3.43 $\mu\text{mol/g}$ de proteína) y para el día 8 disminuyó hasta 2.59 $\mu\text{mol/g}$ de proteína. Al final de la prueba los valores registrados a 100 y 125 mg/L fueron de 3.26 y 4.05 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 3.10 ($p < 0.01$, ANOVA) y 3.86 ($p < 0.001$, ANOVA) veces más que el control, respectivamente. Finalmente, con *J. spicigera* se obtuvieron los efectos más bajos, los resultados más relevantes se observaron a partir del día 4 hasta el día 8 a 100 y 125 mg/L, con valores de 3.02 y 2.70 $\mu\text{mol/g}$ de proteína en el día 4 (3.56 y 3.18 veces más que el control, $p < 0.01$ ANOVA); 2.37 y 3.20 $\mu\text{mol/g}$ de proteína en el día 6 (2.49 y 3.37 veces más que el control, $p < 0.001$ ANOVA); y 2.94 y 3.97 $\mu\text{mol/g}$ de proteína en el día 8 (2.8 y 3.78 veces más que en el control, $p < 0.001$ ANOVA).



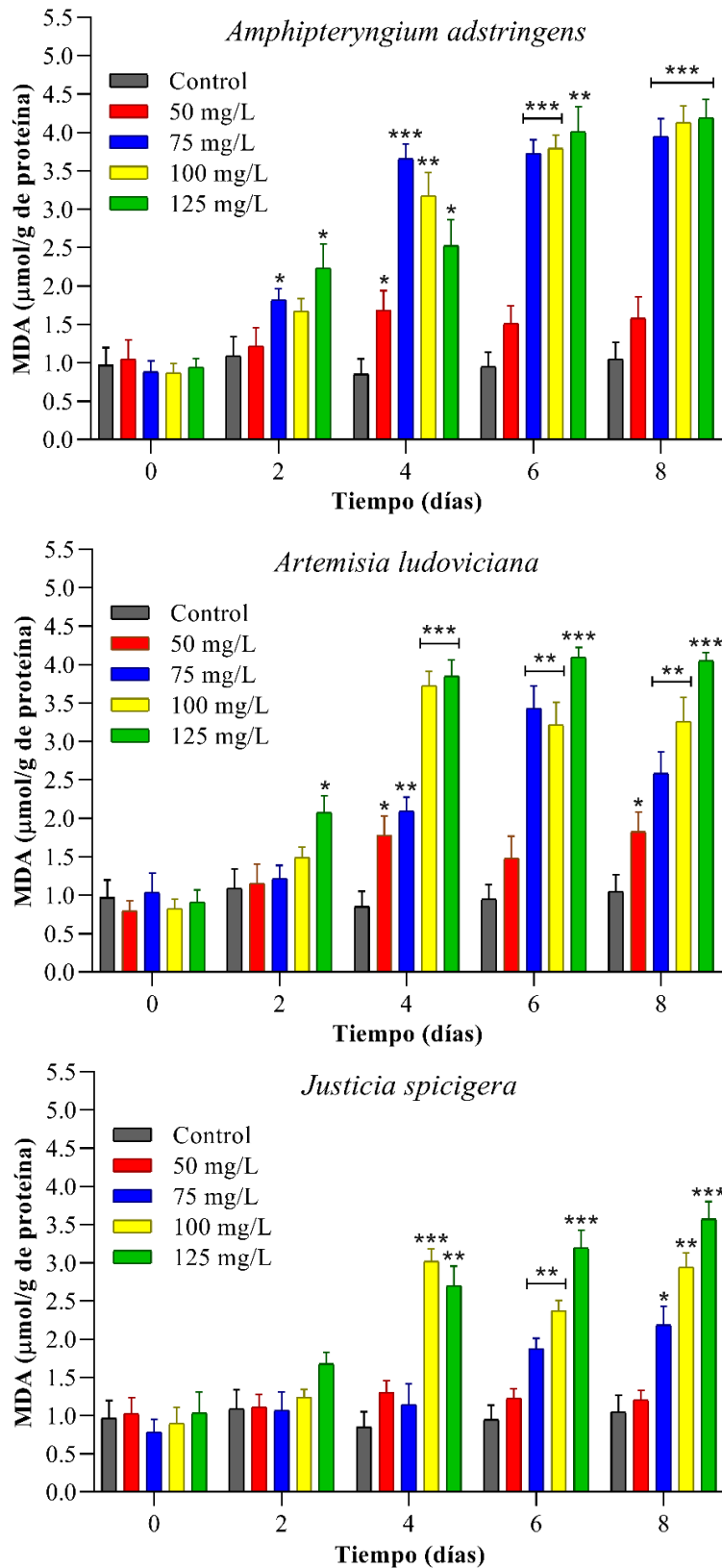


Fig. 33. Contenido de MDA en *A. cylindrica* después de 12 días de exposición a los extractos metanólicos.

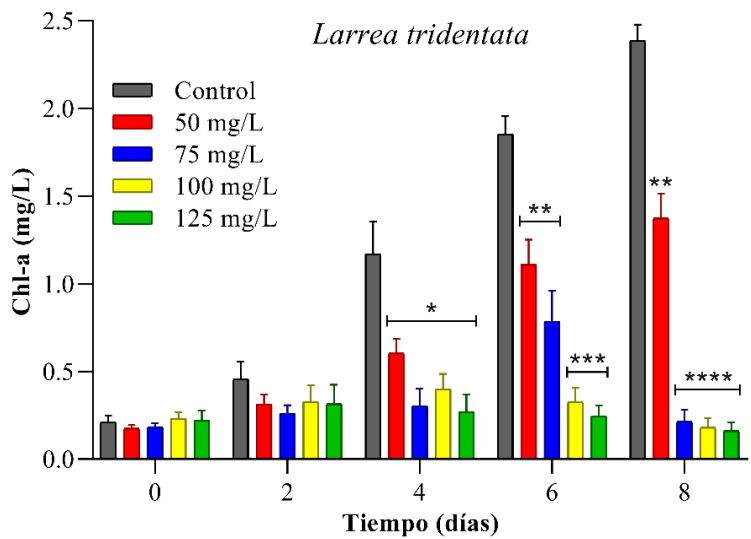
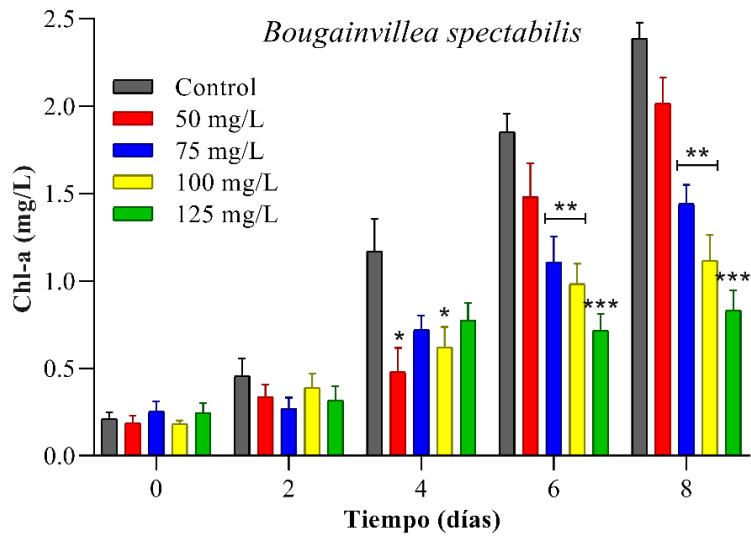
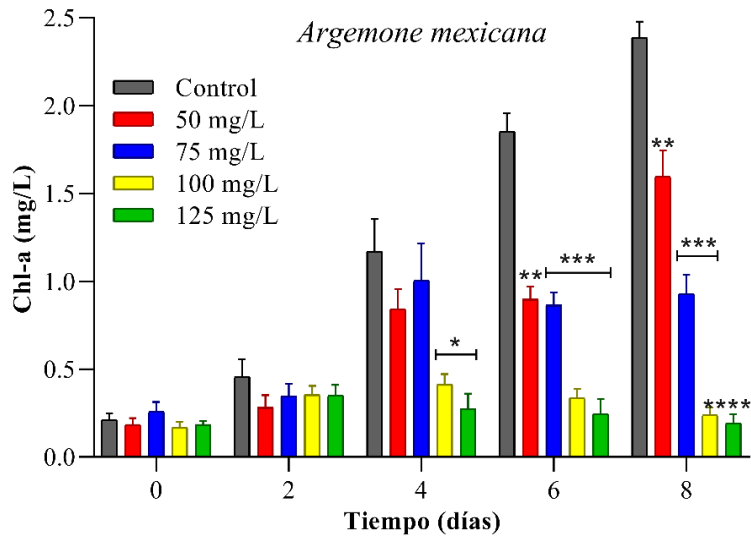
5.7.8 Efectos en la densidad celular de *Anabaena sp.* expresados como concentración de Chl-a.

Los efectos en la [Chl-a] en *Anabaena sp.* durante los 8 días de exposición a los extractos metanólicos se presentan en el Anexo 1 y en las Figs. 34, 35 y 36. El extracto de *L. tridentata* fue el que presentó los mayores daños en la [Chl-a] en *Anabaena sp.*, los efectos se hicieron notorios desde el día 4, sobre todo a 75, 100 y 125 mg/L, donde los valores fueron de [Chl-a] = 0.305, 0.400 y 0.271 mg/L, con inhibiciones de 73.94%, 65.85% y 76.87% ($p < 0.05$, ANOVA), con respecto al control. Para el día 8 en las mismas concentraciones, los efectos se hicieron más pronunciados alcanzando valores de [Chl-a] = 0.215, 0.181 y 0.161 mg/L, lo que resultó en inhibiciones de 91.01%, 92.43% y 93.26% ($p < 0.0001$, ANOVA), respectivamente. La respuesta de *Anabaena sp.* al extracto de *A. mexicana* fue similar a la observada con *L. tridentata*. A partir del día 6 los efectos fueron significativos en todas las concentraciones de *A. mexicana* utilizadas, sobre todo a 100 y 125 mg/L, donde los valores de [Chl-a] fueron de 0.336 y 0.246 mg/L, esto significó inhibiciones de 81.86% y 86.72% ($p < 0.001$, ANOVA), respectivamente. Esta tendencia continuó hasta el final del experimento donde a estas mismas concentraciones se registraron valores de [Chl-a] de 0.238 y 0.191 mg/L, con inhibiciones de 90.02% ($p < 0.001$, ANOVA) y 91.98% ($p < 0.0001$, ANOVA), en relación al control.

El extracto de *A. adstringens* también presentó resultados importantes. A 50 y 75 mg/L, los efectos significativos se produjeron hasta el día 6. Sin embargo, a 100 y 125 mg/L, la disminución en el [Chl-a] fue significativa a partir del día 4, con valores de [Chl-a] = 0.457 y 0.299 mg/L, resultando en inhibiciones de 60.92% y 74.48% ($p < 0.05$, ANOVA), respectivamente. Esta tendencia continuó a la baja hasta el día 8, donde se alcanzaron valores de [Chl-a] = 0.286 y 0.226 mg/L, lo que se tradujo en inhibiciones de 88.02% y 90.52% ($p < 0.0001$, ANOVA), en relación al control. En orden descendente de efectividad, el siguiente extracto fue el de *J. spicigera*, donde se observó que en los primeros 4 días de exposición, solo se evidenció un efecto significativo a 100 mg/L en el día 4. No obstante, a partir del día 6, se registraron efectos significativos en todas las concentraciones, principalmente a 75, 100 y 125 mg/L, donde los valores de [Chl-a] fueron 0.747, 0.851 y 0.635 mg/L, con inhibiciones de 59.70% ($p < 0.01$, ANOVA), 54.05% y 65.73% ($p < 0.001$,

ANOVA), respectivamente. La mayor inhibición se alcanzó en el día 8 a 125 mg/L, que fue de 74.47% ($p < 0.0001$, ANOVA), con respecto al control.

En esta ocasión, los extractos de *B. spectabilis* y *A. ludoviciana* fueron los que presentaron los menores efectos en la [Chl-a] de *Anabaena sp.* En el caso de *B. spectabilis*, a 50 mg/L, prácticamente no hubo ningún efecto significativo en todo el tratamiento. Las respuestas hicieron notorias hasta el día 6 a 75, 100 y 125 mg/L, donde los valores de [Chl-a] fueron de 1.107, 0.983 y 0.717 mg/L, lo que resultó en inhibiciones de 40.25%, 46.94% ($p < 0.01$, ANOVA) y 61.28% ($p < 0.001$, ANOVA), respectivamente. Para el día 8, a estas mismas concentraciones, las inhibiciones alcanzadas fueron de 39.55%, 53.18% ($p < 0.01$, ANOVA) y 65.13% ($p < 0.001$, ANOVA), en relación a control. Por último, en las pruebas con *A. ludoviciana*, a 100 mg/L, el mayor grado de inhibición se alcanzó en el día 6 (57.95%, $p < 0.01$ ANOVA), pero disminuyó visiblemente en el día 8, llegando a 42.51% ($p < 0.01$, ANOVA). Algo similar ocurrió a 125 mg/L, donde el mayor efecto se registró en el día 4 (63.63%, $p < 0.05$ ANOVA), pero fue disminuyendo gradualmente hasta el día 8, llegando a 51.00% ($p < 0.01$, ANOVA), con respecto al control.



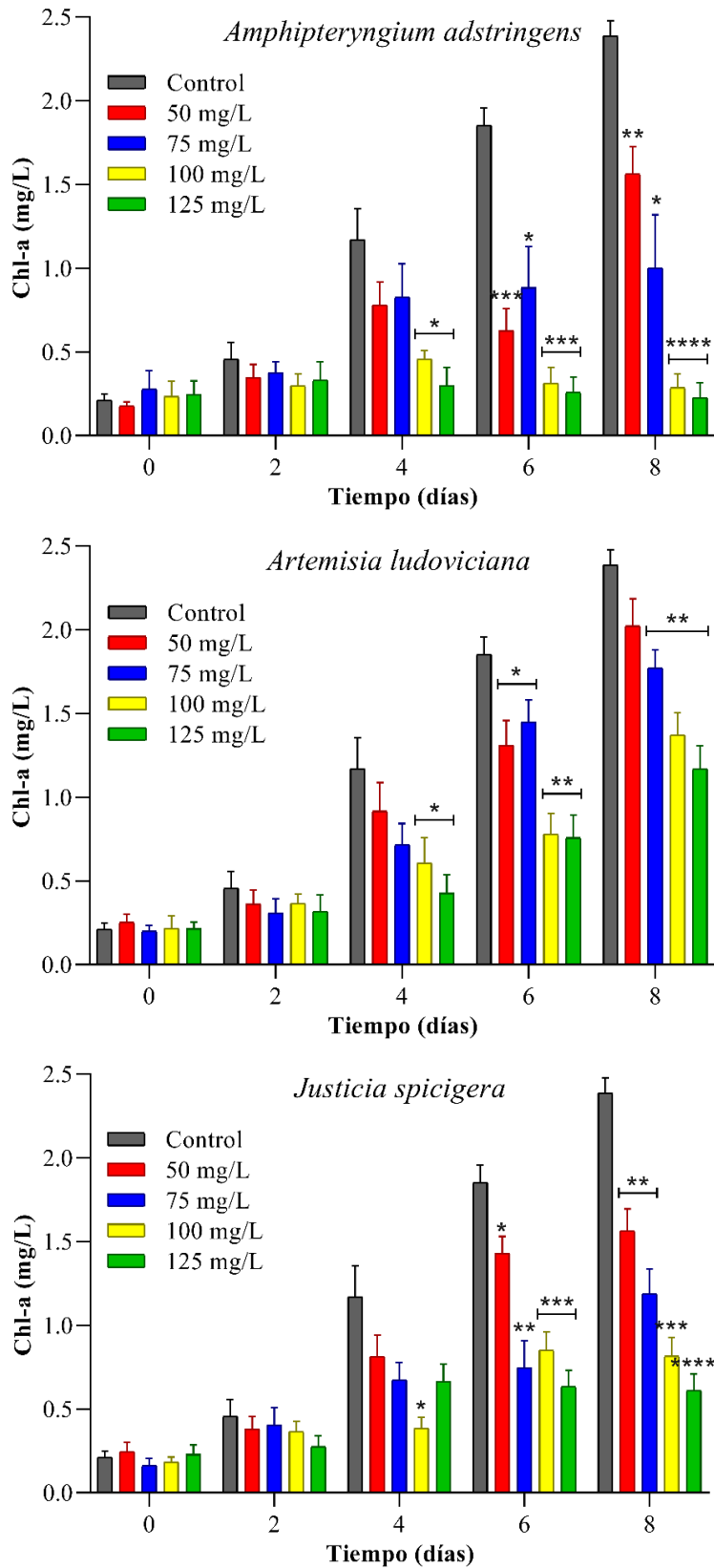
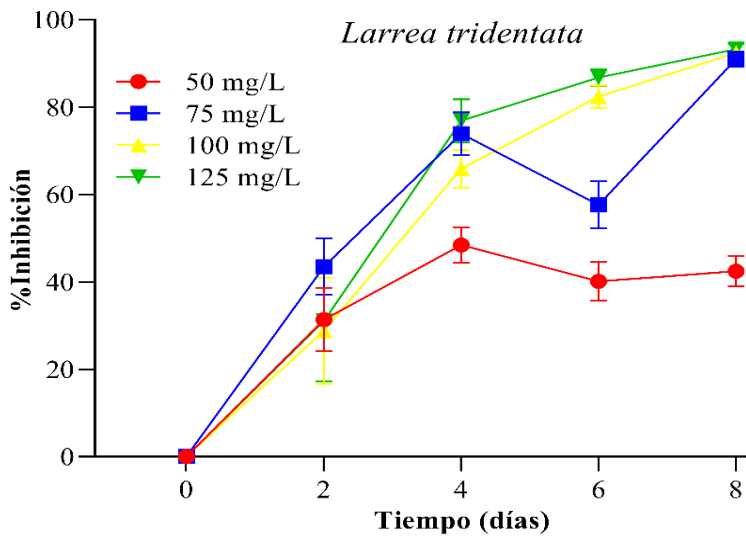
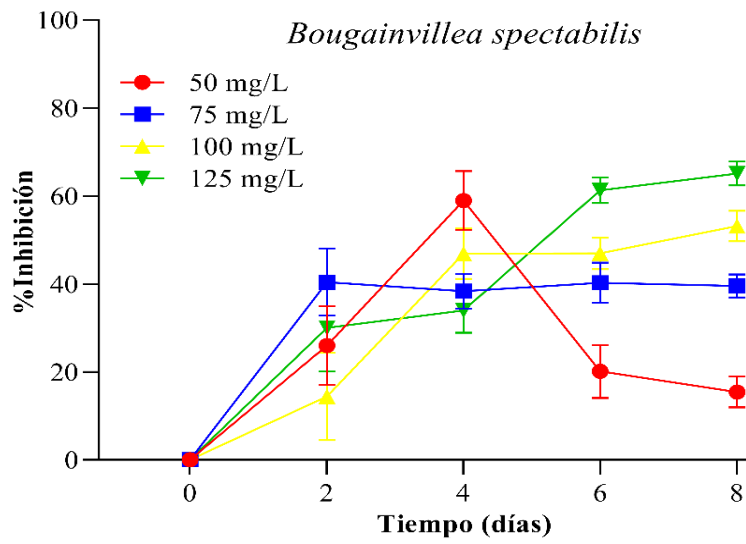
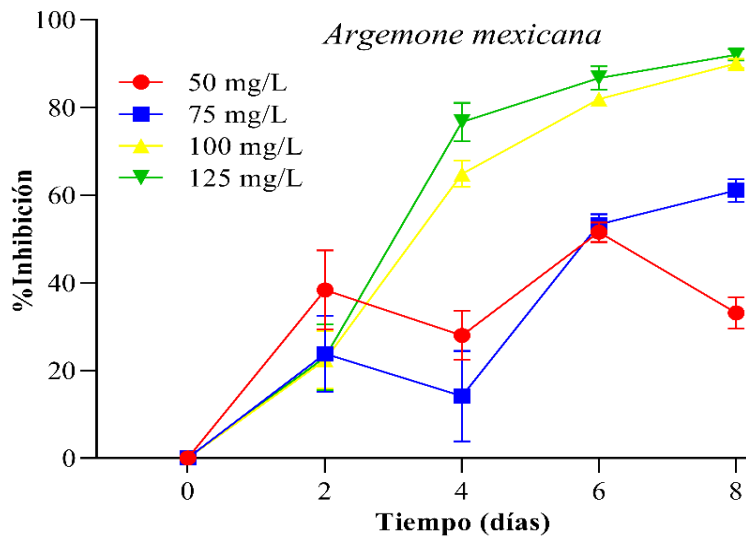


Fig. 34. Efectos de los extractos metanólicos en el contenido de Chl-a en *Anabaena sp.*



