



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas

Doctorado en Ciencias en Recursos Naturales y
Medio Ambiente en Zonas Áridas

**Diversidad morfológica, genética y caracterización
fitoquímica de *Argemone* spp., de la parte media del Desierto
Chihuahuense**

TESIS

Que como requisito parcial
para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS EN

RECURSOS NATURALES Y MEDIO AMBIENTE

EN ZONAS ÁRIDAS

Presenta:

PERLA PATRICIA OCHOA GARCÍA

Bajo la supervisión de: FABIÁN GARCÍA GONZÁLEZ, Dr.



Bermejillo, Durango, México. 2024



iniap
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias

**DIVERSIDAD MORFOLÓGICA, GENÉTICA Y CARACTERIZACIÓN
FITOQUÍMICA DE *Argemone* spp., DE LA PARTE MEDIA DEL DESIERTO
CHIHUAHUENSE**

Tesis realizada por PERLA PATRICIA OCHOA GARCÍA bajo la supervisión del
Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito
parcial para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS EN RECURSOS NATURALES Y MEDIO
AMBIENTE EN ZONAS ÁRIDAS**

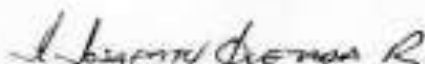
DIRECTOR:


Dr. Fabián García González

CO-DIRECTOR:


Dr. Ricardo Trejo Calzada

ASESOR:


Dr. Jesús Josafath Quezada Rivera

ASESOR:


Dr. Jaime Sánchez Salas

LECTOR EXTERNO:


Dra. Gisela Moro Pérez

CONTENIDO

TEMA	PÁGINA
ABREVIATURAS USADAS.....	xi
DEDICATORIAS.....	xiv
AGRADECIMIENTOS.....	xv
DATOS BIBLIOGRÁFICOS.....	xvii
RESUMEN GENERAL.....	xix
ABSTRACT.....	xx
CAPÍTULO I.....	1
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.2 OBJETIVOS.....	3
1.2.1 Objetivo general.....	3
1.2.2 Objetivos específicos.....	3
1.3 HIPÓTESIS.....	4
CAPÍTULO II.....	6
2. REVISIÓN DE LITERATURA	6
2.1 Zonas Áridas.....	6
2.2 Desierto Chihuahuense.....	6
2.3 Vegetación del Desierto Chihuahuense.....	7
2.4 Antecedentes de la familia Papaveraceae y género <i>Argemone</i>	8

2.5 Distribución Ecológica de <i>Argemone</i>	10
2.6 Aporte ecológico de <i>Argemone</i> spp. a las zonas áridas.....	10
2.7 Reproducción y dispersión de <i>Argemone</i>	11
2.8 Taxonomía.....	12
2.9 <i>Argemone pleiacantha</i> Greene.....	12
2.10 <i>Argemone mexicana</i> L.....	14
2.11 Importancia etnobotánica de <i>Argemone</i> L.....	15
LITERATURA CITADA	16
CAPITULO III	20
RESUMEN.....	20
INTRODUCTION.....	20
MATERIAL AND METHODS.....	23
Morphological analysis.....	24
Imbibition Velocity in the Seeds.....	24
Evaluation of Buoyancy.....	24
Analysis of the Micro- and Macro- nutrients in seeds.....	25
Analysis of Micro- and Macro-Nutrients, pH, Electrical Conductivity, Apparent Density, and Soil-Soluble Anions on the Soil.....	25
Statistical Analysis.....	25
RESULTS.....	25

<i>Argemone pleiacantha</i> Greene.....	25
Size.....	25
Shape and Color.....	25
<i>Argemone mexicana</i> L.....	27
Size.....	27
Shape and Color.....	27
Imbibition Velocity in Seed.....	27
Evaluation of the Buoyancy of <i>Argemone pleiacantha</i> and <i>Argemone mexicana</i>	27
Principal Components Analysis (PCA).....	27
DISCUSSION.....	31
CONCLUSION.....	33
Acknowledgement.....	34
Funding Statement.....	34
Author Contributions.....	34
Availability of Data and Materials.....	34
Ethics Approval.....	34
Conflicts of Interest.....	34
REFERENCES.....	34
CAPÍTULO IV	37

RESUMEN.....	37
ABSTRACT.....	38
INTRODUCCIÓN.....	39
MATERIALES Y MÉTODOS.....	40
Material vegetal.....	40
Extracción de ADN genómico.....	41
Evaluación de la extracción, calidad e integridad del ADN.....	43
Evaluación de la viabilidad del ADN para pruebas de PCR.....	44
Análisis estadístico.....	44
RESULTADOS.....	44
Evaluación de la calidad e integridad de ADN por electroforesis de agarosa.....	46
Evaluación de la viabilidad del ADN para pruebas de PCR.....	47
DISCUSIÓN.....	48
CONCLUSIONES.....	50
AGRADECIMIENTOS.....	51
LITERATURA CITADA.....	51
CAPÍTULO V.....	54
CONCLUSIONES GENERALES.....	54

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
CAPÍTULO II.....	6
1. Géneros que conforman a la familia Papaveraceae	8
2. Especies del género <i>Argemone</i>	9
CAPÍTULO III.....	20
3. Species collected, collection sites, geographic localization, altitude, ecoregion characteristics, and Chihuahuan Desert ecoregion of <i>Argemone</i> L. (Papaveraceae).....	23
4. Means of weight, length, thickness, and diameter of <i>Argemone pleiacantha</i> Greene (Papaveraceae) seeds from the Chihuahuan Desert	26
5. Means of weight, length, thickness, and diameter of <i>Argemone mexicana</i> L. (Papaveraceae) seeds from the Chihuahuan Desert.....	27
6. Evaluation of the buoyancy of the seeds of <i>A. pleiacantha</i> Greene and <i>A. mexicana</i> L. (Papaveraceae) seeds from the Chihuahuan Desert.....	29
7. Loadings between the seed and soil variables of populations of <i>Argemone</i> and the principal components (PC). The PC loadings show that the variables of seed length, diameter, and thickness were important for the development of <i>Argemone</i> regardless of soil characteristics.....	30
8. Mineral content in seeds of <i>A. pleiacantha</i> Greene and <i>A. mexicana</i> L. (Papaveraceae), and soil from the Chihuahuan Desert.....	31
CAPÍTULO IV	37
9. Sitios de colecta de tejido foliar de <i>Argemone</i> L. (Papaveraceae) y localización geográfica.	41
10. Medias de concentración de ADN genómico (ng·µl ⁻¹) obtenido de tejido foliar de <i>Argemone</i> L. (Papaveraceae)	45

11. Medias de absorbancias ($A_{260/280}$) de ADN obtenido de tejido foliar de <i>Argemone</i> L. (Papaveraceae).....	45
12. Medias de absorbancias ($A_{260/230}$) de ADN obtenido de tejido foliar de <i>Argemone</i> L. (Papaveraceae).....	46

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
CAPÍTULO II	20
1. <i>Argemone pleiacantha</i> Greene (Papaveraceae).....	14
2. <i>Argemone mexicana</i> L. (Papaveraceae).....	15
CAPÍTULO III	21
3. Morphological analysis through stereoscopy in which the general structure of <i>A. pleiacantha</i> seeds was shown (A), grooves originating at the edges between the epidermal cells (B), the aquiline periphery (C), and the hilus (D).....	26
4. Morphological analysis through stereoscopy in which the general structure of <i>A. mexicana</i> seeds was shown (A), grooves originating at the edges between the epidermal cells (B), the aquiline periphery (C), and the hilus (D).....	28
5. Imbibition velocity in the seeds of <i>Argemone pleiacantha</i> Greene and <i>Argemone mexicana</i> L. (Papaveraceae) from the Chihuahuan Desert.....	29
6. Dispersion graph of the principal component values (PC 1 and PC 2) for the populations of <i>Argemone pleiacantha</i> Greene and <i>Argemone mexicana</i> L. (Papaveraceae) from the Chihuahuan Desert.....	32
7. Dendrogram of different sampled populations of <i>Argemone pleiacantha</i> Greene and <i>Argemone mexicana</i> (Papaveraceae) from the Chihuahuan Desert according to the method of Ward, and distance is expressed as Euclidian distance as follows: S1: 12 de diciembre, Dgo; S2: La Honda, Zac; S3: Ramón Corona, Dgo; S4: Ciudad Juárez, Dgo; S5: Miguel Auza, Zac; S6: El Tiempo, Zac; S7: El Diamante, Dgo; S8: El Derrame, Dgo; S9: José Mariano Jiménez, Chih; and S10: Fco. I Madero, Coah.....	32
CAPÍTULO IV	37

8 Electroforesis en gel de agarosa-TAE (1%) de ADN genómico obtenido de tejido vegetal de <i>Argemone</i> L. (Papaveraceae) con CETAB 1 (1-2), CTAB 2 (3-4), CTAB 3 (5-6) y Kit Comercial (7-8). (A y B) DNA degradado (C) DNA calidad óptima..	47
9. Evaluación de la viabilidad del ADN extraído de tejido vegetal de <i>Argemone</i> L. (Papaveraceae) por reacción de PCR. Protocolos CTAB 1, CTAB 2 y CTAB 3 (A) y Kit Comercial (B). Gen constitutivo amplificado <i>rbcL</i> (600 pb), MPM de 1 Kb (Promega, Fitchburg, WI, EUA).....	48

ABREVIATURAS USADAS

<i>A. mexicana</i>	<i>Argemone mexicana</i>
<i>A. pleiacantha</i>	<i>Argemone pleiacantha</i>
ADN	Ácido desoxirribonucleico
Bn	Berberina
C	Queleritina
CONAZA	Comisión Nacional de Zonas Áridas
CTAB	Bromuro de hexadeciltrimetilamonio
DC	Desierto Chihuahuense
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
G-A	Genotipo-Ambiente
Kb	Kilobases
MDC	Matorral Desértico Crassicaule
MDM	Matorral Desértico Micrófilo
MDR	Matorral Desértico Rosetófilo
mg	Miligramos
μM	Micro molar
MPM	Marcador de peso molecular
N	Norte
NaCl	Cloruro de sodio
ng	Nanogramos
pb	Pares de bases
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
<i>rbcL</i>	Gen codificante para Subunidad mayor de la Ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa
S	Sanguinarina
SADER	Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural

sp.	Especie de
spp.	Especies de
subsp.	Sub especie
TAE	Tris-Acetato-EDTA
Tris-HCl	Tris (hidroximetil) aminometano clorhidrato
μl	Microlitros
UV	Ultravioleta
UV/Vis	ultravioleta-visible
var.	variedad
W	Oeste

*Cierra con llave tus bibliotecas, si quieres,
pero no hay barrera, cerradura,
ni cerrojo que puedas imponer a la libertad de mi mente.*

Virginia Woolf

DEDICATORIAS

A Dios y al universo, por guiarme en mi camino y darme la fuerza para seguir adelante.

A mi mamá, ya que, con su apoyo, amor y esfuerzo me ha sido posible llegar hasta este momento.

A mi abuela, por ser un ejemplo de fuerza indómita e inquebrantable.

A mi hermana, por confiar en mí incluso en los momentos más difíciles.

A mi sobrino, por ser un nuevo motor en mi vida.

A mis amigos, ya que con su consejo y apoyo me ayudan a superar las dificultades.

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnología** (CONAHCYT) por el apoyo otorgado a través del Programa de Becas Nacionales, sin el cual, la presente investigación y de mis estudios de posgrado no hubieran sido posibles.

A la **Universidad Autónoma Chapingo** en especial a la **Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas** donde cursé el **Doctorado en Ciencias en Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas**, por darme el impulso para desarrollarme académicamente.

A la **Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez del Estado de Durango** por la confianza que tuvieron en mi al darme la apertura y el apoyo para llevar a cabo el desarrollo de mi proyecto de investigación.

A mi Comité Asesor:

Dr. Fabián García González, por su orientación, apoyo y confianza en mi proceso de formación doctoral.

Dr. Ricardo Tejo Calzada, por sus aportaciones y valiosas enseñanzas durante mi progreso como doctorante.

Dr. Jesús Josafath Quezada Rivera, por sus constantes aportes, consejos, experiencia y apoyo en el desarrollo de esta investigación.

Dr. Jaime Sánchez Salas, por su tiempo, experiencia, consejos y acompañamiento en el desarrollo y mejora de este trabajo.

A mi lectora externa:

Dra. Gisela Muro Pérez, por su tiempo y contribuciones para la mejora de este documento.

A mis colegas:

M.C. Margarita Jurado Pérez, por sus contribuciones y apoyo técnico.

M.C. Isaac Gramillo Ávila, por su apoyo y contribuciones en trabajo de campo.

Biol. Arturo Salcido Adame, por su valioso apoyo técnico.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre: Perla Patricia Ochoa García

Fecha de nacimiento: 17 de diciembre de 1992

Lugar de nacimiento: Gómez Palacio, Dgo., México

CURP: OOGP921217MDGCRR01

Profesión: Químico Farmacéutico Biólogo

Desarrollo académico

Preparatoria: Centro de Bachillerato Tecnológico industrial y de servicios No. 4
Técnico Laboratorista Clínico (2008-2011). Cédula profesional: 8309925.

Licenciatura: Químico Farmacéutico Biólogo, Facultad de Ciencias Químicas,
Campus Gómez Palacio, Universidad Juárez del Estado de Durango (2011-
2016). Cédula profesional: 10330549.

Maestría: Maestro en Ciencias Químicas, Facultad de Ciencias Químicas,
Campus Gómez Palacio, Universidad Juárez del Estado de Durango (2017-
2019). Cédula profesional: 11838152.

Desarrollo científico

Autor de artículos científicos sobre la morfometría y ecología de *Argemone*,
coautor de un artículo sobre rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal.
Participación como ponente en congresos nacionales e internacionales, dentro
de los que destacan el Congreso Nacional de Infectología y Microbiología Clínica,
Congreso Nacional y Congreso Internacional sobre Recursos Bióticos de Zonas
Áridas, Foro Regional de Investigación en Ciencias Biológicas y Ambientales. y
el Congreso Internacional de Biodiversidad Biológica. Colaboradora y co-
fundadora de Mujeres en la Ciencia de La Laguna A.C. Asociación civil dedicada

a promover la ciencia y la tecnología con perspectiva de género en actividades de divulgación científica como podcast, programas de radio y conferencias.

RESUMEN GENERAL

DIVERSIDAD MORFOLÓGICA, GENÉTICA Y CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE *Argemone* spp. DE LA PARTE MEDIA DEL DESIERTO CHIHUAHUENSE

El Desierto Chihuahuense constituye una de las áreas geográficas más diversas del norte de México, contando con gran variedad de especies vegetales de importancia comercial y etnobotánica, no obstante, también encontramos una considerable distribución de plantas denominadas malezas como las pertenecientes a *Argemone* L. (Papaveraceae). Sin embargo, se desconoce gran parte de la ecología de dichas plantas. El objetivo de este estudio fue determinar la diversidad morfológica, genética y fitoquímica de *Argemone* spp. en la parte media del Desierto Chihuahuense. Por lo cual, se realizó un análisis morfométrico y la determinación de minerales en el suelo y semillas de las poblaciones silvestres de *Argemone* pertenecientes al Desierto Chihuahuense. *Argemone pleiacantha* presentó diferencias para peso ($F = 54.79$, $p = 0.001$), longitud ($F = 90.83$, $p = 0.001$), espesor ($F = 104.89$, $p = 0.001$) y diámetro ($F = 155.82$, $p = 0.001$). Las diferencias encontradas en *Argemone mexicana* fueron peso ($F = 46.71$, $p = 0.001$), espesor ($F = 187.49$, $p = 0.001$), longitud ($F = 191.56$, $p = 0.001$) y diámetro ($F = 215.83$, $p = 0.001$). El contenido de micro y macronutrientes analizados en semillas y suelo sugiere una estrecha relación con las características morfométricas de las semillas. Diferentes protocolos para la extracción de ADN a partir de tejido vegetal de *Argemone* fueron evaluados, obteniendo ADN de calidad optima con el protocolo de Kit Comercial A_{260/280} ($F = 3.21$, $p = 0.045$), A_{260/230} ($F = 6.32$, $p = 0.003$), además de buenos rendimientos de extracción, logrando establecer procedimientos claros para la obtención de ADN de buena calidad en tejidos vegetales con alto contenido de fitoquímicos como alcaloides y fenoles que pueda ser empleado para análisis moleculares como PCR. Los resultados presentados son un primer acercamiento para dilucidar la importancia ecológica y biológica de *Argemone* L. (Papaveraceae) en la parte media del Desierto Chihuahuense.

Palabras Clave: Malezas, *Argemone pleiacantha*, *Argemone mexicana*, morfología, PCR.

Tesis de Doctorado en Ciencias en Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas,
Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: Perla Patricia Ochoa García

Director de Tesis: Dr. Fabián García González

ABSTRACT

MORPHOLOGICAL, GENETIC, AND PHYTOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF *Argemone* spp. IN THE CENTRAL PART OF THE CHIHUAHUAN DESERT

The Chihuahuan Desert is one of the most diverse geographic areas in northern Mexico, with a great variety of plant species of commercial and ethnobotanical significance. However, there is also a considerable distribution of so-called weed plants, such as those belonging to *Argemone* L. (Papaveraceae). Much of the ecology of these plants remains unknown. The objective of this study was to determine the morphological, genetic, and phytochemical diversity of *Argemone* spp. in the middle part of the Chihuahuan Desert. A morphometric analysis was conducted, and the mineral content in the soil and seeds of wild populations of *Argemone* in the Chihuahuan Desert was determined. *Argemone pleiacantha* showed significant differences in weight ($F = 54.79$, $p = 0.001$), length ($F = 90.83$, $p = 0.001$), thickness ($F = 104.89$, $p = 0.001$), and diameter ($F = 155.82$, $p = 0.001$). *Argemone mexicana* exhibited significant differences in weight ($F = 46.71$, $p = 0.001$), thickness ($F = 187.49$, $p = 0.001$), length ($F = 191.56$, $p = 0.001$), and diameter ($F = 215.83$, $p = 0.001$). The content of micro and macronutrients analyzed in seeds and soil suggests a close relationship with the morphometric characteristics of the seeds. Various protocols for DNA extraction from *Argemone* plant tissue were evaluated, achieving optimal quality DNA with the Commercial Kit protocol $A_{260/280}$ ($F = 3.21$, $p = 0.045$) $A_{260/230}$ ($F = 6.32$, $p = 0.003$), and good extraction yields. These protocols established clear procedures for obtaining high-quality DNA from plant tissues with high content of phytochemicals, such as alkaloids and phenols, which can be used for molecular analyses like PCR. The presented results offer an initial approach to elucidate the ecological and biological importance of *Argemone* L. (Papaveraceae) in the middle part of the Chihuahuan Desert.

