



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA

LABORATORIO DE ETNOBOTANICA

**ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE)
SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADA DE HUEJUTLA, HIDALGO**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA PRESENTA:**

ENRIQUE ROBERTO POPOCATL FLORES

DIRECTOR:

**M. en C. MIGUEL ÁNGEL VILLAVICENCIO NIETO
Quim. BLANCA ESTELA PÉREZ ESCANDÓN**

MINERAL DE LA REFORMA, HIDALGO

2010

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por haberme permitido nacer en esta maravillosa familia, también por permitirme conocer a todos aquellos amigos, compañeros y maestros, que me ayudaron a crecer no solo en lo profesional, sino también como persona y por dejarme alcanzar esta meta.

A mis directores de Tesis el M. en C. Miguel Ángel Villavicencio Nieto y la Quím. Blanca Estela Pérez Escandón no solo por su gran apoyo y asesoría en la elaboración de esta tesis, sino también por compartir sus experiencias y conocimientos.

A mis sinodales, M. en C. Leticia Romero Bautista, por su apoyo no solo como sinodal sino también por ser una gran tutora, Dra. Ana Laura López Escamilla, Dra. Maritza López Herrera, Dr. Arturo Sánchez González y M. en C. Manuel González Ledesma por sus sabios consejos, que me permitieron enriquecer este trabajo de tesis.

Gracias a mis padres Pedro y Laura, por darme la vida y apoyarme en todo momento, ya que sin su amor, cariño y apoyo no hubiera podido cumplir con esta meta. Gracias por enseñarme a superar cualquier problema siempre con una sonrisa, sin dejarme derrotar. Disculpen por las noches que los mantuve

despiertos al realizar mis trabajos, pero al final todo esfuerzo tiene su recompensa. "GRACIAS"

A mi hermano Erik por apoyarme en todo momento.

A mi tía Lorena (q. e. p. d.) ya que siempre ha sido como una segunda madre, donde quiera que esté gracias por todo tu amor y cariño.

A mi abuelita Teresa por su apoyo y confianza

A todos mis tíos por el apoyo, confianza y cariño que me han brindado, al igual que a mis primos por su amistad y apoyo.

A mis amigos de la licenciatura Andrés, Chio, Aure, Alma, Mil, Alba, Lupita, Mayte, gracias por permitirme conocerlos y compartir conmigo su amistad, por hacer tanto de la licenciatura como de las salidas de campo algo inolvidable, también por compartir alegrías y tristeza. Aunque la distancia y el tiempo nos separen siempre los recordare.

A mis amigos del laboratorio Irene, Elvis, Lidyce, Judith, Alan, Uriel, Bere gracias por su amistad, sus consejos, apoyo, confianza, por hacerme sentir parte del grupo y hacer de los congresos una gran experiencia- También a ustedes chicos, Cande, Bety, Olga, Yoselin, Amalia, Pacheco, Edgar, Isra, Flor, Nely, por haberme permitido conocerlos y por compartir tantas cosas. Nunca los olvidare.

**ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN
Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO**

Reconocimiento

Un reconocimiento especial para Mariana Garrido Gonzales, por su apoyo en la elaboración de los cromatogramas de los aceites esenciales de *Tagetes lucida* silvestre y cultivada.

Expreso mi agradecimiento al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Hidalgo, por la beca otorgada para la realización de esta tesis, que se encuentra incluida dentro del proyecto “Diversidad Biológica del Estado de Hidalgo (Segunda Fase)”, FOMIX-HGO-2008-95828.

Índice General

Contenido.	Pág.
Índice general.	I
Índice de Tablas.	IV
Índice de Figuras.	V
Resumen.	1
1 Introducción.	2
2 Antecedentes.	5
2.1 Descripción taxonómica.	6
2.1.1 Descripción del género <i>Tagetes</i> .	6
2.1.2 Descripción de <i>Tagetes lucida</i> Cav.	6
2.1.3 Usos.	7
2.2 Etnobotánica de <i>T. lucida</i> .	8
2.3 Fitoquímica de <i>T. lucida</i> .	10
2.4 Antecedentes de <i>Artemia salina</i> .	12
3 Justificación.	13
4 Objetivos.	14
5 Metodología.	15
5.1 Descripción del Área de adquisición de <i>T. lucida</i> .	15
5.1.1 Actopan.	15
5.1.2 Huejutla.	16
5.2 Adquisición de <i>T. lucida</i> .	18

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN
Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

5.3 Preparación de extractos.	18
5.4 Obtención de los aceites esenciales (AEs).	20
5.5 Bioensayos.	21
5.5.1 Ensayo de actividad antibacteriana por difusión en agar (antibiograma).	22
5.5.2 Ensayo de actividad antibacteriana por dilución en caldo.	25
5.5.3 Ensayo de toxicidad en <i>Artemia salina</i> .	28
5.6 Composición química.	29
6 Resultados.	31
6.1 Ensayo de actividad antibacteriana por difusión en agar (antibiograma).	31
6.1.1 Actividad antibacteriana de extractos de <i>T. lucida</i> silvestre.	32
6.1.2 Actividad antibacteriana de AEs de <i>T. lucida</i> silvestre.	38
6.1.3 Actividad antibacteriana de extractos de <i>T. lucida</i> cultivada.	40
6.1.4 Actividad antibacteriana de AEs de <i>T. lucida</i> cultivada.	43
6.2 Análisis comparativo de la actividad antimicrobiana de <i>T. lucida</i> .	44
6.3 Ensayo de actividad antibacteriana por dilución en caldo de AEs de <i>T. lucida</i> silvestre y cultivada.	48
6.4 Ensayo de toxicidad en <i>Artemia salina</i> .	50
6.5 Análisis cromatográfico.	50
7 Discusión.	54
7.1 Rendimiento de los AEs.	54

**ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN
Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO**

7.2 Actividad biológica de <i>T. lucida</i> .	54
7.3 Composición química de los aceites esenciales.	57
8 Conclusión.	59
9 Literatura citada.	62
10 Anexos.	76

Índice de Tablas

Tabla 1	Principales compuestos reportados presentes en <i>T. lucida</i> .	11
Tabla 2	Diámetro promedio en mm de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano de extractos de <i>T. lucida</i> silvestre.	32
Tabla 3	Diámetro en mm de la zona de inhibición de los AEs de <i>T. lucida</i> silvestre.	40
Tabla 4	Diámetro promedio en mm de la zona de inhibición de extractos de <i>T. lucida</i> cultivada.	42
Tabla 5	Diámetro en mm de la zona de inhibición de los AEs de <i>T. lucida</i> cultivada.	46
Tabla 6	Comparación de la actividad antibacteriana de los extractos de <i>T. lucida</i> silvestre y cultivada.	47
Tabla 7	Comparación del diámetro en mm de las zonas de inhibición de extractos de acetato de etilo de <i>T. lucida</i> silvestre y cultivada	48
Tabla 8	Comparación del diámetro en mm de las zonas de inhibición de extractos de etanol de <i>T. lucida</i> silvestre y cultivada.	49
Tabla 9	Comparación del diámetro en mm de las zonas de inhibición de AEs de <i>T. lucida</i> silvestre y cultivado.	50
Tabla 10	Comparación de las Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) de <i>T. lucida</i> silvestre y cultivado en µg/ml.	52
Tabla 11	Porcentaje de mortalidad (promedio de cinco réplicas) en <i>Artemia salina</i> de los AEs de <i>T. lucida</i> silvestre y cultivada.	53
Tabla 12	Componentes de los AEs de <i>T. lucida</i> silvestre	55
Tabla 13.	Componentes de los AEs de <i>T. lucida</i> cultivada.	56

Índice de Figuras

Figura 1	<i>T. lucida</i> (pericón) con flor, muestra de Actopan.	7
Figura 2	Lugar de adquisición de <i>T. lucida</i> , silvestre en Actopan y cultivada en Huejutla.	18
Figura 3	Preparación en Soxhlet, de los extractos de <i>T. lucida</i> .	19
Figura 4	Evaporación del extracto mediante un Rotavapor.	19
Figura 5	Extracción por arrastre de vapor.	21
Figura 6	Diagrama de Difusión en agar.	24
Figura 7	Diagrama de Dilución en caldo.	27
Figura 8	Cultivo de <i>Artemia salina</i> .	28
Figura 9	Zona de inhibición del crecimiento en las cinco cepas bacterianas del extracto de cloroformo de <i>T. lucida</i> silvestre.	34
Figura 10	Actividad antibacteriana del extracto de cloroformo de <i>T. lucida</i> silvestre <i>S. thyphimurium</i> .	35
Figura 11	Zona de inhibición del crecimiento en las cinco cepas bacterianas del extracto de acetato de etilo de <i>T. lucida</i> silvestre.	36
Figura 12	Actividad antibacteriana del extracto de acetato de etilo de <i>T. lucida</i> silvestre <i>S. thyphimurium</i> .	37
Figura 13	Zona de inhibición del crecimiento en las cinco cepas bacterianas del extracto de etanol de <i>T. lucida</i> silvestre.	38
Figura 14	Actividad antibacteriana del extracto de etanol de <i>T. lucida</i> silvestre a) <i>S. thyphimurium</i> , b) <i>S. aureus</i> .	39
Figura 15	Zona de inhibición del crecimiento en las cinco cepas bacterianas de los AEs de <i>T. lucida</i> silvestre.	41
Figura 16	Actividad antibacteriana de los AEs de <i>T. lucida</i> silvestre <i>P. aeruginosa</i> .	41

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN
Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

Figura 17	Zona de inhibición del crecimiento en las cinco cepas bacterianas del extracto de acetato de etilo de <i>T. lucida</i> cultivada.	43
Figura 18	Actividad antibacteriana del extracto de acetato de etilo de <i>T. lucida</i> cultivada en <i>S. aureus</i> .	44
Figura 19	Zona de inhibición del crecimiento en las cinco cepas bacterianas del extracto de etanol de <i>T. lucida</i> cultivada.	45
Figura 20	Actividad antibacteriana de los AEs de <i>T. lucida</i> cultivada en a) <i>S. aureus</i> , b) <i>S. pneumoniae</i> .	46
Figura 21	Actividad antibacteriana en <i>S. aureus</i> del extracto de acetato de etilo de <i>T. lucida</i> .	48
Figura 22	Actividad antibacteriana en <i>S. thyphimurium</i> del extracto de acetato de etilo de <i>T. lucida</i> .	49
Figura 23	Actividad antibacteriana en <i>S. aureus</i> de los AEs de <i>T. lucida</i> .	50
Figura 24	CMI y CMB de los AEs de <i>T. lucida</i> silvestre en <i>S. thyphimurium</i> .	52
Figura 25	CMI y CMB de los AEs de <i>T. lucida</i> cultivado en <i>S. thyphimurium</i> .	53
Figura 26	Cromatogramas de los AEs de <i>Tagetes lucida</i> .	56

Resumen

Las plantas medicinales son importantes para prevenir y tratar numerosas enfermedades, éstas se pueden recolectar o sembrar. En este estudio se comparó la actividad biológica de *Tagetes lucida* (pericón), silvestre de Actopan y cultivado de Huejutla, Hidalgo. Con las muestras adquiridas de ambas regiones se elaboraron extractos y aceites esenciales (AEs), los cuales se utilizaron en bioensayos de actividad antibacteriana (utilizando cinco cepas bacterianas, tres gram negativas: *Escherichia coli*, *Salmonella thyphimurium* y *Pseudomona aeruginosa*; dos gram positivas: *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae*) y de toxicidad en *Artemia salina*. Los extractos y aceites esenciales del pericón silvestre mostraron una mayor actividad antibacteriana y mayor toxicidad en *Artemia salina*, que el pericón cultivado en Huejutla. El análisis de cromatografía de gases acoplada a masas reveló una diferencia en la composición química de los AEs de ambas muestras, en el pericón silvestre el compuesto mayoritario observado fue 7-metoxicumarina, mientras que en el pericón cultivado fue el estragol. Estos resultados se pueden deber a que las especies silvestres requieren mecanismos más eficaces para poder sobrevivir en su hábitat natural, mientras que las cultivadas, son manipuladas y protegidas por el hombre, por lo que no requieren de los mismos mecanismos que las silvestres, otros factores que influyen son las condiciones edáficas, climáticas e hídricas, debido a que las regiones presentan diferentes características.

1. Introducción

Las plantas medicinales son aquellas especies vegetales a las que se les atribuye un efecto curativo sobre las enfermedades (Estrada, 1995).

Una planta medicinal contiene en toda o alguna de sus partes constitutivas principios activos útiles para prevenir y tratar numerosas afecciones de forma efectiva y segura. Las plantas con uso medicinal se pueden clasificar de acuerdo a los padecimientos y a los sistemas que tratan, como: enfermedades culturales (espanto, mal de ojo, etc.), sistema circulatorio, reproductor, óseo, muscular, urinario, respiratorio, endocrino, nervioso, digestivo, piel, ojos, traumatismo, cáncer, fiebre (Villavicencio Nieto y Pérez Escandón, 2005).

El hombre todavía depende en gran medida de las plantas para tratar sus dolencias (Farnsworth y Soejarto, 1991). De las 250,000 especies de plantas de la flora mundial, se estima que al menos el 35% de ellas es utilizada para satisfacer alguna necesidad humana, entre las cuales las plantas medicinales ocupan el porcentaje más alto (Estrada, 1995). Farnsworth y Soejarto (1991) mencionan que más de 9000 especies de plantas tienen aplicaciones medicinales conocidas en diversas culturas y países, y esto es sin haber realizado una investigación amplia entre varias comunidades indígenas y otras comunidades humanas.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que hasta un 80% de las personas en regiones poco desarrolladas (es decir, una gran parte de las regiones tropicales) emplean la medicina tradicional, la cual se basa ampliamente en las plantas medicinales (Farnsworth y Soejarto, 1991; Ricker y Daly, 1998), de las cuales una gran parte implica el uso de extractos de las plantas o sus principios activos (Farnsworth y Soejarto, 1991). Se tienen registradas más de 37,000 especies de plantas medicinales, de las cuales se ha estudiado menos del 5%, para verificar científicamente su efecto farmacológico (Estrada, 1995).

Rzedowski y Equihua (1987) mencionan que México es uno de los cinco países con mayor diversidad vegetal a nivel mundial, con alrededor de 30 mil especies, después de Brasil, Colombia, Perú y Venezuela; ocupando el segundo lugar con 3,352 especies con uso medicinal, después de China con 5 mil plantas medicinales (Bye *et al.*, 1992). Se ha calculado que al menos una quinta parte de la flora medicinal de México cuenta con propiedades significativas (Hersh, 1999).

La principal fuente de la flora medicinal utilizada, reside en los recursos vegetales autóctonos, lo cual explica el amplio y profundo conocimiento tradicional que se tiene sobre las propiedades curativas de las plantas (Soto y Sousa, 1995). En esta práctica domina la colecta sobre el cultivo como fuente de este recurso; la mayor parte de las especies que se consumen con fines curativos son de origen silvestre, muchas de las cuales se incorporan en medicamentos que no requieren

prescripción médica, situación común en diferentes regiones del mundo (Hersh y Fierro, 2001).

En el estado de Hidalgo se han reportado de 2,674 (Villavicencio Nieto *et al.*, 1998) a 3,239 (Villaseñor, 2003) especies de plantas, lo que representa el 13.5% de las especies de la flora nacional considerándose uno de los estados con mayor riqueza florística, de éstas, 611 especies de plantas son útiles en el estado, distribuidas en 393 géneros y 127 familias, de las cuales la familia con mayor número de especies es Asteraceae (79 especies), seguido por Leguminosae (34), Lamiaceae (30), Solanaceae (18), entre otros (Pérez Escandón *et al.*, 2003).

Los géneros pertenecientes a la familia Asteraceae mejor representados en el estado de Hidalgo son *Senecio* (13 especies), *Eupatorium* (7) y *Tagetes* (6). Entre las especies mejor conocidas dentro del género *Tagetes* destacan el cempasúchil (*T. erecta*) y el pericón (*T. lucida*) (Pérez Escandón *et al.*, 2003), siendo esta última el objeto de estudio de este trabajo, debido a su gran variedad de usos, entre los que destacan el medicinal y alimenticio, además de ser también una fuente de ingresos, para aquellas familias que lo recolectan o cosechan y que posteriormente venden en el mercado.

2. Antecedentes

Por mucho tiempo las plantas han sido una fuente importante de productos naturales para mantener la salud humana (Gottlieb y Borin, 2002), usando los productos naturales como los aceites esenciales y extractos, para combatir enfermedades (Hersom y Hulland, 1974; Araújo y Leon, 2001), pero desde el surgimiento de los medicamentos alópatas, su uso se ha ido perdiendo y en algunos casos es virtualmente inexistente (Cowan, 1999), no obstante, tienen la ventaja de que no representan un peligro para la vida y salud del hombre (Hersom y Hulland, 1974) cuando se conoce su correcto uso.

Los aceites esenciales (AEs) son productos vegetales constituidos por mezclas complejas de hidrocarburos, compuestos oxigenados y residuos no volátiles (Dabbah, 1970), se encuentran contenidos en glándulas inmersas en los tejidos de las hojas, flores, corteza (pericarpio) y semillas de los frutos de muchas especies (Solomons, 1988). Las plantas producen con diferentes propósitos, principalmente como defensa contra depredadores y plagas, como microorganismos, insectos y herbívoros (Cowan, 1999), enfermedades, invasión de otras plantas, o para atraer polinizadores y dispersores (Müller, 1981; Morales, 1996; Smith *et al.*, 1998).

2.1 Descripción Taxonómica.

2.1.1 Descripción del género *Tagetes*.

Tagetes es un género de plantas herbáceas anuales o perennes, aromáticas al estrujarse, hojas opuestas, o bien, las superiores alternas, generalmente pinnatipartidas o pinnadas, algunas veces simples, con numerosas glándulas oleíferas translúcidas; cabezuelas solitarias, involucre cilíndrico, fusiforme o angostamente campanulado; flores hermafroditas truncadas y peniciladas en el ápice (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

2.1.2 Descripción de *Tagetes lucida* Cav.

Nombre común: yahutli (Schultes y Hofmann, 1982), pericón (Villavicencio Nieto y Pérez Escandón, 1995).

Planta herbácea perenne, erecta, hasta de 80 cm de alto, con olor a anís al estrujarse, tallos generalmente varios o muchos partiendo de la base, más o menos ramificados; hojas lineares a oblongas elípticas u oblanceoladas, de 2 a 10 cm de largo, agudas o redondeadas en el ápice, márgenes aserrados; cabezuelas con 3 ó 4 flores liguladas, amarillas (Rzedowski y Rzedowski, 2001). Figura1.

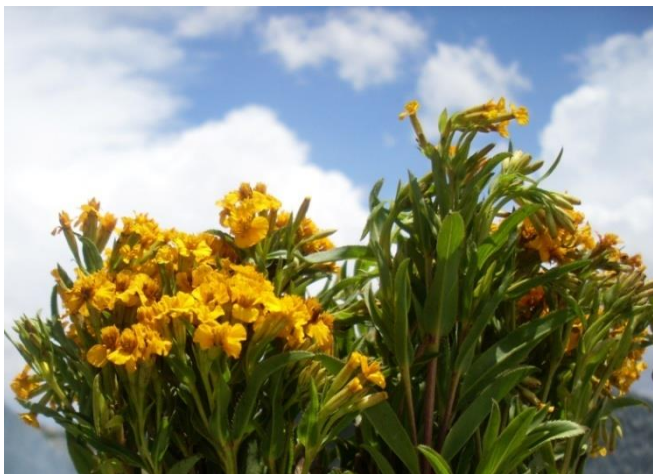


Figura 1. *T. lucida* (pericón) con flor, muestra de Actopan.

En el estado de Hidalgo, *T. lucida* habita en pastizal y bosques de *Quercus*, *Pinus* y *Juniperus*. Se localiza en Pachuca, Mineral del Chico, Epazoyucan, Omitlán, Huasca, Atotonilco el Grande y Metztitlán (Villavicencio Nieto y Pérez Escandón, 1995) así como en el municipio de Actopan (Martínez, 2007). Se encuentra cultivada en Atlapexco, Huautla, Huejutla, Huazalingo, Jaltocán, Orizatlán, Xochiatipan, Yahualica, Huehuetla, San Bartolo Tutotepec y Tenango de Doria (Villavicencio Nieto y Pérez Escandón, 1995).

2.1.3 Usos.

Como reportan Villavicencio Nieto y Pérez Escandón (1995), para el estado de Hidalgo el pericón se prepara en té y se toma cuando hay dolor de estómago. Como agua de tiempo se hierve y se consume durante el día; se utiliza como condimento en el agua en que se hierven los elotes, dándoles mejor sabor. El humo de esta planta ahuyenta a los insectos (Villavicencio Nieto *et al.*, 2002).

2.2 Etnobotánica de *Tagetes lucida*.

La familia Asteraceae es una de las familias con mayor diversidad y distribución en todo el mundo, en el estado de Hidalgo es la familia mejor representada por su número de especies (79), en la flora útil, seguida por Leguminosae (34), Lamiaceae (30), Solanaceae (18), Cactaceae (13), Rosaceae (12), entre otros (Pérez Escandón *et al.*, 2003).

El género *Tagetes* incluye cerca de 55 especies, distribuidas desde el suroeste de Estados Unidos hasta Argentina, en el Valle de México se localizan ocho especies (Rosales, 1994; Rzedowski y Rzedowski, 2001). Existen registros del cultivo y uso extenso de varias especies del género *Tagetes* por las tribus indígenas de México y Sudamérica que se extiendan más allá del tiempo de los conquistadores (Monroy, 1995).

La especie *Tagetes lucida* se encuentra ampliamente distribuida, siendo originaria de México, Guatemala y Honduras (Ciccío, 2004; Cabrera, 2005), y se cultiva en regiones de Estados Unidos, Francia e Inglaterra (Alcántara, 1987). En México se localiza en: Sonora, Sinaloa, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Durango, Zacatecas, Aguascalientes, San Luis Potosí, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, México, Morelia, D.F., Puebla, Tlaxcala, Veracruz, Guerrero, Oaxaca, Tabasco y Chiapas (Villarreal, 2003)

Cáceres (1996) documentó otros usos medicinales de *T. lucida* en Guatemala los cuales son: la infusión de flores y hojas se usa por vía oral para aliviar el parto, tratar anemia, inflamación de los ojos, afecciones nerviosas, gastrointestinales y respiratorias, dolor menstrual, mordeduras de escorpión, hepatitis, paludismo, reumatismo, retención urinaria, tumores y úlceras. Se le atribuye propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antisépticas, carminativas, digestivas, diuréticas, emenagogos, espasmolíticos y galactogogos.

En México el pericón es una de las especies de plantas que presentan más de un uso: medicinal, religioso y alimenticio. Schultes y Hofmann (1982) en su obra "*Las Plantas de los Dioses*" describen brevemente a la especie y las implicaciones religiosas de los Huicholes, quienes hacen una mezcla de tabaco (*Nicotiana rustica*) y yahutli / pericón (*Tagetes lucida*) para provocar alucinaciones.

En el estado de Hidalgo se encuentra enlistada y descrita por Villavicencio Nieto y Pérez Escandón (1995) como parte de "La Flora Útil del Estado de Hidalgo".

2.3 Fitoquímica de *T. lucida*.

Los extractos metanólicos de *T. lucida* han presentado actividad biológica contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas además de *Vibrio cholerae*, principal bacteria contaminante del agua. Asimismo, se ha presentado actividad antifúngica contra *Trichophytum mentagrophytes* y *Rhizotonia solani* (Céspedes *et al.*, 2006).

Además, los extractos de acetato de etilo, mostraron actividad antimicrobiana contra *Shigella boydii*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* y *Sarcina lutea*, siendo el compuesto bioactivo la 5,7,4'-trimetoxiflavona (Hernández *et al.*, 2006).

Los extractos de *Tagetes lucida* en ensayos *in vitro* mostraron actividad antibacterial contra *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri* y contra bacterias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*), causantes de afecciones respiratorias (Cáceres *et al.*, 1990; Giron *et al.*, 1991).

Como se observa en la Tabla 1, se han reportado diferentes compuestos de *T. lucida*.

**ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN
Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO**

Tabla 1. Principales compuestos reportados presentes en *T. lucida*.

Producto	Compuestos	Autor
	flavonoides y terpenos	Perich <i>et al.</i> , (1995); Tereschuk <i>et al.</i> (1997)
	Cumarinas, lactonas y terpenos.	Días (1997)
AEs	Estragol (33.9-91.7%)	Bicchi <i>et al.</i> (1997), Ciccio (2004) y Marotti <i>et al.</i> (2004)
AEs	Metileugenol (24.3%) y anetol (23.8%)	Ciccio, 2004).
AEs	Metileugenol (3.6%) y trans-beta- cariofleno (2.1%)	Marotti <i>et al.</i> (2004)
AEs	Mirceno (1.8%), (E)-beta-ocimeno (0.2%) y linalol (0.2%).	Bicchi <i>et al.</i> (1997)
Extractos metanólicos	Flavonoides, glucósidos y ácidos fenólicos, como pauletin, isorhamnetin, quercetagenini 3-O-arabisonil galactósido e isorhamnetin 7-O-glucósido	Abdala (1999)
Extractos metanólicos	Quercetagenini (3,4-dimetil éter 7-O-β-D- glucopiranosido), el ácido 3-(2-O-β-D- glucopiranosido-4-metoxifenil) propanoico y su metiléster y 7-metoxicumarina 7,8-dihidroxi-6-metoxicumarina, 7,8- dihidroxycumarina y esculetina, <i>i.e.</i> 6,7- dihidroxycumarina, escoparona, <i>i.e.</i> 6,7- dimetoxicumarina y la 6,7-dimetoxi-4- cumarina	Aquino <i>et al.</i> (2002).
Extractos metanólicos		Céspedes <i>et al.</i> (2006).