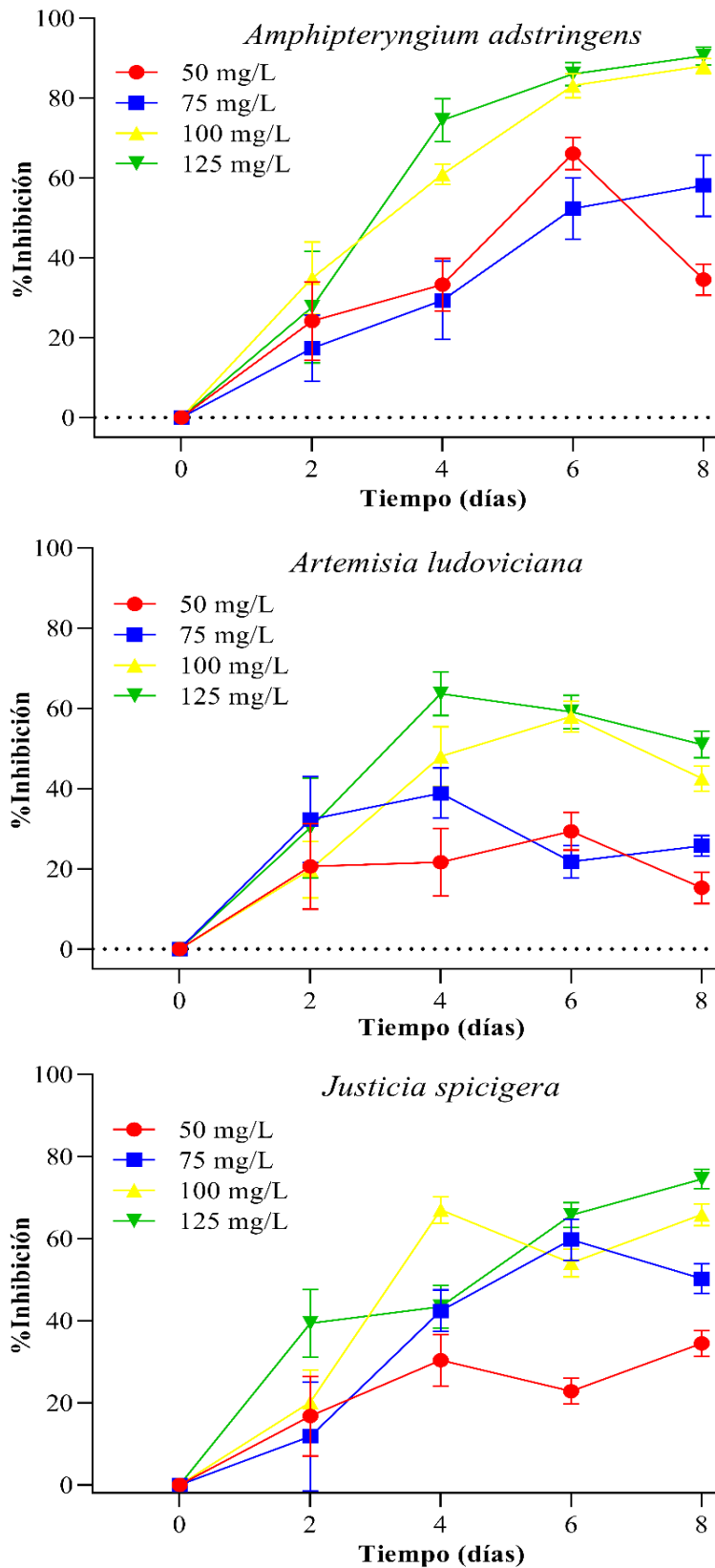


Fig. 35. Tasas de inhibición de los extractos metanólicos en *Anabaena sp.*

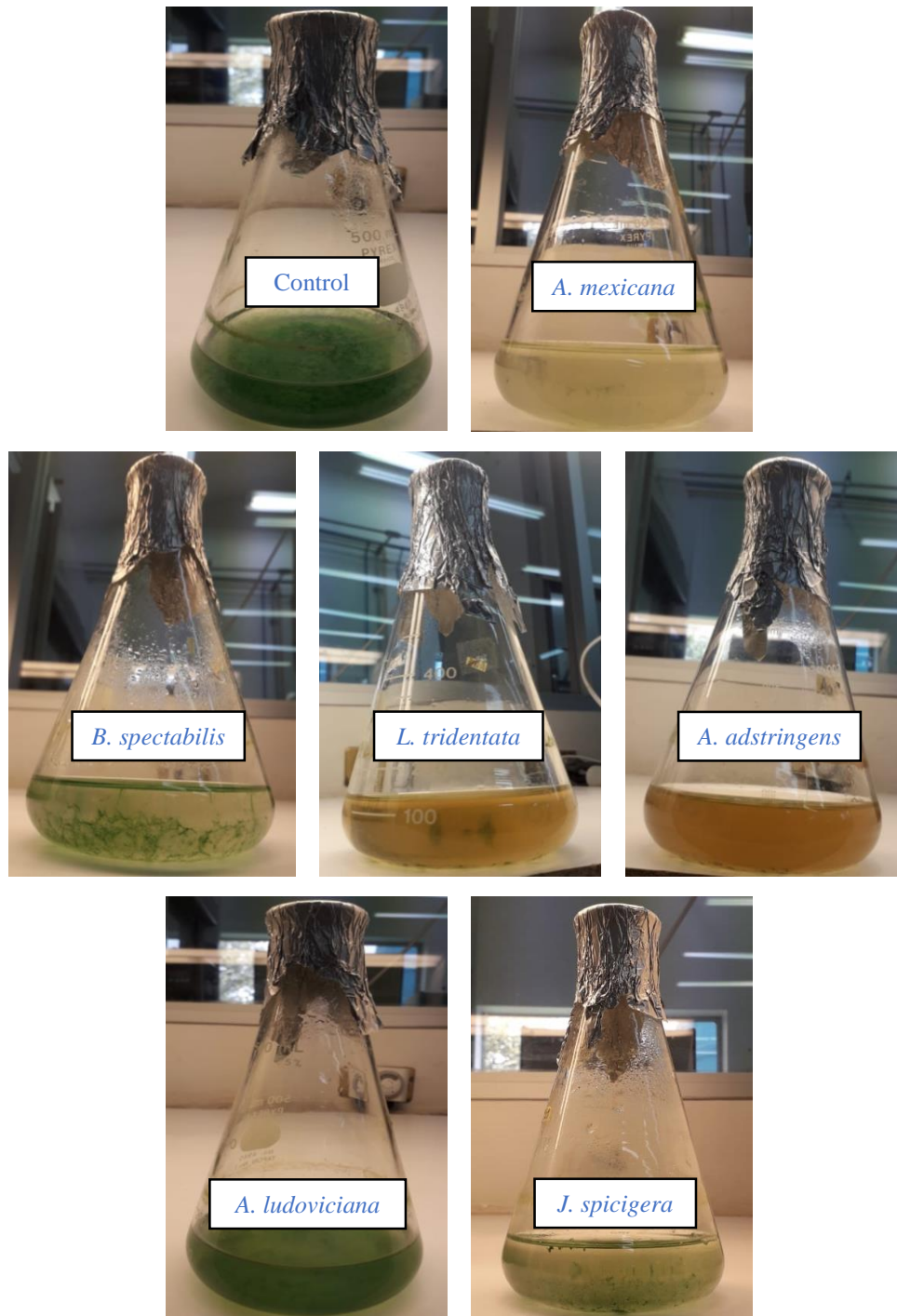
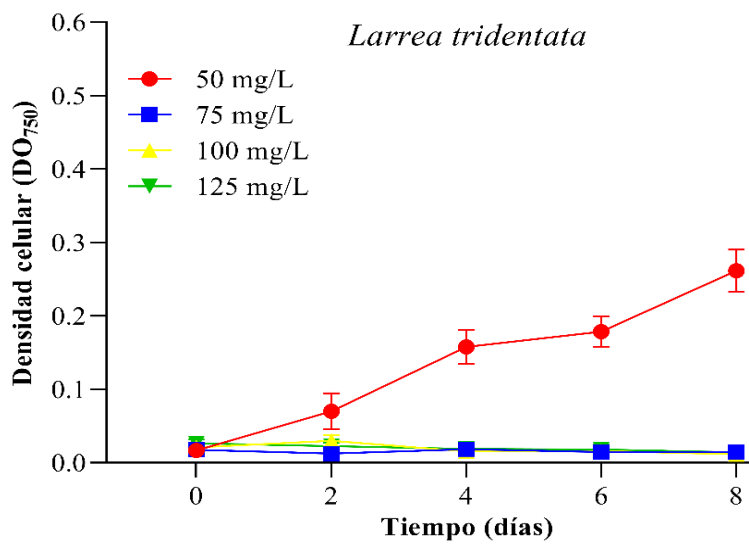
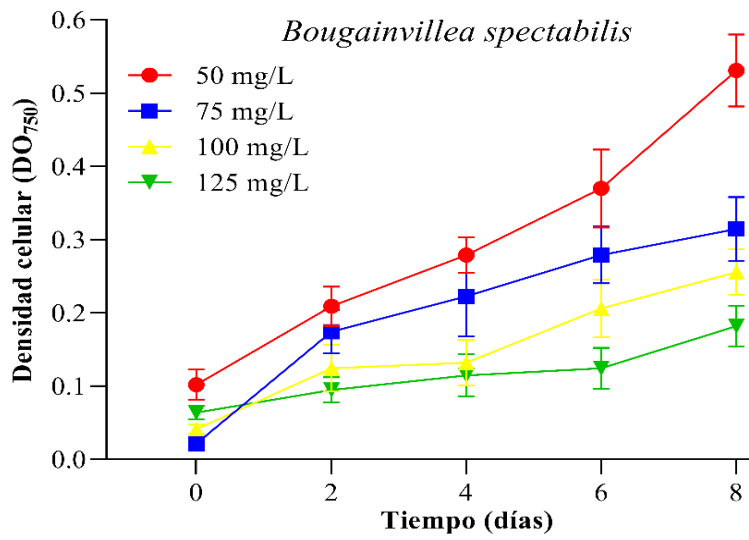
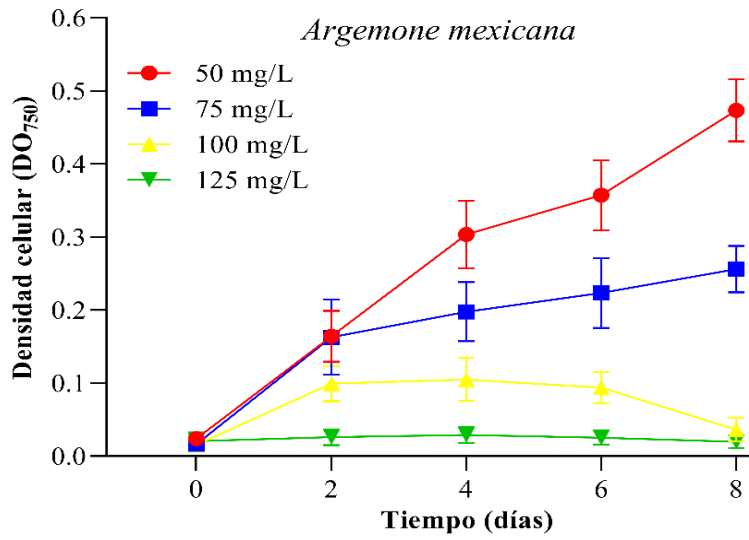


Fig. 36. Cultivos de *Anabaena* sp. después de 8 días de exposición a los extractos a 125 mg/L.

5.7.9 Efectos alguistáticos y alguicidas en *Anabaena sp.*

En el Anexo 1 y la Fig. 37 se muestran los valores de DO y las curvas de crecimiento de *Anabaena sp.* después de inocularse en un cultivo nuevo. *Anabaena sp.* resultó ser especialmente sensible al extracto de *L. tridentata*, debido a que fue la única especie que provocó efectos alguicidas en esta cianobacteria en tres de las cuatro concentraciones estudiadas (75, 100 y 125 mg/L). Este resultado era de esperarse dado que, a estas concentraciones, *L. tridentata* produjo disminuciones en la [Chl-a] superiores al 90%, lo que posiblemente impidió a *Anabaena sp.* retomar su crecimiento. De manera similar, *A. mexicana* y *A. adstringens* indujeron efectos alguicidas en *Anabaena sp.* a 100 y 125 mg/L. En el caso de *A. mexicana* a 100 mg/L, se presentó un ligero crecimiento de *Anabaena sp.* en los primeros días, pero se fue reduciendo gradualmente hasta el final de la prueba. Esta especie fue una de las que más daños causaron a la Chl-a, únicamente por debajo de *L. tridentata*, por lo que resulta razonable sugerir que este daño fue la razón por la que *Anabaena sp.* se vio incapaz de crecer nuevamente. En cuanto a las pruebas con *A. adstringens*, los resultados anteriores mostraron que afectó especialmente a la integridad de la membrana celular (medida como contenido de MDA), de ahí que resulte prudente plantear que este fue el motivo por el cual *Anabaena sp.* no volvió a prosperar.

Con respecto a las pruebas con *B. spectabilis*, *A. ludoviciana* y *J. spicigera*, estas especies mostraron únicamente efectos alguistáticos en todas las concentraciones estudiadas, es decir, se observó un nuevo crecimiento de *Anabaena sp.* después de que se le retiró del estrés que le estaban provocando estos extractos. Particularmente en el caso de *J. spicigera*, anteriormente se reportó que provocó una inhibición del crecimiento de *Anabaena sp.* del 74.47%, resultado que no fue suficiente para evitar que esta cianobacteria retomara su crecimiento.



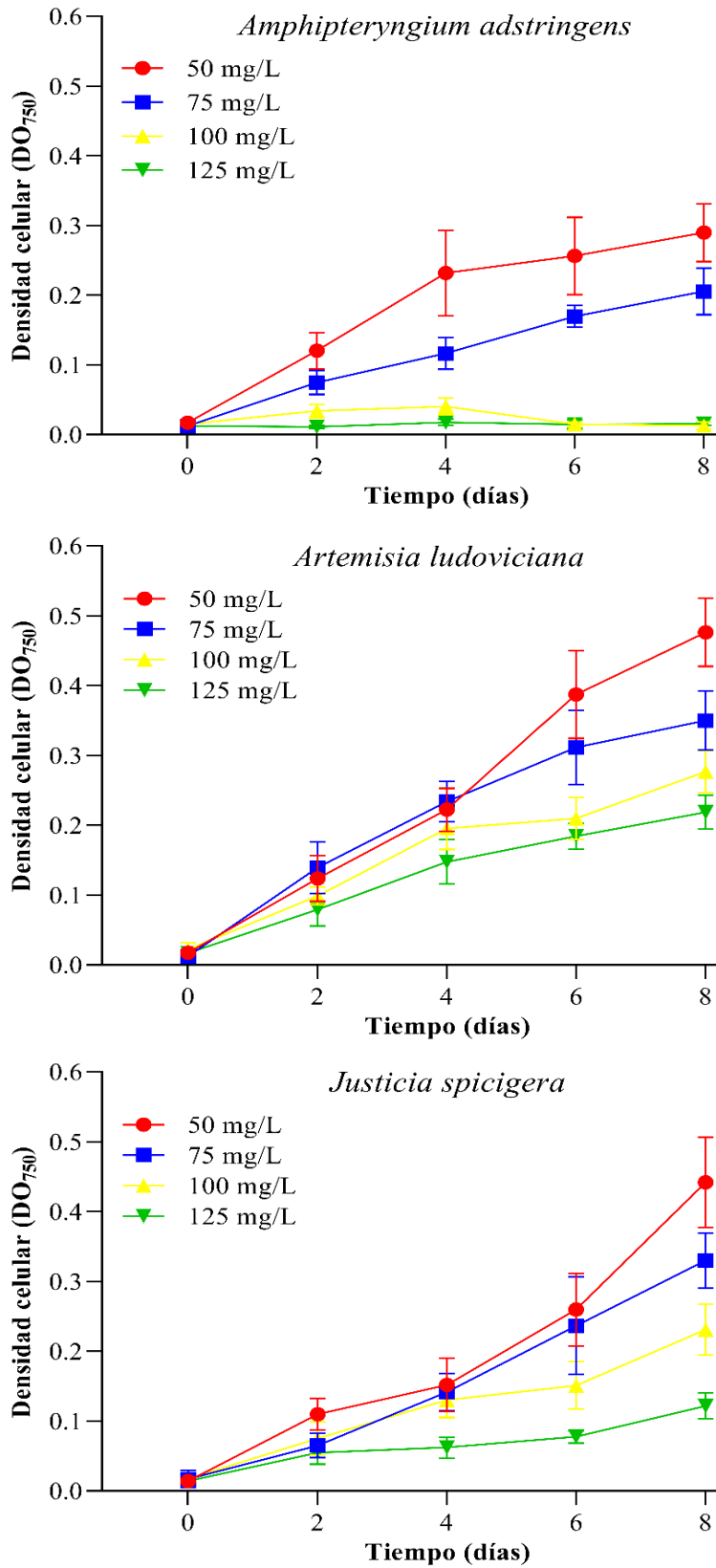


Fig. 37. Efectos alguistáticos y alguicidas de los extractos metanólicos en *Anabaena sp.*

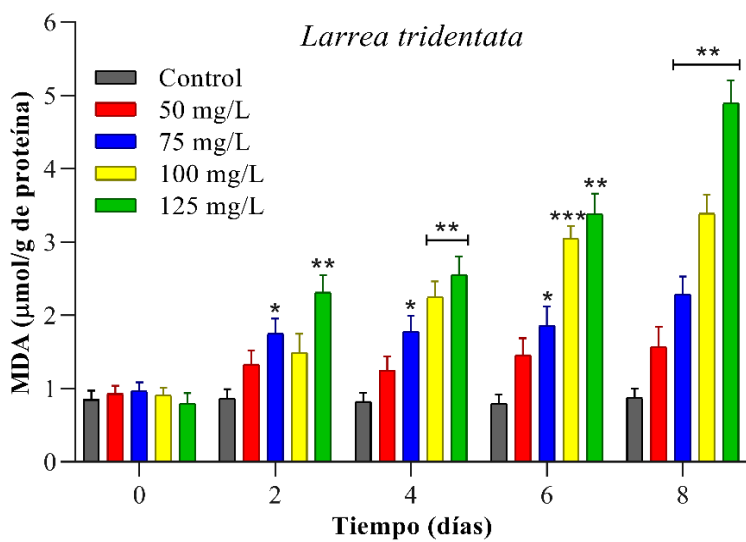
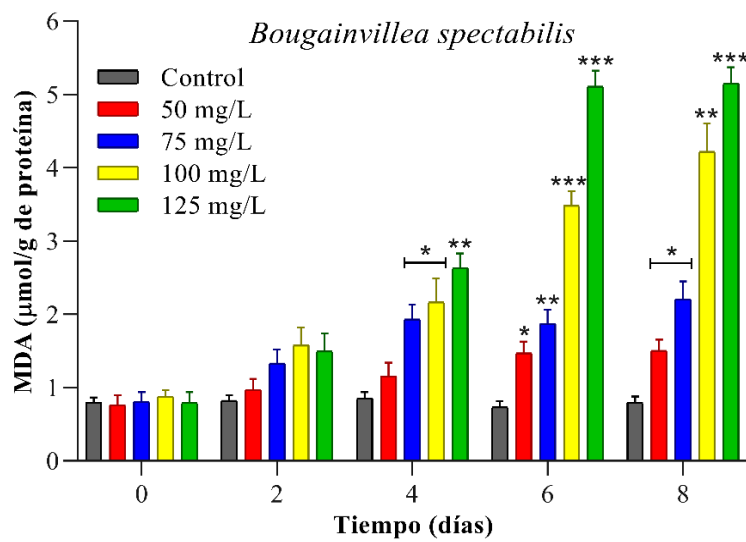
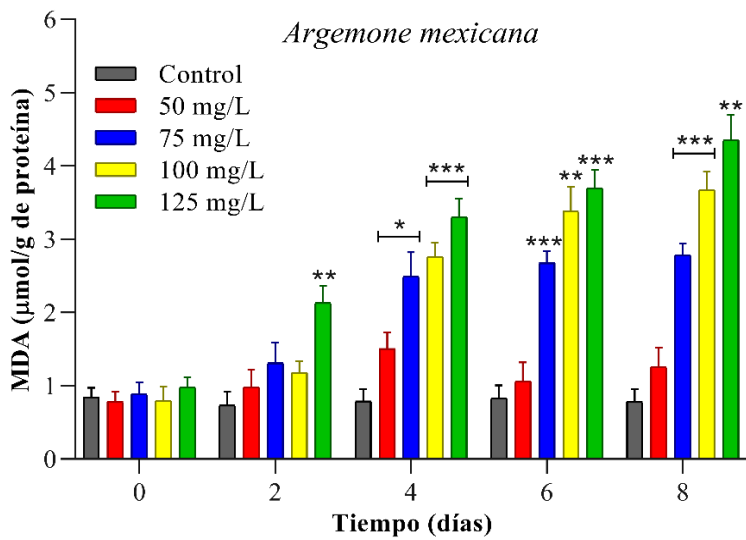
5.7.10 Efectos de los extractos metanólicos en la concentración de MDA en *Anabaena sp.*

Los efectos en la [MDA] en *Anabaena sp.* durante los 8 días de exposición a los extractos metanólicos se presentan en el Anexo 1 y la Fig. 38. Los extractos de *A. adstringens* y *B. spectabilis* fueron los que causaron más daños a la integridad de la membrana de *Anabaena sp.* En los ensayos con *A. adstringens*, los aumentos significativos en la [MDA] fueron visibles desde el día 2 a 125 mg/L ($p < 0.05$, ANOVA), y para el día 6, todas las concentraciones estudiadas mostraron daños significativos en *Anabaena sp.*, principalmente a 100 y 125 mg/L, donde los valores de [MDA] fueron de 3.59 y 4.32 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 4.13 y 4.97 veces más que el reportado en el control, respectivamente ($p < 0.01$, ANOVA). Esta tendencia continuó al día 8, donde a estas mismas concentraciones los aumentos en la [MDA] fueron de 5.1 ($p < 0.01$, ANOVA) y 6.45 ($p < 0.001$, ANOVA) veces más en relación al control, respectivamente. Los impactos causados por *B. spectabilis* fueron notables desde el día 4. A 75 mg/L, la [MDA] se mantuvo prácticamente igual hasta el día 8, alcanzando un valor de 2.21 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 2.76 veces más que en el control ($p < 0.05$, ANOVA). Para el día 6, los aumentos en la [MDA] a 100 y 125 mg/L fueron considerablemente superiores a los vistos en los días anteriores ($p < 0.001$, ANOVA) y para el 8, los resultados obtenidos indicaron que, a estas concentraciones, la [MDA] fue 5.28 ($p < 0.01$, ANOVA) y 6.44 ($p < 0.001$, ANOVA) veces más que lo observado en el control, respectivamente.

Los extractos de *L. tridentata* y *A. mexicana* mostraron respuestas similares. Con *L. tridentata* a 50 mg/L, no se produjo ningún aumento importante en la [MDA] de *Anabaena sp.* ($p > 0.05$, ANOVA) y a 75 mg/L, la [MDA] permaneció prácticamente constante hasta el día 8, donde aumentó ligeramente, dando un valor de 2.29 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 2.6 veces más que en el control ($p < 0.01$, ANOVA). Los resultados más relevantes se obtuvieron a partir del día 6 a 100 y 125 mg/L, con resultados de [MDA] 3.81 ($p < 0.001$, ANOVA) y 4.24 ($p < 0.01$, ANOVA) veces más elevados que los indicados en el control. Para el día 8, estos resultados ascendieron a 3.85 y 5.57 veces más a lo reportado en el control, respectivamente ($p < 0.01$, ANOVA). En cuanto a las pruebas con *A. mexicana*, en los días 4 y 6, las respuestas a 75, 100 y 125 mg/L fueron relativamente similares, siendo los resultados más importantes los obtenidos a 100 y 125 mg/L, con valores de [MDA] = 3.38 y 3.70 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 4.08

($p < 0.01$, ANOVA) y 4.46 ($p < 0.001$, ANOVA) veces más que lo obtenido en el control, respectivamente. Estas respuestas aumentaron ligeramente en el día 8, alcanzando valores 4.7 y 5.55 veces más elevados que el control ($p < 0.001$, ANOVA).

Nuevamente los extractos de *A. ludoviciana* y *J. spicigera* mostraron tener los efectos más bajos. En esta ocasión, *A. ludoviciana* a 50 y 75 mg/L, no presentó ningún efecto significativo en la [MDA] en todo el desarrollo de la prueba, a excepción del día 8 a 75 mg/L. Las respuestas más relevantes se notaron hasta el día 8 a 100 y 125 mg/L, con valores de [MDA] = 2.97 y 3.43 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 3.62 ($p < 0.001$, ANOVA) y 4.18 ($p < 0.01$, ANOVA) veces más que el control. Finalmente, con *J. spicigera* las respuestas fueron similares a las registradas con *A. ludoviciana*, a 50 mg/L, no hubo ningún cambio significativo en la [MDA] ($p > 0.05$, ANOVA). Los resultados más destacados se obtuvieron hasta el día 6 a 100 y 125 mg/L, con valores de [MDA] = 2.72 y 3.10 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, 2.79 ($p < 0.01$, ANOVA) y 3.13 ($p < 0.001$, ANOVA) veces más que lo reportado en el control, respectivamente. Al final de la prueba estos valores solo aumentaron ligeramente.



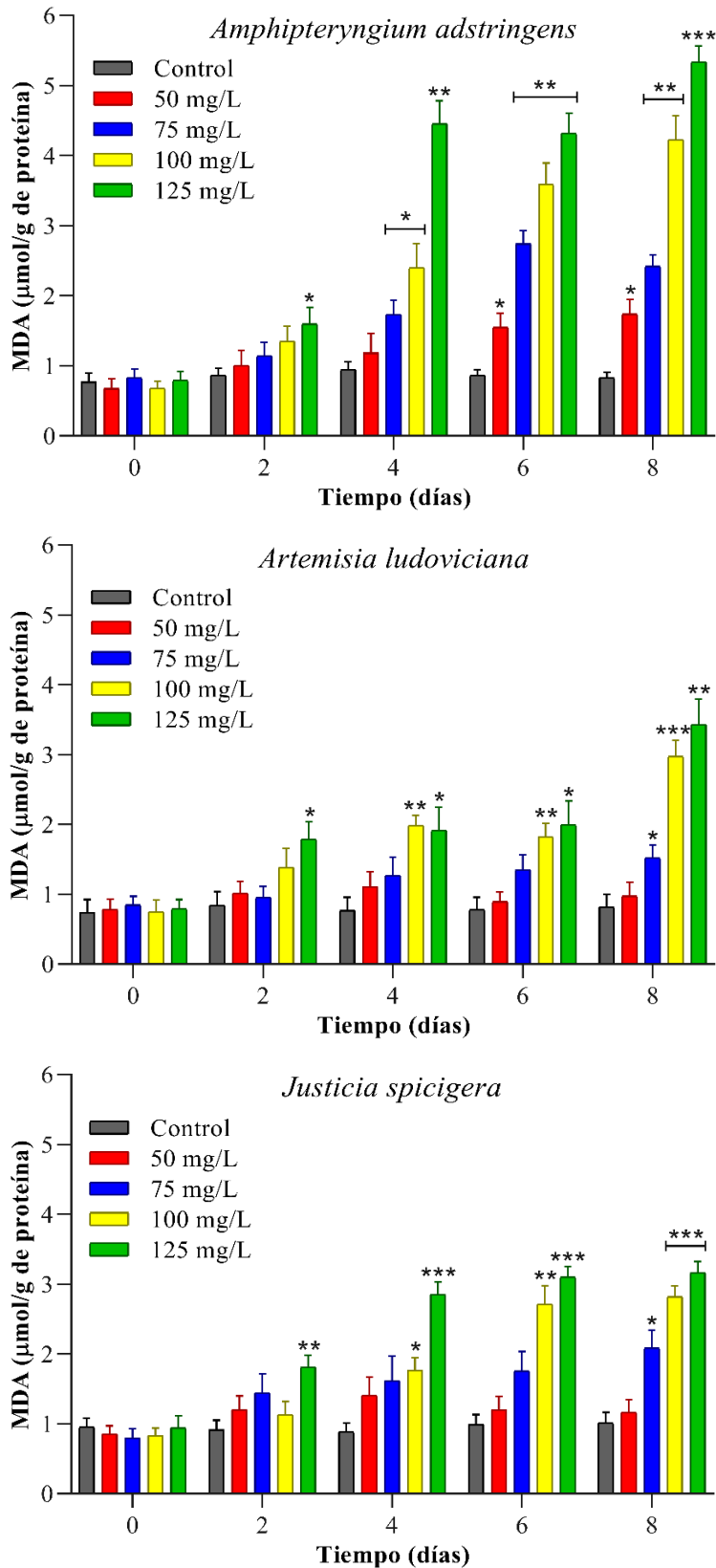


Fig. 38. Contenido de MDA en *Anabaena sp.* durante la exposición a los extractos metanólicos.

5.8 Concentración efectiva 50 (CE₅₀)

En la Tabla 19 y 20 se presentan los valores de la CE₅₀ de las 6 especies que mostraron los mayores efectos sobre la densidad celular de *M. aeruginosa*, *A. cylindrica* y *Anabaena sp.*, los cuales fueron calculados mediante el método Probit y con el método de ajuste logístico con la ayuda de programa GraphPad Prism versión 8.0.1.

Según los valores de CE₅₀ obtenidos, los grados de efectividad en orden descendente de los diferentes extractos sobre *M. aeruginosa* son: *L. tridentata* > *A. adstringens* > *B. spectabilis* > *A. mexicana* > *A. ludoviciana* > *J. spicigera*. En el caso de *A. cylindrica* fueron: *A. mexicana* > *A. adstringens* > *L. tridentata* > *A. ludoviciana* > *B. spectabilis* > *J. spicigera*. Por último, en las pruebas con *Anabaena sp.*, quedó de la siguiente forma: *L. tridentata* > *A. mexicana* > *A. adstringens* > *J. spicigera* > *B. spectabilis* > *A. ludoviciana*. Estos resultados coinciden con los obtenidos en las diferentes pruebas aluicidas en medio líquido, independientemente método estadístico utilizado para calcular la CE₅₀.

Dos de los métodos más comúnmente utilizados para calcular la CE₅₀ son el Probit y el de ajuste logístico. Por lo que, en esta investigación, se calculó la CE₅₀ utilizando ambos métodos, con el propósito de determinar si existían diferencias significativas en los valores obtenidos. El resultado fue que no existen diferencias significativas en el uso de uno u otro método, ya que al analizar los valores obtenidos con *M. aeruginosa*, *A. cylindrica* y *Anabaena sp.*, los coeficientes de correlación fueron 0.996, 0.994 y 0.999, respectivamente.

Tabla 19. Valores de CE₅₀ de los extractos metanólicos sobre las cianobacterias obtenidos con el método Probit.

Especie	EC ₅₀ (mg/L)		
	<i>M. aeruginosa</i>	<i>A. cylindrica</i>	<i>Anabaena sp.</i>
<i>A. mexicana</i>	23.04±1.85	63.19±4.58	61.77±4.17
<i>B. spectabilis</i>	16.53±3.93	98.76±9.96	94.73±9.17
<i>L. tridentata</i>	13.39±2.29	69.81±6.94	47.24±4.35
<i>A. adstringens</i>	14.66±1.87	65.89±3.87	62.47±7.00
<i>A. ludoviciana</i>	39.49±3.38	97.88±4.47	120.87±12.64
<i>J. spicigera</i>	65.09±16.35	111.77±12.85	72.21±8.89

Tabla 20. Valores de CE₅₀ de los extractos metanólicos sobre las cianobacterias obtenidos con el método de ajuste logístico.

