

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

TESIS

Aceites esenciales foliares de *Tagetes nelsonii* Greenm (Asteraceae):
variaciones fitoquímicas en dos
poblaciones de Chiapas, México

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA

MÓNICA ADRIANA VÁZQUEZ GÓMEZ

Director

DR. IVÁN DE LA CRUZ CHACÓN

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

Asesoras

DRA. LORENA MERCEDES LUNA CAZÁRES

DRA. CHRISTIAN ANABÍ RILEY SALDAÑA

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS



Tuxtla Gutiérrez Chiapas

Junio de 2023



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS
SECRETARÍA GENERAL
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES
DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN ESCOLAR
AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Lugar: Tuxtla Gutiérrez, Chiapas;
Fecha: 12 de junio de 2023

C. Mónica Adriana Vázquez Gómez

Pasante del Programa Educativo de: Licenciatura en Biología

Realizado el análisis y revisión correspondiente a su trabajo recepcional denominado:
Aceites esenciales foliares de *Tagetes nelsonii* Greenm (Asteraceae): variaciones fitoquímicas
en dos poblaciones de Chiapas, México

En la modalidad de: Tesis Profesional

Nos permitimos hacer de su conocimiento que esta Comisión Revisora considera que dicho documento reúne los requisitos y méritos necesarios para que proceda a la impresión correspondiente, y de esta manera se encuentre en condiciones de proceder con el trámite que le permita sustentar su Examen Profesional.

ATENTAMENTE

Revisores

Dra. Sandra Aurora González Sánchez

M. en C. Ana Guadalupe Rocha Loredó

Dr. Iván de la Cruz Chacón

Firmas:

Ccp. Expediente

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todos los que han hecho posible la realización de este proyecto, a aquellos que, con profesionalismo y paciencia, me han apoyado transmitiéndome sus conocimientos y siendo una guía para poder llevar a cabo este trabajo.

Mi Alma Mater... Gracias a la UNICAH por acogerme todos estos años en sus aulas y permitirme forjarme como profesionista y hacer de mí una mejor persona.

Mi director de Tesis... Al Dr. Iván de la Cruz Chacón, por haberme abierto las puertas del laboratorio y aceptar llevar la dirección de este proyecto, aceptándome como tesista y confiando en mí. Me he llevado un grato aprendizaje y le agradezco su paciencia y apoyo, además de ser un excelente profesionista es un gran ser humano. Me llevo además de una grata experiencia y bonitos momentos a un amigo.

A mis asesoras... La Dra. Christian Riley y la Dra. Lorena Luna, quienes me guiaron y me apoyaron durante la realización de este proyecto.

A la Dra. Marisol Castro... quien me apoyo en tareas esenciales de este proyecto como el análisis estadístico y la colecta del material vegetal. Le agradezco su disponibilidad en guiarme cuando lo requería.

A la Mtra. Ceci ... quien cuando necesitaba me brindo su apoyo en las tareas que demandó este proyecto, siempre con gran disponibilidad y paciencia.

Este estudio forma parte del proyecto "**Potencial antifúngico de plantas nativas del trópico**" del Laboratorio de fisiología y química vegetal del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Cuya infraestructura e insumos permitió su realización.

DEDICATORIAS

Quiero dedicar esta tesis a las personas que han sido parte de esta etapa de mi vida, que me han dado su confianza y amor, brindándome siempre su apoyo incondicional en todos los aspectos, siendo una parte fundamental para lograr mis objetivos. Dedico y doy gracias a **Dios** por siempre protegerme y guiarme en cada paso de mi vida.

Mi madre... Irma, que ha sido mi principal inspiración, mi motor y mi sostén. Siempre ha estado en los momentos más felices y difíciles de mi vida, brindándome su apoyo, comprensión y amor.

Mi hermana... Paola, ha sido una pieza indispensable en mi vida, brindándome fortaleza y apoyo, siempre acompañándome y apoyándome en las decisiones que he tomado.

A mi **padre y hermano...** Leonardo y Felipe, que siempre me han apoyado y me han dado toda su confianza, siendo parte fundamental en mi vida,

A toda mi **familia y amigos...** Que han estado presentes de una u otra forma, apoyándome y compartiendo grandes momentos.

A mis compañeros de Laboratorio ... Agradezco a todos los que forman parte de este gran equipo, tanto alumnos y profesores, por su apoyo y confianza, me llevo gratos momentos y vivencias, les deseó mucho éxito en todo lo que se propongan (Dra. Alma, Dra. Claudia, Carlos, Cris, Andrea, Tere, Ale y Kari).

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	v
ABSTRACT	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1. <i>Tagetes nelsonii</i> Greenm.	3
2.1.1. Familia Asteraceae	3
2.1.2. Género <i>Tagetes</i> L.....	4
2.1.3. <i>Tagetes nelsonii</i> Greenm.....	5
2.1.4. Taxonomía y sinonimias	5
2.1.5. Ubicación geográfica	6
2.2. Microorganismos de estudio	7
2.2.1. Bacterias.....	7
2.2.2. Levaduras	11
2.3. Aceites esenciales en el género <i>Tagetes</i>	14
2.3.1. Aceites esenciales (AE).....	14
2.3.2. Aceites esenciales en el género <i>Tagetes</i>	14
III. ANTECEDENTES	20
3.1. Estudios con <i>Tagetes nelsonii</i>	20
3.2. Fitoquímica de los aceites esenciales del género <i>Tagetes</i>	21
IV. OBJETIVOS.....	23
V. HIPÓTESIS.....	23
VI. ZONA DE ESTUDIO	24
VII. MÉTODO	26
7.1. Recolección del material vegetal.....	26

7.2. Obtención de los aceites esenciales	26
7.3. Determinación del perfil químico por cromatografía de gases-masas.....	26
7.4. Análisis de quimiodiversidad por cromatografía en capa fina.	27
7.5. Actividad antimicrobiana	28
7.5.1. Preparación del Inóculo microbiano.....	28
7.5.2. Ensayo de microdilución seriada	28
7.6. Análisis Estadístico	29
VIII. RESULTADOS.....	30
8.1. Análisis de rendimiento de aceites esenciales de las hojas de <i>Tagetes nelsonii</i>	30
8.2. Análisis de quimiodiversidad de los AE de las hojas de <i>Tagetes nelsonii</i> por cromatografía de capa fina.	31
8.3. Análisis de quimiodiversidad de los AE de <i>Tagetes nelsonii</i> por cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS).....	35
8.4. Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de las hojas <i>Tagetes</i> <i>nelsonii</i>	43
IX. DISCUSIÓN	46
9.1. Rendimiento de aceites esenciales en las hojas de <i>Tagetes nelsonii</i>	46
9.2. Composición química de los aceites esenciales de las hojas de <i>T. nelsonii</i> ..	47
9.3. Identificación de compuestos que constituyen los AE foliares de <i>T. nelsonii</i> ..	49
9.4. Actividad antimicrobiana de los AE de <i>T. nelsonii</i> , inferencias de su composición química.....	50
X. CONCLUSIONES	52
XI. PROPUESTAS Y RECOMENDACIONES	53
XII. REFERENCIAS DOCUMENTALES.....	54

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Nombres comunes y usos medicinales de <i>Tagetes nelsonii</i> en Chiapas ...	7
Cuadro 2. Clasificación de aceites esenciales según Martínez (1996)	15
Cuadro 3. Aceites esenciales de plantas del género <i>Tagetes</i>	16
Cuadro 4. Índices de diversidad de aceites esenciales de las hojas de <i>Tagetes nelsonii</i> recolectadas en Teopisca y San Cristóbal.....	35
Cuadro 5. Composición química de los aceites esenciales de <i>T. nelsonii</i> de dos poblaciones.....	36
Cuadro 6. Efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de <i>Tagetes nelsonii</i>	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Tagetes nelsonii</i> Greenm.	6
Figura 2. Microscopia electrónica de barrido de los organismos de estudio	13
Figura 3. Principales estructuras químicas encontradas en los aceites esenciales del género <i>Tagetes</i>	15
Figura 4. Ubicación geográfica de Teopisca y San Cristóbal de las Casas, Chiapas.	25
Figura 5. Rendimiento de aceites esenciales de <i>T. nelsonii</i>	30
Figura 6. Cromatografía de capa fina de los aceites esenciales de <i>T. nelsonii</i> en las dos zonas de estudio	31
Figura 7. Abundancia de los compuestos revelados por medio de cromatografía en capa fina en las dos zonas de estudio.	32
Figura 8. Comparación de compuestos de las dos zonas de estudio.	33
Figura 9. Distribución de los compuestos en los AE de Teopisca y San Cristóbal... ..	34
Figura 10. Tipo de compuestos identificados en los aceites esenciales de las poblaciones evaluadas.....	39
Figura 11. Análisis de PCA. Distribución de compuestos entre las dos poblaciones	39
Figura 12. Análisis de grupos. Similitud de entre compuestos de los AE de las poblaciones	40
Figura 13. Compuestos presentes en los AE de <i>T. nelsonii</i> de Teopisca.	41
Figura 14. Compuestos presentes en los AE de <i>T. nelsonii</i> de San Cristóbal.....	42
Figura 15. Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de <i>T. nelsonii</i>	45

RESUMEN

El género botánico *Tagetes* de la familia Asteraceae tiene entre sus especies plantas aromáticas que son utilizadas en la medicina tradicional de México. *Tagetes nelsonii* es una herbácea conocida en lengua tsotsil como “chilchawua” y es empleada por los indígenas de la región de los altos de Chiapas, México para el tratamiento de diarreas, dolor de cabeza y fiebre. En este trabajo se evaluó la capacidad de *T. nelsonii* para producir o acumular aceites esenciales en sus hojas, particularmente se evaluó la posible variación en el volumen de aceites esenciales, su constitución química y sus propiedades antimicrobianas, en función del sitio donde habita.

Para ello se recolectaron las hojas de dos poblaciones de *T. nelsonii* (n=10) en los municipios de Teopisca y San Cristóbal de las Casas del estado de Chiapas. Los aceites esenciales (AE) de las hojas se obtuvieron por hidrodestilación mediante la técnica de Clevenger. Los rendimientos de los aceites esenciales de las dos poblaciones fueron similares ($P= 0.1404$ U-Mann-Whitney), no así su constitución química y propiedades antimicrobianas. Por análisis cromatográfico en capa fina se pudieron distinguir diferencias químicas en la constitución de los AE. Por cromatografía de gases acoplado a espectro de masas se identificaron 27 compuestos, entre las moléculas más frecuentes y abundantes están los terpenos dihidrotagetona, α -pineno, β -pineno, limoneno, eucaliptol y linalol. Se observaron compuestos representativos tanto para los ejemplares de Teopisca (v.gr. kessano, Cis- cariofileno, trans- cariofileno, β -copaeno y nerolidol 2) como para la población de San Cristóbal (v.gr. α -tujeno, sabineno, beta-terpineno, gama-terpineno, (-)-beta-pineno, limoneno, cariofileno y (E)-beta-farmesano).

Los AE de *T. nelsonii* tuvieron actividad antimicrobiana sobre seis microorganismos patógenos al humano (bacterias y un hongo levaduriforme). Por el método de microdilución en caldo se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM), de tal forma, el AE de Teopisca fueron más potentes sobre *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* que con el AE de San Cristóbal. En tanto que las bacterias *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella Typhi* y *Shigella sonnei* fueron igualmente sensibles a los AE de ambas poblaciones. En estas actividades se

detectaron diferencias en la potencia antimicrobiana. *S. aureus* fue la bacteria mas sensible.

Los resultados señalan que *T. nelsonii* tiene un metabolismo secundario susceptible a las condiciones en las que crece de forma habitual, que repercute en el número y tipo de moléculas volátiles que constituyen el aceite esencial de sus hojas. A su vez estas diferencias químicas definen la potencia de su actividad antimicrobiana. Estos hallazgos pueden ser útiles para seleccionar determinados quimiotipos relacionados con las poblaciones nativas, reconociendo las condiciones climáticas que favorecen mayormente la composición química y potencia antimicrobiana, permitiendo una mayor producción de principios activos y por ende un posible uso sustentable de la planta.

Palabras clave: Aceites esenciales, actividad biológica, poblaciones, quimiodiversidad

ABSTRACT

The botanical genus *Tagetes* of the family Asteraceae has among its species aromatic plants that are used in traditional medicine in Mexico. *Tagetes nelsonii* is an herbaceous plant known in the Tsotsil language as "chilchawua" and is used by the indigenous people of the highlands region of Chiapas, Mexico for the treatment of diarrhea, headache and fever. In this work, the ability of *T. nelsonii* to produce or accumulate essential oils in its leaves was evaluated, particularly the possible variation in the volume of essential oils, their chemical constitution and their antimicrobial properties, depending on the site where it lives.

For this purpose, leaves were collected from two populations of *T. nelsonii* (n=10) in the municipalities of Teopisca and San Cristóbal de las Casas in the state of Chiapas. The essential oils (EO) of the leaves were obtained by hydrodistillation using the Clevenger technique. The yields of essential oils from the two populations were similar (P= 0.1404 U-Mann-Whitney), but their chemical constitution and antimicrobial properties were not. By thin layer chromatographic analysis, chemical differences in the constitution of the EOs could be distinguished. By gas chromatography coupled to mass spectra, 27 compounds were identified, among the most frequent and abundant molecules were the terpenes dihydrotageton, α -pinene, β -pinene, limonene, eucalyptol and linalool. Representative compounds were observed for both the Teopisca specimens (e.g. kessane, Cis-caryophyllene, trans-caryophyllene, β -copaene and nerolidol 2) and the San Cristobal population (e.g. α -tujene, sabinene, beta-terpinene, gamma-terpinene, (-)-beta-pinene, limonene, caryophyllene and (E)-beta-pharmesane).

The EOs of *T. nelsonii* had antimicrobial activity on six human pathogenic microorganisms (bacteria and a yeast-like fungus). The minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by the broth microdilution method, so that the Teopisca EO was more potent on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* than the San Cristobal EO. *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella Typhi* and *Shigella sonnei* bacteria were equally sensitive to EC from both

populations. Differences in antimicrobial potency were detected in these activities. *S. aureus* was the most sensitive bacterium.

The results indicate that *T. nelsonii* has a secondary metabolism that is susceptible to the conditions in which it grows regularly, which affects the number and type of volatile molecules that constitute the essential oil of its leaves. These chemical differences in turn define the potency of its antimicrobial activity. These findings may be useful to select certain chemotypes related to native populations, recognizing the climatic conditions that favor the chemical composition and antimicrobial potency, allowing a greater production of active principles and therefore a possible sustainable use of the plant.

Key words: Essential oils, biological activity, populations, chemodiversity.

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas producen metabolitos especializados distintos de los metabolitos primarios (aminoácidos, nucleótidos, azúcares o acil-lípidos) dada su distribución limitada. Los metabolitos especializados también llamados secundarios (MS) suelen encontrarse en pocas especies o en un grupo de especies relacionadas (Taiz y Zeiger, 2003; Ávalos y Pérez-Urria, 2009; Dewick, 2009; Azcón-Bieto y Talón, 2013).

Los MS constituyen generalmente el mundo de señales químicas a través del cual las plantas se relacionan con su entorno (Ávalos y Pérez-Urria, 2009; Bieto y Talón, 2013). Además, estas moléculas también son las responsables de las actividades biológicas que caracterizan a las propiedades de las plantas que reciben usos antropogénicos. Los factores ambientales como nutrientes del suelo, la temperatura, altitud, disponibilidad de agua y la luz del sitio donde habitan las plantas, pueden afectar a la composición y concentración de los MS y por ende repercutir en las propiedades biológicas de la planta (Núñez-Olivera *et al.*, 2011; Zlatev *et al.*, 2012; Albergaria *et al.*, 2020).

Las especies del género *Tagetes* L., como todas las plantas, biosintetizan MS que les proporcionan aroma, sabor y mecanismos de defensa ante depredadores naturales y consecuentemente le proporcionan sus propiedades medicinales. Solo cuatro especies de *Tagetes* son aprovechadas comercialmente, otras son de importancia cultural o se usan en la medicina tradicional, de algunas más, se intuye su aprovechamiento en para el control de plagas y enfermedades agrícolas; sin embargo, muchas no tienen antecedentes sobre sus propiedades químicas y biológicas (Serrato-Cruz, 2014).

México es considerado el centro de origen y diversidad del género *Tagetes* y cuenta con aproximadamente 55 especies ampliamente distribuidas en su territorio (García-Sánchez *et al.*, 2012). En el estado de Chiapas se han reportado diez especies (Villaseñor, 2016).

Tagetes nelsonii Greenm es una planta utilizada comúnmente llamada “Chik chawa” en San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México. Los habitantes de esa

región han utilizado a esa hierba aromática para el tratamiento de diarreas, dolor de cabeza y fiebre (Espinoza-Ruiz *et al.*, 2009; Espinoza-Ruiz *et al.*, 2013). La especie es común en los Altos de Chiapas, México y Guatemala, donde crece en condiciones mésicas (Wolfe, 1979; Soule, 1996). Recientemente se reportó la composición de sus aceites esenciales foliares (Cruz Flores *et al.*, 2021), sin que se haya evaluado alguna actividad biológica.

T. nelsonii es una planta medicinal cuyos datos preliminares de distribución señalan que preferentemente habita en varios municipios de la Zona de los Altos de Chiapas. La distribución geográfica y en consecuencia las condiciones de crecimiento de las plantas aromáticas pueden influir en la composición química de los aceites esenciales que se obtienen de ella y en su actividad biológica (Djerrad *et al.*, 2015; Ovilé-Mimi *et al.*, 2021).

En este trabajo se evalúa si la producción de aceites esenciales de *T. nelsonii* varía cuanti- y cualitativamente en función del sitio donde habita y si la posible variación en su constitución química repercute en sus propiedades antimicrobianas. Para ello se recolectaron plantas en los municipios de Teopisca y San Cristóbal de las Casas del estado de Chiapas.

Los datos de estas dos poblaciones contribuirán a revelar si hay condiciones de cultivo que permiten una mayor producción de MS volátiles con propiedades antibacterianas. Esto podría sentar las bases fitoquímicas para encontrar posibles nuevos antimicrobianos en plantas nativas. Así mismo, el reconocimiento de condiciones climáticas que favorecen mayormente la composición química y potencia antimicrobiana permitirían una mayor producción de principios activos y por ende un posible uso sustentable de la planta.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. *Tagetes nelsonii* Greenm.

2.1.1. Familia Asteraceae

Las plantas de la familia Asteraceae fueron reconocidas hace aproximadamente 300 A.C. años por Teofrasto, sin embargo, no fue hasta 1792 que Giseke fundó a la familia dando el nombre de Compositae (*nom. cons. et nom. alt.*). El Código Internacional de Nomenclatura Botánica permite también el uso del nombre Asteraceae Dumortier (*nom. cons.*) nombre asignado a la familia en 1822 (Katinas, 2007). Asteraceae se distribuye en América del Sur (6 316 especies), Asia (6 016 especies), América del Norte (5 404 especies), África (4 631 especies), Europa (2 283 especies), Oceanía (1 444 especies) y las Islas del Pacífico (174 especies) (Panero y Crozier, 2016). En México es la familia más grande, formada por 3 113 especies de 417 géneros, de ellas 98% son nativas y 63.9 % endémicas (Villaseñor, 2018).

Las características morfológicas generales de esta familia, son inflorescencias dispuestas en capítulos con flores gamopétalas casi siempre pentámeras, estambres singenesios y el ovario ínfero bicarpelar (Villaseñor, 1993). Esta familia es cosmopolita, es muy probable encontrarlas en casi todos los tipos de vegetación y climas (Tapia Muñoz, 2010).

La extensa distribución de la familia y el número de especies que la conforman, se puede explicar debido a su capacidad de dispersión otorgada por el vilano y por la plasticidad genética, gracias a esta pueden expresar una gama diversa de moléculas secundarias que biosintetizan y que forman parte de la estrategia de protección contra de depredadores o competidores, tal plasticidad genética genera variabilidad fenotípica, expresadas en las formas de crecimiento y reproducción, dada la variabilidad morfológica y sexual de las flores y sus inflorescencias y la capacidad a adaptarse a condiciones ecológicas variables (Villaseñor, 2018).

2.1.2. Género *Tagetes* L.

Este género está constituido aproximadamente por 50 especies, distribuidas en regiones subtropicales y tropicales desde el suroeste de Estados Unidos hasta Argentina, es endémico del continente americano y en México se encuentra cerca del 50% de las especies (Armas *et al.*, 2013). Villaseñor (2018) reporta que para México el género *Tagetes* cuenta con 27 especies de las cuales 15 son endémicas para el país. Este género se caracteriza por tener extractos bioactivos en diferentes partes de la planta que presentan actividad nematocida, fungicida e insecticida. La actividad nematocida de las raíces se atribuye a los tienilos, mientras que los componentes biocidas del aceite esencial de las flores y las hojas son terpenoides, así como también los pigmentos carotenoides son útiles en la coloración de alimentos (Vasudevan *et al.*, 1997).