2.4 Antecedentes de *Artemia salina*.

A partir de la propuesta de Meyer *et al.* (1982) *Artemia salina* ha sido utilizada en muchas investigaciones para explorar extractos de plantas con propiedades medicinales de diferentes regiones para detectar compuestos secundarios con actividad biológica relevante.

Estudios sobre la toxicidad de extractos de plantas en *A. salina* mostraron correlación positiva con la actividad insecticida en larvas de *Caenorhabditis elegans* (Alkofahi *et al.*, 1989), toxicidad en ratones (Parra *et al.*, 2001), efecto hipoglicémico (Kanegusuku *et al.*, 2002) y actividad antibacteriana (De Rosa *et al.*, 1994).

Actualmente los ensayos en *A. salina* se consideran una herramienta útil para la evaluación preliminar de la toxicidad de extractos de plantas, la detección de actividad biológica en bacterias (Awal *et al.*, 2004) e insectos (Alkofahi *et al.*, 1989), entre otros organismos.

3. Justificación

Tagetes lucida es una planta con gran variedad de usos, utilizada ampliamente en varias regiones del estado de Hidalgo, principalmente en el Valle del Mezquital, la zona de Tulancingo, Atotonilco el Grande y Pachuca, en toda esta área el aprovechamiento de la planta se hace a partir de la recolecta en poblaciones silvestres, en algunos sitios como en Actopan, informantes que han participado en los estudios realizados en el laboratorio de etnobotánica de la UAEH, han indicado que varias poblaciones de la planta se encuentran muy deterioradas por la recolecta excesiva. En regiones como Huejutla *T. lucida* es conocida y también se aprovecha ampliamente por lo que se cultiva, ya que no se encuentra de forma silvestre.

Se han realizado una gran variedad de trabajos sobre plantas medicinales, como *T. lucida*, con el fin de corroborar su uso correcto, utilizando extractos y AEs de éstas en bioensayos y comparando plantas con el mismo uso, o de la misma especie en diferentes cultivos o entre poblaciones silvestres.

Una posibilidad de estudio de este problema, es el uso de *T. lucida* en regiones diferentes, puede ser el de comparar el pericón silvestre y cultivado, con el fin de conocer si la actividad biológica de una especie de planta medicinal varía entre la especie silvestre y la cultivada, siendo este estudio algo nuevo.

4. Objetivos

Objetivo general.

Evaluar la actividad biológica de extractos y aceites esenciales obtenidas de *Tagetes lucida* Cav. (Asteraceae), silvestre y cultivada, así como determinar la composición química de los aceites esenciales.

Objetivos particulares.

- ★ Evaluar la actividad antibacteriana de los aceites esenciales (AEs) y extractos de *Tagetes lucida* silvestre de Actopan y cultivada de Huejutla.
- ★ Evaluar la toxicidad en *Artemia salina* de los aceites esenciales de las dos muestras de *T. lucida*.
- ★ Determinar la composición química de los AEs de las dos muestras de *T. lucida*.

5. Metodología

5.1 Descripción del Área de adquisición de *T. lucida*.

5.1.1 Actopan.

Cuenta con una superficie de 280.10 kms² (1.33% de la superficie del estado), gran parte del municipio pertenece a la Sierra Madre Oriental, una porción considerable al sur de la cabecera municipal, no coincide con los rasgos orográficos característicos de tal cordillera. En sus inmediaciones se encuentran los peñascos de Los Órganos o Los Frailes. El municipio pertenece a la cuenca del río Pánuco y el río Moctezuma. Se localiza a 37 km al noroeste de Pachuca, limita al norte con el municipio de Santiago de Anaya; al noroeste con Metztlán; al este con Atotonilco el Grande; al sureste con Mineral del Chico; al sur con El Arenal y San Agustín Tlaxiaca y sobre el poniente con San Salvador (Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, 2005) (Figura 2).

Presenta una gran diversidad de climas desde el semi-seco templado hasta el templado subhúmedo. La parte sur (43.67%) perteneciente al Valle del Mezquital y localizada al pie de la Sierra de los Frailes presenta un clima semi-seco templado; la parte media (13.50%), en donde se localizan las comunidades de Las Mecas, La Estancia y Canguihuindo, el clima es templado subhúmedo con

lluvias en verano de menor humedad; el clima en la zona norte (37.53%) es templado subhúmedo con lluvias en verano y de humedad media; y en la comunidad de San Andrés Tianguistengo (5.30%) el clima es templado subhúmedo con lluvias en verano y de mayor humedad (Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, 2005) .

5.1.2 Huejutla.

Cuenta con una superficie de 377.8 kms² (1.80 % de la superficie del estado) y con una parte en la Sierra Madre Oriental, además contiene un valle y varias mesetas. Al municipio lo cruzan los ríos el Chiguiñoso, el cual se une a los de Tecoloco, Candelaria y Santa Cruz, mismos que abastecen de agua al municipio. Colinda al norte con el estado de Veracruz; al sur con los municipios de Atlapexco y Huazalingo; al este con Jaltocán, Tlanchinol y Orizatlán; y al oeste con Huautla. Las principales comunidades del municipio son: Ixcatlán, Cuachuilco, Santa Catarina, Santa Cruz, Tehuetlán, Mecuxpetla y los Otates. El municipio registra un clima cálido-húmedo debido a la altitud en que se encuentra que es de 172 metros sobre el nivel del mar, y una temperatura media anual de 31.1°C. la precipitación pluvial es de 1,500 milímetros por año (Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, 2005) (Figura 2).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN
Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

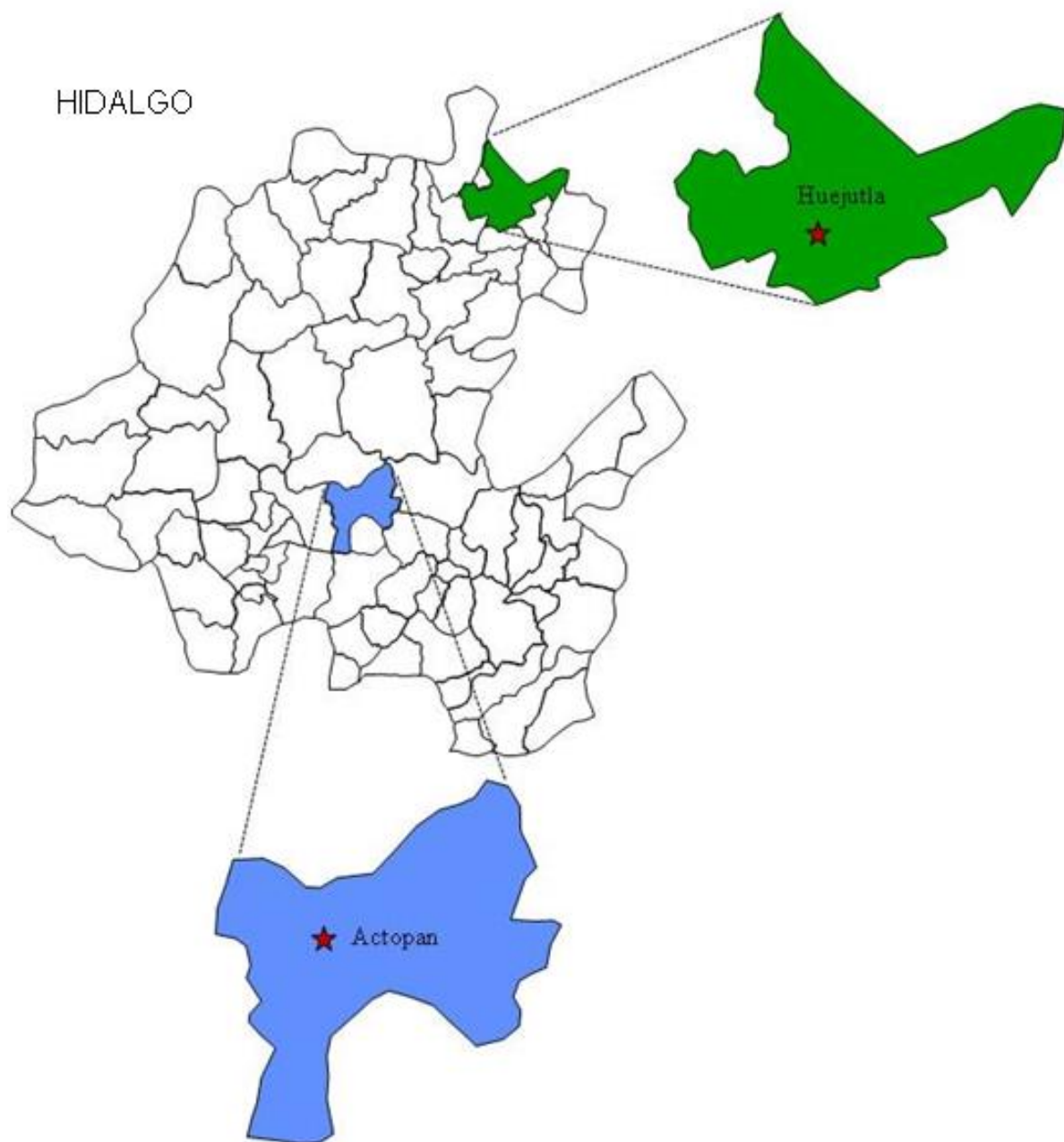


Figura 2. Lugar de adquisición de *T. lucida*, silvestre en Actopan y cultivada en Huejutla.

5.2 Adquisición de *T. lucida*.

Las muestras de pericón silvestre se adquirieron en el mercado de Actopan, Hidalgo, siendo colectadas en San Andrés, del mismo municipio, mientras que el pericón cultivado se obtuvo en el tianguis del municipio de Huejutla; ambos durante los meses de junio, julio y agosto, siendo colectadas por los vendedores en la mañana.

Parte de los ejemplares fueron depositados en el herbario del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

5.3 Preparación de extractos.

Las muestras adquiridas se secaron a temperatura de laboratorio (18-24 °C). Posteriormente la parte aérea (tallos, hojas y flores) de *T. lucida* se trituró con tijeras de podar y se pesó la muestra.

Las muestras trituradas (18-21 gr) se colocaron en un cartucho o dedal de papel filtro, el cual se cubrió con una tapa y se introdujo en el Soxhlet, agregando disolvente para humedecer la muestra. En un matraz de bola se colocaron 500 ml del disolvente, que se calentó hasta ebullición en una mantilla eléctrica, para

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

realizar la extracción, el proceso duró siete horas (Figura 3). Las muestras vegetales se extrajeron sucesivamente en hexano, cloroformo, acetato de etilo y etanol. El volumen de cada extracto se redujo a presión reducida en un rotavapor (Figura 4).



Figura 3. Preparación en Soxhlet, de los extractos de *T. lucida*.



Figura 4. Evaporación del extracto mediante un Rotavapor.

Para determinar la concentración de los extractos, se evaporó a sequedad una alícuota de 0.2 ml del extracto en cuestión, después se pesó el residuo y se calculó la concentración por mililitro.

5.4 Obtención de los aceites esenciales.

Para la obtención de aceites esenciales, al igual que los extractos, las muestras adquiridas se secaron, trituraron, pesaron y se extrajeron los AEs por medio de la técnica de destilación por arrastre de vapor (Domínguez, 1979).

Las muestras trituradas (500 gr) se colocaron en un matraz bola, en otro matraz se colocaron 800 ml de agua destilada, posteriormente en una mantilla de calentamiento se llevó a punto de ebullición, el vapor de agua resultante arrastró los aceites esenciales, se condensaron al pasar a través de un refrigerante del cual se obtuvieron 750 ml de la mezcla que se colectó en un matraz Erlenmeyer de 1000 ml (Figura 5), dicha mezcla se pasó a un embudo de separación para ser extraído, se le colocaron 20 ml de éter etílico, este proceso fue repetido cinco veces. Posteriormente se le agregaron 10 gr de sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) para secar la fase orgánica; se filtró en un vaso de precipitado con papel Whatman No. 42, luego se evaporó el éter hasta obtener los AEs.

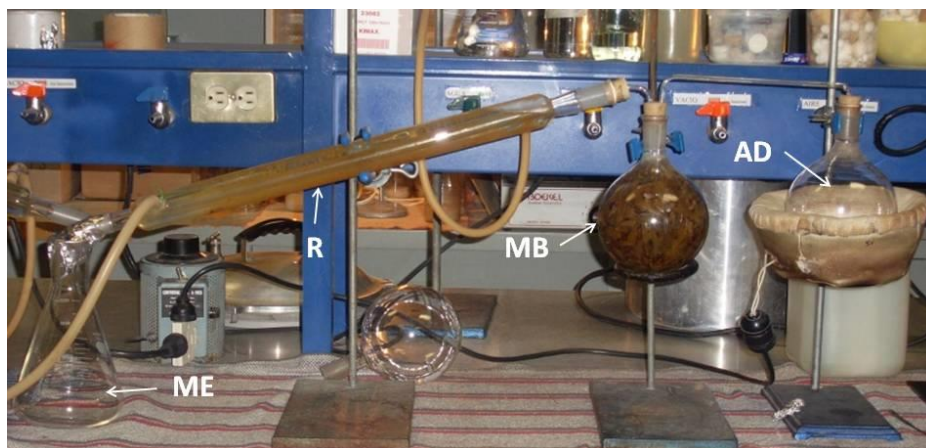


Figura 5. Extracción por arrastre de vapor. AD: agua destilada, MB: muestra biológica (*T. lucida*), R: refrigerante, ME: matraz Erlenmayer en el cual se colecta la mezcla de agua con AEs.

5.5 Bioensayos.

Para los ensayos se utilizaron cepas de cinco bacterias, tres Gram Negativas: *Escherichia coli* ATTC 53868, *Salmonella thyphimurium* y *Pseudomona aeruginosa*; y dos Gram Positivas: *Staphylococcus aureus* ATCC 6385 y *Streptococcus pneumoniae*. Las cepas bacterianas se preservan en tubos de cultivo con agar Muller-Hinton inclinado a temperatura de 4 °C.

Salmonella thyphimurium fue aislada en el Laboratorio de Genética Microbiana del Departamento de Microbiología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN; *Haemophylus influenzae* y *Staphylococcus pneumoniae* fueron aisladas en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la UNAM.

5.5.1 Ensayo de actividad antibacteriana por difusión en agar (antibiograma).

Del cultivo de bacterias se inocularon de 3 a 4 colonias de las bacterias en 5 ml de caldo de soya tripticasa (TSB) y se incubaron a 37 °C durante 24 horas. Se determinó la turbidez (crecimiento bacteriano) de los cultivos midiendo la absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro UV- visible 6405, la turbidez fue ajustada con el caldo de soya tripticasa estéril, al patrón 0.5 de la escala de McFarland la cual equivale a una concentración de 1.5×10^8 ufc/ml (unidades formadoras de colonias por mililitro) a la cual se encuentra en la fase de crecimiento exponencial recomendada para realizar estas pruebas (Díaz *et al.*, 2003).

Un hisopo de algodón esterilizado se sumergió en el inóculo y se eliminó el exceso presionándolo sobre la pared interna del matraz que lo contenía y por encima del nivel del caldo de cultivo. Se realizó la siembra en 3 cajas Petri para cada cepa bacteriana, con Agar Mueller-Hinton, pasando uniformemente el hisopo por toda la superficie en tres direcciones. Por último, se pasó el hisopo por el reborde de la placa de agar y se dejó secar 5 minutos para que el inóculo se absorbiera sobre la superficie del agar.

Con los extractos y los AEs se prepararon seis concentraciones: 200, 400, 800, 1600, 3200, y 6400 µg/ml; un control positivo (antibiótico-Tetraciclina) y un control negativo (disolvente) como testigos, para determinar si el disolvente residual tendría algún efecto antibacteriano. Los discos fueron colocados con las diferentes concentraciones de extracto sobre la superficie de agar utilizando unas pinzas estériles y apretándolos suavemente sobre la superficie del agar. Los discos no deben estar a menos de 15 mm de los bordes de la placa y lo bastante separados entre ellos para que no se superpongan las zonas de inhibición (aproximadamente 20 mm). Se dejaron reposar dentro de la campana de flujo laminar para eliminar el disolvente y permitir que el extracto se difunda a través del agar. Se incubaron a 37 °C durante 24 hrs, después del periodo de incubación se observó la presencia o ausencia de zonas de inhibición causados por el extracto, antibiótico y disolvente sobre cada una de las cepas probadas; éstos se midieron con una regla y los resultados se expresaron en mm del diámetro de la zona de inhibición (Bauer *et al.*, 1966).

La lectura se debe realizar entre 18 y 24 horas. Este método es adecuado únicamente para bacterias patógenas de crecimiento rápido. Una incubación más prolongada puede dar lugar a interpretaciones erróneas del halo de inhibición (Alonso-Urmeneta *et al.*, 2003) (Figura 6).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

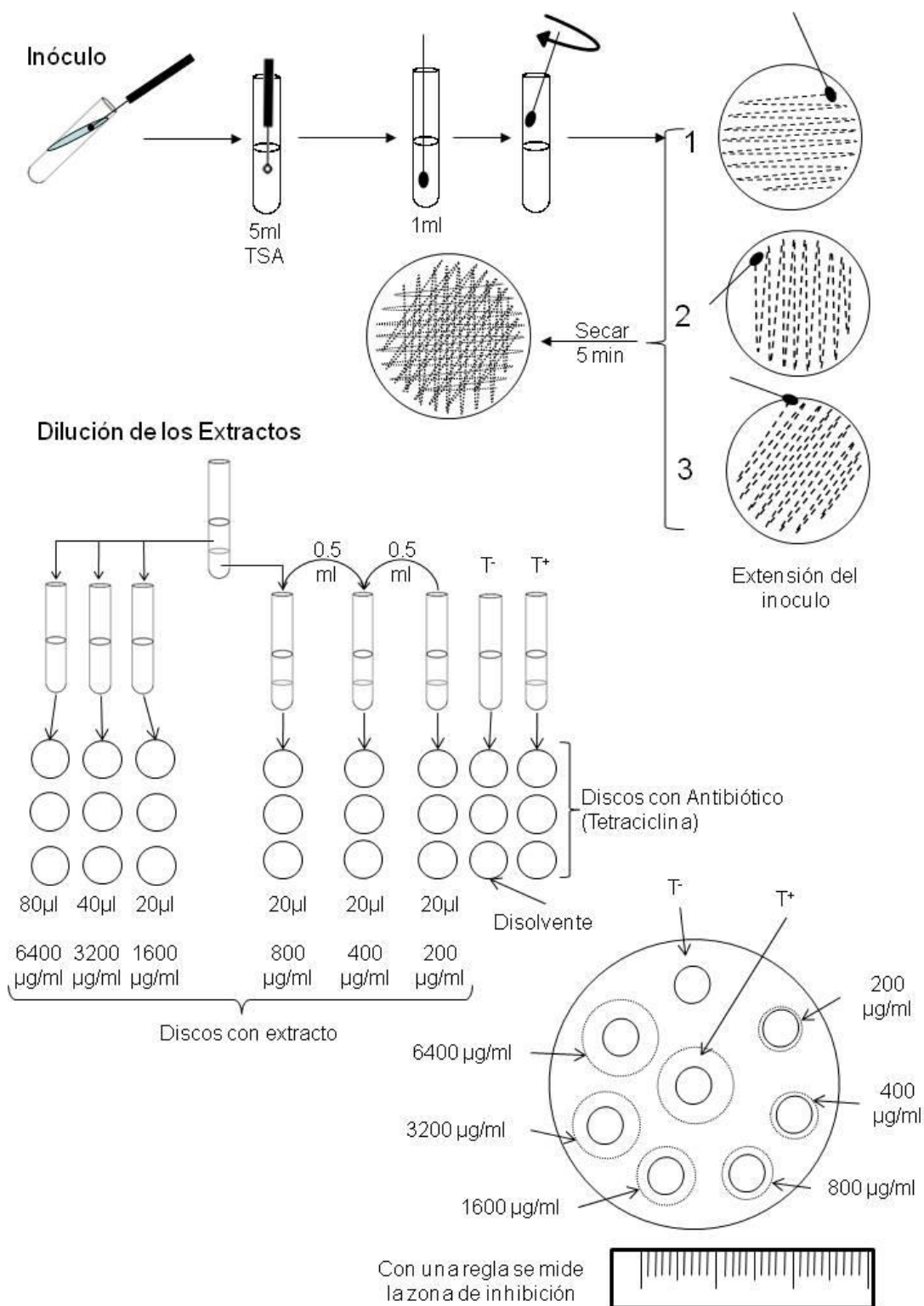


Figura 6. Diagrama de Difusión en agar.

5.5.2 Ensayos de actividad antibacteriana por dilución en caldo.

Para preparar los cultivos, en condiciones asépticas se tomó una azada de los cultivos de bacterias, se sembraron por estría cruzada en una caja Petri con agar Muller-Hinton, después se incubó a 37 °C durante 24 h, posteriormente se tomaron 5 colonias con una asa microbiológica, éstas se sembraron en 5 ml de caldo de soya tripticasa e incubaron en condiciones similares, luego se tomaron 0.35 ml del tubo y se sembraron en 35 ml de caldo de soya tripticasa que se incubaron en las mismas condiciones, después se determinó su turbidez midiendo la absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro UV- visible 6405, la turbidez fue ajustada con el caldo de soya tripticasa estéril, al patrón 0.5 de la escala de McFarland la cual equivale a una concentración de 1.5×10^8 ufc/ml (unidades formadoras de colonias por mililitro) a la cual se encuentra en la fase de crecimiento exponencial recomendada para realizar estas pruebas (Díaz *et al.*, 2003).

Con los AEs previamente preparados, se hicieron diluciones con caldo de soya tripticasa, utilizando Dimetilsulfoxido (DMSO) al 0.5%, para obtener una mezcla homogénea, obteniendo las siguientes concentraciones: 12.5, 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1600 y 3200 µg/ml, de cada mezcla realizada se tomaron 0.2 ml los cuales se agregaron a 0.8 ml del inóculo en un tubo de ensaye, cada tubo fue una réplica, se prepararon 3 réplicas por concentración. Por cada bacteria

también se prepararon testigos por triplicado, un negativo con caldo de soya tripticasa, inoculo y tetraciclina; y un testigo positivo, caldo de soya tripticasa e inoculo (Figura 7)

Los tubos se incubaron a 37 °C durante 24 h, al término de este tiempo se analizaron.

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se tomó como aquella concentración en la que no se observó turbidez. Posteriormente para determinar la Concentración Mínima Bactericida (CMB) se tomaron 0.1 ml de los tubos sin turbidez y se resembraron en cajas Petri con agar Muller-Hinton, con 3 réplicas, estas cajas se incubaron a 37 °C durante 24 h, al término de los cuales las cajas se observaron y contaron las colonias, en las cajas con menos de 5 colonias, se consideró que hubo efecto y a la concentración correspondiente se le tomó como la CMB.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

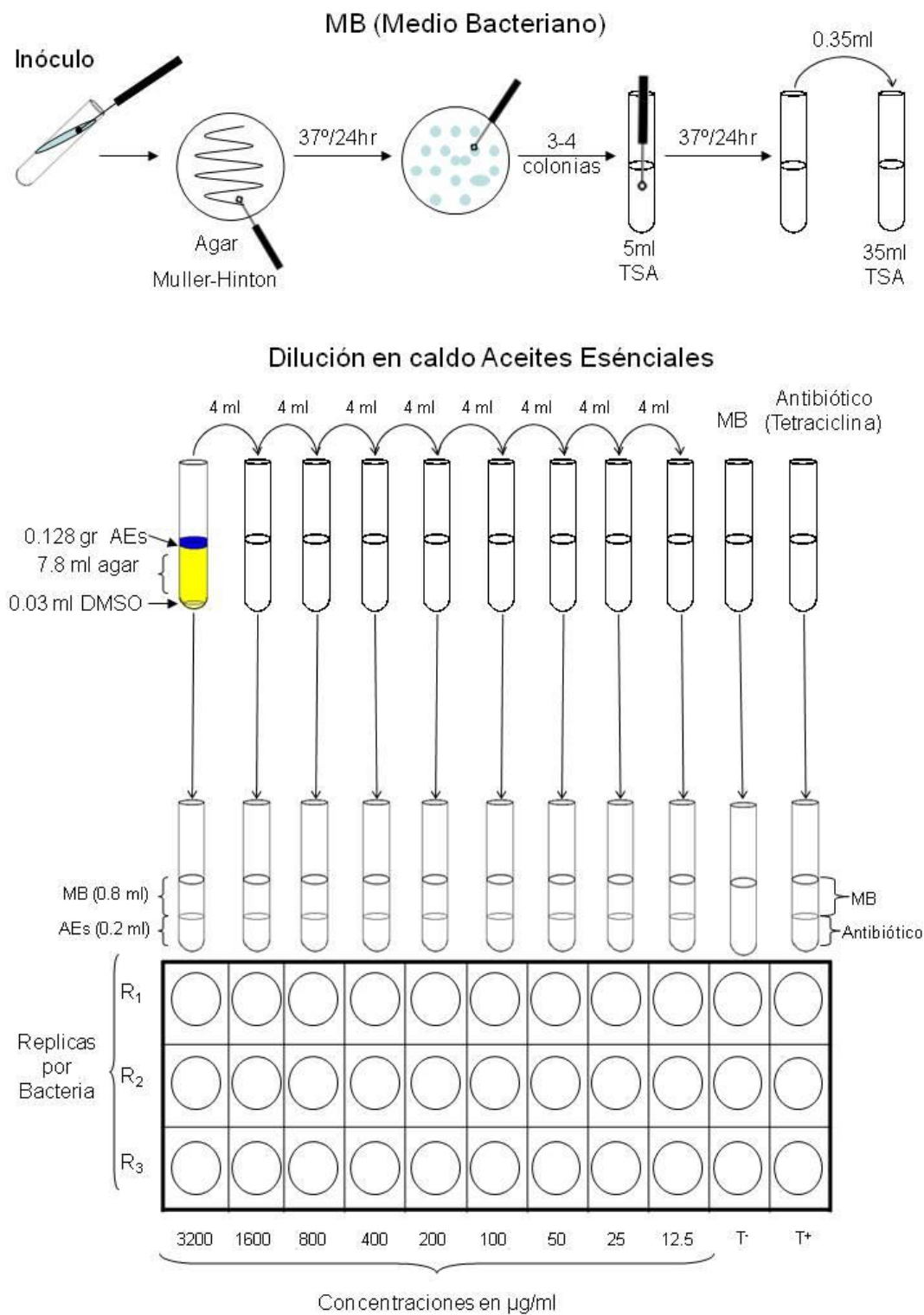


Figura 7. Diagrama del método de Dilución en caldo.