Especie	EC ₅₀ (mg/L)		
	<i>M. aeruginosa</i>	<i>A. cylindrica</i>	<i>Anabaena sp.</i>
<i>A. mexicana</i>	24.47 ± 0.2	65.76±5.44	64.66±4.25
<i>B. spectabilis</i>	20.27 ± 3.2	100.39±8.15	91.92±8.02
<i>L. tridentata</i>	13.63 ± 1.6	72.43±6.76	51.58±51.58
<i>A. adstringens</i>	15.4 ± 1.01	68.36±3.48	65.24±65.24
<i>A. ludoviciana</i>	36.22 ± 8.74	94.28±1.91	115.11±8.26
<i>J. spicigera</i>	59.27 ± 8.79	112.96±7.43	73.30±8.85

5.9 Identificación y cuantificación de los aleloquímicos de *A. mexicana*, *B. spectabilis*, *L. tridentata* y *A. adstringens*

En *A. mexicana*, *B. spectabilis*, *L. tridentata* y *A. adstringens* se lograron identificar 83, 82, 72 y 74 compuestos, respectivamente, pudiéndose clasificar en diferentes familias. Ahora bien, no todas las familias de aleloquímicos encontradas en los extractos resultan de interés, por lo que, en la Tabla 21, se enlistan únicamente los aleloquímicos que se encuentran en una de las 4 categorías descritas en el Marco Teórico y que pudieron tener cierto grado de efectividad en contra de las diferentes especies de cianobacterias. Para consultar la lista completa de compuestos y de los cromatogramas de estos cuatro extractos ir al Anexo 2 y al Anexo 3, respectivamente.

Compuestos fenólicos

Una de las familias de aleloquímicos ampliamente estudiada por su alto grado de efectividad en contra de las cianobacterias es la de los polifenoles, que incluye a los ácidos fenólicos, flavonoides y taninos. En este estudio, el extracto de *L. tridentata* fue el que presentó el mayor número de estos aleloquímicos con 12, seguido de *A. adstringens* con 7, *A. mexicana* con 5 y, por último, *B. spectabilis* con 4. *B. spectabilis* y *A. adstringens* fueron los únicos extractos donde se identificaron flavonoides. Donde los ácidos benzoico, 4-hidroxibenzoico,

gálico, cafeico, protocatechico, vanílico, p-cumárico, hidroquinona han sido reportados por sus diferentes mecanismos de acción sobre las cianobacterias (Zhang *et al.* 2010; Zhu *et al.* 2010; Švanys *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2016; Cao *et al.*, 2020 y Liu *et al.* 2021). En contraste, la actividad alguicida de los ácidos 3, 4-dihidroxifenilacético, cinámico, β -fenilacético, homovanílico, gentísico, antranílico, 4-hidroxifenilacético y floroglucinol resulta incierta al no encontrarse evidencia reportada anteriormente.

En el caso de los flavonoides, únicamente se identificó a la (+)-catequina y la naringenina en *B. spectabilis* y *A. adstringens*, donde la primera si ha sido reportado como un compuesto efectivo sobre varias especies de cianobacterias (Švanys *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2016). Por el contrario, la naringenina, es un flavonoide del subgrupo de las flavanonas del que se desconocen sus efectos en las cianobacterias. Con relación a las cumarinas, solamente se encontró a la esculetina en *L. tridentata*, de la cual también se desconocen sus efectos alguicidas.

Compuestos con N

Prácticamente todos los compuestos con N encontrados en la presente investigación resultaron pertenecer a la familia de los aminoácidos, a excepción del alcaloide trigonelina y el ácido antranílico, identificados en *B. spectabilis* y *L. tridentata*, respectivamente, y de los cuales se desconoce si poseen efectos alguicidas. En el extracto de *B. spectabilis* fue donde se indentificó el mayor número de estos compuestos, siendo un total de 23, seguido de *A. mexicana* con 18, *L. tridentata* con 11 y únicamente 2 en *A. adstringens*. De todos estos compuestos, ninguno de ellos encuentra reportado como agente alguicida, solo se ha indicado que la arginina y la ornitina no afectan en absoluto el crecimiento de *Microcystis*. Sin embargo, resultan de interés debido a que reportes anteriores indicaron que algunos compuestos que contienen N como los alcaloides berberina, gramina y sanguinarina, poseen potentes actividades alguicidas sobre las cianobacterias (Jančula *et al.*, 2010). Además, en estudios anteriores el aminoácido lisina (no encontrado en este estudio) ha mostrado ser altamente tóxico para *Microcystis*, comparando su eficacia con el sulfato de cobre.

En este mismo grupo también se pueden incluir a los nucleótidos uracilo y adenina y a los nucleosidos uridina y adenosina, que también contienen N. No obstante, tampoco existen estudios que indiquen si tienen o no actividad alguicida.

Ácidos grasos/ésteres

Sin duda alguna la categoría de los ácidos orgánicos fue la que la que mostró el mayor número de compuestos en los diferentes extractos, pudiéndose subdividir en ácidos grasos saturados, insaturados, carboxílicos y dicarboxílicos. Donde en *A. mexicana*, se indentificaron 10 ácidos grasos saturados y 2 ácidos grasos insaturados, en *B. spectabilis* se encontraron 9 ácidos grasos y 2 ácidos grasos insaturados, en *L. tridentata*, únicamente se detectaron 8 ácidos grasos saturados y 2 ácidos grasos insaturados y en *A. astringens* se identificaron 13 ácidos grasos saturados y ningún insaturado. Los ácidos grasos de 5, 6, 7, 8, 9, 12, 14, 16 y 18 carbonos, penta-, hexa-, hepta-, octa-, nona-, dodeca-, tetradeca-, hexadeca- y octadecanoico han sido reportados como agentes inhibidores de cianobacterias (Nakai *et al.*, 2005; Wu *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2015 y Wang *et al.*, 2016b). Mientras que, los ácidos grasos de 10, 15, 17, 20, 22 y 24 no han sido reportados como anticianobacteriales, pese a ello, resulta sensato sugerir que estos ácidos grasos también pudieron ejercer cierto efecto negativo sobre las cianobacterias.

En este mismo contexto, existen reportes anteriores que indicaron que los ácidos grasos insaturados como el linoleico y α -linolénico encontrados en *A. mexicana*, *B. spectabilis* y *L. tridentata*, poseen potentes efectos negativos sobre las cianobacterias (Aliotta *et al.*, 1990; Wang *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2015 y Wang *et al.*, 2016b). Por el contrario, la eficacia de los ácidos *cis*-9-hexadecenoico y 2-hexenoico no han sido reportada anteriormente. No obstante, la presencia de estos dos aleloquímicos aunada a la de los ácidos linoleico y α -linolénico, pudo haber aumentado significativamente el grado de eficacia de estos extractos debido a la presencia de insaturaciones en la cadena de carbonos. Numerosos ácidos carboxílicos y dicarboxílicos también han mostrado considerables efectos alguicidas. En los

extractos de *A. mexicana*, *B. spectabilis*, *L. tridentata* y *A. adstringens* se identificaron 12, 12, 9 y 14, respectivamente. De todos estos aleloquímicos, únicamente el ácido octanodioico encontrado en *A. mexicana* y *L. tridentata* está reportado como alguicida. Por lo que el grado de efectividad de todos los demás aleloquímicos resulta incierto. Por último, la presencia del ácido hidroxiaacético también resulta de interés debido a que es un derivado del ácido acético, un aleloquímico con una gran actividad anticianobacterial.

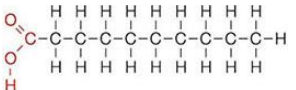
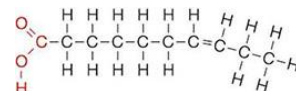
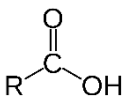
Terpenoides

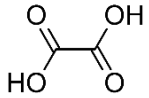
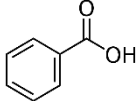
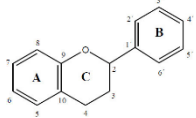
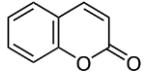
El extracto de *A. adstringens* fue el único en donde se encontró esta familia de compuestos. Resulta importante resaltar la presencia del linalool y α -terpineol, los cuales han mostrado significativos efectos inhibitorios en contra de *M. aeruginosa* (Chen *et al.*, 2018). El geraniol, un monoterpenoide y la β -amirina, un triterpeno, no han sido reportados como alguicidas, por lo que se desconoce si pudieron ejercer efectos negativos sobre las tres especies de cianobacterias.

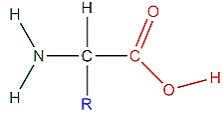
Fitoesteroles

Un último grupo de interés que no se encuentra entre las cuatro principales categorías de aleloquímicos es el de los fitoesteroles, donde en el extracto de *A. mexicana* se identificaron dos compuestos, estigmasterol y β -sitosterol. Donde este último, ha mostrado efectos negativos sobre *Anabaena flosaquae* (Ahmad *et al.*, 2013; Aliotta *et al.*, 1990). Por lo tanto, el estigmasterol, un compuesto de esta familia, posiblemente también haya ejercido efectos negativos en el crecimiento de *M. aeruginosa*, *A. cylindrica* y *Anabaena sp.*

Tabla 21. Aleloquímicos identificados en los extractos metanólicos de *A. mexicana*, *B. spectabilis*, *L. tridentata* y *A. adstringens* mediante GC-MS. Fuente propia: René Solano Jiménez.

Aleloquímicos	<i>A. mexicana</i>	<i>B. spectabilis</i>	<i>L. tridentata</i>	<i>A. adstringens</i>
<p>Ácidos grasos saturados</p> 	Hexanoico	Hexanoico	Pentanoico	Pentanoico
	Heptanoico	Heptanoico	Hexanoico	Hexanoico
	Octanoico	Octanoico	Heptanoico	Heptanoico
	Decanoico	Decanoico	Nonanoico	Octanoico
	Tetradecanoico	Dodecanoico	Decanoico	Nonanoico
	Hexadecanoico	Hexadecanoico	Dodecanoico	Decanoico
	Heptadecanoico	Heptadecanoico	Hexadecanoico	Dodecanoico
	Octadecanoico	Octadecanoico	Octadecanoico	Tetradecanoico
	Docosanoico	Eicosanoico		Pentadecanoico
	Tetracosanoico			Hexadecanoico
			Heptadecanoico	
			Octadecanoico	
			Eicosanoico	
<p>Ácidos grasos insaturados</p> 	cis-9-hexadecenoico	2-hexenoico	Linoleico	
	Linoleico	Linoleico	α -linoleico	
<p>Ácidos carboxílicos</p> 	3-hidroxiopropanoico	2-hidroxiopropanoico	2-hidroxietanoico	4-metoxibutanoico
	4-hidroxibutanoico	2-hidroxietanoico	2-etilhexanoico	2-hidroxietanoico
	4-aminobutanoico	2-oxopropanoico	4-aminobutanoico	2-oxopropanoico
	2,3-dihidroxiopropanoico	2,3-dihidroxiopropanoico		3-hidroxibutanoico
		4-aminobutanoico		4-aminobutanoico
				Shikímico
				Glucónico
Ácidos dicarboxílicos	Etanodioico	Etanodioico	Etanodioico	Etanodioico

	Butanodioico cis-butanodioico 2,3-dihidroxiutanodioico 2-hidroxiutanodioico Octanodioico 2-hidroxiutanodioico 2-aminohexanedioico	Propanodioico Butanodioico Cis-butanodioico Trans-butanodioico 2-hidroxiutanodioico Octanodioico	Propanodioico Butanodioico 2-hidroxiutanodioico Octanodioico Nonanodioico	Propanodioico Butanodioico Trans-butanodioico 2-hidroxiutanodioico Heptanodioico Nonanodioico
Ácidos fenólicos 	Benzoico <i>p</i> -hidroxi benzoico Vanílico Gálico Cafeico	4-hidroxi benzoico <i>p</i> -cumárico 3, 4-dihidroxi fenilacético Cafeico	Benzoico Cinámico <i>p</i> -hidroxi benzoico β -fenilacético Homovanílico Gentísico Antranílico Protocatechico <i>p</i> -cumárico Cafeico Hidroquinona	<i>p</i> -hidroxi benzoico 4-hidroxi fenilacético Vanílico Protocatechico Gálico Gentísico Floroglucinol
Flavonoides 	Catequina			Catequina Naringenina
Cumarinas 	Esculetina			
Aminoácidos	Alanina Valina	Alanina Valina	Alanina Prolina	Prolina Ácido piroglutámico

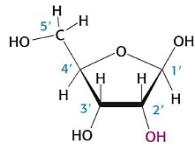


Leucina
Isoleucina
Glicina
Serina
Ácido pipecólico
Treonina
Prolina
β-alanina
Homoserina
Ácido aspártico
Ornitina
Ácido glutámico
Fenilalanina
Asparagina
Glutamina
Tirosina

Ácido pipecólico
Leucina
Prolina
Isoleucina
Glicina
Serina
Treonina
Prolina
β-alanina
Homoserina
Ácido aspártico
Ácido piroglutámico
4-hidroxirolina
Ornitina
Ácido glutámico
Fenilalanina
Asparagina
Glutamina
Histidina
Tirosina
Triptófano

Valina
Ácido pipecólico
Serina
Treonina
Prolina
4-hidroxirolina
Fenilalanina
Asparagina
Triptófano

Nucleotidos y nucleosidos



Uracilo
Adenina
Uridina
Adenosina

Uracilo
Adenosina

Adenina

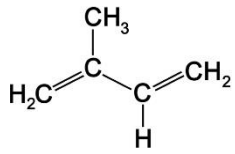
Uracilo

Alcaloides

Trigonelina

Terpenos

Linalool
α-terpineol



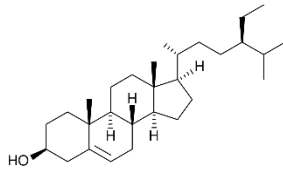
Geraniol
β-amirina

Fitoesteroles

Estigmasterol
β-sitosterol

β-sitosterol

Campesterol
Estigmasterol
β-sitosterol



CAPÍTULO 6: DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La riqueza florística total de México (23,314 especies) lo ubica en el cuarto lugar del mundo, detrás de Brasil (32,000 especies), China (29,000 especies) y Colombia (24,000 especies). También es de destacar el alto nivel de endemismo de la flora de México; aunque valores recientes reducen el porcentaje de endemismo al 49,8%, aún ocupa un lugar privilegiado entre los países del mundo, reportando una flora nativa muy restringida a sus territorios políticos. Excluyendo los archipiélagos y otros territorios insulares que se caracterizan por una gran proporción de especies endémicas, México es aparentemente solo superado por Sudáfrica entre los países continentales en su proporción de especies endémicas (57,1%) (Villaseñor, 2016). Después de China, con casi 5000 especies de plantas medicinales registradas, México tiene el segundo número más alto con 4500 especies registradas.

El uso de extractos de plantas ha mostrado ser uno de los enfoques más prometedores para el control de los florecimientos de cianobacterias tóxicas, debido a que pueden contener diferentes familias de aleloquímicos que poseen la capacidad de inhibir el crecimiento de las cianobacterias mediante una variedad de mecanismos de manera simultánea. En esta investigación se analizaron los efectos de los extractos de ocho especies de plantas usadas en la medicina tradicional mexicana (*A. mexicana*, *B. spectabilis*, *L. tridentata*, *T. zebrina*, *T. spathacea*, *A. adstringens*, *A. ludoviciana* y *J. spicigera*) sobre la densidad celular de las cianobacterias tóxicas *M. aeruginosa*, *A. cylindrica* y *Anabaena sp.* Los resultados indicaron que las respuestas de cianobacterias a los extractos fueron muy diferentes entre sí. Por ejemplo, *M. aeruginosa* fue especialmente sensible a los extractos de *L. tridentata* y *A. adstringens* a 75 mg/L. En este mismo contexto, los extractos de *A. mexicana*, *L. tridentata* y *A. adstringens* fueron los que mostraron los mayores efectos sobre *A. cylindrica* y *Anabaena sp.* a 125 mg/L, mostrando inhibiciones superiores al 90%. Una de las posibles explicaciones a estas discrepancias es la capacidad de las cianobacterias filamentosas de formar enormes conglomerados y de sintetizar exopolisacáridos que son excretados y pueden

acumularse extracelularmente, lo que podría dificultar el contacto directo de los aleloquímicos con las células de las cianobacterias.

Pese a lo dicho anteriormente, los hallazgos reportados en esta investigación resultan superiores a los obtenidos en algunas investigaciones recientes, como la de Shi *et al.* (2020), donde analizaron los efectos de diez especies de plantas en el crecimiento de *Microcystis flos-aquae*, reportando que todas las especies mostraron efectos inhibitorios significativos, siendo únicamente la especie *Alternanthera philoxeroides* la que mostró el mayor grado de inhibición (77.30%), después de 4 días de exposición a una concentración de 3 g/L. En otro estudio publicado por Tazart *et al.* (2018), observaron que, los extractos acuosos de *Ranunculus aquatilis* y *Nasturtium officinale* mostraron inhibiciones del 100 y 75% en *M. aeruginosa*. Por su parte, Ye *et al.* (2014), encontraron que los extractos de cuatro hierbas chinas *Phellodendri chinensis*, *Artemisia annua*, *Scutellaria baicalensis* y *Citrus reticulata* mostraron fuerte efectos alguicidas cuando se encontraban coexistiendo con *M. aeruginosa*, mostrando efectos sinérgicos cuando se hicieron mezclas binarias de los extractos acuosos.

La fotosíntesis es el proceso biosintético más fundamental que apoya la multiplicación y el crecimiento de las algas. La Chl-a son pigmentos fotosintéticos esenciales que sirven para la captación de la energía lumínica y su posterior transformación a energía bioquímica (Chen *et al.*, 2018). Por lo tanto, una disminución de la Chl-a puede reducir la capacidad de las cianobacterias de absorber la luz y reducir aún más la eficiencia de la fotosíntesis. Como resultado, la eficiencia fotosintética de las células de las cianobacterias y de la velocidad de transporte de electrones disminuiría notablemente (Cao *et al.*, 2020). Además, la reducción de las capacidades fotosintéticas también puede disminuir la acumulación de carbohidratos, lo que puede ralentizar el crecimiento celular (Chen *et al.*, 2018).

En este estudio, cuando *M. aeruginosa*, *A. cylindrica* y *Anabaena sp.* fueron expuestas a los extractos de *A. mexicana*, *L. tridentata* y *A. adstringens*, sus contenidos de Chl-a disminuyeron significativamente, siendo consistentes con su disminución en la densidad celular. Se observó también que las respuestas de las cianobacterias a los extractos fueron diferentes, siendo el extracto de *A. adstringens* el que provocó el mayor daño en *M.*

aeruginosa. En contrate, *A. cylindrica* fue más sensible al extracto de *A. mexicana* y el extracto de *L. tridentata* fue el que causó la mayor disminución de Chl-a en *Anabaena sp.* En estudios anteriores se ha concluido que varias partes del sistema fotosintético son especialmente susceptibles al ataque de las ROS generadas por un exceso de compuestos fenólicos. Por lo tanto, lo más probable es que esta destrucción de los pigmentos fotosintéticos haya sido provocada por los diferentes compuestos fenólicos encontrados en estos extractos, lo conllevó a que las cianobacterias no fueran capaces de sintetizar energía (ATP y NADPH), debido al bloqueo de la transferencia de electrones del PSII al PSI. Por lo tanto, resultar coherente asumir que el daño a la actividad fotosintética es uno de los principales mecanismos de acción de estas especies de plantas en contra de *M. aeruginosa*, *A. cylindrica* y *Anabaena sp.*

Li *et al.* (2020), indicaron que en reportes anteriores se ha demostrado que *M. aeruginosa* exhibe una alta sensibilidad a los aleloquímicos polifenólicos, y que los polifenoles con un grupo hidroxilo en posición *para* y *meta* exhibieron un efecto inhibitor más fuerte sobre *M. aeruginosa* que aquellos que lo poseían solo en posición *orto*. Al mismo tiempo, se descubrió que los sustituyentes hidroxilo en el anillo de benceno podían mejorar la actividad antialgal de los polifenoles, mientras que el metoxi la debilitaba. También reportaron que la inhibición de los polifenoles en las algas mejoró después de que se oxidaron a quinonas. En esta investigación, prácticamente todos los ácidos fenólicos identificados en los cuatro extractos que mostraron los mayores efectos alguicidas (*A. mexicana*, *B. spectabilis*, *L. tridentata* y *A. adstringens*) poseen al menos un grupo hidroxilo en la posición *meta* y/o *para*. Incluso algunos compuestos fenólicos que aún no están reportados como alguicidas como los ácidos 3,4-dihidroxifenilacético, β -fenilacético, homovanílico, gentísico, antranílico y 4-hidroxifenilacético poseen alguna de estas características estructurales. Es bien sabido que los compuestos fenólicos poseen actividad sinérgica en contra de las cianobacterias, por lo tanto, resulta factible sugerir que estos aleloquímicos no reportados también posean la capacidad de actuar sinérgicamente junto a los que sí han sido reportados. Sin embargo, esta hipótesis debe ser comprobada en estudios posteriores.

Particularmente, los compuestos fenólicos poseen una amplia variedad de mecanismos de acción en contra de las cianobacterias, pueden actuar sobre la membrana celular provocando la peroxidación de los lípidos de la membrana, interfiere con el metabolismo de los ésteres e inhibe la actividad de las esterasas. Como resultado, la integridad de la membrana se reduce y provoca picnosis celular (Cao *et al.*, 2020). Zhang *et al.* (2010), encontraron que los ácidos *p*-cumárico y vainílico desencadenaron la generación de radicales $O_2^{+\cdot}$, disminuyendo el contenido de Chl-a, induciendo una peroxidación de lípidos y cambiando la penetrabilidad de la membrana celular, ocasionando la liberación de electrolitos, ácidos nucleicos y proteínas, lo que condujo a la muerte de *M. aeruginosa*. Zhu *et al.* (2010) encontraron que el ácido pirogálico y el ácido gálico inhibían la actividad PSII y de la cadena de transporte de electrones de *M. aeruginosa*. En un informe reciente Liu *et al.* (2021), indicaron que los ácidos fenólicos benzoico, salicílico y felúrico pueden inhibir completamente el crecimiento de *M. aeruginosa* a concentraciones entre 25 y 60 mg/L, causando agrietamiento de las células, lisis de la membrana plasmática y una drástica disminución del contenido del Chl-a. Además, los ácidos benzoico y felúrico también aumentaron significativamente la actividad de la SOD, POD y CAT. Asimismo, ácido cinámico puede reducir el consumo de oxígeno de las algas y, al mismo tiempo, transferir electrones a otras vías (Cao *et al.*, 2020).

La familia de los flavonoides también posee un extenso espectro de acción en contra de las cianobacterias. Por ejemplo, la catequina identificada en *B. spectabilis* y *A. adstringens* puede actuar de manera sinérgica con algunos ácidos fenólicos como pirogálico, ferúlico, elágico, gálico, *p*-cumárico, vainílico, *p*-hidroxibenzoico, encontrados en los cuatro extractos analizados por CG-MS, causando estrés oxidativo, dañando irreversiblemente la membrana y la pared celular al aumentar los contenidos del radical $O_2^{+\cdot}$ e inhibiendo las actividades de las enzimas fosfatasa alcalina y la esterasa (Svanys *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2016). Por lo tanto, la presencia de este flavonoide podría ser la razón por la que los extractos de *B. spectabilis* y *A. adstringens* fueron los que mostraron los mayores aumentos en el contenido de *A. cylindrica* y *Anabaena sp.*, respectivamente. Una degradación similar del contenido de Chl-a fue observada por Chen *et al.* (2019), cuando analizaron los flavonoides quercetina y luteolina aislados de la cáscara de granada sobre *M. aeruginosa*.

El MDA es uno de los productos más importantes de la peroxidación lipídica de la membrana, por lo que puede informar de manera indirecta el grado del daño oxidativo del sistema de membranas de las cianobacterias inducido por las ROS (Chen *et al.*, 2019; Zhu *et al.*, 2021). En nuestro estudio, los extractos de las diferentes especies de plantas, de manera similar a lo ocurrido con el contenido de Chl-a, mostraron variables efectos sobre el contenido de MDA de las cianobacterias estudiadas. Siendo el extracto de *L. tridentata* el que causó el mayor aumento en el contenido de MDA de *M. aeruginosa*, el extracto de *B. spectabilis* sobre *A. cylindrica* y el de *A. adstringens* sobre *Anabaena sp.* En el análisis por CG-MS de los extractos de *A. mexicana*, *B. spectabilis*, *L. tridentata* y *A. adstringens*, se lograron identificar 24, 23, 19 y 27 ácidos orgánicos, respectivamente, siendo el mayor grupo de compuestos encontrados. Sin duda alguna, la presencia de estos ácidos orgánicos, especialmente la de los ácidos grasos insaturados, tuvo un enorme efecto en la integridad de la membrana celular de las cianobacterias, provocando lisis celular, lo que condujo a la liberación de material intracelular y finalmente a la muerte celular.

Nuestros resultados van acordes con lo reportado por Wu *et al.*, (2006), donde concluyeron que los ácidos grasos pueden ejercer efectos citotóxicos sobre las membranas plasmáticas de algunas especies de fitoplancton, lo que resulta en una alteración de la permeabilidad de la membrana. El daño a las membranas plasmáticas permitió que el K^+ se filtrara desde el interior celular. Los efectos letales de los ácidos grasos pueden ser causados por el efecto lítico sobre las células estresadas a través de la ruptura de las membranas plasmáticas celulares. Como efecto secundario, los ácidos grasos parecen provocar la disociación de las ficobilinas de las membranas de los tilacoides. Por su parte, Nakai *et al.* (2005) encontraron que (i) la longitud de la cadena de carbono, (ii) el número de enlaces insaturados y (iii) las posiciones de cualquier doble enlace pueden afectar las actividades anti-cianobacterianas de los ácidos grasos. En este mismo contexto, un análisis comparativo donde se correlacionó el efecto inhibitorio con la estructura química de 17 tipos de ácidos grasos sobre el crecimiento de tres especies de microalgas incluida *M. aeruginosa*, mostró que los ácidos grasos con un mayor grado de insaturación y cadenas de carbono más cortas poseían un efecto inhibitorio más fuerte. Además, la inhibición del crecimiento por ácidos grasos con átomos de carbono impares fue mayor que por los ácidos grasos con carbono par. También observaron que la

actividad colectiva de los ácidos grasos mostró una inhibición sinérgica del crecimiento en las tres especies de microalgas (Zhang *et al.*, 2009). Finalmente, los ácidos grasos con una solubilidad muy limitada en agua pueden ser inhibidores naturales y convertirse en agentes efectivos de control de algas (Ni *et al.*, 2011).