De acuerdo con la descripción morfológica que hace Rzedowski (2001) este género agrupa plantas herbáceas anuales o perennes, aromáticas al estrujarse; hojas todas opuestas, o bien, las superiores alternas, por lo común profundamente pinnatipartidas o pinnadas, algunas veces simples, con numerosas glándulas oleíferas translúcidas; cabezuelas solitarias o más o menos cimoso-corimbosas, involucro cilíndrico, fusiforme o angostamente campanulado, sus brácteas de tamaño subigual, unidas entre sí hasta cerca del ápice y provistas de 2 hileras de glándulas oleíferas translúcidas; receptáculo plano o convexo, desnudo; flores liguladas generalmente presentes, fértiles, sus corolas amarillas, anaranjadas, rojizas o blancas; flores del disco hermafroditas, sus corolas amarillas o anaranjadas, con la garganta infundibuliforme, anteras con las bases obtusas, ramas del estilo de las flores hermafroditas truncadas y peniciladas en el ápice, o bien, con apéndices cónicos cortos; aquenios lineares o claviformes, vilano de 3 a 10 escamas desiguales, a veces más o menos unidas entre sí, 1 ó 2 (a veces más) de ellas lineares, mucho más largas que las demás.

2.1.3. *Tagetes nelsonii* Greenm.

La planta es un arbusto erguido que puede alcanzar los 2 m, pero las plantas se pueden podar fácilmente hasta 1 m. Las hojas están muy ampliamente disecadas de forma pinnada y son de un color verde intenso (Figura 1). En algunas poblaciones, las hojas están cubiertas por encima y por debajo con una pubescencia aterciopelada. El follaje tiende a ser muy denso. Las corolas son de color amarillo anaranjado; las cabezas (inflorescencias) individuales son pequeñas (10 a 15 mm de diámetro), pero forman racimos corimbiformes de 30 a 60 cabezas, forma un racimo de 15 a 20 cm de diámetro. Los pedúnculos no se extienden más allá del follaje. La floración comienza a finales del verano y continúa hasta las heladas (Soule, 1996).

2.1.4. Taxonomía y sinonimias

De acuerdo a Tropicos.org (2022) del Jardín Botánico de Missouri (JBM) se reporta solamente una sinonimia (*Tagetes sororia* Standl. & Steyerm). La siguiente clasificación está basada en el sistema APG IV (2016) (Trópicos.org, 2022).

Clase: Equisetopsida

Subclase: Magnoliidae

Superorden: Asteranae

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Tagetes*

Especie: *Tagetes nelsonii* Greenm.



Figura 1. *Tagetes nelsonii* Greenm. A) Arbustos erguidos; B) Hojas de forma pinnada y de un color verde intenso; C) Flores de 10 a 15 mm de diámetro. Fotos: Mónica Vázquez, 2021

2.1.5. Ubicación geográfica

Es endémica de la región de los Altos del estado de Chiapas, y es posible que se pueda encontrar en las regiones. entre las selvas y bosques templados, que se orientan hacia Guatemala (Serrato, 2014).

En América Central los mayas de Guatemala y de Chiapas, México emplean a *T. nelsonii* contra enfermedades gastrointestinales (Cuadro 1; Serrato, 2014). Puede ser conocida por nombres en distintas lenguas de las zonas dentro de su área de distribución (Cuadro 1).

Cuadro 1. Nombres comunes y usos medicinales de *Tagetes nelsonii* en Chiapas, México

Nombre común/ lengua maya	Municipio de Chiapas	Uso medicinal: malestar a aliviar	Parte de la planta	Referencia bibliográfica
Yama chauk / Tzotzil	Larráinzar	Diarrea	Hojas	Berlín, 2015
Chik chawa/ no identificado	San Cristóbal de las casas	Diarreas, dolor de cabeza y fiebre	Hojas	Espinoza Ruíz <i>et al.</i> , 2009.
Payte' wamal/ Tzeltal	Amatenango del valle	Dolor de cabeza	Hojas	Carod-Artal y Vázquez-Cabrera, 2007
Tusus wamal o muk'ul majtas/ Tzeltal	Tenejapa	Dolor de cabeza	Hojas	Carod-Artal y Vázquez-Cabrera, 2007
Tzi's chauk / Tzotzil	Larrainzar, Chamula y Zinacantan	Dolor de cabeza	Hojas	Carod-Artal y Vázquez-Cabrera, 2007

2.2. Microorganismos de estudio

2.2.1. Bacterias

Son organismos unicelulares procariotas, en su mayoría son de vida libre a excepción de algunas que son de vida intracelular obligadas. Estas generalmente están asociadas a enfermedades, sin embargo, hay bacterias inócuas o benéficas al humano. Evolutivamente se diferencian en arqueobacterias (bacterias sin peptidoglicano, como las anaerobias que viven en condiciones ácidas calientes, las que viven en condiciones salinas, y las que reducen el anhídrido carbónico a metano) y eubacterias (viven en el suelo, el agua y los organismos vivos). La falta de membrana nuclear es característica de las bacterias, también destaca la presencia

de DNA circular y cerrado, mientras que el eucariota se organiza en cromosomas individuales, y se asocia a proteínas de tipo histonas. En cuanto a la reproducción es por medio de fisión binaria (la célula crece, se forma un tabique y finalmente se desprenden dos células nuevas). El tamaño de las bacterias oscila entre 0.5 y 3 μm , pudiendo llegar en algunos tipos a 10 μm . La morfología de estos organismos es variada y está determinada por la rigidez de su pared celular (cocos, bacilos, espirilos) (Algorta *et al.*, 2008)

Staphylococcus aureus

Es una especie bacteriana Gram-positiva, forma racimos irregulares en forma de uva, no es móvil, no esporulante y es catalasa positiva. Crece rápido y abundantemente en condiciones aeróbicas (Foster, 2002). Contribuye a la flora normal de los humanos y se localiza principalmente en zonas de la piel, nasofaríngeas, pliegues inguinales y axilas (Pasachova-Garzón *et al.*, 2019). Sin embargo, es causa de una amplia variedad de enfermedades infecciosas, con el tiempo algunas cepas han generado resistencia a los antibióticos (Zendejas- Manzo, 2014). La resistencia de *S. aureus* a la penicilina provocó que en la década de 1960 se introdujeron variantes moleculares de las penicilinas resistentes a las penicilinasas, desencadenando el origen de resistencia a meticilina y a la aparición de cepas variantes de *S. aureus* (Figura 2A) resistentes a la meticilina. Los análisis moleculares y genéticos de *S. aureus* mostraron la presencia de proteínas (adhesinas de superficie) implicadas en la adherencia y colonización de las células blanco, en la secreción de proteínas especializadas (enzimas y toxinas) responsables de la invasión (Cervantes-García *et al.*, 2014).

Staphylococcus epidermidis

Staphylococcus epidermidis (Figura 2B) es parte de la microflora epitelial humana, coloniza comúnmente las axilas, la cabeza y las fosas nasales. *S. epidermidis* suele tener una relación benigna con su huésped, sin embargo, cuenta con genes que le permiten protegerse de las condiciones adversas en sus hábitats naturales, como concentraciones extremas de sal y la presión osmótica. Pertenece al grupo de

Staphylococcus coagulasa-negativos (CoNS) es decir que no cuenta con la enzima coagulasa a diferencia de *S. aureus* que es coagulasa-positivo (Otto, 2009).

S. epidermis es causante de infecciones nosocomiales, es de los patógenos bacterianos más aislados en los hospitales. Generalmente esta bacteria es la responsable de infecciones subagudas o crónicas, no suele causar infecciones piógenas debido a que no cuenta con un arsenal de toxinas reducidas en comparación a las otras bacterias como *S. aureus*. Su éxito en la dispersión se considera que es la habilidad de adhesión y permanencia a las superficies (Vuong y Otto, 2002).

Salmonella Typhi

Las especies bacterianas pertenecientes a *Salmonella* son bacilos Gram-negativos que se comportan como patógenos intracelulares facultativos (anaerobio facultativo), están presentes en el intestino de personas y animales sanos (Alfaro-Mora, 2018). *S. Typhi* es una bacteria que incluso sobrevive en condiciones de oxígeno escaso. Estos bacilos no producen esporas, muchas de sus cepas son móviles debido a la presencia de flagelos peritricos que envuelven a la célula. También hay reportes de variantes inmóviles en lugares en los que la incidencia de la fiebre tifoidea es más alta (Calva, s.d.).

La presencia de *S. Typhi* (Figura 2C) en el ambiente es muy rara, sin embargo, la infección se adquiere principalmente por la ingestión de agua y/o alimentos contaminados. *S. Typhi* es un patógeno de preocupación en el mundo en desarrollo, especialmente en Asia (Elemfareji y Thong, 2013). El período de incubación es de una semana a un mes a partir de la ingesta de la bacteria. Se infiere que ingresa al intestino a través de las células M del tejido linfoide o inmunológico (Calva, s.d.).

Pseudomonas aeruginosa

Es bacteria patógena oportunista, heterótrofa, móvil, en forma de bacilo, Gram-negativo que alcanza los 0.5 a 0.8 μm por 1.5 a 3.0 μm de tamaño (Iglewski, 1996; Diggle y Whiteley, 2020). Casi todas las cepas son móviles, ya que cuentan con un

flagelo polar, algunas cepas presentan dos o tres flagelos (Iglewski, 1996). Son habituales en el suelo y el agua (Planet, 2018).

Pseudomonas aeruginosa (Figura 2D) es un patógeno notable porque está dotado de un genoma excepcionalmente grande que contiene genes para muchos factores de virulencia diferentes y mecanismos reguladores que le permiten adaptarse a entornos hostiles (Kipnis *et al.*, 2006). Crece bien a 37 °C, pero puede sobrevivir en temperaturas amplias que oscilan entre 4 y 42 °C. Es una bacteria del suelo importante que es capaz de descomponer los hidrocarburos aromáticos policíclicos, pero a menudo también se detecta en depósitos de agua contaminados por animales y humanos, como aguas residuales y lavabos dentro y fuera de los hospitales (Diggle y Whiteley, 2020).

Sin embargo, es causante de enfermedades en una variedad de huéspedes que incluyen plantas, nematodos, insectos y mamíferos. En humanos, es particularmente problemático en pacientes con fibrosis quística (FQ). En los pulmones con FQ, la infección a menudo ocurre temprano en la vida y, a pesar del tratamiento agresivo con antibióticos, la infección da como resultado una pérdida progresiva de la función pulmonar y finalmente, la muerte (Diggle y Whiteley, 2020).

Shigella sonnei

Es un patógeno intracelular facultativo Gram-negativo con forma de bacilo de la familia *Enterobacteriaceae*, tiene una distribución cosmopolita, sin embargo, es la causa más común de shigelosis en las regiones industrializadas de Europa, América del Norte y Australia (Torraca *et al.*, 2020). *Shigella Spp.* (Figura 2E) cuenta con cuatro serogrupos (*S. boydii*, *S. dysenteriae*, *S. flexneri* y *S. sonnei*,). *S. sonnei* es el serogrupo con más incidencia en países desarrollados (Guevara *et al.*, 2014).

Shigella. sonnei evolucionó de *Escherichia coli* para especializarse en la infección intracelular del epitelio intestinal humano, y su genoma comprende un cromosoma circular de 4.99 Mbp y un plásmido de invasión de 216 kbp (pINV) necesarios para la virulencia (Torraca *et al.*, 2020). Es un bacilo corto, no tiene flagelos, ni fimbrias y cápsula. En pruebas bioquímica reacciona de forma negativa a

la lactosa y a la lisina negativa, pero es positiva a la catalasa. Es incapaz de esporular o liberar gas al metabolizar los carbohidratos (Lira-Gómez, 2019).

Shigella sonnei causa una enfermedad aguda autolimitada caracterizada por diarrea sanguinolenta, fiebre y dolor abdominal. Las infecciones pueden poner en peligro la vida de los niños menores de cinco años y pueden atrofiar el crecimiento. Se propaga por vía fecal-oral, ya que las bacterias ingeridas pueden sobrevivir a la acidez gástrica y ser liberadas en las heces, también se transmite sexualmente, particularmente entre hombres que tienen sexo con hombres. El tratamiento principal para la disentería bacilar es la terapia de rehidratación (Torraca *et al.*, 2020).

2.2.2. Levaduras

El término levadura refiere a un grupo de hongos unicelulares con presencia opcional de hifas y pseudohifas (Mendoza, 2005). Estos hongos levaduriformes se agrupan en colonias lisas en medios de cultivos sólidos, mientras que en cultivos líquidos originan turbidez homogénea, ambas características semejantes al crecimiento bacteriano, estas colonias están formadas por grupos de células que alcanzan hasta 10 µm de diámetro y 30 µm de largo, más grandes que las bacterias (Liébana-Ureña, 2002).

Las levaduras beneficiosas para el humano pueden estar presentes en los frutos, en la savia de las plantas o en el suelo alrededor de los árboles, las más conocidas son las del género *Saccharomyces*, conocidas como las levaduras que se emplean para la elaboración de la cerveza y del pan (Sánchez-Contreras, 2017). Otras especies causan enfermedades humanas, por ejemplo, *Sporothrix schenckii*, provoca la esporotricosis, una infección que causa ulcera granulomatosas en heridas punzocortantes (Harvey *et al.*, 2008).

Candida albicans

Candida albicans (Figura 2F) es un hongo dimórfico porque prolifera tanto en forma de levadura como de hifa (Whiteway y Bachewich, 2007). Forma pseudohifas largas, hifas y blastoconidios (de 3-8 x 2-7 µm), metabólicamente fermentan azúcares, tienen numerosas clamidosporas redondas u ovaladas, con pared gruesa (8-16 µm

de diámetro), forma colonias redondas, lisas y de bordes precisos, de color blanco a amarillo-cremosas, de consistencia pastosa y blanda, centro ligeramente pronunciado (Pontón *et al.*, 2002).

Presenta mayor habilidad de adherencia y penetración que otras especies de su género, dada la transición de levadura a micelio, fortaleciendo su patogenicidad. Forma biopelícula que al parecer le confiere mecanismo de resistencia (Pinilla Bermúdez *et al.*, 2018).

Esta especie es capaz de invadir tejidos y evadir la fagocitosis, mostrando diversos elementos de virulencia (adherencia a las células del hospedero, producción de tubo germinativo y de enzimas del tipo fosfolipasa, esterases y proteasas asparticas) que se manifiestan en infecciones en tejidos profundos (Pinilla Bermúdez *et al.*, 2018).

Las infecciones fúngicas son una preocupación para la organización de salud (Pfaller y Diekema, 2007). De ahí radica su importancia, debido a que *C. albicans* es responsable de cerca de 60% de las septicemias en el mundo y de 45% en países latinoamericanos; es de los cinco patógenos más frecuentes de las infecciones nosocomiales (López-Ávila *et al.*, 2016).

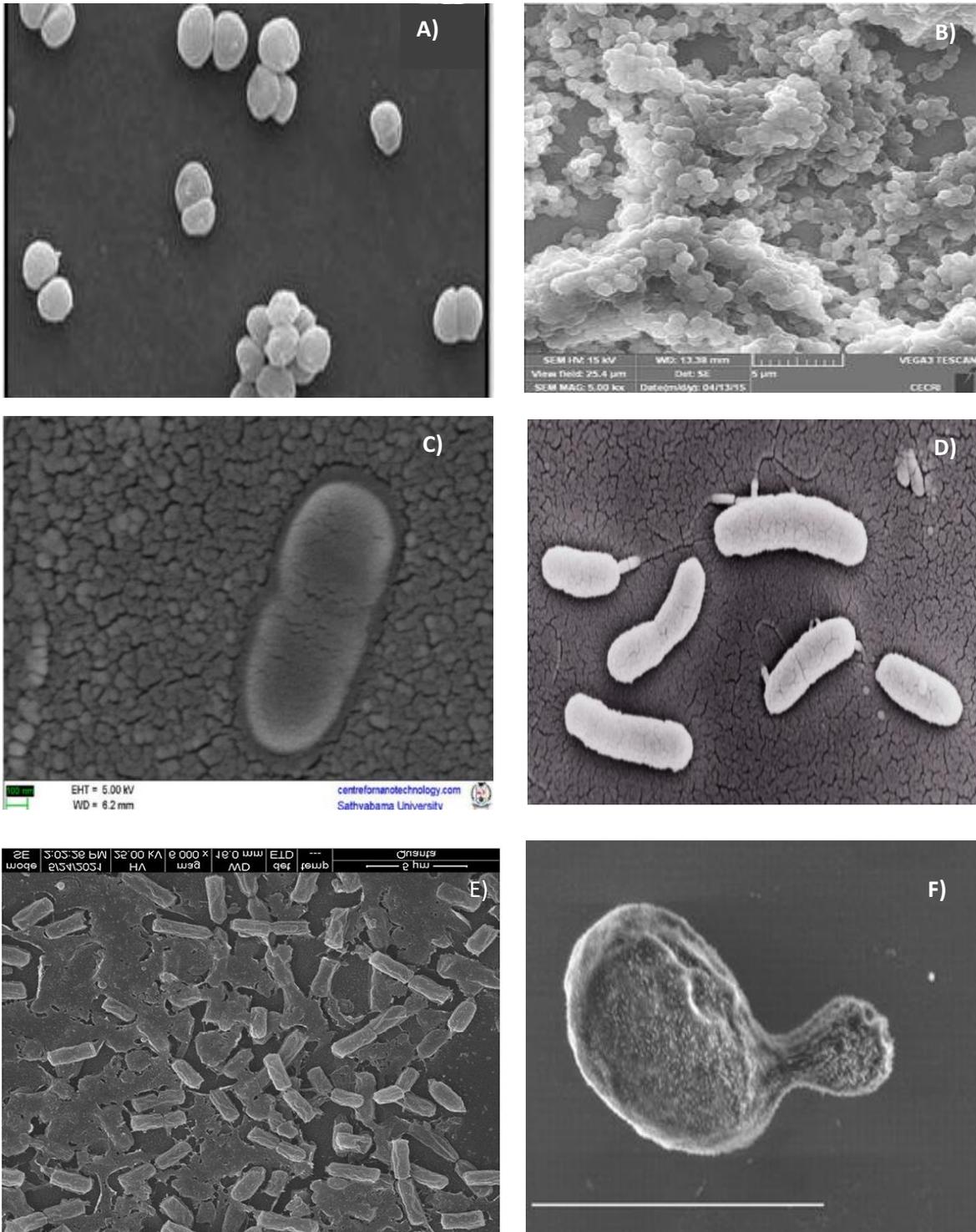


Figura 2. Microscopia electrónica de barrido de los organismos de estudio. A) *S. aureus* a 45000x morfología normal de células no tratadas (Deshmukh *et al.*, 2021); B) Células de *S. epidermidis* (Sivaranjani *et al.*, 2017); C) *S. typhi* (Dhas *et al.*, 2020); D) *P. aeruginosa* x10,000 (Senba y Watanabe, 2011); E) *Shigella* Spp. (Mallick *et al.*, 2021); F) *C. albicans*, barra a 2 μ m (Hiller *et al.*, 2007)

2.3. Aceites esenciales en el género *Tagetes*

2.3.1. Aceites esenciales (AE).

Los AE son mezclas liposolubles de metabolitos especializados volátiles, principalmente de origen terpénico. Estas moléculas fragantes suelen ser atrayente de polinizadores, repelente de fitófagos y desarrollar actividad alelopática, antibacteriana e inclusive participar en la conservación de las condiciones hídricas de la planta (Usano-Aleman *et al.*, 2014).

Los AE constituyen del 0.01 al 1.0 % de la masa vegetal en seco. Generalmente son de consistencia líquida, son solubles en disolventes orgánicos. Recién extraídos son incoloros, al oxidarse se resinifican y toman un color amarillo. Generalmente son menos densos que el agua, salvo los AE de canela, azafrán y clavo (López-Luengo, 2004). Los aceites esenciales generalmente son mezclas diversas de hasta más de 100 tipos de metabolitos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos), destacan los mono- y sesquiterpenos y los fenilpropanoides (Martínez, 1996). Se clasifican por su consistencia física, origen bioquímico o naturaleza química de los componentes mayoritarios (Cuadro 2).