Keywords: Weeds, *Argemone pleiacantha*, *Argemone mexicana*, morphology, PCR.

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

El territorio mexicano está conformado por un 50-70 % de regiones áridas y semiáridas (Sánchez-González & Granados-Sánchez, 2003). Las zonas áridas tienen la característica de ser áreas en las que predomina la sequedad extrema además de elevados niveles de evapotranspiración y escasa precipitación anual, lo que genera una baja disponibilidad de agua (SADER, 2016). Los ecosistemas áridos y semiáridos constituyen 56.92 millones de hectáreas forestales en el país (CNF, 2018).

Una de las zonas áridas de mayor extensión territorial en México es el Desierto Chihuahuense (DC), el cual abarca un área aproximada de 647,500 Km² (Hoyt, 2002). Dicha área geográfica se sitúa en la parte norcentral de México, entre la Sierra Madre Oriental y la Sierra Madre Occidental (Granados-Sánchez et al., 2011), llegando hasta el sur de los Estados Unidos (Sánchez-González & Granados-Sánchez, 2003).

Los ecosistemas áridos se caracterizan por tener una cubierta y biomasa vegetal baja. Las plantas perennes pueden formar parches de alta biomasa, intercalados por áreas casi desnudas. Durante períodos húmedos ocasionales, los valores promedio de biomasa pueden aumentar debido al crecimiento exuberante de plantas anuales y otras de corta vida u oportunistas (Huenneke et al., 2001). Entre las especies anuales o efímeras distribuidas en el DC se encuentran algunas pertenecientes a la familia Papaveraceae, la cual se distribuye ampliamente en las regiones templadas y subtropicales en el hemisferio norte, en el sureste de África y este de Australia (Mabberley, 2008).

La familia Papaveraceae es comúnmente conocida como la familia de las amapolas, está compuesta por 44 géneros y 760 especies reconocidas hasta el momento (Granados-Echegoyen et al., 2018). El género *Argemone* (Papaveraceae) está constituido por aproximadamente 60 especies acreditadas, de las cuales 28 son nativas de América (Cuellar et al., 2013). Entre las especies distribuidas con mayor éxito en el DC se encuentran *Argemone pleiacantha* Greene (*A. pleiacantha*) conocida comúnmente como amapola espinosa del sudoeste o por amapola espinosa de Sacramento y *Argemone mexicana* L (*A. mexicana*) conocida como chicalote o cardo santo (CPC, 2018).

Algunas especies del género *Argemone* han sido estudiadas en las áreas de la química y farmacia debido a su alto contenido de alcaloides como berberina, protopina, sanguinarina y queleritrina (Rajvaidhya et al., 2012). La herbolaria tradicional les atribuye propiedades analgésicas, antiespasmódicas, posiblemente alucinógenas y sedantes, comúnmente se usa como agente curativo tradicional en el tratamiento de la malaria, verrugas, herpes labial y enfermedades de la piel (Bairagi et al., 2017). Así mismo, se ha explorado algunas cuestiones biotecnológicas de este género, como la obtención de biodiesel a partir de las semillas de *A. pleiacantha* y *A. mexicana* (Rao et al., 2012; Trejo-Calzada et al., 2019).

Las plantas de *Argemone* al no ser comestibles y estar catalogadas como malezas no han sido estudiadas ampliamente. Por lo cual, se desconoce mucho sobre su ecología (Karnawat & Malik, 2011). Sin embargo, en la actualidad las malezas son de interés en el ámbito científico, debido al aumento de la diversidad genética que representan, a su potencial uso en trabajos de entomología y fitopatología como fuente de sustancias repelentes o biocidas (Granados-Echegoyen et al., 2018). Las plantas ruderales como *Argemone* juegan un papel importante en los campos de cultivo de la gran mayoría de agricultores tradicionales, quienes hacen uso de estas, empleándolas como bioplaguicidas, cultivos trampa, o con fines medicinales. El enfoque anteriormente abordado

sobre las plantas sinantrópicas específicamente las de *Argemone* sp., nos permite entender el potencial que pueden tener de dichas plantas desde un punto de vista biológico y su utilidad para agricultores. Estudios previos han encontrado que poblaciones aisladas de *Argemone* pueden diferenciarse al nivel de subespecie (Cervantes et al., 2010). Sin embargo, los genotipos de *Argemone* en México y en particular de la región del DC no han sido genéticamente caracterizados. Dada la extensa distribución de esta especie en el norte de México es concebible que las poblaciones puedan estar diferenciadas genéticamente y que haya variación en su morfología, proporciones y tipos de compuestos activos. El objetivo de este estudio fue determinar la diversidad morfológica, genética y fitoquímica de *Argemone* en la parte media del Desierto Chihuahuense.

La presente Tesis de Investigación Doctoral contiene dos capítulos sobre el estado del arte de *Argemone* L. (Papaveraceae); abordando información sobre su taxonomía, distribución y aplicaciones. El capítulo III corresponde al primer artículo publicado derivado de la presente tesis doctoral. El capítulo IV desarrolla los protocolos de extracción de ADN a partir de tejido vegetal de *Argemone* L. (Papaveraceae).

1.2. OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo general

Evaluar la diversidad morfológica, genética y fitoquímica de *Argemone* spp. de la parte media del Desierto Chihuahuense de México.

1.2.2 Objetivos específicos

- i) Establecer las relaciones morfológicas entre los genotipos de *Argemone* spp. de la parte media del Desierto Chihuahuense de México.
- ii) Evaluar la diversidad genética de *Argemone* spp. de la parte media del Desierto Chihuahuense de México.

- iii) Evaluar las propiedades fitoquímicas de *Argemone spp.* de la parte media del Desierto Chihuahuense

1.3. HIPOTESIS

- i) Existe una amplia diversidad morfológica y genética de *Argemone spp.* en la parte media del Desierto Chihuahuense de México.
- ii) Existe relación entre diversidad genética y la cantidad de compuestos fitoquímicos de poblaciones de *Argemone spp.* de la parte media del Desierto Chihuahuense de México.

LITERATURA CITADA

- Bairagi, S. M., Pathan, I. B., & Nitin, N. (2017). Evaluation of diuretic and laxative activity of aqueous extract of *Argemone mexicana* leaves in rats. *Ars Pharm*, 58(2), 53-58. <https://doi.org/10.4321/S2340-98942017000200002>
- Cervantes, S. D., Tonne, P., Govindarajulu, R., Alexander, P. J., & Bailey, C. D. (2010). Population genetic analysis of *Argemone pleiacantha* subsp. *pinnatisecta* (sacramento prickly poppy, papaveraceae) and re-evaluation of its taxonomic status. *J. Bot. Res. Inst. Texas*, 4(1), 261-269.
- CNF. (2018). *Las zonas áridas son más que desierto*. Comisión Nacional Forestal. <https://www.gob.mx/conafor/es/articulos/las-zonas-aridas-son-mas-que-desierto?idiom=es>
- CPC. (2018). *Argemone pleiacantha ssp. pinnatisecta*. <https://saveplants.org/national-collection/plant-search/plant-profile/?CPCNum=277>
- Cuellar, N., Lujan, M. C., & Cosa, M. T. (2013). *Argemone subfusiformis* (Papaveraceae) especie nativa de interés etnomédico: su anatomía y aplicación en el control de calidad. *Arnaldoa*, 20(1), 69-82.
- Granados-Echegoyen, C. A., Chan-Bacab, M. J., Ortega-Morales, B. O., Vásquez-López, A., Lagunez-Rivera, L., Fidel Diego-Nava, F., & Gaylarde, C. (2018). *Argemone mexicana* (Papaverales: Papavaraceae) as an alternative for mosquito control: First report of larvicidal activity of flower extract. *J. Med. Entomol.*, XX(X), 1-7. <https://doi.org/10.1093/jme/tjy159>
- Granados-Sánchez, D., Sánchez-González, A., Linnx-Granados, V. R., & Borja-De-la-Rosa, A. (2011). Ecología de la vegetación del desierto

- Chihuahuense. *Rev. Chapingo, Ser. Cienc. For. y del Ambient.*, XVII(Edición Especial), 111-130. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa>
- Hoyt, C. A. (2002). The Chihuahuan Desert: diversity at risk. *Endalger. Species. Bull.*, XXVII(2), 16-17.
- Hueneke, L. F., Clason, D., & Muldavin, E. (2001). Spatial heterogeneity in Chihuahuan Desert vegetation: implications for sampling methods in semi-arid ecosystems. *J. Arid Environ.*, 47, 257-270. <https://doi.org/10.1006/jare.2000.0678>
- Karnawat, M., & Malik, C. P. (2011). Phylogenetic relationships of *Argemone* species based on seed and leaf protein polymorphism revealed by SDS-PA. *Jour Pl Sci Res*, 27(2), 211-214.
- Mabberley, D. J. (2008). *Mabberley's Plant-book: A Portable Dictionary of Plants, Their Classification and Uses*. Cambridge University Press.
- Rajvaidhya, S., Nagori, B. P., Singh, G. K., Dubey, B. K., Desai, P., & Sanjay, J. (2012). A review on *Argemone mexicana* Linn.- An Indian medicinal plant. *IJPRS*, 3(08), 2494-2501.
- Rao, R., Zubaidha, P., Kondhare, D., Reddy, N., & Deshmukh, S. (2012). Biodiesel production from *Argemone mexicana* seed oil using crystalline manganese carbonate. *Pol. J. Chem. Tech*, 14(1), 65. <https://doi.org/https://doi.org/10.2478/v10026-012-0061-x>
- SADER. (2016). Zonas áridas, un rostro diferente del campo. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/zonas-aridas-un-rostro-diferente-del-campo#:~:text=Los%20diez%20estados%20mexicanos%20con,Luis%20Potos%C3%AD%2C%20Sonora%20y%20Zacatecas.&text=Se%20le%20conocen%20como%20zonas,predominan%20condiciones%20de%20sequedad%20extrema>.
- Sánchez-González, A., & Granados-Sánchez, D. (2003). Ordenación de la vegetación de la Sierra de Catorce, San Luis Potosí, a lo largo de gradientes ambientales. *TERRA*, 21(3), 311-319.
- Trejo-Calzada, R., Villarreal-Ornelas, E. C., Sánchez-Cohen, I., Agustín Velásquez-Valle, M. A., & BuendíaTamariz, M. N. (2019). Producción de biodiesel a partir de semillas de *Argemone pleiacantha* Greene. *Tecnol. Marcha* 32(Especial XIII CLIA), 109-114. <https://doi.org/10.18845/tm.v32i7.4268>

CAPÍTULO II

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Zonas Áridas

Las zonas áridas constituyen sistemas ecológicos muy diversos y a la vez vulnerables del planeta; abarcan alrededor de un 41% de la superficie mundial, donde se estima que habitan alrededor de tres mil millones de personas (Cano, 2019). Las zonas áridas comparten características muy específicas entre las que destacan; un potencial de evapotranspiración superior a la precipitación anual, lo cual ocasiona una baja disponibilidad de agua, suelos con pocos nutrientes y temperaturas extremas (CNF, 2018). Los ecosistemas áridos y semiáridos suelen tener una apariencia desolada e improductiva, sin embargo, dichos ecosistemas tienen una alta diversidad biológica y contienen importantes redes de interacciones biológicas (Briones et al., 2018).

El territorio mexicano se encuentra constituido por un aproximado de 50-70% de regiones áridas y semiáridas (Sánchez-González & Granados-Sánchez, 2003). Dichas regiones abarcan alrededor de 56.92 millones de hectáreas forestales de las 138 millones que posee México (CNF, 2018). La Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER), reporta que las entidades federativas con mayor grado de aridez en México son: Chihuahua, Coahuila, Durango, Nuevo León, San Luis Potosí, Sonora, Zacatecas, Aguascalientes, Baja California y Baja California Sur (SADER, 2016). Las estimaciones de la Comisión Nacional de Zonas Áridas (CONAZA) indican que de la población total de México, el 18% habita en ecosistemas áridos y semiáridos (CNF, 2018).

2.2. Desierto Chihuahuense

El Desierto Chihuahuense (DC) es considerado como una de las regiones áridas biológicamente más diversas del mundo (Hoyt, 2002). Dicha región es una de las

zonas áridas de mayor extensión, abarcando un área que se aproxima a 647,500 km² (Hoyt, 2002), siendo así el desierto más grande de América del Norte. El DC se sitúa en la parte Norcentral de México, entre la Sierra Madre Oriental y la Sierra Madre Occidental (Granados-Sánchez et al., 2011), abarcando áreas del sur de los Estados Unidos como parte de Texas y Nuevo México, porciones bajas de los estados de Chihuahua y Coahuila, partes de Durango, Zacatecas, Nuevo León y San Luis Potosí (Sánchez-González & Granados-Sánchez, 2003).

El DC ha sido subdividido en tres regiones: Trans-Pecos que es la zona más septentrional, la cual abarca aproximadamente 40 % de la superficie e incluye las secciones pertenecientes a los Estados Unidos. La región media (dominada por piedra caliza y playas) incluye el Bolsón de Mapimí, parte del oriente de Chihuahua, Coahuila y Durango. La tercera región, denominada como Saladan limita la parte austral del DC extendiéndose en áreas de Zacatecas y San Luis Potosí (Brown, 1982).

2.3 Vegetación del Desierto Chihuahuense

El DC incluye tres tipos básicos de vegetación: matorral desértico micrófilo (MDM) de suelos de aluvión p. ej. *Parthenium incanum* (copalillo), *Larrea tridentata* (gobernadora), *Salvia ballotiflora* (mejorana), *Vachellia constricta* (huizache), *Lycium berlandieri* (campanillas), *Jatropha dioica* (sangre de drago) (CONABIO, 2024; CONAFOR, 2024b; Tropicos.org, 2024a); matorral desértico rosetófilo (MDR) p. ej. *Agave lechuguilla* (agave), *Dasyllirion leiophyllum* (sotol brillante), *Yucca torreyi* (palma china) en rocas calizas y terrenos de buen drenaje (CONAFOR, 2024a) y matorral desértico crassicaule (MDC) como *Ariocarpus fissuratus* (biznaga), *Ariocarpus kotschoubeyanus* (pata de venado), *Coryphantha glanduligera* (biznaga amarilla); ligados a sitios rocosos y suelos de naturaleza ígnea (Rzedowski, 1978; Villavicencio-Gutiérrez et al., 2010).

Los ecosistemas semiáridos se caracterizan por tener una cubierta y biomasa vegetal baja la mayor parte del año. Sin embargo, las plantas perennes de larga vida pueden formar parches de alta biomasa, intercalados por áreas casi desnudas. Los periodos de humedad ocasionales que se presentan en el DC

suelen influir en el aumento de los valores promedio de biomasa debido al crecimiento exuberante de plantas anuales y otras de corta vida u oportunistas como aquellas plantas pertenecientes a la familia Papaveraceae (Huenneke et al., 2001).

2.4 Antecedentes de la familia Papaveraceae y género *Argemone*

La familia Papaveraceae es conocida popularmente como la familia de las amapolas, la cual se conforma de 44 géneros (Cuadro 1) y reconoce 760 especies (Granados-Echegoyen et al., 2018), distribuidas en zonas templadas de América del Norte (Calderón-De-Rzedowski, 1991).

Cuadro 1. Géneros que conforman a la familia Papaveraceae (Natusfera, 2020).

Géneros de la familia Papaveraceae			
<i>Lamprocapnos</i>	<i>Dendromecon</i>	<i>Meconella</i>	<i>Rupicapnos</i>
<i>Ichtyoselmis</i>	<i>Hunnemannia</i>	<i>Canbya</i>	<i>Hesperomecon</i>
<i>Discocapnos</i>	<i>Eschscholzia</i>	<i>Arctomecon</i>	<i>Platystemon</i>
<i>Cysticapnos</i>	<i>Bocconia</i>	<i>Roemeria</i>	<i>Stylophorum</i>
<i>Corydalis</i>	<i>Macleaya</i>	<i>Argemone</i>	<i>Hylomecon</i>
<i>Ceratocapnos</i>	<i>Eomecon</i>	<i>Papaver</i>	<i>Meconopsis</i>
<i>Pseudofumaria</i>	<i>Sanguinaria</i>	<i>Romneya</i>	
<i>Platycapnos</i>	<i>Chelidonium</i>	<i>Romneya</i>	
<i>Sarcocapnos</i>	<i>Glaucium</i>	<i>Fumariola</i>	
<i>Cryptocapnos</i>	<i>Dicranostigma</i>	<i>Fumaria</i>	

El género *Argemone* (Papaveraceae) se conforma por un aproximado de 60 especies (Cuadro 2), de las cuales 28 son nativas del continente americano (Cuellar et al., 2013).

La primera especie de *Argemone* conocida por la ciencia fue *Argemone mexicana*, que fue cultivada por John Gerard a partir de semillas provenientes de la Isla St. Johns, Indias Occidentales, en 1592 (Ownbey, 1958). Caspar Bauhin (1596) fue el primero en publicar una descripción de la especie, bajo el nombre de *Papaver spinosum*. Su descripción fue seguida un año después por la de Gerard (1597) quien ilustró y discutió la especie bajo el nombre *Cardus*

chrysanthemus peruanus. Tournefort (1694) estableció el nombre *Argemone* en su sentido moderno (Ownbey, 1958). En él colocó solo una especie, *Papaver spinosum* de Bauhin, a la que se refirió como *Argemone mexicana*. Las especies previamente tratadas bajo *Argemone* fueron transferidas por Tournefort al género *Papaver* (Tournefort, 1719). Las siguientes especies de *Argemone* reconocidas científicamente se introdujeron en Europa por medio de semillas provenientes de México (Ownbey, 1958). Estas especies, todas descritas de plantas cultivadas, fueron *A. platyceras* Link & Otto, *A. ochroleuca* Sweet (1829) y *A. grandiflora* Sweet (1829) (Tropicos.org, 2023b). La primera revisión completa de *Argemone* fue la que realizara el Dr. David Prain basada en especímenes de los herbarios de Londres, París y Ginebra, publicada en 1895 (Ownbey, 1958). El Dr. Edward L. Greene describió varias especies de *Argemone* entre las que destacan; *A. corymbosa*, *A. bipinnatifida*, *A. gracilentia* y *A. leiocarpa*, *A. sanguinea*, *A. squarrosa* y *A. pleiacantha* (Tropicos.org, 2023a).

Cuadro 2. Especies del género *Argemone* (MBG, 2020).