Nuestros hallazgos también pueden ser sustentados con estudios anteriores donde se han utilizados extractos crudos de diferentes especies de plantas. Por ejemplo, Li *et al.*, 2016, observaron que el extracto acuoso de *Sagittaria trifolia* causó severos daños en la estructura de las membranas celulares de *M. aeruginosa*, aumentando el contenido de MDA 2.7 veces comparado con el control. Por otra parte, Zhang *et al.* (2011b), encontraron que el extracto acuoso de las raíces de *Thalia dealbata* aumentó el contenido de MDA en *M. aeruginosa* hasta 5.1 veces más comparado con el control. En otro estudio, Meng *et al.* (2015), reportaron que el contenido de MDA en *M. aeruginosa* cerca de 2.3 veces debido a la exposición al extracto etanólico de *Ailanthus altissima* durante 5 días. Además, disminuyó significativamente el contenido de Chl-a, proteínas y la actividad de la SOD. El contenido de MDA aumentó con cuatro extractos orgánicos de ruibarbo, lo que indica que el extracto de ruibarbo causó la oxidación de los lípidos de la membrana celular, lo que resultó en una disminución del contenido de proteínas, escisión y desbordamiento de materia interna disuelta, que luego resultó en la inhibición de las algas (Cao *et al.*, 2020).

Como se describió anteriormente, una consecuencia de la peroxidación lipídica en las cianobacterias es la fuga de material intracelular, como proteínas, ADN y ARN, entre otros (Zhang *et al.*, 2012). En la presente investigación, observamos un aumento sustancial en la concentración de proteínas y nucleótidos de *M. aeruginosa*, debido a la exposición al extracto de *L. tridentata*, induciendo aumentos graduales de los valores de DO₂₈₀ y DO₂₆₀. Estos hallazgos permiten proponer que el extracto de *L. tridentata* dañó de manera irreversible la membrana celular de *M. aeruginosa*. Nuestros resultados son similares a los descritos por Zhang *et al.* (2012), al reportar que el extracto de *Hydrilla. Verticillata* provocó un aumento en la concentración de proteínas y nucleótidos en *Anabaena flos-aquae*, siendo casi el doble comparado con el control. En otro estudio publicado por Zhang *et al.* (2010), observaron que

los ácidos fenólicos ácido p-cumárico y ácido vanílico provocaron la liberación de ácidos nucleicos en *M. aeruginosa*, aproximadamente 1.6 veces más comparado con el control.

Las sustancias poliméricas extracelulares de las cianobacterias suelen estar compuestas de polisacáridos, lípidos, proteínas y ADN en forma de heteropolímeros, como lipopolisacáridos o glicoproteínas (Singh *et al.*, 2019). Los EPS se encuentran entre los compuestos más importantes sintetizados por las cianobacterias y desempeñan un papel vital en la supervivencia de éstas. Los EPS cianobacterianas consisten en sustancias poliméricas de alta viscosidad con una composición bioquímica y propiedades biofísicas variables que se encuentran entre las estructuras bacterianas estructural y funcionalmente más complejas. Estos biopolímeros forman una envoltura que rodea a las células denominada vaina, glucocáliz, cápsula o mucosidad, según su consistencia y localización, que protegen a las células del estrés físico y biológico (Chamizo *et al.*, 2020). En este trabajo, con base en los resultados de las pruebas alguicidas en medio líquido y en el valor de la CE₅₀, se observó que las cianobacterias *A. cylindrica* y *Anabaena sp.* resultaron ser considerablemente más resistentes a los diferentes extractos que su homóloga *M. aeruginosa*. Esta resistencia pudo deberse a su capacidad de liberar exopolisacáridos (Fig. 39), los cuales actuaron como el su primer sistema de defensa ante el estrés abiótico causado por las diferentes familias de aleloquímicos presentes en los extractos. Pese a ello, los aleloquímicos lograron entrar en contacto directo con estas cianobacterias, inhibiendo su crecimiento.

Nuestros resultados concuerdan con los reportados por Zhang *et al.* (2011b), cuando compararon los efectos del extracto de *T. dealbata* sobre *M. aeruginosa* y *A. flos-aquae*, siendo esta última ligeramente más resistente a este extracto. De manera similar, Zhang *et al.* (2015), observaron que *M. aeruginosa* resultó ser levemente más sensible a los extractos de *O. javanica* y *A. calamus* que *Anabaena flosaquae* y *Aphanizomenon flosaquae*.

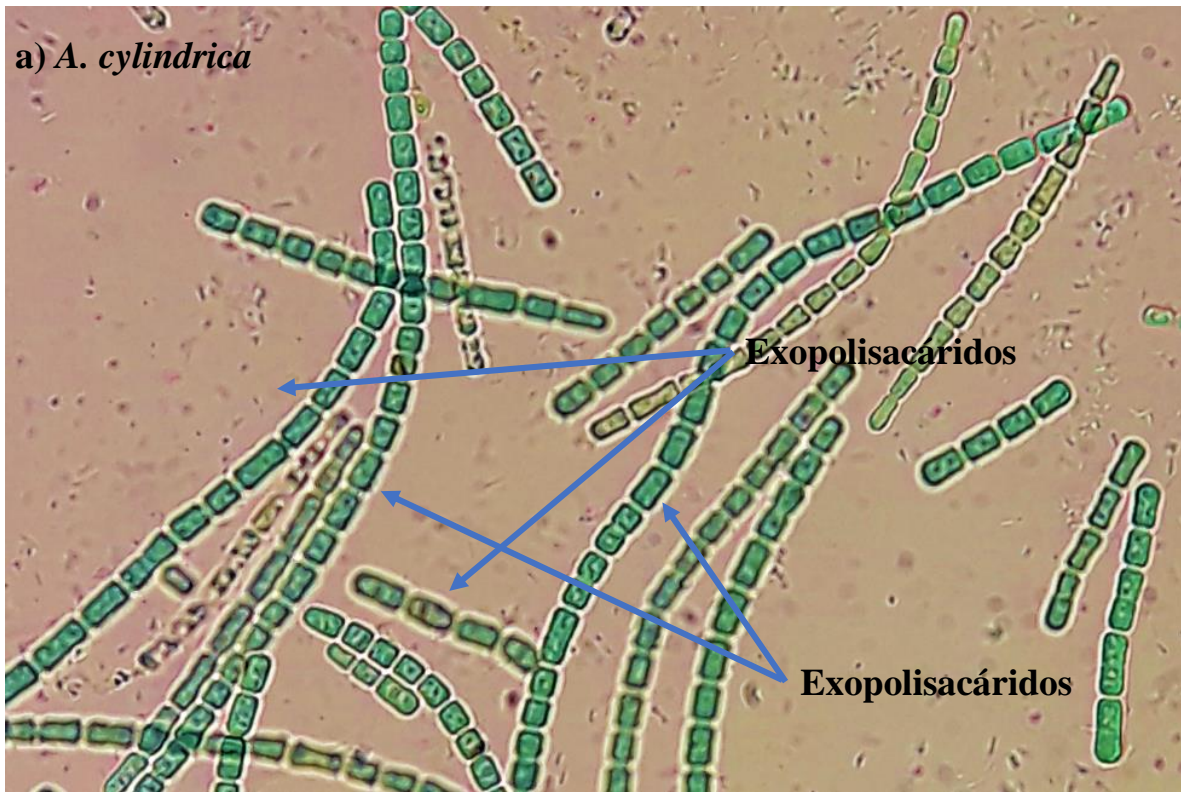


Fig. 39. Exopolisacáridos en *A. cylindrica* y *Anabaena* sp.

Los valores de CE₅₀ pueden dar una idea del grado de eficacia de un extracto sobre cierta especie de cianobacteria y puede variar significativamente dependiendo de factores como la especie de la planta y su origen geográfico, la parte de la planta que se utilice y su edad, el disolvente usado en la extracción, la concentración del extracto, el tiempo de exposición y la especie de cianobacteria objetivo, en otros. En esta investigación, no se observó una diferencia importante entre los valores de CE₅₀ de *A. mexicana*, *B. spectabilis* y *L. tridentata*, de manera similar a lo encontrado por Zhang *et al.*, 2015 (Tabla 22). Sin embargo, en el estudio de Ye *et al.* (2014), se observó una importante diferencia entre el extracto de *Artemisia annua* y los extractos de *Phellodendri chinensis* y *Scutellaria baicalensis*. En otra investigación, la eficacia del extracto de acetato de etilo de *Conyza canadensis* fue muy superior al extracto etanólico de *Artemisia annua* (Ni *et al.*, 2011) (Tabla 22).

Tabla 22. Valores de CE₅₀ de diferentes extractos de plantas sobre cianobacterias.

Planta	Disolvente	ΔConcen. (mg/L)	CE ₅₀ (mg/L)	Cianobacteria	Referencia
<i>A. mexicana</i>	Metanol	10-75	23.04	<i>M. aeruginosa</i>	
<i>B. spectabilis</i>	Metanol	10-75	16.53	<i>M. aeruginosa</i>	
<i>L. tridentata</i>	Metanol	10-75	13.39	<i>M. aeruginosa</i>	
<i>A. adstringens</i>	Metanol	10-75	14.66	<i>M. aeruginosa</i>	
<i>A. ludoviciana</i>	Metanol	10-75	39.49	<i>M. aeruginosa</i>	
<i>J. spicigera</i>	Metanol	10-75	65.09	<i>M. aeruginosa</i>	
<i>A. mexicana</i>	Metanol	50-125	63.19	<i>A. cylindrica</i>	
<i>B. spectabilis</i>	Metanol	50-125	98.76	<i>A. cylindrica</i>	
<i>L. tridentata</i>	Metanol	50-125	69.81	<i>A. cylindrica</i>	En este estudio
<i>A. adstringens</i>	Metanol	50-125	65.89	<i>A. cylindrica</i>	
<i>A. ludoviciana</i>	Metanol	50-125	97.88	<i>A. cylindrica</i>	
<i>J. spicigera</i>	Metanol	50-125	111.77	<i>A. cylindrica</i>	
<i>A. mexicana</i>	Metanol	50-125	61.77	<i>Anabaena sp.</i>	
<i>B. spectabilis</i>	Metanol	50-125	94.73	<i>Anabaena sp.</i>	
<i>L. tridentata</i>	Metanol	50-125	47.24	<i>Anabaena sp.</i>	
<i>A. adstringens</i>	Metanol	50-125	62.47	<i>Anabaena sp.</i>	
<i>A. ludoviciana</i>	Metanol	50-125	120.87	<i>Anabaena sp.</i>	
<i>J. spicigera</i>	Metanol	50-125	72.21	<i>Anabaena sp.</i>	
<i>Oenanthe javanica</i>	Etanol	5-70	9.23	<i>M. aeruginosa</i>	Zhang <i>et al.</i> , 2015
<i>Oenanthe javanica</i>	Etanol	5-70	23.69	<i>A. flosaquae</i>	Zhang <i>et al.</i> , 2015
<i>Sagittaria sagittifolia</i>	Hexano	5-70	13.57	<i>A. flosaquae</i>	Zhang <i>et al.</i> , 2015
<i>Sagittaria sagittifolia</i>	Hexano	5-70	12.38	<i>A. flosaquae</i>	Zhang <i>et al.</i> , 2015
<i>Acorus calamus</i>	Hexano	5-70	13.59	<i>M. aeruginosa</i>	Zhang <i>et al.</i> , 2015
<i>Acorus calamus</i>	Hexano	5-70	14.87	<i>A. flosaquae</i>	Zhang <i>et al.</i> , 2015
<i>Acorus calamus</i>	Hexano	5-70	19.73	<i>A. flosaquae</i>	Zhang <i>et al.</i> , 2015

<i>P. chinensis</i>	Agua	1600-13000	870	<i>M. aeruginosa</i>	Ye <i>et al.</i> , 2014
<i>Scutellaria baicalensis</i>	Agua	1600-13000	880	<i>M. aeruginosa</i>	Ye <i>et al.</i> , 2014
<i>Artemisia annua</i>	Agua	1600-13000	11160	<i>M. aeruginosa</i>	Ye <i>et al.</i> , 2014
<i>Citrus reticulate</i>	Agua	1600-13000	5270	<i>M. aeruginosa</i>	Ye <i>et al.</i> , 2014
<i>Conyza canadensis</i>	Acetato de etilo		31.5	<i>M. aeruginosa</i>	Ni <i>et al.</i> , 2011
<i>Conyza canadensis</i>	Éter de petróleo		111.5	<i>M. aeruginosa</i>	Ni <i>et al.</i> , 2011
<i>Conyza canadensis</i>	Etanol		250	<i>M. aeruginosa</i>	Ni <i>et al.</i> , 2011
<i>Erigeron annuus</i>	Acetato de etilo		24.3	<i>M. aeruginosa</i>	Ni <i>et al.</i> , 2011
<i>Erigeron annuus</i>	Éter de petróleo		200	<i>M. aeruginosa</i>	Ni <i>et al.</i> , 2011
<i>Erigeron annuus</i>	Etanol		95	<i>M. aeruginosa</i>	Ni <i>et al.</i> , 2011
<i>Artemisia annua</i>	Acetato de etilo		121	<i>M. aeruginosa</i>	Ni <i>et al.</i> , 2011
<i>Artemisia annua</i>	Éter de petróleo		143	<i>M. aeruginosa</i>	Ni <i>et al.</i> , 2011
<i>Artemisia annua</i>	Etanol		275	<i>M. aeruginosa</i>	Ni <i>et al.</i> , 2011
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	Acetato de etilo	No especificado	98.9	<i>M. aeruginosa</i>	Yi <i>et al.</i> , 2012
<i>Acorus tatarinowii</i>	Cloroformo		102.5	<i>M. aeruginosa</i>	Yi <i>et al.</i> , 2012
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	Cloroformo		111.5	<i>M. aeruginosa</i>	Yi <i>et al.</i> , 2012
<i>P. cuspidatum</i>	Cloroformo		122.9	<i>M. aeruginosa</i>	Yi <i>et al.</i> , 2012
<i>Acorus tatarinowii</i>	Éter de petróleo		130	<i>M. aeruginosa</i>	Yi <i>et al.</i> , 2012
<i>P. amurense</i>	Éter de petróleo		157.8	<i>M. aeruginosa</i>	Yi <i>et al.</i> , 2012

CAPÍTULO 7: CONCLUSIONES

Este es el primer estudio en comprobar los efectos alguicidas en medio sólido y líquido de cuatro especies de plantas usadas comúnmente en la medicina tradicional mexicana. Los extractos metanólicos de *A. mexicana* y *B. spectabilis*, *L. tridentata* y *A. adstringens* fueron los que mostraron efectos negativos más significativos sobre las tres especies de cianobacterias estudiadas, debido a la presencia de familias de aleloquímicos como los compuestos polifenólicos, compuestos con N, ácidos grasos y fitoesteroles, de los cuales se han demostrado sus efectos alguicidas en estudios anteriores y se evidenció su presente en esta investigación. En este mismo contexto, mediante las pruebas alguicidas en medio líquido, se comprobó la hipótesis planteada al inicio de la investigación, ya que los diferentes extractos provocaron en mayor y menor medida la disminución del número de células, de la [Chl-a] y el aumento de la [MDA], por lo que es muy probable que la peroxidación lipídica sea y el daño en la actividad fotosintética sean unos de los principales mecanismos de acción de estos extractos en contra de *M. aeruginosa*, *A. cylindrica* y *Anabaena sp.* Debido a lo anterior, estas especies pueden ser una fuente de compuestos alguicidas eficaces para mitigar los florecimientos de cianobacterias tóxicas.

REFERENCIAS

- Abarca, V. R. y Petricevich, L. V. 2018. *Bougainvillea* genus: A review on phytochemistry, pharmacology, and toxicology. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/9070927>.
- Ahmad, A., Kim, S. H., Ali, M., Park, I., Kim, J. S., Kim, E. H., Lim, J. J., Kim, S. K. y Chung, I. M. 2013. New chemical constituents from *Oryza sativa* straw and their

- algicidal activities against blue-green algae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(34), 8039-48. <https://doi.org/10.1021/jf402145u>.
- Aliotta, G., Greca M. D., Monaco, P., Pinto, G., Pollio, A., Previtera, L. 1990. *In vitro* algal growth inhibition by phytotoxins of *Typha latifolia* L. *Journal of Chemical Ecology*, 16(9), 2637-2646. <https://doi.org/10.1007/BF00988075>.
- Anaya, E. G., Rivero, C. I., Rivera, C. J. y Mata, R. 2014. Hypoglycemic properties of some preparations and compounds from *Artemisia ludoviciana* Nutt. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(1), 416-25. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.05.051>.
- Araujo, P. G., Silvano, A. H. y Maria, P. G. 2018. Modification and validation of Folin-Ciocalteu assay for faster and safer analysis of total phenolic content in food samples. *Brazilian Journal of Food Research*, 9(1), 125-140. <https://periodicos.utfpr.edu.br/rebrapa/article/view/6062>.
- Ardoino, S. M., Boeris, M. A. y Toso, R. E. 2013. Caracterización fitoquímica de *Prosopis flexuosa* var. *flexuosa* (algarrobo) y *Prosopis flexuosa* var. *depressa* (alpataco), plantas con acción farmacológica. *Ciencia Veterinaria*, 15(1), 115-125. <https://cerac.unlpam.edu.ar/index.php/veterinaria/article/view/1778>.
- Baghalpour, N., Abdulmajid, A. S., Naderi N., Hosseinabadi, T., Taheri, Y., Mahroobakhtiyari, J., Khan, S. Z., Talha, K. A. y Sharifi-Rad J. 2021. Antinociceptive and anti-inflammatory studies on *Tradescantia zebrina*. *Pakistan Journal of Botany*, 53(1), 357-365. [http://dx.doi.org/10.30848/PJB2021-1\(30\)](http://dx.doi.org/10.30848/PJB2021-1(30)).
- Baldemir, A., Karaman, Ü., İlgün, S., Kaçmaz, G. y Demirci, B. 2017. Antiparasitic efficacy of *Artemisia ludoviciana* Nutt. (Asteraceae) essential oil for *Acanthamoeba castellanii*, *Leishmania infantum* and *Trichomonas vaginalis*. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 52(3), 416-425. <https://www.ijper.org/article/796>.
- Bañuelos, V. R., Delgadillo, R. L., Echavarría, C. F., Delgadillo, R. O. y Meza, L. C. 2018. Chemical composition and FTIR of ethane extracts of *Larrea tridentata*, *Origanum vulgare*, *Artemisia ludoviciana* and *Ruta graveolens*. *Agrociencia*, 52, 309-321. <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v52n3/2521-9766-agro-52-03-309-en.pdf>

- Baqueiro, P. I., y Guerrero, B. J. A. 2014. Uses of *Justicia spicigera* in medicine and as a source of pigments. *Functional Foods in Health and Disease*, 4(9), 401-414. <https://doi.org/10.31989/ffhd.v4i9.150>.
- Benayache, N. Y., Nguyen, Q. T., Hushchyna, K., McLellan, K., Afri, M. F. Z y Bouaïcha, N. 2019. An overview of Cyanobacteria Harmful Algal Bloom (CyanoHAB) issues in freshwater ecosystems. In: Didem Gökçe (ed.) *Limnology - Some New Aspects of Inland Water Ecology*, 13-37. <https://doi.org/10.5772/intechopen.84155>.
- Brahmachari, G., Gorai, D. y Roy, R. 2013. *Argemone mexicana*: chemical and pharmacological aspects. *Brazilian Journal of Pharmacognosy, Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23(3), 559-575. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013005000021>.
- Cao, J., Dong, Z., Zhao, H., Duan, S., Cao, X., Liu, H. y Yang, Z. 2020. Allelopathic effect of rhubarb extracts on the growth of *Microcystis aeruginosa*. *Water Science & Technology*, 82(6), 1092-1101. <https://doi.org/10.2166/wst.2020.225>.
- Castillo, J. I., García, C. R., Velázquez, G. N., Soto, H. M. y Martínez, V. M. 2013. *Amphypterygium adstringens* anacardic acid mixture inhibits quorum sensing-controlled virulence factors of *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Archives of Medical Research*, 44, 488-494. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2013.10.004>.
- Castro, A. V. C. y Rosana, C. B. 2014. Total soluble phenolic compounds quantification is not as simple as it seems. *Food Analytical Methods*, 8(4), 873-884. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9961-0>.
- Chamizo, S., Adessi, A., Torzillo, G. y Roberto De Philippis. 2020. Exopolysaccharide features influence growth success in biocrust-forming cyanobacteria, moving from liquid culture to sand microcosms. *Frontiers in Microbiology*, 11, 568224. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.568224>.
- Cheah, S. Y., Magdalene, C. Y., Eldwin, Lim C. Z., Wong, M. H., Amir, S., Daniel, S., Liow, Y. C., Ketnipha, S., Karenjit, K., Gabriel, G. A. y Chin, J. H. 2017. In-vitro antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Tradescantia zebrina*. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 8(1), 82-87. [https://www.rjpbcs.com/pdf/2017_8\(1\)/\[11\].pdf](https://www.rjpbcs.com/pdf/2017_8(1)/[11].pdf)

- Chen, L., Chen, J., Zhang, X. y Xie, P. 2016. A Review of reproductive toxicity of microcystins. *Journal of Hazardous Materials*, 301, 381-399. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.08.041>.
- Chen, L., Wang, Y., Shi, L., Zhao, J., Wang, W. 2019. Identification of allelochemicals from pomegranate peel and their effects on *Microcystis aeruginosa* growth. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(22), 22389-22399. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05507-1>.
- Chen, S., Zheng, T., Ye C., Huannixi, W., Yakefu, Z., Meng, Y., Peng, X., Tian, Z., Wang, J., Ma, Y., Yang, Y., Ma, Z. y Zuo, Z. 2018. Algicidal properties of extracts from *Cinnamomum camphora* fresh leaves and their main compounds. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 163, 594–603. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.115>.
- Cheng, L., Cao, X. y Yu, X. 2017a. Mechanism of growth inhibition effect of aquatic plants on water cyanobacteria. *Insight: Biology*, 1, 1–9.
- Cheng, L., He, Y., Tian, Y., Liu, B., Zhang, Y., Zhou, Q., Wu, Z. 2017b. Comparative biotoxicity of N-Phenyl-1-naphthylamine and N-Phenyl-2-naphthylamine on cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*. *Chemosphere*, 176, 183-191. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.110>.
- Chicalote, C. D., Ramírez, G. P. y Macías, R. M. L. 2017. Allelopathic effects among selected species of phytoplankton and macrophytes. *Journal of Environmental Biology*, 38(Special issue), 1221-1227. [https://doi.org/10.22438/jeb/38/6\(SI\)/07](https://doi.org/10.22438/jeb/38/6(SI)/07).
- Cirulis, J. T., Scott, J. A. y Ross, G. M. 2013. Management of oxidative stress by microalgae. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 91(1), 15-21. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2012-0249>.
- Cruz, D., Vasconcelos, V., Pierre, G., Michaud, P. y Delattre, C. 2020. Exopolysaccharides from cyanobacteria: Strategies for bioprocess development. *Applied Sciences*, 10(11), 3763. <https://doi.org/10.3390/app10113763>.
- Damian, B. L. M., Martínez, M. R. E., Salgado, G. R. y Martínez, P. M. M. 2010. In vitro antioomycete activity of *Artemisia ludoviciana* extracts against *Phytophthora spp.* *Latin American and Caribbean Bulletin of Medicinal and Aromatic Plants*, 9(2), 136–142. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85612475009>.