2.3.2. Aceites esenciales en el género *Tagetes*

El género es rico en aceites esenciales y exudados aromáticos, los odorantes primarios de estos AE son los terpenos: ocimeno, limoneno, terpineno, mirceno, tagetonas, dihidrotagetona y tagetenonas, tienen en menores cantidades hidrocarburos sesquiterpénicos y compuestos oxigenados. En la composición química de los AE influyen los rasgos genéticos, las condiciones de crecimiento, la ontogenia de órganos de la planta y factores de estrés como un clima adverso y las enfermedades afectando a la planta (Salehi *et al.*, 2018).

Cuadro 2. Clasificación de aceites esenciales según Martínez (1996)

Por consistencia	Esencias fluidas: AE de consistencia líquida y volátiles a presión y temperatura ambiente.
	Bálsamos: AE de consistencia más densa y menos volátil que las esencias fluida, con moléculas propensas a la polimerización.
	Oleorresinas: AE de consistencia líquida muy viscosa con aroma concentrado, también puede ser de naturaleza semisólida, como el caucho la gutapercha, y el chicle
Por su origen	Naturales: AE obtenidos directamente de la planta sin modificaciones físicas o químicas, de bajo rendimiento
	Artificiales: AE enriquecidos con uno o varios componentes principales de la fragancia
	Sintéticas: componentes en su mayoría de origen de síntesis química.
Por su naturaleza química	AE monoterpénoides: mayormente compuesto por monoterpenos
	AE sesquiterpénoides: mayormente compuesto por sesquiterpenoides
	AE fenilpropanoides: mayormente compuesto por sesquiterpenoides

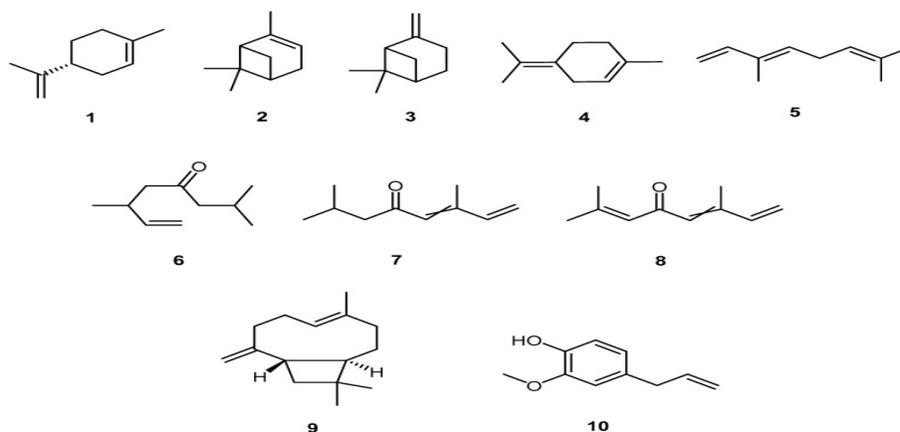


Figura 3. Principales estructuras químicas encontradas en los aceites esenciales del género *Tagetes*. (1) limoneno, (2) α-pineno, (3) β-pineno, (4) terpinoleno, (5) (E)-β-ocimeno, (6) dihidrotagetona, (7) tagetona (representada como una mezcla de isómeros (E) y (Z), (8) tagetenona (representada como una mezcla de isómeros (E) y (Z), (9) β-cariofileno y (10) eugenol. Salehi *et al.* (2018)

Se han detallado la composición química de AE de las especies del género (Cuadro 3), en la que se denota diferencias sustanciales en la diversidad de compuestos y sus proporciones, así como en sus propiedades biológicas, tanto entre especies como entre individuos de una misma especie, ya que la producción de estos compuestos depende de las necesidades de la planta de acuerdo a su entorno.

Cuadro 3. Aceites esenciales de plantas del género *Tagetes*

Estudio	<i>Tagetes</i>	Metabolitos	Actividad biológica	Referencia
Investigación de los metabolitos y la actividad antioxidante de AE de dos especies	<i>T. minuta</i> L.	α -Bisabolol, Apiol, Guaiol, β -Cariofileno y Trans-Tagetona	Antimicrobiana y antioxidante	Huaraca-Aparco <i>et al.</i> , 2021.
	<i>T. elíptica</i> Sm.	Apiol, β -Cariofileno, m-tert-butyl-fenol, Trans-Tagetona y Cis-Tagetona		
Análisis del potencial antioxidante y antibacteriano de extractos metanólicos de flores y de hojas y del AE	<i>T. patula</i> L.	2- cyclohexen-1-ona, 2- pinen- 4-ona, 1-metil-4-(1-metiletilideno), 1,3,6- octadien-3-ol-e Indane	Antibacteriana	Soto-Rueda <i>et al.</i> , 2018.
Análisis de la composición de los AE de cinco especies de <i>Tagetes</i> presentes en Mérida, Venezuela.	<i>T. caracasana</i>	E-Ocimeno, Z-Tagetona, dihidrotagetona, (Z)-Ocimenona, Z- β -Ocimeno.	No evaluado	Armas <i>et al.</i> , 2012.
	<i>T. erecta</i>	Piperitona, terpinoleno, limoneno, E- β -Ocimeno, β -Carofileno		
	<i>T. filifolia</i>	E-Anetol, estragol, Biciclogermacreno, E,E- α -Farneseno.		
	<i>T. patula</i>	Terpinoleno, piperitenona, E-Ocimenona, limoneno,		

		Z-β-Ocimeno		
	<i>T. subulata.</i>	Terpinoleno, piperitenona, limoneno, Z-β-Ocimeno, E-Ocimenona.		
Determinación de las variables de extracción de los AE de la especie, así como los componentes volátiles en muestra seca y fresca.	<i>T. pusilla</i>	Anetol, estragol, Germacreno D-biciclogermacreno, carvacril acetato.	No evaluado	Quezada-Moreno et al., 2019.
Análisis de la composición química de los AE de <i>T. minuta</i> de diferentes zonas de Argentina	<i>T. minuta</i>	(E)-β-ocimeno, (Z)-β-ocimeno, (E)-tagetenona, α-felandreno, limoneno	No evaluado	Gila et al., 2000.
Determinación de la composición del aceite esencial de <i>T. minuta</i> en localidades de la provincia del Chaco, Argentina.	<i>T. minuta</i>	(E)-β-ocimeno, (Z)-β-ocimeno, (E)-tagetenona, (Z)-tagetenona, limoneno.	No evaluado	Chamorro et al., 2008.
Análisis de la composición química de los AE de <i>T. lemmonii</i>	<i>T. lemmonii</i>	Dihidrotagetona, (E)-tagetona, (E)-tagetenona, (Z)-tagetenona, alocimeno	No evaluado	Tucker y Maciarello, 1996.
Estudio de la composición química, toxicidad y actividad olfativa sobre adultos de mosca mediterránea de la fruta <i>Ceratitis capitata</i> y sus propiedades	<i>T. minuta</i>	<i>cis</i> -tagetona, <i>trans</i> - β ocimeno, dihidrotagetona, <i>trans</i> -tagetona, limoneno.	Atrajo a los machos y repelió a las hembras de <i>Ceratitis capitata</i> .	
	<i>T. rupestris</i>	<i>trans</i> -ocimenona, <i>trans</i> -tagetona, <i>cis</i> - β ocimeno, <i>cis</i> -ocimenona	Atrayente de <i>Ceratitis capitata</i>	López et

repelentes sobre <i>Triatoma infestans</i> .		óxido, α -pineno		<i>al.</i> , 2011.
	<i>T. terniflora</i>	<i>cis</i> -tagetona, <i>cis</i> - β ocimeno, <i>trans</i> -ocimenona, <i>trans</i> -tagetona, dihidrotagetona.	Repelen a <i>T. infestans</i>	
	<i>T. filifolia</i>	Trans-Anetol, metilchavicol, germacreno-D, β -bisaboleno, <i>cis</i> -tagetona	Repelen a <i>T. infestans</i>	
Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos orgánicos y del AE de <i>T. mendocina</i>	<i>T. mendocina</i>	(E)- β -ocimeno, (Z)-tagetona, (E)-tagetona, (Z)-ocimenona, α -pineno y (E)-ocimenona	Antifungica y antiprotozoaria	Lima <i>et al.</i> , 2009
Evaluación de seis especies de <i>Tagetes</i> por sus características morfo-fenológicas, el rendimiento de la biomasa y la composición del aceite esencial.	<i>T. erecta</i>	Terpinoleno, piperitona, limoneno, (E)- β -ocimene, β -Cariofileno	No evaluado	Marotti <i>et al.</i> , 2004.
	<i>T. filifolia</i>	Estragol, E)-anetol, β -Cariofileno, Piperitona y linalool		
	<i>T. lucida</i>	Estragol, β -Cariofileno, Metil-eugenol, (E)- β -ocimeno y linalool		
	<i>T. minuta</i>	Dihidro- tagetona, (E)-tagetona, limoneno, alcanfor, (Z)- β -ocimeno		
	<i>T. patula</i>	Terpinoleno, (E)- β -ocimeno, limoneno, piperitona, (Z)- β -ocimeno,		
	<i>T. tenuifolia</i>	(E)-ocimenona, Dihidro- tagetona, (E)-tagetona, (Z)- β -ocimeno, (Z)-ocimenono.		
Análisis del	<i>T.</i>	Heptan-3-ona,	Se sugiere	Serrato-

rendimiento de AE y composición de metabolitos secundarios en especies del género.	<i>coronopifolia</i>	verbenona, 2-oxo-decanoato de metilo y crisantenona	como plaguicidas	Cruz y Zapata, 2015.
	<i>T. filifolia</i>	Anetol metilchavicol, germacreno-D, β -bisaboleno.		
	<i>T. lacera</i>	<i>Trans</i> -tagetona, crisantenona, α -tujeno y verbenona.		
	<i>T. ternifolia</i>	<i>Trans</i> -tagetona, <i>Trans</i> -tagetona, cis- β -ocimeno y dihidrotagetona.		

III. ANTECEDENTES

3.1. Estudios con *Tagetes nelsonii*

Tagetes nelsonii es una planta aromática de uso medicinal en los Altos de Chiapas, México, de donde es nativa. Sin embargo, no hay muchos estudios sobre esta especie, Cruz-Flores *et al.* (2021) reportaron la composición de los compuestos volátiles en las hojas utilizando la técnica de microextracción en fase sólida y el análisis en cromatografía de gases acoplado a espectrómetro de masas (GC-MS). La mayoría de las moléculas identificadas son de origen terpénico, entre ellos sobresalen la (E)-tagetona (43.9%) y la dihidrotagetona (20.7%), seguidos de trans- β -ocimeno, eucaliptol, limoneno y β -cubebeno. También hay presencia de α y β -pineno, trans- β -ocimeno, limoneno, linalool y (Z)-tagetona. También hay trabajos de actividad biológica realizados con extractos de tipo orgánico, utilizando disolventes de baja (hexano), mediana (diclorometanólico y acetato de etilo) y alta polaridad (metanol y etanol) (Espinoza Ruíz *et al.*, 2009; Espinoza Ruíz *et al.*, 2013; Juárez-Raya, 2016; López Arias, 2016; Concha-Galindo, 2017).

El uso de las plantas del género *Tagetes* data de la época prehispánica y recientemente se ha determinado sus propiedades antibacteriana, antifúngica, antioxidante, insecticida y antiinflamatoria (Armas *et al.*, 2013). En el aspecto etnobotánico, Trujillo-Vázquez, y García-Barrios (2001) evaluaron el conocimiento que tienen los agricultores tzeltales sobre las plagas que se presentan en sus cultivos, así como el uso de plantas para combatir las, repelerlas o atraerlas, para ello se entrevistaron a 43 jefes de familia en 23 parajes indígenas tzeltales del municipio de Tenejapa, Chiapas. Como resultado se obtuvo que tres especies del género *Tagetes* (*T. filifolia*, *T. lucida* y *T. nelsonii*) son utilizadas para controlar las plagas presentes en los cultivos.

En un estudio con nativos de la etnia Tzeltal-Maya del estado de Chiapas se evaluó la concepción de curación nativa sobre dolor de cabeza y migraña. Como resultado se detectó el uso de las hojas de *T. nelsonii* en infusión para aliviar el dolor de cabeza, las náuseas, la inestabilidad y el vértigo (Carod-Artal y Vázquez-Cabrera, 2007).

De la Cruz-Jiménez *et al.* (2014) reportaron 52 especies comúnmente empleados como remedios para dolencias en el tracto gastrointestinal en Chiapas. Una de las familias con más especies medicinales fue Asteraceae con 10 especies (19%) del total, entre ellas, la infusión de hojas y tallos de *T. nelsonii*, fue reportada con propiedades antibacterianas, utilizada para aliviar la diarrea por parásitos y el dolor abdominal.

3.2. Fitoquímica de los aceites esenciales del género *Tagetes*

Marotti *et al.* (2004) reportaron la composición de los aceites obtenidos por destilación a vapor de flores y hojas de seis especies de *Tagetes*. Los AE fueron analizados por cromatografía de gases (CG) y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS). Las flores y las hojas mostraron composiciones cualitativas de aceite muy similares, con rendimientos más altos en las hojas. *Tagetes erecta*, *T. minuta*, *T. patula* y *T. tenuifolia* tuvieron un conjunto principal de moléculas comunes (dihidrotagetona, tagetonas, ocimenonas y piperitona) pero con proporciones diferentes y típicas en cada especie, la piperitona, la (E)- tagetona, el terpinoleno y la (E)-ocimenona fueron los más abundantes para cada especie respectivamente. *T. filifolia* y *T. lucida* tuvieron el metil chavicol como compuesto principal.

Serrato-Cruz *et al.* (2008) mencionan que los aceites esenciales de *T. filifolia* están compuestos principalmente de anetol o alilanol. Baldeón-Ordoñez (2011) evaluó la actividad insecticida de AE de *T. minuta*, *T. terniflora* y *T. zipaquerensis* obtenidos por arrastre de vapor sobre *Premnotrypes vorax*, como resultado se obtuvo que los aceites esenciales de las especies evaluadas, tienen efecto insecticida por contacto e inhibición, las larvas de *P. vorax* fueron eliminadas en más de un 50% a los 14 días y en un 75% a los 21 días.

Díaz-Cedillo y Serrato-Cruz (2011) aislaron aceites esenciales de la parte aérea de *Tagetes parryi* A. Gray por hidrodestilación. En el AE se detectó canfeno (96 %), 3, 6, 6-trimetil-2-norpinanol (91 %), anisol (60 %), 4-isopropil-1-metil-2-ciclohexenol (50 %), cineol (48 %), eugenol (14 %) y α -terpineol (12 %), teniendo como novedad dos compuestos que no se habían encontrado en las especies del

género (el 3,6,6-trimetil-2-norpinanol y el 4-isopropil-1-metil-2-ciclohexenol). Díaz-Cedillo *et al.* (2012) reportaron la presencia de seis compuestos principales (E-tagetona, crisantenona, verbenona, α -thujeno, β -pineno y α -pineno) en los aceites esenciales de *T. lacera*, aislados por hidrodestilación de la parte aérea de ejemplares en floración.

Díaz-Cedillo *et al.* (2013) caracterizaron la composición química de los aceites esenciales en la raíz, tallo-hoja y cabezuela floral de *T. coronopifolia* extraídos por hidrodestilación y analizados por GC-MS, obtuvieron compuestos de naturaleza monoterpénica a excepción del ester 2-oxo-decanoato de metilo. Se sugirió que debido a su composición química el aceite esencial puede ser utilizado para control de plagas y enfermedades.

Se han realizado escasos trabajos que evidencian diferencias en la composición de los aceites esenciales en diferentes poblaciones de especies de *Tagetes*, entre ellos el de Zarate-Escobedo *et al.* (2018) que analizaron la composición química del AE de *T. lucida* en poblaciones del sur (de clima cálido) y el norte (de clima templado frío) del Estado de México. Para la obtención de los aceites esenciales se utilizaron los tallos florales de 14 poblaciones por hidrodestilación y se analizó por CG/MS. Como resultado se identificaron 44 moléculas, 32% (9 a 13 moléculas) en localidades del norte y 68 % en poblaciones del sur (16 a 23 metabolitos). Los rendimientos de AE variaron en ambas zonas, de 0.005 a 0.02 % de tejido seco en localidades del norte y de 0.0001 a 0.0005 % en las del sur. Los metabolitos en mayor número en poblaciones del norte fueron los fenilpropanos anetol y estragol. En tanto que en las localidades del sur fue el monoterpénoide acetato de geranilo. Solamente β -mirceno, β -ocimeno y linalool fueron comunes en todas las poblaciones, cabe destacar que se reportó la presencia de acetato de geranilo por primera vez para este género.

IV. OBJETIVOS

General

Evaluar las propiedades químicas y antimicrobianas de los aceites esenciales foliares de dos poblaciones nativas de *Tagetes nelsonii*.

Específicos

- Determinar las diferencias en la producción de aceites esenciales foliares de *T. nelsonii* en dos poblaciones del estado Chiapas (Teopisca y San Cristóbal de las Casas).
- Determinar las diferencias en la composición química de los aceites esenciales en las dos poblaciones de *T. nelsonii*.
- Analizar el efecto de la composición química en espectro y la potencia antimicrobiana de los aceites esenciales de las dos zonas de recolecta.

V. HIPÓTESIS

Considerando que el metabolismo secundario de las plantas es sensible a los factores abióticos y que estos pueden ser variables dentro de su área de distribución, se asume que el rendimiento, la actividad biológica y la composición química de los aceites esenciales será diferente en los dos sitios de recolecta.

VI. ZONA DE ESTUDIO

San Cristóbal de las Casas (Figura 4) es un municipio localizado al centro del estado de Chiapas, México, entre los paralelos 16°33'47" y 16°46' 49" latitud norte y los meridianos 92°25 '31 " y 92°48' 05" longitud oeste. Limita al norte con los municipios de San Juan Chamula y Tenejapa, al este con Huixtan, al sureste con Amatenango del Valle, al sur con Teopisca y Totolapa, al suroeste con Chiapilla, al oeste con San Lucas y al noroeste con Zinacantán; se encuentra a una elevación de 2120 msnm. Presenta suelos de tipo acrisol, luvisol, rendzina y gleysoles. Cuenta con un clima templado o templado-subhúmedo, con verano fresco y largo, la temperatura no presenta cambios significativos durante el año. Las lluvias se presentan en verano, durante julio y agosto disminuyen las precipitaciones formando un periodo de sequía intraestival (Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), 1992).

En las sierras del municipio se observan mosaicos boscosos, en su mayoría mixtos, dominando el bosque de pino-encino. En la sierra sur la comunidad vegetal se observa alterada en su forma original. En la sierra norte se encuentra agricultura de temporal y pastizal inducido; este último crece espontáneamente al ser eliminada la vegetación original. Los terrenos intermontanos de suelos profundos se han incorporado a la agricultura de temporal con cultivos de maíz principalmente (INEGI, 1992).

La recolecta se realizó en el Barrio Vista Hermosa de la cabecera municipal, a las faldas del cerro Huitepec en las coordenadas 16°44'09.4"N y 92°40'18.5"W a 2243 m.s.n.m.

El municipio de Teopisca pertenece a la región geomorfológica de la Sierra madre centroamericana y Altos de Chiapas. Cuenta con presencia de suelos de tipo rendzina, acrisol, regosol, luvisol, litosol y gleysol. A lo largo del año presenta varios tipos de climas (templado subhúmedo, semicálido subhúmedo, cálidos subhúmedo y templado húmedo). Durante el periodo de noviembre-abril, la temperatura mínima varía de 3 a 15°C y la máxima entre 15 y 30°C, mientras que, de mayo a octubre, la temperatura mínima es de 6 a 21°C, la máxima es de 18°C y 33°C. Se encuentra

ubicada geográficamente en regiones templadas y semifrías y montañosas; presenta un 68.39% vegetación de bosque de coníferas y bosque de encinos, seguido de pastizal inducido (10.58%) mientras que el resto del área representa zonas de agricultura (18.74%) y la zona urbana (2.29%) Secretaría de Desarrollo Social (SEDESOL, 2011) a una altitud de 1780 m.s.n.m. (Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal (INAFED), 2010). Teopisca se localiza en la región del altiplano central, por lo que su relieve es montañoso, sus coordenadas son 16°33' N y 92°28'W. Colinda al norte con el municipio de San Cristóbal de las Casas, al este con Amatenango del Valle, al sur con Venustiano Carranza y al oeste con Totolapa y San Cristóbal de las Casas (INAFED, s.d.). La recolecta fue realizada en la cabecera municipal en el Barrio El Porvenir en las coordenadas 16°33' 28.7" N y 92°28' 24.4" W a 1797 m.s.n.m.