Especies del género <i>Argemone</i>		
<i>Argemone aenea</i>	<i>Argemone gracilentia</i>	<i>Argemone polyanthemom</i>
<i>Argemone alba</i>	<i>Argemone grandiflora</i>	<i>Argemone purpurea</i>
<i>Argemone albiflora</i>	<i>Argemone hispida</i>	<i>Argemone rosea</i>
<i>Argemone arenicola</i>	<i>Argemone hunnemannii</i>	<i>Argemone rotundata</i>
<i>Argemone arida</i>	<i>Argemone intermedia</i>	<i>Argemone sanguinea</i>
<i>Argemone arizonica</i>	<i>Argemone intermedia</i>	<i>Argemone sexvalis</i>
<i>Argemone armeniaca</i>	<i>Argemone leiocarpa</i>	<i>Argemone sexvalvis</i>
<i>Argemone aurantiaca</i>	<i>Argemone mexicana</i>	<i>Argemone spinosa</i>
<i>Argemone barclayana</i>	<i>Argemone mucronata</i>	<i>Argemone squarrosa</i>
<i>Argemone bipinnatifida</i>	<i>Argemone munita</i>	<i>Argemone stenopetala</i>
<i>Argemone brevicornuta</i>	<i>Argemone ochrolenia</i>	<i>Argemone subalpina</i>
<i>Argemone burkartii</i>	<i>Argemone mucronata</i>	<i>Argemone subfusiformis</i>
<i>Argemone cambrica</i>	<i>Argemone munita</i>	<i>Argemone subinermis</i>
<i>Argemone chisosensis</i>	<i>Argemone ochrolenia</i>	<i>Argemone subintegrifolia</i>
<i>Argemone corymbosa</i>	<i>Argemone ochroleuca</i>	<i>Argemone sulphurea</i>
<i>Argemone crassifolia</i>	<i>Argemone ownbeyana</i>	<i>Argemone superba</i>
<i>Argemone delicatula</i>	<i>Argemone pinnatifida</i>	<i>Argemone turnerae</i>
<i>Argemone echinata</i>	<i>Argemone ownbeyana</i>	<i>Argemone versicolor</i>
<i>Argemone fruticosa</i>	<i>Argemone pinnatifida</i>	<i>Argemone vulgaris</i>
<i>Argemone georgiana</i>	<i>Argemone platyceras</i>	
<i>Argemone glauca</i>	<i>Argemone pleiacantha</i>	

2.5 Distribución ecológica de *Argemone*

Argemone es un género con gran distribución en el continente americano, con excepción de las especies nativas de las islas de Hawái. A partir de América, se dispersó en las regiones tropicales y subtropicales (Juárez-García et al., 2020). La distribución del género se ha reportado en diversos países de Norte América y Sudamérica. En Australia, India, Pakistán, Etiopía y Asia *Argemone* es considerado como una planta invasora al competir con la flora nativa (Alemayehu, 2011; Mirtadzadini et al., 2017; Rajvaidhya et al., 2012).

En América del Sur se han identificado al menos cinco taxones del género *Argemone* en Chile, Argentina, Uruguay, Paraguay, Bolivia y Panamá (Ownbey, 1958). *Argemone* se encuentra distribuido a lo largo de las áreas costeras del sureste y sur de los Estados Unidos hasta Texas, así como en regiones desérticas; el norte de California y el sureste de Oregón. *Argemone* está presente en todo México (Villaseñor, 2016) y América Central, excepto en montañas muy altas (Ownbey, 1958). Plantas del género *Argemone* se encuentran principalmente distribuidas en estados del norte de México (Villaseñor, 2016). Las especies de este género se encuentran en regiones con baja precipitación, en elevaciones cercanas al nivel del mar o hasta 2400 msnm, rara vez mayor altitud; en áreas de lluvias moderadamente fuertes, se localizan en suelos con capacidad de retención de agua (Ownbey, 1958).

2.6 Aporte ecológico de *Argemone* spp. a las zonas áridas

Las zonas áridas y semiáridas se caracterizan por tener grandes extensiones de suelo casi desnudo con un porcentaje muy bajo de biomasa (Huenneke et al., 2001). Sin embargo, las plantas efímeras o anuales como *Argemone* spp. tienen papeles muy importantes en los sistemas del agroecosistema ubicados en el DC ya que en temporadas húmedas aumentan la cobertura del suelo jugando un papel importante contra la erosión contribuyendo a mejorar la conservación del suelo. Además, contribuyen a la formación de materia orgánica, la fijación del

nitrógeno en el suelo, la preservación de los insectos beneficiosos y de la vida silvestre (Huenneke et al., 2001; NACOBIO, 2022). Las plantas de *Argemone* ofrecen un aporte importante para los enemigos naturales de los cultivos aledaños como fuentes opcionales de polen o néctar, conformando micro hábitats que no se encuentran presentes en cultivos libres de malezas (Verdegen, 2022).

2.7 Reproducción y dispersión de *Argemone*

Las plantas pueden englobarse en dos clases: plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas. Ambas clases poseen flor, es decir, son angiospermas. La diferencia fundamental es que a la primera cuando germina le brota sólo un cotiledón y a la segunda dos o más (Flores, 2014). Las plantas de *Argemone* se clasifican como dicotiledóneas (unavarra, 2023) su sistema de reproducción es sexual. La doble fecundación es exclusiva de las angiospermas. En las plantas, la unión de una célula espermática con la ovocélula forma un cigoto unicelular (Taiz & Zeiger, 2010). En las angiospermas, no obstante, este acontecimiento va acompañado de un segundo evento de fecundación, en el que otra célula espermática se une a dos núcleos polares para formar un núcleo de endospermo triploide, a partir del cual se desarrollará el endospermo (Flores, 2014; Taiz & Zeiger, 2010). La embriogénesis se produce en el saco embrionario y estructuras asociadas darán lugar a la semilla. La embriogénesis y el desarrollo del endosperma se producen paralelamente durante el desarrollo de la semilla, y el embrión forma parte de la semilla (Taiz & Zeiger, 2010). El endospermo también puede formar parte de la semilla madura, aunque en algunas semillas desaparece antes de que se haya completado el desarrollo de la misma. La embriogénesis y el desarrollo de la semilla son procesos altamente ordenados e integrados, iniciándose los dos tras la doble fecundación (Taiz & Zeiger, 2010). Una vez completados, la semilla y el embrión entran en latencia y son capaces de sobrevivir durante largos periodos de tiempo en condiciones desfavorables para el crecimiento (Finkelstein et al., 2008). La capacidad para formar semillas es una de las claves del éxito evolutivo en plantas angiospermas como *Argemone* sp. (Blanco & Leyva, 2007).

La actividad antrópica ha desempeñado un papel importante en la distribución de *Argemone*, el cual probablemente ha sido pasivo en la mayoría de los casos o bien, las semillas han sido transportadas como contaminantes en semillas de plantas de cultivo de un tamaño similar (Ownbey, 1958). Las semillas de *A. mexicana* y *A. ochroleuca* son contaminantes frecuentes de los cereales (Jimoh et al., 2010). Sin embargo, factores abióticos como el viento y el agua también son eficientes en la dispersión de las semillas de *Argemone* (Ownbey, 1958). Dichas plantas pueden ser encontradas a lo largo de drenajes, bordes de carreteras, campos cultivados o en estado de abandono y se les considera una maleza (Alemayehu, 2011; Jimoh et al., 2010; Rajvaidhya et al., 2012).

2.8 Taxonomía

La taxonomía de *A. pleiacantha* y *A. mexicana* se describe como (CAS, 2020; Greene, 2020):

Reino: Plantae

Filo: Tracheophyta

Subfilo: Angiospermae

Clase: Equisetopsida

Subclase: Magnoliopsida

Superorden: Ranunculanae

Orden: Ranunculales

Familia: Papaveraceae

Subfamilia: Papaveroideae

Género: *Argemone*

Especie: *Argemone pleiacantha* Greene

A. mexicana L.

2.9 *Argemone pleiacantha* Greene

Argemone pleiacantha es una hierba perenne con un ciclo de vida corto (Su, 2008), produce flores blancas, mientras que las hojas espinosas y los frutos la protegen de muchos depredadores, es una planta perenne robusta, herbácea,

con múltiples tallos ramificados (Figura 1). El crecimiento de *A. pleiacantha* va de aproximadamente de 0.5 a 1.5 m de altura y posee hojas de color verde azulado con nervaduras protegidas con espinas amarillas. *A. pleiacantha* produce látex amarillo. El periodo de floración de estas plantas va de mayo a agosto (CPC, 2018). Los especímenes de *A. pleiacantha* son considerados como maleza y pueden ser encontrados tanto en campos de cultivo abandonados o en producción (Alemayehu, 2011). Se han descrito las siguientes subespecies de *Argemone pleiacantha* (MBG, 2020):

Argemone pleiacantha

Argemone pleiacantha subsp. *ambigua*

Argemone pleiacantha var. *ambigua*

Argemone pleiacantha subsp. *pinnatisecta*

Argemone pleiacantha var. *pinnatisecta*

Argemone pleiacantha subsp. *pleiacantha*



Figura 1. *Argemone pleiacantha* Greene (Papaveraceae).

2.10 *Argemone mexicana* L.

Las plantas de *Argemone mexicana* son consideradas como los “chicalotes” más exitosos en el territorio mexicano, resaltando su presencia en la zona norte del país (Chihuahua, Coahuila, Durango, Zacatecas), se le conoce comúnmente como chicalote, cardo santo, cardo o amapolilla (CONABIO, 2009; Tropicos.org, 2024b; Villaseñor, 2016). La especie es una herbácea erecta de crecimiento anual de corta vida. Mide aproximadamente de 0.5 a 1 m de altura, tiene hojas de color verde azulado, lanceoladas con numerosas espinas, produce flores amarillas y su fruto es una cápside espinosa (Figura 2). *A. mexicana* produce látex amarillo. El periodo de floración se reporta de enero a abril (CONABIO, 2009). Los especímenes de *A. mexicana* suelen ser encontrados en orillas de

carretera, campos de cultivo, vías férreas y bordes de carretera y al igual que otras especies del género son considerados como maleza (Alemayehu, 2011; CONABIO, 2009).



Figura 2. *Argemone mexicana* L. (Papaveraceae).

2.11. Importancia etnobotánica de *Argemone* L.

En el sistema tradicional de medicina, las plantas de *Argemone* sp. se usan ampliamente en el tratamiento de tumores, verrugas, enfermedades de la piel, inflamaciones, reumatismo, ictericia, lepra, hemorroides y disentería (Priya & Rao, 2012), además se le atribuyen propiedades analgésicas, antiespasmódicas, posiblemente alucinógenas y sedantes (Bairagi et al., 2017) . La decocción de la

hoja se usa para curar la fiebre palúdica y úlceras. Las semillas son eficaces en el tratamiento de la lepra, la hidropesía y la ictericia (Priya & Rao, 2012). Las flores presentan propiedades expectorantes y se implementan en el tratamiento de la tos (Brahmachari et al., 2010).

Para la medicina tradicional de la India, Brasil y pueblos mesoamericanos el uso de *Argemone* con propósitos medicinales ha sido de gran relevancia para satisfacer la necesidad de tratamientos ante alguna afección clínica (Blanco-Valdes, 2016; Brahmachari et al., 2013; Priya & Rao, 2012). Debido a la importancia etnobotánica que se le ha conferido a *Argemone* en diferentes culturas, en los últimos años muchas investigaciones científicas se han realizado en diferentes partes de estas plantas lo que ha generado un área de interés para investigadores que deseen aislar compuestos de interés farmacológico (Priya & Rao, 2012). Se han logrado identificar una gran cantidad de componentes químicos provenientes de *Argemone* sp., incluidos alcaloides de isoquinolina, compuestos alifáticos y fenólicos, aminoácidos y ácidos grasos (Sharanappa & Vidyasagar, 2014). Los alcaloides que han sido principalmente aislados de *Argemone* son berberina (Bn), queleritrina (C) y sanguinarina (S) (Xool-Tamayo et al., 2017).

LITERATURA CITADA

- Alemayehu, K. (2011). Prevalence and effects of *Argemone mexicana* (Papaveraceae) on biodiversity in Ethiopia. *Afr. J. Ecol*, 50(2), 160-166.
- Bairagi, S. M., Pathan, I. B., & Nitin, N. (2017). Evaluation of diuretic and laxative activity of aqueous extract of *Argemone mexicana* leaves in rats. *Ars Pharm*, 58(2), 53-58. <https://doi.org/10.4321/S2340-98942017000200002>
- Blanco-Valdes, Y. (2016). El rol de las arvenses como componente en la biodiversidad de los agroecosistemas. *Cult. trop*, 37, 34-56. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362016000400003&nrm=iso
- Blanco, Y., & Leyva, A. (2007). Las arvenses en el agroecosistema y sus beneficios agroecológicos como hospederas de enemigos naturales. *Cult. trop*, 28(2), 21-28.
- Brahmachari, G., Gorai, D., & Roy, R. (2013). *Argemone mexicana*: Chemical and pharmacological aspects. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23(3), 559-575. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013005000021>

- Brahmachari, G., Roy, R., Mandal, L. C., Ghosh, P. P., & Gorai, D. (2010). A new long-chain secondary alkanediol from the flowers of *Argemone mexicana*. *J. Chem. Res*, 34(11), 656-657. <https://doi.org/10.3184/030823410X12888074368680>
- Briones, O., Búrquez, A., Martínez-Yrizar, A., Pavón, N., & Perroni, Y. (2018). Biomasa y productividad en las zonas áridas mexicanas. *Madera y Bosques* 24(e2401898), 1-19.
- Brown, D. E. (1982). Chihuahuan desert scrub. *Desert Plants*, 4(1-4), 169-179.
- Calderón-De-Rzedowski, G. (1991). Papaveraceae. *FLORA DEL BAJÍO Y DE REGIONES ADYACENTES*, Fascículo 1.
- Cano, J. E. S. (2019). *Desarrollo sostenible de zonas áridas y semiáridas frente al cambio climático*. Universidad Juárez del Estado de Durango.
- CAS. (2020). *Argemone pleiacantha*. Naturalista. <https://www.naturalista.mx/taxa/126452-Argemone-pleiacantha>
- CNF. (2018). *Las zonas áridas son más que desierto*. Comisión Nacional Forestal. <https://www.gob.mx/conafor/es/articulos/las-zonas-aridas-son-mas-que-desierto?idiom=es>
- CONABIO. (2009). *Argemone mexicana* L. <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/papaveraceae/argemone-mexicana/fichas/ficha.htm>
- CONABIO. (2024). *Mejorana*. *Salvia* *ballotiflora*. <https://enciclovida.mx/especies/171781>
- CONAFOR. (2024a). *Agave* *lechuguilla* Torr. <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/881Agave%20lechuguilla.pdf>
- CONAFOR. (2024b). *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/887Atriplex%20canescens.pdf>
- CPC. (2018). *Argemone pleiacantha* ssp. *pinnatisecta*. <https://saveplants.org/national-collection/plant-search/plant-profile/?CPCNum=277>
- Cuellar, N., Lujan, M. C., & Cosa, M. T. (2013). *Argemone subfusiformis* (Papaveraceae) especie nativa de interés etnomédico: su anatomía y aplicación en el control de calidad. *Arnaldoa*, 20(1), 69-82.
- Finkelstein, R., Reeves, W., Ariizumi, T., & Steber, C. (2008). Molecular aspects of seed dormancy. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 387-415.
- Flores. (2014). *Plantas dicotiledóneas*. Retrieved Enero 19 from <https://www.flores.ninja/plantas-dicotiledoneas/>
- Granados-Echegoyen, C. A., Chan-Bacab, M. J., Ortega-Morales, B. O., Vásquez-López, A., Lagunez-Rivera, L., Fidel Diego-Nava, F., & Gaylarde, C. (2018). *Argemone mexicana* (Papaverales: Papavaraceae) as an alternative for mosquito control: First report of larvicidal activity of flower extract. *J. Med. Entomol*, XX(X), 1-7. <https://doi.org/10.1093/jme/tjy159>
- Granados-Sánchez, D., Sánchez-González, A., Linnx-Granados, V. R., & Borja-De-la-Rosa, A. (2011). Ecología de la vegetación del desierto Chihuahuense. *Rev. Chapingo, Ser. Cienc. For. y del Ambient*, XVII(Edición Especial), 111-130. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa>

- Greene, E. L. (2020). *Argemone pleiacantha* Greene. <http://legacy.tropicos.org/Name/24000122>
- Hoyt, C. A. (2002). The Chihuahuan Desert: diversity at risk. *Endalger. Species. Bull*, XXVII(2), 16-17.
- Huenneke, L. F., Clason, D., & Muldavin, E. (2001). Spatial heterogeneity in Chihuahuan Desert vegetation: implications for sampling methods in semi-arid ecosystems. *J. Arid Environ*, 47, 257-270. <https://doi.org/10.1006/jare.2000.0678>
- Jimoh, F., Adedapo, A., Aliero, A., & Afolayan, A. (2010). Polyphenolic and biological activities of leaves extracts of *Argemone subfusiformis* (Papaveraceae) and *Urtica urens* (Urticaceae). *Rev. Biol. Trop*, 58(4), 1513-1531.
- Juárez-García, R. A., Sanzón-Gómez, D., Ramírez-Santoyo, L. F., & Gonzales-Castañeda, J. (2020). Revisión: El género *Argemone* (Papaveraceae) y los usos para el control de plagas en el sector agrícola *Consejo Editorial*, 71.
- MBG. (2019). *Argemone pleiacantha* Greene. <http://tropicos.org/Name/24000122?tab=distribution>
- MBG. (2020). *Argemone*. Missouri Botanical Garden. <http://legacy.tropicos.org/NameSearch.aspx?name=Argemone&commonname=>
- Mirtadzadini, M., Akbari, F., & Hatami, E. (2017). *Argemone* (Papaveraceae), a new genus for the flora of Iran. *Iran. J. Bot*, 22(2), 79-81. <https://doi.org/10.22092/ijb.2016.107939>
- NACOBIO. (2022). *Thickets*. National Commission for the Knowledge and Use of Biodiversity. <https://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/Matorral>
- Natusfera. (2020). *Amapolas, chicalotes y parientes*. Retrieved Enero 19 from <https://spain.inaturalist.org/taxa/47332-Papaveraceae>
- Ownbey, G. B. (1958). Monograph of the genus *Argemone* for North America and the West Indies. *Bull. Torrey Bot. Club*, 21(1), 1-159.
- Priya, C. L., & Rao, K. V. B. (2012). Ethanobotanical and current ethanopharmacological aspects of *Argemone mexicana* Linn: an overview. *IJPSR*, 3(7), 2143.
- Rajvaidhya, S., Nagori, B. P., Singh, G. K., Dubey, B. K., Desai, P., & Sanjay, J. (2012). A review on *Argemone mexicana* Linn.- An Indian medicinal plant. *IJPRS*, 3(08), 2494-2501.
- Rzedowski, J. (1978). *Vegetación de México* (1 ed.). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- SADER. (2016). *Zonas áridas, un rostro diferente del campo*. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/zonas-aridas-un-rostro-diferente-del-campo#:~:text=Los%20diez%20estados%20mexicanos%20con,Luis%20Potos%C3%AD%2C%20Sonora%20y%20Zacatecas.&text=Se%20le%20conocen%20como%20zonas,predominan%20condiciones%20de%20sequedad%20extrema>.
- Sánchez-González, A., & Granados-Sánchez, D. (2003). Ordenación de la vegetación de la Sierra de Catorce, San Luis Potosí, a lo largo de gradientes ambientales. *TERRA*, 21(3), 311-319.