- Delgado, R. M., Guzmán, M. K., Flores, T. E., Márquez, D., Corral, A. A. Y., Santana, C. L. E., Romero y G. J. 2014. Caracterización y capacidad de adsorción de la especie vegetal *Larrea tridentata* como adsorbente de color. CULCyT, 54(1). <https://erevistas.uacj.mx/ojs/index.php/culcyt/article/view/891>.
- Demoulin, C. F., Lara, Y. J., Cornet, L., François, C., Baurain, D., Wilmotte, A. y Javaux, E. J. 2019. Cyanobacteria evolution: Insight from the fossil record. *Free Radical Biology and Medicine*, 140, 206-223. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.007>.
- El Amrani Zerrifi, S., Tazart, Z., Khalloufi, F. E., Oudra, B., Campos, A. y Vasconcelos, V. 2019. Potential control of toxic cyanobacteria blooms with Moroccan seaweed extracts. *Environmental Science and Pollution Research* 26(15), 15218-15228. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04921-9>.
- Everette, D. J., Bryant, M. Q., Green, M. A., Abbey, A. Y., Wangila, W. G. y Walker, B. R. 2010. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin-Ciocalteu reagent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(14), 8139-8144. <https://doi.org/10.1021/jf1005935>.
- Fernández, P. C., Hernández, A. M. E., Domínguez, O. M. Á. y Juárez, A. E. 2017. Efecto de los extractos etanólico/acuoso de *Moussonia deppeana* y *Justicia spicigera* sobre la proliferación y la viabilidad de la línea celular de carcinoma prostático LNCaP (Tesis doctoral). Universidad Veracruzana, Instituto de Neuroetología.
- Finney, D., 1952. *Probit analysis: A statistical treatment of the sigmoid response curve*, Cambridge University Press, Cambridge.
- García, V. R., García, G. R. M., Barba, D. B. A., Fajardo, R. O. R., Serna, S. S. O. y Cardineau, G. A. 2015. Antimicrobial activity of *Rhoeo discolor* phenolic rich extracts determined by flow cytometry. *Molecules*, 20(10), 18685–18703. <https://doi.org/10.3390/molecules201018685>.
- Gao, Y. N., Liu, B. Y., Xu, D., Zhou, Q. H., Hu, C. Y., Ge, F. J., Zhang, L. P., Wu, Z. B. 2011. Phenolic compounds exuded from two submerged freshwater macrophytes and their allelopathic effects on *Microcystis aeruginosa*. *Polish Journal of Environmental Studies*, 20(5), 1153–1159.
- Ghobrial, M. G., Nassr, H. S. y Kamil, A. W. 2015. Bioactivity effect of two macrophyte extracts on growth performance of two bloom-forming cyanophytes. *The Egyptian*

- Journal of Aquatic Research, 41(1), 69-81.
<https://doi.org/10.1016/j.ejar.2015.01.001>.
- Ghogar, A., Jiraungkoorskul, K. y Jiraungkoorskul, W. 2016. Paper flower, *Bougainvillea spectabilis*: Update Properties of Traditional Medicinal Plant. Journal of Natural Remedies, 16(3), 82-87. <https://doi.org/10.18311/jnr/2016/5703>.
- Grimm, F., Fets, L. y Anastasiou, D. 2016. Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC–MS) to study metabolism in cultured cells. In: Koumenis C., Coussens L., Giaccia A., Hammond E. (eds) Tumor Microenvironment. Advances in Experimental Medicine and Biology, 899, 59-88. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-26666-4_5.
- Harke, J. M., Steffen, M. M., Gobler, J. C., Otten, G. T., Wilhelm, W. S., Wood, A. S. y Paerl, W. H. 2016. A review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium, *Microcystis spp.* Harmful Algae, 54, 4–20. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.12.007>.
- Hehmann, A., Kaya, K. y Watanabe, M. M. 2002. Selective control of *Microcystis* using an amino acid – a laboratory assay. Journal of Applied Phycology, 14(2), 85–89. <https://doi.org/10.1023/a:1019546829940>.
- Hein, M. K. 2017. Part 10200 H. Chlorophyll. In: Baird R. B., Eaton, A. D., Rice, E. W. (eds). Standard methods for the examination of water and wastewater, 23rd edn. American Water Works Association, Washington, DC, pp 21-29.
- Hong, Y., Hu, H. Y., Sakoda, A. y Sagehashi, M. 2010. Isolation and characterization of antialgal allelochemicals from *Arundo donax* L. Allelopathy Journal, 25(2), 357-368.
- Hong, Y., Hu, H. Y., Xie, X., Sakoda, A., Sagehashi, M., Li, F. M. 2009. Gramine-induced growth inhibition, oxidative damage and antioxidant responses in freshwater cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. Aquatic toxicology, 91(3), 262-269. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.11.014>.
- Huisman, J., Codd, A. G., Paerl, W. H., Ibelings, W. B., Verspagen, M. H. J. y Visser, M. P. 2018. Cyanobacterial blooms. Nature Reviews Microbiology, 16, 471–483. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0040-1>.
- Itza-Ortiz, M., Carrera-Chavez, J. M., Aguilar-Urquizo, E., Parra-Suescún, J. E. 2019. Phytobiotic activity of *Larrea tridentata*, *Origanum vulgare* and *Plectranthus*

- amboinicus* in gram positive and gram negative bacterias. *Interciencia*, 44(5), 298-302. <https://www.redalyc.org/journal/339/33959375008/html/>.
- Jančula, D., Gregorová, J. y Maršálek, B. 2010. Algicidal and cyanocidal effects of selected isoquinoline alkaloids. *Aquaculture Research*, 41, 598-601. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02342.x>.
- Khan, A. M. y Bhadauria, S. 2018. Analysis of medicinally important phytochemicals from *Argemone mexicana*. *Journal of King Saud University–Science*, 31(4), 1020-2016. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.05.009>.
- Kumar, D., Kaštánek, P. y Adhikary, S. P. 2018. Exopolysaccharides from cyanobacteria and microalgae and their commercial application. *Current Science*, 115(2), 234-241. <https://doi.org/10.18520/cs/v115/i2/234-241>.
- Kumar, D. G., Swe, M. y Mathews, A. 2017b. *Tradescantia zebrina*: A promising medicinal plant. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(10), 3498-3502. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1002941>.
- Kumar, V., Sharma, A., Kaur, R., Kumar, A. T., Bhardwaj, R., Ahmad, P. 2017a. Differential distribution of amino acids in plants. *Amino Acids*, 49(5), 821-869. <https://doi.org/10.1007/s00726-017-2401-x>.
- Le Rouzic, B., Thiébaud, G. y Brient, L. 2016. Selective growth inhibition of cyanobacteria species (*Planktothrix agardhii*) by a riparian tree leaf extract. *Ecological Engineering*, 97, 74–78. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.07.021>.
- Leu, E., Krieger-Liszkay, A., Goussias, C. y Gross, E. M. 2002. Polyphenolic allelochemicals from the aquatic angiosperm *Myriophyllum spicatum* inhibit Photosystem II. *Plant Physiology*, 130(4), 2011–2018. <https://doi.org/10.1104/pp.011593>.
- Li, F. M. y Hu, H. Y. 2005. Isolation and characterization of a novel antifungal allelochemical from *Phragmites communis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(11), 6545–6553. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.6545-6553.2005>.
- Li, J., Liu, Y., Zhang, P., Zeng, G., Cai, X., Liu, S., Yin, Y., Hu, X., Hu, X. y Tan, X. 2016. Growth inhibition and oxidative damage of *Microcystis aeruginosa* induced by crude extract of *Sagittaria trifolia* tubers. *Journal of Environmental Sciences*, 43, 40-47. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2015.08.020>.

- Li, L., Jing, Xl., Wang, L., Zeng, Zg., Chen, Wh., Zhai, Jh. y Qi, Sq. 2020. The extract of aquatic macrophyte *Carex cinerascens* induced colony formation in bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 42276–42282. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08651-1>.
- Liu, J., Chang, Y., Sun, L., Du, F., Cui, J., Liu, X., Li, N., Wang, W., Li, J. y Yao, D. 2021. Abundant allelochemicals and the inhibitory mechanism of the phenolic acids in water dropwort for the control of *Microcystis aeruginosa* blooms. *Plants*, 10(12), 2653. <https://doi.org/10.3390/plants10122653>.
- Lu, Y., Wang, J., Yu, Y., Su, W. y Kong, F. 2013. Inhibition of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze on *Microcystis aeruginosa* and isolation of the inhibition factors. *Biotechnology Letters*, 35(7), 1029-1034. <https://doi.org/10.1007/s10529-013-1188-4>.
- Lürling, M. y Beekman, W. 2010. Anti-cyanobacterial activity of *Moringa oleifera* seeds. *Journal of Applied Phycology*, 22(4), 503-510. <https://doi.org/10.1007/s10811-009-9485-y>.
- Lürling, M., van Oosterhout, F. y Faassen, E. 2017. Eutrophication and warming boost cyanobacterial biomass and microcystins. *Toxins*, 9(2), 1-16. <https://doi.org/10.3390/toxins9020064>.
- Macioszek, B., Szczukocki, D. y Dziegieć, J. 2010. Inhibition of the growth of *Microcystis aureginosa* by phenolic allelochemicals from aquatic macrophytes or decomposed barley straw. In: Pawłowski, L., Dudzińska, M. R. y Pawłowski, A. (eds.) *Environmental Engineering III*, Taylor & Francis Group, London, UK, pp. 485-489. DOI: 10.1201/b10566-77.
- Mariod, A., Mirghani, E. S. M. y Hussein, I. 2017. Chapter 2 - *Argemone mexicana* (Argemone Seed). In: (ed.) *Part A: Principles of oil Extraction, processing, and oil composition: Unconventional oils from annuals, herbs, and vegetable. Unconventional oilseeds and oil sources*, 9-12. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809435-8.00002-0>.
- Massey, Y. I., Al osman, M. y Yang, F. 2020. An overview on cyanobacterial blooms and toxins production: their occurrence and influencing factors. *Toxin Reviews*, 1-21. <https://doi.org/10.1080/15569543.2020.1843060>.

- Matsuura, H. N. y Fett-Neto, G. A. 2015. Plant alkaloids: Main features, toxicity, and mechanisms of action. In: Gopalakrishnakone P., Carlini C., Ligabue-Braun R. (eds) Plant Toxins. Toxinology. Springer, Dordrecht. pp. 1-15. https://doi.org/10.1007/978-94-007-6728-7_2-1.
- Matthijs, H. C. P., Jančula, D., Visser, P. M. y Maršálek, B. 2016. Existing and emerging cyanocidal compounds: new perspectives for cyanobacterial bloom mitigation. *Aquatic ecology*, 50(3), 443–460. <https://doi.org/10.1007/s10452-016-9577-0>.
- Meng, P., Pei, H., Hu, W., Liu, Z., Li, X. y Xu, H. 2015. Allelopathic effects of *Ailanthus altissima* extracts on *Microcystis aeruginosa* growth, physiological changes and microcystins release. *Chemosphere*, 141, 219-226. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.07.057>.
- Mohamed, M. A. B. 2016. Phytochemical and biological study of *Bougainvillea spectabilis* family *Nyctaginaceae* growing in Egypt (Master Thesis). Faculty of Pharmacy, Cairo University.
- Morales-Ubaldo, A. L., Rivero-Perez, N., Avila-Ramos, F., Aquino-Torres, E., Prieto-Méndez, J., Hetta, H. F., El-Saber Batiha, G. y Zaragoza-Bastida, A. 2021. Bactericidal activity of *Larrea tridentata* hydroalcoholic extract against phytopathogenic bacteria. *Agronomy*, 11(5), 957. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050957>.
- More, N. V., Kharat, K. R. y Kharat, A. S. 2017. Berberine from *Argemone mexicana* L exhibits a broadspectrum antibacterial activity. *Acta Biochimica Polonica*, 64(4). https://doi.org/10.18388/abp.2017_1621.
- Murray, D., Jefferson, B., Jarvis, P. y Parsons, S. A. 2010. Inhibition of three algae species using chemicals released from barley straw. *Environmental Technology*, 31(4), 455–466. <https://doi.org/10.1080/09593331003663294>.
- Nakai, S., Inoue, Y., Hosomi, M. y Murakamim, A. 2000. *Myriophyllum spicatum*-released allelopathic polyphenols inhibiting growth of blue-green algae *Microcystis aeruginosa*. *Water Research*, 34(11), 3026-3032. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00039-7](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00039-7).

- Nakai, S., Yamada, S. y Hosomi, M. 2005. Anti-cyanobacterial fatty acids released from *Myriophyllum spicatum*. *Hydrobiologia*, 543, 71–78. <https://doi.org/10.1007/s10750-004-6822-7>.
- Navarrete, M. T., Delgado, S. S., Padilla, R. N., Sumaya, M. M. T., Calixto, O. G., Robles, B. A., García, L. M. 2016. Propiedades hipoglucemiantes de la especie *Justicia spicigera* Schlechtendal (Scrophulariales: *Acanthaceae*). *Métodos en Ecología y Sistemática*, 11(1), 24-33.
- Ni, L., Acharya, K., Hao, X. y Li, S. 2012a. Isolation and identification of an anti-algal compound from *Artemisia annua* and mechanisms of inhibitory effect on algae. *Chemosphere*, 88(9), 1051–1057. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.05.009>.
- Ni, L., Acharya, K., Hao, X., Li, S., Li, Y. y Li Y. 2012b. Effects of Artemisinin on Photosystem II performance of *Microcystis aeruginosa* by in vivo chlorophyll fluorescence. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 89(6), 1165–1169. <https://doi.org/10.1007/s00128-012-0843-0>.
- Ni, L., Hao, X., Li, S., Chen, S., Ren, G. y Zhu, L. 2011. Inhibitory effects of the extracts with different solvents from three compositae plants on cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Science China-Chemistry*, 54(7), 1123–1129. <https://doi.org/10.1007/s11426-011-4269-z>.
- Ni, L., Jie, X., Wang, P., Li, S., Wang, G., Li, Y., Li, Y., Acharya, K. 2015. Effect of linoleic acid sustained-release microspheres on *Microcystis aeruginosa* antioxidant enzymes activity and microcystins production and release. *Chemosphere*, 121, 110–116. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.11.056>.
- Ni, X. L., Acharya, K., Hao, X. Y. y Li, S. Y. 2013. Antioxidant and metabolism responses to polyphenol stress in cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Environmental Science and Health, Part B Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes*, 48(2), 153–161. <https://doi.org/10.1080/03601234.2013.727722>.
- O'Neil, J. M., Davis, T. W., Burford, M. A. y Gobler, C. J. 2012. The rise of harmful cyanobacteria blooms: The potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful Algae*, 14, 313–334. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.10.027>.

- Paerl, H. W. 2014. Mitigating harmful cyanobacterial blooms in a human- and climatically-impacted world. *Life*, 4, 988–1012. <https://doi.org/10.3390/life4040988>.
- Paerl, H. W., Gardner, W. S., Havens, K. E., Joyner, A. R., McCarthy, M. J., Newell, S. E., Qin, B., y Scott, J. T. 2016. Mitigating cyanobacterial harmful algal blooms in aquatic ecosystems impacted by climate change and anthropogenic nutrients. *Harmful Algae*, 54, 213–222. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.09.009>.
- Paerl, H. 2017. The cyanobacterial nitrogen fixation paradox in natural waters. F1000 Research. <https://doi.org/10.12688/f1000research.10603.1>.
- Pakdel, F. M., Sim, L., Beardall, J. y Davis, J. 2013. Allelopathic inhibition of microalgae by the freshwater stonewort, *Chara australis*, and a submerged angiosperm, *Potamogeton crispus*. *Aquatic Botany*, 110, 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2013.04.005>.
- Park, M. H., Chung, I. M., Ahmad, A., Kim, B. H., Hwang, S. J. 2009. Growth inhibition of unicellular and colonial *Microcystis strains* (*Cyanophyceae*) by compounds isolated from rice (*Oryza sativa*) hulls. *Aquatic Botany*, 90(4), 309–314. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2008.11.007>.
- Park, M. H., Han, M. S., Ahn, C. Y., Kim, H. S., Yoon, B. D. y Oh, H. M. 2006. Growth inhibition of bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* by rice straw extract. *Letters in Applied Microbiology*, 43(3), 307–312. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.01951.x>.
- Pei, Y., Xu, R., Hilt, S. y Chang, X. 2018. Effects of cyanobacterial secondary metabolites on phytoplankton community succession. In: Merillon, J. M., Ramawat, K. (eds) *Coevolution of secondary metabolites*. Reference Series in Phytochemistry, Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-76887-8_12-1.
- Peñuelas, R. O, Arellano, G. M., Verdugo, F. A. A., Chaparro, E. L. A., Hernández, R. S. E., Martínez, C. J. L., Vargas, A. I. 2017. *Larrea tridentata* extracts as an ecological strategy against *Fusarium oxysporum* radialis-lycopersici in tomato plants under greenhouse conditions. *Mexican Journal of Phytopathology*, 35(3), 360–376. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1703-3>.
- Pham, T. N., Pham, H. D., Dang, D. K., Duong, T. T., Le, T. P. Q., Nguyen, Q. D. y Nguyen, T. D. 2018. Anticyanobacterial phenolic constituents from the aerial parts of

- Eupatorium fortunei* Turcz. Natural Product Research, 33(9), 1345-1348. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1476511>.
- Rezayian, M., Niknam, V. y Ebrahimzadeh, H. 2019. Oxidative damage and antioxidative system in algae. Toxicology Reports, 24(6), 1309–1313. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.10.001>.
- Rodríguez, C. M., Jimenez, R. R., Canales, M. M. M., Garcia, L. A. J., Rivera, Y. N., Nieto, Y. O., Ledesma, S. Y., Sanchez, T. L. E., Rodriguez, S. M., Terrazas, L. I. y Rodriguez, M. M. A. 2016. Protective effect of *Amphipterygium adstringens* extract on dextran sulphate sodium-induced ulcerative colitis in mice. Mediators of Inflammation, 4, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2016/8543561>.
- Rodríguez, G. A., Peixoto, I. T. A., Verde, S. M. J., De la Torre, Z. S., Aviles, A. H. y Ruiz, A. L. T. G. 2015. In vitro antimicrobial and antiproliferative activity of *Amphipterygium adstringens*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015(4). <https://doi.org/10.1155/2015/175497>.
- Sandrini, G., Ji, X., Verspagen, J. M. H., Tann, R. P., Slot, P. C., Luimstra, V. M., Schuurmans, J. M., Matthijs, H. C. P. y Huisman, J. 2016. Rapid adaptation of harmful cyanobacteria to rising CO₂. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 113(33), 9315-9320. <https://doi.org/10.1073/pnas.1602435113>.
- Santonja, M., Le Rouzic, B. y Thiébaud, G. 2018. Seasonal dependence and functional implications of macrophyte–phytoplankton allelopathic interactions. Freshwater Biology, 63(9), 1161-1172. <https://doi.org/10.1111/fwb.13124>.
- Saper, G., Kallmann, D., Conzuelo, F., Zhao, F., Tóth, T. N., Liveanu, V., Meir, S., Szymanski, J., Aharoni, A., Schuhmann, W., Rothschild, A., Schuster, G. y Adir, N. 2016. Live cyanobacteria produce photocurrent and hydrogen using both the respiratory and photosynthetic systems. Nature communications, 9, 2168. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04613-x>.
- Schirrmeister, B. E., Gugger, M. y Donoghue, P. C. J. 2015. Cyanobacteria and the Great Oxidation Event: evidence from genes and fossils. Paleontology, 58(5), 769–785. <https://doi.org/10.1111/pala.12178>.

- Shi, Y., Shen, A., Tan, M., He, P. y Shao, L. 2020. The effect of plant extracts on growth and photosynthetic fluorescence characteristics of *Microcystis flos-aquae*. *Water Science and Technology*, 82(6), 1102–1110. <https://doi.org/10.2166/wst.2020.312>.
- Sinang, S. C., Daud, N., Kamaruddin, N. y Poh, K. B. 2019. Potential growth inhibition of freshwater algae by herbaceous plant extracts. *Acta Ecologica Sinica*, 39, 229–233. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2018.12.005>.
- Singh, S., Kant, C., Kumar, Y. R., Prasad, R. Y. y Abraham, G. 2019. Cyanobacterial exopolysaccharides: Composition, biosynthesis, and biotechnological applications. In: Mishra, A. K., Tiwari, D. N. y Rai, A. N. (eds.) *Cyanobacteria from basic science to applications*, 347-358. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814667-5.00017-9>.
- Švanys, A., Paskauskas, R. y Hilt, S. 2014. Effects of the allelopathically active macrophyte *Myriophyllum spicatum* on a natural phytoplankton community: a mesocosm study. *Hydrobiologia*, 737(1), 57–66. <https://doi.org/10.1007/s10750-013-1782-4>.
- Takamura Y., Yamada T., Kimoto, A., Kanehama, N., Tanaka, T., Nakadaira, S. y Yagi, O. 2004. Grow inhibition of *Microcystis* cyanobacteria by L-lysine and disappearance of natural *Microcystis* blooms with spraying. *Microbes and Environments* 19(1), 31-39. <https://doi.org/10.1264/jsme2.19.31>.
- Takeda, F., Nakano, K., Nishimura, O., Shimada, Y., Fukuro, S., Tanaka, H., Hayashi, N. y Inamori Y. 2011. Allelopathic potential of *Potamogeton pusillus* community against *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Water and Environment Technology*, 9(1), 21-28. <https://doi.org/10.2965/jwet.2011.21>.
- Tan, J. B. L., Lim, Y. Y. y Lee, S. M. 2013. Antioxidant and antibacterial activity of *Rhoeo spathacea* (Swartz) stearn leaves. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 2394-400. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1236-z>.
- Tan, J. B. L., Yap, W. J., Tan, S. Y., Lim, Y. Y. y Lee, S. M. 2014. Antioxidant content, antioxidant activity, and antibacterial activity of five plants from the *Commelinaceae* family. *Antioxidants*, 3, 758-769. <https://doi.org/10.3390/antiox3040758>.
- Tazart, Z., Douma, M., Tebaa, L. y Loudiki, M. 2018. Use of macrophytes allelopathy in the biocontrol of harmful *Microcystis aeruginosa* blooms. *Water Science & Technology Water Supply*, 19(1), 245–253. <https://doi.org/10.2166/ws.2018.072>.

- Tebaa, L., Douma, M., Tazart, Z., Manaut, N., Mouhri, K. y Loudiki, M. 2017. Algicidal effects of *Achillea ageratum* L. and *Origanum compactum* Benth. plant extracts on growth of *Microcystis aeruginosa*. *Applied Ecology and Environmental Research*, 15(4), 719-728. https://doi.org/10.15666/aeer/1504_719728.
- Tebaa, L., Douma, M., Tazart, Z., Manaut, N., Mouhri, K. y Loudiki, M. (2018). Assessment of the potentially algicidal effects of *Thymus satureioides* Coss. and *Artemisia herba alba* L. against *Microcystis aeruginosa*. *Applied Ecology and Environmental Research*, 16(1). https://doi.org/10.15666/aeer/1601_903912.
- Turner, T., Ruiz G., Gerstel, J. y Langland, J. 2021. Characterization of the antibacterial activity from ethanolic extracts of the botanical, *Larrea tridentata*. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1), 177. <https://doi.org/10.1186/s12906-021-03344-9>.
- Ugochukwu, S. C., Uche, A. y Ifeanyi, O. 2013. Preliminary phytochemical screening of different solvent extracts of stem bark and roots of *Dennetia tripetala* G. Baker. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 3(3), 10-13. https://www.researchgate.net/publication/305113922_Preliminary_phytochemical_screening_of_different_solvent_extract_of_stems_bark_and_roots_of_Dennetia_tripetala.
- Vázquez, V. P. T., Meza, G. R., Gutiérrez, M. F. A., Ruíz, V. V. M., Villalobos, M. J. J., Montes, M. J. A. y Fernández, T. A. A. J. 2018. Determination of LC50 and EC50 from endosulfan lactone and diazinon in earthworm (*Eisenia foetida*). *Agroproductividad*, 11(4), 105-111.
- Vega, A. E., Tapia, A. R., Reyes, R. C., Guzmán, G. S. L., Pérez, F. J. y Velasco, L. R. 2012. Actividad antibacteriana y antifúngica de *Justicia spicigera*. *Revista Latinoamericana de Química*, 40(2).
- Villaseñor, J. L. 2016. Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87, 559–902. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmb.2016.06.017>.
- Visser, P. M., Verspagen, J. M. H., Sandrini, G., Stal, L. J., Matthijs, H. C. P., Davis, T. W., Paerl, H. W. y Huisman, J. 2016. How rising CO₂ and global warming may stimulate harmful cyanobacterial blooms. *Harmful Algae*, 54, 145–159. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.12.006>.

- Wang, H. Q., Cheng, S. P., Zhang, S. H., He, F., Liang, W., Zhang, L. P., Hu, C. Y., Ge, F. J. y Wu, Z. B. 2010. Chemical composition in aqueous extracts of *Potamogeton malaianus* and *Potamogeton maackianus* and their allelopathic effects on *Microcystis aeruginosa*. Polish Journal of Environmental Studies, 19(1), 213-218. <http://www.pjoes.com/Issue-1-2010,3830>.
- Wang, H. Q., Liang, F., Qiao, N., Dong, J. X., Zhang, L. Y., Guo, Y. F. 2014. Chemical composition of volatile oil from two emergent plants and their algae inhibition activity. Polish Journal of Environmental Studies, 23(6), 2371-2374.
- Wang, H., Liang, F. y Zhang, L. 2015. Composition and anti-cyanobacterial activity of essential oils from six different submerged macrophytes. Polish Journal of Environmental Studies, 24(1), 333-338. <https://doi.org/10.15244/pjoes/26383>.
- Wang, H., Zhang, L. y Wang, Y. 2016b. Isolating and identifying organic acids from *Portulaca oleracea* and determining their anti-cyanobacterial activity. Polish Journal of Environmental Studies, 26(1), 441-445. <https://doi.org/10.15244/pjoes/64465>.
- Wang, L., Zi, J., Xu, R., Hilt, S., Hou, X. y Chang, X. 2017. Allelopathic effects of *Microcystis aeruginosa* on green algae and a diatom: Evidence from exudates addition and co-culturing. Harmful Algae, 61, 56-62. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2016.11.010>.
- Wang, X., Jiang, C., Szeto, Y., Li, H., Yam, K. I. y Wang, X. 2016a. Effects of *Dracontomelon duperreanum* defoliation extract on *Microcystis aeruginosa*: physiological and morphological aspects. Environmental Science and Pollution Research, 23(9), 8731-8740. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6119-1>.
- Wen, J., Sheng, H., Hao, C., Yunguo, L., Luhua, J., Quan, H. y Zhili, Y. 2018. Allelochemicals extracted from *Eleocharis dulcis* and their inhibitory effects on *Microcystis aeruginosa*. Journal of Chemical Engineering & Process Technology, 9(2), 1-6. <https://doi.org/10.4172/2157-7048.1000377>.
- Wu, J. T., Chiang, Y. R., Huang, W. Y., Jane, W. N. 2006. Cytotoxic effects of free fatty acids on phytoplankton algae and cyanobacteria. Aquatic Toxicology, 80(4), 338-345. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.09.011>.

- Wu, Y., Ge, H. y Zhou, Z. 2014. Effects of *Fructus ligustri lucidi* on the growth, cell integrity, and metabolic activity of the *Microcystis aeruginosa*. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(11), 8471-8479. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3997-y>.
- Xian, Q., Chen, H., Liu, H., Zou, H. y Yin, D. 2006. Isolation and identification of antialgal compounds from the leaves of *Vallisneria spiralis* L. by activity-guided fractionation. *Environmental Science and Pollution Research*, 13(4), 233–237. <https://doi.org/10.1065/espr2006.06.314>.
- Xiao, X., Huang, H., Ge, Z., Rounge, T. B., Shi, J., Xu, X., Li, R. y Chen, Y. 2014. A pair of chiral flavonolignans as novel anti-cyanobacterial allelochemicals derived from barley straw (*Hordeum vulgare*): characterization and comparison of their anti-cyanobacterial activities. *Environmental Microbiology*, 16(5), 1238–1251. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12226>
- Yakefu, Z., Huannixi, W., Ye, C., Zheng, T., Chen, S., Peng, X., Tian, Z., Wang, J., Yang, Y., Ma, Z. y Zuo, Z. 2018. Inhibitory effects of extracts from *Cinnamomum camphora* fallen leaves on algae. *Water Science & Technology*, 77(11), 2545-2554. <https://doi.org/10.2166/wst.2018.199>.
- Yan, D., Xu, H., Lan, J., Yang, M., Hou, W., Zhou, K., An, Z. 2020. Warming favors subtropical lake cyanobacterial biomass increasing. *Science of The Total Environment*, 726, 138606. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138606>.
- Yan, R., Ji, H., Wu, Y., Kerr, P.G., Fang, Y. y Yang, L. 2012. An investigation into the kinetics and mechanism of the removal of cyanobacteria by extract of *Ephedra equisetina* root. *PloS One*, 7(8), 1-8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042285>.
- Ye, L., Qian, J., Jin, S., Zuo, S., Meia, H. y Ma, S. 2014. Algicidal effects of four Chinese herb extracts on bloom-forming *Microcystis aeruginosa* and *Chlorella pyrenoidosa*. *Environmental Technology*, 35(9), 1150–1156. <https://doi.org/10.1080/09593330.2013.863979>.
- Yi, Y., Lei, Y., Yin, Y., Zhang, H., Wang, G. 2012. The antialgal activity of 40 medicinal plants against *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Applied Phycology*, 24(4), 847–856. <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9703-2>.