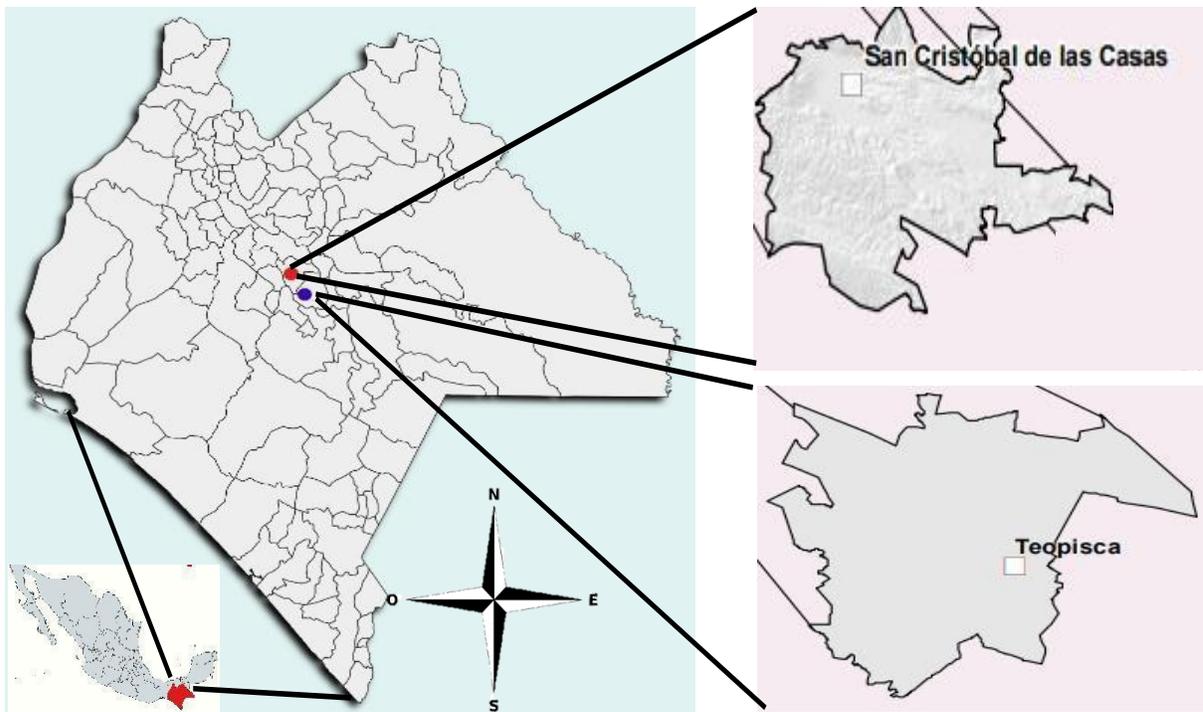


Figura 4. Ubicación geográfica de Teopisca, Chiapas y San Cristóbal de las Casas, Chiapas. Modificado de INAFED, s.d.

VII. MÉTODO

7.1. Recolección del material vegetal

Las partes aéreas de *Tagetes nelsonii* fueron recolectadas en los municipios del estado de Chiapas, México, San Cristóbal de las Casas y Teopisca (Figura 4). Ambas recolectas se realizaron en las cabeceras municipales. El material vegetal recolectado se separó en hojas y tallos y se guardaron a -4°C hasta la obtención de los aceites esenciales. Se recolectaron aproximadamente 100-200 g de hojas de 10 ejemplares en cada zona.

7.2. Obtención de los aceites esenciales

Se tomaron 100 g de hojas de *T. nelsonii* para extraerlas a hidrodestilación mediante la técnica de Clevenger, las hojas fueron trituradas en trozos de 4 cm aproximadamente, posteriormente se introdujo en un matraz bola de 3L, se agregó agua hasta cubrir todo el material vegetal y se hidrodestiló por una hora a partir de del inicio de la ebullición. Posteriormente, se recogieron los aceites esenciales y se transfirieron a tubos Eppendorf de 2 mL y se agregó sulfato de sodio para eliminar residuos de agua.

7.3. Determinación del perfil químico por cromatografía de gases-masas.

El perfil químico de los aceites extraídos y el porcentaje relativo de los mismos se obtuvo con la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrómetro de masas. Los AE se analizaron de forma concentrada y diluida con hexano a una relación 1:1 (concentración de 50 mg. mL^{-1}). La inyección de las muestras ($1\ \mu\text{L}$) se realizó de forma automática a un equipo de cromatografía de gases de Perkin Elmer Modelo Clarus 680 GC acoplado a un espectrofotómetro Claus SQ8T MS. Se utilizó una columna capilar Elite-1 Perkin Elmer ($30\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 0.25\ \mu\text{m}$) y helio como gas de arrastre (1 mL/min). La temperatura del inyector fue de $230\ ^{\circ}\text{C}$; el programa de temperatura del horno comenzó a $50\ ^{\circ}\text{C}$, aumentando $10\ ^{\circ}\text{C}$ por minuto hasta los $250\ ^{\circ}\text{C}$. La fragmentación de masas fue recolectada a 70 ev con 2.89 scans.s^{-1} y será detectada de 50 a 500 Da, la temperatura de la fuente de iones y la del

cuádruplo fue de 270 °C. La identificación de compuestos se realizó por fraccionamiento molecular en el espectro de masas, utilizando la biblioteca NIST versión 2.0

7.4. Análisis de quimiodiversidad por cromatografía en capa fina.

Para la determinación de la composición química de los aceites esenciales también se realizó un perfil cromatográfico de cada AE mediante cromatografía en capa fina, utilizando el método de Wagner y Blandt (2001). Se realizó una disolución tomando 100 μL de aceite esencial + 900 μL de hexano logrando una concentración de 100 $\mu\text{L}/\text{mL}$, posteriormente se tomaron 5 μL de dicha disolución y se aplicó a la cromatografía en placa. La fase móvil fue una mezcla de los disolventes orgánicos de grado analítico J.T. Baker® tolueno ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$) y acetato de etilo ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) en proporción v/v de 93:7. La fase estacionaria consistió en cromatografías planas de gel de Silice-60°A de 20 x 10 cm.

Las cromatografías se marcaron con una línea horizontal, dejando 2 cm en cada extremo y 8 cm para el desplazamiento de la fase móvil. Las muestras se aplicaron en el extremo inferior de la placa, que sirvió como referencia para el punto de migración, la distancia entre la aplicación de las muestras fue de 8 mm. Los cromatogramas se realizaron en posición ascendente en una cámara de vidrio cerrada y saturada con la fase móvil. Para visualizar los constituyentes químicos se utilizó como revelador de compuestos orgánicos una disolución de sulfato sérico (Gibbons, 2012).

El número de compuestos se consideró a partir de manchas (áreas) cromatográficas calculando el factor de retención (R_f) a partir de la distancia recorrida por cada compuesto (mancha) con respecto a la distancia recorrida por la fase móvil (8 cm): $R_f = \text{distancia del compuesto} / \text{distancia de la fase móvil}$ (IUPAC, 1997). El área cromatográfica de cada compuesto en la cromatografía fue calculada mediante el software de dominio público ImageJ, versión 1.4 cada área cromatográfica se consideró como la abundancia de un único compuesto en cada AE.

7.5. Actividad antimicrobiana

Para determinar la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) se utilizó el método de microdilución seriada en medio líquido (Andrews, 2001), frente a las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidemidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei* y *Salmonella Typhi* y la levadura *Candida albicans*. Para tal prueba se realizó la preparación del inóculo de cada especie microbiana y se mezcló con la solución madre del aceite esencial que constó de 50 μL DMSO + 835 μL H₂O + 115 μL AE de *Tagetes nelsonii* a 98 mg. mL⁻¹.

7.5.1. Preparación del Inóculo microbiano

Con ayuda del asa se tomó de 3 a 5 colonias aisladas de un cultivo de entre 18 a 24 horas y fueron transferidas a un tubo de ensayo que contenía de 4-5 mL de caldo de cultivo de Mueller-Hinton y se incubó a 35 °C por aproximadamente 4 a 6 horas hasta que alcanzó la turbidez equivalente a 0.5 en la escala espectrofotométrica de McFarland. La densidad óptica a 625 nm se determinó en un espectrofotómetro con recorrido de 1 cm de luz. Tal suspensión contaba con aproximadamente de 1 a 2 x 10⁸ UFC/mL, (Cona, 2002, Cavalieri *et al.*, 2005).

7.5.2. Ensayo de microdilución seriada

Las diluciones se prepararon en la campana de flujo laminar. Se utilizó una placa de 96 pocillos en la cual se realizaron las diluciones seriadas. En primer lugar, se colocaron 100 μL de caldo Mueller-Hinton seguido de 100 μL de la solución madre previamente preparada (98 mg. mL⁻¹), a partir de esta se realizó diluciones seriadas (se mezcló y se tomaron 100 μL de la solución del primer pocillo y se comenzó con las diluciones de pocillo en pocillo, hasta el doceavo pocillo). Por último, se agregó a cada pocillo 10 μL del inóculo y 10 μL del colorante resazurina (Sarker *et al.*, 2007). De esta manera, los AE de *T. nelsonii* se evaluaron en concentraciones de 40 a 0.25 mg.mL⁻¹. Para el control positivo se utilizó gentamicina (Sigma-Aldrich®) como agente bactericida y fluconazol (Sigma-Aldrich®) como fungicida.

7.6. Análisis Estadístico

Se realizaron análisis univariados. Para determinar las diferencias de los rendimientos de las dos poblaciones se realizó una U de Mann Whitney, para la comparación de abundancia de los compuestos se realizó el análisis de Kruskal-Wallis al 95% de confiabilidad. Para los análisis de quimiodiversidad se realizaron análisis de Componentes Principales (PCA) y los índices de Simpson, Shannon y Margalef.

Para explorar las diferencias entre la composición química de los perfiles de aceites esenciales se realizó el análisis de componentes principales (PCA) con presencia y ausencia de compuestos. También se realizó un análisis de agrupamientos de ausencia y presencia en los perfiles entre ambas localidades, mediante análisis de Permanova, y por último, se realizó un análisis de grupos para ver la similitud en su composición. Todos estos estadísticos se realizaron con el programa Past versión 4.1

VIII. RESULTADOS

8.1. Análisis de rendimiento de aceites esenciales de las hojas de *Tagetes nelsonii*

Los rendimientos de los aceites esenciales de *T. nelsonii* recolectados en las poblaciones de Teopisca y en San Cristóbal de las Casas fueron similares ($P=0.1404$; $Z=1.4741$ U-Mann-Whitney) (Figura 5B). Para Teopisca se obtuvo un rendimiento promedio de 0.18% mientras que para San Cristóbal 0.12% (Figura 5A). Se observó que los rendimientos fueron más uniformes entre las muestras de Teopisca (de 0.08 a 0.28%) y más dispersas para las de San Cristóbal (de 0.01 a 0.023%) (Figura 5B).

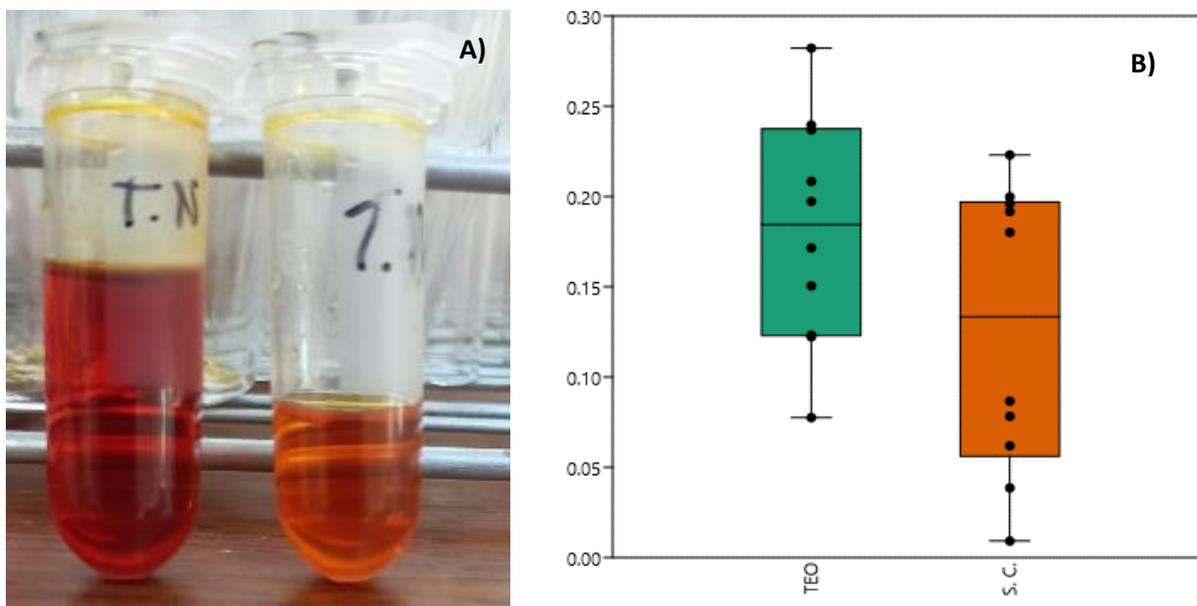


Figura 5. Rendimiento de aceites esenciales de *T. nelsonii* en Teopisca (TEO) y San Cristóbal de las Casas (S.C.)

8.2. Análisis de quimiodiversidad de los AE de las hojas de *Tagetes nelsonii* por cromatografía de capa fina.

Después de la obtención de los AE se determinó la riqueza (número) y abundancia (área cromatográfica) de compuestos mediante la técnica de cromatografía en capa fina (Figura 6). Con esta técnica se observó que hay una diferencia en la riqueza de compuestos, en los AE de San Cristóbal se encontraron 11 compuestos y en los AE de Teopisca siete. Siete compuestos son comunes a ambas poblaciones (C1, C2, C3, C4, C5, C7 y C10), lo que sugiere que otros compuestos posiblemente sean característicos a la población de San Cristóbal.

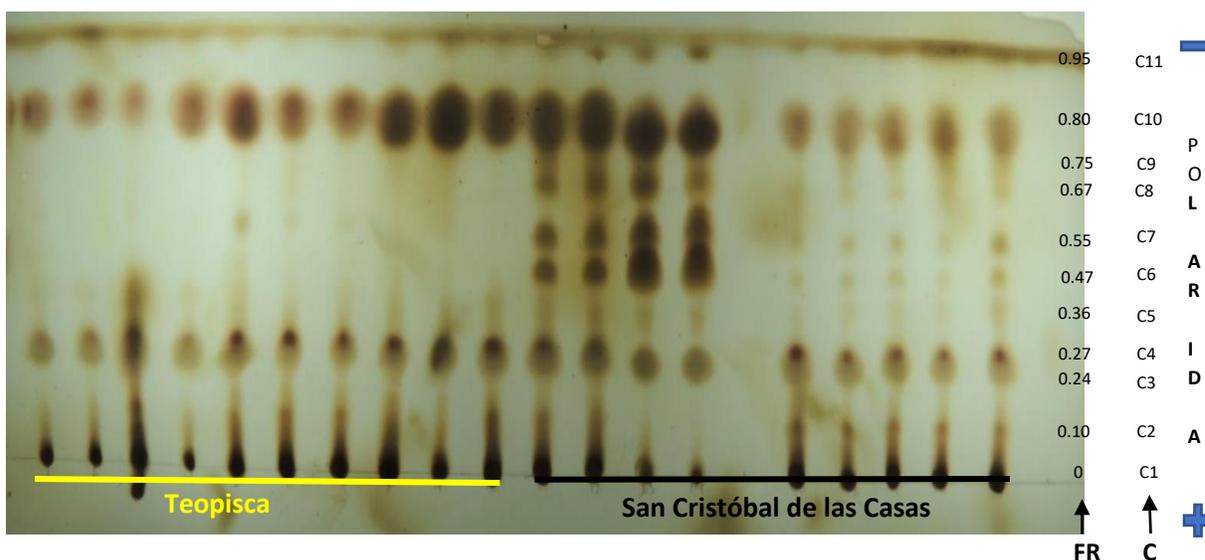


Figura 6. Cromatografía de capa fina de los aceites esenciales de *T. nelsonii* en los municipios de Teopisca y San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México. F.R.: Factor de Retención; C.: Compuestos (C1 a C11)

En relación a la abundancia de compuestos se observó que algunos están en mayor proporción para ambas localidades (San Cristóbal $P= 0.000037$ y Teopisca $P= 0.0000073$), particularmente C3 y C10 son los de mayor proporción en ambas zonas, mientras que los compuestos con menor abundancia son C7 para Teopisca y C9 para San Cristóbal (Figura 7).

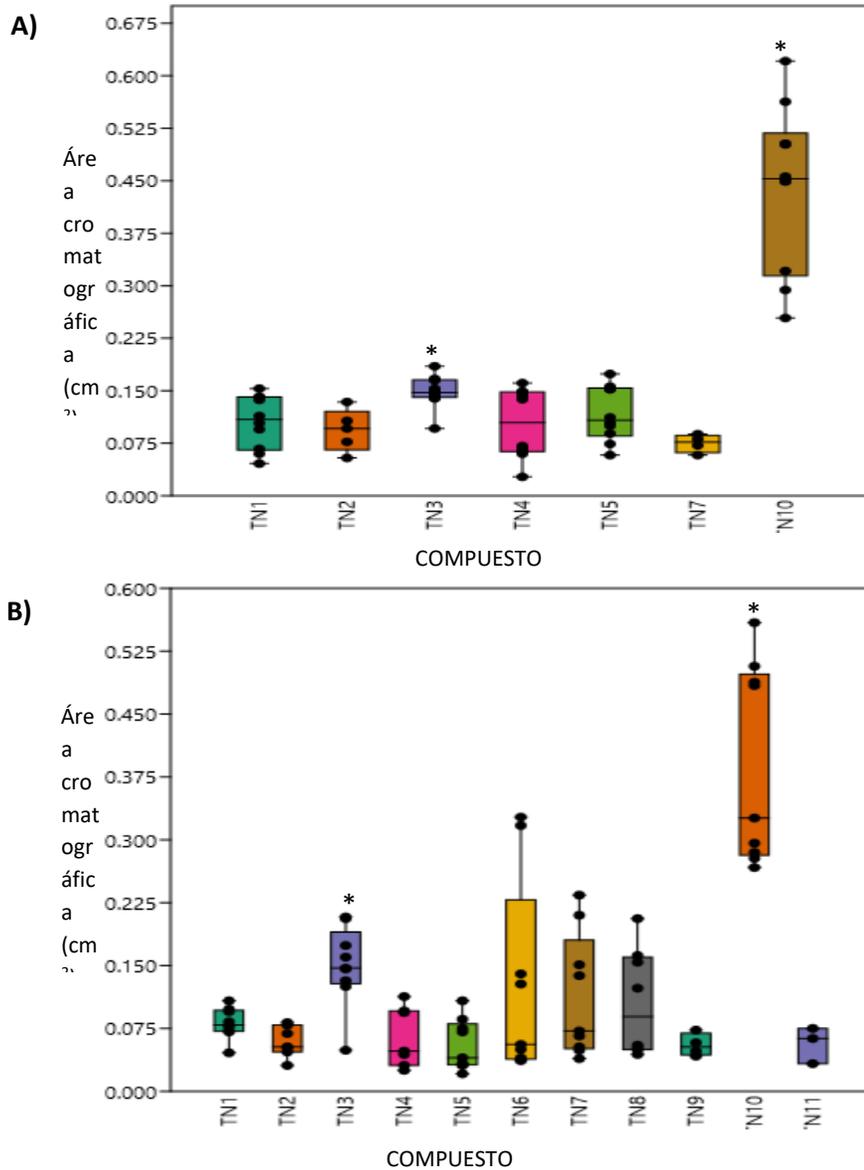


Figura 7. Abundancia de los compuestos revelados por medio de cromatografía en capa fina en las dos zonas de estudio. A) San Cristóbal ($P= 0.000037$ Kruskal-Wallis); B) Teopisca ($P= 0.0000073$ Kruskal-Wallis). (*: $P < 0.05$ Kruskal-Wallis)

De los siete compuestos comunes, los compuestos 2 y 5 presentaron diferencias significativas entre las zonas de recolecta (Figura 8), ya que ambos se determinaron en mayor proporción en la zona de Teopisca que en San Cristóbal (*: $P= 0.051$ y $P=0.0048$ respectivamente U-Mann-Whitney).