5.5.3 Ensayo de toxicidad en *Artemia salina*.

Las pruebas de toxicidad fueron llevadas a cabo usando nauplios (larvas) de *A. salina* siguiendo el método de Meyer *et al.* (1982) y McLaughlin *et al.* (1998).

Los quistes se adquirieron en una tienda para mascotas, para que éstos eclosionaran fueron colocados en un vaso de precipitado con solución salina (NaCl) al 5% con un pH de 7.5 y temperatura entre 28 y 30 °C, con oxigenación e iluminación constante (Figura 8), esto último, se logró colocando un calentador y una bomba para acuario dentro del vaso y un foco encendido de 75 watts cerca del mismo (Castro y Gallardo, 1985).



Figura 8. Cultivo de *Artemia salina*.

Después de 48 horas de incubación, los quistes eclosionaron y los nauplios recién emergidos se utilizaron para la prueba. En un tubo de ensaye de 5 ml se

colocaron 3 ml de las soluciones con AEs preparados previamente con la solución salina, posteriormente con una pipeta Pasteur se agregaron 10 nauplios de *A. salina* por tubo, realizando cuatro réplicas más por concentración, las cuales fueron: 0.01, 0.1, 10, 100 y 1000 µg/ml. Adicionalmente se preparó de la misma manera el testigo negativo, pero éste sin AEs. Los tubos destapados se colocaron en una gradilla la cual se ubicó cerca de un foco encendido durante 24 hr, al término de este tiempo a simple vista se contó el número de larvas sobrevivientes en cada tubo, se calculó el porcentaje de mortalidad con la siguiente fórmula:

$$100B/A$$

A = Número promedio de larvas vivas en el testigo

B = Número promedio de larvas vivas en la prueba

5.6 Composición química.

Los aceites esenciales de *T. lucida* silvestre y cultivado se analizaron en un Cromatógrafo de gases acoplado a un Espectrómetro de masas (CG-EM) de las siguientes características: GC-EM de la marca Shimadzu, modelo GC2010/MS-QP2010s, equipado con un muestreador automático AOC-20i, bajo las siguientes condiciones de trabajo: La muestra fue preparada en cloroformo con un peso aproximado de 0.025 g de analito en un matraz volumétrico de 10 ml y diluida al volumen. La temperatura del inyector de 335 °C, relación 1:5 de separación y volumen de inyección de 1 µL. Columna capilar de 30 m de largo por 0.32 mm de

diámetro interno, RTX-5 ms (Restek), con 0.25 μm de espesor, integrado con 5 m de columna de seguridad, y un caudal de 1.23 ml/min y 66 kPa de prensa de helio. La temperatura inicial fue de 46 °C, durante 2 min, posteriormente se calentó a una tasa de 20 °C/min hasta alcanzar una temperatura de 340 °C, durante 13 min. La interfase y fuente de iones se fijó en 340 °C y 220 °C, respectivamente.

Los cromatogramas se obtuvieron mediante impacto electrónico (EI) con un escaneo de 0,89 kV con un rango de masa de 40-600 (m/z). Los datos fueron adquiridos y procesados utilizando el software Shimadzu solución GC-MS.

6. Resultados

Las muestras de ambas regiones presentaron diferencias en ciertas características físicas, siendo el aroma a anís más penetrante al estrujarse la planta silvestre, con el sabor de las hojas a menta más fuerte al del pericón cultivado. Los AEs de la población silvestre presentaron un aroma fuerte y penetrante con un color amarillo casi opaco, al contrario de la muestra cultivada, en la cual el aroma resultó más dulce pero tenue y su color fue amarillo translucido. El color de los extractos va de un tono verde a amarillo, siendo más oscuro en la muestra silvestre y translucido en la cultivada.

6.1 Ensayo de actividad antibacteriana por difusión en agar (antibiograma).

Para esta prueba se utilizaron cuatro extractos obtenidos con los siguientes disolventes: hexano, cloroformo, acetato de etilo y etanol, en este orden, para cada muestra de pericón, silvestre y cultivada, y los AEs, de cada una de las muestras obtenidas. Se obtuvo el promedio de tres replicas, las cuales se expresaron en mm.

6.1.1 Actividad antibacteriana de extractos de *T. lucida* silvestre.

De los cuatro extractos empleados del pericón proveniente de Actopan (silvestre), en solo tres (cloroformo, acetato de etilo y etanol), se obtuvo inhibición del crecimiento bacteriano (Tabla 2).

Tabla 2. Diámetro promedio en mm de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano de extractos de *T. lucida* silvestre.

Extracto Concentración (µg/ml)	Bacterias				
	<i>E. coli</i>	<i>S. thyphimurium</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. auereus</i>	<i>S. pneumoniae</i>
Cloroformo					
200	17	30	7	16	-
400	19	30	8	17	-
800	22	30	9	21	-
1600	24	30	12	24	-
3200	25	30	12	26	-
6400	25	30	12	26	-
Acetato de etilo					
200	17	30	-	15	-
400	18	30	-	19	-
800	20	30	-	21	-
1600	24	30	-	24	-
3200	27	30	-	29	-
6400	24	30	-	29	-

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

Extracto Concentración (µg/ml)	Bacterias				
	<i>E. coli</i>	<i>S. thyphimurium</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pneumoniae</i>
Etanol					
200	17	27	-	23	-
400	18	29	-	26	-
800	20	30	-	27	-
1600	21	30	-	26	-
3200	25	30	-	28	-
6400	27	31	-	28	-
Antibiótico	25	30	20	24	23

-: Sin inhibición

En la prueba realizada con los extractos de hexano, no se observó la inhibición del crecimiento de las cinco cepas bacterianas expuestas a las concentraciones utilizadas.

Los extractos obtenidos con cloroformo inhibieron a cuatro de las cinco cepas bacterianas (Tabla 2), en *E. coli* y *P. aeruginosa*, se observó una zona de inhibición menor al antibiótico, pero, con actividad en todas las concentraciones, en *S. aureus* la zona de inhibición producidas por las concentraciones mayores (800, 1600, 3200 y 6400 µg/ml), resultaron de mayor tamaño al del antibiótico. En

el caso de *S. thyphimurium* el efecto inhibitorio derivado impidió tomar una medida exacta de los halos (Anexo 1 Figura 27).

Al comparar gráficamente los resultados de la actividad antibacteriana del extracto de cloroformo, se observó que *S. thyphimurium* fue la cepa más sensible (Figura 10), al presentar una alta inhibición en todas sus concentraciones, mientras que *E. coli* y *S. aureus* tuvieron un comportamiento similar en el tamaño de las zonas de inhibición, observando cómo aumenta su tamaño conforme aumenta la concentración. *S. pneumoniae* no fue sensible (Figura 9).

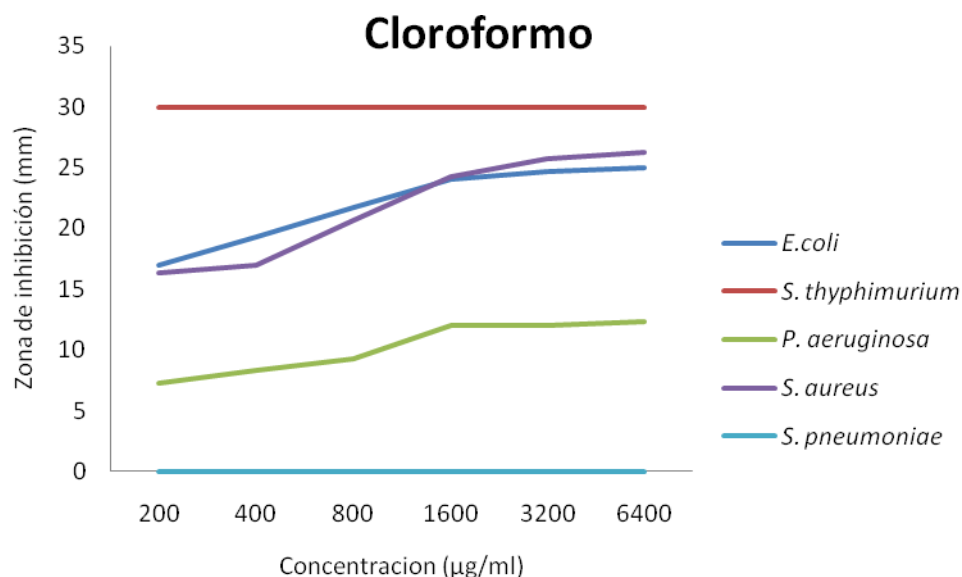


Figura 9. Zona de inhibición del crecimiento en las cinco cepas bacterianas del extracto de cloroformo de *T. lucida* silvestre.

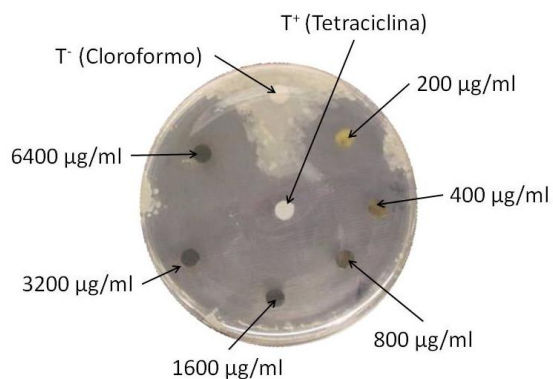


Figura 10. Actividad antibacteriana del extracto de cloroformo de *T. lucida* silvestre en *S. typhimurium*.

Los extractos de acetato de etilo inhibieron el crecimiento en tres de las cinco cepas bacterianas (Tabla 2), de las cuales en dos *E. coli* y *S. aureus*, la inhibición se presentó en todas las concentraciones, presentando las más altas (3200 y 6400 µg/ml) zonas de inhibición mayores que el antibiótico. En el caso *S. typhimurium* las zonas de inhibición fueron tan grandes que se unieron, incluso a la del antibiótico, por lo que no se pudo tomar una medida exacta del tamaño de cada una de estas zonas, advirtiéndose el crecimiento de la bacteria sólo en el Testigo (Anexo 1 Figura 28).

Se observó el mismo patrón de inhibición resultante en el extracto de cloroformo siendo *S. typhimurium* la cepa más sensible (Figura12), *E. coli* y *S. aureus* tienen un comportamiento similar en el tamaño de los halos de inhibición (Figura 11).

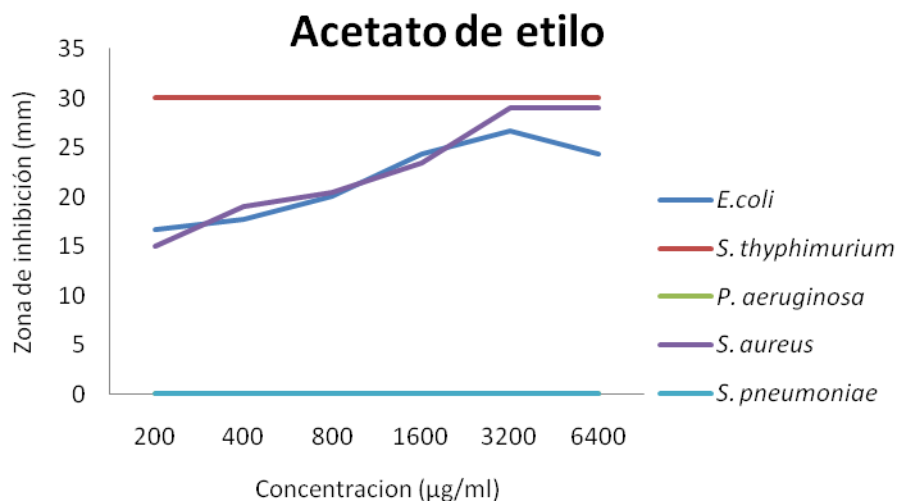


Figura 11. Zona de inhibición del crecimiento en las cinco cepas bacterianas del extracto de acetato de etilo de *T. lucida* silvestre.

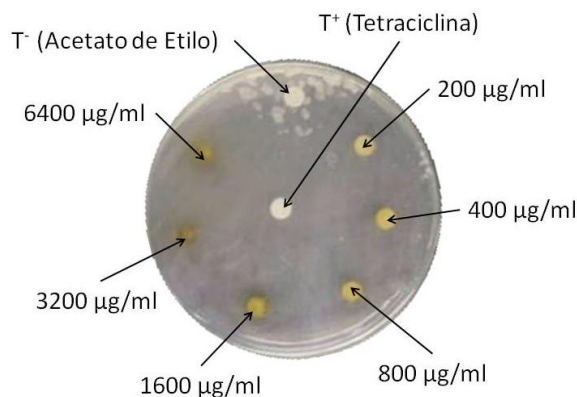


Figura 12. Actividad antibacteriana del extracto de acetato de etilo de *T. lucida* silvestre en *S. thyphimurium*.

El extracto etanólico presentó inhibición en tres de las cinco bacterias (Tabla 2), en todas las concentraciones. En *E. coli*, las concentraciones de 3200 y 6400 µg/ml, presentaron zonas de inhibición mayores que las del antibiótico (Anexo 1 Figura 29).

En *S. aureus* y *S. thyphimurium*, en dos de las tres réplicas no se pudo medir el tamaño de los halos debido a su efecto inhibitorio.

Nuevamente *S. thyphimurium*, fue la cepa más sensible, *E. coli* y *S. aureus* no mostraron el patrón observado en los extractos anteriores, siendo más sensible *S. aureus* (Figura 13 y 14).

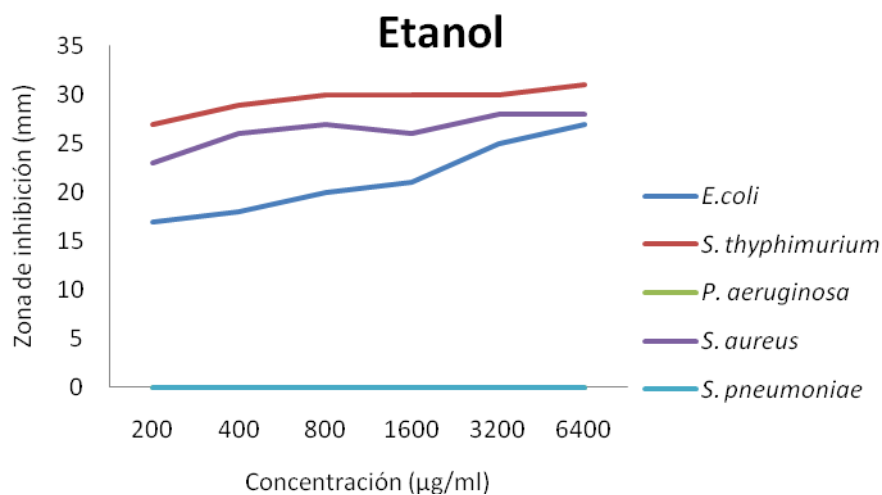


Figura 13. Zona de inhibición del crecimiento en las cinco cepas bacterianas del extracto de etanol de *T. lucida* silvestre.

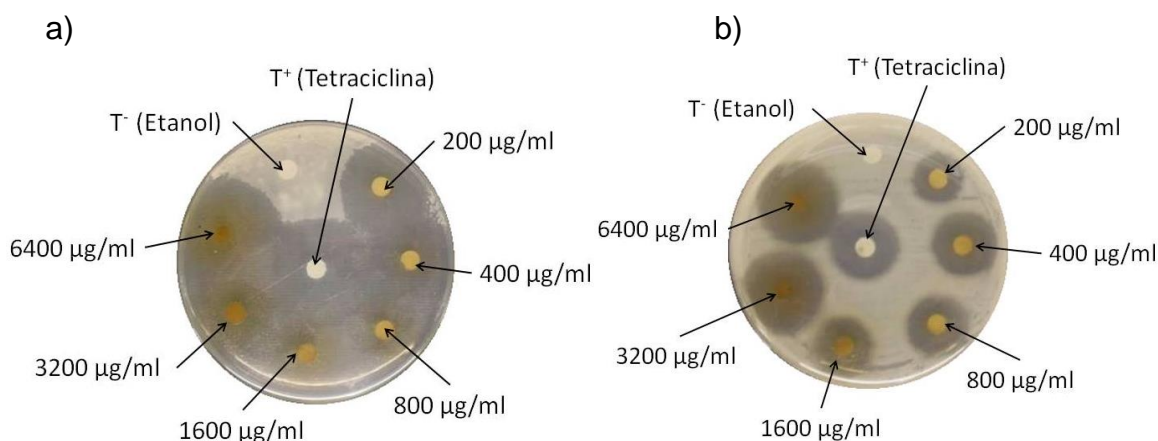


Figura 14. Actividad antibacteriana del extracto de etanol de *T. lucida* silvestre en a) *S. thyphimurium*, b) *S. aureus*.

6.1.2 Actividad antibacteriana de aceites esenciales de *T. lucida* silvestre.

En los AEs se apreció la inhibición del crecimiento en tres de las cinco bacterias, con una zona de inhibición mayor a la del antibiótico (Tabla 3).

Tabla 3. Diámetro en mm de la zona de inhibición de los AEs de *T. lucida* silvestre.

AEs Concentración (µg/ml)	Bacterias				
	<i>E. coli</i>	<i>S. thyphimurium</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pneumoniae</i>
200	-	-	-	-	-
400	-	-	-	-	-
800	-	-	-	-	-
1600	-	-	10	12	-
3200	9	-	18	11	-
6400	12	-	23	15	-
Antibiótico	11	18	12	11	10

-: Sin inhibición

La inhibición del crecimiento de *P. aeruginosa* y *S. aureus* fue la misma, presentándose en las tres concentraciones mayores y en *E. coli* se observó sólo en dos (Anexo 1 Figura 30).

A diferencia de los extractos, en donde *S. thyphimurium* fue la especie más sensible, en los AEs fue *P. aeruginosa*, seguida de *S. aureus* y *E. coli* (Figura 15 y 16).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

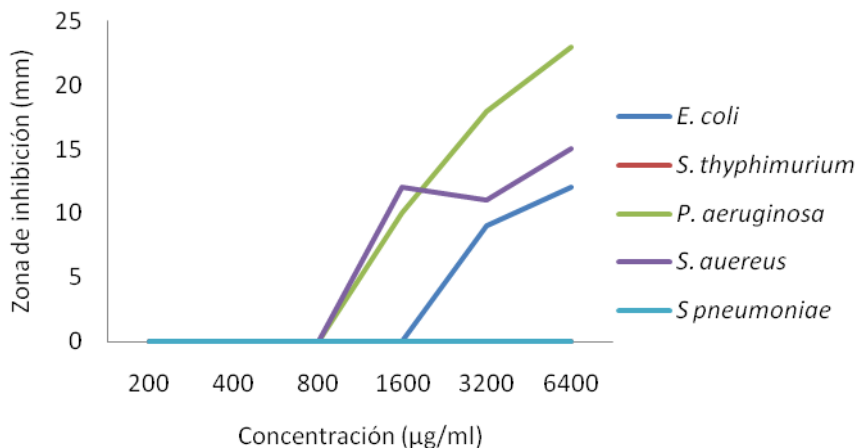


Figura 15. Zona de inhibición del crecimiento en las cinco cepas bacterianas de los AEs de *T. lucida* silvestre.

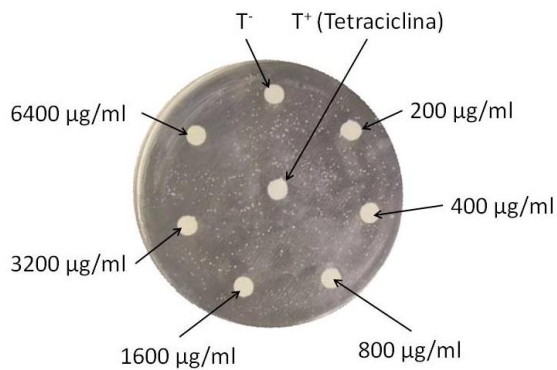


Figura 16. Actividad antibacteriana de los AEs de *T. lucida* silvestre en *P. aeruginosa*.

6.1.3 Actividad antibacteriana de extractos de *T. lucida* cultivada.

De los extractos de *T. lucida* cultivado (Huejutla), dos de los tres extractos no tuvieron inhibición, solamente los extractos con acetato de etilo y etanol, mostraron actividad antibacteriana. En la Tabla 4 se presentan los resultados.

Tabla 4. Diámetro promedio en mm de la zona de inhibición de extractos de *T. lucida* cultivado.

Extracto Concentración (µg/ml)	Bacterias				
	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pneumoniae</i>
Acetato de etilo					
200	-	-	-	-	-
400	-	-	-	-	-
800	-	-	-	-	-
1600	-	-	-	7	-
3200	-	8	7	9	7
6400	-	10	10	11	9
Etanol					
200	-	-	-	-	-
400	-	-	-	-	-
800	-	-	-	-	-
1600	-	-	-	-	-
3200	-	9	-	-	-
6400	9	11	-	-	-
Antibiótico	25	30	22	26	22

-: Sin inhibición

En la prueba realizada con los extractos de hexano y cloroformo, no se observó la inhibición del crecimiento en las cinco cepas bacterianas expuestas a las concentraciones utilizadas (Tabla 4).

El extracto con acetato de etilo mostró inhibición en cuatro de las cinco bacterias, en las concentraciones más altas, siendo las zonas de inhibición menores que el antibiótico (Tabla 4). En *P. aeruginosa*, *S. thyphimurium* y *S. pneumoniae* las concentraciones mayores, 3200 y 6400 $\mu\text{g/ml}$, fueron las únicas que presentaron inhibición. En *S. aureus* las concentraciones de 1600, 3200 y 6400 $\mu\text{g/ml}$, fueron las únicas que mostraron inhibición (Anexo1 Figura 31).

S. aureus resultó ser la cepa más sensible, seguida de *S. thiphymuriu*, *P. aeruginosa* y *S. pneumoniae* (Figura 17 y 18).

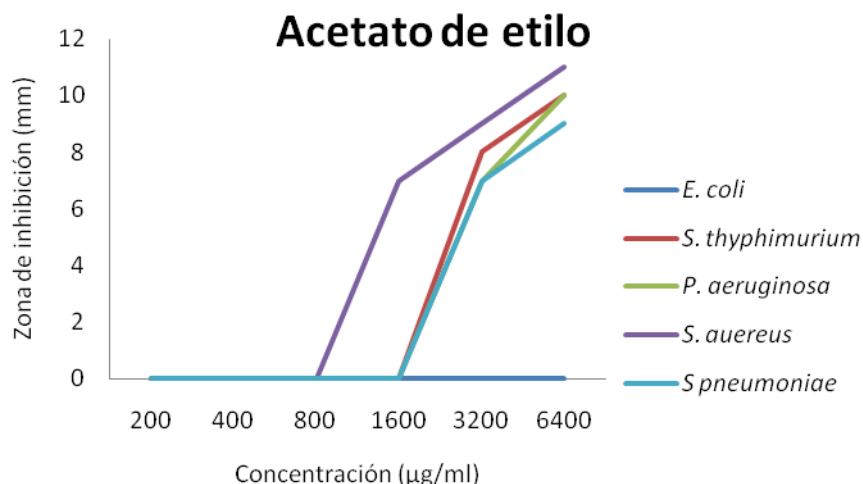


Figura 17. Zona de inhibición del crecimiento en las cinco cepas bacterianas del extracto de acetato de etilo de *T. lucida* cultivada.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

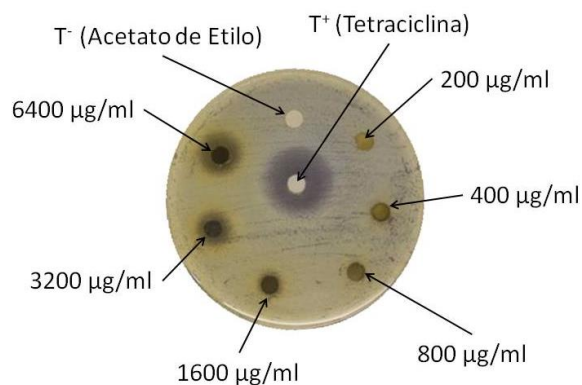


Figura 18. Actividad antibacteriana del extracto de acetato de etilo de *T. lucida* cultivada en *S. aureus*.

