



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Licenciatura en Horticultura Ambiental



Protocolo de propagación y manejo de *Chrysactinia mexicana* A. Gray. para la obtención de aceites esenciales.

Tesis individual

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Licenciado en Horticultura Ambiental

PRESENTA:

Ricardo Sánchez Castillo

DIRIGIDO POR:

Dra. Emma Fabiola Magallán Hernández.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Licenciatura en Horticultura Ambiental



Protocolo de propagación y manejo de *Chrysactinia mexicana* A. Gray. para la obtención de aceites esenciales.

Tesis individual

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Licenciado en Horticultura Ambiental

PRESENTA:

Ricardo Sánchez Castillo

DIRIGIDO POR:

Dra. Emma Fabiola Magallán Hernández.

Emma Fabiola Magallán Hernández

Presidente

Elhadi Yahia Kazuz

Secretario

Anaberta Cardador Martínez

Vocal

Mónica Queijeiro Bolaños

Vocal

Santiago Vergara Pineda

Suplente

Firma

Firma

Firma

Firma

Firma

Querétaro, Qro.

2022

RESUMEN

Chrysactinia mexicana A. Gray es un arbusto nativo de México, comúnmente conocido como San Nicolás, el cual se emplea en la medicina tradicional para el tratamiento de infecciones respiratorias y cutáneas, y sus aceites esenciales han sido ampliamente estudiados por su capacidad antioxidante. Se ha propuesto que las condiciones ambientales juegan un papel importante en el rendimiento de aceites esenciales para *C. mexicana*. Los objetivos de este estudio fueron elaborar un protocolo de propagación, evaluar el porcentaje de germinación y viabilidad de aquenios y analizar dos condiciones ambientales para el rendimiento de aceites esenciales y su capacidad antioxidante. Se colectaron aquenios de la localidad de Sombrete en Cadereyta, Qro y se sembraron 200 aquenios en charolas de germinación hasta obtener una altura promedio de 20 cm, posteriormente. Para la extracción de aceite esencial se trasplantaron 20 individuos por charola con un sustrato limo-arcillosa y alcalino. Las plantas se mantuvieron bajo condiciones de invierno (T:14°C, Hr: 30%, FP: 10|14) y verano (T: 27°C, Hr: 60%, FP: 14|10) durante 30 días. Posteriormente se midieron, cortaron, pesaron y secaron a 40°C y se extrajo el aceite esencial con el proceso de hidrodestilación para ambos tratamientos y por último se analizó la capacidad antioxidante mediante las técnicas de DPPH y FRAP. Los resultados del estudio mostraron que *C. mexicana* tiene mayor porcentaje de germinación a una temperatura de 20% con exposición a 12/12 horas luz y riego a saturación. No existen diferencias significativas entre las condiciones de invierno y verano en el rendimiento de aceite esencial y no existen diferencias significativas entre la capacidad antioxidante en condiciones de verano para DPPH ($P= 0.654$) y bajo el método FRAP ($P= 0.831$).

Palabras clave: Plantas medicinales, aceites esenciales, capacidad antioxidante, rendimiento, propagación.

ABSTRACT

Chrysactinia mexicana A. Gray is a native Mexican shrub, commonly known as San Nicolás, which is used in traditional medicine for the treatment of respiratory and skin infections, and its essential oils have been widely studied for their antioxidant capacity. Environmental conditions have been proposed to play an important role in the performance of essential oils for *C. mexicana*. The objectives of this study were to develop a propagation protocol, evaluate the percentage of germination and viability of achenes, and analyze two environmental conditions for the performance of essential oils and their antioxidant capacity. Achaenes were collected from the town of Sombrete in Cadereyta, Qro and 200 achenes were sown in germination trays until an average height of 20 cm was obtained, later. For the extraction of essential oil, 20 individuals were transplanted per tray with a silty-clay and alkaline substrate. The plants were kept under winter conditions (T: 14 ° C, Hr: 30%, FP: 10 | 14) and summer (T: 27 ° C, Hr: 60%, FP: 14 | 10) for 30 days. Subsequently, they were measured, cut, weighed and dried at 40 ° C and the essential oil was extracted with the hydrodistillation process for both treatments and finally the antioxidant capacity was analyzed using the DPPH and FRAP techniques. The results of the study showed that *C. mexicana* has a higher germination percentage at a temperature of 20% with exposure to 12/12 hours of light and irrigation at saturation. There are no significant differences between winter and summer conditions in the essential oil yield and there are no significant differences between the antioxidant capacity in summer conditions for DPPH (P = 0.654) and under the FRAP method (P = 0.831).

Key words: Medicinal plants, essential oils, antioxidant capacity, yield, propagation

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Autónoma de Querétaro, a la Facultad de Ciencias Naturales y al Fondo para el Fortalecimiento de la Investigación (FOFI-UAQ) por brindarme el espacio y los recursos para llevar a cabo esta tesis. Agradezco a la Doctora Emma Fabiola Magallán Hernández por darme la oportunidad de realizar este proyecto. Agradezco a mis sinodales de la Universidad Autónoma de Querétaro e Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey, Doctor Elhadi Yahia Kazuz, a la Doctora Anaberta Cardador Martínez, a la Doctora Mónica Elisa Queijero Bolaños y al Doctor Santiago Vergara Pineda que me instruyeron en la estructuración y mejora de este trabajo. De igual forma, agradezco al Maestro Antonio Valencia de la Universidad Autónoma de Querétaro y al Doctor Pablo Alan Rodríguez Salinas de la Universidad Autónoma de Nuevo León por las asesorías brindada.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	2
3. ESPECIE DE ESTUDIO	5
4. ANTECEDENTES	7
5. JUSTIFICACIÓN	12
6. HIPÓTESIS	12
7. OBJETIVOS	13
8. METODOLOGÍA	13
9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
9.1 Caracterización morfológica de UD de <i>C. mexicana</i>	22
9.2 Porcentaje de viabilidad de las UD de <i>C. mexicana</i>	24
9.3 Pruebas de germinación	26
9.4 Efecto de las condiciones ambientales (temperatura, fotoperiodo e irrigación) en la cantidad de aceites esenciales y su capacidad antioxidante	31
9.4.1 Tasa relativo de crecimiento (TRC)	31
9.4.2 Peso fresco y peso seco	32
9.4.3 Rendimiento de aceite esencial	33
9.4.4 Capacidad Antioxidante por el método DPPH y FRAP	35
9.5 Protocolo de propagación de unidades de reproducción de <i>Chrysactinia mexicana</i> A. Grey	37
10 CONCLUSIONES	40
11 TRABAJOS CITADOS	41

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Características del sitio de colecta de <i>C. mexicana</i> . Obtenido de Alvarado <i>et al.</i> , 2018.	15
Cuadro 2 Condiciones de invierno y verano para el rendimiento de aceite esencial de <i>C. mexicana</i>	18
Cuadro 3. Preparación de concentraciones de Trolox para curva de calibración de DPPH y FRAP.	21
Cuadro 4. Características morfológicas de las UD de <i>C. mexicana</i>	23
Cuadro 5. Análisis ANOVA factorial de germinación.	27
Cuadro 6. Porcentaje de germinación y tiempo (días) en que las UD de <i>C. mexicana</i> alcanzaron t_{10} y t_{50} de germinación por tratamientos	29
Cuadro 7. Tabla comparativa de extracciones de aceites esenciales de <i>C. mexicana</i>	35
Cuadro 8. Capacidad antioxidante de <i>C. mexicana</i> por DPPH y FRAP.	36
Cuadro 9 Protocolo de propagación por UD de <i>C. mexicana</i>	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. A. Hábito de <i>C. mexicana</i> , B Inflorescencia en cabezuelas.	6
Figura 2. Mapa de distribución de <i>C. mexicana</i> en México. Obtenido de Magallán <i>et al.</i> , 2015.	6
Figura 3. Mapa de distribución de <i>C. mexicana</i> en el estado de Querétaro. Elaborado a partir de REMIB CONABIO.	7
Figura 4. Ruta crítica de objetivos y metodología para el protocolo de germinación y manejo de <i>C. mexicana</i>	14
Figura 5. Mapa de los puntos de colecta de <i>C. mexicana</i>	15
Figura 6. Prueba de viabilidad con tetrazolio al 1% en UD de <i>C. mexicana</i> . A. Ausencia del embrión. B. Ausencia de coloración en el embrión. C. Coloración rosa-rojiza dispersa en el embrión. D. Embrión viable.	24
Figura 7. Porcentaje de viabilidad de <i>C. mexicana</i>	25

Figura 8. Porcentaje de germinación de <i>C. mexicana</i> bajo condiciones de luz y oscuridad con tratamientos de temperatura.....	27
Figura 9. Tiempo de germinación de UD de <i>C. mexicana</i>	29
Figura 10. Germinación de <i>C. mexicana</i> . A. Emergencia de cotiledones. B. Emergencia de radícula.	30
Figura 11. Análisis de TRC de los tratamientos de verano e invierno.....	31
Figura 12. Peso fresco de <i>C. mexicana</i>	33
Figura 13. Análisis de Peso seco (Biomasa) de <i>C. mexicana</i>	33
Figura 14. Rendimiento de los aceites esenciales de <i>C. mexicana</i> (%v/w) entre los tratamientos de verano e invierno.....	34
Figura 15. Capacidad antioxidante de los aceites esenciales de <i>C. mexicana</i> entre los tratamientos de verano e invierno	36
Figura 16. Capacidad antioxidante de los aceites esenciales de <i>C. mexicana</i> entre los tratamientos de verano e invierno.	36

1. INTRODUCCIÓN

México cuenta con una gran diversidad y herencia cultural en el uso de plantas aromáticas y medicinales (PAMs). Se estima que existen aproximadamente 5,000 especies de PAMs que tienen aplicaciones terapéuticas (Juárez-Rosete *et al.*, 2013). Actualmente se ha incrementado el interés comercial en la flora medicinal mexicana para la elaboración de productos derivados, debido a los compuestos fitoquímicos que poseen (Soriano, 2013).