- Sharanappa, R., & Vidyasagar, G. M. (2014). Plant profile, phytochemistry and pharmacology of *Argemone mexicana* Linn. a review. *Int J Pharm Pharm Sci*, 6(7), 45-53.
- Su, J. Y. (2008). *Argemone mexicana* Linnaeus. *FOC*, 7, 262. http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=200009118
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). *Plant physiology* (5 ed.). Sinauer associates.
- Tournefort, J. (1719). *Institutiones rei herbariae* (3 ed.).
- Tropicos.org. (2023a). *Argemone*. Retrieved Enero 19 from <https://www.tropicos.org/name/Search?name=Argemone%20pleiacantha>
- Tropicos.org. (2023b). *Argemone ochroleuca*. Retrieved Enero 19 from <https://www.tropicos.org/name/Search?name=Argemone%20pleiacantha>
- Tropicos.org. (2024a). *Acacia* Mill. <http://legacy.tropicos.org/Name/40003076?projectid=3&langid=66>
- Tropicos.org. (2024b). *Argemone mexicana* L. <https://tropicos.org/name/24000115>
- unavarra. (2023). *Flora arvense de Navarra*. Retrieved Enero 19 from <https://www.unavarra.es/herbario/htm/Papaveraceae.htm>
- Verdegen. (2022). *Plantas trampa para plagas*. Retrieved Enero, 19 from <https://generacionverde.com/plantas-trampa-para-plagas/>
- Villaseñor, J. L. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico Catálogo. *Rev. Mex. Biodivers*, 87, 559-902.
- Villavicencio-Gutiérrez, E. E., Arredondo-Gómez, A., Carranza Pérez, M. A., Mares Arreola, O., Comparan Sánchez, S., & González Cortés, A. (2010). *Cactáceas Ornamentales del Desierto Chihuahuense que se distribuyen en Coahuila, San Luis Potosí y Nuevo León, México* INIFAP. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/225082/Cact_ ceas_ orna mentales_ del_ Desierto_ Chihuahuense.pdf
- Xool-Tamayo, J., Graniel-Sabido, M., Miron-Lopez, G., Mena-Rejon, G., Monforte-Gonzalez, M., & Vazquez-Flota, F. (2017). HPLC-DAD determination of berberine, chelerythrine and sanguinarine in the mexican prickly poppy (*Argemone mexicana* L. Papaveraceae), a medicinal plant. *Química Nova*. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170111>

CAPÍTULO III

RESUMEN

MORFOMETRÍA Y CONTENIDO MINERAL EN SUELO Y SEMILLAS DE DOS ESPECIES DE *Argemone* L. (Papaveraceae) EN LA PARTE CENTRAL DEL DESIERTO CHIHUAHUENSE

El género *Argemone* L. (Papaveraceae) se encuentra ampliamente distribuido en el Desierto Chihuahuense (DC) de México. Algunas especies de este género son de interés fitoquímico o etnobotánico. Son plantas no comestibles consideradas como matorrales. Hasta la fecha no han sido ampliamente estudiadas, por lo que su ecología es, hasta donde sabemos, desconocida. El presente trabajo se centró en realizar un análisis morfométrico y la determinación de minerales en el suelo y semillas de las poblaciones silvestres de *Argemone* en sitios pertenecientes a dos ecorregiones de la CD en México. En abril de 2021 y abril de 2022 se colectaron semillas de *Argemone* spp. y muestras de suelo en 10 sitios del DC. Las semillas se seleccionaron bajo un diseño aleatorio y se determinó peso, longitud, diámetro, espesor, flotabilidad y contenido mineral. Las muestras de suelo se obtuvieron bajo la norma mexicana NOM-021-RECNAT-2000 y se realizaron determinaciones de contenido mineral, conductividad eléctrica, densidad aparente y aniones solubles. La información obtenida se agrupó por variable, especie y lugar de procedencia. Las pruebas consistieron en un ANOVA, pruebas de medias de Tukey considerando $p \leq 0,05$, y un Análisis de Componentes Principales. *Argemone pleiacantha* presentó diferencias en cuanto a peso ($F = 54,79$, $p = 0,001$), longitud ($F = 90,83$, $p = 0,001$), espesor ($F = 104,89$, $p = 0,001$), y diámetro ($F = 155,82$, $p = 0,001$), y las diferencias en *Argemone mexicana* fueron en peso ($F = 46,71$, $p = 0,001$), espesor ($F = 187,49$, $p = 0,001$), longitud ($F = 191,56$, $p = 0,001$), y diámetro ($F = 215,83$, $p = 0,001$). Las semillas evaluadas alcanzaron su máxima velocidad de imbibición a las 24 h de la evaluación. El contenido de micro y macronutrientes analizados en las semillas y en el suelo sugiere una estrecha relación con las características morfométricas de las semillas.

Palabras clave: Micronutrientes; áreas agrícolas; zona semiárida; ecorregión; flotabilidad.

Tesis de Doctorado en Ciencias en Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas, Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: Perla Patricia Ochoa García

Director de Tesis: Dr. Fabián García González



ARTICLE

Morphometry and Mineral Content in the Seeds and Soil of Two Species of *Argemone* L. (Papaveraceae) in the Central Part of the Chihuahuan Desert

Perla Patricia Ochoa-García¹, Jaime Sánchez-Salas², Ricardo Trejo-Calzada¹, Jesús Josafath Quezada-Rivera² and Fabián García-González^{1,*}

¹Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Bermejillo, Universidad Autónoma Chapingo, Durango, 35230, México

²Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez del Estado de Durango, Gómez Palacio, Durango, 35010, México

*Corresponding Author: Fabián García-González. Email: fabiangg@chapingo.uruza.edu.mx

Received: 05 December 2023 Accepted: 15 January 2024 Published: 27 February 2024

ABSTRACT

The genus *Argemone* L. (Papaveraceae) is found widely distributed in Mexico's Chihuahuan Desert (CD). Some species of this genus are of phytochemical or ethnobotanical interest. They are inedible plants considered as scrubs. To date they have not been broadly studied; thus, their ecology is, to our knowledge, unknown. The present work was centered around carrying out a morphometric analysis and the determination of minerals in the soil and seeds of the wild populations of *Argemone* at sites belonging to two ecoregions of the CD in Mexico. In April 2021 and April 2022, seeds of *Argemone* spp., and soil samples were collected at 10 sites of the CD. The seeds were selected under a randomized design, and weight, length, diameter, thickness, buoyancy, and mineral content were determined. The soil samples were obtained under the Mexican regulation NOM-021-RECNAT-2000, and determinations of mineral content, electrical conductivity, apparent density, and soluble anions were performed. The information obtained was grouped by variable, species, and place of precedence. The statistical tests consisted of an ANOVA, Tukey means tests considering $p \leq 0.05$, and a Principal Components Analysis. *Argemone pleiacantha* exhibited differences in terms of weight ($F = 54.79$, $p = 0.001$), length ($F = 90.83$, $p = 0.001$), thickness ($F = 104.89$, $p = 0.001$), and diameter ($F = 155.82$, $p = 0.001$), and the differences in *Argemone mexicana* were in weight ($F = 46.71$, $p = 0.001$), thickness ($F = 187.49$, $p = 0.001$), length ($F = 191.56$, $p = 0.001$), and diameter ($F = 215.83$, $p = 0.001$). The evaluated seeds reached their maximal imbibition velocity at 24 h of evaluation. The content of the micro- and macro-nutrients analyzed in the seeds and soil suggest a tight relation with the morphometric characteristics of the seeds.

KEYWORDS

Micronutrients; agricultural area; semiarid zone; ecoregion; buoyancy

1 Introduction

The national Mexican territory includes approximately, 50%–70% of arid- and semi-arid regions [1]. The Mexican National Commission of Arid Zones (CONAZA) estimates that of the total population of Mexico, 18% inhabit regions such as these [2]. The arid Chihuahuan zone is one of the arid ecosystems of greatest territorial extension. This kind of ecosystem is one of the most important in North America.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

The Chihuahuan Desert (CD) is considered one of the most biologically diverse arid regions of the world, occupying an approximate area of 647,500 km² [3]. This geographic zone is situated in the Northern-Central part of Mexico, between the Sierra Madre Oriental and the Sierra Madre Occidental [4]. The CD comprises extensions of the Mexican states of Chihuahua (Chih), Coahuila (Coah), Durango (Dgo), Zacatecas (Zac), Nuevo León (NL), and San Luis Potosí (SLP); as well as areas of the U.S. in the states of Arizona, New Mexico, and Texas [5]. The CD has been subdivided into different regions and ecoregions as follows: Trans-Pecos (Ecoregion I: Apachean, and Ecoregion II: Northern Chihuahua) considered as the northernmost zone, which includes approximately 40% of the CD surface, and, also, comprehends sections belonging to the U.S. The mid-region comprises the Bolsón of Mapimí, and part of the Eastern regions of the Mexican states of Chih, Coah, and Dgo (Ecoregion III: Chihuahuense Central). The third region, Saladan, is limited to the Southern zone of the desert, covering areas of the states of Zac and SLP (Ecoregion IV: Central Meseta) [6,7].

Semi-arid ecosystems are characterized by scarce plant covering and low biomass [8]; however, the CD can be distinguished by three basic types of vegetation that make up a xerophilic scrub ecosystem [9]. Microphyll desert scrub is distributed in alluvial soils where small-leaf arbustive elements predominate (e.g., *Vachellia* (= *Acacia*), *Neeltuma* (= *Prosopis*), *Larrea*) [9,10]. The rosetophyllous desert scrub grows in calcium-rich soils, in those with good drainage, and those that are characterized by being composed of succulent plants, spinescent, with rosette-shaped leaves (e.g., *Agave*, *Yucca*) [11]. Crasicaule desert scrub is linked with rocky sites and with igneous soils in nature in which there predominate large Cactaceae with flat or cylindrical stems (e.g., *Opuntia*) [11]. The xerophytic shrubs can be found under diverse topographical conditions and do not demonstrate a great demand in terms of edaphic properties, although these factors tend to exert an influence on the physiognomy of plant communities [11].

The long-lived perennial plants can form high-biomass patches in arid zones [8]. Wet periods tend to be registered between the months of June and September. The months of October through December experience light precipitations [5], which tend to increase the average biomass values due to the exuberant growth of annual plants and others that are short-lived and opportunistic [8]. The latter are plants that provide environmental services such as nutrient regulation, the contribution of organic material, and biological control [9]. Between the annual or ephemeral vegetation widely distributed in semi-arid regions are found the species belonging to Papaveraceae Family.

The Papaveraceae Family comprises 44 genera and approximately 760 species [12]. The genus *Argemone* L. (Papaveraceae) is made up of approximately 60 species, among which 28 are native to the American Continent [13]. In South America, at least, five taxa of the genus have been identified as follows: *Argemone*, in Chile, Argentina, Uruguay, Paraguay, Bolivia, and Panama [14]. *Argemone* is distributed from the coastal areas of the U.S. Southeast to Texas, as well as in desert regions, Northern California, and Southeastern Oregon. *Argemone* is present throughout Mexico [15] and in Central America, except in very high mountains [14]. Plants of the genus are found principally distributed in the Northern states of Mexico [15]. The species of this genus are found in regions with low precipitation, in elevations near sea level or even up to 2,400 masl, rarely at higher altitudes, in areas of moderately strong rains, and are localized in soils with a low water-retention capacity [14].

Human activity has played an important role in the distribution of *Argemone*. This role has probably been passive in the majority of cases, or the seeds have been transported as contaminants in the seeds of cultivated similar-sized plants [14]. The seeds of *Argemone mexicana* L. and *Argemone ochroleuca* Sweet are frequent contaminants of grains [16]. However, abiotic factors such as wind and water are also efficient in the dispersion of *Argemone* seeds [14]. Such plants can be found along drains, at the edges of highways, in cultivated or abandoned fields, and are considered scrubs [16–18].

Argemone seeds are contained in septicial capsules with four to six locules [19]. Within the capsules, the seeds remain joined to the intralocular septum by the placenta [20]. During the development and desiccation, the coat of the seed thickens and becomes transparent-to-brownish yellow and black in color with the appearance of a concave depression on the surface; this conferring upon it a reticulated aspect [19].

Species of the genus *Argemone* are of phytochemical and ethnobotanical interest due to their content of alkaloids [18,19]. Plants of the genus have been studied at different structural levels, for example, the leaves were evaluated for their laxative and diuretic effect [21], the extracts of the complete plants were evaluated for their effect against phytopathogens [21,22], analysis of the distribution of alkaloids in seeds that indicate elevated concentrations of sanguinarine [19], and the characterization of the ontogeny of the ovule and the anatomy of the seeds of *Argemone aurantica* [20]. The obtention of biodiesel from the seeds has been reported for *Argemone pleiacantha* Greene and *A. mexicana* [23,24]. The species considered in this study were selected because they are the main species distributed in the central part of the Chihuahuan Desert. Nonetheless, plants belonging to the genus *Argemone* do not have a direct use in the nutrition of humans or domestic animals, and are considered scrubs; therefore, they have not been broadly studied, and many aspects concerning their ecology are unknown, to or knowledge, to date [25]. Knowing the morphometric characteristics of the seeds and the physical-chemical properties of the soil where these species are distributed could facilitate the domestication process as these are species with medicinal use in the region and the country. The present investigation had as its objective to carry out a morphometric and mineral analysis of the seed; as well as the evaluation of the soil where wild populations of *Argemone* spp. grow, within the Central Chihuahuan and Central Meseta ecoregions of the CD.

2 Materials and Methods

Argemone spp. seeds were gathered during the months of April 2021 and April 2022 in different sites that form part of the Chihuahuan Desert (CD) (Table 1). The areas of *Argemone* were selected randomly according to their presence at the edge of highways or in agricultural areas. In total, we registered 10 areas of interest (patches of *Argemone* spp.). In each of these areas, we randomly selected six individuals, as in Pozo-Gómez et al. [26], for their identification and herborization [26]. The botanical material was employed for the taxonomic identification using dichotomous keys [14] and was safeguarded in the Jorge Arturo Alba Avila Herbarium (HJAAA-FCB) of the Universidad Juárez del Estado de Durango, with registration N° HJAAA/FCB-UJED-1123-00035. From each specimen, five fruits were collected. The total amount of seeds was hand-extracted from these fruits at each studied site. Only five fruits were collected because the collection permit No. SGPA/DGVS/04321/22 stipulates so. Seeds per fruit were not quantified because they were in the process of dehiscence. The seeds were stored in paper envelopes at room temperature for four weeks, as in Sánchez-Salas et al. [27]. Afterward, the seeds were revised in a stereomicroscope to discard those with anomalies or physical damage in the coat, such as fractures or malformations [28].

Table 1: Species collected, collection sites, geographic localization, altitude, ecoregion characteristics, and Chihuahuan Desert ecoregion of *Argemone* L. (Papaveraceae)

Species	Site	Location	Altitude m	Ecoregion characteristics	CD Ecoregion
<i>Argemone pleiacantha</i> Greene	Ramón Corona, Dgo.	24°11' N; 103°37' W	2111	AA	IV
	Ciudad Juárez, Dgo.	25°29' N; 103°33' W	1138	AA	III
	El Diamante, Dgo.	26°29' N; 104°12' W	1227	AA	III
	El Derrame, Dgo.	26°21' N; 104°20' W	1294	AA	III

(Continued)

Table 1 (continued)

Species	Site	Location	Altitude m	Ecoregion characteristics	CD Ecoregion
<i>Argemone mexicana</i> L.	12 de diciembre, Dgo.	24°36' N; 103°31' W	1836	AA	IV
	La Honda, Zac.	24°5' N; 103°16' W	2154	AA	IV
	Miguel Auza, Zac.	24°5' N; 103°16' W	2120	AA	IV
	El Tiempo, Zac.	24°5' N; 103°16' W	2171	AA	IV
	José Mariano Jiménez, Chih.	27°23' N; 104°56' W	1305	HE	III
	Francisco I. Madero, Coah.	25°46' N; 103°6' W	1112	HE	III

Note: Ecoregions of the CD: Chihuahuense Central: III, Central Meseta: IV, AA: Agricultural Area; HE: Highway Edge.

2.1 Morphological Analysis

The morphological analysis was conducted randomly in 30 seeds in each of the selected populations, without damage to the seed coat. The variables analyzed included weight, length, diameter, and thickness. Weight was determined on an ADAM[®] analytical scale (Changzhou, Jiangsu, China), and the measurements of length, diameter, and thickness were performed in a Zeiss Discovery V8 Stereomicroscope (Göttingen, Germany) using AxioVision SE64 4.8 software (Informer Technologies, Inc.) to the nearest millimeter. The analysis also included an evaluation of the external structure of the seeds according to Barthlott and Hunt [29] and color classification according to the Royal Horticulture Society (RHS) [29].

2.2 Imbibition Velocity in the Seeds

Determination of the imbibition rate in seeds consisted of placing two plastic containers with a capacity of 500 ml (experimental units) each, to which we added 300 ml of tap water. Into each experimental unit, 20 seeds were placed, one of *A. mexicana* (20 seeds) and the other of *A. pleiacantha* (20 seeds), from which the initial weight was previously obtained to subsequently record absorption values. Seeds were selected and placed “*de visu*” in similar sizes to ensure reliable results as in Sánchez-Salas et al. [30]. The experiment was set up on a fixed laboratory table against vibrations that could alter the evaluation process. Weight recording was carried out at 8, 12, 24, 32, 36, 48, 56, 60, 72, 360, and 720 h to record weight changes in the seeds as in Sánchez-Salas et al. [28].

The data was analyzed as in Sánchez-Salas et al. [28]. The imbibition velocity was calculated according to the Eq. (1) [31]:

$$\text{Imbibition velocity} = \frac{\text{Post imbibition weight} - \text{Initial weight}}{\text{Time}} \quad (1)$$

2.3 Evaluation of Buoyancy

The buoyancy tests consisted of preparing two plots of 50 seeds of *A. pleiacantha* and *A. mexicana*, respectively. The lot was divided into 10-seed groups in plastic containers with a 500 ml capacity. To each container, 300 ml of water was added directly from the tap, and proceeded to place the seeds above the water with a plastic spoon to avoid manual manipulation of the seeds [30]. Afterward, every 24 h the treatments were supervised, registering the amount of seeds that were submerged until the completion at day 60 as in Sánchez-Salas et al. [32]. It is worth mentioning that the evaluation time for buoyancy was extended to 60 days due to the absence of sinking.