En el extracto etanólico se observó la inhibición de *S. thyphimurium*, en las concentraciones mayores (3200 y 6400 µg/ml). En *E. coli* sólo la concentración mayor (6400 µg/ml) presentó inhibición (Figura 19).

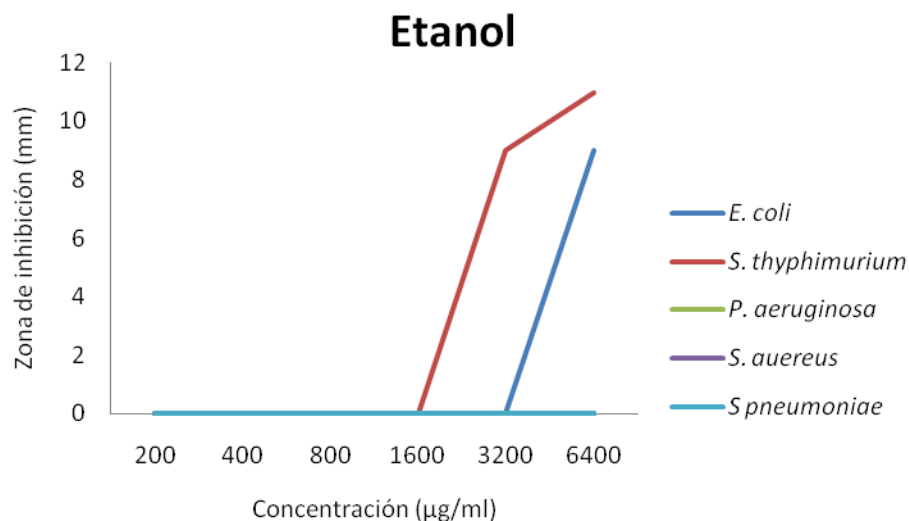


Figura 19. Zona de inhibición del crecimiento en las cinco cepas bacterianas del extracto de etanol de *T. lucida* cultivada.

6.1.4 Actividad antibacteriana de aceites esenciales de *T. lucida* cultivada

Los AEs de *T. lucida* cultivado, solo inhibieron en dos de las cinco bacterias, *S. aureus* y *S. pneumoniae* en las concentraciones mayores, 3200 y 6400 $\mu\text{g/ml}$ (Figura 20), con una zona de inhibición más grande que la del antibiótico (Tabla 5, Anexo1 Figura 32).

Tabla 5. Diámetro en mm de la zona de inhibición de los AEs de *T. lucida* cultivada.

AEs Concentración ($\mu\text{g/ml}$)	Bacterias				
	<i>E. coli</i>	<i>S. thyphimurium</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pneumoniae</i>
200	-	-	-	-	-
400	-	-	-	-	-
800	-	-	-	-	-
1600	-	-	-	-	-
3200	-	-	-	13	10
6400	-	-	-	17	10
Antibiótico	11	18	12	11	7

-: Sin inhibición

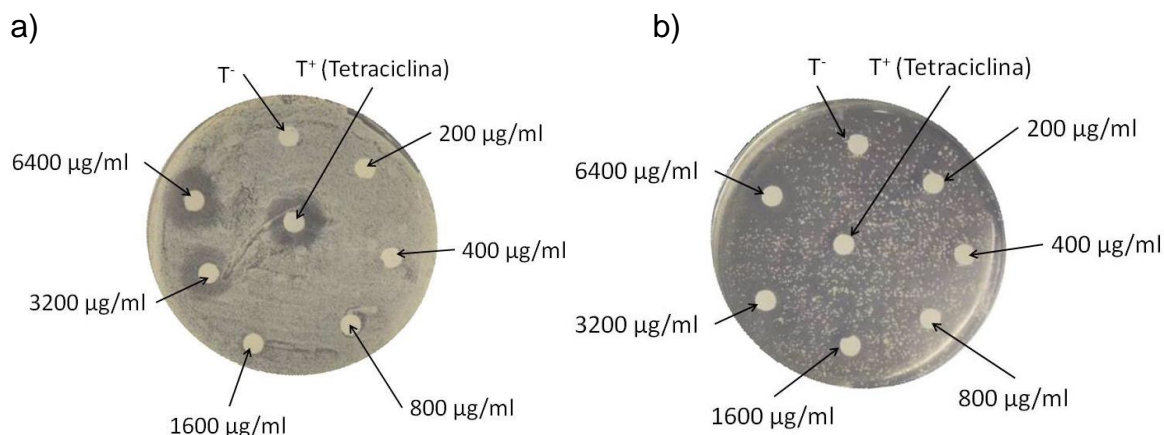


Figura 20. Actividad antibacteriana de los AEs de *T. lucida* cultivada en a) *S. aureus*, b) *S. pneumoniae*.

6.2 Análisis comparativo de la actividad antimicrobiana de *T. lucida*.

Como se observa en la Tabla 8 de los cuatro extractos empleados del pericón proveniente de Actopan (silvestre), sólo en tres se observó inhibición, en cuanto al pericón cultivado (Huejutla), sólo dos extractos fueron activos.

Tabla 6. Comparación de la actividad antibacteriana de los extractos de *T. lucida* silvestre y cultivado.

Extractos	<i>T. lucida</i> (silvestre)	<i>T. lucida</i> (cultivado)
Hexano	-	-
Cloroformo	+	-
Acetato de etilo	+	+
Etanol	+	+
	+ Inhibición	- Sin Inhibición

El extracto de acetato de etilo de la muestra silvestre inhibió en *E. coli*, *S. aureus* y *S. thyphimurium*, en todas sus concentraciones, a diferencia de la muestra cultivada donde no se observó inhibición en *E. coli*, en *S. aureus*, y *S. thyphimurium* solo las dos concentraciones mayores presentaron inhibición, pero *S. pneumoniae* también presentó la misma conducta (Tabla 9).

Como se observa en las Figuras 23 y 24 en la prueba con *S. aureus*, las zonas de inhibición en los extractos de la muestra cultivada son mayores, incluso que el antibiótico, y en *S. thyphimurium*, la inhibición fue tal que no se pudo

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

contabilizar, pero en las muestras cultivadas las zonas de inhibición fueron de un tamaño menor que las del antibiótico.

Tabla 7. Comparación del diámetro en mm de las zonas de inhibición de extractos de acetato de etilo de *T. lucida* silvestre y cultivada

	Concentraciones ($\mu\text{g/ml}$)											
	200		400		800		1600		3200		6400	
	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C
Ec	17	-	18	-	20	-	24	-	27	-	24	-
St	30	-	30	-	30	-	30	-	30	8	30	10
Pa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	-	10
Sa	15	-	19	-	21	-	24	7	29	9	29	11
Sp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	-	9

S: Silvestre; C: Cultivado; Ec: *E. coli*; Pa: *P. aeruginosa*; Sa; *S. aureus*; Sp: *S. pneumonia*; St: *S. thyphimurium*.

- = Sin inhibición

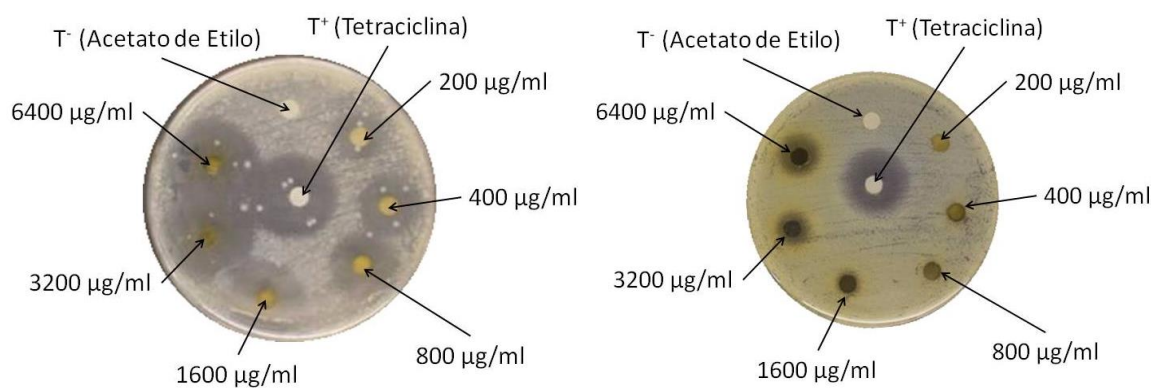


Figura 21. Actividad antibacteriana en *S. aureus* del extracto de acetato de etilo de *T. lucida*. Derecha: silvestre, Izquierda: cultivada.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

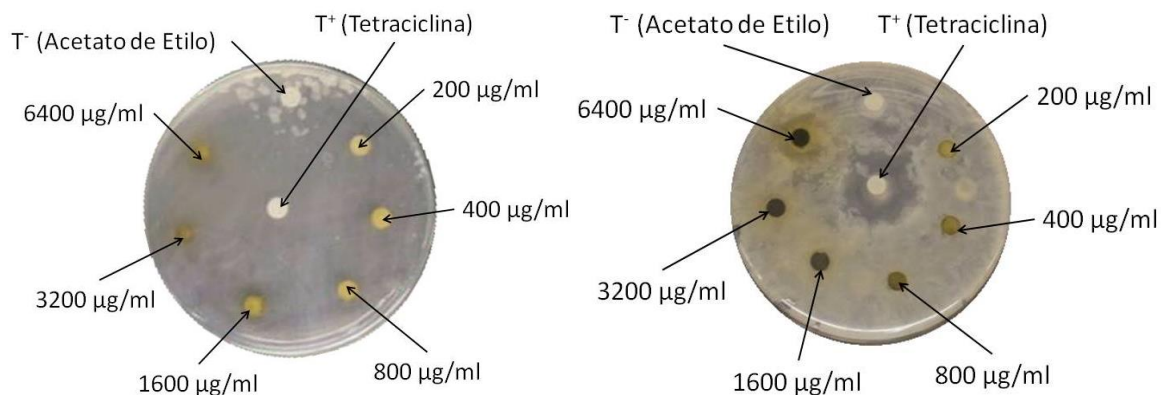


Figura 22. Actividad antibacteriana en *S. typhimurium* del extracto de acetato de etilo de *T. lucida*. Derecha: silvestre, Izquierda: cultivada.

El extracto de etanol presentó inhibición, en *E. coli*, *S. aureus* y *S. typhimurium*, en todas las concentraciones, en la muestra cultivada se observó la inhibición de *E. coli* principalmente en las concentraciones de 3200 y 6400 µg/ml (Tabla 10).

Tabla 8. Comparación del diámetro en mm de las zonas de inhibición de extractos de etanol de *T. silvestre* y cultivada.

	Concentraciones (µg/ml)											
	200		400		800		1600		3200		6400	
	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C
Ec	17	-	18	-	20	-	21	-	25	-	27	9
St	27	-	29	-	30	-	30	-	30	9	31	11
Pa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sa	23	-	26	-	27	-	26	-	28	-	28	-
Sp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

S: Silvestre; C: Cultivado; Ec: *E. coli*; Pa: *P. aeruginosa*; Sa; *S. aureus*; Sp: *S. pneumonia*; St: *S. typhimurium*.

- = Sin inhibición

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

En los AEs de la muestra silvestre se apreció la inhibición de tres de las cinco cepas bacterianas (*E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*), siendo *P. aeruginosa* la cepa más sensible. En los AEs de la muestra cultivada sólo en dos cepas (*S. aureus* y *S. pneumoniae*), ambas en las dos concentraciones mayores, presentaron inhibición (Tabla 11 y Figura 25).

Tabla 9. Comparación del diámetro en mm de las zonas de inhibición de AEs de *T. lucida* silvestre y cultivada.

	Concentraciones ($\mu\text{g/ml}$)											
	200		400		800		1600		3200		6400	
	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C
Ec	-	-	-	-	-	-	-	-	9	-	12	-
St	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pa	-	-	-	-	-	-	10	-	18	-	23	-
Sa	-	-	-	-	-	-	12	-	11	13	15	17
Sp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	10

S: Silvestre; C: Cultivado; Ec: *E. coli*; Pa: *P. aeruginosa*; Sa; *S. aureus*; Sp: *S. pneumoniae*; St: *S. thyphimurium*.

- = Sin inhibición

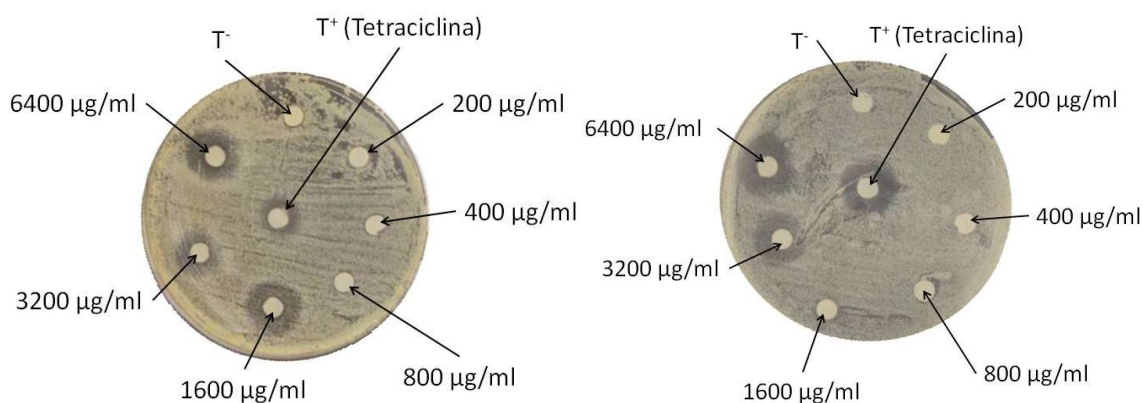


Figura 23. Actividad antibacteriana en *S. aureus* de los AEs de *T. lucida*. Derecha: silvestre, Izquierda: cultivada.

6.3 Ensayo de actividad antibacteriana por dilución en caldo de AEs de *T. lucida* silvestre y cultivada.

Para la realización de esta prueba únicamente se utilizaron los AEs de ambas muestras de pericón, con nueve concentraciones, para determinar la CMI y CMB. En los AEs de *T. lucida* silvestre, se obtuvieron los siguientes resultados, en *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. pneumoniae* la CMI y CMB solo se presentó en la concentración mayor, de 3200 µg/ml, en *S. aureus* la CMI y CMB se obtuvieron en 1600 y 3200 µg/ml, mientras que para *S. thyphimurium* CMI y CMB fueron en las concentraciones 800 y 1600 µg/ml, respectivamente (Figura 21).

Como se observa en la Tabla 6, los AEs de pericón silvestre tuvieron un mayor efecto inhibitorio que el pericón cultivado, mostrando la inhibición de las cinco bacterias en la concentración mayor. *S. thyphimurium* fue la cepa más sensible al efecto antibacteriano de *T. lucida* silvestre a diferencia de la muestra cultivada (Figura 21 y 22).

Tabla 10. Comparación de las CMI y CMB de *T. lucida* silvestre y cultivado en µg/ml

<i>T. lucida</i>	<i>E. coli</i>		<i>S. thyphimurium</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>S. aureus</i>		<i>S. pneumoniae</i>	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
Silvestre	3200	3200	800	1600	3200	3200	1600	3200	3200	3200
Cultivado	3200	3200	3200	3200	0	0	3200	3200	0	0

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

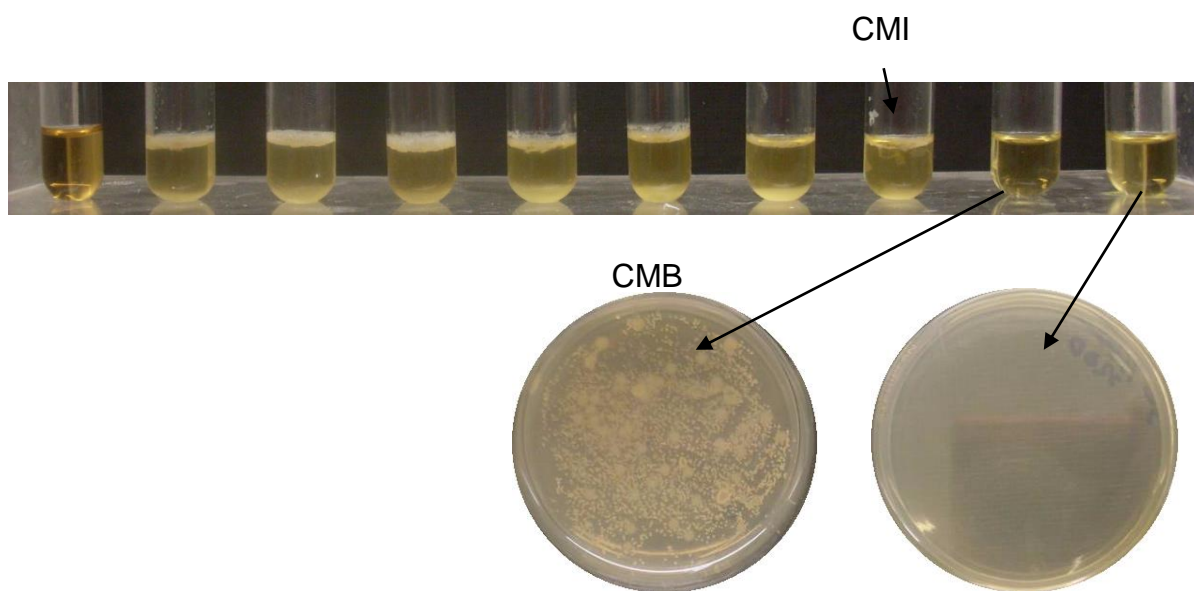


Figura 24. CMI y CMB de los AEs de *T. lucida* silvestre en *S. typhimurium*.

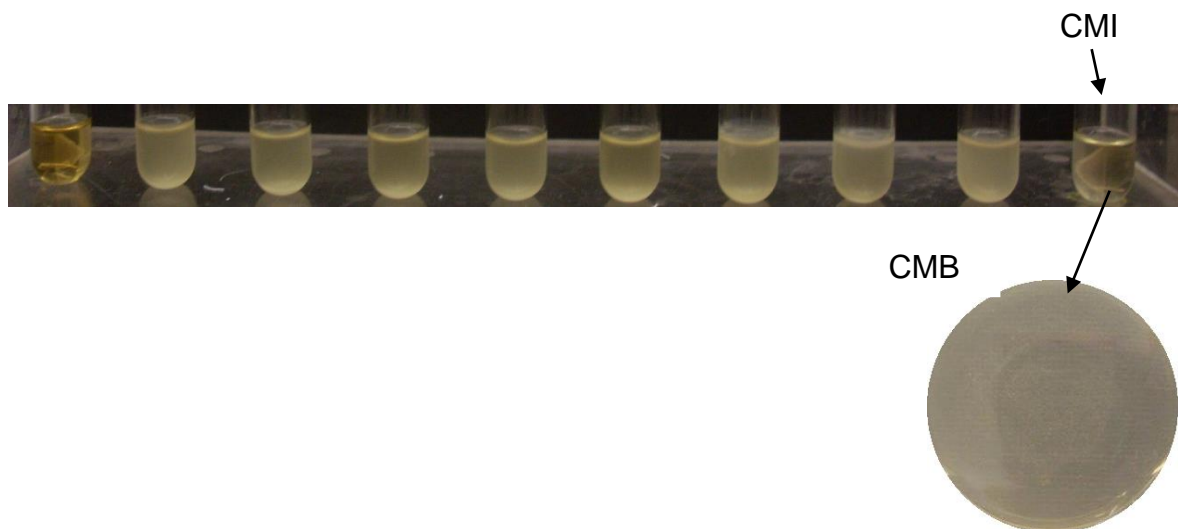


Figura 25. CMI y CMB de los AEs de *T. lucida* cultivado en *S. typhimurium*.

6.4 Ensayo de toxicidad en *Artemia salina*.

En esta prueba se utilizaron los AEs de *T. lucida* silvestre y cultivado en organismos nauplios o larvas de *Artemia salina*, éstos produjeron mortalidad en los organismos de prueba. En ambos aceites se produjo una mortalidad del 100% en tres concentraciones (10, 100 y 1000 µg/ml), la mortalidad varió en la cuarta concentración (0.1 µg/ml), *T. lucida* silvestre provocó un porcentaje mayor de mortalidad en comparación con el cultivado. (Tabla 7).

Tabla 11. Porcentaje de mortalidad (promedio de cinco réplicas) en *Artemia salina* de los aceites esenciales de *T. lucida* silvestre y cultivada

<i>T. lucida</i>	Concentraciones (µg/ml)				
	0.01	0.1	10	100	1000
Silvestre	0	28	100	100	100
Cultivado	0	6	100	100	100

6.5 Análisis Cromatográfico.

Al inyectar los AEs totales de ambas muestras al cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masa, se identificaron los componentes mayoritarios mediante la comparación de sus espectros de masas con los de la biblioteca del equipo, se obtuvieron los cromatogramas y espectros que se muestran en los Anexos I y II.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

Se encontró que los AEs de la muestra de *T. lucida* silvestre están constituidos por diez sustancias, una de ellas es butilhidroxitolueno, compuesto fenólico que se sintetiza a partir del p-cresol (UNEP PUBLICATIONS, 2009), por lo que se le considera un contaminante, dando como resultando tres compuestos mayoritarios, con los tiempos de retención de 7.901, 8.559 y 11.484 minutos. Al comparar los espectros de masas de estas sustancias con los de la biblioteca digital del Cromatógrafo de gases, se identificaron como Estragol, Anetol y 7-Metoxicumarina, con un porcentaje de área de 11.92, 5.15 y 37.07 respectivamente. Los resultados se presentan en la Tabla 12.

Tabla 12. Componentes de los AEs de *T. lucida* silvestre

Tiempo Retención (min)	Área (%)	Datos del espectro de masas ^a	Compuesto
7.901	11.92	148, 77, 117, 51, 121, 91, 105, 79, 63, 133, 41, 55, 102, 135, 193	Estragol
8.559	5.15	148, 77, 105, 117, 51, 91, 133, 63, 50, 149, 240	Anetol
10.091	31.94	205, 220, 57, 41, 91, 105, 177, 67, 145, 81, 77, 115, 121, 133, 189, 161, 149, 187, 218, 232	Butilhidroxitolueno
11.484	37.07	176, 133, 148, 77, 51, 63, 105, 89, 69, 41, 120, 145, 98, 121, 159, 187, 202	7-Metoxicumarina

^aIones de mayor fragmentación, pico base (el primero en la lista) y otros iones en orden decreciente de abundancia relativa

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

Se encontró que los AEs de la muestra de *T. lucida* cultivada están constituidos por diez sustancias, al igual que la muestra silvestre el compuesto butilhidroxitolueno es considerado un contaminante, resultando tres compuestos mayoritarios, con los tiempos de retención de 7.924, 8.563 y 11.473 minutos. Al comparar los espectros de masas de estas sustancias con los de la biblioteca digital del Cromatógrafo de gases, estas se identificaron como Estragol, Anetol y 7-Metoxicumarina con un porcentaje de área de 60.55, 5.92 y 12.13 respectivamente (Tabla 13).

Tabla 13. Componentes de los AEs de *T. lucida* cultivada.

Tiempo Retención (min)	Área (%)	Datos del espectro de masas ^a	Compuesto
7.924	60.55	148, 77, 117, 91, 121, 105, 51, 133, 63, 41, 74, 93, 146, 184, 207	Estragol
8.563	5.29	148, 77, 117, 105, 79, 51, 91, 133, 63, 121, 55, 41, 102, 135, 184	Anetol
10.087	11.55	205, 220, 57, 41, 91, 177, 105, 145, 67, 81, 77, 115, 121, 133, 189, 161, 149, 218	Butilhidroxitolueno
11.473	12.13	176, 133, 148, 51, 77, 63, 105, 89, 149, 41, 120, 104, 160, 187, 202, 229, 246	7-Metoxicumarina

^aIones de mayor fragmentación, pico base (el primero en la lista) y otros iones en orden decreciente de abundancia relativa

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

Como se observa en la figura 26 los componentes mayoritarios presentan un tiempo de retención similar, variando el porcentaje de área, viéndose claramente la diferencia entre el estragol y 7-metoxicumarina en ambas muestras.