Uno de los principales productos derivados de las PAMs, con importancia económica, son los aceites esenciales. Se estima que existen alrededor de 3000 tipos de aceites esenciales conocidos a nivel mundial, de los cuales aproximadamente el 10% tienen importancia comercial, utilizándose ampliamente en diferentes ramas de la industria (Cadavid, 2010). En México, un factor determinante para el uso y la comercialización de los aceites esenciales de las PAMs es el manejo del cultivo. Sin embargo, el 85% de las plantas que se usan para la obtención de aceites esenciales provienen del medio silvestre, predominando la colecta sobre el cultivo (Juárez-Rosete *et al.*, 2013), tal es el caso de *Chrysactinia mexicana* A. Gray.

Chrysactinia mexicana es una especie arbustiva, perteneciente a la tribu Tagetae de la familia Asteraceae, la cual se encuentra en las regiones áridas y semiáridas de México. Es utilizada en el tratamiento de enfermedades respiratorias, estomacales y cutáneas (Cárdenas-Ortega *et al.*, 2005; García-Hernández *et al.*, 2015). En México no se registran cultivos para esta especie, debido a que no existen protocolos de propagación que permitan la producción comercial.

El presente estudio se centra en generar información con un enfoque agronómico para *Chrysactinia mexicana*, que sirva como base para su posterior propagación y manejo en cultivo.

2. MARCO TEÓRICO

Las plantas aromáticas y medicinales (PAMs) son aquellas que contienen sustancias, denominadas principios activos o metabolitos secundarios (MS). Los MS son compuestos de bajo peso molecular que tienen importancia ecológica. Brindan protección contra condiciones adversas tales como, exposición a luz solar, temperatura, humedad, salinidad, herbivoría, entre otros (Sepúlveda-Jiménez *et al.*, 2004). El contenido de los MS es importante para valorar una planta medicinal y dependerá de cada especie, así como de las condiciones del hábitat donde se desarrolle (Moré *et al.*, 2010).

La diversidad de ecosistemas y microclimas presentes en México permiten que las plantas desarrollen distintos MS, como fenoles, alcaloides glicósidos y terpenos (Torrenegra, 2015). Los terpenos se encuentran en las plantas como constituyentes de los aceites esenciales, los cuales se conforman de una mezcla de moléculas orgánicas cuya composición depende, entre otros factores, de las condiciones climáticas a las que se desarrollen las plantas (Baser y Buchbauer, 2009).

Los aceites esenciales son compuestos volátiles insolubles en agua (Cadavid, 2010). Existen diversas técnicas usadas para la extracción de aceites esenciales, como la extracción por arrastre de vapor, la destilación agua-vapor y la hidrodestilación (Stashenko, 2009). La técnica de hidrodestilación consiste en mezclar material ya sea seco o fresco, con agua, para posteriormente destilarlo, para facilitar el proceso de separación de aceite esencial e hidrolato, se utiliza una trampa Clevenger (Stashenko, 2009).

El comercio y aprovechamiento de las PAMs está relacionado en gran medida, con el aroma y sabor de los aceites esenciales, así como, el contenido antioxidante que aportan a la dieta humana. Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. En las plantas, los compuestos fenólicos son los principales responsables de la actividad antioxidante

y desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo causado por la radiación solar y el oxígeno, además de tener efectos terapéuticos (Rojano *et al.*, 2008). Actualmente existen diversos métodos para determinar la actividad antioxidante, los cuales se basan en su capacidad para captar radicales libres (RL) (Ramos *et al.*, 2008).

Se consideran RL aquellas moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera una alta inestabilidad. Los RL son elaborados continuamente como un producto del metabolismo normal de cada célula e inactivados por un conjunto de mecanismos (enzimáticos y de atrapamiento). Al elevarse o disminuir las concentraciones fisiológicas de las especies reactivas de oxígeno (EROS) puede acarrear importantes alteraciones funcionales. (Rodríguez *et al.*, 2001). El estrés oxidativo ha sido asociado a la patogénesis de muchas enfermedades humanas, por lo que el uso de antioxidantes en farmacología es estudiado de forma intensiva (Ramos *et al.*, 2008).

La actividad antioxidante de los aceites esenciales puede ser evaluado por diferentes métodos, como el método DPPH y FRAP (Boom, *et al.*, 2018). El DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazil) según lo descrito por Brand-Williams *et al.* (1995), es un radical libre que presenta una coloración púrpura en medio metanólico. Se analiza por medio de espectrofotometría por una disminución de absorbancia, se lee a una frecuencia de 517 nm, y se compara con una curva patrón empleando el ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-cromo-2-ácido carboxílico o Trolox.

Por otro lado, el FRAP (Poder antioxidante reductor del hierro) es un método que indica la capacidad antioxidante, de acuerdo con el procedimiento descrito por Benzie y Straind (1996). Este método se basa en el aumento de la absorbancia debido a la formación de 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) -Fe (II) en presencia de agentes reductores, la absorbancia se lee a una longitud de onda de 593 nm.

Debido a las propiedades nutricionales, terapéuticas y al contenido de MS que presentan las PAMs se ha incrementado su demanda comercial, lo que requiere de alternativas agronómicas sustentables para su aprovechamiento, como lo son, la generación de protocolos de propagación (Juárez-Rosete *et al.*, 2013). Los protocolos de propagación son técnicas que describen las características y necesidades que se desean obtener para la reproducción de especies vegetales. Generalmente se emplea la reproducción vía sexual (semillas), que tiene como beneficio la conservación de la diversidad genética de la especie. Por otro lado, existen protocolos de propagación asexual, lo cual implica tener individuos idénticos genéticamente a su predecesor, ya sea por estacas, acodos, *in vitro*, etc. Sin embargo, al ser genéticamente idénticos, se tiene cierta susceptibilidad al ataque de plagas y enfermedades, lo cual puede afectar los sistemas de producción (Wilkinson y Jacobs, 2014).

Un protocolo de propagación describe todos los pasos en secuencia necesarios para reproducir una especie en condiciones adecuadas para su desarrollo. La secuencia se inicia desde la adquisición del material vegetal, tiempo necesario para el desarrollo de la planta, características morfológicas útiles para el cultivo, fuentes de propágulos, características, recolección y procesamiento, tratamientos pregerminativos, viabilidad de semillas y técnicas de cuidado para su desarrollo (Wilkinson y Jacobs, 2014).

En los protocolos de propagación es importante describir cuales son las unidades de dispersión (UD) de la especie o la familia con la que se está trabajando. En la familia Asteraceae las UD son los aquenios los cuales son frutos que contienen las semillas. Desde un punto de vista agronómico, se considera “semilla” a todas las unidades de dispersión (UD) que dan origen a una planta, (Scandilaris y Barboza, 2013). La viabilidad de semillas o UD es de importancia para los protocolos de propagación ya que de esta manera es posible saber el establecimiento, potencial de germinación y éxito reproductivo de una especie (Mancipe-Murillo *et al.*, 2018). El método mas usado para conocer la viabilidad de las UD, son las sales

de tetrazolio (cloruro de 2,3,5-trifenil-2H-tetrazolio), que tiñen de color rojo, debido a la actividad de las deshidrogenasas de la respiración del embrión una vez iniciada la actividad enzimática pasando de tetrazolio a formazán (1,3,5 trifenilformazán). De esta manera, al ser teñido, se puede saber que el embrión es apto para germinar. Por el contrario, la ausencia o la coloración no homogénea del embrión, significa que no es viable (ISTA, 2016).

La germinación de UD implica cambios bioquímicos y metabólicos que inician con la absorción de agua y finaliza con la emergencia de la radícula a través de su cubierta (Márquez *et al.*, 2013). Existen tres factores o condiciones para iniciar la germinación, 1) viabilidad, el embrión debe estar vivo y apto para germinar. 2) condiciones ambientales adecuadas, es decir, disponibilidad de agua, rango óptimo de temperatura, oxígeno y luz, y 3) sin dormancia primaria, que no exista dormancia primaria presente, es decir, que a pesar de tener las condiciones apropiadas, las semillas o UD no germinan, debido a diversos factores inherentes de la semilla (morfológicos o fisiológicos) o ambientales (Hartmann *et al.*, 2002).