- Žak, A. y Kosakowska, A. 2016. Cyanobacterial and microalgal bioactive compounds – the role of secondary metabolites in allelopathic interactions. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 45(1), 131-143. <https://doi.org/10.1515/ohs-2016-0013>.
- Zhang, C., Ling, F., Lei, Y. Y., Yu, Z. H. y Xue, W. G. 2013a. Algicidal activity and potential mechanisms of ginkgolic acids isolated from *Ginkgo biloba* exocarp on *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Applied Phycology*, 26(1), 323–332. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0057-9>.
- Zhang, C., Yi, Y., Hao, K., Liu, G. y Wang, G. 2013b. Algicidal activity of *Salvia miltiorrhiza* Bung on *Microcystis aeruginosa*—Towards identification of algicidal substance and determination of inhibition mechanism. *Chemosphere*, 93(6), 997–1004. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.05.068>.
- Zhang, S., Guo, L., Cao, J. y Chang, J. 2015. Allelopathic activities of three emergent macrophytes on several monospecific cyanobacterial species and natural phytoplankton assemblages. *Polish Journal of Environmental Studies*, 24(1), 397-402. <https://doi.org/10.15244/pjoes/26972>.
- Zhang, S., Zhang, B., Dai, W. y Zhang, X. 2011a. Oxidative damage and antioxidant responses in *Microcystis aeruginosa* exposed to the allelochemical berberine isolated from golden thread. *Journal of Plant Physiology*, 168(7), 639-643. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.10.005>.
- Zhang, T. T., Wang, L. L., He, Z. X., Zhang, D. 2011b. Growth inhibition and biochemical changes of cyanobacteria induced by emergent macrophyte *Thalia dealbata* roots. *Biochemical Systematics and Ecology*, 39(2), 88–94. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2011.01.004>.
- Zhang, T. T., He, M., Wu, A. P., Nie, L. W. 2012. Inhibitory effects and mechanisms of *Hydrilla verticillata* (Linn.f.) Royle extracts on freshwater algae. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88(3), 477–481. <https://doi.org/10.1007/s00128-011-0500-z>.
- Zhang, T. T., Zheng, C. Y., He, M., Wu, A. P., Nie, L. W. 2009. Inhibition on algae of fatty acids and the structure-effect relationship. *China Environmental Science*, 29(3), 274-279. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20093105860>.

- Zhang, T. T., Zheng, C. Y., Hu, W., Xu, W. W. y Wang, H. F. 2010. The allelopathy and allelopathic mechanism of phenolic acids on toxic *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Applied Phycology*, 22(1), 71–77. <https://doi.org/10.1007/s10811-009-9429-6>.
- Zhao, W., Zheng, Z., Zhang, J., Roger S. F. y Luo, X. 2019. Allelopathically inhibitory effects of eucalyptus extracts on the growth of *Microcystis aeruginosa*. *Chemosphere*, 225, 424-433. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.070>.
- Zhu, J., Liu, B., Wang, J., Gao, Y. y Wu, Z. 2010. Study on the mechanism of allelopathic influence on cyanobacteria and chlorophytes by submerged macrophyte (*Myriophyllum spicatum*) and its secretion. *Aquatic Toxicology*, 98(2), 196–203. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.02.011>.
- Zhu, X., Dao, G., Tao, Y, Zhan, X. y Hu, H. 2021. A review on control of harmful algal blooms by plant-derived allelochemicals. *Journal of Hazardous Materials*, 401, 123403. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123403>.
- Zong, J. M., Wang, X. X., Zhong, Q. Y., Xiao, X. M., Ma, J. y Zhao, B. 2019. Increasing outbreak of cyanobacterial blooms in large lakes and reservoirs under pressures from climate change and anthropogenic interferences in the middle–lower Yangtze river basin. *Remote Sensing*, 11(15), 1754. <https://doi.org/10.3390/rs11151754>.

ANEXO 1

Tabla 23. Densidades celulares de *M. aeruginosa* durante los 12 días de exposición a los extractos metanólicos.

Especie	Con. (mg/L)	Densidad celular ($\times 10^6$ células/mL)						
		Día 0	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8	Día 10	Día 12
<i>A. mexicana</i>	0	0.950 \pm 0.14	1.500 \pm 0.14	2.555 \pm 0.39	4.076 \pm 0.40	5.607 \pm 0.38	6.641 \pm 0.46	8.412 \pm 0.47
	10	1.029 \pm 0.20	1.644 \pm 0.22	1.599 \pm 0.26	3.079 \pm 0.45	3.660 \pm 0.32	6.101 \pm 0.43	6.965 \pm 0.44
	25	1.041 \pm 0.16	1.114 \pm 0.19	1.419 \pm 0.30	2.771 \pm 0.49	3.476 \pm 0.37	3.535 \pm 0.40	3.943 \pm 0.33
	50	1.070 \pm 0.26	1.343 \pm 0.23	1.882 \pm 0.43	1.843 \pm 0.30	1.620 \pm 0.25	1.442 \pm 0.32	1.214 \pm 0.37
	75	1.019 \pm 0.36	1.223 \pm 0.34	1.429 \pm 0.31	1.620 \pm 0.40	1.487 \pm 0.40	1.201 \pm 0.33	1.066 \pm 0.27
<i>B. spectabilis</i>	0	0.981 \pm 0.21	1.468 \pm 0.26	2.473 \pm 0.26	4.350 \pm 0.34	5.693 \pm 0.39	7.514 \pm 0.54	8.890 \pm 0.46
	10	1.020 \pm 0.17	1.415 \pm 0.18	0.905 \pm 0.23	3.379 \pm 0.40	3.981 \pm 0.30	4.503 \pm 0.43	5.367 \pm 0.49
	25	1.183 \pm 0.35	1.724 \pm 0.43	1.629 \pm 0.61	2.376 \pm 0.38	4.071 \pm 0.55	4.573 \pm 0.97	4.071 \pm 1.18
	50	1.145 \pm 0.21	1.527 \pm 0.28	1.520 \pm 0.60	2.100 \pm 0.33	2.444 \pm 0.37	2.212 \pm 0.78	1.854 \pm 0.33
	75	1.035 \pm 0.23	1.484 \pm 0.41	1.607 \pm 0.37	1.661 \pm 0.38	0.927 \pm 0.34	1.053 \pm 0.38	1.097 \pm 0.40
<i>L. tridentata</i>	0	1.030 \pm 0.12	1.625 \pm 0.17	2.722 \pm 0.20	3.968 \pm 0.25	5.619 \pm 0.32	7.410 \pm 0.27	9.086 \pm 0.35
	10	1.082 \pm 0.26	1.352 \pm 0.34	2.170 \pm 0.28	3.035 \pm 0.59	3.093 \pm 0.38	5.210 \pm 0.62	5.411 \pm 0.54
	25	1.028 \pm 0.16	1.197 \pm 0.22	1.671 \pm 0.26	1.605 \pm 0.26	2.482 \pm 0.29	2.802 \pm 0.31	2.656 \pm 0.36
	50	1.091 \pm 0.22	1.570 \pm 0.19	1.648 \pm 0.20	1.811 \pm 0.46	1.761 \pm 0.48	1.743 \pm 0.48	1.509 \pm 0.33
	75	1.027 \pm 0.16	1.090 \pm 0.17	1.236 \pm 0.26	1.519 \pm 0.48	1.062 \pm 0.46	0.925 \pm 0.40	0.563 \pm 0.33
<i>T. zebrina</i>	0	1.116 \pm 0.20	1.700 \pm 0.14	2.755 \pm 0.39	4.243 \pm 0.44	5.774 \pm 0.41	6.808 \pm 0.40	8.579 \pm 0.51
	10	1.196 \pm 0.21	2.144 \pm 0.30	2.732 \pm 0.53	3.812 \pm 0.55	4.627 \pm 0.41	7.034 \pm 0.45	7.898 \pm 0.41
	25	1.012 \pm 0.32	2.279 \pm 0.48	3.106 \pm 0.43	3.696 \pm 0.63	5.291 \pm 0.63	6.574 \pm 0.73	7.699 \pm 0.68
	50	1.031 \pm 0.17	1.709 \pm 0.26	2.570 \pm 0.24	3.881 \pm 0.23	4.935 \pm 0.37	5.536 \pm 0.31	7.064 \pm 0.63
	75	0.950 \pm 0.15	2.003 \pm 0.32	2.535 \pm 0.53	3.874 \pm 0.49	4.681 \pm 0.52	5.964 \pm 0.50	6.783 \pm 0.42
<i>T. spathacea</i>	0	0.965 \pm 0.14	1.515 \pm 0.14	2.570 \pm 0.39	4.091 \pm 0.40	5.622 \pm 0.38	6.656 \pm 0.46	8.427 \pm 0.47
	10	1.137 \pm 0.20	1.944 \pm 0.30	2.732 \pm 0.53	4.179 \pm 0.63	5.427 \pm 0.51	6.334 \pm 0.45	8.132 \pm 0.42
	25	1.097 \pm 0.32	1.679 \pm 0.48	2.573 \pm 0.43	3.229 \pm 0.83	4.691 \pm 0.63	5.974 \pm 0.73	7.166 \pm 0.59
	50	1.001 \pm 0.17	1.409 \pm 0.26	2.270 \pm 0.24	3.414 \pm 0.48	4.535 \pm 0.51	5.236 \pm 0.31	6.564 \pm 0.63
	75	0.950 \pm 0.15	1.536 \pm 0.42	2.401 \pm 0.75	3.774 \pm 0.72	4.981 \pm 0.85	5.264 \pm 0.50	6.283 \pm 0.42

Tabla 23. Continuación...

Especie	Con. (mg/L)	Densidad celular (x10 ⁶ células/mL)						
		Día 0	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8	Día 10	Día 12
<i>A. adstringens</i>	0	0.977±0.13	1.676±0.23	2.393±0.31	3.508±0.29	4.777±0.34	6.719±0.31	8.384±0.32
	10	1.031±0.17	1.709±0.26	2.170±0.24	2.481±0.23	4.268±0.36	4.003±0.36	4.664±0.63
	25	0.963±0.12	1.061±0.20	1.996±0.40	2.564±0.38	3.711±0.63	3.230±0.47	3.691±0.45
	50	1.040±0.15	1.418±0.31	1.766±0.33	1.973±0.31	2.044±0.39	2.099±0.44	1.548±0.46
	75	1.088±0.23	1.180±0.32	1.139±0.29	1.602±0.36	1.277±0.38	0.912±0.32	0.807±0.40
<i>A. ludoviciana</i>	0	1.172±0.22	2.019±0.25	2.531±0.32	3.751±0.41	5.413±0.50	7.519±0.33	9.168±0.45
	10	1.012±0.32	2.479±0.48	2.906±0.43	3.596±0.63	4.224±1.05	6.307±1.21	7.666±1.04
	25	1.044±0.16	1.918±0.37	2.536±0.35	3.093±0.36	4.183±0.77	3.777±0.70	5.941±0.93
	50	1.074±0.20	1.716±0.24	2.301±0.27	2.135±0.27	3.050±0.27	3.073±0.47	3.509±0.45
	75	1.113±0.20	1.580±0.28	2.203±0.39	3.390±0.67	3.035±0.69	3.369±0.54	3.109±1.15
<i>J. spicigera</i>	0	1.066±0.17	1.990±0.34	2.852±0.42	4.598±0.32	6.125±0.54	7.389±0.33	9.288±0.42
	10	1.110±0.20	1.848±0.30	2.521±0.34	3.296±0.48	3.390±0.49	5.102±0.44	6.304±0.86
	25	1.089±0.23	2.079±0.38	2.346±0.55	2.748±0.77	5.043±0.59	5.535±0.32	7.012±0.67
	50	1.040±0.20	1.336±0.36	2.157±0.48	2.797±0.51	3.562±0.33	3.316±0.48	4.655±0.44
	75	0.950±0.15	1.203±0.32	1.268±0.32	1.574±0.49	2.114±0.47	3.364±0.50	3.916±0.36

Tabla 24. Porcentajes de inhibición de crecimiento de *M. aeruginosa* durante los 12 días de exposición a los extractos metanólicos.

Especie	Con. (mg/L)	Tasa de inhibición % (promedio±DE)					
		Día2	Día 4	Día 6	Día 8	Día 10	Día 12
<i>A. mexicana</i>	10	-9.58±14.63	37.41±10.28	24.46±11.04	34.72±5.68	8.14±6.48	17.20±5.18
	25	25.75±12.74	44.45±11.88	32.02±11.95	38.01±6.58	46.77±6.07	53.13±3.94
	50	10.49±15.35	26.33±16.91	54.78±7.25	71.11±4.47	78.29±4.89	85.57±4.37
	75	18.48±22.38	44.06±11.94	60.26±9.72	73.48±7.20	81.92±5.01	87.33±3.16
<i>B. spectabilis</i>	10	3.63±12.44	63.40±9.22	22.32±9.16	30.07±5.22	40.07±5.75	39.63±5.50
	25	-17.39±29.22	34.12±24.75	45.38±8.64	28.49±9.61	39.13±12.97	54.20±13.30
	50	-4.02±19.06	38.55±24.20	51.71±7.50	57.06±6.50	70.56±10.45	79.14±3.70
	75	-1.07±28.01	35.02±14.94	61.81±8.77	83.72±5.91	85.99±5.07	87.66±4.52
<i>L. tridentata</i>	10	16.82±21.13	20.28±10.17	23.51±14.92	44.96±6.75	29.69±8.41	40.45±5.89
	25	26.35±13.39	38.61±9.40	59.55±6.62	55.83±5.11	62.19±4.20	70.77±3.94
	50	3.40±11.82	39.46±7.23	54.36±11.64	68.66±8.45	76.48±6.49	83.39±3.64
	75	32.94±10.26	54.59±9.42	61.72±12.19	81.10±8.24	87.52±5.43	93.80±3.60
<i>T. zebrina</i>	10	-26.09±17.47	0.82±19.37	10.14±13.07	19.87±7.06	-3.32±6.56	7.93±4.82
	25	-34.03±28.28	-12.74±15.73	12.88±14.91	8.37±10.88	3.44±10.71	10.25±7.92
	50	-0.51±15.17	6.72±8.66	8.52±5.33	14.53±6.35	18.68±4.60	17.66±7.29
	75	-17.80±19.06	8.00±19.09	8.69±11.48	18.93±8.99	12.40±7.27	20.94±4.85
<i>T. spathacea</i>	10	-28.29±19.60	-6.33±20.76	-2.15±15.49	3.47±9.03	4.84±6.71	3.50±5.01
	25	-10.80±31.73	-0.12±16.56	21.06±20.34	16.57±11.17	10.26±10.95	14.96±6.95
	50	7.02±17.02	11.66±9.28	16.54±11.66	19.34±9.11	21.33±4.71	22.11±7.42
	75	-1.39±27.68	6.55±28.99	7.75±17.56	11.41±15.10	20.92±7.44	25.45±4.94
<i>A. adstringens</i>	10	-1.97±15.39	9.32±9.97	29.28±6.45	10.65±7.57	40.42±5.38	44.37±7.46
	25	36.69±11.85	16.59±16.65	26.92±10.84	22.31±13.17	51.92±7.04	55.98±5.42
	50	15.39±18.34	26.20±13.75	43.76±8.95	57.21±8.23	68.76±6.55	81.54±5.49
	75	29.59±18.85	52.40±12.10	54.34±10.20	73.27±7.91	86.43±4.69	90.37±4.73

Tabla 24. Continuación...

Especie	Con. (mg/L)	Tasa de inhibición % (promedio±DE)					
		Día2	Día 4	Día 6	Día 8	Día 10	Día 12
<i>A. ludoviciana</i>	10	-22.78±23.82	-14.82±17.12	4.13±16.86	21.97±19.36	16.12±16.08	16.38±11.34
	25	5.00±18.43	-0.20±13.80	17.54±9.63	22.72±14.27	49.77±9.30	35.20±10.19
	50	15.01±11.96	9.09±10.55	43.08±7.30	43.65±4.94	59.13±6.23	61.73±4.88
	75	21.74±13.64	12.96±15.59	9.62±17.80	43.93±12.84	55.19±7.22	66.09±12.51
<i>J. spicigera</i>	10	7.14±15.31	11.61±11.96	28.32±10.52	44.65±7.99	30.95±5.91	32.13±9.22
	25	-4.47±19.34	17.74±19.25	40.23±16.81	17.67±9.65	25.09±4.35	24.50±7.23
	50	32.86±18.10	24.37±16.88	39.17±11.00	41.84±5.43	55.12±6.54	49.88±4.78
	75	39.55±16.29	55.54±11.36	65.77±10.59	65.49±7.61	54.47±6.70	57.84±3.88

Tabla 25. Valores de crecimiento celular de *M. aeruginosa* expresados como DO después de los 12 días de exposición a los extractos metanólicos.

Especie	Con. (mg/L)	DO ₆₈₀ (promedio±DE)			
		Día 0	Día 4	Día 8	Día 12
<i>A. mexicana</i>	10	0.084±0.01	0.113±0.04	0.343±0.09	0.784±0.06
	25	0.042±0.01	0.069±0.01	0.178±0.03	0.487±0.09
	50	0.065±0.01	0.076±0.02	0.140±0.02	0.222±0.04
	75	0.087±0.01	0.088±0.01	0.099±0.03	0.092±0.03
<i>B. spectabilis</i>	10	0.082±0.01	0.192±0.03	0.422±0.08	0.917±0.07
	25	0.037±0.01	0.127±0.02	0.378±0.02	0.564±0.06
	50	0.052±0.01	0.097±0.01	0.231±0.03	0.388±0.06
	75	0.064±0.01	0.058±0.01	0.076±0.02	0.067±0.03
<i>L. tridentata</i>	10	0.038±0.02	0.290±0.04	0.381±0.05	0.610±0.07
	25	0.031±0.01	0.150±0.04	0.412±0.10	0.536±0.08
	50	0.066±0.02	0.098±0.04	0.072±0.03	0.088±0.03
	75	0.089±0.02	0.082±0.02	0.107±0.03	0.094±0.05
<i>A. adstringens</i>	10	0.050±0.02	0.122±0.02	0.317±0.03	0.475±0.03
	25	0.041±0.02	0.098±0.03	0.171±0.02	0.359±0.02
	50	0.082±0.01	0.056±0.01	0.060±0.01	0.050±0.02
	75	0.060±0.02	0.034±0.01	0.033±0.01	0.034±0.01
<i>A. ludoviciana</i>	10	0.056±0.00	0.175±0.03	0.462±0.06	0.840±0.08
	25	0.030±0.01	0.144±0.04	0.218±0.03	0.493±0.03
	50	0.035±0.01	0.119±0.02	0.252±0.02	0.360±0.06
	75	0.028±0.00	0.046±0.01	0.084±0.02	0.147±0.04
<i>J. spicigera</i>	10	0.048±0.00	0.150±0.03	0.396±0.05	0.720±0.07
	25	0.026±0.01	0.124±0.03	0.329±0.03	0.479±0.03
	50	0.029±0.01	0.101±0.02	0.159±0.02	0.365±0.05
	75	0.024±0.00	0.039±0.01	0.073±0.02	0.183±0.04

Tabla 26. Contenido de Chl-a en *M. aeruginosa* durante los 12 días de exposición a los extractos metanólicos.

Especie	Con. (mg/L)	Chl-a mg/L (promedio±DE)						
		Día 0	Día2	Día 4	Día 6	Día 8	Día 10	Día 12
<i>A. mexicana</i>	10	0.325±0.04	0.482±0.11	0.748±0.15	1.228±0.11	1.492±0.11	2.011±0.12	2.522±0.11
	25	0.328±0.03	0.516±0.05	0.735±0.08	0.955±0.06	1.188±0.11	1.302±0.07	1.443±0.06
	50	0.315±0.04	0.412±0.06	0.607±0.08	0.764±0.11	0.923±0.08	0.945±0.07	1.018±0.11
	75	0.332±0.04	0.445±0.05	0.560±0.05	0.692±0.06	0.794±0.05	0.852±0.06	0.871±0.10
<i>B. spectabilis</i>	10	0.330±0.04	0.415±0.07	0.643±0.07	0.926±0.13	1.563±0.09	1.661±0.10	2.292±0.08
	25	0.352±0.05	0.442±0.07	0.501±0.08	0.682±0.09	0.924±0.14	1.342±0.09	1.637±0.11
	50	0.330±0.04	0.418±0.07	0.464±0.11	0.568±0.13	0.743±0.08	0.699±0.09	0.706±0.08
	75	0.348±0.06	0.379±0.08	0.426±0.09	0.533±0.06	0.516±0.06	0.489±0.06	0.449±0.08
<i>L. tridentata</i>	10	0.327±0.04	0.548±0.06	0.908±0.05	1.188±0.09	1.508±0.06	1.881±0.08	2.120±0.08
	25	0.324±0.05	0.452±0.05	0.558±0.12	0.712±0.13	0.865±0.14	1.079±0.12	1.203±0.11
	50	0.306±0.06	0.349±0.06	0.383±0.06	0.449±0.06	0.510±0.07	0.620±0.07	0.544±0.11
	75	0.329±0.04	0.352±0.04	0.388±0.03	0.367±0.03	0.322±0.05	0.293±0.05	0.257±0.04
<i>A. adstringens</i>	10	0.317±0.05	0.401±0.11	0.423±0.11	0.525±0.16	0.705±0.16	1.121±0.17	1.305±0.12
	25	0.366±0.05	0.324±0.07	0.436±0.04	0.549±0.17	0.600±0.17	0.816±0.16	0.994±0.16
	50	0.351±0.04	0.365±0.04	0.402±0.04	0.336±0.04	0.272±0.05	0.217±0.05	0.173±0.05
	75	0.351±0.06	0.298±0.07	0.226±0.04	0.165±0.06	0.144±0.05	0.122±0.03	0.093±0.03
<i>A. ludoviciana</i>	10	0.357±0.05	0.545±0.07	0.732±0.11	1.152±0.06	1.504±0.12	2.072±0.09	2.684±0.17
	25	0.312±0.04	0.508±0.05	0.751±0.13	0.976±0.12	1.148±0.09	1.440±0.12	1.857±0.14
	50	0.364±0.05	0.533±0.08	0.650±0.10	0.764±0.09	1.031±0.09	1.186±0.11	1.553±0.09
	75	0.325±0.06	0.627±0.10	0.842±0.09	0.858±0.09	0.961±0.11	1.122±0.10	1.237±0.10
<i>J. spicigera</i>	10	0.349±0.08	0.737±0.08	1.011±0.11	1.407±0.10	1.742±0.11	1.802±0.13	2.293±0.17
	25	0.317±0.06	0.433±0.12	0.800±0.07	0.969±0.13	1.389±0.15	1.774±0.19	1.923±0.11
	50	0.357±0.07	0.531±0.10	0.825±0.10	0.857±0.12	1.098±0.16	1.539±0.09	1.612±0.16
	75	0.380±0.11	0.545±0.08	0.654±0.13	0.824±0.11	0.958±0.13	1.012±0.19	1.395±0.15

Tabla 27. Contenido de MDA en *M. aeruginosa* durante los 12 días de exposición a los extractos metanólicos.

Especie	Con. (mg/L)	Contenido de MDA en $\mu\text{mol/g}$ de proteína (promedio \pm DE)						
		Día 0	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8	Día 10	Día 12
<i>A. mexicana</i>	10	0.94 \pm 0.11	1.07 \pm 0.22	1.14 \pm 0.24	1.29 \pm 0.27	1.17 \pm 0.23	1.08 \pm 0.21	1.16 \pm 0.27
	25	0.90 \pm 0.13	1.26 \pm 0.26	1.59 \pm 0.21	1.62 \pm 0.22	1.91 \pm 0.26	1.54 \pm 0.23	1.36 \pm 0.25
	50	0.95 \pm 0.09	1.63 \pm 0.22	1.95 \pm 0.24	2.10 \pm 0.27	2.32 \pm 0.19	2.95 \pm 0.20	3.24 \pm 0.27
	75	0.89 \pm 0.16	1.85 \pm 0.26	2.40 \pm 0.25	2.89 \pm 0.24	3.54 \pm 0.26	4.52 \pm 0.23	5.29 \pm 0.23
<i>B. spectabilis</i>	10	0.90 \pm 0.17	1.41 \pm 0.43	1.39 \pm 0.34	2.05 \pm 0.42	1.26 \pm 0.39	1.26 \pm 0.42	1.62 \pm 0.42
	25	0.90 \pm 0.15	1.26 \pm 0.26	2.32 \pm 0.39	2.35 \pm 0.39	2.61 \pm 0.46	2.24 \pm 0.33	2.30 \pm 0.32
	50	0.96 \pm 0.17	1.50 \pm 0.21	2.13 \pm 0.27	2.66 \pm 0.28	2.89 \pm 0.28	2.87 \pm 0.43	3.48 \pm 0.39
	75	0.89 \pm 0.16	1.62 \pm 0.26	2.99 \pm 0.35	3.41 \pm 0.38	4.22 \pm 0.38	3.77 \pm 0.35	3.93 \pm 0.36
<i>L. tridentata</i>	10	0.95 \pm 0.17	1.63 \pm 0.23	1.53 \pm 0.23	1.82 \pm 0.37	2.22 \pm 0.26	1.74 \pm 0.43	2.02 \pm 0.27
	25	0.89 \pm 0.16	1.42 \pm 0.19	2.49 \pm 0.34	3.11 \pm 0.32	4.42 \pm 0.28	4.76 \pm 0.32	4.42 \pm 0.28
	50	0.89 \pm 0.14	1.80 \pm 0.26	3.10 \pm 0.35	5.11 \pm 0.38	5.25 \pm 0.21	5.44 \pm 0.33	5.82 \pm 0.24
	75	0.89 \pm 0.16	1.98 \pm 0.22	3.46 \pm 0.33	4.57 \pm 0.36	5.39 \pm 0.23	6.08 \pm 0.36	6.51 \pm 0.28
<i>A. adstringens</i>	10	0.95 \pm 0.17	1.31 \pm 0.26	1.50 \pm 0.24	1.37 \pm 0.37	1.83 \pm 0.26	2.40 \pm 0.43	2.60 \pm 0.27
	25	0.89 \pm 0.16	1.43 \pm 0.24	1.83 \pm 0.25	2.48 \pm 0.27	3.33 \pm 0.24	3.13 \pm 0.40	3.28 \pm 0.27
	50	0.89 \pm 0.08	1.64 \pm 0.26	1.93 \pm 0.25	2.22 \pm 0.22	2.95 \pm 0.26	3.94 \pm 0.33	4.21 \pm 0.28
	75	0.93 \pm 0.17	1.83 \pm 0.23	2.31 \pm 0.26	3.76 \pm 0.26	3.63 \pm 0.28	5.04 \pm 0.31	6.09 \pm 0.29
<i>A. ludoviciana</i>	10	0.90 \pm 0.12	1.17 \pm 0.21	1.24 \pm 0.24	1.49 \pm 0.28	1.79 \pm 0.25	1.59 \pm 0.28	1.89 \pm 0.28
	25	0.96 \pm 0.17	1.16 \pm 0.20	1.25 \pm 0.25	1.63 \pm 0.22	1.83 \pm 0.28	1.63 \pm 0.28	1.73 \pm 0.28
	50	0.93 \pm 0.09	1.41 \pm 0.21	1.76 \pm 0.26	2.43 \pm 0.24	2.43 \pm 0.26	2.70 \pm 0.26	2.59 \pm 0.23
	75	0.96 \pm 0.16	1.50 \pm 0.19	1.91 \pm 0.26	2.73 \pm 0.26	2.68 \pm 0.24	3.32 \pm 0.60	3.09 \pm 0.23
<i>J. spicigera</i>	10	0.90 \pm 0.17	1.37 \pm 0.26	1.64 \pm 0.34	2.11 \pm 0.42	1.70 \pm 0.36	1.66 \pm 0.34	1.57 \pm 0.37
	25	0.90 \pm 0.15	1.47 \pm 0.22	1.73 \pm 0.24	2.12 \pm 0.28	2.09 \pm 0.28	2.78 \pm 0.48	2.36 \pm 0.33
	50	0.96 \pm 0.17	1.50 \pm 0.21	2.02 \pm 0.26	2.53 \pm 0.23	2.70 \pm 0.28	3.19 \pm 0.60	3.86 \pm 0.39
	75	0.89 \pm 0.16	1.73 \pm 0.26	2.46 \pm 0.40	4.00 \pm 0.38	4.95 \pm 0.32	4.15 \pm 0.33	4.82 \pm 0.28

Tabla 28. Contenido de Chl-a en *A. cylindrica* durante los 8 días de exposición a los extractos metanólicos.