2.4 Analysis of the Micro- and Macro-Nutrients in Seeds

Determination of the minerals was performed from the seed samples obtained from the 10 sampled populations. Obtention of the ashes of each sample was conducted according to the Official Methods of Analysis of the Official Association of Analytical Chemists (AOAC) [33]. The ashes were submitted to a process of acid digestion for the extraction of micro- and macro-nutrients. The elements determined were copper (Cu), manganese (Mn), iron (Fe), zinc (Zn), calcium (Ca), potassium (K), sodium (Na), and magnesium (Mg). The determinations were carried out by atomic absorption spectrophotometry (PerkinElmer®, Model-AAnalyst 200) (Singapur) using lamps and calibration curves, with specific standards, according to the AOAC [33]. Analysis of the content of nitrogen (N) was performed using the micro-Kjeldahl [34] method. The concentration of phosphorus (P) was quantified by UltraViolet (UV)-Visible spectrophotometry.

2.5 Analysis of Micro- and Macro-Nutrients, pH, Electrical Conductivity, Apparent Density, and Soil-Soluble Anions on the Soil

The soil analysis was performed according to the statutes indicated by the Mexican NOM-021-RECNAT-2000 [34]. The tests conducted were the following: Soil-extractable phosphorus (AS-11); Content of available micronutrients (AS-14); Capacity of cation exchange and interchangeable cations (AS-12); pH in a water medium (AS-02); Apparent Density (AD) (AS-03); Electrical Conductivity (EC) (AS-18); Inorganic Nitrogen (AS-08), and bicarbonates, and the determination of soluble anions (AS-20), which includes bicarbonates, chlorides, and sulfates [34].

2.6 Statistical Analysis

The data were statistically analyzed using tests of normality and one-way ANOVA with a significance level of $p \leq 0.05$ to define possible differences between variables. Later, the Tukey means test was considered with a $p \leq 0.05$. The Principal Components Analysis (PCA) was carried out in the correlation matrix analysis. The data employed for the building of such a matrix were the means of N, P, Cu, Mn, Fe, Zn, Ca, K, Na, Mg, length, diameter, and seed thickness, as well as pH, EC, AD, bicarbonates, chlorides, sulfates, N, P, Cu, Mn, Fe, Zn, Ca, K, Na, and Mg in soil for the 10 sites evaluated. The dendrogram was constructed utilizing the method of Ward, and distance is expressed as Euclidian distance. The information was processed in the Minitab® 17 statistical software program (Minitab, LLC), PASW Statistics version 18.0.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

3 Results

3.1 *Argemone pleiakantha* Greene

3.1.1 Size

The seeds of the analyzed sites showed significant differences in weight, length, diameter, and thickness, as presented in Table 2. The seeds from the site of Ramón Corona, Dgo., exhibited the highest values in all the measured variables. In contrast, the seeds from Ciudad Juárez, Dgo., demonstrated fewer morphometric characteristics. The determinations performed in the sites of El Derrame, Dgo., and El Diamante, Dgo., did not evidence statistically significant differences for weight, length, and diameter. The analyzed seeds of the two previously mentioned sites only showed differences in thickness.

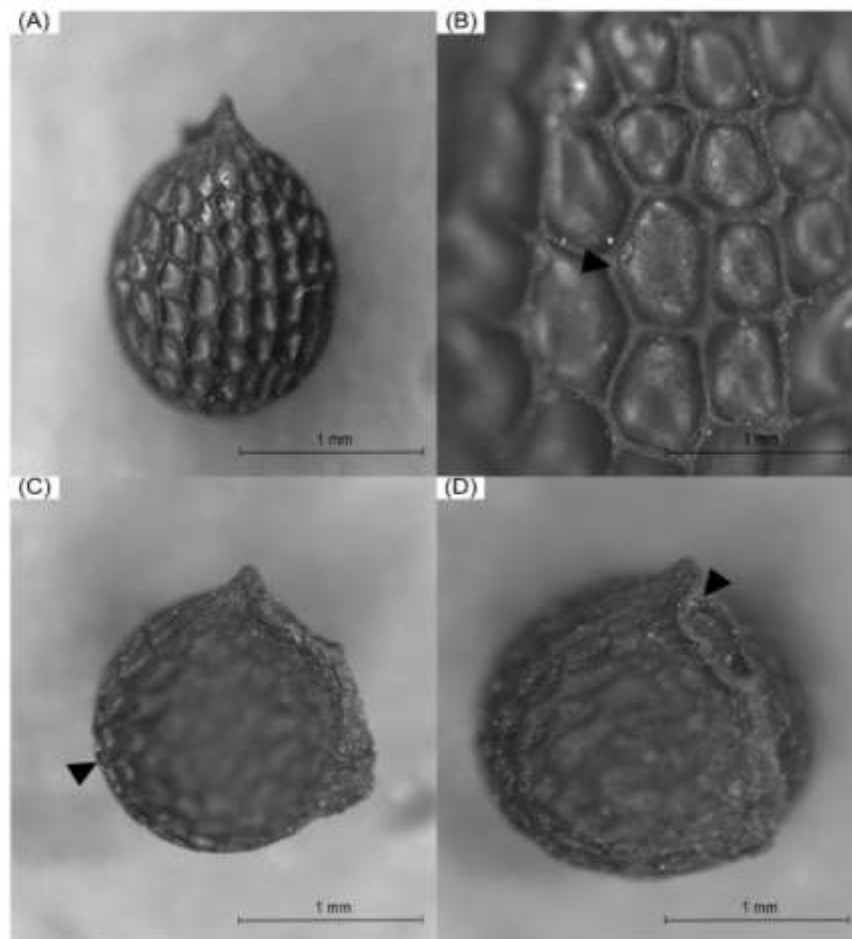
3.1.2 Shape and Color

The analyzed seeds of *A. pleiakantha* exhibited a general sub-globular and apiculate structure. The periphery of the seeds was aquiline in shape. The cells of the seed presented an irregular hexagonal arrangement with straight channeled, and anticlinal limits. The estrophil was crested and the hilus has a superficial and oblique configuration; in addition to possessing a disjunctive micropyle (Fig. 1). The seeds, at first glance, were dark brown in color No. RHS 166A, and on stereoscopy were of a medium yellowish-brown coloration No. RHS 165C; these characteristics did not vary in the seed lot reviewed.

Table 2: Means of weight, length, thickness, and diameter of *Argemone pleiacantha* Greene (Papaveraceae) seeds from the Chihuahuan Desert

Sites	Weight (mg)	Length (mm)	Thickness (mm)	Diameter (mm)
Ciudad Juárez, Dgo.	1.83 ± 0.31c	0.58 ± 0.05c	0.59 ± 0.06d	0.51 ± 0.04c
El Derrame, Dgo.	2.09 ± 0.28b	0.67 ± 0.07b	0.63 ± 0.07c	0.55 ± 0.08b
El Diamante, Dgo.	2.25 ± 0.33b	0.68 ± 0.12b	0.66 ± 0.05b	0.54 ± 0.07b
Ramón Corona, Dgo.	2.90 ± 0.41a	0.91 ± 0.05a	0.63 ± 0.06a	0.57 ± 0.04a
<i>F</i>	54.79	90.83	104.89	155.82
<i>p</i>	0.001	0.001	0.001	0.001

Note: Values are means ± SE. Within columns, means with different scripts differ ($p \leq 0.05$).

**Figure 1:** Morphological analysis through stereoscopy in which the general structure of *A. pleiacantha* seeds was shown (A), grooves originating at the edges between the epidermal cells (B), the aquiline periphery (C), and the hilus (D)

3.2 *Argemone mexicana* L.

3.2.1 Size

The seeds of the analyzed sites showed significant differences in all variables measured. The evaluations were conducted at the site of Francisco I. Madero, Coah., had higher values (Table 3). In contrast, the seeds at the site of 12 de diciembre, Dgo, had smaller values. The lots from the sites of Miguel Auza, Zac. and El Tiempo, Zac., did not exhibit statistical differences in weight, length, and thickness; however, they showed differences in diameter.

Table 3: Means of weight, length, thickness, and diameter of *Argemone mexicana* L. (Papaveraceae) seeds from the Chihuahuan Desert

Site	Weight (mg)	Length (mm)	Thickness (mm)	Diameter (mm)
12 de diciembre, Dgo.	1.64 ± 0.40c	0.53 ± 0.08e	0.43 ± 0.09d	0.40 ± 0.09e
La Honda, Zac.	2.51 ± 0.28a	0.73 ± 0.08d	0.67 ± 0.08c	0.64 ± 0.07d
Miguel Auza, Zac.	2.18 ± 0.41b	0.81 ± 0.05c	0.71 ± 0.04c	0.70 ± 0.04c
El Tiempo, Zac.	2.14 ± 0.29b	0.78 ± 0.06c	0.67 ± 0.04c	0.65 ± 0.05d
José Mariano Jiménez, Chih.	1.76 ± 0.25c	0.90 ± 0.04b	0.79 ± 0.05b	0.80 ± 0.04b
Francisco I. Madero, Coah.	2.66 ± 0.22a	1.04 ± 0.05a	0.91 ± 0.02a	0.89 ± 0.04a
<i>F</i>	49.71	191.56	187.49	215.83
<i>p</i>	0.001	0.001	0.001	0.001

Note: Values are means ± SE. Within columns, means with different scripts differ ($p \leq 0.05$).

3.2.2 Shape and Color

The seeds of *A. mexicana* included in this study, exhibited a general apiculate and sub-globular structure. The periphery was aquiline in form. The cells presented an irregular hexagonal arrangement with anticlinal channeled and straight limits. The estrophil was crested and the hilus presented a superficial and oblique configuration, in addition to having a disjunctive microphyll (Fig. 2). The seeds, at a simple glance, were dark brown in color (No. RHS 166A), and on stereoscopy presented a medium yellowish-brown coloration (No. RHS 165C), the characteristics of which did not vary in the analyzed lot.

3.3 Imbibition Velocity in Seeds

The imbibition velocity was similar for the two species evaluated (Fig. 3). The seeds of *A. mexicana* presented the highest imbibition velocity at 24 h with 0.094 mg h⁻¹. The specimens of *A. pleiacantha* also presented their maximal velocity at 24 h of imbibition with 0.090 mg h⁻¹. The two groups of seeds diminished progressively their imbibition velocity from 32 to 720 h afterward.

3.4 Evaluation of the Buoyancy of *Argemone pleiacantha* and *Argemone mexicana*

The test for the buoyancy of the seeds did not demonstrate significant differences between the species evaluated (Table 4). The sinking occurred during the first 24 h of the experiment. After this time, sinkings were not registered again along the test despite extending the evaluation period to 60 days to see how the seeds behave to determine possible ecological implications for their dispersal.

3.5 Principal Components Analysis (PCA)

The description of the results was carried out depending on the first three Principal Components (PC). PC 1 explained 28.40% of the total variation of the data set; while 20.99% of the variance was explained by PC 2 and 14%, by PC 3. Therefore, these three PCs explained 63.39% of the variance of the means of the 31 variables analyzed in the seed and soil of the populations of *Argemone*.

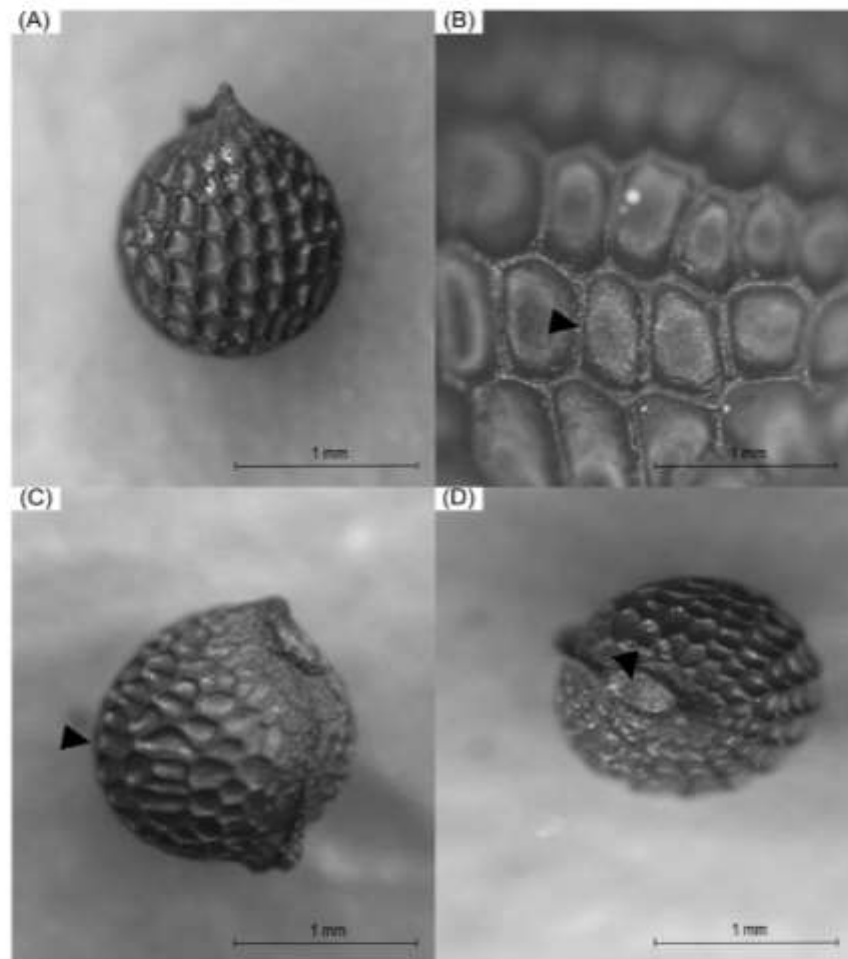


Figure 2: Morphological analysis through stereoscopy in which the general structure of *A. mexicana* seeds was shown (A), grooves originating at the edges between the epidermal cells (B), the aquiline periphery (C), and the hilus (D)

The loading matrix indicates that PC 1 was highly correlated with the morphological variables of the seeds and their contents of macro-nutrients (Table 5). PC 2 was importantly influenced by some of the variables that measured the content of micro-nutrients in seed (Fe, Zn, and K), as well as some variables determined in the evaluated soil samples as follows: sulfates; Zn; Na; Mg, and EC. The third component, PC 3, was in its majority influenced by the bicarbonates, chlorides, P, and Fe in soil. The contents shown for minerals in seed and soil were obtained from the PCA (Table 6).

The dispersion graph (Fig. 4) permits distinguishing the groupings of vectors with close interaction, as well as that the analyzed populations are distributed in different quadrants; thus, each population entertains a particular association with the PCA. The vector that represented weight in seeds was related to the following characteristics of the soil: EC Ca; Na; Mg; K; sulfates, and Zn. On the other hand, length, diameter, and

thickness were correlated with the macro-nutrients P, Ca, and Mg present in the seed, as well as with P in the soil. The seeds belonging to the towns of 12 de diciembre, Dgo., La Honda, Zac., and El Derrame, Dgo., denote having a greater content of micro-nutrients (Zn, Fe, and Mn) and macro-nutrients (K, Ca, Mg, and P).

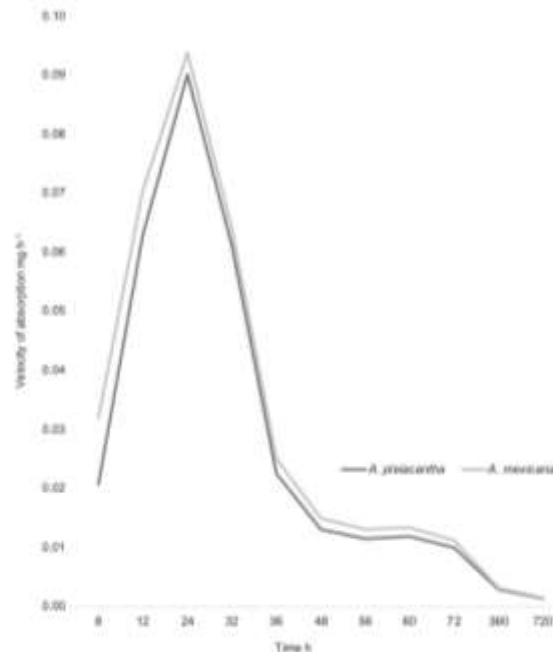


Figure 3: Imbibition velocity in the seeds of *Argemonepleiacantha* Greene and *Argemone mexicana* L. (Papaveraceae) from the Chihuahuan Desert

Table 4: Evaluation of the buoyancy of the seeds of *A. pleiacantha* Greene and *A. mexicana* L. (Papaveraceae) seeds from the Chihuahuan Desert

Species	Buoyancy seeds
<i>A. pleiacantha</i> Greene	9.00 ± 0.89a
<i>A. mexicana</i> L.	9.40 ± 1.41a
<i>F</i>	0.29
<i>P</i>	0.608

Note: Values are means ± SE. Within columns, means with different scripts differ ($p \leq 0.05$).

The dendrogram represented in Fig. 5 denoted the formation of three main groups separated by length, diameter, thickness, and micro- and macro-nutrients in seeds and soil. Group I was comprised of the sites of the towns of 12 diciembre, Dgo., El Derrame, Dgo., and José Mariano Jiménez, Chih., sharing 71.87% similarity corresponding to the species *A. mexicana*. Group II was that which demonstrated the greatest similarities in the towns analyzed, with 75.62% of similarity (La Honda, Zac., Ramón Corona, Dgo.,

El Diamante, Dgo., El Tiempo, Zac., Ciudad Juárez, Dgo., and Miguel Auza, Zac.) and which includes the populations of *A. mexicana* and *A. pleiacantha*. This is in contrast with Group III, which exhibited a greater dissimilarity (6.25%), including only one observation (Fco. I Madero, Coah.) of *A. mexicana*.