3. ESPECIE DE ESTUDIO

Chrysactinia mexicana A. Gray es una especie nativa de México, comúnmente conocida como San Nicolás o damianita que pertenece a la tribu Tagetae de la familia Asteraceae. Es un arbusto de 25 a 40 cm de alto (Figura 1 A), con hojas alternas lineares, con dos líneas de glándulas pelúcidas en las hojas, que contienen los aceites esenciales, las flores se encuentran en capítulos amarillos con 8-13 lígulas (Figura 1 B). La floración se registra de marzo a noviembre (Villarreal, 2003). En México existen 6 especies conocidas del género *Chrysactinia*, siendo, *C. mexicana* la especie con mayor distribución, pues se encuentra del centro y noreste de México hasta el suroeste de Estados Unidos (Magallán *et al.* 2015; Figura 2). En Querétaro se distribuye en algunas localidades de los municipios de Cadereyta, Peña de Bernal, Ezequiel Montes y Peñamiller (Figura 3). Se encuentra en hábitats

de bosque de encino, bosque de juníperos, bosque de pino, bosque de pino-encino, bosque tropical caducifolio, chaparral, matorrales xerófilos, pastizal, vegetación halófila, vegetación riparia y como ruderal en ambientes perturbados, en altitudes que van desde los 750 a los 2875 m.s.n.m. (Villaseñor y Redonda-Martínez., 2009).

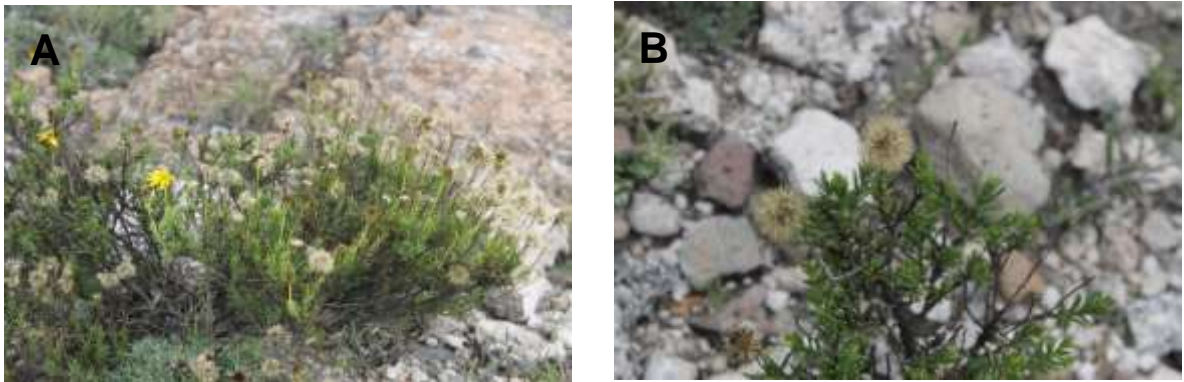


Figura 1. A. Hábito de *C. mexicana*, B Inflorescencia en cabezuelas.

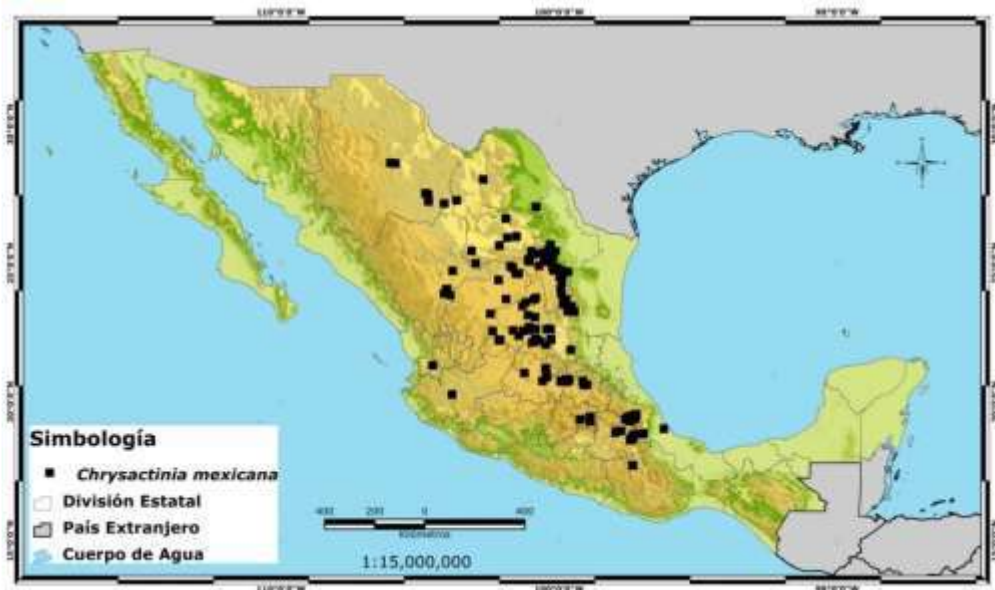


Figura 2. Mapa de distribución de *C. mexicana* en México. Obtenido de Magallán *et al.*, 2015.



Figura 3. Mapa de distribución de *C. mexicana* en el estado de Querétaro. Elaborado a partir de REMIB CONABIO.

4. ANTECEDENTES

C. mexicana es una planta medicinal que se ha estudiado desde enfoques fitoquímicos, de actividad biológica, taxonómicos, farmacológicos y en menor medida agronómicos.

Desde un enfoque fitoquímico, Cárdenas-Ortega *et al.* (2005) registraron 17 compuestos en los aceites esenciales de *C. mexicana*, de los cuales, dos compuestos eran los dominantes: eucaliptol (41.3%) y piperitona (37.7%). Además, el análisis reveló 30 constituyentes adicionales, entre estos se detectaron los siguientes: linalilo acetato (9.1%); R-mirceno (1.2%); R-tuyona (1.2%); y 3,7-dimetil-

1,6-octadien-3-ol (1.4%). Los compuestos restantes detectados por GC-MS estaban presentes en proporciones muy bajas (<1%).

En estudios recientes, Gomez-Macias *et al.* (2019), determinaron el perfil fitoquímico de los polifenoles de *C. mexicana* por medio de High Performance Liquid Chromatography / Electrospray Tandem / Mass Spectrometry (HPLC/ESI/MS), registrando la presencia ácido cafeico, ácido cafeoilquínico y ácido dicafeoilquínico como principales compuestos con bioactividad, mostrando efectos contra el estrés oxidativo. También se encontró Cianidina 3-O-rutinósido, Malvidina 3-O-glucósido y Petunidin 3,5-O diglucósido, compuestos con potencial biológico y antioxidante. Por otro lado, Medina-de la Cruz *et al.* (2020), realizaron cromatografía de gases y espectrometría de masas para conocer la composición del aceite esencial de *C. mexicana*. Los principales tres compuestos fueron la piperitona (29.57%), eucaliptol (26.86%) y α -terpineol (14.65%).

Los estudios sobre la capacidad antioxidante de *C. mexicana* por el método DPPH mostraron una concentración efectiva (CE_{50}) de 10.5 ($\mu\text{g ml}^{-1}$) (Salazar-Aranda *et al.*, 2011). A su vez, Gomez-Macias *et al.* (2019) analizaron la capacidad antioxidante por los métodos ABTS, DPPH y FRAP, encontrando que *C. mexicana*, tiene una capacidad antioxidante de 9.21 a 75.71% (ABTS), 38.77 a 67.60% (DPPH), 42.16 a 67.02% (FRAP).

C. mexicana también se ha estudiado desde un enfoque de actividad biológica, Molina-Salinas *et al.* (2007) evaluaron 14 especies de PAMs candidatos para el desarrollo de medicamentos o fitomedicinas. Las especies de estudio fueron seleccionadas por su uso en etnomedicina contra infecciones respiratorias o afines. Se utilizaron raíces, flores y hojas para la elaboración de extractos etanólicos, los cuales se probaron en *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Staphylococcus aureus*. Se comprobó que *C. mexicana* tiene acción antimicrobiana contra *Mycobacterium tuberculosis*. Por otra parte, Guerra-Bone *et al.* (2013) llevaron a cabo ensayos sobre la actividad biológica del aceite esencial de *C. mexicana*, los cuales, mostraron efectos antimicrobiales, espasmolíticos,

antinociceptivos y antioxidantes. Posteriormente, García-López *et al.* (2016) evaluaron el efecto biocida de *C. mexicana* sobre órganos de gallinas ponedoras que padecían *Salmonella typhimurium*, demostrando que el extracto etanólico tuvo la mayor actividad contra las bacterias en la prueba *in vitro*.

Sobre la actividad antimicrobiana de *C. mexicana*, Gómez-Macias *et al.* (2019) evaluaron la bioactividad del extracto acuoso de San Nicolás contra *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella entérica* y *Staphylococcus aureus*, demostrando la actividad inhibitoria contra *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Salmonella enterica*.

En la medicina popular mexicana *C. mexicana* es utilizada para fiebre y reumatismo, como diurético, antiespasmódico, tónico general y como agente estimulante, Cassani *et al.* (2015), en un enfoque farmacológico, estudiaron las propiedades antidepresivas, los efectos tóxicos y los efectos sobre las funciones hepáticas y bioquímicas de un extracto acuoso de *C. mexicana* sobre ratones demostraron que el extracto induce un claro efecto antidepresivo en ratones, sin afectar ninguna función básica. *C. mexicana* no produjo ningún daño en las funciones hepáticas ni produjo ningún cambio significativo en el tejido morfológico de los órganos examinados. Concluyeron que el consumo de esta planta medicinal no representa riesgo para la salud. Sobre el análisis de los aceites esenciales de *C. mexicana*, Zavala-Mendoza *et al.* (2016) evaluaron el efecto del aceite esencial sobre el músculo liso longitudinal del *ileum* de conejo, concluyendo que la especie induce un efecto antiespasmódico que puede ser usado en el tratamiento de enfermedades intestinales o diarrea.