Especie	Con. (mg/L)	Chl-a mg/L (promedio±DE)				
		Día 0	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8
<i>A. mexicana</i>	50	0.307±0.12	0.525±0.11	0.763±0.07	0.854±0.14	1.267±0.10
	75	0.374±0.10	0.443±0.08	0.674±0.15	0.607±0.10	0.677±0.16
	100	0.320±0.08	0.385±0.05	0.356±0.05	0.316±0.07	0.260±0.06
	125	0.369±0.11	0.392±0.11	0.320±0.11	0.202±0.10	0.098±0.04
<i>B. spectabilis</i>	50	0.356±0.12	0.546±0.09	0.901±0.15	1.192±0.14	1.601±0.12
	75	0.237±0.06	0.495±0.09	0.643±0.10	1.028±0.07	1.294±0.13
	100	0.307±0.06	0.439±0.06	0.582±0.10	0.871±0.11	0.802±0.09
	125	0.298±0.11	0.403±0.08	0.628±0.07	0.695±0.09	0.656±0.10
<i>L. tridentata</i>	50	0.315±0.09	0.571±0.11	0.535±0.09	0.840±0.08	1.360±0.14
	75	0.232±0.08	0.591±0.09	0.707±0.11	0.879±0.11	0.833±0.10
	100	0.356±0.06	0.425±0.12	0.507±0.16	0.463±0.14	0.438±0.14
	125	0.332±0.08	0.404±0.10	0.358±0.08	0.297±0.08	0.181±0.06
<i>A. adstringens</i>	50	0.334±0.10	0.623±0.11	0.858±0.11	0.953±0.13	1.357±0.10
	75	0.311±0.07	0.520±0.08	0.654±0.11	0.880±0.12	0.755±0.11
	100	0.402±0.10	0.548±0.08	0.521±0.08	0.316±0.11	0.218±0.05
	125	0.318±0.07	0.458±0.07	0.337±0.08	0.222±0.10	0.139±0.06
<i>A. ludoviciana</i>	50	0.372±0.08	0.613±0.10	0.857±0.12	0.920±0.17	1.552±0.13
	75	0.327±0.06	0.546±0.11	0.517±0.10	1.043±0.07	1.233±0.11
	100	0.372±0.06	0.496±0.07	0.657±0.11	0.623±0.11	0.946±0.13
	125	0.357±0.06	0.440±0.08	0.562±0.11	0.652±0.11	0.573±0.08
<i>J. spicigera</i>	50	0.368±0.08	0.574±0.11	0.859±0.11	1.141±0.12	1.571±0.13
	75	0.391±0.05	0.540±0.11	0.686±0.13	0.646±0.13	1.351±0.13
	100	0.344±0.05	0.439±0.07	0.716±0.11	0.769±0.13	1.126±0.11
	125	0.385±0.06	0.517±0.11	0.672±0.11	0.763±0.15	0.712±0.13

Tabla 29. Porcentajes de inhibición de crecimiento de *A. cylindrica* durante los 8 días de exposición a los extractos metanólicos.

Especie	Con. (mg/L)	Tasa de inhibición % (promedio±DE)			
		Día 2	Día 4	Día 6	Día 8
<i>A. mexicana</i>	50	24.40±16.07	22.60±7.56	35.02±10.54	30.73±5.45
	75	36.17±11.67	31.56±15.68	53.79±7.96	63.02±8.82
	100	44.48±7.61	63.87±4.67	75.95±5.17	85.79±3.07
	125	43.52±15.56	67.52±11.49	84.60±7.75	94.64±2.22
<i>B. spectabilis</i>	50	21.28±12.39	8.59±14.92	9.26±10.54	12.48±6.68
	75	28.72±12.35	34.74±9.81	21.77±5.59	29.26±7.05
	100	36.70±8.67	40.97±9.79	33.67±8.74	56.19±4.88
	125	41.88±10.96	36.23±6.82	47.12±6.62	64.13±5.62
<i>L. tridentata</i>	50	17.68±16.18	45.67±9.56	36.03±6.18	25.69±7.77
	75	14.89±13.13	28.28±11.08	33.09±8.13	54.49±5.70
	100	38.76±17.00	48.55±16.55	64.76±10.91	76.06±7.80
	125	41.83±14.23	63.67±8.32	77.39±6.18	90.11±3.42
<i>A. adstringens</i>	50	10.28±15.96	12.96±11.08	27.48±9.90	25.83±5.39
	75	25.02±12.11	33.63±10.91	33.01±8.96	58.72±5.93
	100	21.04±11.65	47.09±8.07	75.97±8.41	88.09±2.63
	125	34.01±10.02	65.76±8.28	83.10±7.43	92.40±3.24
<i>A. ludoviciana</i>	50	11.67±13.89	12.99±12.37	29.94±12.62	15.19±7.17
	75	21.33±15.66	47.53±10.55	20.60±5.45	32.59±5.80
	100	28.58±10.30	33.32±11.60	52.60±8.25	48.28±7.06
	125	36.55±12.03	42.96±10.93	50.39±8.09	68.66±4.30
<i>J. spicigera</i>	50	17.34±15.56	12.86±10.86	13.12±9.42	14.14±7.15
	75	22.19±15.83	30.35±12.71	50.85±9.72	26.16±6.92
	100	36.70±10.52	27.30±11.62	41.44±10.06	38.48±6.05
	125	25.46±16.44	31.77±11.14	41.92±11.07	61.09±7.04

Tabla 30. Valores de crecimiento celular de *A. cylindrica* expresados como DO después de los 8 días de exposición a los extractos metanólicos.

Especie	Con. (mg/L)	DO ₇₅₀ (promedio±DE)				
		Día 0	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8
<i>A. mexicana</i>	50	0.022±0.01	0.112±0.04	0.210±0.06	0.293±0.07	0.429±0.04
	75	0.026±0.01	0.066±0.01	0.084±0.02	0.132±0.04	0.260±0.04
	100	0.042±0.01	0.074±0.01	0.086±0.01	0.073±0.01	0.063±0.01
	125	0.040±0.01	0.054±0.01	0.055±0.01	0.060±0.01	0.046±0.01
<i>B. spectabilis</i>	50	0.054±0.01	0.090±0.01	0.258±0.03	0.398±0.03	0.391±0.04
	75	0.039±0.01	0.074±0.02	0.156±0.03	0.180±0.03	0.275±0.04
	100	0.047±0.02	0.100±0.01	0.107±0.02	0.134±0.03	0.195±0.02
	125	0.057±0.02	0.105±0.04	0.127±0.03	0.182±0.03	0.174±0.01
<i>L. tridentata</i>	50	0.054±0.01	0.134±0.04	0.178±0.02	0.275±0.03	0.357±0.05
	75	0.036±0.02	0.111±0.02	0.166±0.04	0.224±0.03	0.283±0.06
	100	0.048±0.01	0.102±0.02	0.114±0.02	0.131±0.02	0.148±0.02
	125	0.039±0.02	0.062±0.01	0.065±0.01	0.074±0.01	0.046±0.03
<i>A. adstringens</i>	50	0.049±0.01	0.090±0.01	0.193±0.03	0.278±0.03	0.357±0.04
	75	0.036±0.01	0.106±0.02	0.147±0.02	0.182±0.02	0.246±0.04
	100	0.053±0.01	0.074±0.02	0.070±0.02	0.066±0.01	0.048±0.00
	125	0.039±0.01	0.053±0.01	0.049±0.01	0.043±0.01	0.040±0.01
<i>A. ludoviciana</i>	50	0.043±0.01	0.125±0.01	0.255±0.01	0.323±0.02	0.425±0.04
	75	0.042±0.01	0.094±0.02	0.133±0.02	0.259±0.03	0.326±0.04
	100	0.043±0.01	0.095±0.03	0.152±0.03	0.209±0.03	0.255±0.03
	125	0.053±0.01	0.063±0.02	0.081±0.01	0.118±0.01	0.165±0.02
<i>J. spicigera</i>	50	0.044±0.02	0.095±0.02	0.242±0.02	0.306±0.03	0.457±0.03
	75	0.050±0.02	0.068±0.02	0.135±0.03	0.227±0.03	0.346±0.03
	100	0.054±0.01	0.053±0.01	0.085±0.01	0.184±0.02	0.225±0.02
	125	0.045±0.02	0.050±0.02	0.104±0.02	0.131±0.02	0.146±0.02

Tabla 31. Contenido de MDA en *A. cylindrica* durante los 12 días de exposición a los extractos metanólicos.

Especie	Con. (mg/L)	DO ₇₅₀ (promedio±DE)				
		Día 0	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8
<i>A. mexicana</i>	50	0.86±0.18	1.35±0.12	1.67±0.15	1.56±0.12	1.50±0.12
	75	1.02±0.22	1.35±0.20	1.90±0.13	1.94±0.14	2.40±0.19
	100	0.89±0.18	1.69±0.14	2.24±0.21	3.19±0.14	3.06±0.17
	125	1.00±0.25	2.43±0.18	3.34±0.23	3.93±0.12	4.33±0.17
<i>B. spectabilis</i>	50	0.88±0.26	1.00±0.25	1.21±0.16	1.05±0.13	1.30±0.18
	75	1.04±0.23	1.17±0.17	1.39±0.15	1.84±0.16	2.13±0.24
	100	0.90±0.20	1.58±0.23	2.94±0.25	2.87±0.25	3.18±0.24
	125	0.98±0.18	1.82±0.28	2.81±0.44	4.21±0.36	4.98±0.18
<i>L. tridentata</i>	50	0.79±0.18	0.98±0.14	1.04±0.13	1.48±0.16	1.57±0.17
	75	0.98±0.18	1.13±0.20	1.73±0.20	2.37±0.23	2.29±0.23
	100	0.80±0.15	1.46±0.24	3.55±0.23	3.66±0.28	3.52±0.27
	125	0.97±0.11	2.68±0.22	3.85±0.21	3.77±0.29	4.59±0.12
<i>A. adstringens</i>	50	1.05±0.25	1.22±0.24	1.68±0.26	1.51±0.23	1.58±0.28
	75	0.88±0.15	1.82±0.15	3.66±0.19	3.73±0.18	3.95±0.23
	100	0.87±0.12	1.67±0.16	3.18±0.30	3.79±0.17	4.13±0.21
	125	0.94±0.12	2.23±0.32	2.53±0.34	4.01±0.33	4.19±0.25
<i>A. ludoviciana</i>	50	0.80±0.13	1.15±0.25	1.78±0.26	1.48±0.29	1.83±0.26
	75	1.04±0.25	1.22±0.17	2.09±0.18	3.43±0.29	2.59±0.28
	100	0.83±0.12	1.49±0.14	3.73±0.18	3.22±0.29	3.26±0.31
	125	0.91±0.16	2.08±0.22	3.85±0.21	4.10±0.13	4.05±0.11
<i>J. spicigera</i>	50	1.03±0.21	1.12±0.16	1.30±0.16	1.23±0.12	1.20±0.13
	75	0.79±0.17	1.07±0.24	1.15±0.27	1.87±0.14	2.19±0.24
	100	0.90±0.21	1.24±0.11	3.02±0.16	2.37±0.14	2.94±0.19
	125	1.03±0.27	1.68±0.15	2.70±0.26	3.20±0.23	3.57±0.23

Tabla 32. Contenido de Chl-a en *Anabaena sp.* durante los 8 días de exposición a los extractos metanólicos.

Especie	Con. (mg/L)	Chl-a mg/L (promedio±DE)				
		Día 0	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8
<i>A. mexicana</i>	50	0.185±0.04	0.281±0.07	0.843±0.11	0.898±0.07	1.596±0.15
	75	0.259±0.05	0.347±0.07	1.005±0.21	0.864±0.07	0.930±0.11
	100	0.166±0.03	0.354±0.05	0.411±0.06	0.336±0.05	0.308±0.04
	125	0.184±0.02	0.351±0.06	0.273±0.09	0.246±0.09	0.191±0.05
<i>B. spectabilis</i>	50	0.188±0.04	0.337±0.07	0.480±0.14	1.480±0.19	2.018±0.15
	75	0.255±0.05	0.272±0.06	0.721±0.08	1.107±0.15	1.443±0.11
	100	0.182±0.02	0.390±0.08	0.621±0.12	0.983±0.11	1.118±0.14
	125	0.247±0.06	0.319±0.08	0.773±0.10	0.717±0.09	0.832±0.11
<i>L. tridentata</i>	50	0.175±0.02	0.313±0.06	0.604±0.08	1.110±0.14	1.373±0.14
	75	0.184±0.02	0.258±0.05	0.305±0.10	0.785±0.17	0.215±0.07
	100	0.232±0.04	0.325±0.10	0.400±0.09	0.326±0.08	0.181±0.05
	125	0.222±0.06	0.314±0.11	0.271±0.10	0.245±0.06	0.161±0.05
<i>A. adstringens</i>	50	0.177±0.03	0.346±0.08	0.781±0.13	0.628±0.13	1.563±0.16
	75	0.277±0.11	0.410±0.10	0.827±0.20	0.883±0.25	1.001±0.32
	100	0.234±0.09	0.297±0.07	0.457±0.05	0.313±0.10	0.286±0.08
	125	0.246±0.08	0.330±0.11	0.299±0.11	0.259±0.09	0.226±0.09
<i>A. ludoviciana</i>	50	0.253±0.05	0.362±0.08	0.917±0.17	1.309±0.15	2.023±0.16
	75	0.200±0.04	0.309±0.09	0.716±0.13	1.449±0.13	1.773±0.11
	100	0.218±0.07	0.366±0.06	0.609±0.15	0.779±0.12	1.372±0.13
	125	0.214±0.04	0.318±0.10	0.426±0.11	0.758±0.13	1.170±0.14
<i>J. spicigera</i>	50	0.246±0.05	0.380±0.08	0.815±0.13	1.430±0.10	1.564±0.13
	75	0.164±0.04	0.402±0.10	0.674±0.10	0.747±0.16	1.188±0.15
	100	0.184±0.03	0.364±0.06	0.386±0.07	0.851±0.11	0.816±0.11
	125	0.229±0.06	0.277±0.07	0.662±0.10	0.635±0.10	0.609±0.10

Tabla 33. Porcentajes de inhibición de crecimiento de *Anabaena sp.* durante los 8 días de exposición a los extractos metanólicos.

Especie	Con. (mg/L)	Tasa de inhibición % (promedio±DE)			
		Día 2	Día 4	Día 6	Día 8
<i>A. mexicana</i>	50	38.38±0.07	28.00±0.11	51.53±0.07	33.12±0.15
	75	23.83±0.07	14.16±0.21	53.35±0.07	61.05±0.11
	100	22.44±0.05	64.85±0.06	81.86±0.05	90.02±0.04
	125	23.03±0.06	76.67±0.09	86.72±0.09	91.98±0.05
<i>B. spectabilis</i>	50	26.02±0.07	58.99±0.14	20.13±0.19	15.44±0.15
	75	40.42±0.06	38.37±0.08	40.25±0.15	39.55±0.11
	100	14.40±0.08	46.91±0.12	46.94±0.11	53.18±0.14
	125	30.04±0.08	33.95±0.10	61.28±0.09	65.13±0.11
<i>L. tridentata</i>	50	31.36±0.06	48.42±0.08	40.10±0.14	42.48±0.14
	75	43.49±0.05	73.94±0.10	57.65±0.17	91.01±0.07
	100	28.80±0.10	65.85±0.09	82.40±0.08	92.43±0.05
	125	31.07±0.11	76.87±0.10	86.76±0.06	93.26±0.05
<i>A. adstringens</i>	50	24.12±0.08	33.24±0.13	66.10±0.13	34.52±0.16
	75	17.32±0.07	29.34±0.20	52.34±0.25	58.08±0.32
	100	34.87±0.07	60.92±0.05	83.12±0.10	88.02±0.08
	125	27.63±0.11	74.48±0.11	86.02±0.09	90.52±0.09
<i>A. ludoviciana</i>	50	20.61±0.08	21.65±0.17	29.35±0.15	15.25±0.16
	75	32.31±0.09	38.85±0.13	21.77±0.13	25.72±0.11
	100	19.81±0.06	47.99±0.15	57.95±0.12	42.51±0.13
	125	30.26±0.10	63.63±0.11	59.10±0.13	51.00±0.14
<i>J. spicigera</i>	50	16.74±0.08	30.36±0.13	22.83±0.10	34.46±0.13
	75	11.77±0.10	42.41±0.10	59.70±0.16	50.23±0.15
	100	20.10±0.06	66.99±0.07	54.05±0.11	65.81±0.11
	125	39.33±0.07	43.41±0.10	65.73±0.10	74.47±0.10

Tabla 34. Valores de crecimiento celular de *Anabaena sp.* expresados como DO después de la exposición a los extractos metanólicos.

Especie	Con. (mg/L)	DO ₇₅₀ (promedio±DE)				
		Día 0	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8
<i>A. mexicana</i>	50	0.024±0.010	0.164±0.035	0.303±0.046	0.357±0.048	0.473±0.043
	75	0.016±0.009	0.163±0.051	0.198±0.041	0.223±0.048	0.256±0.032
	100	0.016±0.006	0.099±0.024	0.105±0.030	0.094±0.021	0.036±0.016
	125	0.021±0.012	0.026±0.011	0.029±0.011	0.025±0.010	0.020±0.009
<i>B. spectabilis</i>	50	0.102±0.021	0.209±0.027	0.279±0.025	0.370±0.053	0.531±0.049
	75	0.021±0.008	0.174±0.030	0.223±0.055	0.279±0.039	0.314±0.044
	100	0.041±0.007	0.124±0.032	0.132±0.031	0.206±0.039	0.256±0.031
	125	0.064±0.009	0.095±0.017	0.115±0.029	0.124±0.028	0.182±0.028
<i>L. tridentata</i>	50	0.017±0.006	0.070±0.025	0.158±0.023	0.179±0.021	0.262±0.029
	75	0.018±0.003	0.013±0.005	0.018±0.005	0.015±0.003	0.015±0.002
	100	0.021±0.003	0.030±0.008	0.015±0.003	0.016±0.003	0.012±0.003
	125	0.026±0.006	0.023±0.005	0.019±0.004	0.018±0.006	0.014±0.004
<i>A. adstringens</i>	50	0.017±0.004	0.120±0.026	0.232±0.061	0.256±0.056	0.290±0.041
	75	0.013±0.006	0.075±0.017	0.117±0.023	0.170±0.016	0.206±0.034
	100	0.015±0.003	0.034±0.010	0.040±0.012	0.015±0.004	0.013±0.006
	125	0.012±0.004	0.011±0.002	0.018±0.005	0.015±0.007	0.016±0.003
<i>A. ludoviciana</i>	50	0.018±0.007	0.124±0.033	0.222±0.031	0.387±0.063	0.476±0.049
	75	0.013±0.004	0.139±0.037	0.234±0.029	0.311±0.053	0.350±0.043
	100	0.022±0.009	0.099±0.013	0.195±0.030	0.210±0.030	0.277±0.030
	125	0.017±0.005	0.079±0.024	0.148±0.032	0.184±0.019	0.219±0.024
<i>J. spicigera</i>	50	0.014±0.005	0.110±0.023	0.152±0.038	0.260±0.052	0.442±0.065
	75	0.017±0.012	0.065±0.018	0.142±0.026	0.237±0.070	0.330±0.040
	100	0.018±0.006	0.075±0.024	0.130±0.025	0.151±0.034	0.231±0.037
	125	0.014±0.004	0.055±0.017	0.062±0.015	0.078±0.009	0.122±0.019

Tabla 35. Contenido de MDA en *Anabaena sp.* durante los 8 días de exposición a los extractos metanólicos.

Especie	Con. (mg/L)	DO ₇₅₀ (promedio±DE)				
		Día 0	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8
<i>A. mexicana</i>	50	0.78±0.14	0.98±0.23	1.50±0.23	1.06±0.26	1.26±0.26
	75	0.89±0.16	1.31±0.28	2.49±0.33	2.67±0.17	2.78±0.16
	100	0.80±0.19	1.18±0.16	2.76±0.19	3.38±0.34	3.67±0.25
	125	0.98±0.14	2.13±0.24	3.31±0.25	3.70±0.25	4.36±0.34
<i>B. spectabilis</i>	50	0.76±0.13	0.97±0.15	1.15±0.19	1.47±0.16	1.50±0.15
	75	0.81±0.13	1.33±0.19	1.93±0.20	1.87±0.19	2.21±0.24
	100	0.88±0.09	1.58±0.24	2.17±0.32	3.48±0.19	4.22±0.38
	125	0.79±0.15	1.50±0.24	2.63±0.20	5.11±0.22	5.15±0.22
<i>L. tridentata</i>	50	0.93±0.11	1.33±0.19	1.25±0.19	1.46±0.23	1.57±0.27
	75	0.97±0.12	1.75±0.21	1.78±0.22	1.86±0.26	2.29±0.24
	100	0.91±0.10	1.49±0.26	2.25±0.21	3.05±0.17	3.39±0.26
	125	0.80±0.14	2.31±0.24	2.55±0.25	3.39±0.28	4.90±0.31
<i>A. adstringens</i>	50	0.67±0.14	1.01±0.21	1.18±0.27	1.55±0.19	1.74±0.22
	75	0.83±0.12	1.14±0.20	1.73±0.21	2.74±0.19	2.42±0.16
	100	0.68±0.10	1.35±0.22	2.40±0.35	3.59±0.30	4.23±0.34
	125	0.79±0.13	1.60±0.24	4.45±0.33	4.32±0.29	5.34±0.23
<i>A. ludoviciana</i>	50	0.79±0.15	1.02±0.17	1.11±0.22	0.90±0.14	0.98±0.19
	75	0.85±0.12	0.96±0.16	1.27±0.26	1.35±0.22	1.52±0.19
	100	0.75±0.17	1.39±0.28	1.99±0.14	1.83±0.19	2.97±0.23
	125	0.79±0.13	1.79±0.25	1.92±0.33	2.00±0.34	3.43±0.37
<i>J. spicigera</i>	50	0.86±0.12	1.20±0.20	1.41±0.26	1.20±0.19	1.17±0.18
	75	0.79±0.14	1.45±0.27	1.62±0.35	1.76±0.28	2.08±0.26
	100	0.83±0.11	1.13±0.19	1.76±0.19	2.72±0.26	2.82±0.15
	125	0.94±0.17	1.81±0.17	2.85±0.18	3.10±0.15	3.16±0.17

ANEXO 2

Tabla 36. Lista completa de los compuestos presentes en el extracto de *A. mexicana*.

Aleloquímico	Tiempo de retención	% de área total
3-piridinol	6.258	0.16087981
2,3-butanodiol	6.33	0.04517504
Ácido láctico	6.553	0.11738124
2-etilmalonato de metilo	6.596	0.00816529
Ácido hexanoico	6.661	0.055376
Ácido glicólico	6.73	0.08241906
Alanina	7.107	1.39738381
Ácido oxálico	7.473	0.02973653
3-piridinol	7.533	0.03519955
Ácido 3-hidroxipropiónico	7.636	0.01990249
Ácido heptanoico	7.919	0.03446081
Ácido fosfórico	8.125	0.02771284
Valina	8.666	0.98804231
Ácido 4-hidroxibutírico	8.866	0.03233822
Urea	8.981	0.26978956
Ácido benzoico	9.024	0.01301761
Ácido octanoico	9.21	0.08181481
Pipecolinato de etilo	9.255	0.02941585
Monoetanolamina	9.341	0.43799395
Leucina	9.419	0.93836432
Ácido fosfórico	9.507	0.55925457
Glicerol	9.522	1.35214704
Ácido nicotínico	9.648	0.02432142
Isoleucina	9.777	1.01097863
Glicina	9.903	0.07958353
Ácido succínico	9.949	1.48704574
Ácido glicérico	10.292	3.2354037
Uracilo	10.318	0.01465952
Ácido maleico	10.364	0.00153939
Ácido 2,3-dihidroxi-butanoico	10.45	0.06358884
Ácido pirrol-2-carboxílico	10.536	0.01134881
Serina	10.642	0.84140295
Ácido pipecolínico	10.662	0.29726584
3,4-dihidroxitetrahidro 2-furanona	10.809	0.03292053
Treonina	10.998	0.30661746
Ácido glutárico	11.104	0.04724124
Ácido gama-aminobutírico	11.247	0.01323407
Ácido 3-desoxitetrónico	11.296	0.05642143
Prolina	11.31	0.01170532
Beta-alanina	11.451	0.06069983
Ácido decanoico	11.732	0.02030445
Homoserina	11.772	0.03955783

Tabla 36. Continuación...