Table 5: Loadings between the seed and soil variables of populations of *Argemone* and the principal components (PC). The PC loadings show that the variables of seed length, diameter, and thickness were important for the development of *Argemone* regardless of soil characteristics

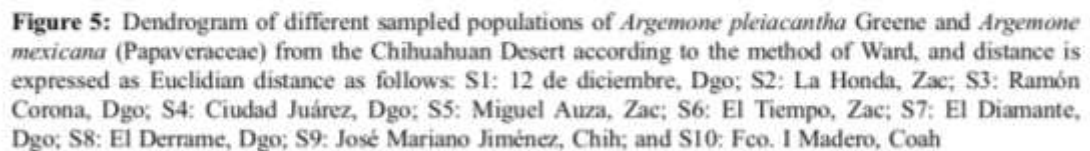
Variables	Category	Abbreviation	PC 1	PC 2	PC 3
Nitrogen (N)	Seed	N_se	0.27	-0.45	-0.34
Phosphorus (P)		P_se	0.63	0.33	-0.35
Copper (Cu)		Cu_se	0.02	-0.03	-0.54
Manganese (Mn)		Mn_se	0.42	0.23	0.75
Iron (Fe)		Fe_se	0.38	0.80	-0.21
Zinc (Zn)		Zn_se	0.24	0.85	-0.39
Calcium (Ca)		Ca_se	0.66	0.65	0.17
Potassium (K)		K_se	0.20	0.81	-0.22
Sodium (Na)		Na_se	0.55	0.35	0.07
Magnesium (Mg)		Mg_se	0.66	0.57	-0.35
Length		Len_se	-0.94	-0.04	-0.07
Diameter		Dia_se	-0.94	-0.13	-0.05
Thickness		Thi_se	-0.94	-0.03	-0.18
pH	Soil	pH_so	0.20	0.18	-0.29
EC		EC_so	-0.75	0.53	0.26
AD		AD_so	0.04	-0.54	0.34
Bicarbonates		Bic_so	0.27	0.01	0.86
Chlorides		Chlo_so	0.43	0.02	0.72
Sulfates		Sulf_so	-0.73	0.56	0.13
Sodium (Na)		Na_so	0.27	-0.32	-0.06
Phosphorus (P)		P_so	0.76	0.05	0.53
Copper (Cu)		Cu_so	0.27	0.21	-0.11
Manganese (Mn)		Mn_so	0.15	-0.22	-0.07
Iron (Fe)		Fe_so	0.55	0.01	-0.58
Zinc (Zn)		Zn_so	-0.15	0.66	0.41
Calcium (Ca)		Ca_so	-0.82	0.43	0.05
Potassium(K)		K_so	-0.09	0.16	0.00
Sodium (Na)		Na_so	-0.59	0.56	0.38
Magnesium (Mg)		Mg_so	-0.33	0.90	0.13

Table 6: Mineral content in seeds of *A. pleiacantha* Greene and *A. mexicana* L. (Papaveraceae), and soil from the Chihuahuan Desert

Species	Site	Mineral content in seed					
		Fe ppm	Zn ppm	K ppm	Mg ppm	P ppm	
<i>Argemone pleiacantha</i> Greene							
	Ramón Corona, Dgo.	31.8	47.8	852.4	319.1	118.7	
	Ciudad Juárez, Dgo.	39.7	53.5	740.5	455.1	155.2	
	El Diamante, Dgo.	34.1	49.2	815.0	362.1	158.7	
	El Derrame, Dgo.	48.3	57.1	820.5	389.3	160.7	
<i>Argemone mexicana</i> L.							
	12 de diciembre, Dgo.	36.6	44.2	812.6	349.6	138.9	
	La Honda, Zac.	48.7	52.7	826.3	305.2	101.0	
	Miguel Auza, Zac.	32.6	41.1	649.2	229.6	84.3	
	El Tiempo, Zac.	35.3	49.6	892.5	292.8	127.9	
	José Mariano Jiménez, Chih.	15.8	20.9	266.0	142.6	84.9	
	Francisco I. Madero, Coah.	39.4	55.1	894.1	274.0	93.7	
Species	Site	Mineral content and EC in soil					
		Sulf ppm	Na ppm	Mg ppm	P ppm	Ca ppm	EC μS/cm
<i>Argemone pleiacantha</i> Greene							
	Ramón Corona, Dgo.	60.0	155.4	85.2	10.2	1263.0	274
	Ciudad Juárez, Dgo.	124.1	135.6	81.6	20.7	643.0	178
	El Diamante, Dgo.	47.4	182.4	51.0	8.1	1175.0	154
	El Derrame, Dgo.	161.2	514.8	175.8	10.1	1658.0	304
<i>Argemone mexicana</i> L.							
	12 de diciembre, Dgo.	142.3	1074.9	117.3	29.9	1053.9	376
	La Honda, Zac.	73.2	119.1	102.3	14.8	867.0	174
	Miguel Auza, Zac.	131.7	63.0	79.2	12.9	749.7	270
	El Tiempo, Zac.	40.5	61.5	89.4	13.9	648.9	178
	José Mariano Jiménez, Chih.	130.4	537.0	29.6	8.7	1782.9	314
	Francisco I. Madero, Coah.	879.2	2121.3	219.3	4.3	3718.8	1050

4 Discussion

Variability in the morphology and size of the seeds exerts an influence on the biological capacities of survival, such as dispersion and germination [35]. The differences in length and weight in the rate of germination, as has been reported in the Family Cactaceae, where 1 mg implies changes in germinative capacity [27].



32

thickness; therefore, it can be considered that dispersion as well as the establishment, could be favored in *A. mexicana*, due to its greater size in the previously mentioned variables.

The process of imbibition is the mechanism of capturing water by the seed [38]. Such a process permits the seeds to achieve, in a quick way, the same level of humidity, and they activate the metabolic apparatus related to the pre-germinative process [39]. The imbibition tests suggest that *Argemone* seeds are considered permeable during the initial hours of their contact with the water. The rapid imbibition orients toward an adaptation to take advantage of the space hydric resource available during the rainy season. The wet seasons tend to be concentrated during the seasons of summer–autumn and during short periods of winter rains associated with the cold fronts forming during this time of the year [5]. The latter rainy conditions are present at sites in Northern Mexico, where diverse species of the genus are widely distributed [15]. The absorption of the water is directly influenced by the presence of the seed coat and the permeability that the species possesses [31,40]. The seeds can present elevated levels of permeability when they possess external structural arrangements that allow the capture and storage of environmental humidity. The irregular hexagonal cellular arrangement that the seeds of *Argemone* present could permit the retention of water on the external surface.

The duration of the buoyancy of the seeds is an adaptive mechanism that increases the efficiency of the dispersion [41]; it has been reported that seeds of the Families Taxodiaceae and Cactaceae can remain buoyant for more than one month without losing their bioavailability, in that they are dispersed through run-offs [32,42]. The content of oils in the *Argemone* seed [21] could proffer a lesser density than the water, permitting longer buoyancy. *Argemone* seeds can remain buoyant for more than one month. However, it is necessary to conduct tests to determine their viability and to elucidate whether they present morphological and internal anatomical adaptations for their hydrodispersion.

The edaphic properties tend to influence the physiognomy of plant communities [11]. The present study revealed a close interaction between the weight of the seeds and the content of the macronutrients present in the soil at the sampled sites, particularly in those of Fco. I. Madero, Coah., El Tiempo, Zac., and José Mariano Jiménez, Chih. The latter correspond to populations of *A. mexicana*, which can indicate that this species is found better adapted to saline and calcareous soils. This is in contrast with the majority of the populations of *A. pleiacantha*, which are indicated as being adapted to and distributed more widely in soils with higher mineral content.

On the other hand, the variables of length, diameter, and thickness were related to the amount of micro- and macronutrients present in the seed most significantly with P, which is attributed to that because P constitutes part of the phytin, the main manner of the storage of P in seeds. The size, number, and variability of the seeds can be affected by the content of P in the soil [43].

In this study, the variables measured in soil and seed indicate that the sites evaluated share similarities, despite corresponding to different ecoregions (Chihuahuense Central and Meseta Central). The hierarchical cluster analysis grouped greater similarities in some of the sites that corresponded to the following agricultural areas: La Honda, Zac.; Ramón Corona, Dgo.; Ciudad Juárez, Dgo.; Miguel Auza, Zac.; El Tiempo, Zac., and El Diamante, Dgo. The previously mentioned sites share the following ecological characteristics necessary for the development of *Argemone*: low precipitation; elevations no higher than 2,400 masl and soils with a low water-retention capacity [14]. The Chihuahuense Central ecoregion is characterized by having soils deriving from limestone [7], which was highly reflected in one of the sites belonging to this ecoregion with an elevated interaction with Ca and Mg in the soil.

5 Conclusion

The genus *Argemone* responds to environmental characteristics; thus, it exhibits conditions of adaptability in the morphology of its seeds. The seeds' morphological characteristics confer on *Argemone*

a rapid imbibition velocity and long buoyancy; these characteristics suggest an adaptation to their being disseminated using hydrochory during the wet seasons. The content of micro- and macro-nutrients analyzed in seed and soil suggest a close relation with the morphological characteristics of the seeds and a better adaptation of *A. mexicana* to saline and calcareous soils.

Acknowledgement: We thank the Facultad de Ciencias Biológicas (Gómez Palacio, Dgo, México) for the technical support, and we are sincerely thankful for the help from Biologist Arturo Salcido Adame.

Funding Statement: The authors did not receive specific funds for this study.

Author Contributions: Conception and study design: Ochoa-García Perla Patricia, Sánchez-Salas Jaime; data collection: Ochoa-García Perla Patricia; analysis of interpretation of the results: Ochoa-García Perla Patricia, Sánchez-Salas Jaime, Trejo-Calzada Ricardo, Quezada-Rivera Jesús Josafath, García-González Fabián; preparation of the manuscript draft: Ochoa-García Perla Patricia. All of the authors reviewed the results and approved the final version of the manuscript.

Availability of Data and Materials: Not applicable, temporally.

Ethics Approval: Not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declare that they do not have conflicts of interest to inform concerning the present study.

References

1. Pontifex P, García-Meneses P, Gómez-Aíza L, Monterroso-Rivas A, Caso-Chávez M. Land use/land cover change and extreme climatic events in the arid and semi-arid ecoregions of Mexico. *Atmósfera*. 2018;31(4):355–372.
2. CNF. Las zonas áridas son más que desierto. Available from: <https://www.gob.mx/consafor/es/articulos/las-zonas-aridas-son-mas-que-desierto?idiom=es>. [Accessed 2018].
3. Hoyt CA. The Chihuahuan Desert: diversity at risk. *Endalger Species Bull*. 2002;19(6):16–7.
4. NPS. Chihuahuan Desert inventory and monitoring network. Available from: <https://www.nps.gov/im/chda/ecoregion.htm>. [Accessed 2022].
5. Service UF. 321 Chihuahuan Desert Province. Available from: <https://www.fs.usda.gov/land/ecosysmgmt/colorimagemap/images/321.html#:~:text=In%20July%2C%20summer%20rains%20usually,typical%20of%20the%20Chihuahuan%20Desert>. [Accessed 2024].
6. Brown DE. Chihuahuan Desert scrub. *Desert Plants*. 1982;4(1–4):169–79.
7. Dinerstein E, Olson D, Montoya J, Loucks C, Contreras-Balderas S, Abell R, et al. Ecoregion-based conservation in the Chihuahuan Desert: a biological assessment. 2nd ed. World Wildlife Fund, Mexico; 2001. p. 1–122.
8. Huenneke LF, Clason D, Muldavin E. Spatial heterogeneity in Chihuahuan Desert vegetation: implications for sampling methods in semi-arid ecosystems. *J Arid Environ*. 2001;47:257–70.
9. NACOBIO. Thickets. Available from: <https://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/Matorral>. [Accessed 2022].
10. Josse C. Central mexican mixed desert scrub. Available from: https://explorer.natureserve.org/Taxon/ELEMENT_GLOBAL/2.938188/Matorral_Crasicaule_de_Mexico_Central. [Accessed 2022].
11. Rzedowski J. Vegetación de México Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 1978.
12. Granados-Echegoyen CA, Chan-Bacab MJ, Ortega-Morales BO, Vázquez-López A, Lagunez-Rivera L, Fidel Diego-Nava F, et al. *Argemone mexicana* (Papaveraceae: papaveraceae) as an alternative for mosquito control: first report of larvicidal activity of flower extract. *J Med Entomol*. 2018;56(1):261–7.
13. Hernández-Ruiz J, Bernal J, Gonzales-Castañeda J, Ruiz-Nieto J, Mireles-Arriaga A. *Argemone ochroleuca*: (Papaveraceae), alkaloids potential source for agricultural and medical uses. *Trop Subtrop Agroecosyst*. 2020;23(2):1–13.

14. Ownbey GB. Monograph of the genus *Argemone* for North America and the West Indies. Bull Torrey Bot Club. 1958;21(1):1–159.
15. Villaseñor JL. Checklist of the native vascular plants of Mexico Catálogo. Rev Mex Biodivers. 2016;87:559–902.
16. Jimoh F, Adedapo A, Aliero A, Afolayan A. Polyphenolic and biological activities of leaves extracts of *Argemone subfusiformis* (Papaveraceae) and *Urtica urens* (Urticaceae). Rev Biol Trop. 2010;58(4):1513–31.
17. Alemayehu K. Prevalence and effects of *Argemone mexicana* (Papaveraceae) on biodiversity in Ethiopia. Afr J Ecol. 2011;50(2):160–6.
18. Rajvaidhya S, Nagori BP, Singh GK, Dubey BK, Desai P, Sanjay J. A review on *Argemone mexicana* Linn. An Indian medicinal plant. IJPRS. 2012;3(8):2494–501.
19. Loza-Muller LJ, Laines-Hidalgo JI, Monforte-González M, Vázquez-Flota F. Alkaloid distribution in seeds of *Argemone mexicana* L. (Papaveraceae). J Mex Chem. 2021;65(4):501–6.
20. Cresson RA, Schneider EL. Ovule and seed structure in *Argemone aurantiaca* (Papaveraceae). Bull Torrey Bot Club. 1988;115(2):108–12.
21. Granados-Echegoyen C, Ortega-Morales BO, Chan-Bacab MJ, Reyes-Estébanez MMJ, Camacho-Chab JC. Efecto del extracto etanolico de partes vegetales de *Argemone mexicana* (Papaveraceae) sobre larvas y pupas del mosquito *Culex quinquefasciatus* (Say) (Diptera: culicidae). Entomologia mexicana. 2016;3:436–40.
22. Vetat D, Pardeshi A. Larvicidal potential of *Argemone mexicana* L. plant extracts against *Spodoptera litura* fab. J Pharm Innov. 2019;8(6):698–702.
23. Rao R, Zubaidha P, Kondhare D, Reddy N, Deshmukh S. Biodiesel production from *Argemone mexicana* seed oil using crystalline manganese carbonate. Pol J Chem Tech. 2012;14(1):65–70.
24. Sáez-Bastante J, Carmona-Cabello M, Villarreal-Ornelas E, Trejo-Calzada R, Pinzi S, Pilar Dorado M. Feasibility of the production of *Argemone pleiacantha* ultrasound-assisted biodiesel for temperate and tropical marginal areas. Energies. 2023;16(2588):1–14.
25. Karnawat M, Malik CP. Phylogenetic relationships of *Argemone* species based on seed and leaf protein polymorphism revealed by SDS-PA. Jour PI Sci Res. 2011;27(2):211–4.
26. Pozo-Gómez DM, Orantes-García C, Rioja-Paradela TM, Moreno-Moreno RA, Farrera-Sarmiento O. Diferencias en morfometría y germinación de semillas de *Croton guatemalensis* (Euphorbiaceae), procedentes de poblaciones silvestres de la Selva Zoque, Chiapas, México. Acta Bot Mex. 2019;126:1–12.
27. Sánchez-Salas J, Flores J, Martínez-García E. Efecto del tamaño de semilla en la germinación de *Astrophytum myrriostigma* Lemaire. (Cactaceae), especie amenazada de extinción. Interciencia. 2006;31:371–5.
28. Sánchez-Salas J, Flores J, Jurado E, Sáenz-Mata J, Orozco-Figueroa P, Muro-Pérez G. Hidrocoria en semillas de *Agave victoriae-reginae* T. Moore, especie en peligro de extinción: morfología y anatomía como facilitadores de la hidro-dispersión y germinación. Gayana Bot. 2017;74:251–61.
29. Barthlott W, Hunt D. Descriptors and descriptive terminology. England: Remous Ltd.; 2000.
30. Sánchez-Salas J, Flores J, Muro-Pérez G, Arias S, Jurado E. Morfometría de semillas en la cactácea amenazada de extinción *Astrophytum myrriostigma* lemaire. Polibotánica. 2015;39:119–131.
31. Méndez-Natera JR, Merazo-Pinto JF, Montaña-Mata NJ. Relación entre la tasa de imbibición y el porcentaje de germinación en semillas de maíz (*Zea mays* L.), caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) y quinchoncho (*Cajanus cajan* (L.) Mill) UDO Ag. 2008;8(1):61–6.
32. Sánchez-Salas J, Jurado E, Flores J, Estrada-Castillón E, Muro-Pérez G. Desert species adapted for dispersal and germination during floods: experimental evidence in two *Astrophytum* species (Cactaceae). Flora-Morphol Distrib Funct Ecol Plants. 2012;207:707–11.
33. AOAC. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Washington DC, USA: Association of Official Analytical Chemist; 1990.
34. NOM-021-RECNAT-2000. Mexico: DOF; 2002. p. 1–73.
35. Gutterman Y. Strategies of seed dispersal and germination in plants inhabiting deserts. Bot Rev. 1994;60(4):373–425.

36. Gutterman Y. Environmental factors and survival strategies of annual plant species in the Negev Desert. *Israel Plant Species Biol.* 2000;15(2):113–25.
37. Leishman M, Wright IJ, Moles AT, Westoby M. The ecology of regeneration in plant communities. In: *The evolutionary ecology of seed size*. Wallingford, RU: CABI Publishing; 2000. p. 31–57.
38. Civan F. Instrumental and laboratory techniques for characterization of reservoir rock. In: Civan F, editor. *Reservoir formation damage*. 4th ed. USA: Gulf Professional Publishing; 2023. p. 615–44.
39. Burgas R, Powell A. Evidence for repair processes in the invigoration of seeds by hydration. *Ann Bot.* 1984;53(5):753–7.
40. Moreno F, Plaza GA, Magnitskiy SV. Effect of the seed coats on germination of rubber (*Hevea brasiliensis* Muell.) seeds. *Agron Colom.* 2006;24(2):290–5.
41. López OR. Seed flotation and postflooding germination in tropical terra firme and seasonally flooded forest species. *Funct Ecol.* 2001;15(6):763–71.
42. Boedeltje G, Bakker JP, Ten Brinke A, van Groenendael JM, Soesbergen M. Dispersal phenology of hydrochorous plants in relation to discharge, seed release time and buoyancy of seeds: the flood pulse concept supported. *J Ecol.* 2004;92(5):786–96.
43. Kolodziejek J. Effect of seed position and soil nutrients on seed mass, germination and seedling growth in *Peucedanum oreoselinum* (Apiaceae). *Sci Rep.* 2017;7(1959):1–11.