Debido a que, en la medicina tradicional mexicana, *C. mexicana* es conocida por poseer propiedades afrodisiacas, Estrada-Reyes *et al.* (2016) evaluaron los efectos prosexuales de extractos de *C. mexicana* sobre un modelo de comportamiento masculino sexual de roedores. Observaron que los extractos activan el comportamiento sexual. En otra investigación, Medina de la Cruz *et al.* (2020) evaluaron el efecto del aceite esencial de *Chrysactinia mexicana* en aislados

clínicos de *Candida glabrata* y *Saccharomyces cerevisiae* para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial. El estudio demostró el efecto fungicida del aceite esencial de *C. mexicana* sobre hongos patógenos del humano como *C. glabrata*.

En cuanto al control de plagas y enfermedades, Cárdenas-Ortega *et al.* (2005), analizaron la composición química y la actividad antifúngica del aceite esencial de *C. mexicana*, sobre el desarrollo de *Aspergillus flavus*. Los resultados mostraron que el aceite esencial de las hojas y el contenido de piperitona inhibió completamente el crecimiento de *A. flavus* en concentraciones relativamente bajas. En otro estudio, Cárdenas-Ortega *et al.* (2011), llevaron a cabo una evaluación para probar los efectos biocidas de *C. mexicana* sobre *Sitophilus zeamais*. En el estudio se probó el efecto de la planta pulverizada sobre granos de maíz, usando una dosis de 20 g/kg de polvo de *C. mexicana* sobre granos de maíz encontrando el 90% de mortalidad y el 100% de inhibición de nuevos adultos de *S. zeamais*.

Desde el enfoque agronómico, Wu *et al.* (2016) evaluaron la tolerancia relativa a la salinidad de 10 especies de asteráceas incluyendo *Chrysactinia mexicana*. En el estudio se cuantificó y comparó las respuestas del crecimiento del brote, número de flores, peso seco, calidad visual, contenido de clorofila y la concentración mineral en invernadero experimental. Los resultados mostraron que *C. mexicana* es sensible a la salinidad debido a su reducción del crecimiento, daño foliar por sal y alta acumulación de Na y Cl en las hojas. Sin embargo, la salinidad no afectó su supervivencia.

Debido a la falta de estudios agronómicos específicos para *C. mexicana*, se revisaron los siguientes estudios relacionados a las condiciones de cultivo para la producción de MS en PAMs.

Mahmoud *et al.* (2018), evaluaron el efecto de los intervalos de irrigación en el rendimiento de hierba fresca de *Marrubium vulgare* (Lamiaceae) y en el contenido de aceites esenciales en tres periodos de cosechas en Egipto. El estudio demostró

que la deficiencia de agua (riego cada 12 días) y la frecuencia de cosecha influyen el crecimiento y la acumulación de aceite esencial de plantas de *M. vulgare*. El incremento de los niveles de irrigación aumenta el peso de hierba fresca, pero decrece el contenido de aceite esencial.

Hendawy *et al.* (2018) evaluaron la adaptabilidad, el crecimiento, la productividad, la calidad del aceite esencial y la actividad antioxidante de *Mentha piperita* var. *multimentha* establecida en diferentes lugares agroecológicos en Egipto. Encontraron variabilidad en el rendimiento de los aceites esenciales de acuerdo con la región agroecológica del cultivo. Las plantas se caracterizaron por un alto contenido de terpenos como mentona y mentol y una alta actividad antioxidante, especialmente en las plantas cultivadas en Ismailia (22°C) y El-Fayoum (23.9°C). Para este estudio, la cantidad de compuestos oxigenados en los aceites esenciales resultó alta en las regiones más cálidas, mientras que se encontró que la cantidad de hidrocarburos sesquiterpénicos fue alta en localidades con climas templados (Norte del Sinai y El-Sharkia).

Por otro lado, el efecto del fotoperiodo y de la longitud de onda también se ha evaluado en la calidad de los aceites esenciales de PAMs. Nishimura *et al.* (2009), evaluaron los efectos de la calidad de la luz proporcionada por lámparas fluorescentes de diferentes colores sobre el crecimiento y las concentraciones de componentes de aceites esenciales y antocianinas de las plantas de *Perilla frutescens* (L), para determinar las condiciones de producción eficientes en ambientes controlados. El contenido de antocianinas en los tejidos de hoja fue 1.3-1.7 veces mayor en el tratamiento de luz roja enriquecido que en los otros tratamientos. El tratamiento de luz BR (azul-rojo) fue la calidad de luz adecuado para producir plantas con altos contenidos de perialdehído, limoneno y antocianinas. Concluyendo que la longitud de onda influye en la producción de compuestos secundarios de la especie.

Con base en los estudios revisados, actualmente la única fuente de materia prima que se registra para *C. mexicana* es el material vegetativo silvestre, el cual

se usa tanto para estudios fitoquímicos o para su comercialización. Por lo que, la obtención constante de planta y de sus metabolitos secundarios se limita a la disponibilidad y las condiciones climáticas de su hábitat. En este contexto es necesario generar un protocolo de propagación y manejo de cultivo para *Chrysactinia mexicana*.

5. JUSTIFICACIÓN

Los estudios sobre fitoquímica, actividad biológica, acción farmacológica y medicinal de *C. mexicana* se han abordado ampliamente. Sin embargo, no se han llevado a cabo estudios específicos con *C. mexicana* desde un enfoque agronómico donde se aborden las condiciones ambientales que requiere el cultivo para producir aceite esencial con la presencia de MS. De igual manera no hay estudios que ofrezcan un protocolo para la propagación de *C. mexicana* que permita la introducción de la especie a un esquema de agronegocios, evitando así, la disminución de la especie en su hábitat. Debido a que la especie es ampliamente aprovechada en cuestiones farmacológicas y medicinales, se requiere una producción que ofrezca estándares de calidad altos que sean competentes con el mercado, además con la extracción del aceite esencial se genera un valor agregado para la especie, incrementando su valor económico en los mercados locales.

6. HIPÓTESIS

Las plantas de *Chrysactinia mexicana* sometidas a condiciones de estrés ambiental, como lo son condiciones de invierno (menor irrigación y baja temperatura), generaran mayor cantidad de aceites esenciales y con mayor capacidad antioxidante en comparación a las plantas en condiciones de verano (mayor irrigación y alta temperatura).

7. OBJETIVOS

Objetivo general

Elaborar un protocolo de propagación y manejo para la obtención de aceites esenciales de *Chrysactinia mexicana* A. Gray.

Objetivos específicos

1. Caracterizar morfológicamente las unidades de dispersión de *C. mexicana*.
2. Determinar la viabilidad de las unidades de dispersión de *C. mexicana*.
3. Determinar el porcentaje de germinación de *C. mexicana* en diferentes condiciones ambientales.
4. Evaluar el efecto de las condiciones ambientales contrastantes (temperatura, fotoperiodo e irrigación) en el rendimiento de aceites esenciales y su capacidad antioxidante.
5. Generar un protocolo de propagación por unidades de dispersión (semillas) y manejo para *C. mexicana* para la obtención de aceites esenciales.

8. METODOLOGÍA

A manera de esquematizar la metodología de la presente investigación, se elaboró el siguiente mapa conceptual (Figura 4). En el cual se sintetizan los procedimientos que se utilizaron para el cumplimiento de cada uno de los objetivos planteados.

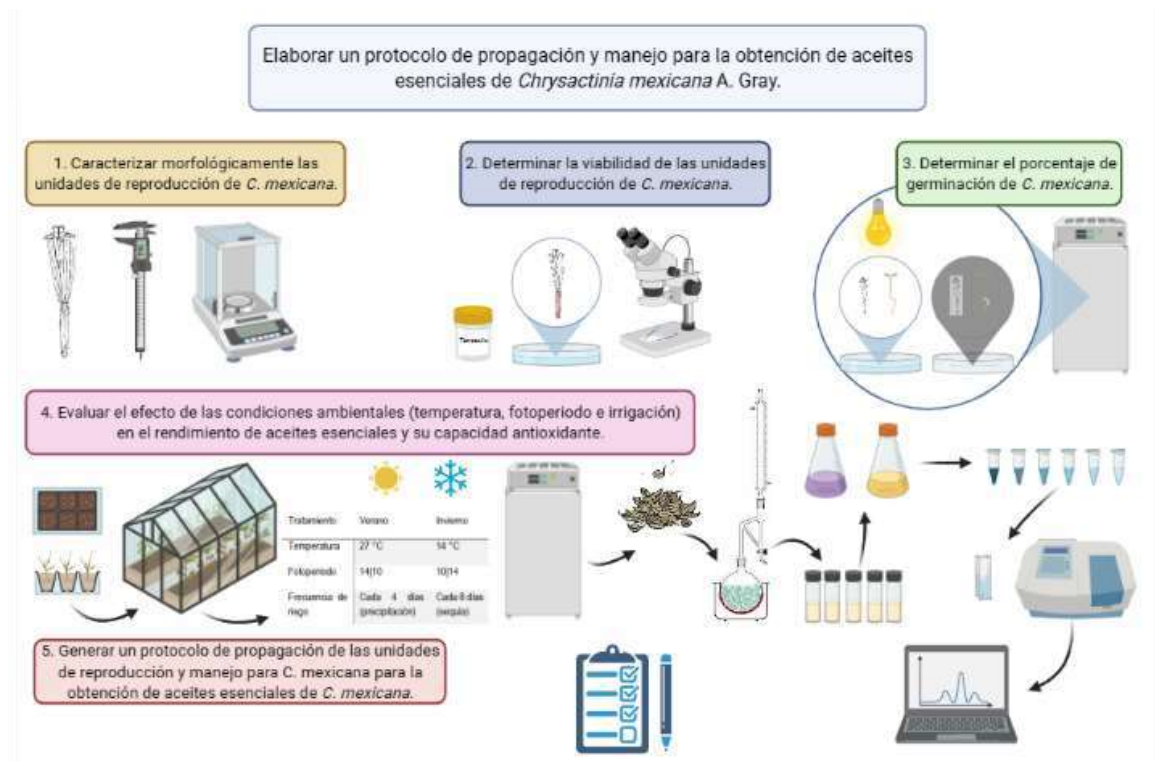


Figura 4. Ruta crítica de objetivos y metodología para el protocolo de germinación y manejo de *C. mexicana*.