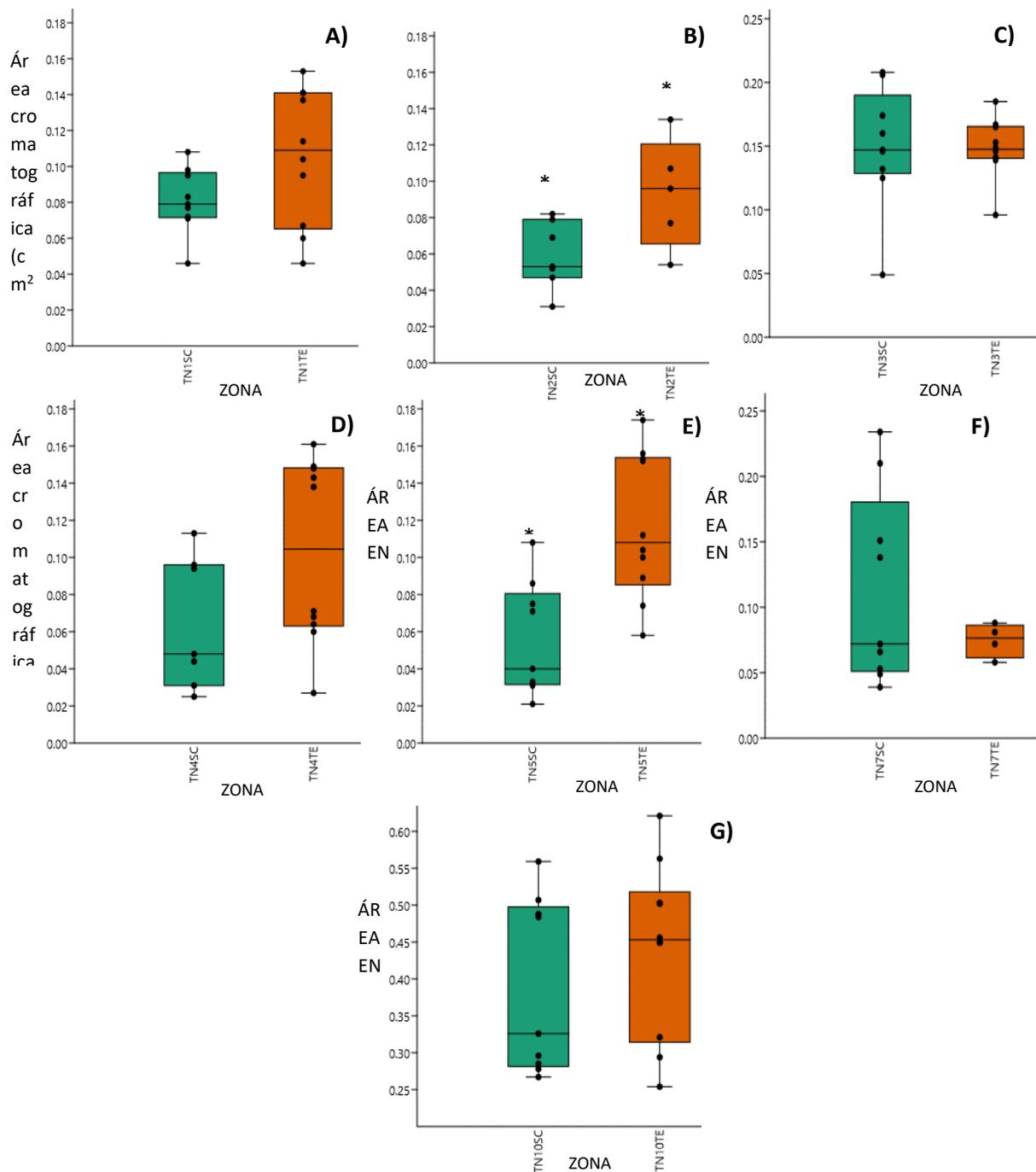


Figura 8. Comparación de compuestos de las dos zonas de estudio. A) Compuesto 1; B) Compuesto 2; C) Compuesto 3; D) Compuesto 4; E) Compuesto 5; F) Compuesto 7; G) Compuesto 10 (*:P < 0.05 U-Mann-Whith)

El Análisis de Componentes Principales (PCA) mostró la distribución de los compuestos más representativos para Teopisca (C1, C4, C5 y C2) y para San Cristóbal (C8, C7, C6, C3 y C11; Figura 9).

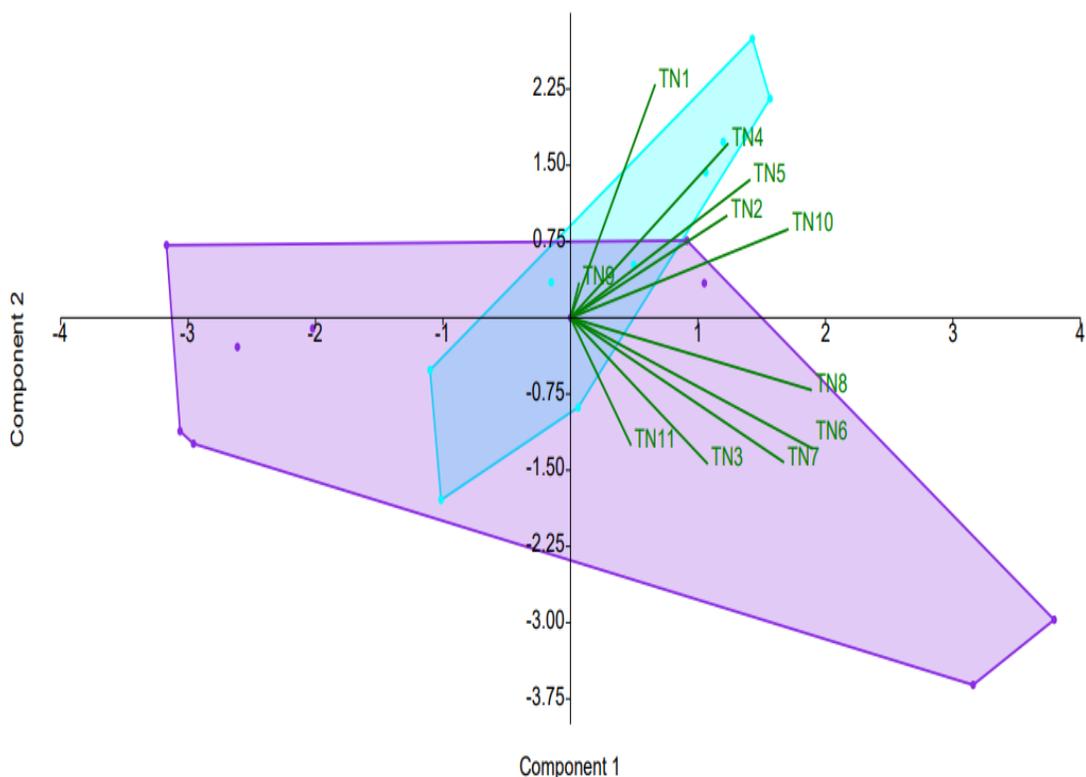


Figura 9. Distribución de los compuestos en los AE de Teopisca (Turquesa) y San Cristóbal (Violeta)

Se calcularon los índices de quimiodiversidad de ambas zonas, adaptando tres índices de diversidad de la ecología (Simpson, Shannon y Margalef), considerando la riqueza como el número de compuestos y la abundancia como el área cromatográfica. Los resultados de dominancia evaluados con el índice de Simpson fueron similares en ambas zonas (Teopisca= 0.9728 y San Cristóbal= 0.9784), lo que indica que probablemente se distribuyen uniformemente en cuanto a su abundancia, es decir que las proporciones mayores de algún compuesto, no son suficientes para

señalar que sesgan la proporción en las poblaciones. El índice de Shannon para Teopisca y San Cristóbal fue de 3.848 y 4.121 respectivamente lo que señala que ambas zonas tienen diversidad alta de compuestos. Por último, el índice de Margalef (Teopisca 8.439 y San Cristóbal 11.89) también nos indica que la diversidad en ambas zonas es alta (Cuadro 4).

Cuadro 4. Índices de diversidad de aceites esenciales de las hojas de *Tagetes nelsonii* recolectadas en Teopisca y San Cristóbal

	Teopisca	San Cristóbal
<i>Taxa_S</i>	59	83
<i>Simpson_1-D</i>	0.9728	0.9784
<i>Shannon_H</i>	3.848	4.121
<i>Margalef</i>	8.439	11.89

8.3. Análisis de quimiodiversidad de los AE de *Tagetes nelsonii* por cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS).

Los AE obtenidos por hidrodestilación también se analizaron por medio de la técnica de cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS). Se identificaron 27 compuestos entre ambas poblaciones (Teopisca y San Cristóbal), de los cuales el 74% son de tipo monoterpeno y el 26% son sesquiterpenos (Figura 10). Además se identificaron compuestos exclusivos a cada población, los AE de San Cristóbal tienen nueve compuestos representativos, mientras que los de Teopisca presentan cinco compuestos ausentes en los de San Cristóbal (Cuadro 5). Los análisis de PERMANOVA de la composición química confirman que los AE de ambas poblaciones difieren de manera significativa ($p = 0.0002$).

Los análisis de PCA (Figura 11) revelan que la formación de tres, hay compuestos que están presentes exclusivamente en San Cristóbal y Teopisca, mientras que un tercer grupo de compuestos se encuentra en ambas poblaciones. El análisis de grupos (Figura 12) muestra la cercanía de los compuestos a cada

población, se puede observar que la población de Teopisca (Figura 13) cuenta con un menor número de compuestos asociados a ella, no siendo así para la población de San Cristóbal (Figura 14).

Cuadro 5. Composición química de los aceites esenciales de *T. nelsonii* de dos poblaciones

#	Compuesto y tipo	Número CAS	Teopisca TR \pm SD	S. Cristóbal TR \pm SD	Fragmentación	Referencia
1	α -Pinenol ¹	80-56-8	4.61 \pm 0.20	5.035 \pm 0	93(100), 91(48.5), 92(40.8)	NIST
2	α -Tujeno ¹	2867-05-2	----	5.03 \pm 0	93(100), 77(40.59)	NIST
3	β -Felandreno (meta) ¹	555-10-2	5.04 \pm 0	5.03 \pm 0	93(100), 77(51.43), 91(46.46), 79(42.81)	NIST
4	P-Menthadien ¹	499-97-8	5.08 \pm 0	5.03 \pm 0	93(100), 91(52), 69(37.4)	NIST PubChem
5	3-Careno ¹	13466-78-9	5.04 \pm 0.37	5.03 \pm 0	93(100), 91(54.93), 77(48.05)	NIST
6	Sabineno ¹	3387-41-5	----	5.04 \pm 0	93(100), 91(76.59), 77(53.74)	NIST
7	β -Terpineno ¹	99-84-3	----	5.04 \pm 0	93(100), 91(76.59), 77(53.74)	NIST
8	γ -Terpineno ¹	99-85-4	----	5.04 \pm 0	93(100), 91(76.59), 77(53.74)	NIST

9	(-)- β -Pineno ¹	18172-67-3	----	5.06 \pm 0.01	93(100)	NIST PubChem
10	Eucaliptol ¹	470-82-6	5.68 \pm 0	5.66 \pm 0	81(100), 108 (85.11), 93 (73.58), 96 (72.76), 71(71.87)	NIST
11	Limoneno ¹	138-86-3	----	5.69 \pm 0	68(100), 67(84.98), 93(82.98), 79(40.50)	NIST
12	(E)- β -Ocimeno ¹	3779-61-1	5.75 \pm 0	5.75 \pm 0	93(100), 92(68.41), 79(65.7), 91(47.27), 77(44.34)	NIST
13	Dihidrotageto- na ¹	1879-00-1	5.89 \pm 0.02	5.86 \pm 0	85(100), 57(77.91), 69 (73.05)	NIST PubChem
14	Linalol ¹	78-70-6	6.43 \pm 0	6.44 \pm 0.04	71(100), 55(86.96), 93(70.90), 69(63.15)	NIST
15	(E)- Tagetona ¹	6752-80-3	6.85 \pm 0.08	6.83 \pm 0	95(100), 67(92.94)	NIST PubChem
16	(Z)- Tagetona ¹	3588-18-9	6.87 \pm 0.29	6.85 \pm 0	67(100), 95(94.61)	NIST PubChem
17	Terpinen-4- ol ¹	562-74-3	7.24 \pm 0	7.23 \pm 0	71(100), 93(68.90), 111(46.94)	NIST
18	Terpineol ¹	900411-59-6	----	7.34 \pm 0	59(100), 93(76.49), 121(43.96)	NIST

19	(Z)- Tagetenona ¹	33746- 71-3	7.70± 0.06	7.69 ± 0	135(100), 107(42.32)	NIST PubChem
20	(E)- Tagetenona ¹	33746- 72-4	7.70 ± 0.07	7.69 ± 0.07	135(100), 107(42.32)	NIST PubChem
21	Kessano ²	3321-66- 2	8.23 ± 0.16	----	108(881), 109 (333)	NIST PubChem
22	Cariofileno ²	87-44-5	----	9.53 ± 0	91(100), 69(83.76), 67(78.26), 133(77.84) 93(70.61)	NIST PubChem
23	<i>Cis</i> - Cariofileno ²	13877- 93-5	9.54 ± 0	----	91 (506), 93(779), 69 (730)	NIST PubChem
24	<i>Trans</i> - Cariofileno ²	87-44-5	9.54 ± 0	----	91 (858), 93(999), 69 (754)	NIST PubChem
25	β-Copaeno ²	900374- 18-9	10.02 ± 0	----	105(100), 91 (79.60), 161 (69.52)	NIST
26	(E)-β- Farneseno ²	18794- 84-8	----	10.21 ± 0	69(100), 93(68.34), 55(57.30), 79(56.79), 67(48.62)	NIST PubChem
27	Nerolidol ²	900285- 43-6	10.59 ± 0	----	69(100), 55 (68.06), 93 (54.21)	NIST

#: número de compuesto. Tipo de compuesto: ¹ = monoterpeneo ² = sesquiterpeneo. CAS: Número del Chemical Abstract Service TR ± SD: tiempo de retención en minutos ± desviación estándar del TR de las repeticiones en las poblaciones. P.F.: Patrón de fragmentación. Ref: referencias

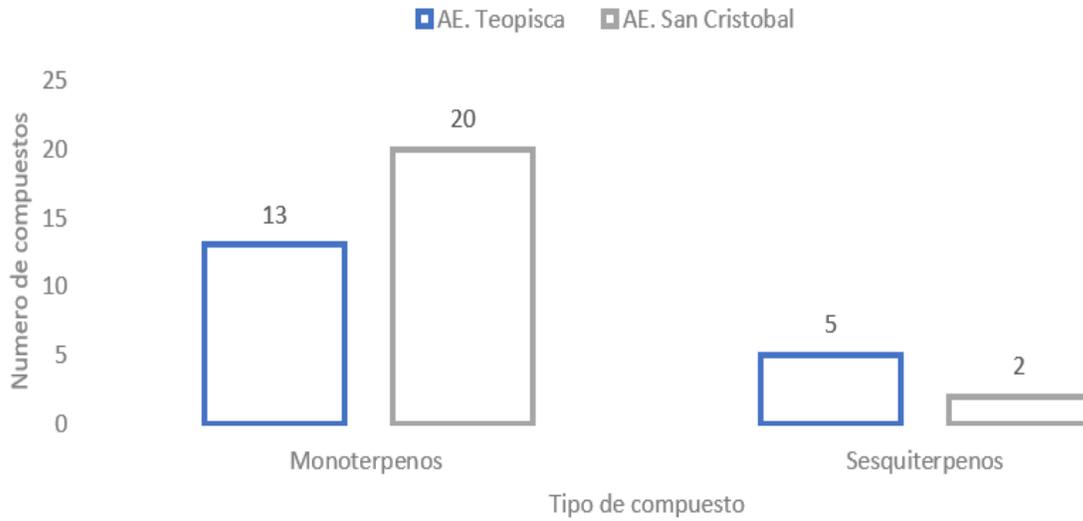


Figura 10. Tipo y número de compuestos identificados en los aceites esenciales de las poblaciones evaluadas

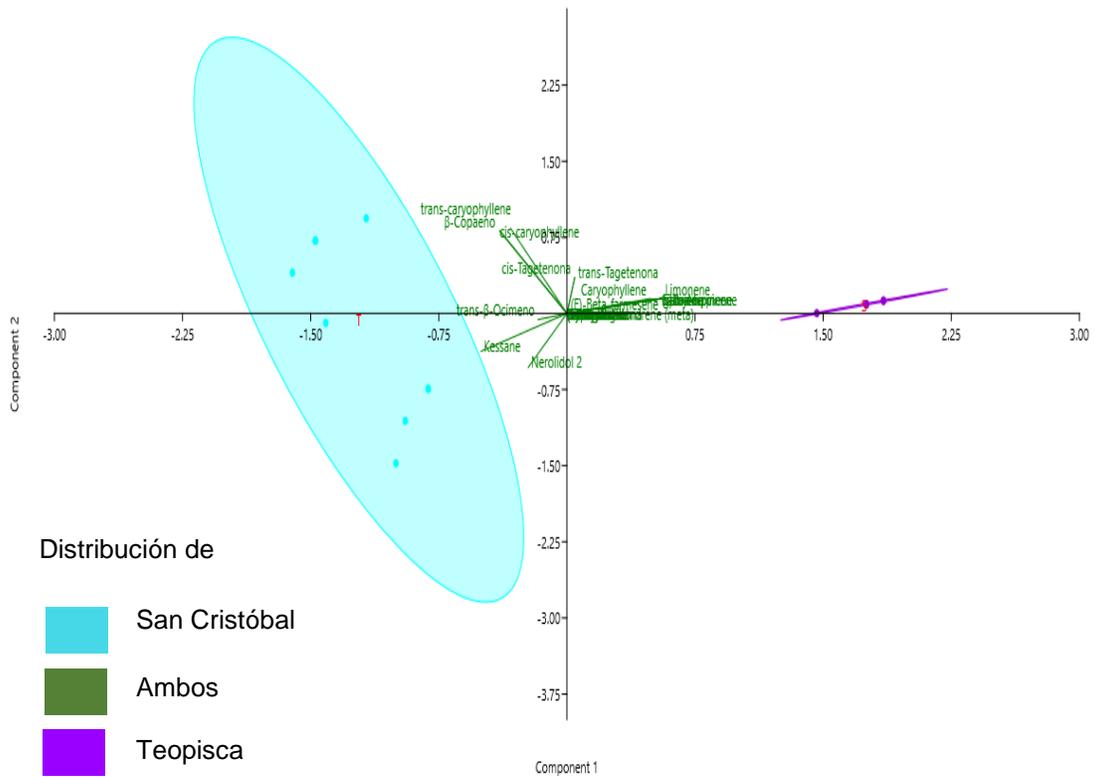


Figura 11. Análisis de PCA. Distribución de compuestos entre las dos poblaciones

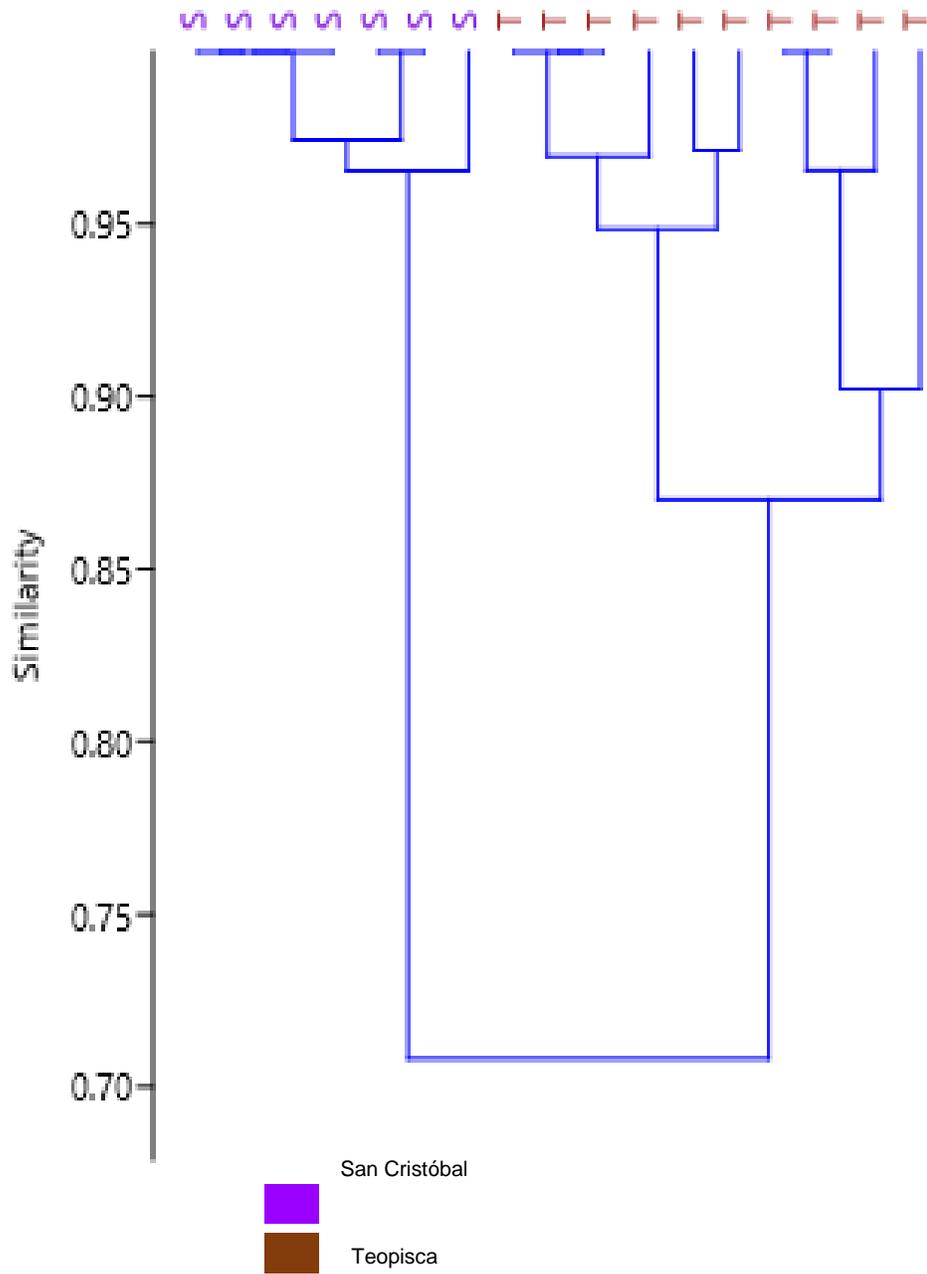


Figura 12. Análisis de grupos. Similitud de entre compuestos de los AE de las poblaciones de Teopisca y San Cristóbal