CAPÍTULO IV

PROTOCOLOS DE EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE TEJIDO VEGETAL DE *Argemone* L. (Papaveraceae)

RESUMEN

Las especies de *Argemone* L. (Papaveraceae) suelen estar adaptadas a condiciones de sequía y suelos pobres. Sin embargo, hasta la fecha se desconoce su diversidad genética y su posible asociación con los factores ambientales. La variación genética de especies vegetales, sus diferencias entre poblaciones, especies e incluso sub especies se emplean para explicar patrones y procesos ecológico-evolutivos. Para determinar dichas características es necesario extraer ADN de alta calidad. Por lo cual, el objetivo del presente estudio fue evaluar diferentes métodos de extracción de ADN genómico a partir de tejido vegetal de plantas pertenecientes al género *Argemone* L. (Papaveraceae). Las extracciones de ADN se basaron en el reactivo CTAB con tres variantes y un segundo método que consistió en un kit comercial Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Fitchburg, WI). El rendimiento y calidad de ADN genómico se evaluó por espectrofotometría (UV/visible). La viabilidad e integridad del ADN se analizó mediante PCR utilizando como gen de referencia a *rbcL* (Subunidad mayor de la Ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa). Los protocolos de extracción basados en el reactivo CTAB permitieron obtener altas concentraciones de ADN genómico, sin embargo, las muestras analizadas también presentaron un alto grado de contaminación. El kit comercial logró obtener buenos rendimientos de extracción con una pureza optima siendo una alternativa viable para la extracción de ADN genómico en plantas del género *Argemone* L. (Papaveraceae).

Palabras clave: ADN genómico, *Argemone*, PCR, *rbcL*, Bromuro de hexadeciltrimetilamonio

PROTOCOLS FOR DNA EXTRACTION FROM VEGETAL TISSUE OF *Argemone* L. (Papaveraceae)

ABSTRACT

Argemone L. (Papaveraceae) species are usually adapted to drought conditions and poor soils. However, their genetic diversity and its possible association with environmental factors is unknown to date. The genetic variation of plant species, their differences between populations, species and even sub-species are used to explain ecological-evolutionary patterns and processes. To determine these characteristics, it is necessary to extract high quality DNA. Therefore, the objective of the present study was to evaluate different methods of genomic DNA extraction from plant tissue of plants belonging to the genus *Argemone* L. (Papaveraceae). DNA extractions were based on CTAB reagent with three variants and a second method consisting of a commercial Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Fitchburg, WI). Genomic DNA yield and quality was assessed by spectrophotometry (UV/visible). DNA viability and integrity was analyzed by PCR using *rbcL* (Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase major subunit) as a reference gene. The extraction protocols based on the CTAB reagent allowed obtaining high concentrations of genomic DNA; however, the samples analyzed also presented a high degree of contamination. The commercial kit achieved good extraction yields with optimal purity it is a viable alternative for the extraction of genomic DNA from plants of the genus *Argemone* L. (Papaveraceae).

Keywords: Genomic DNA, *Argemone*, PCR, *rbcL*, Hexadecyltrimethylammonium bromide

INTRODUCCIÓN

Las especies sinantrópicas o malezas son plantas silvestres que se desarrollan en hábitats frecuentemente disturbados por la actividad humana (Martínez-De La Cruz et al., 2015). Según su hábitat, pueden ser: arvenses acuáticas, ruderales, agrestes y arvenses (Blanco-Valdes, 2016). Las plantas ruderales como *Argemone* L. (Papaveraceae) son propias de los asentamientos humanos y otros ambientes transformados, ya que prosperan en campos cultivados o en estado de abandono (Alemayehu, 2011; Rajvaidhya et al., 2012), lotes baldíos, ruinas, o bien, ocupan las orillas de vías de comunicación como caminos, carreteras y vías de ferrocarril, ya que se encuentran adaptadas a condiciones de sequía y suelos pobres (Jimoh et al., 2010; Martínez-De La Cruz et al., 2015).

Las plantas consideradas malezas interactúan ecológicamente con otros subsistemas del agroecosistema y tienen mucha importancia contra la erosión y para la conservación del suelo, la formación de materia orgánica, la fijación del nitrógeno en el suelo, la preservación de los insectos beneficiosos y de la vida silvestre (NACOBIO, 2022); además, son fuente de requerimientos de importancia para los enemigos naturales de diversos cultivos, desempeñándose como presas huéspedes alternativas de polen o néctar, también, fungen como micro hábitats que no se encuentran presentes en los monocultivos libres de malezas (Verdegen, 2022). La práctica de diversificación actualmente implementa el uso de diferentes cultivos y el empleo de poblaciones sinantrópicas dentro del cultivo o en los bordes, para que actúen como repelentes de insectos o cultivos trampa (Verdegen, 2022).

Argemone tiene un rol relevante en trabajos de entomología y fitopatología como fuente de sustancias repelentes o biocidas (Granados-Echegoyen et al., 2018). Las plantas ruderales juegan un papel importante en los campos de cultivo de la gran mayoría de agricultores tradicionales, quienes hacen un uso intensivo y variado de estas. Algunas ruderales se utilizan con fines medicinales con lo es en el caso de *Argemone* sp. que en la herbolaria tradicional se le atribuyen múltiples propiedades medicinales (Rajvaidhya et al., 2012).

El estudio de la interacción Genotipo-Ambiente (G-A) en plantas ha sido una herramienta efectiva para la identificación de especies con mayor tolerancia ante ciertas adversidades climáticas, el entendimiento de estas interacciones ha representado una mejora significativa en las prácticas de conservación ambiental en regiones con climas poco favorables. El conocimiento de la interacción G-A para una especie vegetal en particular es de relevancia ya que dicha información puede proporcionar las bases para la selección de genotipos más estables para ecosistemas específicos. Sin embargo, las plantas de *Argemone* L. (Papaveraceae), al ser consideradas como malezas, no han sido estudiadas ampliamente con relación a su ecología y se desconocen aspectos de su diversidad genética y su posible asociación con los factores ambientales. La variación genética de especies vegetales, sus diferencias entre poblaciones, especies e incluso sub especies se emplean para explicar patrones y procesos ecológico-evolutivos. Para determinar dichas características es necesario extraer ADN de alta calidad, sin embargo, el alto contenido de polisacáridos y alcaloides presentes en *Argemone* representan un gran reto que dificultan la extracción y purificación del ADN. Por lo cual, el objetivo del presente estudio fue evaluar diferentes métodos de extracción de ADN genómico a partir de tejido vegetal de plantas pertenecientes al género *Argemone* L. (Papaveraceae).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Las muestras de tejido vegetal fueron recolectadas en el periodo de abril 2021 a abril 2022 en diferentes poblaciones que forman parte del Desierto Chihuahuense (Tabla 1). Las áreas de *Argemone* fueron seleccionadas de manera aleatoria de acuerdo con su presencia al borde de la carretera o en áreas agrícolas. En total se registraron diez áreas de interés (poblaciones de *Argemone* sp.) y en cada una de ellas, se seleccionaron especímenes de manera aleatoria de los cuales se recolectó tejido foliar joven (Pozo-Gómez et al., 2019), el cual se almacenó en

tubos Falcon de 50 ml para ser transportado en nitrógeno líquido. El material vegetal fue almacenado a -20°C hasta su procesamiento.

Tabla1. Sitios de colecta de tejido foliar de *Argemone* L. (Papaveraceae) y localización geográfica.

Sitio	Ubicación	Altitud
Cuencamé 1, Dgo.	24°11' N; 103°37' W	2111 m
Lerdo, Dgo.	25°29' N; 103°33' W	1138 m
Ceballos 1, Dgo.	26°29' N; 104°12' W	1227 m
Ceballos 2, Dgo.	26°21' N; 104°20' W	1294 m
Cuencamé 2, Dgo.	24°36' N; 103°31' W	1836 m
Miguel Auza 1, Zac.	24°5' N; 103°16' W	2154 m
Miguel Auza 2, Zac.	24°5' N; 103°16' W	2120 m
Miguel Auza 3, Zac.	24°5' N; 103°16' W	2171 m
JMJ, Chih.	27°23' N; 104°56' W	1305 m
FIM, Coah.	25°46' N; 103°6' W	1112 m

Extracción de ADN genómico

El proceso de extracción de ADN se realizó en el Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez del Estado de Durango. Los protocolos se desarrollaron en un área descontaminada y libre de nucleasas para evitar la degradación del ADN. Los insumos fueron esterilizados a 120°C y 15 psi por 15 min en una autoclave automática.

El material vegetal fue homogenizado mediante maceración con nitrógeno líquido y se emplearon 7 mg de tejido vegetal. Se evaluaron cuatro protocolos de extracción para ADN, los cuales se describen a continuación:

CTAB 1: El ADN genómico fue aislado mediante el protocolo descrito por Doyle & Doyle (Doyle & Doyle, 1990). El procedimiento se llevó a cabo mediante el buffer de extracción 1 basado en el detergente iónico CTAB (CTAB 2%, Tris-HCl 100 mM [pH 8], NaCl 1.4 M, EDTA 20 mM [pH 8]), seguido de dos extracciones más con cloroformo. La precipitación del ADN genómico fue con isopropanol

durante 15 minutos a -20 °C, seguido de un lavado con etanol al 70%. El pellet se secó a temperatura ambiente y fue re suspendido en agua libre de nucleasas.

CTAB 2: El ADN genómico fue aislado mediante el protocolo descrito por Doyle & Doyle (1990) con modificaciones. El procedimiento se llevó a cabo mediante el buffer de extracción 1 basado en el detergente iónico CTAB (CTAB 2%, Tris-HCl 100 mM [pH 8], NaCl 1.4 M, EDTA 20 mM [pH 8]). La variación respecto al procedimiento anterior fue la adición de dos extracciones, la primera realizada con Cloroformo y la segunda con Fenol-Cloroformo-Alcohol Isoamílico (25:24:1). La precipitación del ADN genómico fue con isopropanol durante 15 minutos a -20 °C, seguido de un lavado con etanol al 70%. El pellet se secó a temperatura ambiente y fue re suspendido en agua libre de nucleasas.

CTAB 3: El ADN genómico fue aislado mediante el protocolo descrito por Doyle & Doyle (1990) con modificaciones. El procedimiento se llevó a cabo mediante el buffer de extracción 1 basado en el detergente iónico CTAB (CTAB 2%, Tris-HCl 100 mM [pH 8], NaCl 1.4 M, EDTA 20 mM [pH 8]). La variación respecto a los procedimientos anteriormente descritos consistió en la adición de dos extracciones la primera realizada con Fenol-Cloroformo (1:1) y la siguiente con Fenol-Cloroformo-Alcohol Isoamílico (25:24:1). La precipitación del ADN genómico fue con isopropanol durante 15 minutos a -20 °C, seguido de un lavado con etanol al 70%. El pellet se secó a temperatura ambiente y fue re suspendido en agua libre de nucleasas.

Kit Comercial: La extracción del ADN Genómico se realizó empleando el kit comercial Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Fitchburg, WI). El procedimiento inicio al emplearse la solución de lisis (Nuclei Lysis Solution) y posterior incubación a 65°C durante 15 minutos. Luego se agregó una solución para eliminar o inactivar enzimas degradadoras de ADN (RNase), para luego incubarse a 37°C por 15 minutos, posterior se enfriaron los tubos a temperatura ambiente por 5 minutos y finalmente a 4°C por 1 minuto. Una vez realizado esto,

se agregó la solución de precipitación de proteínas (Protein Precipitation Solution). La precipitación del ADN genómico se realizó con isopropanol durante 12 minutos de agitación e incubación de 15 minutos a -20 °C, seguido de un lavado con etanol al 70%. El pellet se secó a temperatura ambiente y fue re suspendido en la solución de rehidratación (DNA rehydration solution). El ADN rehidratado se sometió a incubación a 65°C por 1 hora para proceder a su almacenamiento.

Evaluación de la extracción, calidad e integridad del ADN

La extracción del ADN genómico fue evaluada mediante los parámetros de ng/μl obtenidos, pureza e integridad, a través de espectrofotometría (NanoDrop 2000, UV/Vis, Thermo Scientific) y por electroforesis horizontal en geles de agarosa.

La concentración del ADN obtenido se cuantificó mediante densidad óptica a 260 nm y la pureza se confirmó por la relación de los índices de absorbancia a 260/280 nm ($A_{260/280}$), así como a 260/230 nm ($A_{260/230}$). Una relación $A_{260/280}$ entre 1.8 y 2.1 indican que el ADN tiene una pureza optima, mientras que un ADN aceptable oscila de 1.6 a 1.7, sin embargo, valores por debajo del 1.6 sugieren la presencia de contaminantes como compuestos aromáticos y ARN. La relación 260/230 que indica una calidad optima de ADN va de 2 a 2.2, lecturas por debajo de 1.8 sugieren ADN contaminado por sales, fenoles, e hidratos de carbono (IBT, 2021).

La integridad del ADN fue evaluada mediante una electroforesis en gel de agarosa-TAE al 1%. Las condiciones de corrida empleadas fueron 70 V durante 1 h, utilizando TAE 1X como Buffer de corrida. La tinción del ADN se realizó con Gel Red® (Biotium, Hayward, CA, EUA). Los geles se visualizaron con luz ultravioleta en un fotodocumentador UVP® MultiDoc It Imaging System.

Evaluación de la viabilidad del ADN para pruebas de PCR

La calidad de ADN extraído con cada uno de los protocolos fue evaluada mediante pruebas de PCR punto final. El ADN se amplificó utilizando la enzima Taq polimerasa (Jena Bioscience, Dortmund, Alemania) con las especificaciones del fabricante. Se utilizaron oligonucleótidos del gen constitutivo *rbcL* (Subunidad mayor de la Ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa):

Forward 5' ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC3' y Reverse 5' GATAAAATCAAGTCCACCRGC 3' para la amplificación de un fragmento de 600 pb.

La concentración de ADN utilizada en los ensayos de PCR fue de 10 ng·µl⁻¹ de ADN genómico. El programa térmico constó en una etapa inicial de desnaturalización de 2 min a 95 °C; posteriormente, 30 ciclos que comprenden las siguientes condiciones: desnaturalización a 95 °C durante 15 s, alineamiento 60 °C durante 15 s y extensión 72 °C durante 1 min y una extensión final de 2 min a 72 °C. Los productos amplificados se separaron en un gel de agarosa al 2%, teñidos con Gel Red® (Biotium, Hayward, CA, EUA), a 80 V durante 1 hora 15 min y se visualizaron con luz ultravioleta en un fotodocumentador UVP® MultiDoc It Imaging System.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados estadísticamente mediante ANOVA de una vía con un nivel de significancia $\alpha < 0.05$. Posteriormente, la prueba de medias de Tukey se consideró con una $P \leq 0.05$. La información se procesó en Minitab® 17 Statistical Software.

RESULTADOS

Los cuatro protocolos de extracción fueron efectivos para la obtención de ADN genómico a partir de tejido vegetal de *Argemone* L. (Papaveraceae). Los rendimientos obtenidos fueron de los 223.8 a los 548.7 ng·µl⁻¹ (Tabla 2). El

método de extracción que reportó el mayor rendimiento de ADN fue CTAB 1, por encima de los métodos CTAB 2 y CTAB 3. El menor rendimiento de obtención de ADN se obtuvo con el Kit Comercial.

Tabla 2. Medias de concentración de ADN genómico ($\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$) obtenido de tejido foliar de *Argemone* L. (Papaveraceae)

Protocolo de extracción	ADN genómico ($\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$)
CTAB 1	548.7 $\pm$ 325 ^a
CTAB 2	459.8.2 $\pm$ 110 ^{ab}
CTAB 3	383.1 $\pm$ 219 ^{ab}
Kit Comercial	223.8.5 $\pm$ 158 ^b
<i>F</i>	4.37
<i>P</i>	0.009

Nota: Los valores son la media de las mediciones $\pm$ error estándar. Las columnas con valores seguidos por literales diferentes son significativamente diferentes Tukey ($p \leq 0.05$).

La pureza del ADN se evaluó mediante la relación de los índices de las absorbancias ($A_{260/280}$) (Tabla 3) y ($A_{260/230}$) (Tabla 4). El Kit Comercial presentó niveles de pureza óptimos (1.8) de acuerdo a las $A_{260/280}$, contrastando con los métodos CTAB 2 y CTAB 3 con lecturas <1.6 . El protocolo CTAB 1 mostró las lecturas más bajas, lo cual sugiere la presencia de contaminantes.

Tabla 3. Medias de Absorbancias ($A_{260/280}$) de ADN obtenido de tejido foliar de *Argemone* L. (Papaveraceae)

Protocolo de extracción	$A_{260/280}$
CTAB 1	1.41 $\pm$ 0.08 ^b
CTAB 2	1.53 $\pm$ 0.31 ^{ab}
CTAB 3	1.56 $\pm$ 0.35 ^{ab}
Kit Comercial	1.84 $\pm$ 0.13 ^a
<i>F</i>	3.21
<i>P</i>	0.045

Nota: Los valores son la media de las mediciones $\pm$ error estándar. Las columnas con valores seguidos por literales diferentes son significativamente diferentes Tukey ($p \leq 0.05$).

El protocolo realizado con el Kit comercial fue el que mostró mejores resultados $A_{260/230}$ (1.16 $\pm$ 0.21), sin embargo, dichas mediciones son <1.8 lo que indica

contaminación con sales, fenol e hidratos de carbono. Los protocolos CTAB 1, CTAB 2 y CTAB 3 presentaron lecturas por debajo de 1.5, lo cual denota ADN altamente contaminado con sales, fenol e hidratos de carbono.

Tabla 4. Medias de Absorbancias ($A_{260/230}$) de ADN obtenido de tejido foliar de *Argemone* L. (Papaveraceae)

Protocolo de extracción	$A_{260/230}$
CTAB 1	0.60 ± 0.04^b
CTAB 2	0.83 ± 0.24^{ab}
CTAB 3	0.97 ± 0.31^{ab}
Kit Comercial	1.16 ± 0.21^a
<i>F</i>	6.32
<i>P</i>	0.003

Nota: Los valores son la media de las mediciones $\pm$ error estándar. Las columnas con valores seguidos por literales diferentes son significativamente diferentes Tukey ($p \leq 0.05$).

Evaluación de la calidad e integridad de ADN por electroforesis de agarosa

La integridad del ADN genómico se evaluó mediante una electroforesis horizontal de agarosa-TAE al 1%. Los cuatro protocolos evaluados mostraron bandas definidas de ADN confirmando una extracción adecuada de ácidos nucleicos. Los protocolos en los cuales se observó una menor degradación de ADN fueron CTAB 3 y Kit Comercial (Figura 1).