1. Caracterización morfológica de las unidades de dispersión de *C. mexicana*.

1.1. Área de estudio

Con base en la accesibilidad y disponibilidad de los sitios de distribución de la especie las plantas, se seleccionó una población de *C. mexicana* en el estado de Querétaro para la colecta de las unidades de dispersión (UD). Se recolectaron los achenios de una población en la región del Semidesierto queretano-hidalguense, en un sitio camino a Sombrerete, en el Municipio de Cadereyta de Montes durante los años 2017 y 2019 (Figura 5, Cuadro 1). Se registraron las coordenadas utilizando GPS Oregon 650®, las características de suelo, tipo de vegetación y clima del sitio.



Figura 5. Mapa del punto de colecta de *C. mexicana*.

Cuadro 1. Características del sitio de colecta de *C. mexicana*. Obtenido de Alvarado *et al.*, 2018.

Sombrerete	
Municipio	Cadereyta de Montes
Coordenadas	20°47'30" N, 99°39'97" O
Tipo de vegetación	Matorral xerófilo, micrófilo. Posteriormente plantación de <i>Pinus cembroides</i> .
Altitud	2512 m s.n.m.
Humedad relativa	74.20%
Características del suelo	Textura: franco arenoso
	Alcalinidad: moderada (pH= 8.22)
	Salinidad: baja, imperceptible (CE= 0.126 dS/m)
	Buen drenaje
	Materia orgánica: alta (4.2%)

1.2. Colecta, selección y almacenamiento

Las plantas de *C. mexicana* fueron podadas, cortando únicamente ramas de las plantas que presentaron UD. Se transportaron en bolsas de papel estraza a temperatura ambiente (25 °C). El material fue procesado en el laboratorio de Ecología de la Facultad de Ciencias Naturales de la UAQ, en donde se separaron las UD, con ayuda de pinzas de disección y un estereoscopio y fueron almacenados en frascos de plástico con silicagel a una temperatura de 4-8 °C en un refrigerador marca Torrey TVC08-F1®, etiquetados con los datos del sitio de colecta.

1.3 Caracterización morfológica de las unidades de reproducción de *C. mexicana*

Para la caracterización morfológica, se tomó una muestra de 70 UD. Para determinar el tamaño, se midieron largo y ancho (sin tomar en cuenta la longitud del vilano), con un vernier digital (Traceable®). El color de las UD y del vilano se determinó utilizando tablas de Munsell® (2011). El peso promedio se obtuvo de 100 UD con tres repeticiones usando una báscula analítica (OHAUS® ADVENTURER™). Posteriormente se estimó el peso promedio por UD y por gramo. Se determinó la forma y textura de las UD usando un estereoscopio (Leica S9i®) para favorecer las características y se capturaron imágenes diferentes aumentos.

2. Determinación la viabilidad de las UD de *C. mexicana*.

Para determinar el porcentaje de viabilidad que presentan las UD se llevó a cabo la prueba de tetrazolio a las muestras colectadas en 2019. Primeramente, las UD se hidrataron en agua destilada a temperatura ambiente durante 24 h con el fin de ablandar los tejidos e iniciar la actividad enzimática. Posteriormente, se llevaron a cabo dos tratamientos. El tratamiento 1 (T1) con cortes transversales a las UD y el tratamiento 2 (T2) sin cortes en las UD. Ambos tratamientos se sumergieron en la solución de 2, 3, 5 cloruro de trifetil tetrazolio al 1% durante dos horas a 40 °C. Cada tratamiento tuvo tres repeticiones, siendo 20 UD la unidad experimental.

Para el análisis estadístico del porcentaje de viabilidad se realizó una prueba de T de Student entre los tratamientos.

3. Determinación del porcentaje de germinación de *C. mexicana*

Para determinar si el porcentaje de germinación es afectado por la luz y la temperatura, se realizó un diseño factorial donde el factor luz tuvo dos niveles (luz-1500 lux y oscuridad) y el factor temperatura tres niveles (10, 20 y 30 °C). Cada uno de los seis tratamientos con cinco réplicas de 30 UD por caja Petri (150 UD en total). La humedad relativa (30%) y el fotoperiodo (12/12) se mantuvieron constantes. Para el tratamiento de oscuridad, la caja de Petri fue cubierta con aluminio, para probar si las UD son fotoblásticas positivas o negativas. Todos los tratamientos tuvieron una duración de 15 días. Los tratamientos se sometieron a cámara bioclimática (CBRF-20[®]).

Para comparar el porcentaje de germinación entre los seis tratamientos se realizó una prueba de ANOVA factorial. En caso de resultar significativo, se realizó la prueba post-hoc de Tukey. La tasa de germinación de *C mexicana* se analizó con pruebas de *t* de Student para comparar el porcentaje de germinación en el t 10 y t 50, con el software Germinator (Joosen *et al.*, 2010).

4. Evaluación del efecto de las condiciones ambientales en el rendimiento de aceites esenciales y su capacidad antioxidante.

4.1. Establecimiento de un cultivo experimental

Se germinaron 200 UD bajo condiciones de invernadero, con un sustrato de peat moss y vermiculita (50:50). Después de un periodo de 60 días, las plantas fueron trasplantadas a charolas forestales con una mezcla de sustrato de vermiculita, tierra lama, arena y composta (30:10:60:5), con la finalidad de simular un suelo alcalino (pH 8.24). Posteriormente, después de 15 días de tiempo de

adaptación al sustrato, las plantas se colocaron dentro de una cámara bioclimática (CBRF-20®) y se tomaron los datos de altura inicial.

Con la finalidad de evaluar en qué época del año se obtendría mayor rendimiento de aceites esenciales, se simularon condiciones ambientales de invierno y verano. Para simular la estación invernal (T1), las plantas se mantuvieron a condiciones de temperatura de 14°C y un fotoperiodo de 10/14 y una frecuencia de riego cada 8 días añadiendo 40 ml por planta. Para simular las condiciones de verano (T2) se mantuvieron a una temperatura de 27°C y fotoperiodo de 14/10 y una frecuencia de riego cada 4 días añadiendo 40 ml por planta (Cuadro 2). Cada tratamiento consistió en 100 plantas con cinco repeticiones de 20, con una duración de 30 días.

Cuadro 2 Condiciones de invierno y verano para el rendimiento de aceite esencial de *C. mexicana*.

Tratamiento	Invierno	Verano
Temperatura	14 °C	27 °C
Fotoperiodo	10/14	14/10
Frecuencia de riego	Cada 8 días (sequía)	Cada 4 días (precipitación)
Cantidad de riego	40 ml	40 ml
Duración	30 días	30 días

4.2. Método de secado del material vegetal

Una vez transcurridos los 30 días en ambos tratamientos, se midió la altura final de los vástagos, y posteriormente se podaron tallos y hojas de *C. mexicana*, los cuales se pesaron en fresco con una balanza analítica (OHAUS®). Posteriormente se colocaron en bolsas de papel estraza, etiquetadas por repetición y tratamiento, y se procedió al secado del material vegetal en una secadora de herborización por 48 horas a una temperatura de 40°C; finalmente, una vez secas

se pesaron para obtener el peso seco. El material seco fue usado para la extracción de aceites esenciales.

Se obtuvo la tasa relativa de crecimiento (TRC) tomando en cuenta los datos de altura inicial, final y el tiempo transcurrido bajo las condiciones de invierno y verano, siguiendo la fórmula obtenida de García Castro (2018).

$$TRC = \frac{a_2 - a_1}{T}$$

Donde:

a_1 = altura inicial

a_2 = altura final

T = Periodo de tiempo

La TRC de *C. mexicana* se analizó estadísticamente con una *t* de Student entre los tratamientos. De igual manera se analizaron el peso fresco y seco.

4.3. Obtención de aceites esenciales por el método de hidrodestilación

Para determinar el rendimiento de aceite esencial para *C. mexicana*, previamente se realizó un ensayo de extracción de aceite esencial bajo el método de hidrodestilación con plantas silvestres obtenidas del sitio de camino a Sombrero Cadereyta, Qro., en el cual se registró que de 50 g de materia seca y agregando 500 ml de agua destilada se obtiene 1 ml de aceite esencial.