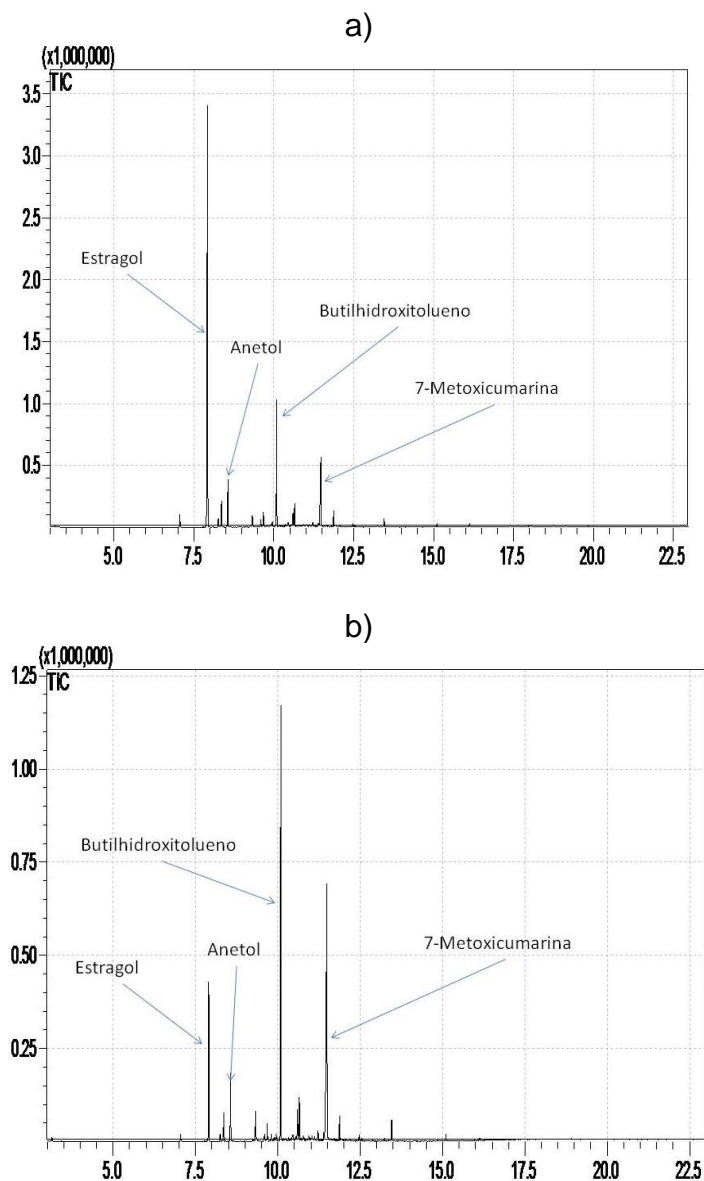


Figura 26. Cromatogramas de los AEs de *T. lucida*. a) Cultivada, b) Silvestre

7. Discusión

7.1 Rendimiento de los AEs.

El contenido de los AEs de las dos muestras de *T. lucida*, medido como rendimiento porcentual mostró una variabilidad. El rendimiento de los aceites esenciales fue de 0.32% en la muestra silvestre, siendo menor el porcentaje en la muestra cultivada de 0.28 %, otros autores han reportado un rendimiento de los aceites esenciales que varía de 0.07 a 0.7 % (Ciccio, 2004; Céspedes *et al.*, 2006; Vargas y Bottia, 2008).

7.2 Actividad biológica de *T. lucida*.

Se comprobó que los extractos y aceites esenciales de *T. lucida* presentaron actividad antibacteriana, siendo mayor en la muestra procedente de Actopan, es decir de la planta silvestre, al lograr la inhibición de un mayor número de cepas bacterianas en las concentraciones menores. Esta actividad de *T. lucida* había sido reportada por Céspedes *et al.* (2006) y Hernández *et al.* (2006).

Cáceres (1990) y Girón (1991), también realizaron pruebas en *E. coli*, *S. aureus*, y *S. typhimurium*, entre otras bacterias y obtuvieron la misma actividad antibacteriana.

Los extractos con hexano realizados con ambas muestras y utilizados en los bioensayos no presentaron actividad alguna frente a las cepas, sin embargo, Arnaz (1991) en sus estudios con extractos hexánicos, reportó compuestos como alfa tertienilo y betienilos, tiofenos que le confieren propiedades antihelmínticas, antifúngicas y antibacterianas.

El extracto de cloroformo de la muestra silvestre mostró actividad antibacteriana en *S. aureus*, y *S. thyphimurium*, además de en *E. coli* y *P. aeruginosa*, lo cual ya había sido reportado por Capunzo (2003) al investigar la actividad de extractos de éter de petróleo, cloroformo y cloroformo-metanol de *T. lucida*, el extracto con cloroformo presentó actividad en *E. coli*, *P. aeruginosa* y *Enterobacter alcalifaciens*.

Las pruebas con extractos de acetato de etilo mostraron actividad antimicrobiana en *S. aureus*, *E. coli* y *S. thyphimurium* en extractos silvestres, y con el extracto cultivado en *S. thyphimurium*, *P. aeruginosa* *S. aureus* y *S. pneumoniae*, en un estudio realizado con extractos de acetato de etilo se obtuvo la misma actividad contra *S. aureus* y *P. aeruginosa*, entre otras, siendo el compuesto bioactivo 5,7,4'-trimetoxiflavona (Hernández *et al.*, 2006),

Los extractos etanólicos de *T. lucida* silvestre mostraron una zona de inhibición mayor a 17 mm en *E. coli*, *S. aureus*, y *S. thyphimurium*, estudios

anteriores con extractos etanólicos mostraron una inhibición mayor a 9 mm en *E. coli* y *Salmonella typhi* (Cáceres *et al.*, 1991),

Los AEs de la muestra silvestre en general presentaron actividad en todas las bacterias, a diferencia de la muestra cultivada que presentó actividad en todas exceptuando *P. aeruginosa*, trabajos anteriores reportaron actividad en *S. aureus*, *S. pneumoniae* (Cáceres *et al.*, 1991) y en *E. coli* (Cáceres *et al.*, 1990), entre otras.

Otros trabajos reportan actividad antibacteriana en otras especies del género *Tagetes* como *T. minuta*, cuyos extractos presentan actividad en *E. coli* (ATCC 25922) y *P. aeruginosa* (ATCC 27853) (Tereschuk *et al.*, 1997), con resultados, similares a los de este trabajo. Otra especie es *T. patula* cuyos aceites esenciales presentan actividad en *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli*, cuyos resultados presentan zonas de inhibición mayores a las mostradas en este trabajo

Los ensayos de toxicidad en *Artemia salina*, permitieron corroborar el hecho de que las muestras de *T. lucida* silvestre presentan mayor actividad biológica, siendo de gran importancia, ya que permite detectar compuestos secundarios con actividad biológica relevante (Meyer *et al.*, 1982)

7.3 Composición química de los aceites esenciales.

Las diferentes especies del género *Tagetes* presentan flavonoides y terpenos con propiedades farmacológicas e insecticidas (Tereschuk *et al.*, 1997; Perich *et al.*, 1995). Los estudios fitoquímicos de Días (1997), revelaron la presencia de cumarinas, lactonas y terpenos.

En el presente estudio entre los compuestos mayoritarios encontrados están el estragol, siendo en la muestra cultivada el compuesto más abundante (60.5 %), a diferencia del pericón silvestre, donde resulto el segundo compuesto más abundante (11.9 %), es un fenilpropanoide que le da el olor característico a anís, utilizado en la fabricación de licores, actualmente se restringe su uso por considerarse cancerígeno (Bauer *et al.*, 2001), este compuesto es característico de esta especie y ha sido reportado por Ciccío (2004), Marotti *et al.* (2004) y Bicchi *et al.* (1997) que estudiaron los compuestos de los AEs de *T. lucida* observando un alto contenido de estragol (33.9-91.7%).

Otros estudios realizados en diferentes plantas, demuestran la presencia de estragol en *Ocimum mínimum* L. (Maia, *et al.*, 2005), *Pimpinella anisum* L., *Illicium verum* H. y *Ocimum basilicum* (Pérez, 2005), lo cual demuestra que es una especie, cuyo consumo es seguro, siempre y cuando sea a la concentración adecuada, ya que como lo describe Paracelso en el siglo XVI: "Todas las cosas

tienen veneno, y no hay nada que no lo tenga. Si una cosa es veneno o no, depende solamente de la dosis” (Citado por Schultes y Hofmann, 1982)

El segundo compuesto mayoritario observado es 7-Metoxicumarina (herniarina), al contrario del estragol, fue el compuesto mayoritario observado en los AEs silvestres (37.07 %), y el segundo de la muestra cultivada (12.13 %), esta cumarina fue reportada por Aquino *et al.* (2002), Barrillas (1995), lo describió como principio activo antiespasmódico de la planta, y Cabrera (2005) lo clasifica como el compuesto que le otorga la actividad biológica a *T. lucida*, la cual se presenta en las hojas y flores.

Otros compuestos observados en los cromatogramas son anetol (uno de los compuestos mayoritarios) y metileugenol, que han sido reportados por Ciccío (2004), Bicchi, *et al.* (1997) junto al linalool, Marotti, *et al.* (2004) detectaron metileugenol. Barrillas (1995) reportó la presencia de linalool y metileugenol entre los compuestos mayoritarios.

El butilhidroxitolueno, también llamado 2,6 di-tert-butyl-p cresol, es un compuesto que se presentó en ambas muestras, siendo un contaminante, ya que es un compuesto fenólico que se obtiene a partir del p-cresol (UNEP PUBLICATIONS, 2009)

8. Conclusiones

Se comprobó que *T. lucida* presenta actividad antibacteriana, lo cual ayuda a promover la validación del uso de esta planta y confirmando que tienen los efectos que tradicionalmente se le atribuyen.

Desde un principio las plantas mostraron diferencias, en el aroma y sabor, siendo más fuertes en las plantas de las muestras silvestres. Mientras el aroma de los aceites esenciales resultó más fuerte en el pericón silvestre y más dulce en el cultivado.

En cuanto a la actividad antibacteriana, los extractos presentaron mayor actividad que los aceites esenciales en cuanto al número de cepas inhibidas con las menores concentraciones.

Las cepas más susceptibles fueron *S. aureus* y *S. typhimurium*, presentando mayor actividad los extractos etanólicos.

Los extractos obtenidos con hexano resultaron tener una actividad nula en ambas muestras.

Los compuestos y las proporciones en los que estos se presentan varían claramente de una región a otra, el resultado se puede deber a que las poblaciones silvestres requieren de mecanismos más eficaces para poder sobrevivir en su hábitat natural, mientras que las cultivadas, son manipuladas y protegidas por el hombre, por lo que no requieren de la misma cantidad de compuestos activos. Otro factor importante es la región en la que se localiza, ya que el pericón se localiza silvestre en Actopan, pero al ser cultivado en Huejutla, la temperatura, altitud, y otras variantes, cambian considerablemente. La variación del contenido de los principios activos entre distintas especies de plantas es algo muy común (De Feo *et al.*, 2003), por lo que no es raro observar las diferencias observadas entre ambas muestras, procedentes de diferentes regiones y orígenes.

Como Cowan (1999) indica, las plantas producen aceites esenciales (AEs), con diferentes propósitos, principalmente como defensa contra depredadores y plagas (microorganismos, insectos y herbívoros); y Morales (1996), Müller (1981) y Smith (*et al.*, 1998), muestran su producción por enfermedades, invasión de otras plantas o para atraer polinizadores y dispersores. Al ser *T. lucida*, una planta silvestre, se encuentra expuesta a este tipo de factores bióticos, por lo que sus componentes, deben ser más efectivos, por el contrario, al ser una planta cultivada, estos factores tratan de ser disminuidos, para no afectar la cosecha, y

obtener la mayor cantidad de la misma, por lo que los compuestos producidos por este tipo de planta no se encuentran en las mismas concentraciones.

La diferencia entre las plantas, no solo fue en la actividad biológica, sino también a nivel de los compuestos observados en el cromatograma, el pericón se caracteriza por ser una gran fuente de estragol, lo cual se observó en la muestra cultivada, pero en la muestra silvestre la presencia de 7-Metoxicumarina como compuesto mayoritario, nos hace considerar a este compuesto el principio activo de la planta, ya que los extractos y aceites de las muestras silvestres presentan mayor actividad biológica (inhibiendo el mayor número de cepas bacterianas) en los bioensayos realizados, al contrario de las cultivadas.

La presencia de un cancerígeno, como lo es el estragol, no afecta el uso de esta planta, ya que se ha reportado su presencia en otras especies vegetales como el aguacate, la albahaca, el anís, y sin embargo su uso es seguro, ya que se necesitarían de grandes cantidades de estragol, que no se encuentran de forma natural en la planta.

9. Literatura citada

1. Abdala, L. R. 1999. Flavonoids of the aerial parts from *Tagetes lucida* (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*. 27 (7): 753-754.
2. Alcántara, R. M. R. 1987. Actividad antimicrobiana del género *Tagetes*. Tesis Químico Farmacéutico. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 39 pp.
3. Alonso-Urmenta, B., Bengoechea, J. A., Díaz R., Gamazo, C., Garcia, I., Hernández, S., Leiva, S., López-Goñi, I, Marrodán, T., Martínez, G., Orteiza, M. C., Romero I., Rubio, M., Velazco, J. y Vitas V. 2003. Manual Práctico de Microbiología. MASSON. Segunda edición. España. 216 pp.
4. Alkofahi, A., Rupprecht, J. K., Anderson, J. E., McLaughlin, J. L., Mikolajczak, K. L. and Scott A. 1989. Search for new pesticides from higher plants. In: Arnason, J. T., B. J. R. Philogene and P. Morand (Eds.). *Insecticides of plant origin*. American Chemical Society. Washington. 25-43 p.

5. Aquino, R., Cáceres, A., Morelli, B., and Rastrelli, L. 2002. An extract of *Tagetes lucida* and its phenolic constituents as antioxidants. *Journal of Natural Products*. 65 (12): 1773-1776.
6. Araújo, C. A. C. and Leon L. L. 2001. Biological activities of *Curcuma longa* L. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 96: 723-728.
7. Arnaz, P. G. A. 1991. Composición del extracto hexánico de tallos y hojas de *Tagetes lucida* y pruebas antibacterianas. *Plantas de uso medicinal en Centroamérica, Cooperación Italiana*
8. Awal, M. A., Nahar, A., Hossain, M. S., Bari, M. A., Rahman, M. and Haque M. E. 2004. Brine shrimp toxicity of leaf and seed extracts of *Cassia alata* Linn. and their antibacterial potency. *Journal of Medicine Science* 4(3): 188-193.
9. Barrillas, A. C. L. 1995. Determinación de la concentración y rendimiento de 7-metoxicumarina y aceite esencial, en cinco estados de desarrollo del pericón (*Tagetes lucida* Cav.) en la Alameda, Chimaltenango. Tesis de Licenciatura. USAC. Guatemala. 80 pp.

10. Bauer, A. W., Kirby, M. M., Sherris, J. C. and Tusck, M. 1966. Antibiotic susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. The American Journal of Clinical Pathology. 45(4): 493-496.
11. Bicchi, C., Fresia, M., Rubiolo, P., Monti, D., Franz, C. and Goehler, I. 1997. Constituents of *Tagetes lucida* cav. ssp. *lucida* essential oil. Flavour and Fragrance Journal. 12 (1): 47-52.
12. Bye R., Estrada L. E. y Linares M. E. 1992. Recursos genéticos en Plantas medicinales de México. En: Estrada L. E. (Ed.) Plantas medicinales de México, Introducción a su estudio. Universidad Autónoma Chapingo, México, 362 pp.
13. Cabrera, B. B. R. 2005. Evaluación de tres concentraciones de un producto natural a base de: jacaranda (*Jacaranda mimosifolia*), pericon (*Tagetes lucida*), aceituno (*Simauroba glauca*), guayaba (*Psidium guayava*) como coccidicida en pollos de engorde de 3 semanas de edad desafiados con *Eimeria tenella*, en comparación con un tratamiento químico. Tesis Medico Veterinario. Guatemala. 64 pp.
14. Cáceres, A., Alvarez, A. V., Ovando, A. E. and Samayoa, B.E. 1991. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases. 1. Screening

- of 68 plants against Gram-positive bacteria. Journal of Ethnopharmacology. 31 (2): 193-208.
15. Cáceres, A., Cano, O., Samayoa, B. and Aguilar, L. 1990. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against enterobacteria. Journal of Ethnopharmacology. 30: 55-73.
16. Cáceres, A., Cano, O., Samayoa, B. and Aguilar, L. 1991. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases. 1. Screening of 68 plants against Gram positive bacteria. Journal of Ethnopharmacology. 31: 193-208.
17. Cáceres, A. 1996, Plantas de Uso Medicinal en Guatemala, Guatemala, Editorial Universitaria. v I y II, 402 pp.
18. Capunzo, M., Brunetti, L., Cavallo, P., Boccia, G., De Caro, F. and Leluzzi, M. 2003. Antimicrobial activity of dry extracts of *Tagetes lucida* from Guatemala. Journal of Preventive Medicine and Hygiene. 44: 85-87.
19. Castro T. y Gallardo C. 1985. *Artemia* sp. Cuadernos 2. UAM-Xochimilco, México, D. F., 43 pp.

20. Céspedes, C. L., Avila, J.G., Martínez, A., Serrato, B., Calderón-Mugica, J. C. and Salgado-Garciglia, R. 2006. Antifungal and antibacterial activities of Mexican tarragon (*Tagetes lucida*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54(10): 3521-3527.
21. Ciccío, J. F. 2004. A source of almost pure methyl chavicol: Volatile oil from the aerial parts of *Tagetes lucida* (Asteraceae) cultivated in Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*. 52 (4): 853-857.
22. Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12: 564-582.
23. Dabbah, R., Edwards, V. M. y Motas, W. A. 1970. Antimicrobial Activity of Some Citrus Fruits Oils on Selected Food-Borne Bacteria. *Applied Microbiology*. 19 (1): 27-31.
24. De Feo, V. M., Bruno, M., Tahiri, B., Napolitano, F., and Senatore, F. 2003. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from *Thymus spinulosus* Ten. (Lamiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 3849-3853.

25. De Rosa S., De Giuho A. and Iodice C. 1994. Biological effects of prenylated hydroquinones: structure-activity relationship studies in antimicrobial, brine shrimp and fish lethality assays. *Journal of Natural Products*. 57: 1711-1716.
26. Días J. L. 1997. Ethnopharmacology of Sacred Psychoactive Plants Used by the Indians of México. *Annual Review of Pharmacology Toxicology*. 17: 647-675.
27. Díaz, R., Gamazo, C. y López-Goñi, I. 2003. Manual práctico de microbiología. Masson. Barcelona. 216 pp.
28. Domínguez, X. A. 1979. Método de Investigación Fitoquímica. Limusa. México D. F. 281 pp.
29. Estrada L. E. 1995. El programa de Plantas Medicinales de la Universidad Autónoma de Chapingo. En: Estrada L. E (Edit.). *Lecturas para el Diplomado Internacional Plantas Medicinales de México*. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco. 1-27 p.

30. Farnsworth, N. R. and Soejarto, D. D. 1991. Global importance of medical plants. In: The conservation of medicinal plants. Cambridge University Press. New York. 336 pp.
31. Girón, L. M., Freire, V., Alonzo, A. and Cáceres, A. 1991. Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. Journal of Ethnopharmacology. 34 (2-3): 173-187.
32. Gottlieb, O. R. and Borin, M. R. de M. B. 2002. Quantitative Chemobiology: A Guide into the Understanding of Plant Bioactivity. Journal of Brazilian Chemical Society. 13 (6): 772 -776.
33. Hernández, T., Canales, M., Flores, C., García, A. M., Duran, A. and Avila, J. G. 2006. Antimicrobial activity of *Tagetes lucida*. Pharmaceutical Biology. 44 (1): 19-22.
34. Hersh M. P. y Fierro A. A. 2001 El comercio de las plantas medicinales. Algunos rasgos significativos en el centro de México. En: Rendón A. B., Dominguez R. S., Caballero N. J. y Martínez A. M. A. (eds.) Plantas Cultura y Sociedad. Estudio sobre la relación entre seres humanos y plantas en los

- albores del siglo XXI. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. SEMARNAP. México, D. F. 53-75 p.
35. Hersh, M. P. 1999. De hierbas y Herbolarios en el México Actual. *Arqueología Mexicana* 7 (39): 60-65.
36. Hersh, A. C y Hulland, E. D. 1974. *Conservas Alimenticias*. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. España. 61-62 p.
37. Kanegusuku, M., Benassi, J. C., Pedrosa, R. C., Yunes, R. A., Cechinel F. V., Azevedo-Maia, A., de Souza, M. M., Delle Monache, F. y Niero R. 2002. Cytotoxic, hypoglycemic activity and phytochemical analysis of *Rubus imperialis* (Rosaceae). *Zeitschrift für Naturforschung*. 57: 272-276.
38. Marotti, M., Piccaglia, R., Biavati, B. and Marotti, I. 2004. Characterization and yield evaluation of essential oils from different *Tagetes* species. *Journal of Essential Oil Research*. 16 (5): 440-444.
39. Martínez, P. E. R. 2007. Plantas medicinales de la comunidad de Plomosas, municipio de Actopan, Hidalgo. Tesis de licenciatura en Biología. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo. México. 195 pp.

40. McLaughlin, J. L., Rogers L. L. and Anderson J. E. 1998. The Use of Biological Assay to Evaluate Botanicals. *Drugs Information Journal* 32: 513-524.
41. Meyer, D. N., Ferrigni, N. R., Putman, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., and McLaughlin, J. L. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica* 45: 31-34.
42. Monroy, R. M. D. 1995. Evaluación de N, P y K sobre la producción de biomasa en materia seca y la acumulación de N, P, K, Ca y Mg en dos cortes comerciales de pericón *Tagetes lucida* Cav. en el Centro Experimental Docente de Agronomía. Tesis Ingeniería Agronómica. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. 47 pp.
43. Morales de Godoy, V. 1996. Extracción y Caracterización del aceite esencial de Lima Thaití *Citrus aurantiifolia* (Chritms) Swingle. Trabajo especial de Grado. LUZ. Facultad Experimental de Ciencias, Maracaibo, Venezuela. 18-19 pp.
44. Müller, G. 1981. Microbiología de los Alimentos Vegetales. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. España. 152-153 pp.

45. Parra, L., Silva, Q., Guerra, R., e Iglesias, I. 2001. Comparative study of the assay of *A. salina* L. and estimate of medium lethal dose (LD₅₀ value) in mice to determine acute toxicity of plant extracts. *Phytomedicine* 8(5): 395-400.
46. Pérez Escandón, B. E., Villavicencio Nieto, M. A. y Ramírez A. A. 2003. Lista de plantas útiles del estado de Hidalgo, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo, 134 pp.
47. Perich, M., Wells, C., Bertsch, W., and Tredway, K. 1995. Isolation of the insecticidal components of *Tagetes minuta* (Compositae) against mosquito larvae and adults. *Journal of American Mosquito Control Associate*. 11: 307-310.
48. Ricker, M. D. y Daly C. 1998. *Botánica Económica en Bosques Tropicales*, Diana, México, D. F., 293 pp.
49. Rondón, M., Velasco, J., Hernández, J., Pechenada, M., Rojas, J., Morales, A., Carmona, J. and Díaz, T. 2006. Chemical composition and antibacterial activity of the *Tagetes patula* L. *Revista Latinoamericana de Química*. 34: 1-3

50. Rosales, Z. A. C. 1994. Estudio de la biología floral, modo de reproducción y viabilidad de semillas de 6 poblaciones de pericón *Tagetes lucida* Cav. nativas de Guatemala. Tesis Químico Biólogo. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 89 pp.
51. Rzedowski J. y Equihua M. 1987. Flora, Atlas Cultural de México. SEP, INAH, y Ed. Planeta, México, 15 pp.
52. Rzedowski, G. C. de, y Rzedowski J. 2001. Flora Fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología, A. C. Comisión Natural para el Conocimiento y uso de la biodiversidad. Pátzcuaro. 1406 pp.
53. Schultes R. E. y Hofmann A. 1982. Plantas de los dioses: Orígenes del uso de los alucinógenos. Fondo de Cultura Económica. México D. F. 203 pp.
54. Smith, P. A., Stewart, J. and Fyfe, L. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. Letters in Applied. Microbiology. 26 (2): 118-122.
55. Solomons, G. 1988. Fundamentos de Química Orgánica. Editorial Limusa. España. 813 pp.

56. Soto N. J. C. y Sousa S. 1995. Plantas Medicinales de La Cuenca Del Río Balsas. Cuadernos del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F. 198 pp.
57. Tereschuck, M., Riera, M., Castro, G. and Abdala, L. 1997. Antimicrobial activity of flavonoids from leaves of *Tagetes minuta*. Journal of Ethnopharmacology. 56: 227-232.
58. UNEP PUBLICATIONS, 2,6-DI-TERT-BUTYL-P-CRESOL (BHT), se encuentra en internet en la pagina: <http://www.inchem.org/documents/sids/sids/128370.pdf>.
59. Vargas, R. A. P. y Bottia, S. E. J. 2008. Estudio de la composición química de los aceites esenciales de seis especies vegetales cultivadas en los municipios de Bolívar y el Peñón – Santander, Colombia. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia. 235 pp.
60. Villarreal, Q. J. A. 2003. Flora del bajío y regiones adyacentes. Coahuila. 113.
61. Villaseñor, J. L. 2003. Diversidad y distribución de las Magnoliophyta de México. Interciencia. 28 (3): 160-167.

62. Villavicencio, N. M. A., Pérez, E. B. E. y Ramírez, A. A. 1998. Lista Florística del Estado de Hidalgo. Recopilación Bibliográfica. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo, México. 147 pp.
63. Villavicencio Nieto. M. A., Pérez Escandón. B. E. y Ramírez, A. A. 2002. Plantas útiles del estado de Hidalgo II. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo, México. 247 pp.
64. Villavicencio Nieto, M. A. y Pérez Escandón, B. E. 1995. Plantas útiles del Estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo, México. 128 p.
65. Villavicencio Nieto, M. A. y Pérez Escandón, B. E. 2005. Guía de la flora útil de la Huasteca y la zona Otomí-Tepehua, Hidalgo I. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo, México. 171 pp.