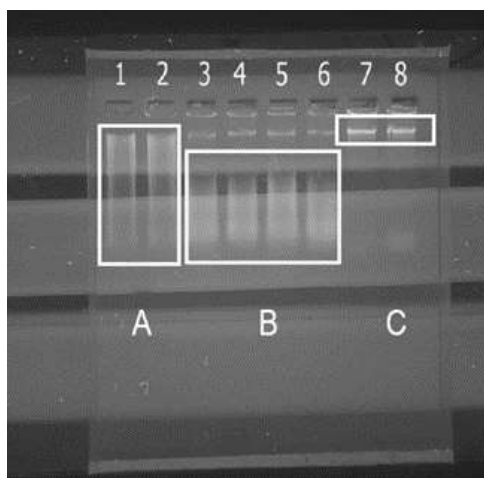


Figura 1. Electroforesis en gel de agarosa-TAE (1%) de ADN genómico obtenido de tejido vegetal de *Argemone* L. (Papaveraceae) con CTAB 1 (1-2), CTAB 2 (3-4), CTAB 3 (5-6) y Kit Comercial (7-8). (A y B) DNA degradado (C) DNA calidad óptima.

Evaluación de la viabilidad del ADN para pruebas de PCR

La evaluación de la viabilidad del ADN para ser implementado en ensayos de PCR se realizó mediante la amplificación del gen constitutivo *rbcL* (Subunidad mayor de la Ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa).

Las extracciones realizadas con los protocolos CTAB 1, CTAB 2 y CTAB 3 fueron las que mayor rendimiento de extracción presentaron, los tres protocolos reportaron resultados positivos en amplificaciones de PCR, sin embargo, los bandeos eran poco específicos para los productos amplificados y a su vez la electroforesis indica la presencia de contaminantes y ácidos nucleicos degradados (Figura 2). Por otra parte, en ADN extraído con el Kit Comercial generó bandas claras y específicas, indicando una mayor pureza y viabilidad para realizar diferentes pruebas de PCR.

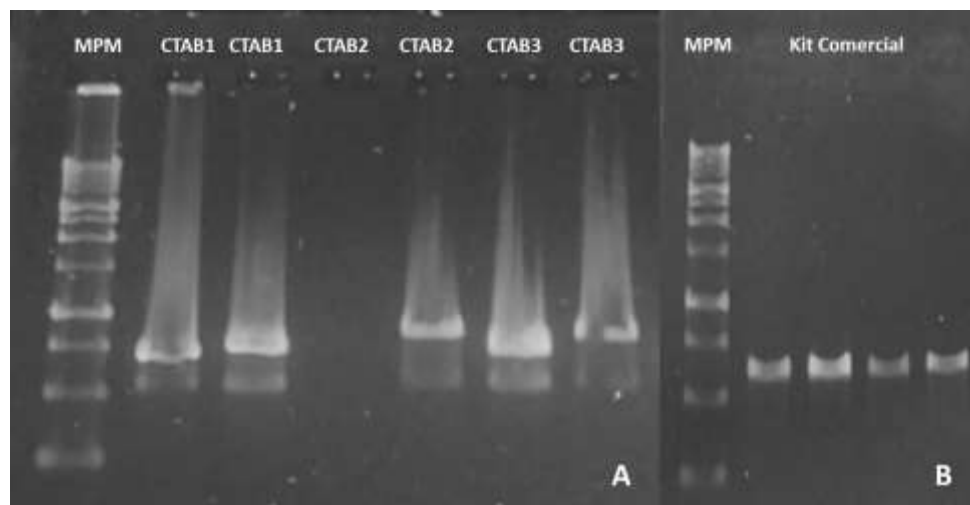


Figura 2. Evaluación de la viabilidad del ADN extraído de tejido vegetal de *Argemone* L. (Papaveraceae) por reacción de PCR. Protocolos CTAB 1, CTAB 2 y CTAB 3 (A) y Kit Comercial (B). Gen constitutivo amplificado *rbcL* (600 pb), MPM de 1 Kb (Promega, Fitchburg, WI, EUA).

DISCUSIÓN

Las plantas silvestres como *Argemone* L. (Papaveraceae) suelen desarrollarse en sitios con condiciones de crecimiento que podrían considerarse muy adversas (bordes de carreteras, alcantarillas, lotes baldíos y campos de cultivo abandonados) (Alemayehu, 2011). Algunos de los factores abióticos con los que lidian las plantas pertenecientes al género *Argemone* son: temperaturas extremas, suelos pobres en nutrientes y estrés hídrico (CNF, 2018), dichas condiciones predominan en el Desierto Chihuahuense. Tales condiciones inducen la activación del metabolismo secundario de las plantas derivando en una alta producción de polisacáridos, alcaloides, fenoles y taninos (Taiz & Zeiger, 2010), sustancias que dificultan la extracción de ácidos nucleicos.

Los tiempos actuales demandan el abordaje de pruebas moleculares para el estudio de la variación genética entre especies, poblaciones e individuos para así lograr explicar patrones y procesos ecológico-evolutivos (Schlötterer, 2004). El punto de inicio de análisis de tipo molecular es contar con un protocolo para la

extracción de ADN que presente buenos rendimientos y óptima calidad. Aunque existen antecedentes de la extracción de ácidos nucleicos de plantas del género *Argemone* (Bazaid et al., 2011; Rubio-Piña & Vázquez-Flota, 2008; Vázquez-Flota et al., 2018) la extracción de ADN de buena calidad proveniente de plantas *Argemone* L. (Papaveraceae) aún presenta algunas dificultades ya que el ADN obtenido del tejido de *Argemone*, suele estar degradado o contaminado por hidratos de carbono y fenoles.

Los protocolos de extracción de ADN basados en surfactantes catiónicos como CTAB han sido implementados en diversos organismos (bacterias, insectos, plantas) (SENASICA, 2020) siendo uno de los métodos más empleados en biología molecular. Los protocolos que utilizan CTAB resultan especialmente útiles para obtener ADN de organismos que producen grandes cantidades de polisacáridos como las plantas (INTA, 2024; PROBIOTEK, 2024). Sin embargo, pese a la abundante literatura donde se reportan extracciones de ADN realizadas con CTAB, la realidad para muchos investigadores es que dichos procedimientos siguen teniendo una naturaleza empírica, debido a la gran variabilidad en la composición de tejidos vegetales (Sánchez-Coello et al., 2011).

Los protocolos CTAB1, CTAB 2 y CTAB 3 mostraron mayores rendimientos en extracción (ng/μl) de ADN, sin embargo, también denotaron una mayor presencia de contaminantes. Lo anterior, puede sugerir la presencia en exceso de componentes orgánicos (Maniatis et al., 1983). Existen reportes de la obtención de ADN proveniente de plantas de la familia Zamiaceae mediante protocolos basados en CTAB. Las extracciones obtenidas indicaban que el ADN estaba degradado o contaminado con proteínas, polifenoles y polisacáridos (Sánchez-Coello et al., 2011). Por lo cual, la interferencia de contaminación en la pureza del ADN aislado por los protocolos CTAB 1, CTAB 2 y CTAB 3 evaluados en este proyecto puede atribuirse al alto contenido de polisacáridos, alcaloides como berberina, protopina, sanguinarina y queleritina, además de diversos polifenoles presentes en diferentes especies de *Argemone* (Curay-Yaulema et al., 2023;

Rajvaidhya et al., 2012), los cuales precipitan en conjunto con el ADN lo que dificulta el proceso de extracción y purificación (Aljanabi et al., 1999).

El Kit comercial Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Fitchburg, WI) menciona ser protocolo eficiente para extracción de ADN de tejido vegetal de tomate (*Solanum lycopersicum*), maíz (*Zea mays*), plantas acuáticas (*Lemna minor*) y plantas modelo como *Arabidopsis thaliana* (PROMEGA, 2024; Stout & Nüsslein, 2005; Vorwerk, 2001), sin embargo, se desconocía de su eficacia en plantas consideradas malezas como las pertenecientes al género *Argemone*. Las modificaciones implementadas al protocolo del fabricante aumentando el tiempo de agitación para la precipitación de las hebras del ADN y el incremento del periodo de incubación en frío permitieron obtener buenos rendimientos de extracción de ADN ($\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$) con una pureza óptima en la relación $A_{260/280}$ sin embargo, no se alcanzó una pureza óptima en la relación $A_{260/230}$. Esto puede atribuirse a azúcares residuales que no lograron ser eliminados en la purificación de la muestra (Sánchez-Rodríguez et al., 2008).

La comprobación de la viabilidad y el grado de integridad del ADN obtenido comúnmente se lleva a cabo por medio de una prueba PCR. Los protocolos CTAB 1, CTAB 2 y CTAB 3 presentaron amplificaciones en donde se observa una banda degradada a lo largo del canal de avance de la electroforesis, lo cual es indicativo de degradación de las muestras analizadas (ADN, 2020). Por otro lado, las muestras amplificadas a partir de la extracción realizada con el Kit comercial amplificaron bandas claras, específicas y libres de estela a lo largo del gel, siendo lo anterior indicativos de un ADN íntegro y viable para estudios genómicos (ADN, 2020).

CONCLUSIONES

Los protocolos con CTAB mostraron tener buenos rendimientos de extracción en tejido vegetal de *Argemone*, sin embargo, no fueron efectivos para obtener niveles óptimos de pureza. El ADN obtenido con el Kit comercial fue el que presentó mejores niveles de pureza. La comprobación realizada por PCR de la

viabilidad y el grado de integridad del ADN obtenido indicó que el protocolo en que se empleó el Kit comercial resultó ser la mejor opción para realizar extracciones de ADN en tejido vegetal rico en polisacáridos, alcaloides, fenoles y taninos como el de *Argemone* L. (Papaveraceae).

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por el apoyo brindado por medio de la beca de postgrado número 761360. La realización de este proyecto fue posible al trabajo conjunto de la Universidad Juárez del Estado de Durango y la Universidad Autónoma Chapingo.

LITERATURA CITADA

- ADN, B. N. d. (2020). *Programa de control de calidad de muestras de ADN y ARN*. Universidad de Salamanca <https://www.bancoadn.org/docs/formulario-control-calidad-muestras.pdf>
- Alemayehu, K. (2011). Prevalence and effects of *Argemone mexicana* (Papaveraceae) on biodiversity in Ethiopia. *Afr. J. Ecol*, 50(2), 160-166.
- Aljanabi, S., Forget, L., & Dookun, A. (1999). An improved rapid protocol for the isolation of polysaccharide and polyphenol-free sugarcane DNA. *Plant Molecular Biological Report*, 17, 1-8.
- Bazaid, S. A., Mohamed Muneera, A. S., Hussein Sonya, H. M., & Sadik, A. S. (2011). Determination of DNA fingerprinting of nine *Argemone* plant samples using RAPD-PCR tool. *Pak. J. Biotechnol*, 8(2), 55-66.
- Blanco-Valdes, Y. (2016). El rol de las arvenses como componente en la biodiversidad de los agroecosistemas. *Cult. trop*, 37, 34-56. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362016000400003&nrm=iso
- CNF. (2018). *Las zonas áridas son más que desierto*. Comisión Nacional Forestal. <https://www.gob.mx/conafor/es/articulos/las-zonas-aridas-son-mas-que-desierto?idiom=es>
- Curay-Yaulema, C. S., Moncayo-Molina, W. E., Tierra-Vilema, W. P., Pulgar-Astudillo, L. J., & D Armas-R, H. T. (2023). Composición química y actividad antifúngica del látex de *Argemone mexicana* (Cardo Santo). *FACSalud*, 7(12), 19-36.
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1990). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull*, 19, 11-15.

- Granados-Echegoyen, C. A., Chan-Bacab, M. J., Ortega-Morales, B. O., Vásquez-López, A., Lagunez-Rivera, L., Fidel Diego-Nava, F., & Gaylarde, C. (2018). *Argemone mexicana* (Papaverales: Papavaraceae) as an alternative for mosquito control: First report of larvicidal activity of flower extract. *J. Med. Entomol*, XX(X), 1-7. <https://doi.org/10.1093/jme/tjy159>
- IBT. (2021). *Cuantificación de Oligonucleótidos y Ácidos Nucleicos por Espectroscopía de UV*. <http://oldwww.ibt.unam.mx/sintesis/cuantificacion.html>
- INTA. (2024). *Puesta a punto del método de extracción de ADN con CTAB en alfalfa (Medicago sativa L.)*. <https://repositorio.inta.gob.ar/xmlui/handle/20.500.12123/4055#>
- Jimoh, F., Adedapo, A., Aliero, A., & Afolayan, A. (2010). Polyphenolic and biological activities of leaves extracts of *Argemone subfusiformis* (Papaveraceae) and *Urtica urens* (Urticaceae). *Rev. Biol. Trop*, 58(4), 1513-1531.
- Maniatis, T., Fritsch, E. F., & Sambrook, J. (1983). *Molecular cloning. A laboratory manual*
- Martínez-De La Cruz, I., Vibrans, H., Lozada-Pérez, L., Romero-Manzanares, A., Aguilera-Gómez, L. I., & Rivas-Manzano, I. V. (2015). Plantas ruderales del área urbana de Malinalco, Estado de México, México. *Botanical Sciences*, 93(4), 907-919.
- NACOBIO. (2022). *Thickets*. National Commission for the Knowledge and Use of Biodiversity. <https://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/Matorral>
- Pozo-Gómez, D. M., Orantes-García, C., Rioja-Paradela, T. M., Moreno-Moreno, R. A., & Farrera-Sarmiento, O. (2019). Diferencias en morfometría y germinación de semillas de *Croton guatemalensis* (Euphorbiaceae), procedentes de poblaciones silvestres de la Selva Zoque, Chiapas, México. *Acta Bot. Mex.*, 126(e1384), 1-12. <https://www.scielo.org.mx/pdf/abm/n126/2448-7589-abm-126-e1384.pdf>
- PROBIOTEK. (2024). *CTAB (Bromuro de hexadeciltrimetilamonio)*. <https://www.probiotek.com/productos/reactivos/detergentes/ctab/>
- PROMEGA. (2024). *Wizard® Genomic DNA Purification Kit Technical Manual*. <https://worldwide.promega.com/resources/protocols/technical-manuals/0/wizard-genomic-dna-purification-kit-protocol/>
- Rajvaidhya, S., Nagori, B. P., Singh, G. K., Dubey, B. K., Desai, P., & Sanjay, J. (2012). A review on *Argemone mexicana* Linn.- An Indian medicinal plant. *IJPRS*, 3(08), 2494-2501.
- Rubio-Piña, J. A., & Vázquez-Flota, F. A. (2008). Isolation of functional total RNA from *Argemone mexicana* tissues. *Electronic Journal of Biotechnology*, 11(4), 0-0. <https://doi.org/10.2225/vol11-issue4-fulltext-13>
- Sánchez-Coello, N. G., Mauricio Luna-Rodríguez, M., Vázquez-Torres, M., Sánchez-Velásquez, L. R., Santana-Buzzy, N., Octavio-Aguilar, P., & Iglesias-Andreu, L. G. (2011). optimización de un protocolo del aislamiento del ADN y de un sistema de amplificación ISSR-PCR para *Ceratozamia mexicana* Brongn. (Zamiaceae). *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, 18(1), 123-133.

- Sánchez-Rodríguez, A., Portal, O., Rojas, L. E., Ocoña, B., Mendoza, M., Acosta, M., Jiménez, E., & Höfte, M. (2008). An Efficient Method for the Extraction of High-Quality Fungal Total RNA to Study the *Mycosphaerella fijiensis*–*Musa* spp. Interaction. *Mol Biotechnol*, 40, 299-305.
- Schlötterer, C. (2004). The evolution of molecular markers –just a matter of fashion?. *Nature Reviews*, 5, 63-69.
- SENASICA. (2020). *Metodologías para la extracción de DNA total*. Retrieved from https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/728770/2_FT_Metodologas_para_la_Extraccion_de_DNA_total_1.0_2020.pdf
- Stout, L. M., & Nüsslein, K. (2005). Shifts in rhizoplane communities of aquatic plants after cadmium exposure. *Appl Environ Microbiol*, 71(15), 2484–2492.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). *Plant physiology* (5 ed.). Sinauer associates.
- Vázquez-Flota, F., Rubio-Piña, J., Xool-Tamayo, J., Vergara-Olivares, M., Tamayo-Ordoñez, Y., Monforte-González, M., Guízar-González, C., & Mirón-López, G. (2018). Tissue distribution of transcripts involved in biosynthesis of benzylisoquinoline alkaloid in mature plants of *Argemone mexicana* L. (Papaveraceae) *Revista fitotecnica mexicana*, 41(1).

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES GENERALES

Las plantas ruderales como las pertenecientes al género *Argemone* L. (Papaveraceae) poseen una importancia ecológica notable al ser las primeras que colonizan suelos pobres o degradados, esto a su vez propicia el establecimiento de condiciones abióticas favorables para el posterior establecimiento de otro tipo de especies. Lo anterior promueve la integración y desarrollo de comunidades microbianas del suelo capaces de restaurar en algún punto la degradación de dicho suelo, desempeñan un papel importante en diversas áreas del DC en donde se hace aprovechamiento de dicho recurso. Sin embargo, el potencial ecológico de dichas plantas aun es desconocido. Uno de los objetivos específicos abordados en esta investigación fue el de establecer las relaciones morfológicas entre los genotipos de *Argemone* spp. de la parte media del DC de México, con el fin de contribuir al entendimiento del rol ecológico de estas plantas. En relación al objetivo previamente mencionado se logró concluir que el género *Argemone* responde a características ambientales por lo cual muestra condiciones de adaptabilidad en la morfología de las semillas. Las características morfológicas de las semillas le confieren a *Argemone* una rápida velocidad de imbibición y larga flotabilidad; dichas características sugieren una adaptación para ser diseminadas mediante hidrocoria durante las temporadas húmedas. El contenido de micro y macro nutrientes analizados en semilla y suelo sugieren una estrecha relación con las características morfológicas de las semillas y una mejor adaptación de *A. mexicana* a suelos calcáreos y salinos en contraste con *A. pleiacantha* mejor adaptada a suelos con mayor cantidad de nutrientes.

La variación genética de especies vegetales, sus diferencias entre poblaciones, especies e incluso sub especies se emplean para explicar patrones y procesos ecológico-evolutivos, por lo cual, el segundo objetivo específico planteado en el proyecto evaluar la diversidad genética de *Argemone* spp. de la parte media del

DC de México, sin embargo, para poder abordar lo anteriormente mencionado es necesario extraer ADN de alta calidad. Por lo cual, se evaluaron diferentes métodos de extracción de ADN genómico a partir de tejido vegetal de plantas pertenecientes al género *Argemone* L. (Papaveraceae), en donde los protocolos con CTAB mostraron tener buenos rendimientos de extracción en tejido vegetal de *Argemone*, sin embargo, no fueron efectivos para obtener niveles óptimos de pureza. El ADN obtenido con el Kit comercial fue el que presentó mejores niveles de pureza. La comprobación realizada por PCR de la viabilidad y el grado de integridad del ADN obtenido indicó que el protocolo en que se empleó el Kit comercial resultó ser la mejor opción para realizar extracciones de ADN en tejido vegetal rico en fitoquímicos como polisacáridos, alcaloides, fenoles y taninos presentes en *Argemone* L. (Papaveraceae).