Posterior al ensayo, se ajustó el método de hidrodestilación, utilizando un equipo Clevenger para las plantas sometidas a ambos tratamientos (T1 y T2) (Cuadro 2). El método se ajustó utilizando un matraz de destilación de 1 L, para la cantidad de agua destilada se empleó una relación de 1:10, es decir, por cada gramo se agregaron 10 ml de agua destilada, y se calentó a una temperatura de 90 °C durante 3 horas. Durante la hidrodestilación, cada ocasión que se llenaba la trampa Clevenger, se liberaba el hidrolato y se capturaba en un vaso de precipitado de 100 ml hasta finalizar el proceso. Una vez obtenidos los aceites esenciales se

almacenaron en viales ámbar de 2 ml y se mantuvieron en un intervalo de temperatura de 4-8 °C en un refrigerador Torrey TVC08-F1®. Se obtuvieron diez muestras de aceite esencial, cinco por cada tratamiento.

Para determinar el rendimiento de los aceites esenciales se utilizó la siguiente fórmula obtenida de Sebei *et al.* (2015).

$$RAE = m1/m2 \cdot 100$$

Donde:

RAE= Rendimiento de aceite esencial

m1= Masa final de aceite esencial expresada en mililitros (ml).

m2= Masa inicial del material vegetal expresada en gramos (g).

Se obtuvo la densidad promedio del aceite esencial obtenido siguiendo la siguiente fórmula.

$$D = w/v$$

D= Densidad

w= Peso (g)

v= Volumen (ml)

La comparación entre el rendimiento de los tratamientos de invierno y verano se analizaron estadísticamente por *t* de Student.

4.4. Método DPPH y FRAP para determinar capacidad antioxidante de los aceites esenciales.

Para determinar la capacidad antioxidante de los aceites esenciales de *C. mexicana* se utilizaron los métodos de DPPH y FRAP.

Para el método DPPH, primero, se estandarizaron las concentraciones del radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH), el cual se midió ajustando los métodos de Brand-Williams (1995). Se utilizó como base la curva de calibración empleando

el ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-cromo-2-ácido carboxílico o Trolox (Cuadro 4). Posteriormente se determinó con un espectrofotómetro (BECKMAN DU -65®) en una longitud de onda (λ) a 517 nm.

Para la medición de las muestras, se agregaron 25 μ l de aceite esencial puro en 750 μ l de solución DPPH en un pocillo de cuarzo de 0.7 ml y se midió cada muestra de manera individual, procediendo a la lectura en el espectrofotómetro. La actividad antioxidante por este método se realizó por duplicado y se graficó en μ M ET (Equivalentes de Trolox).

Para el método FRAP (Poder de reducción del hierro férrico) se modificó del método de Benzie y Stain (1996). Se hicieron las preparaciones de 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) en la solución de HCl y el Fe (III), así como la solución buffer de acetato de sodio, se mezclaron y se incubaron a 37 °C en baño de agitación con temperatura (Precision Scientific Model 25®). Luego de 30 min se leyó la absorbancia a una longitud de onda (λ) de 593 nm con un espectrofotómetro (BECKMAN DU -65®). Los valores de FRAP basados en la curva de calibración de Trolox se expresaron en μ M ET (Cuadro 3).

Para la medición de las muestras de FRAP, se agregaron 25 μ l de aceite esencial puro en 750 μ l de solución FRAP en un pocillo de cuarzo de 0.7 ml, se midió cada muestra de manera individual y se procedió a la lectura en el espectrofotómetro. La actividad antioxidante por este método se realizó por duplicado y se expresó en μ mol Trolox/100 g de aceites esenciales.

Cuadro 3. Preparación de concentraciones de Trolox para curva de calibración de DPPH y FRAP.

Concentración Trolox μM	μL de Trolox	μL de MetOH
50	50	950
100	100	900
200	200	800

300	300	700
400	400	600
500	500	500

Para la capacidad antioxidante de *C. mexicana* por los métodos DPPH y FRAP se hicieron análisis estadísticos por la prueba de *t* de Student.

5. Generación de protocolo de propagación por UD y manejo de *C. mexicana* para la obtención de aceites esenciales

Con los datos obtenidos, se analizó la información para elaborar una ficha técnica para la propagación y manejo de *C. mexicana*. Se considero para la ficha, los caracteres diagnósticos, el procedimiento de colecta y almacenamiento, el método de germinación controlada (laboratorio), el método operativo de germinación (invernadero), tiempo de germinación y porcentaje de germinación, así como, las recomendaciones de tipo de sustrato, frecuencia de riego, fotoperiodo e intensidad lumínica.

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1 Caracterización morfológica de UD de *C. mexicana*

El fruto de *C. mexicana* es un aquenio el cual contiene la semilla de manera individual, estos frutos son comunes en la mayoría de las Asteraceae. Las UD tienen en promedio una longitud de 3.15 ± 0.48 mm. de ancho miden en promedio de 0.3 ± 0.02 mm. Muestran una coloración café oscuro a negro cuando se encuentran maduras; sin embargo, ninguno de los tonos se encontró en las tablas Munsell® (2011) y no se encontró relación entre la coloración de la cubierta y la viabilidad de

las UD. El vilano presenta una coloración amarilla 2.5/7-8 Y en la escala de colorimetría de Munsell® (2011). Las 100 UD presentaron un peso promedio de 0.035 ± 0.001 g, es decir que, un solo aquenio pesa en promedio 0.35 mg, Tienen forma cilíndrica y presentan estrías. En almacenamiento guardan el aroma característico de las hojas de la especie. (Cuadro 4).

Cuadro 4. Características morfológicas de las UD de *C. mexicana*.

Características morfológicas	Descripción
Promedio del largo (mm)	3.15 ± 0.48
Promedio del ancho (mm)	0.3 ± 0.02
Color del aquenio	Café oscuro a Negro
Color del vilano	Amarillo 2.5/7-8 Y
Peso promedio (g)	0.00035 ± 0.001
Forma	Cilíndrico
Textura	Estriada

Las características morfológicas que presentan las UD de *C. mexicana*, para las variables de tamaño, forma y color, concuerdan con lo mencionado por Villaseñor (2009). Sin embargo, el aporte desde la perspectiva agronómica de este estudio permite comparar a *C. mexicana* con otras Asteráceas, observándose que el vilano de color amarillo es característico de esta especie. A su vez, el almacenamiento de los frutos conserva el aroma característico de la especie. Tanto el aroma como la coloración del vilano nos puede ayudar a diferenciar los aquenios de *C. mexicana* con respecto a los de otras especies en condiciones de almacenamiento. Los estudios sobre las características morfológicas de semillas y UD son un aporte importante para el reconocimiento, manejo agronómico y estudio de la especie *C. mexicana* (Lovey, 2010). No se había registrado el color del vilano de *C. mexicana*, el cual es distintivo de la especie.

9.2 Porcentaje de viabilidad de las UD de *C. mexicana*

Los resultados de los experimentos de tinción muestran que las semillas viables de *C. mexicana* tuvieron una coloración rojiza, mientras que las semillas inviables mostraron ausencia de color o colores rojo-rosados dispersos sin un patrón homogéneo (Figura 6). El tratamiento 1 (con incisión) obtuvo 36% de viabilidad, mientras que el tratamiento 2 (sin incisión) mostró un 6%. Sin embargo, el 25% de las muestras para cada tratamiento se encontraban sin semilla. El porcentaje de viabilidad presentó diferencias significativas entre los tratamientos ($t= 3.81$, g.l.= 8 y $P= 0.0052$, Figura 7).

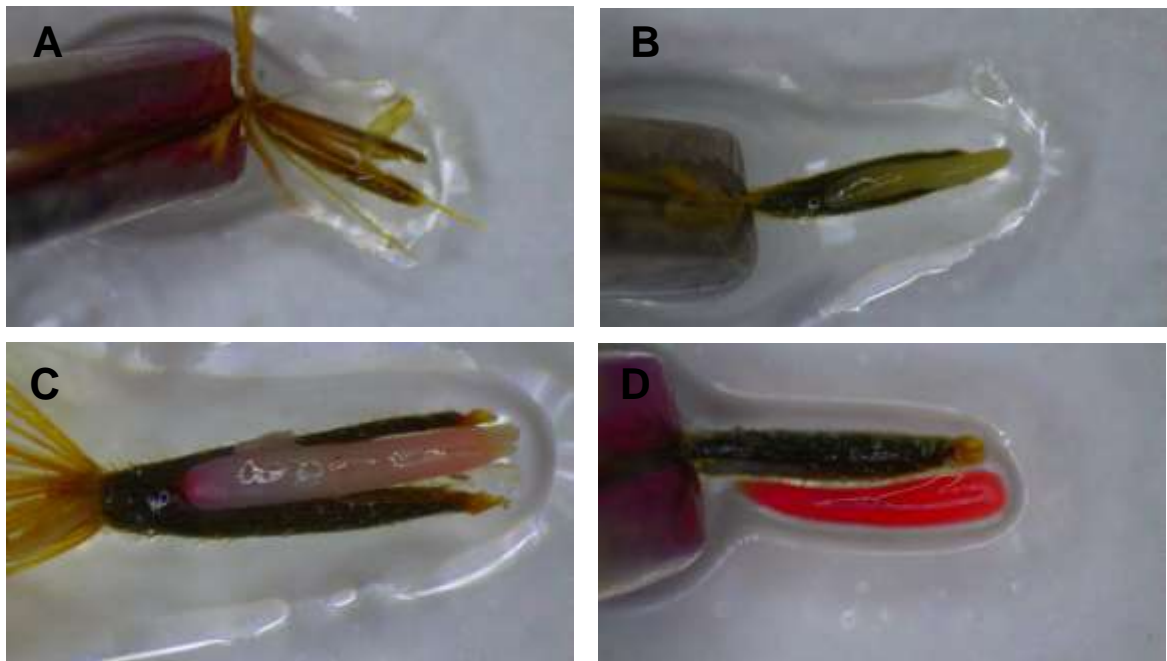


Figura 6. Prueba de viabilidad con tetrazolio al 1% en UD de *C. mexicana*. A. Ausencia de semilla. B. Ausencia de coloración en la semilla. C. Coloración rosa-rojiza dispersa en la semilla. D. Semilla viable.