Páginas de internet consultado

66. Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, Gobierno del Estado de Hidalgo. Pagina consultada: 17- septiembre-2009. .
<http://www.e-local.gob.mx/work/templates/enciclo/hidalgo/municipios/13003a.htm>

**ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN
Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO**

67. Pagina consultada: 07-julio-2008 http://www.actopan.info/actopan/datos_generales.shtml

68. Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, Gobierno del Estado de Hidalgo. Pagina consultada: 17- septiembre-2009 <http://www.e-local.gob.mx/work/templates/enciclo/hidalgo/municipios/13028a.htm>

69. Pagina consultada el día 05-Noviembre-2008

<http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt>

70. Pagina consultada el día 05-Noviembre-2008

<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/tagetes-lucida/fichas/ficha.htm>

71. Pagina consultada 24-abril-2009. http://www.idrc.ca/en/ev-21245-201-1-DO_TOPIC.html.

72. Pagina consultada el día 04-febrero-2010. <http://es.wikipedia.org/wiki/Tagetes>

10. ANEXOS.

Anexo 1. Actividad antibacteriana de extractos y AEs de *Tagetes lucida* silvestre y cultivada.

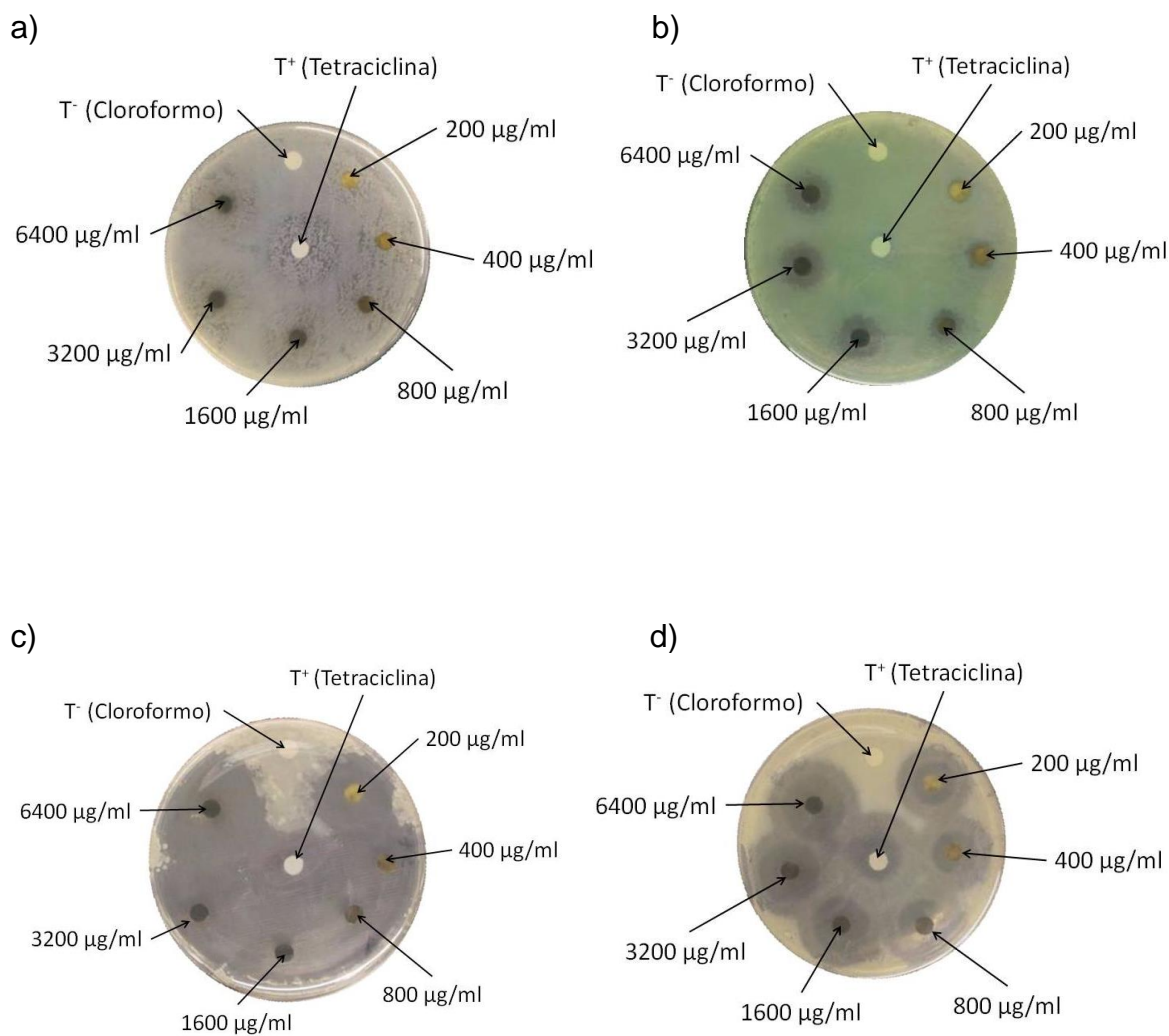


Figura 27. Actividad antibacteriana del extracto de cloroformo de *T. lucida* silvestre en a) *E. coli*, b) *P. aeruginosa*, c) *S. typhimurium*, d) *S. aureus*.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

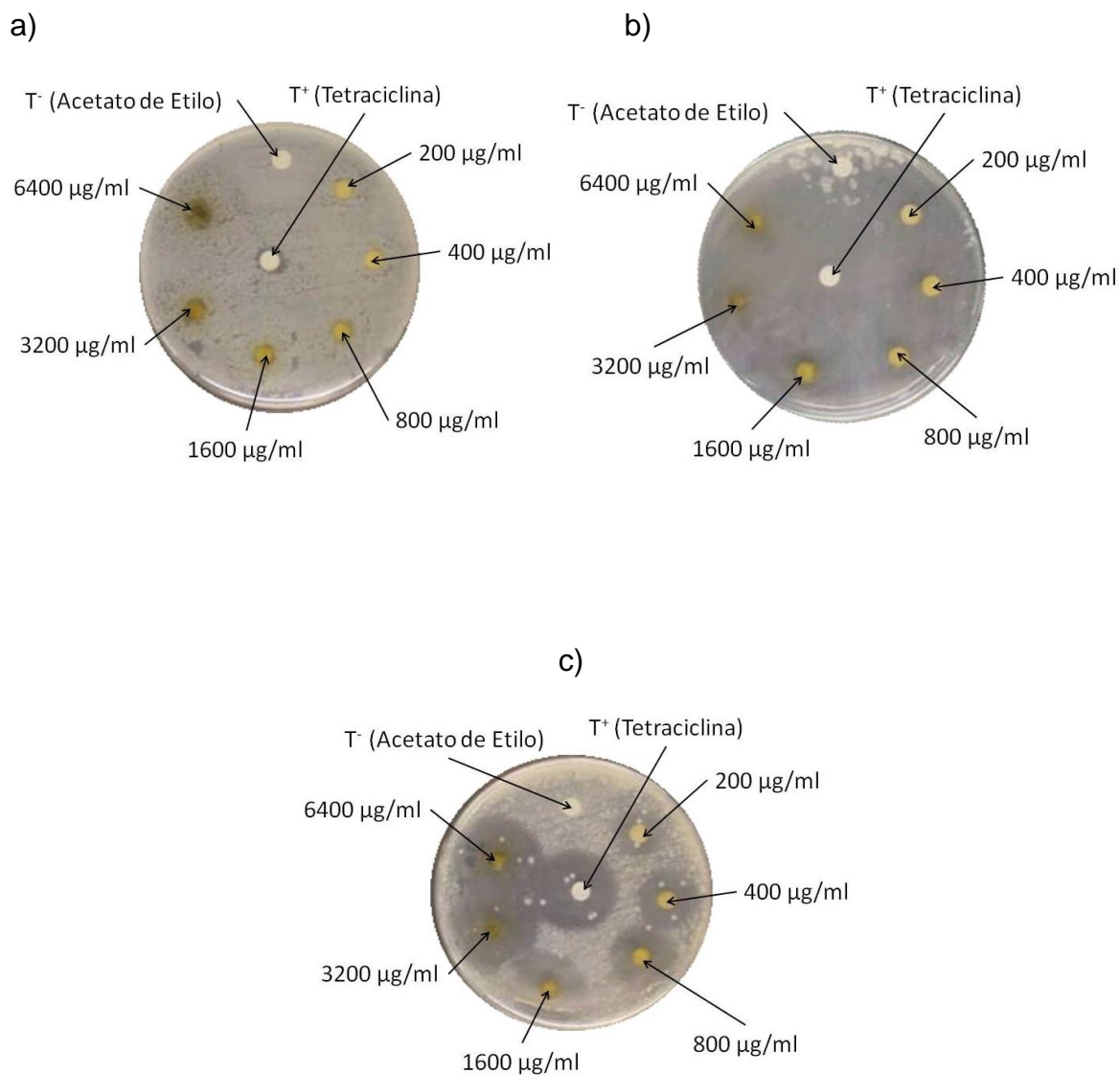


Figura 28. Actividad antibacteriana del extracto de acetato de etilo de *T. lucida* silvestre en a) *E. coli*, b) *S. typhimurium*, c) *S. aureus*.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

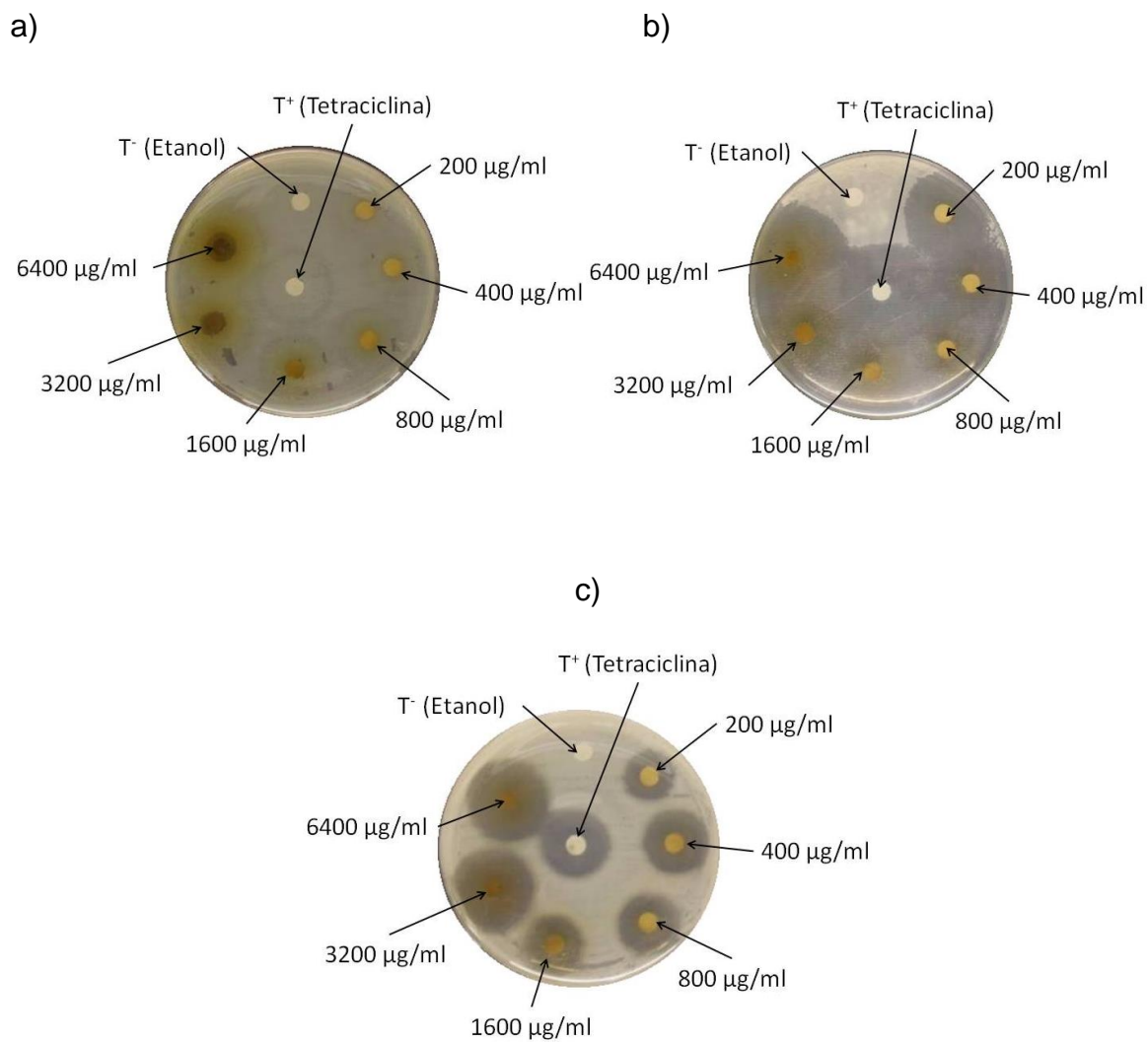


Figura 29. Actividad antibacteriana del extracto de etanol de *T. lucida* silvestre en a) *E. coli*, b) *S. typhimurium*, c) *S. aureus*.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

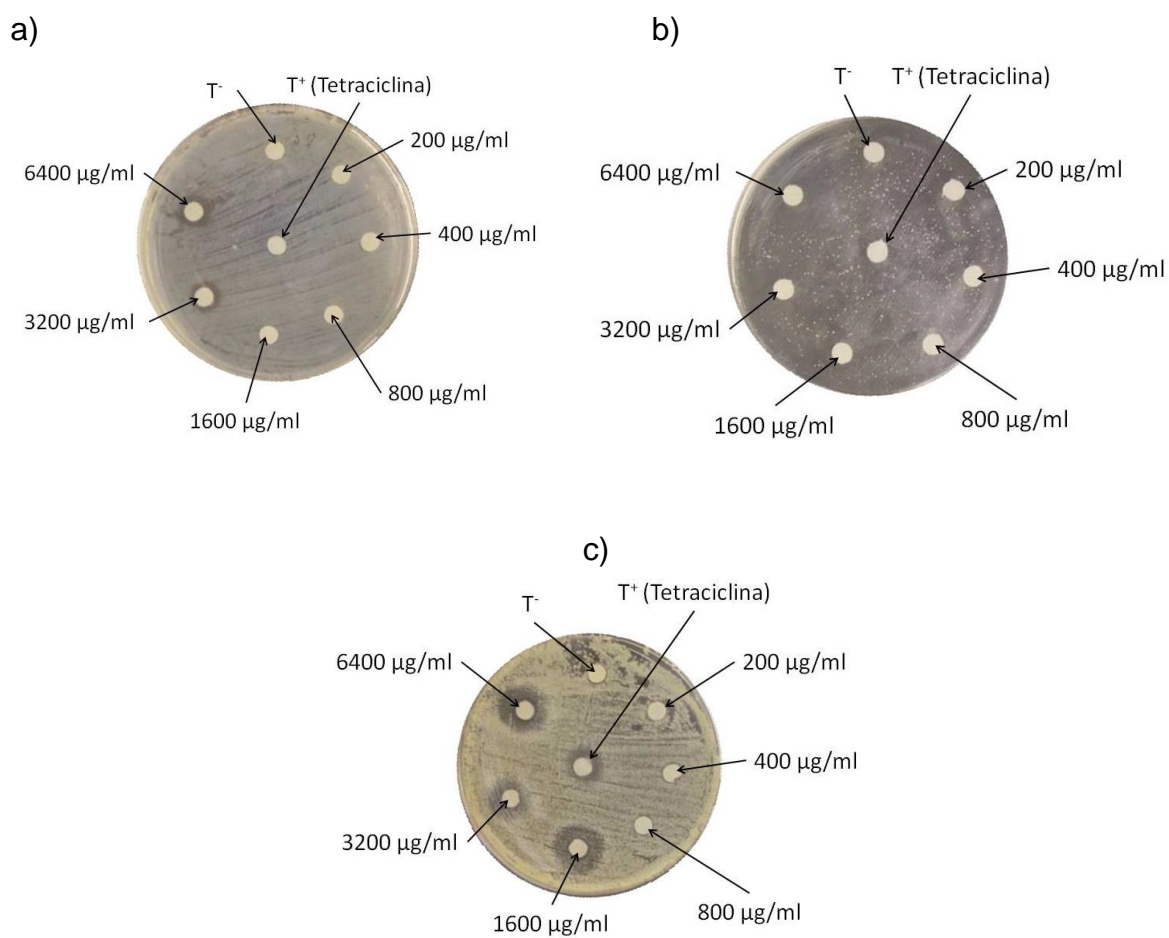


Figura 30. Actividad antibacteriana de AEs de *T. lucida* silvestre en a) *E. coli*, b) *P. aeruginosa*, c) *S. aureus*.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

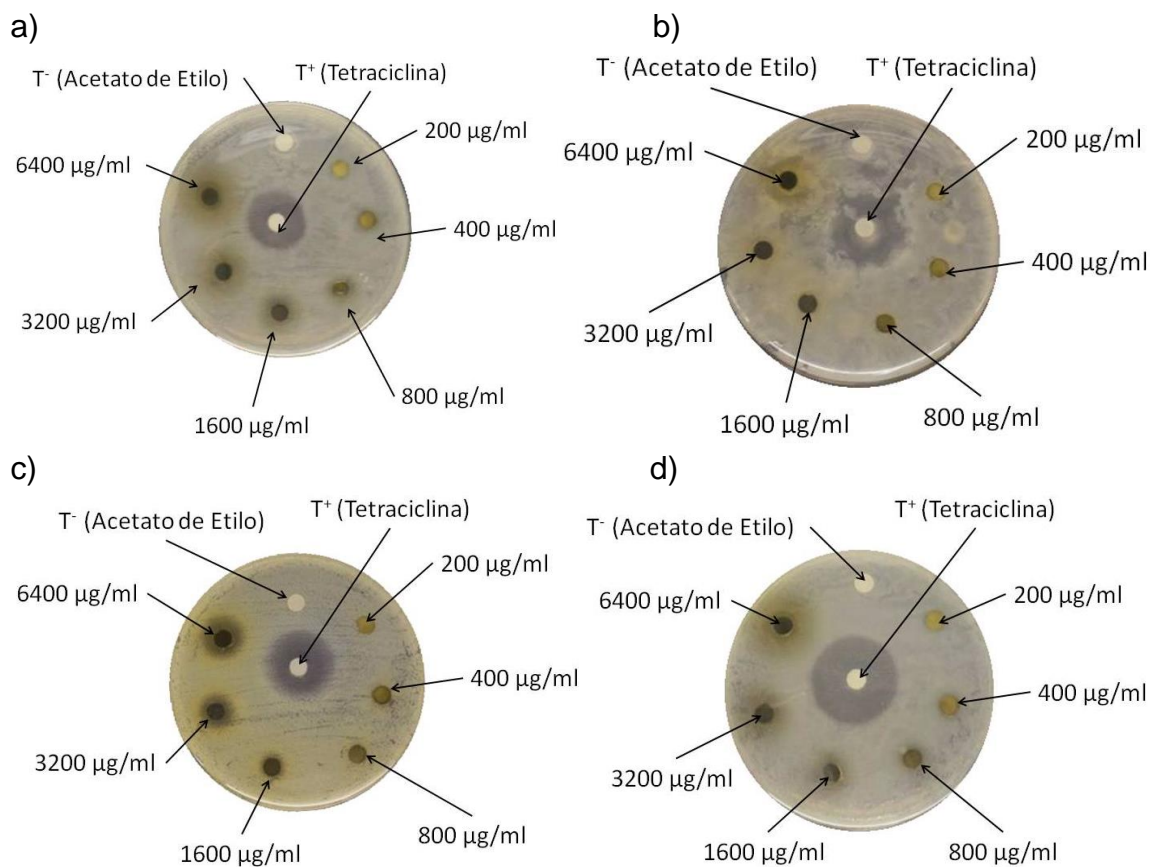


Figura 31. Actividad antibacteriana del extracto de acetato de etilo de *T. lucida* cultivada en a) *P. aeruginosa*, b) *S. typhimurium*, c) *S. aureus*, d) *S. pneumoniae*.

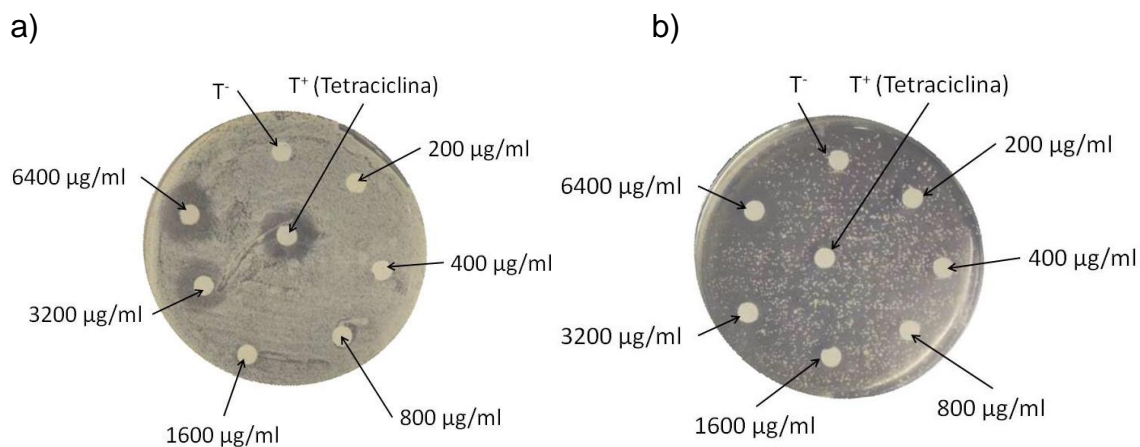


Figura 32. Actividad antibacteriana de los AEs de *T. lucida* cultivada en a) *S. aureus*, b) *S. pneumoniae*.

Anexo 2. Cromatograma de *Tagetes lucida* silvestre.