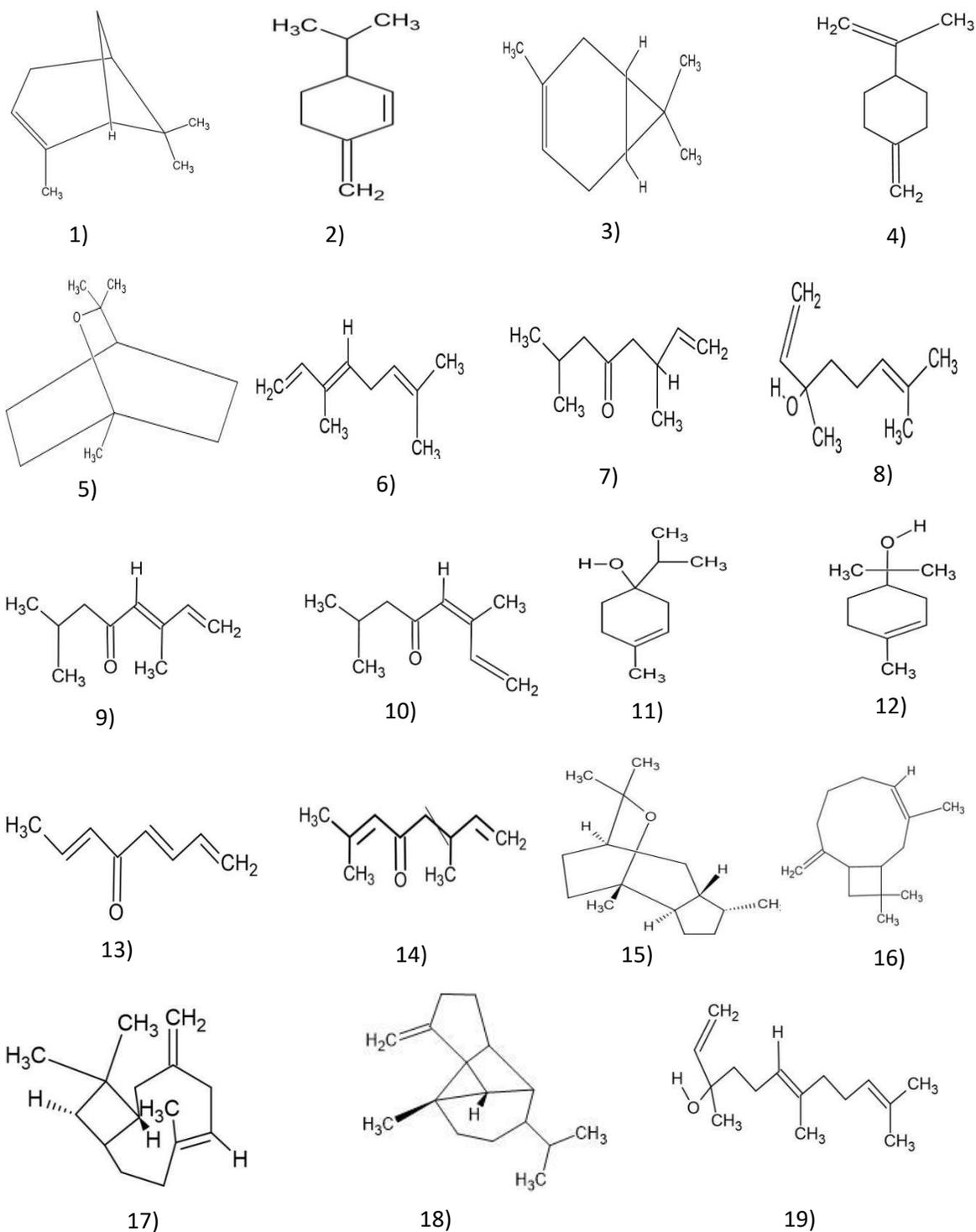


Figura 13. Compuestos presentes en los AE de *T. nelsonii* de Teopisca. 1) α -Pineno; 2) Beta-phellallandrene; 3) 3-carene; 4) P-Menthadien; 5) Eucalyptol; 6) trans- β -Ocimeno; 7) Dihidrotagetona; 8) Linalool; 9) (E)-Tagetona; 10) (Z)-Tagetona; 11) Terpinen-4-ol; 12) α -terpineol; 13) cis-Tagetenona; 14) trans-Tagetenona; 15) Kessane; 16) cis-caryophyllene; 17) trans-caryophyllene; 18) β -Copaeno; 19)

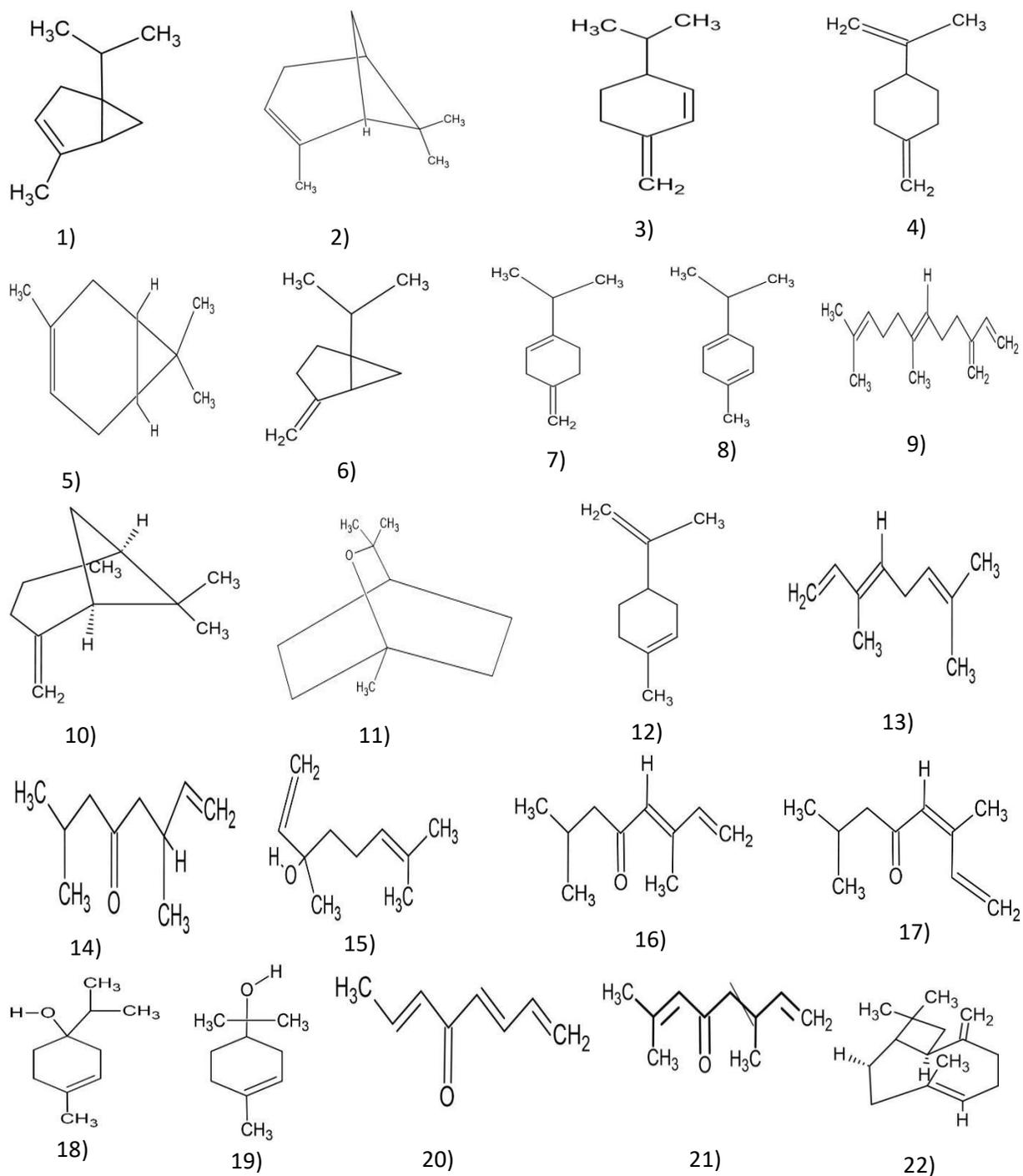


Figura 14. Compuestos presentes en los AE de *T. nelsonii* de San Cristóbal. 1) α -Tujeno; 2) α -Pinoeno; 3) Beta-phellallandrene; 4) P-Menthadien; 5) 3-carene; 6) Sabinene; 7) beta terpinene; 8) gamma terpinene; 9) (-)-beta-pinene; 10) Eucalyptol; 11) Limoneno; 12) trans- β -Ocimeno; 13) Dihidrotagetona; 14) Linalool; 15) (E)-Tagetona; 16) (Z)-Tagetona; 17) Terpinen-4-ol; 18) Terpeneol; 19) cis-Tagetenona; 20) trans-Tagetenona; 21) Caryophyllene; 22) (E)-Beta-farnesene

8.4. Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de las hojas *Tagetes nelsonii*.

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales fue evaluada por el método de microdilución en caldo (Figura 15) que determina la potencia mediante la concentración mínima inhibitoria (CIM) y el efecto bactericida o bacteriostático mediante la resiembra en agar de la bacterias expuestas a los AE para obtener la concentración bactericida mínima (CBM).

Los AE foliares de *T. nelsonii* de las dos poblaciones inhibieron a todos los microorganismos patógenos evaluados (cinco bacterias y un hongo levaduriforme) con potencia y efectos distintos sobre cada organismo (Cuadro 6).

Las bacterias más susceptibles fueron *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* Typhi dado que los AE foliares provocaron una CIM de 10 y 20 mg.mL⁻¹; sobre *S. aureus* y *S. Typhi* detuvieron el crecimiento a 20 mg.mL⁻¹. Las bacterias con menor sensibilidad fueron *Staphylococcus epidermidis* y *Shigella sonnei* que tuvieron una CIM de 40 mg. mL⁻¹ con ambos AE. Para *S. aureus* y *S. Typhi* el efecto fue bactericida, ya que no hubo crecimiento bacteriano después de resembrar las bacterias que fueron expuestas a los aceites, sin embargo, para *S. epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *S. sonnei* el efecto fue bacteriostático dado que después de la exposición a los aceites y resembradas en agar, las bacterias crecieron.

Los AE de *T. nelsonii* también mostraron capacidad inhibitoria sobre el hongo *Candida albicans* con una CIM de 20 mg.mL⁻¹ y un efecto fungicida.

Por tanto, se encontraron diferencias en la potencia de los AE entre los sitios de recolecta sobre *S. aureus* y *P. aeruginosa*, sobre la primera el AE de Teopisca fue más potente y sobre la segunda el AE de las plantas recolectadas en San Cristóbal. En tanto que la potencia fue similar entre los AE para las bacterias *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*, *S. sonnei* y para la levadura *C. albicans*.

Cuadro 6. Efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de *Tagetes nelsonii*.
 Concentración mínima inhibitoria (CIM) y Concentración bactericida
 mínima (CBM) en mg.mL⁻¹

Bacteria	Aceite esencial	CIM	CBM	Efecto
<i>Staphylococcus aureus</i>	Teopisca	10	----	Bactericida
<i>Staphylococcus aureus</i>	San Cristóbal	20	----	Bactericida
<i>Staphylococcus epidemicus</i>	Teopisca	40	40	Bacteriostático
<i>Staphylococcus epidemicus</i>	San Cristóbal	40	40	Bacteriostático
<i>Salmonella Typhi</i>	Teopisca	20	----	Bactericida
<i>Salmonella Typhi</i>	San Cristóbal	20	----	Bactericida
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Teopisca	40	40	Bacteriostático
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	San Cristóbal	20	20	Bacteriostático
<i>Shigella sonnei</i>	Teopisca	40	40	Bacteriostático
<i>Shigella sonnei</i>	San Cristóbal	40	40	Bacteriostático
<i>Candida albicans</i>	Teopisca	20	----	Fungicida
<i>Candida albicans</i>	San Cristóbal	20	----	Fungicida

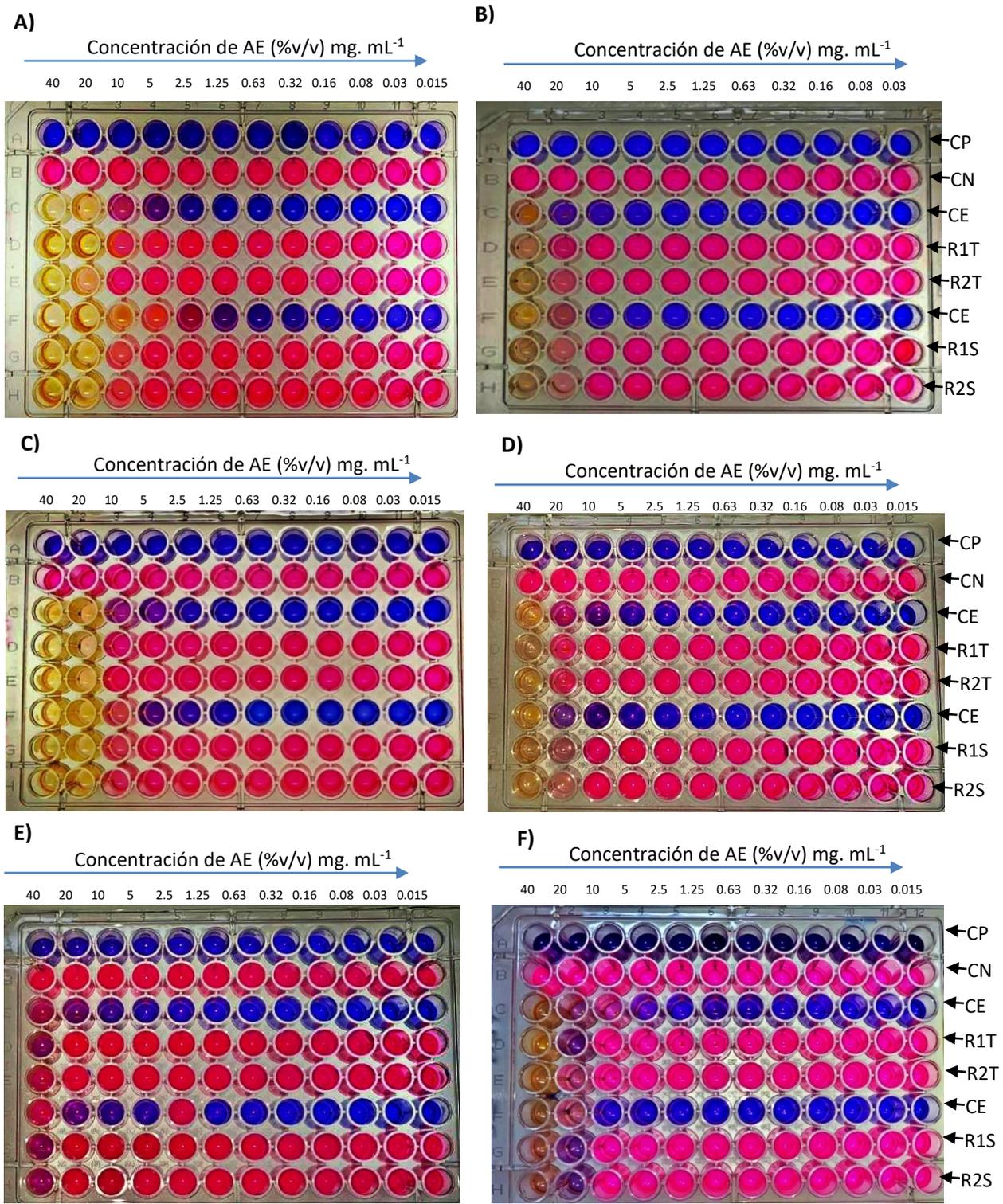


Figura 15. Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *T. nelsonii*. A) *Staphylococcus aureus*; B) *S. epidermidis*; C) *Salmonella Typhi*; D) *Pseudomonas aeruginosa*; E) *Shigella sonnei*; F) *Candida albicans*. CP: control positivo; CN: control negativo; CE: control de esterilidad; R1T: Repetición uno Teopisca; R1T: Repetición dos Teopisca; R1S: Repetición uno San Cristobal; R2S: Repetición dos San Cristóbal

IX. DISCUSIÓN

9.1. Rendimiento de aceites esenciales en las hojas de *Tagetes nelsonii*.

Los rendimientos promedios de los AE fueron similares en ambas zonas (Teopisca = 0.18% y San Cristóbal = 0.12%), se ha documentado que los aceites esenciales, en general, constituyen del 0.1 al 1% del peso seco de la planta (López-Luengo, 2004) y que la cantidad media de buenos rendimientos se encuentran en alrededor de 1 a 2% (Bandoni, 2000). En este estudio las hojas fueron extraídas en fresco, lo que supondría un rendimiento cuatro veces más alto en base seca, considerando que los tejidos vegetales frescos llegan a tener hasta un 75% de agua (Taiz y Zeiger, 2003), los rendimientos ascenderían a 0.48-0.72%. Además, hay ejemplares con producción más alta que el promedio, los cuales alcanzarían rendimientos de 1.12%, proporción considerada un buen rendimiento (López-Luengo, 2004).

Los rendimientos de las plantas recolectadas en las dos localidades difieren de los resultados obtenidos por Juárez-Raya (2016) quien reportó un rendimiento dos veces más alto (0.31%) para *T. nelsonii* recolectada también en San Cristóbal de las Casas en 2014, sin embargo, existen diferencias e inconsistencias reportadas por la autora, dado que el material vegetal consistió de una mezcla de hojas y flores secas, además, al momento de reportar la cantidad de aceite esencial se señala que se obtuvieron de una sola repetición 35 mg de 91.74 gramos de material botánico seco, lo que daría un rendimiento de 0.038% y no de 0.31%, es decir, el rendimiento es más bajo de lo reportado y por ende de 12 a 19 veces menos a los del presente estudio, considerando la base seca del material.

Reportes de otras especies del género señalan que algunas especies de *Tagetes* producen cantidades variables de AE, por ejemplo los tallos de *T. lucida* o la mezcla de tallos y hojas de *T. coronophylla* producen dos o tres veces menos (hasta 0.05 y 0.075% de AE en base fresca respectivamente) (Zarate-Escobedo *et al.*, 2018: Serrato y Zárate, 2015), otras tienen rendimientos cercanos, por ejemplo, las hojas y

tallos frescos de *T. filifolia* (0.25%), *T. lancera* (0.125%) y *T. terniflora* (0.125%) (Serrato y Zapata, 2015).

Los rendimientos similares de los aceites esenciales de *T. nelsonii* en Teopisca y en San Cristóbal indicarían que el sitio donde habitan no resultó crítico para el volumen de producción, en contraste a ello, Zarate-Escobedo *et al.* (2018) reportaron variaciones significativas en los rendimientos de los AE de *Tagetes lucida* entre plantas de la región norte del Estado de México (0.01 a 0.07 %) y de la región del sur (0.005 a 0.02 %). Quizá entonces valdría explorar otros nichos ecológicos en Chiapas para confirmar si el volumen de producción en *T. nelsonii* es constante.