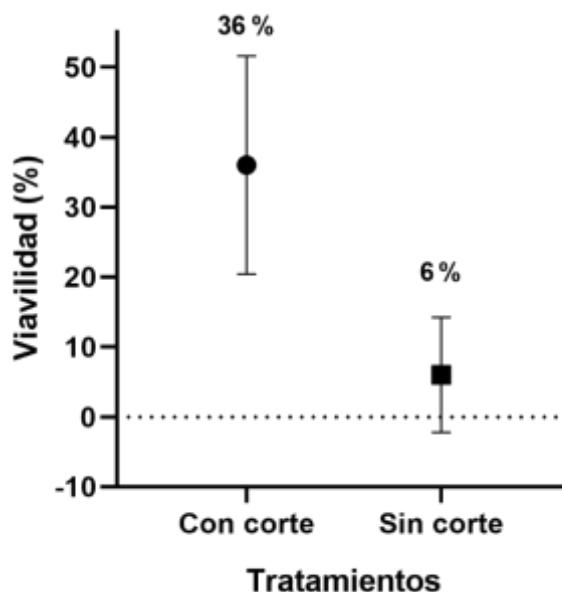


Figura 7. Porcentaje de viabilidad de *C. mexicana*.

La prueba de viabilidad de tetrazolio indica el porcentaje de las UD viables en una población, y tiene la capacidad de indicar el periodo de tiempo durante el cual las semillas conservan su capacidad para germinar. La sensibilidad que presentan las UD de *C. mexicana* al tetrazolio mostró que estas requieren de un corte longitudinal para poder obtener la coloración uniforme del embrión. La incisión se realizó debido a que la UD posee un recubrimiento, que imposibilita la absorción de solución de tetrazolio. Por lo que es recomendable llevar a cabo este procedimiento cuando se quiera conocer el porcentaje de viabilidad en algún lote de semillas.

En un estudio realizado por Holubowicz *et al.* (2001), compararon la viabilidad de seis especies ornamentales usando sales de tetrazolio, donde dos de estas especies son asteráceas (*Tagetes erecta* y *Zinnia elegans*), se registró que *T. erecta*, presenta una viabilidad máxima de 65.5 %, mientras que *Z. elegans*, presenta una viabilidad máxima de 92.1 %. Estos resultados comparados con este estudio muestran que *C. mexicana* tiene una menor viabilidad ya que sólo se obtuvo un 36%.

Los resultados de este estudio para determinar la viabilidad de *C. mexicana* muestran que se debe estandarizar la selección de UD, ya que sus aquenios son susceptibles a daños por insectos o a la ausencia del embrión, tal como lo propone Delbón (2014) para la especie *Flourensia hirta* (Asteraceae) que presenta una gran capacidad reproductiva, pero la mayoría de los aquenios muestran una cantidad significativa de daño por insectos y sin semilla, hasta en un 65%.

Sin embargo, es probable que al combinar y estandarizar las variables (tiempo de exposición al reactivo, temperatura y concentración de tetrazolio), este porcentaje de viabilidad pueda aumentar para *C. mexicana*, ya que se obtuvo un porcentaje de viabilidad menor al de germinación, lo cual puede deberse a la metodología aplicada en este estudio. Las condiciones del método de tetrazolio se encuentran más estandarizadas para especies cultivadas y resultan efectivas en dichas especies, por lo que, se necesita establecer nuevos protocolos para evaluar con precisión la viabilidad en las diferentes especies nativas con potencial de cultivo (Mancipe-Murillo *et al.*, 2018).

Cabe mencionar que se observó la incidencia de insectos en las UD, por lo cual se puede suponer que esta relacionado con la baja tinción (porcentaje de viabilidad). Por lo que se sugiere que se realicen futuros estudios para determinar las especies y el daño que ocasionan a la semilla.

9.3 Pruebas de germinación

No existen diferencias significativas entre las condiciones de luz y oscuridad ($F_{2,24}=1.325$, $p=0.261$). El análisis ANOVA se muestran diferencias significativas entre los tratamientos de temperatura ($F_{2,24}=96.31$, $p<0.0001$, Cuadro 5). Sin embargo, la interacción temperatura x oscuridad fue significativa ($F_{2,24}=9.937$, $p=0.0007$, Cuadro 5), en los tratamientos sometidos a luz (1500 Lux) se obtuvo mayor el porcentaje de germinación de 72.6 % a 20 °C y el menor porcentaje de 18

% a 10 °C. De igual manera, en los tratamientos sometidos a oscuridad se obtuvo un mayor porcentaje de germinación de 66.6 % a 20 °C y el menor a porcentaje de 36.6 % a 10°C (Figura 8).

De esta manera la temperatura a 20 °C con luz (1500 lux) es ideal para la germinación de *C. mexicana* (Figura 8).

Cuadro 5. Análisis ANOVA factorial de germinación.

	Suma de cuadrados	gl	Cuadrados medios	F	Sig.
Temperatura	9096	2	4548	96.31	P<0.0001
Luz/oscuridad	62.59	1	62.59	1.325	P=0.2610
Interacción	938.5	2	469.3	9.937	P=0.0007
Residual	1133	24	47.22		

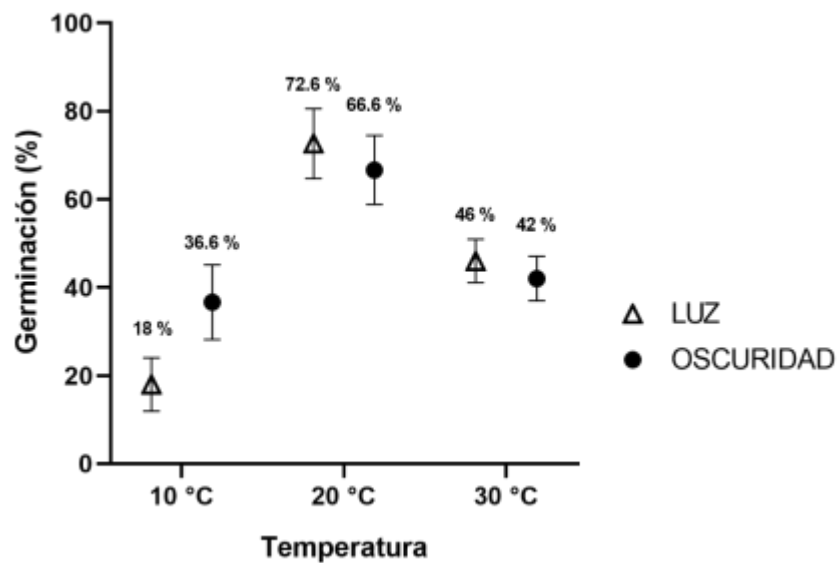


Figura 8. Porcentaje de germinación de *C. mexicana* bajo condiciones de luz y oscuridad con tres tratamientos de temperatura.

En cuanto al tiempo de germinación de *C. mexicana*, se determinó que la germinación inicial ocurre al tercer día, y entre el día 11 y 12 comienza a estabilizarse para todos los tratamientos (figura 9). Las pruebas estadísticas para obtener t10 de germinación muestran diferencias entre los tratamientos exceptuando el primer tratamiento. Respecto a t50 se encontraron diferencias significativas (Cuadro 6).

El porcentaje máximo de germinación de *C. mexicana* fue de 73 % en condiciones de Luz (1500 lux) a 20 °C. Estos resultados coinciden con lo registrado por Forsyth y Staden (1983) para *Tagetes minuta*, en donde los aquenios germinaron a una temperatura óptima de 25 °C en condiciones de luz, obteniendo el 100 % de germinación a los 7 días. Los aquenios de *T. minuta* en temperaturas de 10 °C y 35 °C, no lograron germinar, en condiciones luz u oscuridad. Los resultados obtenidos pueden estar relacionados a la ausencia de semilla en las UD. Estos datos concuerdan con lo mencionado por Delbón (2014), donde aproximadamente un 25% de los aquenios del género *Flourensia* no presentan semilla impidiendo la germinación.