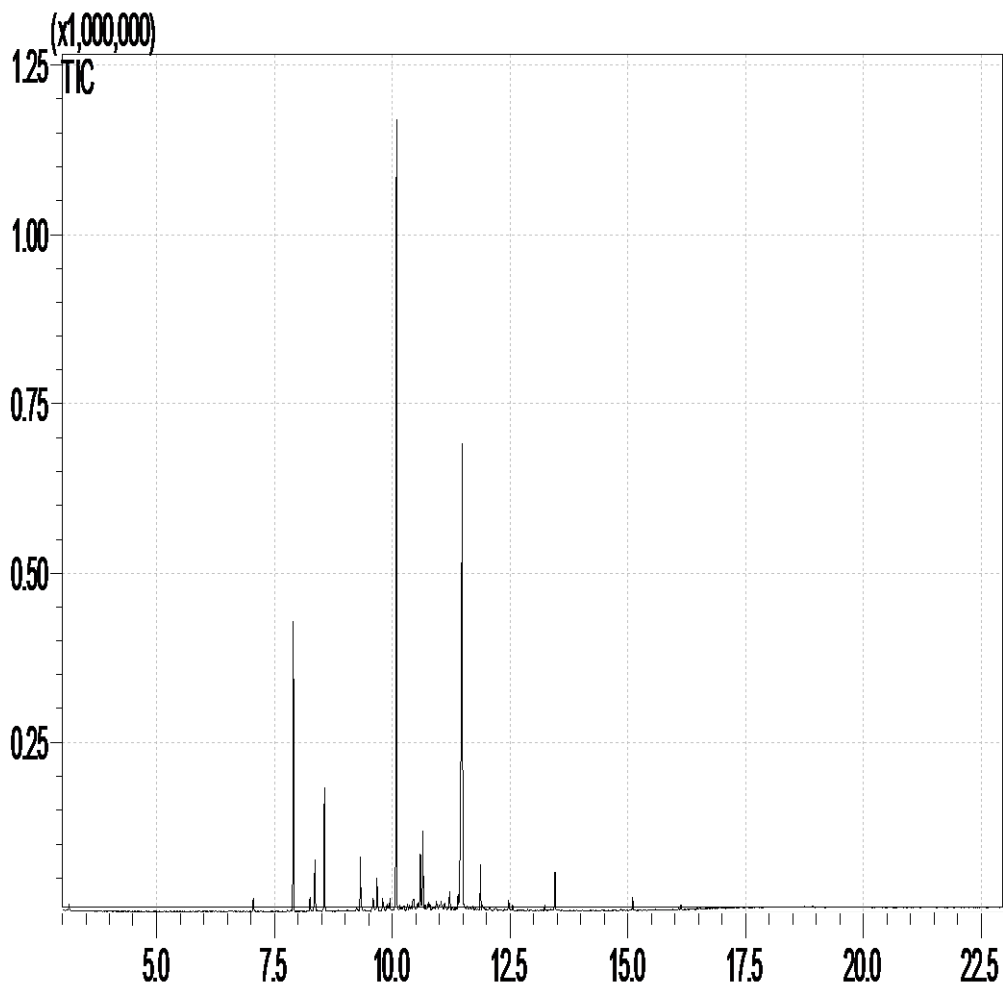
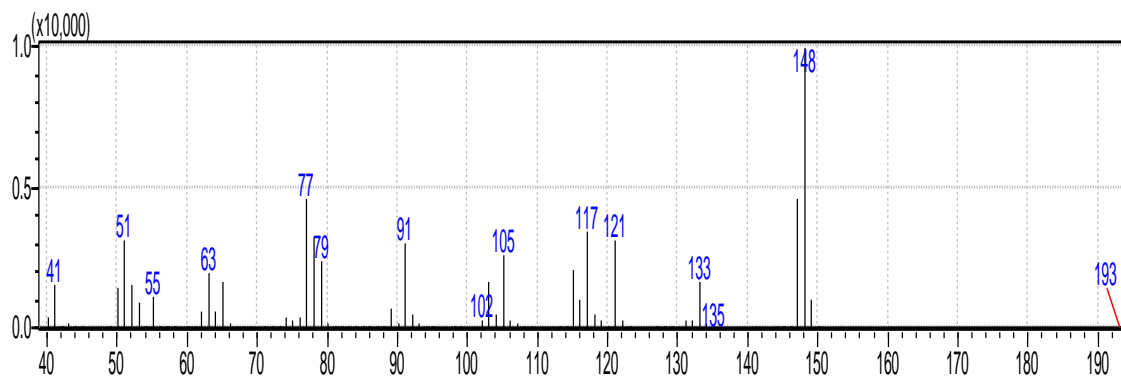


Figura 33. Cromatograma de GC-MS, de los aceites esenciales de *T. lucida* silvestre, en columna capilar de 30 m de largo por 0.32 mm de diámetro interno, RTX-5 ms (Restek), con 0.25 μm de espesor, integrado con 5 m de columna de seguridad, y un caudal de 1.23 ml/min y 66 kPa de prensa de helio. Se utilizó la técnica de ionización por impacto electrónico, con una energía de 0.89kV para el SM.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

a)



b)

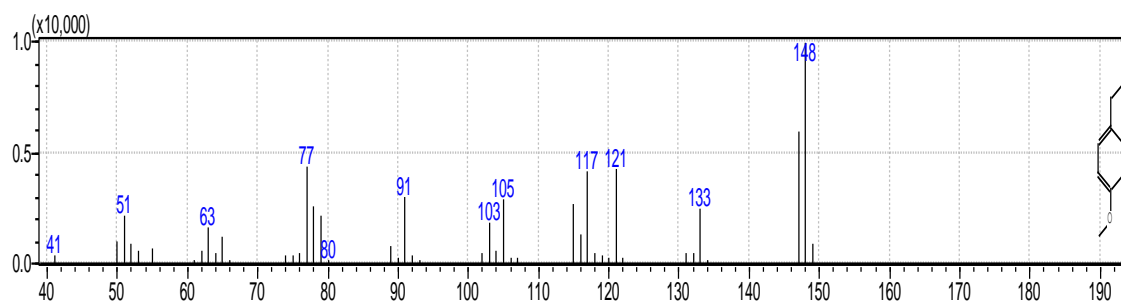
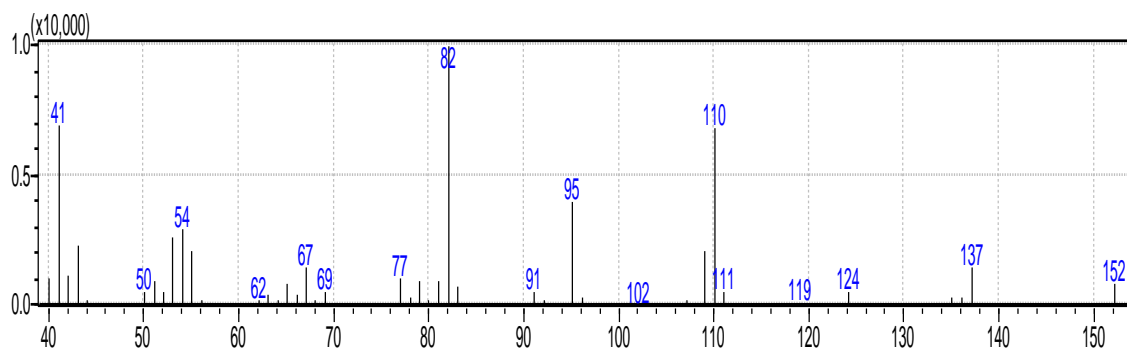


Figura 34. Espectro de masas de estragol con tiempo de retención de 7.901 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

a)



b)

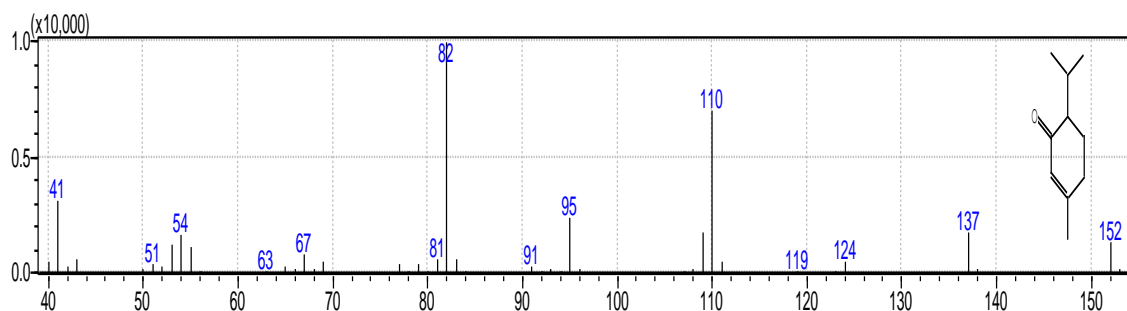
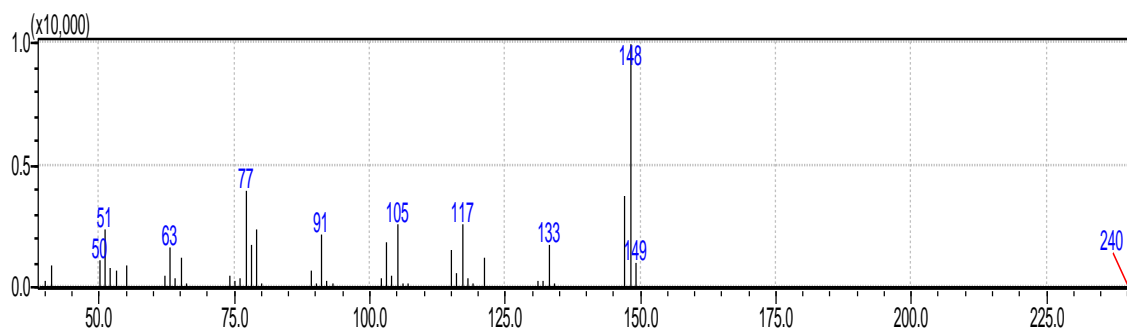


Figura 35. Espectro de masas de piperitona con tiempo de retención de 8.357 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

a)



b)

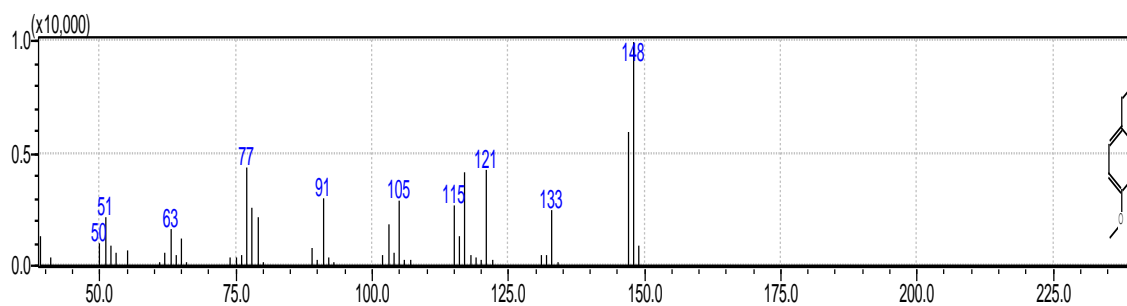
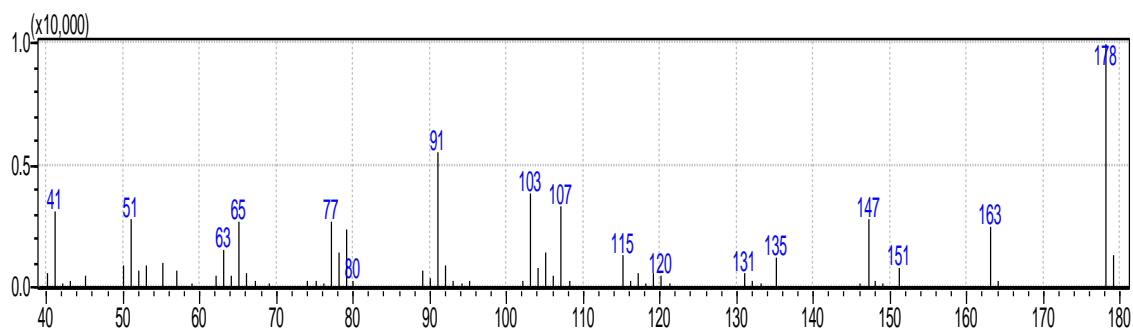


Figura 36. Espectro de masas de anetol con tiempo de retención de 8.559 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

a)



b)

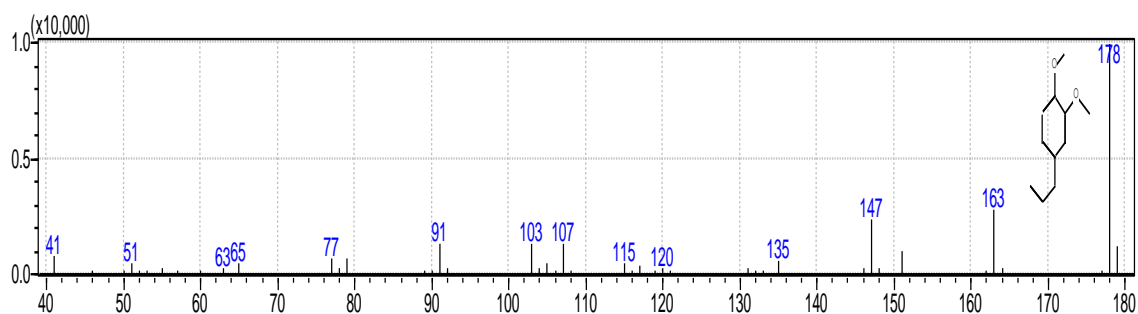
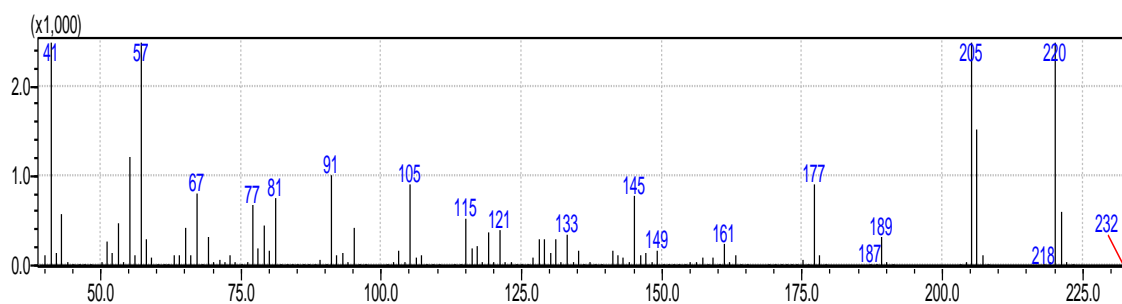


Figura 37. Espectro de masas de metileugenol con tiempo de retención de 9.325 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

a)



b)

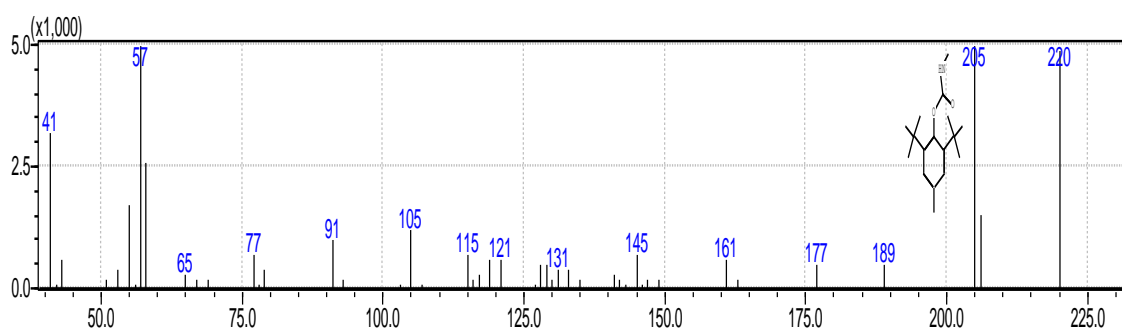
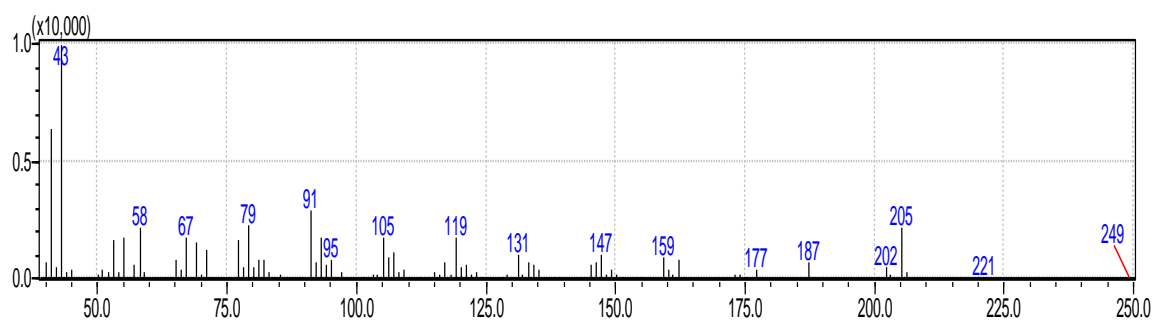


Figura 38. Espectro de masas de butilhidroxitolueno con tiempo de retención de 10.091 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

a)



b)

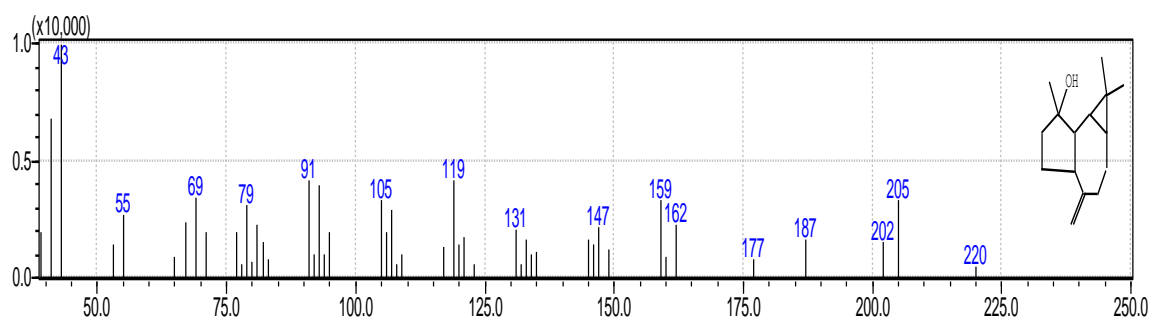
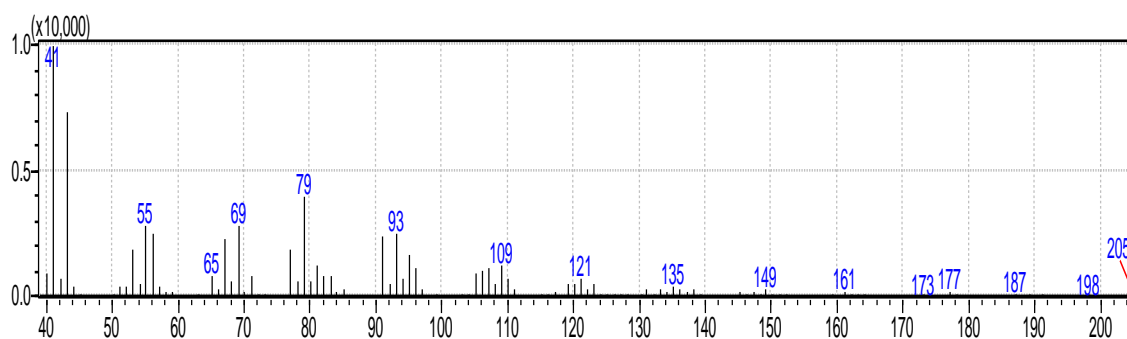


Figura 39. Espectro de masas de espatuleno con tiempo de retención de 10.596 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

a)



b)

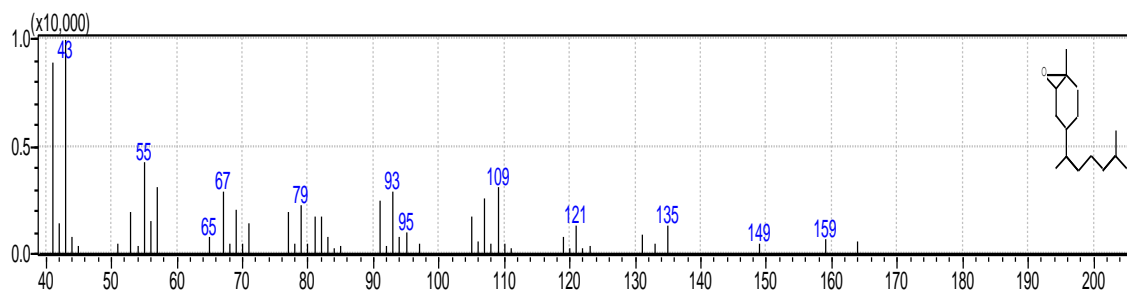
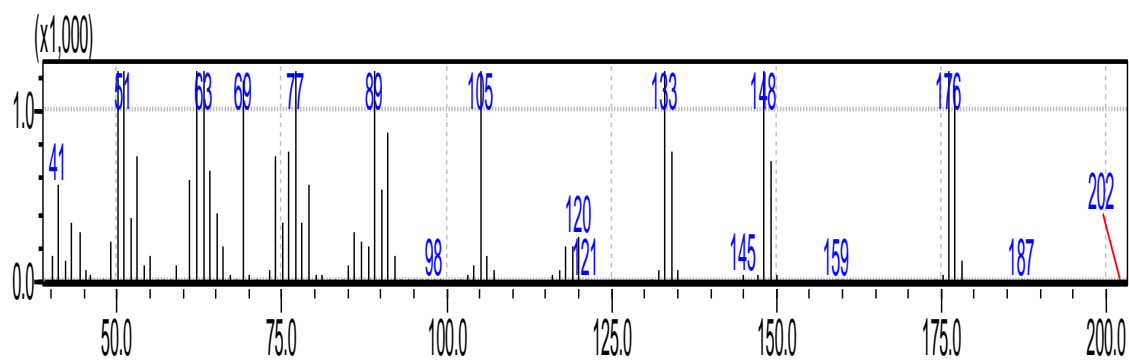


Figura 40. Espectro de masas de trans-Z.alpha.-Bisabolene epoxide con tiempo de retención de 10.652 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).

a)



b)

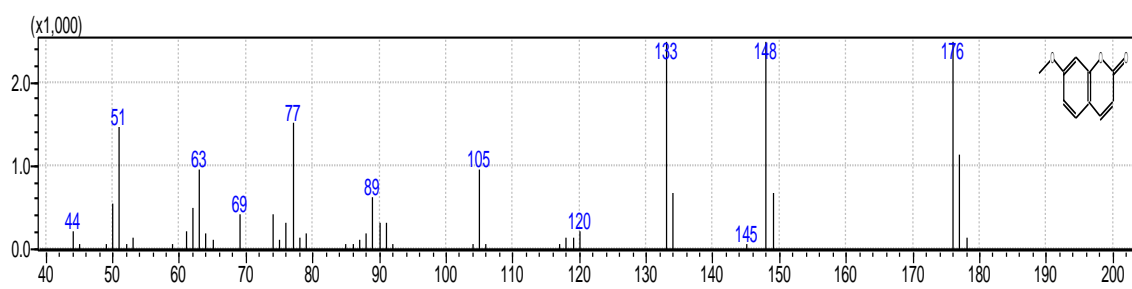
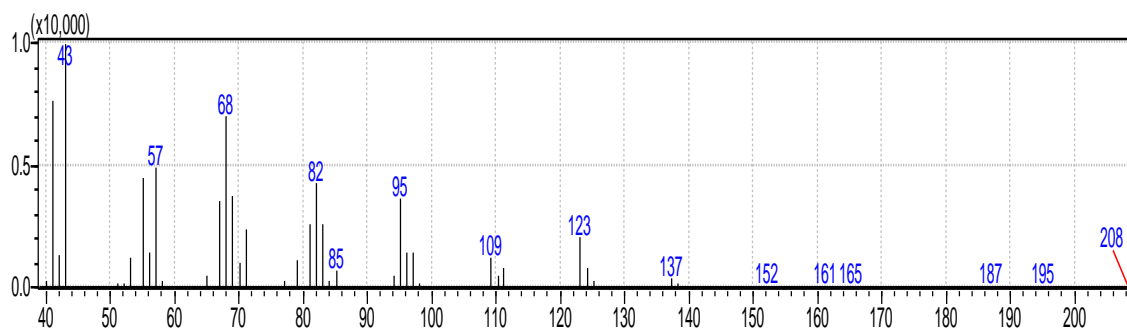


Figura 41. Espectro de masas de 7-Metoxycoumarina con tiempo de retención de 11.484 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

a)



b)

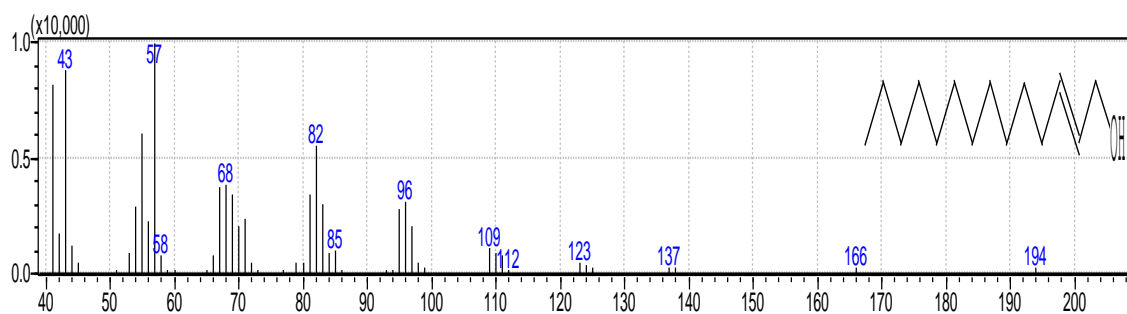
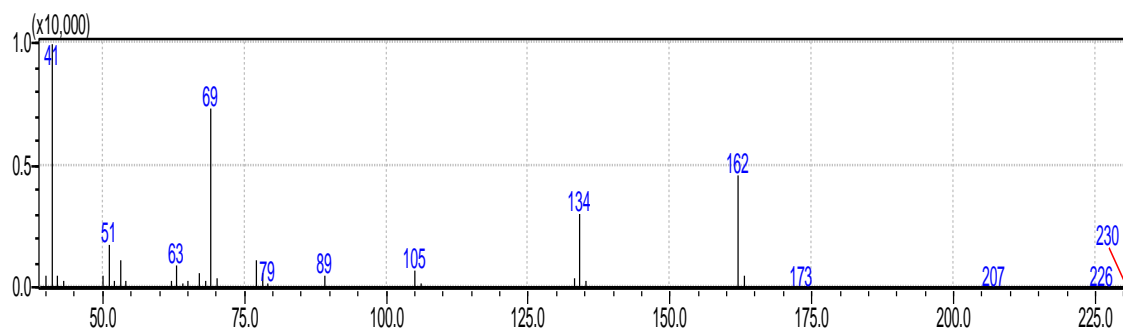


Figura 42. Espectro de masas de E-2-Tetradecen-1-ol con tiempo de retención de 11.873 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

a)



b)

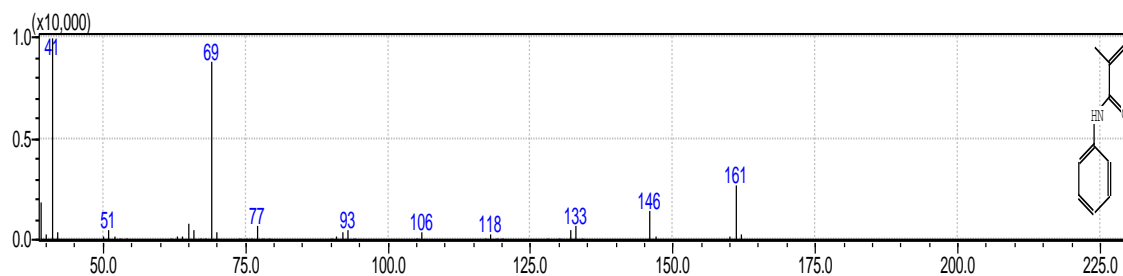


Figura 43. Espectro de masas de Methacrylanilide con tiempo de retención de 13.45 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).