Ácido málico	12.311	2.16491653
Ácido aspártico	12.698	0.17809806
Ácido piroglutámico	12.736	3.67261331
Ácido gama-aminobutírico	12.788	1.13664454
Ácido pipercolínico	12.945	0.41176211
Ácido treónico	13.029	0.27176331
Ácido treónico	13.238	1.30079647
Ácido alfa-hidroxi glutárico	13.302	0.05136549
Ornitina	13.761	0.03110844
Ácido glutámico	13.824	0.1695491
Ácido 4-hidroxibenzoico	13.853	0.03127729
Fenilalanina	13.908	0.11905951
2-Amino-4,6-dihidroxipirimidina	13.96	0.19725147
Asparagina	14.439	0.56661649
Ácido subérico	14.632	0.05137504
Ácido vanílico	15.403	0.00786692
Fosfato de glicerol	15.53	0.07053303
Glutamina	15.547	0.21188818
Ácido shikímico	15.967	0.13193025
Ácido protocatequiico	16.019	0.00193643
Ácido cítrico	16.123	0.26597384
Ácido tetradecanoico	16.198	0.08867783
Pinitol	16.35	0.02865901
Adenina	16.512	0.02440305
Tirosina	17.326	0.15308496
Ácido gálico	17.479	0.02135766
Ácido palmitoleico	17.958	0.02255826
Ácido glucónico	18.038	0.04321008
Ácido palmítico	18.18	1.27203801
N-acetil glucosamina	18.82	0.14777775
Mio-inositol	18.924	1.38676459
Ácido heptadecanoico	19.051	0.02816404
Ácido cafeico	19.095	0.02164331
Fitol	19.36	0.24908308
Ácido linoleico	19.716	1.09043854
Ácido esteárico	19.959	0.60675294
Uridina	21.87	0.16252839
Ácido 2-aminoadípico	22.144	0.26511031
Ácido docosanoico	23.107	0.03147147
Adenosina	23.313	0.30741319
Sacarosa	23.596	5.6812558
Ácido tetracosanoico	24.548	0.03095227
1-Heneicosanol	26.094	0.81276617
Estigmasterol	27.698	0.0319869
Beta-sitosterol	28.083	0.06949286

Tabla 37. Lista completa de los compuestos presentes en el extracto de *B. spectabilis*.

Aleloquímico	Tiempo de retención	% de área total
Ácido láctico	6.547	0.00122945
2-etilmalonato de metilo	6.604	0.77488473
Ácido hexanoico	6.664	0.03502634
Ácido glicólico	6.73	0.10018148
Ácido 2-oxo-propanoico	6.905	0.0189224
Alanina	7.105	0.89790982
Ácido 2-hexenoico	7.287	0.03092545
Ácido oxálico	7.473	0.0963316
3-piridinol	7.533	0.03254857
Ácido 3-hidroxiisobutírico	7.868	0.06624253
Ácido heptanoico	7.919	0.03130058
Ácido fosfórico	8.122	0.07262646
Ácido malónico	8.46	0.10680876
Valina	8.658	0.92773154
Ácido octanoico	9.213	0.04683845
Ácido pipecolínico	9.264	0.01165358
Etanolamina	9.344	0.77782781
Leucina	9.416	0.56741497
Glicerol	9.488	1.25323219
Ácido fosfórico	9.508	0.44918722
Ácido nicotínico	9.642	0.21051147
Prolina	9.674	0.22706986
Isoleucina	9.737	0.425707
Ácido levunílico	9.783	1.923025
Ácido maleico	9.826	0.04472196
Glicina	9.892	0.05849446
Ácido succínico	9.932	0.51462942
Ácido glicérico	10.235	0.13999127
Uracilo	10.301	0.02433432
Ácido fumárico	10.35	0.17765262
Serina	10.625	0.2785509
Ácido pipecolínico	10.645	0.39068358
3,4-dihidroxitetrahydro 2-furanona	10.794	0.06249891
Treonina	10.989	0.46452598
Ácido 3-desoxitetrónico	11.29	0.00922087
Prolina	11.304	0.00914045
Beta-alanina	11.448	0.04630194
Ácido decanoico	11.732	0.02291628
Homoserina	11.769	0.02295939
Trigonelina	12.001	0.01596055
Ácido málico	12.288	0.28558577
Ácido aspártico	12.673	0.135837
Ácido piroglutámico	12.701	2.084087789
Ácido pipecolínico	12.701	0.012950794

Tabla 37. Continuación...

4-hidroxiprolina	12.744	0.0029084
Ácido gama-aminobutírico	12.759	1.111554
Ácido treónico	13.233	0.49355345
Ornitina	13.764	0.04083487
Ácido glutámico	13.825	0.11014605
Ácido 4-hidroxibenzoico	13.856	0.0228994
Fenilalanina	13.908	0.36801341
Acido laurico	14.069	0.01641111
Asparagina	14.431	0.21853427
Ácido subérico	14.635	0.05820795
Glutamina	15.553	0.12882088
Fosfato de glicerol	15.579	0.03630457
Ácido ribónico	15.666	0.34301865
Ácido cumárico	15.671	0.08160184
Ácido 3,4-dihidroxifenilacético	16.15	0.14000911
Histidina	17.197	0.08850091
Tirosina	17.333	0.23970139
Glicina	17.619	0.0074913
3,4-dimetoxifeniltilamina	17.723	0.05850366
Ácido pantoténico	17.838	0.00812484
Pinitol	18.037	0.35567291
Ácido glucónico	18.046	0.02498101
Ácido palmítico	18.176	0.75525834
3-metoxitirosina	18.424	0.02424822
Dopamina	18.641	0.07137687
Mio-inositol	18.921	0.00358217
Ácido úrico	18.95	0.00253038
Mio-inositol	18.956	0.32813711
Ácido heptadecanoico	19.068	0.01934587
Ácido cafeico	19.114	0.02835622
Fitol	19.377	1.15841457
Ácido linoleico	19.681	0.14400759
Fosfato de glicerol	19.808	0.02964713
Triptófano	19.938	0.56090719
Ácido esteárico	19.955	0.64326303
Ácido eicosanoico	21.577	0.02517741
Adenosina	23.313	0.05215598
Tetracosanol	23.911	0.0129021
Sacarosa	24.03	0.037871
Trehalosa	24.357	0.114891
Catequina	25.097	0.06519109
Gama-tocoferol	25.759	0.0452557
Ácido 3-aminopropilfosfónico	26.768	0.45057954

Tabla 38. Lista completa de los compuestos presentes en el extracto de *L. tridentata*.

Aleloquímico	Tiempo de retención	% de área total
Ácido pentanoico	5.601	0.039589667
1,2 etanodiol	5.67	0.39233878
Monoetanolamina	6.152	0.198098613
3-piridinol	6.25	0.218395185
Ácido oxálico	6.541	0.020323095
2-etilmalonato de metilo	6.581	0.648517439
Ácido hexanoico	6.647	0.084314696
Ácido glicólico	6.715	0.055794216
Ácido 2-etil-hexanoico	6.81	0.087413408
2-oxo-propanoato	6.89	0.047127143
Alanina	7.087	0.277930172
Ácido oxálico	7.461	0.06812634
Ácido heptanoico	7.907	0.057027225
Ácido fosfórico	8.116	0.038147537
Prolina	8.144	0.164316152
Urea	8.196	0.011898659
Ácido malónico	8.45	0.094115339
Ácido nonanoico	8.553	0.014930357
Valina	8.642	0.125273237
Ácido benzoico	9.014	0.015074219
Monoetanolamina	9.331	0.047368667
Glicerol	9.48	1.124150315
Ácido fosfórico	9.489	0.423919712
Ácido nicotínico	9.635	0.054512646
2-pirrolidinona	9.663	0.203298836
Ácido succínico	9.918	0.126921549
Ácido glicérico	10.23	0.077114715
Uracilo	10.293	0.024080172
Ácido pipecolínico	10.568	0.149318532
Serina	10.617	0.05729291
Ácido pipecolínico	10.637	0.292447496
Treonina	10.978	0.09531645
Hidroquinona	11.084	0.001174736
Prolina	11.301	0.014144992
Ácido decanoico	11.728	0.034269051
Ácido cinámico	12.109	0.031476317
Ácido 4-hidroxi-benzoico	12.241	0.209196684
Ácido málico	12.261	0.520396885
Hidantoína	12.611	0.013277851
Ácido piroglutámico	12.651	1.272699629
4-hidroxiprolina	12.726	0.02218326

Tabla 38. Continuación...

Ácido gama-aminobutírico	12.734	0.075298306
Ácido eritrónico	13.23	0.112736209
Ácido beta-feniláctico	13.408	0.017257694
Ácido 4-hidroxibenzoico	13.847	0.11671448
Fenilalanina	13.902	0.058811163
Éster metílico de 4-hidroxibencenopropanoico	13.968	1.700269907
Acido laurico	14.063	0.11165855
Vainillato de metilo	14.129	0.017111329
Ribitol	14.246	0.120056605
Asparagina	14.424	0.177973884
Ácido subérico	14.625	0.05484581
Ácido isovainílico	15.389	0.168060924
Fosfato de glicerol	15.522	0.054609701
Ácido gentísico	15.568	0.015732278
Ácido antranílico	15.588	0.017330269
Ácido azelaico	15.697	0.091047997
Ácido protocatequiico	16.025	0.035706919
Dopamina	16.085	0.946001273
Pinitol	16.362	3.136576582
Adenina	16.546	0.023014137
Fructosa	16.774	0.609933463
Ácido cumárico	17.189	0.152856271
Galactosa	17.223	0.028582323
Manitol	17.362	0.200926916
Mio-inositol	17.607	0.350123353
Ácido palmítico	18.16	1.075775355
Ácido isoferúlico	18.661	0.052814314
Ácido esteárico	18.874	0.428902811
Mio-inositol	18.891	0.344158089
Ácido cafeico	19.084	0.080782042
Fitol	19.349	0.070477771
Ácido linoleico	19.669	0.163694701
Ácido alfa-linoleico	19.735	0.176922492
Triptófano	19.917	0.075739825
Sacarosa	23.614	2.547458962
Tetracosanol	23.906	0.076028878
Esculetina	25.597	0.038302064
Beta-sitosterol	28.075	0.022830108

Tabla 39. Lista completa de los compuestos presentes en el extracto de *A. adstringens*.

Aleloquímico	Tiempo de retención	% de área total
Ácido pentanoico	5.598	0.03835263
1,2 etanodiol	5.67	0.343708
Propilenglicol	5.833	0.04192469
3-piridinol	6.25	0.13492553
Ácido 4-metoxibutanoico	6.581	0.0439507
Ácido hexanoico	6.65	0.06855502
Ácido glicólico	6.718	0.02115383
Ácido 2-oxo-propanoico	6.892	0.03293
Ácido oxálico	7.464	0.10197781
Ácido 3-hidroxibutanoico	7.855	0.01830845
Ácido heptanoico	7.91	0.05033856
Ácido fosfórico	8.118	0.02319257
Ácido malónico	8.453	0.06130373
Ácido nonanoico	8.556	0.01214174
Linalol	8.864	0.06638052
Urea	8.876	0.0418021
Ácido octanoico	9.204	0.08312263
Ácido fosfórico	9.45	0.01008935
Glicerol	9.485	2.50382863
Prolina	9.745	0.03274384
Ácido succínico	9.917	0.21493876
Alfa-terpineol	10.071	0.15114084
Ácido itacónico	10.338	0.04479161
Ácido fumárico	10.34	0.02544627
Geraniol	10.572	0.0345018
Hidroquinona	11.085	0.07585353
Ácido decanoico	11.732	0.01403274
Ácido málico	12.262	0.28645038
Eritritol	12.577	0.27438273
Ácido piroglutámico	12.646	0.08033527
Terpinol	12.657	0.0420988
Ácido gama-aminobutírico	12.732	0.01415295
4-hidroxifeniletanol	13.196	0.16150526
Ácido azelaico	13.242	0.01962328
Uracilo	13.331	0.09046988
Ácido pimélico	13.54	0.04114086
Ácido 4-hidroxibenzoico	13.844	0.05711483
Ácido 4-hidroxifenilacético	13.979	0.17282944
Acido laurico	14.062	0.04904733
Floroglucinol	14.076	0.00967802
Éster metílico del ácido 4-hidroxibencenopropanoico	14.231	0.083951494
Alcohol homovanilílico	14.802	0.03828002

Tabla 39. Continuación...

3,4-dihidroxibenzoato de etilo	14.949	0.02484561
Xilitol	15.127	0.01110183
Ácido vanílico	15.391	0.02105924
Ácido shikímico	15.983	3.14195044
Ácido protocatequico	16.024	0.12012518
Ácido cítrico	16.124	0.38352395
Ácido tetradecanoico	16.199	0.05066182
Pinitol	16.346	0.26170291
Galactosa	16.441	0.06746401
Manosa	16.515	0.11069763
Fructosa	16.8	4.63420704
Ácido pentadecanoico	17.207	0.01370288
1-hexadecanol	17.322	0.02950949
Manitol	17.374	0.8258844
Ácido gálico	17.507	1.63280963
Ácido 2,6-dihidroxibenzoico	18.053	0.0600572
Ácido glucónico	18.082	0.14433308
Ácido palmítico	18.16	1.0947444
Mio-inositol	18.908	1.13643537
Ácido heptadecanoico	19.046	0.05848234
Fitol	19.351	0.07068674
Ácido esteárico	19.947	1.12450092
Ácido eicosanoico	21.57	0.04059882
Arbutina	22.984	0.07252917
Sacarosa	23.137	0.04842349
Sacarosa	23.64	2.13638893
Trehalosa	24.356	0.60780237
Aucubina	24.659	0.09513422
Catequina	24.942	0.24703567
Naringenina	24.962	0.00910948
Campesterol	27.514	0.01609276
Estigmasterol	27.705	0.03597541
Beta-sitosterol	28.085	0.04780161
Beta-amirina	28.244	0.26608788

ANEXO 3

Fig. 40. Espectro de GC-MS del extracto metanólico de *A. mexicana*.

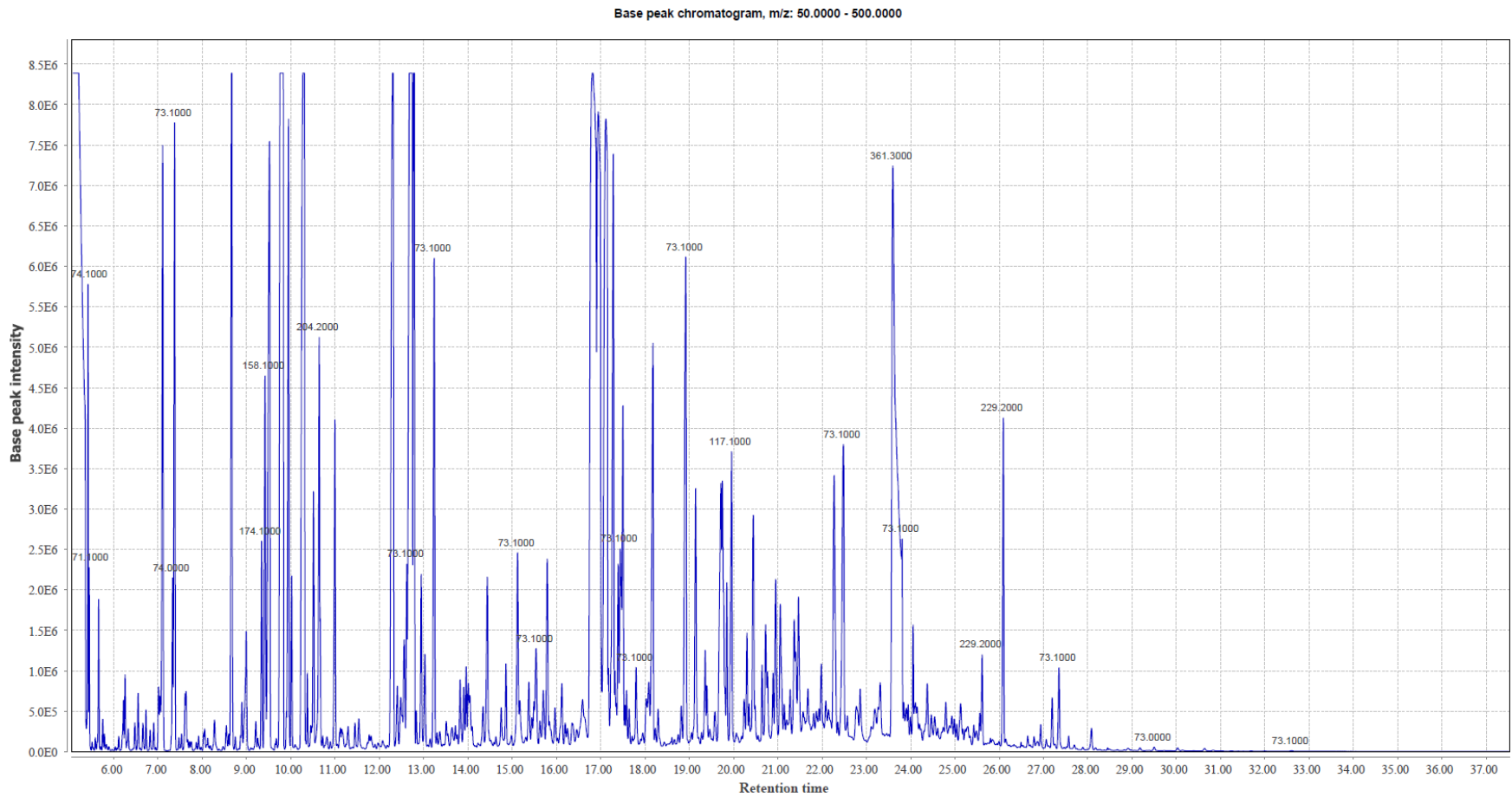


Fig. 41. Espectro de GC-MS del extracto metanólico de *B. spectabilis*.

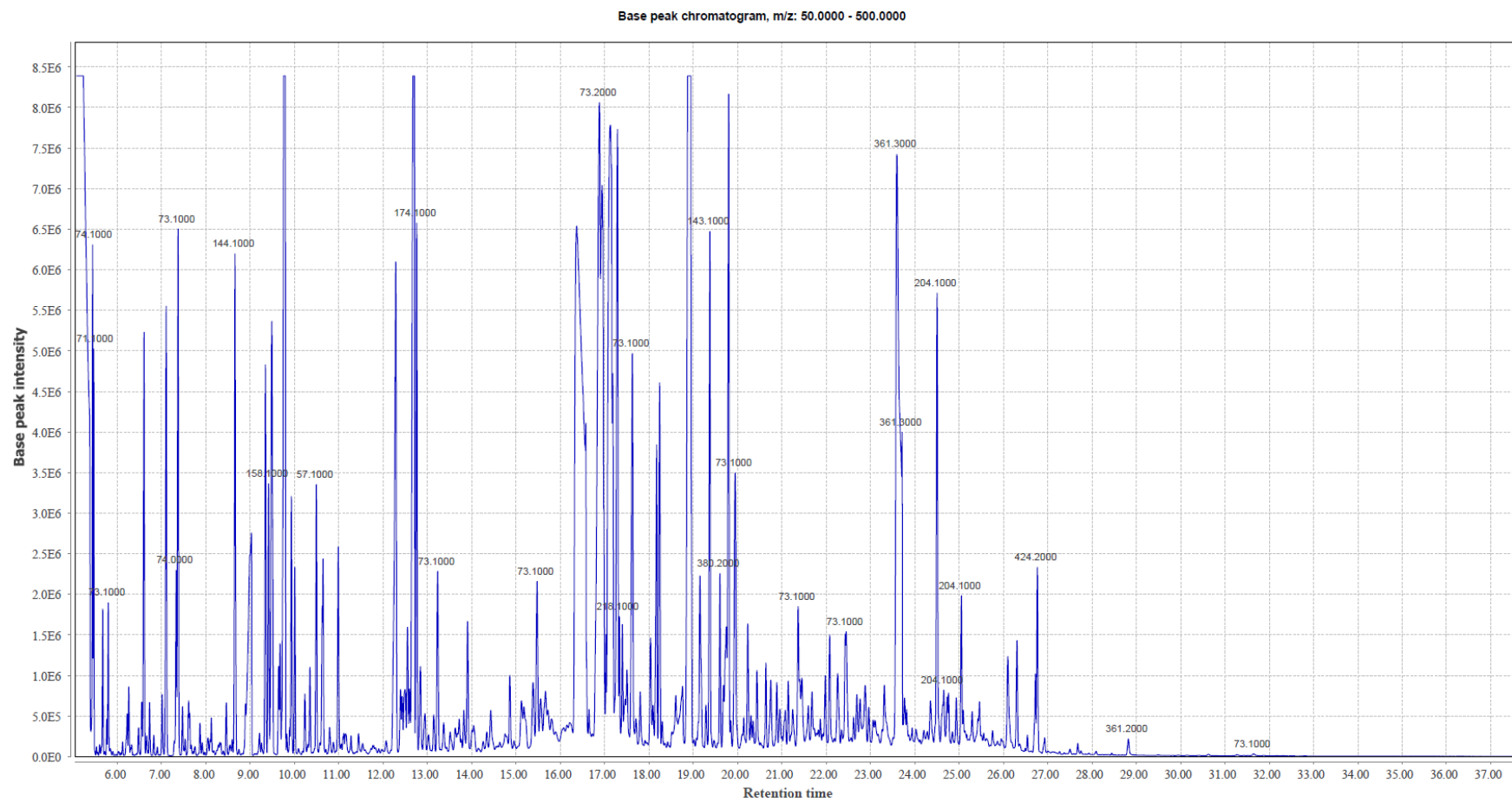


Fig. 42. Espectro de GC-MS del extracto metanólico de *L. tridentata*.

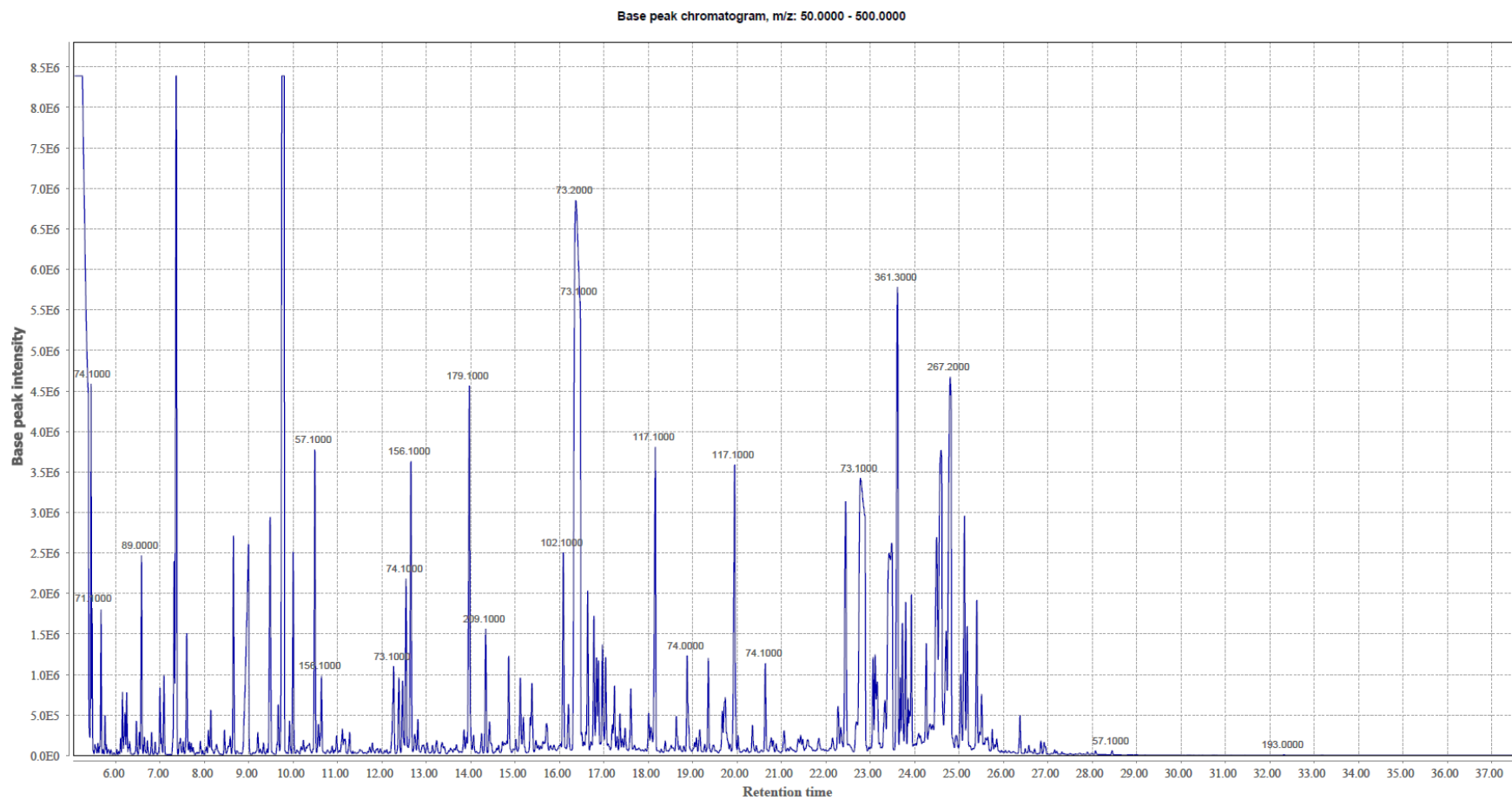


Fig. 43. Espectro de GC-MS del extracto metanólico de *A. adstringens*.