9.2. Composición química de los aceites esenciales de las hojas de *T. nelsonii*.

El análisis de cromatografía de capa fina permitió diferenciar en número y abundancia los compuestos que constituyen los AE de *T. nelsonii*. Se observó la presencia de un mayor número de compuestos en los AE de las plantas de San Cristóbal que en los individuos de Teopisca, con 11 y 7 compuestos respectivamente (Figura 6). Como se ha documentado, el metabolismo secundario de las plantas es dinámico, se rige por factores genéticos y se modula por las condiciones en las que estas se encuentren. La biosíntesis y acumulación de metabolitos secundarios (con funciones principalmente protectoras y defensivas) se considera un proceso dinámico en la resistencia (adaptación) y tolerancia (aclimatación) de las plantas (Fineblum *et al.*, 1995; Anaya, 2003). Ese marco conceptual sugiere entonces que los cambios en el número de compuestos en la composición química de *T. nelsonii* se deberían atribuir a las condiciones ambientales en las que se encuentran cada individuo en las dos poblaciones de estudio, más que a una fluctuación entre los individuos.

En cuanto a la abundancia de compuestos, algunos están en mayor proporción en una de las dos zonas de recolecta (compuesto 2 y 5), otros en menor proporción en ambas zonas (compuesto 7 y 9) y uno de ellos en igual proporción en las dos zonas de recolecta (compuesto 10) (Figuras 7 y 8). Tales resultados concuerdan con los obtenidos por Zarate-Escobedo *et al.* (2018) quienes compararon los compuestos de 14 poblaciones de *T. lucida* en el Estado de México, obteniendo compuestos con diferentes abundancias, por ejemplo los compuestos β -mirceno, β -

ocimeno y linalool se encontraron en los AE de todas las poblaciones de estudio, sin embargo existió diferencias en el compuesto β -mirreno que fue mayoritario en dos poblaciones (Coatepec Harinas y en Ixtapan de la Sal de 4.9 a 7.9 %) pero fue compuesto minoritario en el resto de las poblaciones, así como el β -ocimeno que fue mayoritario en gran parte de las poblaciones (6.27 a 24.91 %), pero minoritario en una sola población y por último el linalool también estuvo presente como compuesto minoritario (0.84 a 3.69 %). También concuerda con el AE de *T. tilifolia* reportado por Serrato-Cruz *et al.* (2008) quienes encontraron diferencias en la proporción de anetol y alilanol en los AE de la planta completa de siete regiones del centro-sur de México, 12.6% de las recolectas tuvieron más alilanol que anetol, 1.2% de recolectas tuvieron cantidades parecidas de ambos compuestos y el 86.2% de recolectas presentaron menos alilanol que anetol. Es decir, los resultados con *T. nelsonii* y otras especies del género indican que la diversidad bioquímica que da origen a la composición de los aceites esenciales se regula diferencialmente, cada compuesto que conforma el AE puede ser afectado o no por el ambiente.

Los análisis de componentes principales (PCA) revelaron la formación de tres grupos de compuestos en los AE de *T. nelsonii*: a) compuestos característicos de Teopisca, b) compuestos típicos de San Cristóbal y c) compuestos comunes de ambas localidades, confirmando la diversidad que suponen los datos estadísticos para cada población. Estos resultados concuerdan con los de Zygodlo *et al.* (1990) quienes evaluaron la variación los compuestos del AE en las poblaciones de *Tagetes minuta*, señalando una diferencia notable entre estas, en ambos casos estos resultados sugerirían que el conjunto de la diversidad expresa una respuesta de adaptación de las poblaciones, lo que resulta en una diversidad química sin variación morfológica y otra diversidad bioquímica mas plástica metabólicamente.

De forma particular, el compuesto C10 del AE de *T. nelsonii* que se encuentra en proporciones semejantes en ambas poblaciones, por lo que este compuesto podría representar un compuesto característico de la especie. Cuya naturaleza pudiera estar entre varios de los terpenos como hidrotagetonas, tagetonas, ocimenonas y piperitonas comunes en el género (Serrato-Cruz y Zapata, 2015).

9.3. Identificación de compuestos que constituyen los AE foliares de *T. nelsonii*.

Los compuestos de los AE de *T. nelsonii* son de naturaleza monoterpénica y sesquiterpénica (Cuadro 5), tal composición concuerda con la sistematización de la fitoquímica de Salehi *et al.* (2018) que sostiene que los AE de especies del género *Tagetes* son ricos en hidrocarburos monoterpénicos (ocimeno, limoneno, terpineno, mirceno entre los más frecuentes.) y en cetonas monoterpénicas acíclicas (tagetona, dihidrotagetona y tagetenona) como los principales odorantes, además de cantidades menores de hidrocarburos sesquiterpénicos y compuestos oxigenados. Muchos de los compuestos reportados en este trabajo para *T. nelsonii* como α -pineno, β -pineno, limoneno, eucaliptol, linalol y carofileno son componentes químicos representativos de la familia Asteraceae (Mena *et al.*, 2020), así como el limoneno, α -pineno, β -pineno, terpinoleno, (E)- β -ocimeno, dihidrotagetona, tagetona (isómeros (E) y (Z), tagetenona (isómeros (E) y (Z), β -cariofileno y eugenol lo son del género *Tagetes* (Salehi *et al.* 2018), es decir el perfil químico AE de *T. nelsonii* resguarda moléculas comunes de sus congéneres.

Los perfiles químicos de los AE de *T. nelsonii*, coincide parcialmente por el reportado por Cruz Flores *et al.* (2021) para la misma especie, en el cual los compuestos en mayor proporción fueron (E)-tagetona (43.9%) y dihidrotagetona (20.7%), seguidos por trans- β -ocimeno, eucaliptol, limoneno y β -cubebeno, solo el último no se identificó en este trabajo. Cruz Flores *et al.* (2021) reportó además 56 compuestos que difieren con los 27 compuestos identificados aquí, se sugiere que tales diferencias pueden ser debido al método de extracción del AE ya que Cruz Flores *et al.* (2021) utilizó la técnica de microextracción en fase sólida (SPME) la cual captura con mayor eficiencia los volátiles del aroma, sin embargo, la cantidad que se obtiene es mínima (nanogramos) y no permite la evaluación biológica (Merkle *et al.*, 2015).

Los resultados de los análisis multivariados de varianza permutacional del perfil químico identificado indican que los AE de las dos poblaciones tienen diferencias significativas en cuanto a su composición química. Hasta ahora no hay

estudios que comparen la composición química de los AE de *T. nelsonii* sin embargo, dentro de las especies del género, se han realizado comparativas inter poblacionales en los que sí se encontraron diferencias en la composición química de los AE entre poblaciones (Zarate-Escobedo *et al.*, 2018) y también diferencias en especies fuera del género (Muñoz-Concha *et al.*, 2004; van Baren *et al.*, 2010; Debbabi *et al.*, 2020).

El análisis de grupos y el PCA de la composición química de los AE de ambas poblaciones permiten separar las poblaciones por el número y la proporción de compuestos, que pudieran representar a poblaciones quimiotipos, por ejemplo, Duran *et al.* (2007) con el AE de *Lippia alba* distinguieron tres quimiotipos provenientes de 15 poblaciones. Kazemeini *et al.* (2021) por su parte demostraron que el contenido de AE y su variabilidad en siete poblaciones naturales de *Rhabdosciadium aucheritiene* en Irán se agruparon en cuatro quimiotipos, estos estudios y el de *T. nelsonii* concluirían que la variabilidad de los compuestos químicos observada entre diferentes poblaciones podría deberse a algunos factores ecológicos, geográficos y genéticos.

9.4. Actividad antimicrobiana de los AE de *T. nelsonii*, inferencias de su composición química.

Tagetes nelsonii ha recibido atención en relación a su actividad antimicrobiana mucho más con extractos orgánicos que con sus aceites esenciales (Viveros-Valdez *et al.* 2013, Espinoza-Ruiz *et al.* 2013; Juárez-Raya, 2016).

A diferencia de la actividad antimicrobiana demostrada aquí, Juárez-Raya (2016) reportó actividad nula para extractos orgánicos y positiva para AE pero a concentraciones elevadas (250 μ L-125 μ L) frente a *C. albicans*, *S. aureus* y *E. coli*; la diferencia puede ser atribuida al periodo de recolecta de las plantas, ya que el material vegetal provino de momentos antes o a finales de la floración, mientras que en este estudio se recolectó en plena floración, es decir la época y/o estado fenológico de recolección pudieron influir en la cantidad de los principios activos que se reflejó en la potencia inhibitoria.

Particularmente, se observó que sobre las bacterias *S. aureus* y *P. aeruginosa* existió una diferencia en la potencia antimicrobiana (CIM) entre los AE de las dos poblaciones. Similarmente Walia *et al.* (2020) obtuvieron diferencias en la actividad antimicrobiana y composición química de los AE de *Tagetes minuta* en 16 poblaciones, por lo que se puede sugerir que las diferencias antimicrobianas observadas en *Tagetes* pudieran ser atribuidas a moléculas exclusivas de los AE, por ejemplo el AE de Teopisca que fue más potente sobre *S. aureus* tiene entre sus compuestos exclusivos a kessano, cis-cariofileno, β -copaeno, nerolidol 2 y el AE de San Cristóbal que fue más potente sobre *P. aeruginosa* tuvo compuestos exclusivos como α -tujeno, sabineno, eucaliptol, limoneno.

Tales diferencias se ha sugerido que pudieran deberse a las diferencias entre las membranas de las bacterias. Las bacterias Gram-negativas tienen una envoltura que consta de tres capas: membrana externa (ME), pared celular y membrana interna. La ME es una característica protectora y única que distingue a las bacterias Gram-negativas de las Gram-positivas. Esta ME es la razón principal de la resistencia a varios antibióticos. La mayoría de los antibióticos deben atravesar la membrana externa, los fármacos hidrófobos (aceites esenciales) deben atravesar una vía de difusión y los antibióticos hidrófilos (betalactámicos) deben atravesar las porinas y se les dificulta atravesar la membrana externa. Las bacterias grampositivas carecen de esta capa, lo que las hace mas suceptibles (Breijyeh *et al.* 2020). Sin embargo, tal argumento, no es tan determinante en este estudio, ya que especies Gram-positivas obtuvieron una CIM elevada (*S. epidemidis*) y *S. aureus* (Gram-positiva) obtuvo las CIM mas bajas, mientras que *P. aeruginosa* (Gram-negativa) presenta variaciones entre AE de ambas zonas, es decir las variaciones parecen estar mas asociadas a la composición química que a las diferencias entre tipos de membranas y paredes celulares entre bacterias gramnegativas y positivas.

En contraparte, las semejanzas en la actividad antimicrobiana también se pueden atribuir al perfil químico del AE, en este caso, a la presencia de compuestos comunes en ambas poblaciones (α -pineno, 3-careno, eucaliptol, *trans*- β -ocimeno, dihidrotagetona, linalool, *cis*-tagetona, *cis*-tagetenona) .

X. CONCLUSIONES

Los rendimientos de los aceites esenciales de las hojas de *Tagetes nelsonii* (0.1-1% del peso seco) colocan a esta especie como una de las de mayor producción en su género. Este volumen de producción fue constante en las poblaciones evaluadas.

La composición química de los aceites esenciales (AE) de *T. nelsonii* muestran diferencias en el número de compuestos entre ambas zonas de recolecta. Los compuestos son completamente de origen terpénico, los monoterpenos fueron más numerosos que los sesquiterpenos.

Las poblaciones de *T. nelsonii* cuentan con compuestos característicos y comunes, el AE de Teopisca se caracteriza por la presencia de kessano, cis-cariofileno, β -copaeno, nerolidol 2 y el AE de San Cristobal por las moléculas de α -tujeno, sabineno, eucaliptol, limoneno. El α -pineno, dihidrotagetona y linalool fueron compuestos en común entre las plantas de ambas comunidades.

Los AE de ambas zonas de recolectas presentaron actividad inhibitoria sobre seis microorganismos patógenos. *Staphylococcus aureus* y *Salmonella Typhi* fueron las bacterias más sensibles a los AE de *T. nelsonii*.

La potencia inhibitoria de los AE sobre *S.* y *Pseudomonas aeruginosa* fue diferente entre las regiones de recolecta y similar sobre las bacterias *S. Typhi*, *Shigella sonnei* y *Staphylococcus epidemidis* y sobre la levadura *Candida albicans*.

Se observaron diferencias en el perfil químico y la actividad antimicrobiana de las dos poblaciones, lo que indica que los factores ambientales a las que están expuestas interfieren directamente en la biosíntesis de metabolitos secundarios, particularmente en la producción de principios antibacterianos de *T. nelsonii*.

Los hallazgos encontrados señalan a *Tagetes nelsonii* como una planta aromática con propiedades antimicrobianas que consolidan su uso en la medicina tradicional de Chiapas y con perspectivas en la búsqueda de nuevas moléculas que sean una alternativa en el desarrollo de principios activos sobre microorganismos patógenos.

XI. PROPUESTAS Y RECOMENDACIONES

Tagetes nelsonii es una planta con potencial antimicrobiano que forma parte de la riqueza fitoquímica del estado de Chiapas. Los resultados de esta investigación contribuyen a la generación de conocimiento en el ámbito químico y microbiológico de esta planta nativa, para profundizar en ellos, es necesario realizar estudios tomando en cuenta más poblaciones y estados fenológicos evaluando rendimiento, actividad biológica y composición química. En particular, explorar mayor número de microorganismos potencialmente susceptibles. También es necesario determinar los quimiotipos, asociados a las condiciones ambientales (temperatura, precipitaciones, radiación, altitud) y fenológicas.

Esto contribuiría al desarrollo de métodos que permitan el aprovechamiento sustentable de esta riqueza vegetal que a su vez proporcionen argumentos que eviten la sobreexplotación y contribuyan a la protección de los ecosistemas en donde habita esta especie.

XII. REFERENCIAS DOCUMENTALES

- Albergaria, E. T., Oliveira, A. F. M., y Albuquerque, U. P. 2020. The effect of water deficit stress on the composition of phenolic compounds in medicinal plants. *South African Journal of Botany*. 131: 12-17.
- Alfaro-Mora, R. 2018. Aspectos relevantes sobre *Salmonella* sp en humanos. *Revista Cubana de Medicina General Integral*. 3 (34): 110-122.
- Algorta, G., Amorin, B., Arbiza, J. R. y Barrios, P. 2008. Temas de bacteriología y virología médica. 3ra. Ed. Editorial Oficina del Libro FEFMUR. Montevideo, Uruguay. Pp: 25-28.
- Andrews, J. M. 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 49 (6):1049.
- Armas, K., Rojas, J. y Peña, J. 2013. Características botánicas, distribución geográfica y propiedades biológicas de varias especies del género *Tagetes* L. (Asteraceae). *Revista de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Los Andes*. 1 (55): 26-41
- Armas, K., Rojas, J., Rojas, I. y Morales, A. 2012. Comparative Study of the Chemical Composition of Essential Oils of Five *Tagetes* Species Collected in Venezuela. *Natural Product Communications*. 9 (7): 1225-1226
- Ávalos-García, A. y Pérez-Urria Carril, E. 2009. Metabolismo secundario de plantas. *Revista Reduca (Biología)*. 3(2): 119-145.
- Azcón-Bieto, J. y Talón, M. 2013. Fundamentos de fisiología vegetal. 2ª edición. Ed. Mc Graw-Hill. Madrid, España.
- Baldeón-Ordoñez, X. R. 2011. Actividad insecticida de los aceites esenciales de *Tagetes minuta*, *Tagetes terniflora* y *Tagetes zipaquerensis* sobre *Premnotrypes vorax*. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador.

- Bandoni, A. 2000. Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica. Ed. Ciencia y Tecnología para el Desarrollo CYTED. La Plata, Argentina.
- Berlin, B. 2015. Droplet Diarrhea. En: Berlin, E. A., Berlin, B., Lozoya, X., Breedlove, D. E., Meckes, M., Villarreal, M. L., Tortoriello, J., Ricárdez, J. R., Maffi, L., de Guadalupe Rodríguez, M., Castille, D. y Laughlin, R. M. (Eds.). Medical ethnobiology of the highland Maya of Chiapas, México. Ed. Princeton University Press. Princeton, New Jersey, USA. Pp. 236-249.
- Brejijeh, Z., Jubeh, B., y Karaman, R. 2020. Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It. *Molecules*. 25 (6): 1340.
- Calva, E. s.d. *Salmonella typhi* y la fiebre tifoidea: de la biología molecular a la salud pública. Instituto de Biotecnología, UNAM. <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap4/#:~:text=es%20m%C3%A1s%20alta.,La%20S.,de%20crecimiento%20es%20de%2037oC>. Consultado el 20 de abril de 2022.
- Carod-Artal, F. J. y Vázquez-Cabrera, C. 2007. An Anthropological Study About Headache and Migraine in Native Cultures From Central and South America. Headache: *The Journal of Head and Face Pain*. 47 (6): 834–841.
- Cavaliere, S. J., Harbeck R. J., McCarter Y. S., Ortez J. H., Rankin I. D., Sautter R. L., Sharp S. E. y Spiegel C. A. 2005. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. *American Society for Microbiology*. Seattle, Washington.
- Cervantes-García, E., García-González, R. y Salazar-Schettino, P.M. 2014. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medica de Laboratorio*. 61 (1): 28-40
- Chamorro, E. R., Ballerini G., Sequeira A.F., Velasco G.A., Zalazar M.F. 2008. Chemical composition of essential oil from *Tagetes minuta* leaves and flowers. *Journal of the Argentine Chemical Society*. 96: 80–86.

- Cona, T. E. 2002. Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante el test de difusión en agar. *Revista Chilena de Infectología*. 19: 77-81.
- Concha-Galindo, A. E. 2017. Caracterización de los principales compuestos extraíbles de la chilchahua (*Tagetes nelsonii* Greenm). Tesis de Licenciatura. Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas. Instituto Politécnico Nacional. Ciudad de México.
- Cruz Flores, O., Espinoza Ruiz, M., Santiesteban Hernández, A. Y Cruz-López, L. 2021. Caracterización química de los volátiles de *Tagetes nelsonii*. *Polibotánica*. 5: 203-211.
- De la Cruz-Jiménez, L., Guzmán-Lucio, M. y Viveros-Valdez, E. 2014. Plantas medicinales tradicionales utilizadas para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales en Chiapas, México. *Revista Mundial de Ciencias Aplicadas*. 4 (31): 508-515.
- Debbabi, H., El Mokni, R., Nardoni, S., Chaieb, I., Maggi, F., Nzekoue, F. K., Hammami, S. 2020. Chemical diversity and biological activities of essential oils from native populations of *Clinopodium menthifolium* subsp. *ascendens* (Jord.) Govaerts. *Environmental Science and Pollution Research*. 28 (11): 13624-13633.
- Deshmukh, R., Chalasani, A. G., Chattopadhyay, D., y Roy, U. 2021. Ultrastructural changes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) induced by a novel cyclic peptide ASP-1 from *Bacillus subtilis*: A scanning electron microscopy (SEM) study. *Revista Argentina de Microbiología*. 4 (53): 281-286.
- Dewick, P.M. 2009. Secondary metabolism: the building blocks and construction mechanisms. En: Dewick, P.M. (Eds.). Medicinal natural products. A biosynthetic approach. 3er ed. John Wiley & Sons Ltd. Chichester, England. Pp. 7-34.
- Dhas, T. S., Sowmiya, P., Kumar, V. G., Ravi, M., Suthindhiran, K., Borgio, J. F. Narendrakumard, V., RameshKumard V. Karthick y Kumar, C. M. V. 2020.

Antimicrobial effect of *Sargassum plagiophyllum* mediated gold nanoparticles on *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 26: 2-8

Díaz Cedillo, F., Serrato Cruz M. A., Arce Montoya, M. y León de la Luz, J. 2012. Composición del aceite esencial de *Tagetes lacera*, planta endémica de Baja California Sur, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 83: 543- 547.

Díaz-Cedillo, F. Serrato-Cruz, M. A., de la Cruz-Marcial, J., Sánchez-Alonso, M. G., y López-Morales, V. 2013. Compuestos mayoritarios del aceite esencial en órganos de una población de *Tagetes coronopifolia* Willd. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 4 (36): 405-411.

Díaz-Cedillo, Francisco, & Serrato-Cruz, Miguel A. 2011. Composición del aceite esencial de *Tagetes parryi* A. Gray. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 2 (34): 145-148.

Diggle, S. P. y Whiteley M. 2020. Microbe profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology*. 166 (1): 30-33.