Anexo 3. Cromatograma de *Tagetes lucida* cultivada

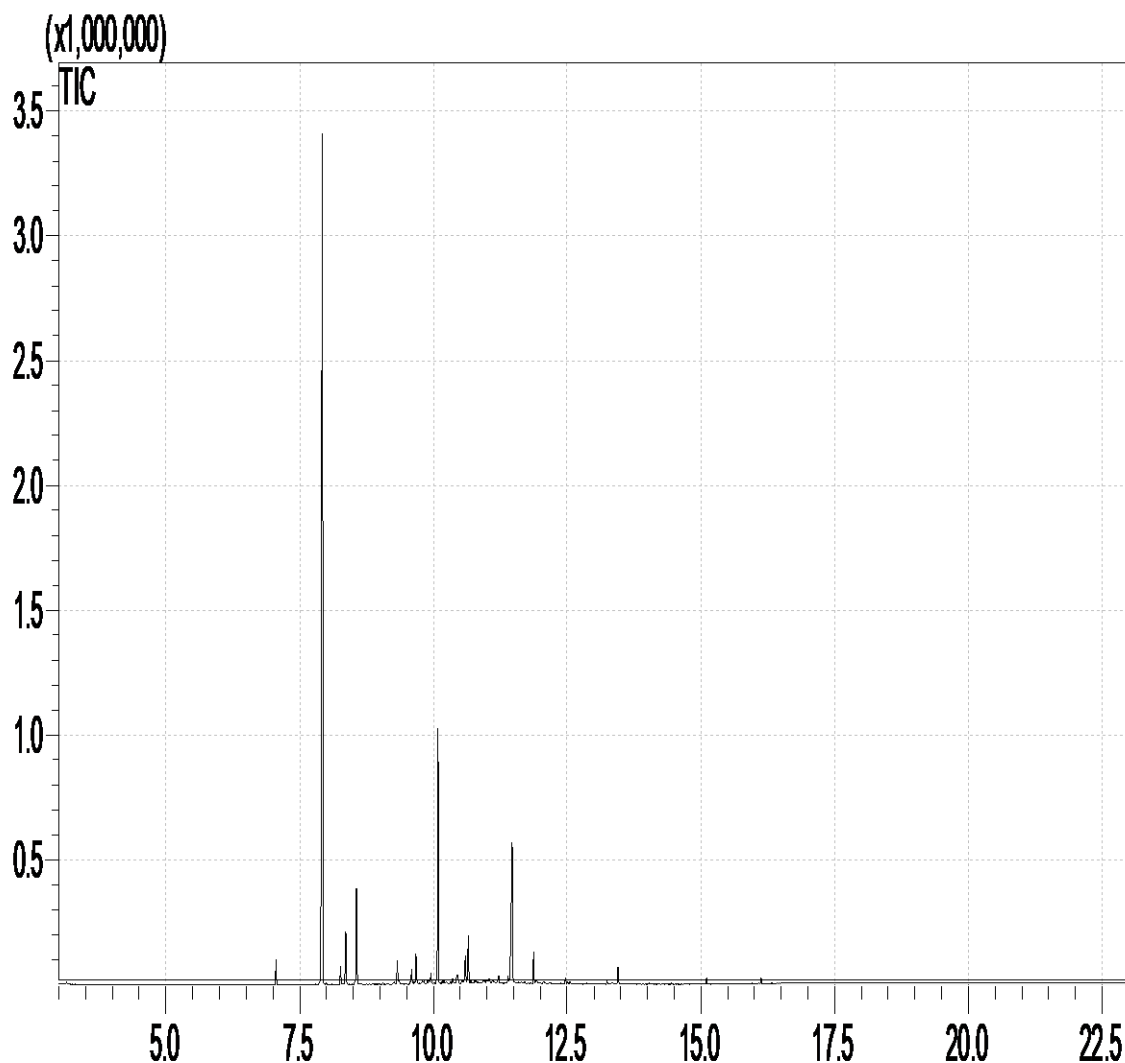
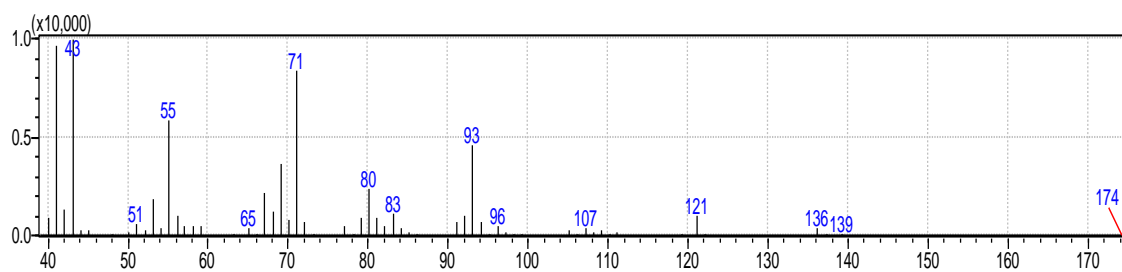


Figura 44. Cromatograma de GC-MS, de los aceites esenciales de *T. lucida* cultivado, en columna capilar de 30 m de largo por 0.32 mm de diámetro interno, RTX-5 ms (Restek), con 0.25 μm de espesor, integrado con 5 m de columna de seguridad, y un caudal de 1.23 ml/min y 66 kPa de prensa de helio. Se utilizó la técnica de ionización por impacto electrónico, con una energía de 0.89kV para el SM.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

a)



b)

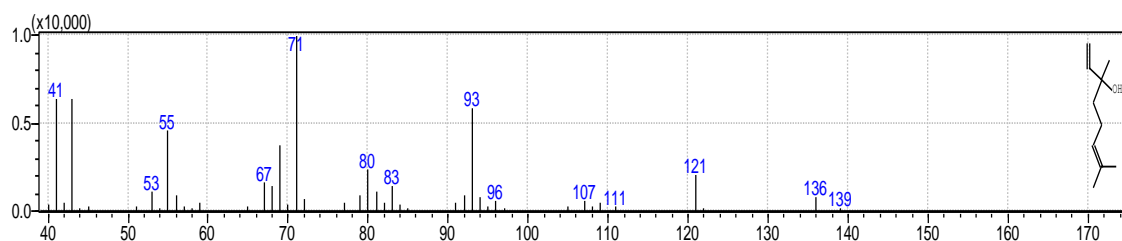
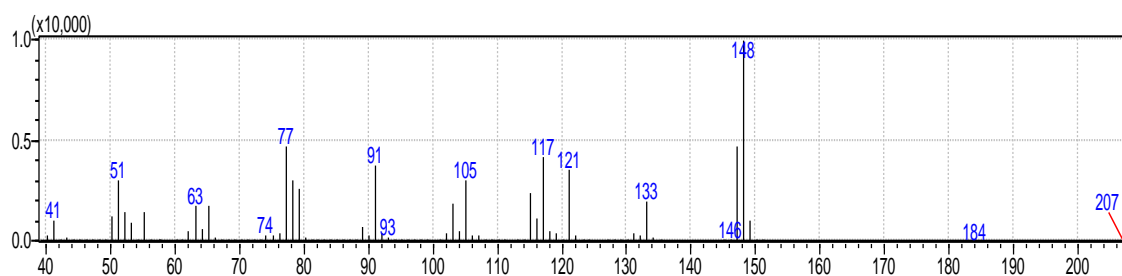


Figura 45. Espectro de masas de linalool con tiempo de retención de 7.055 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

a)



b)

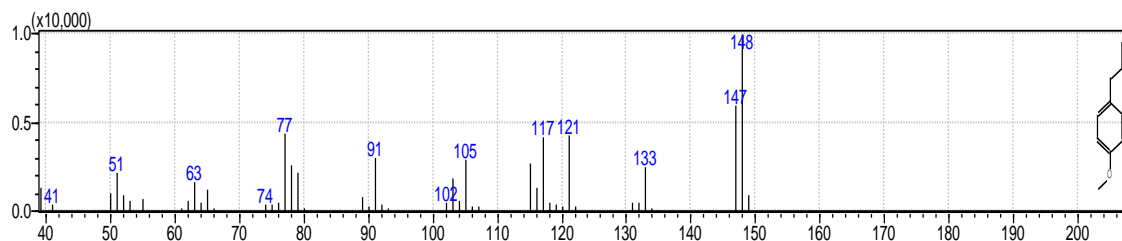
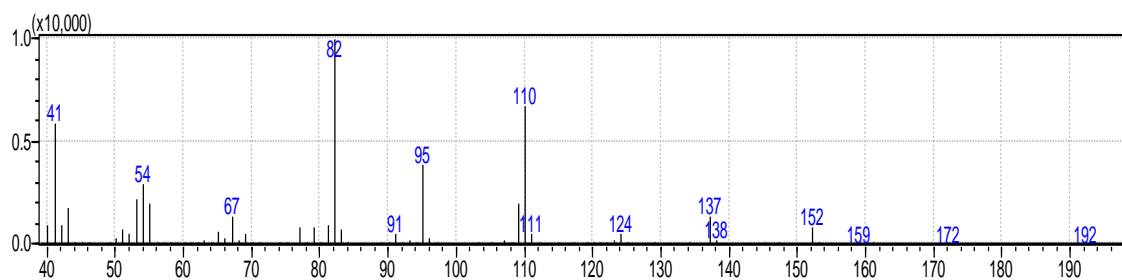


Figura 46. Espectro de masas de estragón con tiempo de retención de 7.924 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

a)



b)

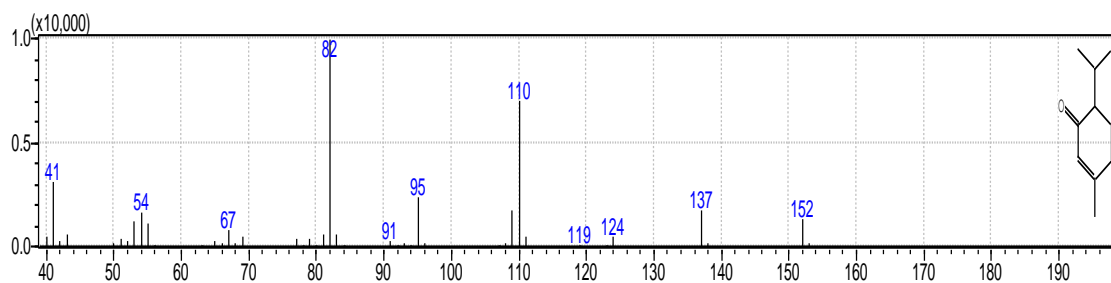
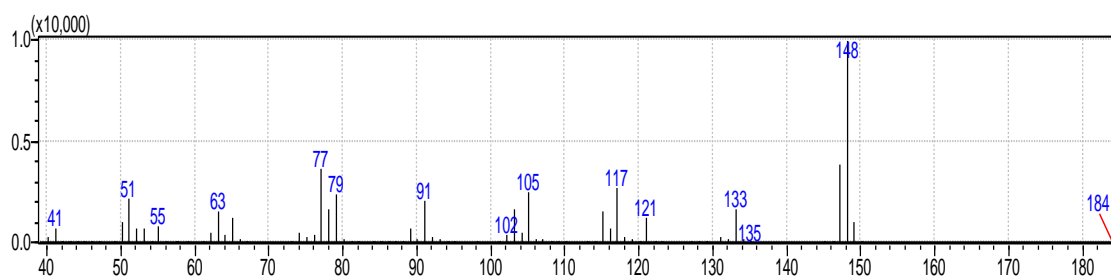


Figura 47. Espectro de masas de piperitona con tiempo de retención de 8.361 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

a)



b)

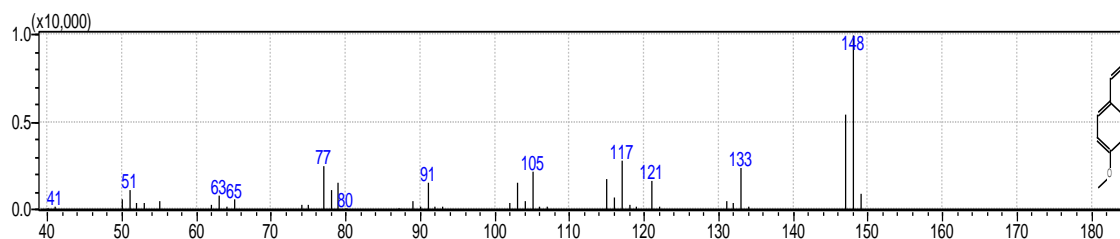
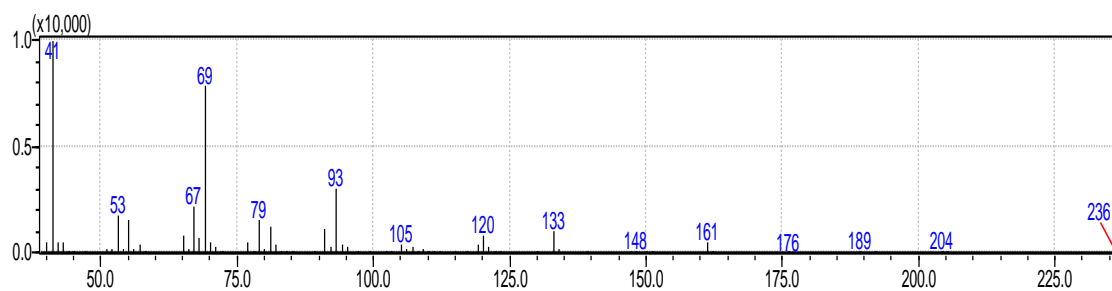


Figura 48. Espectro de masas de anetol con tiempo de retención de 8.563 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

a)



b)

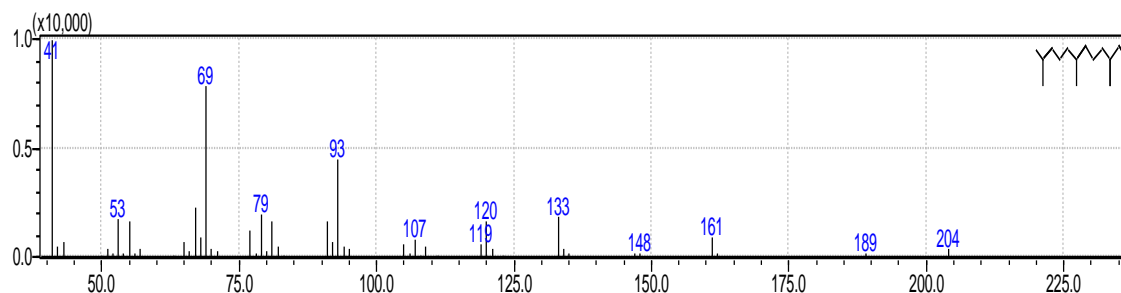
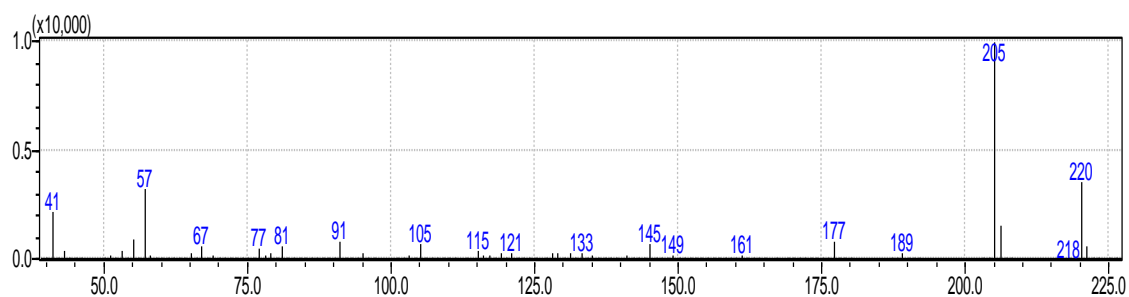


Figura 49. Espectro de masas de (E)-beta-farneseno con tiempo de retención de 9.673 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

a)



b)

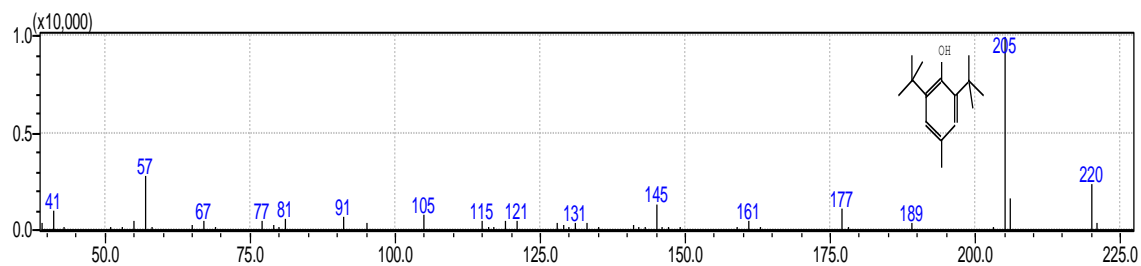
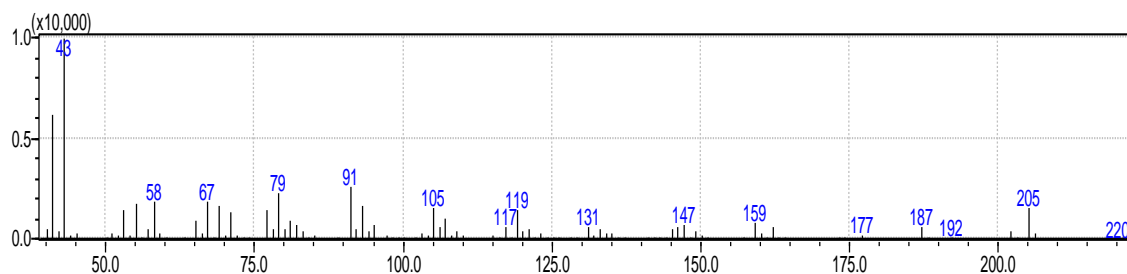


Figura 50. Espectro de masas de butilhidroxitolueno con tiempo de retención de 10.087 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

a)



b)

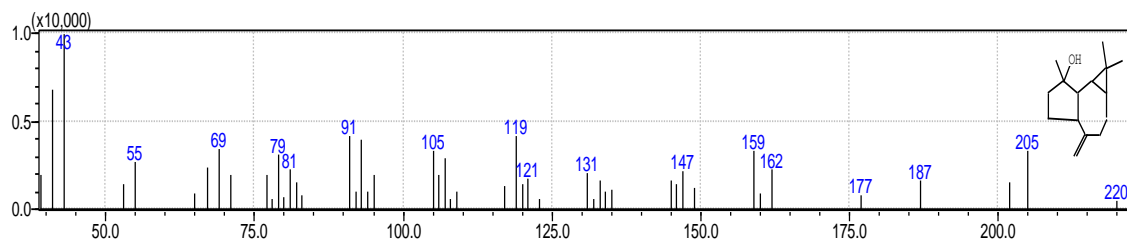
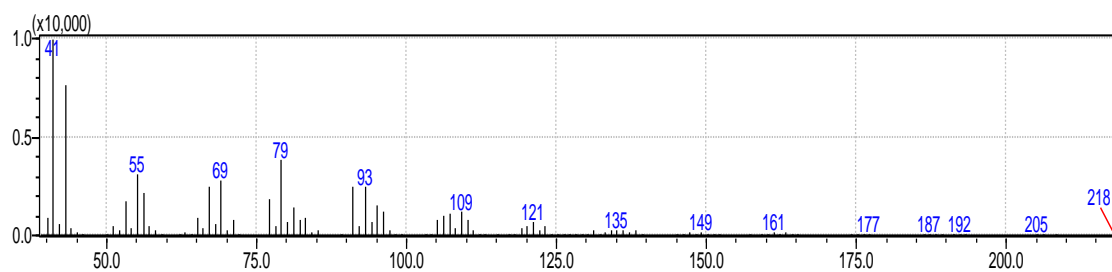


Figura 51. Espectro de masas de espatulenol con tiempo de retención de 10.597 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

a)



b)

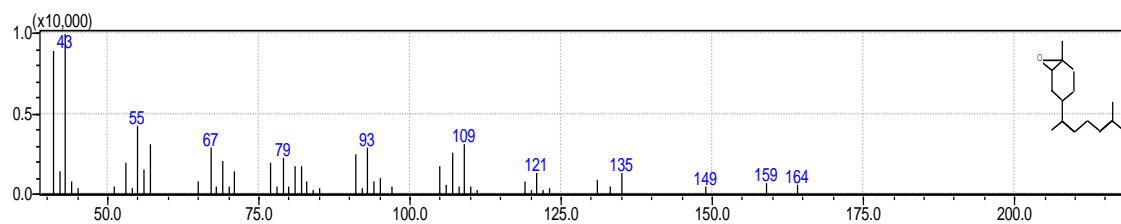
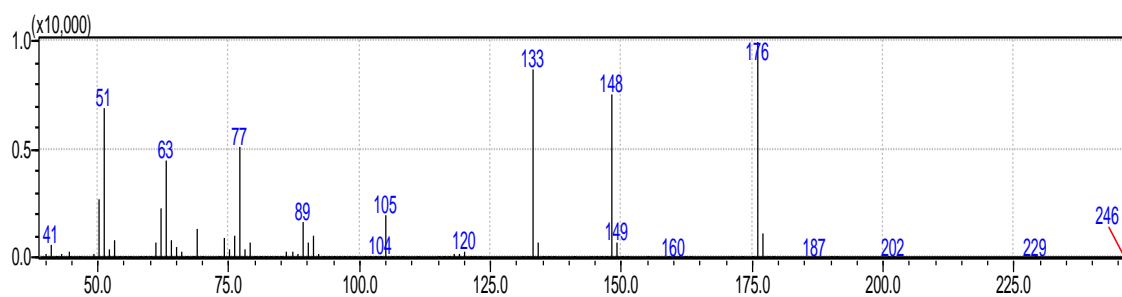


Figura 52. Espectro de masas de trans-Z.alpha.-Bisabolene epoxide con tiempo de retención de 10.652 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

a)



b)

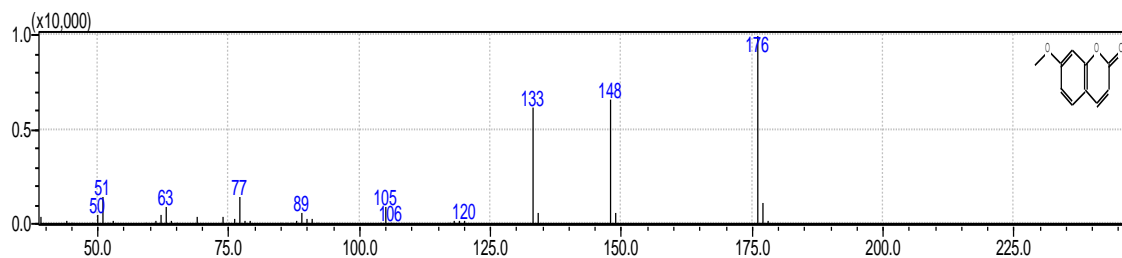
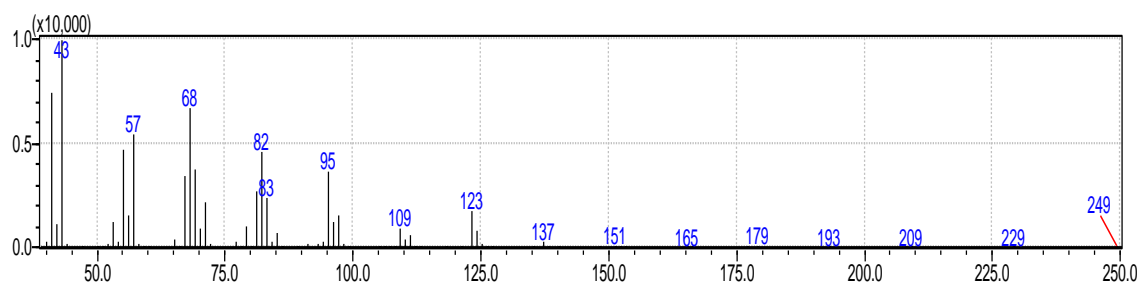


Figura 53. Espectro de masas de 7-metoxicumarina con tiempo de retención de 11.473 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tagetes lucida* Cav. (ASTERACEAE) SILVESTRE DE ACTOPAN
Y CULTIVADO DE HUEJUTLA, HIDALGO

a)



b)

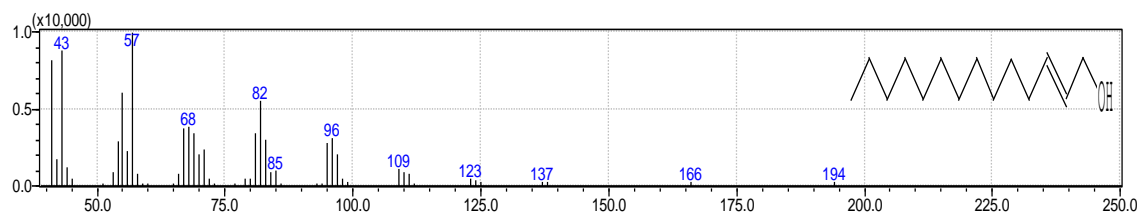


Figura 54. Espectro de masas de E-2-Tetradecen-1-ol con tiempo de retención de 11.874 minutos (superior), disuelto en cloroformo, con la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 0,89 kV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo de gases (inferior).