Djerrad, Z., L. Kadik y Djouahri, A. 2015. Chemical variability and antioxidant activities among *Pinus halepensis* Mill. Essential oils provenances, depending on geographic variation and environmental conditions. *Industrial Crops and Products*. 74: 440-449.

Durán, G. D., Monsalve, L. A., Martínez, J. R. y Stashenko, E. E. 2007. Estudio comparativo de la composición química de aceites esenciales de *Lippia alba* provenientes de diferentes regiones de Colombia, y efecto del tiempo de destilación sobre la composición del aceite. *Scientia Et Technica*. 33 (13): 435-438.

Elemfareji, O. I. y Thong, K. L. 2013. Virulotipado comparativo de *Salmonella typhi* y *Salmonella enteritidis*. *Revista India de Microbiología*. (53): 410– 417.

Espinoza Ruíz, M., Palomeque Rodas, M. A., Salazar Sandoval, I., Domínguez Arrevillaga, S. y Canseco Ávila, L. M. 2009. Análisis preliminar de la actividad

antimicrobiana de la planta medicinal Chik chawa (*Tagetes nelsonii* Greenm.). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 4 (14).

Espinoza-Ruiz, M., Cruz-Flores, O., González-Esquinca, A. R., Canseco-Ávila, L. M., Trujillo-Murillo, K. C., Lugo-Trampe, A., Domínguez-Arrevillaga, S. y Ulloa-García, A. 2013. Estudio farmacognóstico y bacteriológico de *Tagetes Nelsonii* Greenm. *Revista HYGEIA*. 4 (3): 29-42.

Fineblum, W., Rausher, M. 1995. Tradeoff between resistance and tolerance to herbivore damage in a morning glory. *Nature*. 377: 517-520.

Foster, T. 2002. *Staphylococcus aureus*. *Molecular Medical Microbiology*. 2: 839-888.

García-Sánchez, F., López-Villafranco, M. E., Aguilar-Rodríguez, S. y Aguilar-Contreras, A. 2012. Etnobotánica y morfo-anatomía comparada de tres especies de *Tagetes* que se utilizan en Nicolás Romero, Estado de México. *Botanical Sciences*. 3 (90): 221-232.

Gibbons, S. 2012. An introduction to planar chromatography and its application to natural products isolation. En: Satyajit D. Sarker and Lutfun Nahar (eds.). *Natural Products Isolation*. 3er. Ed. Humana Totowa. Nueva Jersey. Pp. 117-153.

Gila, A., Ghersa, C. M. y Leicach, S. 2000. Essential oil yield and composition of *Tagetes minuta* accessions from Argentina. *Biochemical Systematics and Ecology*. 28: 261–274.

Guevara, G. J. M., Cipriani, R., Giraldo, D., Mezarina, E., Sánchez, I., Villagómez, Z., Antezana, A., Alagón, R. y Carranza, R. 2014. *Shigella sonnei*: ¿Se está produciendo un cambio en nuestro medio?. *Anales de la Facultad de Medicina*. 2 (75): 189-191.

Harvey, R. A., Champe, P. C. y Fisher, B. D. 2008. *Microbiología*. 2a. ed. Editorial Wolters Kluwer Health. Barcelona, España.

Hernández-Rodríguez, Z. G. 2019. Asociaciones fenológicas y estacionales de volátiles de las resinas de *Bursera simaruba* (L.) Sarg. y *Bursera tomentosa*

(Jacq.) Triana & Planch. Tesis de Maestría. Instituto de Ciencias Biológicas. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.

Hiller, E., Heine, S., Brunner, H. y Rupp, S. 2007. *Candida albicans* Sun41p, a putative glycosidase, is involved in morphogenesis, cell wall biogenesis, and biofilm formation. *Eukaryotic Cell*. 11 (6): 2056–2065.

Huaraca-Aparco, R., Delgado Laime, M. C. y Tapia Tadeo, F. 2021. Metabolitos bioactivos y actividad antioxidante in vitro del aceite esencial extraído de dos especies del género *Tagetes*. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*. 3 (50): 726-739.

Iglewski B. H. 1996. *Pseudomonas*. En: Barón S. (Eds.). Microbiología médica. 4ª edición. Galveston (TX): rama médica de la Universidad de Texas en Galveston. Texas, USA.

INAFED. 2010. Estado de Chiapas; Municipio de Teopisca. <http://www.snim.rami.gob.mx/#:~:text=El%20Sistema%20Nacional%20de%20Informaci%C3%B3n,datos%20de%20contacto%20de%20alcaldes>. Consultado el 31 de octubre del 2021.

INAFED. s.d. Enciclopedia de los municipios y delegaciones de México, estado de Chiapas, Teopisca. <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM07chiapas/municipios/07094a.html>. Consultado el 25 de octubre del 2021.

INEGI. 1992. San Cristóbal de las Casas, cuaderno de información básica para la planeación municipal México. http://internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/historicos/1334/702825921408/702825921408_1.pdf. Consultado el 31 de octubre del 2021.

- IUPAC.1997. Compendio de terminología química. En: A. D., McNaught y A., Wilkinson (Eds.). 2ª ed. El "Libro de Oro". Publicaciones científicas de Blackwell. Oxford.
- Juárez-Raya, M. C. 2016. Determinación de actividad antimicrobiana de los extractos de *Tagetes nelsonii* Greenm. Tesis de Licenciatura. Facultad de estudios superiores de Cuatitlan. Universidad Autónoma de México. Cuatitlan Izcalli, Estado de México, México.
- Katinas, L., Gutiérrez, D. G., Grossi, M. A. Y Crisci, J. V. 2007. Panorama de la familia Asteraceae (= Compositae) en la República Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*. 42 (2): 113-129.
- Kazemeini, F., Asri, Y., Mostafavi, G., Kalvandi, R., y Mehregan, I. 2021. Chemical compositions of the essential oils from Iranian populations of *Rhabdosciadium aucheri* Boiss. (Apiaceae). *Natural Product Research*. 36 (14): 1-6.
- Kipnis, E., Sawa, T. y Wiener-Kronish, J. 2006. Targeting mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 36 (2): 78–91.
- Liébana-Ureña, J. 2002. Microbiología Oral. 2da. Editorial McGraw- Hill. España.
- Lima, B., Agüero, M. B., Zygadlo, J. A., Tapia, A., Solis, C., Rojas de Arias, A., Yaluff G., Zacchino, S., Feresin, G. E. y Schmeda-Hirschmann, G. 2009. Antimicrobial activity of extracts, essential oil and metabolites obtained from *Tagetes mendocina*. *Journal of the Chilean Chemical Society*. 1(54): 68–72.
- Lira-Gómez, C. F. 2019. *Shigella sonnei*: características, morfología, ciclo de vida, enfermedades. Lifeder. <https://www.lifeder.com/shigella-sonnei/>. Consultado el 29 de octubre de 2022.
- Lizarbe-Iracheta, A. 2009. Bacterias y virus ¿cómo nos defendemos?. *Revista Real de la Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. 1(103): 115-172.

- López Arias, C. A. 2016. (*Artemisia ludoviciana* subsp. mexicana) sobre una cepa de *Escherichia coli*. Tesis de Licenciatura. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma de Chapingo. México.
- López, S. B., López, M. L., Aragon, L. M., Tereschuk, M. L., Slanis, A. C., Feresin, G. E., Zygadlo, J. A. y Tapia, A. A. 2011. Composition and anti-insect activity of essential oils from *Tagetes* L. Species (Asteraceae, Helenieae) on *Ceratitis capitata* Wiedemann and *Triatoma infestans* Klug. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59: 5286-5292.
- López-Ávila, K. Dzul-Rosado, K. R, Lugo-Caballero, C., Arias_León, J. J. y Zavala-Castro, J. E. 2016. Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. Una revisión. *Revista Biomedica*. 27 (3):127-136.
- López-Luengo, M. T. 2004. Los aceites esenciales: aplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias. *OFFARM*. 3 (27): 88-91.
- Mallick, B., Mondal, P. y Dutta, M. 2021. Caracterización morfológica, biológica y genómica de un fago lítico Sfk20 recién aislado que infecta a *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei* y *Shigella dysenteriae*¹. *Scientific Reports*. 11 (1): 19313.
- Marotti, M., Piccaglia, R., Biavati, B., y Marotti, I. 2004. Characterization and yield evaluation of essential oils from different *Tagetes* Species. *Journal of Essential Oil Research*. 5 (16): 440–444.
- Martínez, A. 1996. Aceites esenciales. *Journal of Natural Products*. 1 (59): 77-79.
- Medvedeff, M. G., Chade, M. E., Mereles, B. E. y Vedoya, M. C. 2008. Identificación de hongos levaduriformes de interés médico. Editorial Universitaria de la Universidad Nacional de Misiones. Argentina.
- Mena P. C., Bolívar Silva, L. y Medina, A. 2020. Composición química y actividad biológica de los aceites esenciales de Lamiaceas, Asteraceas, Vervenaceas: una revisión. *INFOANALÍTICA*. 2 (8).
- Mendoza, M. 2005. Importancia de la identificación de levaduras. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 1 (25): 15-23.

- Merkle, S., Kleeberg, K. y Fritsche, J. 2015. Recent Developments and Applications of Solid Phase Microextraction (SPME) in food and environmental analysis. A review. *Chromatography*. 3 (2): 293–381.
- Muñoz-Concha, D., Vogel, H. y Razmili, I. 2004. Variación de compuestos químicos en hojas de poblaciones de *Drimys* spp. (Magnoliophyta: Winteraceae) en Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*. 77 (1): 43-50.
- Neher, R. T. 1968. The ethnobotany oftages. *Economic Botany*. 4 (22): 317–325.
- Núñez-Olivera, E., Las Heras, R. T., del Castillo M. A., Fabón, G., Monforte, L. y Martínez-Abaigar, J. 2011. Radiación ultravioleta y fotosintética en dos observatorios de montaña (Valdezcaray, La Rioja). *Zubía Monográfico Revista De Ciencias*. 23: 163-186.
- Ojeda, M. S., Torkel-Karlin, U. O., Martinez, G. J., Massuh, Y., Ocaño, S. F., Torres, L. E., Chavez, A. G., Arizio, O. y Curioni, A. 2015. Plantas aromáticas y medicinales modelos para su domesticación, producción y usos sustentables. Editorial Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
- Otto, M. 2009. *Staphylococcus epidermidis* — the “accidental” pathogen. *Nature Reviews Microbiology*. 7 (8): 555–567.
- Ovile Mimi, C., De-la-Cruz-Chacón, I., Caixeta Sousa, M., Ribeiro Vieira, M. A., Ortiz Mayo Marques, M., Ferreira, G., y Fernandes Boaro, C. S. 2021. Chemophenetics as a tool for distinguishing morphotypes of *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer. *Chemistry & Biodiversity*. 10 (18): 1-14.
- Panero, J. L. & Crozier, B. S. 2016. Macroevolutionary dynamics in the early diversification of Asteraceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 99: 116–132.
- Pasachova Garzón, J., Ramírez Martínez, S. y Muñoz Molina, L. 2019. *Staphylococcus aureus*: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. *Nova*. 32 (17): 25-38.

- Pfaller, M. A. y Diekema, D. J. 2007. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clinical Microbiology Reviews*. 1 (20):133-63.
- Pinilla Bermúdez, G., Esteban Muñoz, J., Navarrete Ospina, J. Muñoz Molina, L. C., Lindarte Celis, D. A., Molano Aponte, J. A. y Montes Castillo, J. M. 2018. Herramientas para el análisis de mecanismos de resistencia de *Candida albicans*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*. 3 (38): 86-92.
- Pírez, M. C. y Mota, M. I. 2008. Morfología y estructura bacteriana. En: Algorta, G., Amorin, B., Arbiza, J. R., Barrios, P., Betancor, L., y Calvelo, E. (Eds). Temas de Bacteriología y Virología Médica. Editorial FEFMUR. Montevideo. Pp: 25-45.
- Planet, P. J. 2018. *Pseudomonas aeruginosa*. En: Planet, P. J. (Eds.). Principles and practice of pediatric infectious diseases. Elsevier. USA. Pp: 866-870.
- Quezada-Moreno, W. F., Quezada-Torres, W. D., Gallardo-Aguilar, I., Cevallos Carvajal, E., Arias-Palma, G., Trávez-Castellano, A, Zambrano-Ochoa, Z. y Rojas-Molina, O. 2019. Extraction and chemical characterization of the essential oil of *Tagetes pusilla*, in fresh and stored simples. *AFINIDAD*. 588 (76): 308-313.
- Riera, F., Celi, A. P., Thompson, L. y Rabagliati R. 2019. Infecciones Fúngicas Sistémicas: Manual Práctico. 3ra edición. Editorial recursos fotográficos. Córdoba, Argentina.
- Rzedowski, J. 2001. Compositae. En: Rzedowski G. C. y Rzedowski J. (Eds.). Flora Fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro. Pp. 764-975
- Salehi, B., Valussi, M., Morais-Braga, M., Carneiro, J., Leal, A., Coutinho, H., Vitalini, S., Kręgiel, D., Antolak, H., Sharifi-Rad, M., Silva, N., Yousaf, Z., Martorell, M., Iriti, M., Carradori, S. y Sharifi-Rad, J. 2018. *Tagetes spp.* Aceites Esenciales y Otros Extractos: Caracterización Química y Actividad Biológica. *Moléculas*. 11(23): 28-47.

- Sánchez Contreras, M. A., González Flores, T., Ayora Talavera, T. R., Martínez, N. E. y Pacheco López, N. A. 2017. ¿Qué son los microbios?. *Ciencia*. 2 (68): 10-17.
- Sarker, S. D., Nahar, L. y Kumarasamy, Y. 2007. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. *Methods*. 42 (4): 321–324.
- SEDESOL. 2011. Atlas de Riesgos Naturales del Municipio de Teopisca 2011. http://rmgir.proyectomesoamerica.org/PDFMunicipales/2011/vr_07094_AR_TEOPISCA.pdf. Consultado el 23 de octubre del 2021.
- Senba, M. y Watanabe, K. 2011. Possibility of novel therapeutic strategy for multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* using bactericidal activity in *Streptococcus sanguinis* secretion. Science against microbial pathogens. *Formatex*. 2: 706-713.
- Serrato C. M. A. 2014. El Recurso Genético Cempoalxóchitl (*Tagetes* spp.) de México (Diagnóstico). Universidad Autónoma Chapingo-SINAREFI-SNICSSAGARPA. Chapingo, Edo. de México.
- Serrato Cruz, M. A. y Zapata Maldonado, C. I. 2015. Experiencias piloto de extracción de aceites esenciales cuatro especies de *Tagetes* de México para obtención de bioplaguicidas. X Congreso de Ciencia y Tecnología ESPE. Texcoco, México. Pp. 12-15.
- Serrato-Cruz, M. A., Díaz-Cedillo, F. y Barajas-Pérez, J. S. 2008. Composición del aceite esencial en germoplasma de *Tagetes filifolia* Lag. de la región centro-sur de México. *Agrociencia*. 3 (42): 277-285.
- Sivaranjani, M., Prakash, M., Gowrishankar, S., Rathna, J., Pandian, S. K., y Ravi, A. V. 2017. *In vitro* activity of alpha-mangostin in killing and eradicating *Staphylococcus epidermidis* RP62A biofilms. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 8 (101): 3349–3359.

- Soto-Rueda, E. M., Rodríguez Ruiz, Y. L., Loango Chamorro, N. y Landázuri, P. 2018. Extractos de *Tagetes patula* L. (Asteraceae): un potencial bactericida contra el Moko. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 5 (9): 949-59.
- Soule, J. A. 1996. Novela anual y perenne de *Tagetes*. En: J. Janick (ed.). Progreso en nuevos cultivos. American Society for Horticultural Science Press. Arlington, Virginia, USA. Pp. 546-551.
- Taiz L. y Zeiger E. 2003. Plant Physiology. 3ª Ed. Annals of Botany Company. Sunderland, Massachusetts, USA. Pp: 286-306
- Tapia Muñoz, J. L. 2010. La Familia Asteraceae. *Herbario CICY*. 2: 82–84.
- Torraca. V., Holt. K., Mostowy. S. 2020. *Shigella sonnei*. *Trends Microbiol.* 8 (28): 696-697.
- Tropicos.org. 2022. *Tagetes nelsonii*. Missouri Botanical Garden. <https://www.tropicos.org/name/2701367>. Consultado el 20 de abril de 2022.
- Trujillo-Vázquez, R. J. y García-Barrios, L. E. 2001. Conocimiento indígena del efecto de plantas medicinales locales sobre las plagas agrícolas de Los Altos de Chiapas, México. *Agrociencia*. 6 (35): 685-692.
- Tucker, A. y Maciarelo, M. J. 1996. Volatile leaf oil of *Tagetes lemmonii* Gray. *J. Essent. Oil Res.* 8: 417–418.
- Universidad Nacional de Patagonia San Juan Bosco (UNP). 2017. Microbiología ambiental. <http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/microambiental/wpcontent/uploads/2016/08/TP-8-Micolog%C3%ADa.pdf>. Consultado el 23 de abril de 2022.
- Usano-Aleman, J., Palá Paúl, J. y Díaz, S. 2014. Aceites esenciales: conceptos básicos y actividad antibacteriana. *Revista Reduca*. 2 (7): 60-70.
- Van Baren, C. M., Sanguinetti, S., Di Leo Lira, P., Bandoni, A. L., Juárez, M. A., Elechosa, M. A., Molina, A. M., Fernández, E. A. y Martínez, E. 2010. El aceite esencial de *Hedeoma multiflora* Benth. (Lamiaceae) de poblaciones naturales

- en la provincia de San Luis, Argentina. Estudio comparativo. *Dominguezia*. 1 (26): 13-20.
- Vasudevan, P., Kashyap, S., y Sharma, S. 1997. *Tagetes*: A multipurpose plant. *Bioresource Technology*. 1 (62): 29–35.
- Villaseñor, J. L. 1993. La familia Asteraceae en México. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*. 44: 117-124.
- Villaseñor, J. L. 2016. Catálogo de las plantas vasculares nativas de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 87: 559–902.
- Villaseñor, J. L. 2018. Diversidad y distribución de la familia Asteraceae en México. *Botanical Sciences*. 2 (96): 332-358.
- Viveros-Valdez, E., De la Cruz Jiménez, L., Guzmán-Lucio M., Rivas Morales. C., Oranday Cárdenas, A. Y Verde Star M. J. 2013. Actividad bactericida, antioxidante y tóxica de plantas medicinales de Chiapas, México. XXII Congreso de la Sociedad Italo Latinoamericana de Etnomedicina. Puntarenas, Costa Rica. Pp:38.
- Vuong, C. y Otto, M. 2002. *Staphylococcus epidermidis* infections. *Microbes and Infection*. 4 (4): 481–489.
- Wagner H. y Bladt S. 2001. Drugs Containing Essential Oils (Aetherolea), Balsams and Oleo-Gum-Resins. En: Wagner H. y Bladt S. (Eds.). *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas*. Springer-Verlag. Heidelberg, Alemania. Pp. 149-192.
- Walia, S., Mukhia, S., Bhatt, V., Kumar, R. y Kumar, R. 2020. Variabilidad en la composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. recolectado en diferentes lugares del Himalaya. *Cultivos y productos industriales*. 1 (150).
- Whiteway, M., y Bachewich, C. 2007. Morphogenesis in *Candida albicans*. *Annual Review of Microbiology*. 1 (61): 529–553.

- Wolfe, J. A. 1979, Temperature parameters of humid to mesic forests of eastern Asia and their relation to forests of other areas of the Northern Hemisphere and Australasia: U. S. Geological Survey Professional Paper. Printing Office. Washington, USA. Pp: 1106.
- Zarate-Escobedo, J., Castañeda-González, E. L., Cuevas-Sánchez, J. A., Carrillo-Fonseca, C. L., Ortiz-Torres, C., Ibarra-Estrada, E. y Serrato-Cruz, M. A. 2018. Aceite esencial de algunas poblaciones de *Tagetes lucida* Cav. de las regiones norte y sur del estado de México. *Revista Fitotecnica Mexicana*. 2 (41): 199-209.
- Zendejas-Manzo, G. S., Avalos-Flores, H. y Soto-Padilla, M. Y. 2014. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Revista Biomedica*. 3 (25): 129-143.
- Zlatev, Z. S., J. C. Lidon, F. y Kaimakanova, M. 2012. Plant physiological responses to UV-B radiation. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 6 (2): 481-501.
- Zygodlo, J. A., Grosso, N. R., Abburra, R. E., y Guzman, C. A. 1990. Essential oil variation in *Tagetes minuta* populations. *Biochemical Systematics and Ecology*. 6 (18): 405–407.