Para la germinación de *C. mexicana*, las condiciones ambientales son un factor determinante, ya que, los tratamientos con temperatura de 10 °C y 30 °C no favorecieron la germinación. Esto puede deberse a las estrategias que desarrollan las especies para distribuir la germinación según las condiciones del tiempo y así, adaptarse a las condiciones variables, favoreciendo la supervivencia y establecimiento de nuevas poblaciones (Mancipe-Murillo *et al.*, 2018).

Cuadro 6. Porcentaje de germinación y tiempo (días) en que las UD de *C. mexicana* alcanzaron t10 y t50 de germinación por tratamientos

Tratamiento	Porcentaje de germinación final	Tiempo de germinación (días)			
		t10		t50	
LUZ 10 °C	18%	9.6	(cd)	10.9	(bcd)
LUZ 20 °C	73%	2.9	(a)	4.4	(a)
LUZ 30 °C	46%	3.6	(b)	5.2	(b)
OSCURIDAD 10 °C	37%	10.2	(d)	12.8	(d)
OSCURIDAD 20 °C	67%	2.9	(a)	4.0	(a)
OSCURIDAD 30 °C	39%	4.7	(c)	6.4	(c)

Sig. ($P < 0.0001$) a, b, c y d en la misma hilera indican que hay diferencia entre los tratamientos (ANOVA).

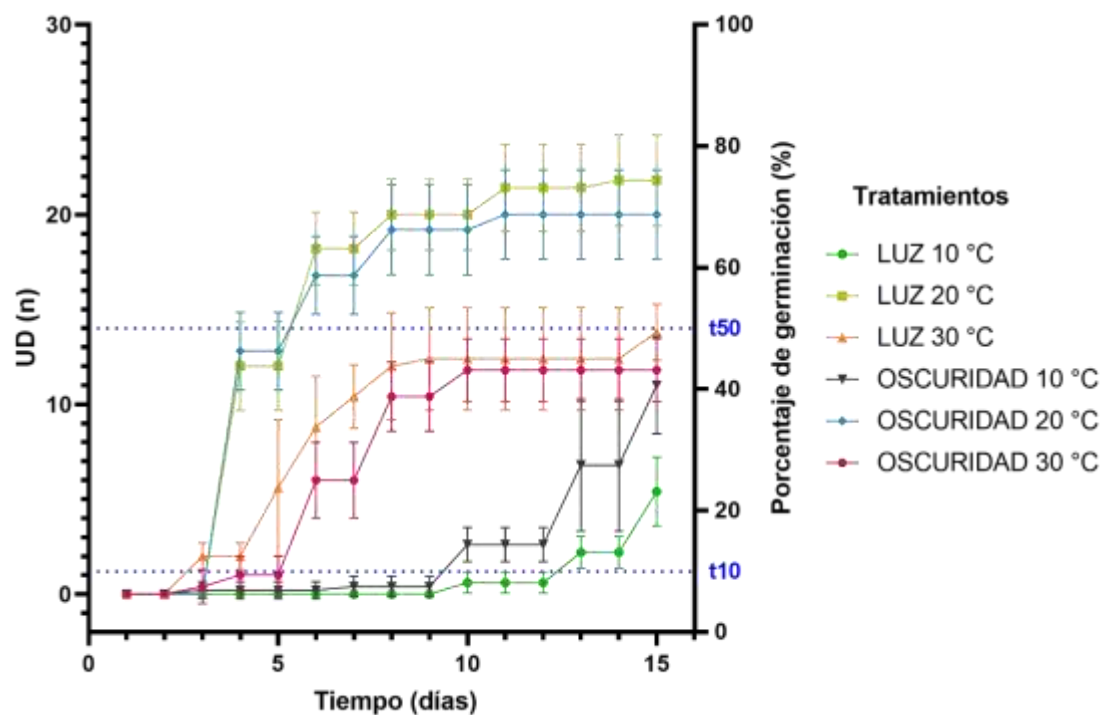


Figura 9. Tiempo de germinación de las UD de *C. mexicana*.

Sin embargo, las UD expuestas a luz tienen mayor porcentaje de germinación, exceptuando el tratamiento a 10 °C. Finalmente, se encontró que la radícula emerge principalmente de la base del aquenio (Figura 10 A) y ocasionalmente de manera lateral (Figura 10 B), exponiendo en primera instancia los cotiledones.

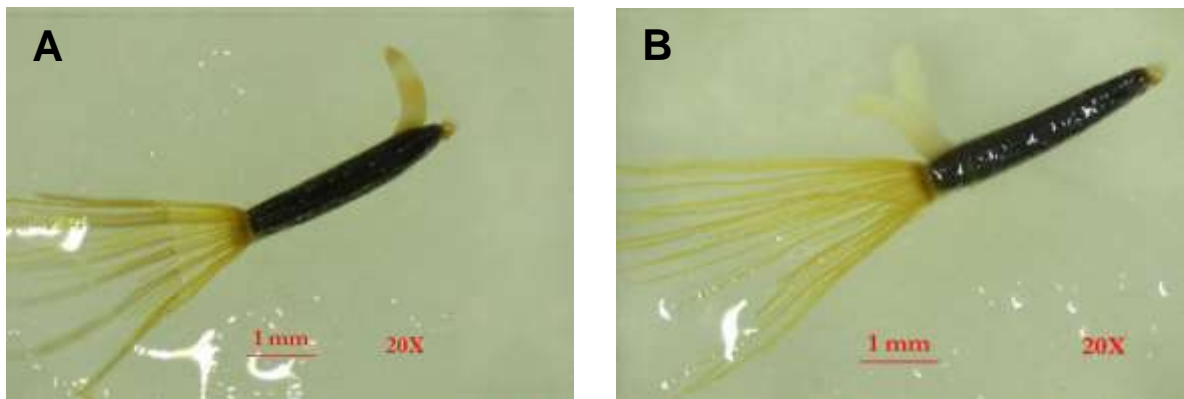


Figura 10. Germinación de *C. mexicana*. A Emergencia de radícula. B. Emergencia de cotiledones.

Los factores ambientales, como el fotoperiodo, la temperatura y humedad repercuten sobre el desarrollo de las plantas y semillas, así como en su capacidad germinativa (Elizalde *et al.*, 2016). En este caso, *C. mexicana* requiere temperaturas de 20°C con un fotoperiodo 12/12 a 1500 lux para tener el mayor porcentaje de germinación. De acuerdo con García-Torrice *et al.*, (2011), algunas especies de la familia Asteraceae requieren estas mismas condiciones para propiciar la germinación, tal es el caso de la especie *Aster pyrenaeus* (Asteraceae) cuyas condiciones de germinación óptimas son de 12 horas de luz y una temperatura de 20 °C.

De acuerdo con lo mencionado por Pivatto *et al.*, (2014), las semillas se dividen en tres grupos. Las fotoblásticas positivas, las cuales no germinan en la oscuridad, fotoblásticas negativas, donde su germinación es inhibida por la luz y las fotoblásticas neutras o indiferentes a la luz, que germinan tanto en luz como en oscuridad. Las UD de *C. mexicana* son fotoblásticas neutras ya que germinan tanto

en luz como en oscuridad. Aunque no presentaron diferencias significativas, el mayor porcentaje de germinación se obtiene en condiciones expuestas a luz.

9.4 Efecto de las condiciones ambientales (temperatura, fotoperiodo e irrigación) en la cantidad de aceites esenciales y su capacidad antioxidante.

9.4.1 Tasa relativo de crecimiento (TRC)

La TRC de las plantas de *C. mexicana* bajo condiciones de verano (27 °C, fotoperiodo 14/10, riego cada 4 días) fue del 18%; en contraste, bajo condiciones de invierno (14 °C, fotoperiodo 10/14, riego cada 8 días) se obtuvo un 4%. Existen diferencias significativas entre ambas condiciones ($p = <0.0001$, $t = 9.304$, g.l. = 198, Figura 11).

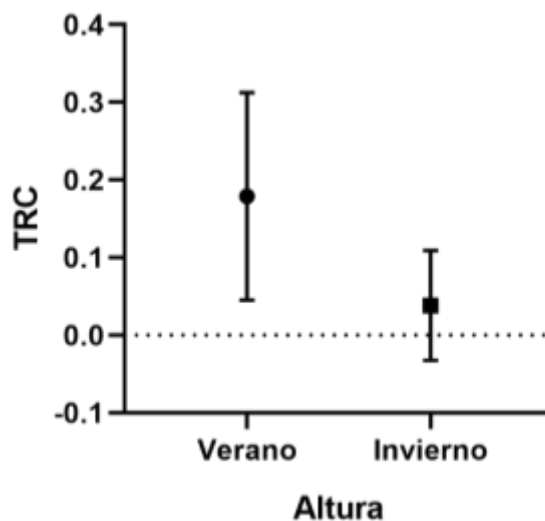


Figura 11. Análisis de TRC de los tratamientos de verano e invierno.

Es decir, las plantas sometidas a condiciones de verano tuvieron mayor crecimiento debido a la frecuencia de riego y la temperatura favorable para el desarrollo. Mientras que las plantas sometidas a condiciones de invierno, con menor frecuencia de riego y a temperaturas bajas, entraron en fase invernal, donde se

observa un menor crecimiento. Estos datos son similares a los obtenidos por Hendawy (2018) para la especie *Mentha piperita* var. *multimentha* que obtuvo un mayor crecimiento en condiciones de 23.9 °C

En otros estudios se muestran resultados contrastantes a los registrados para esta investigación, tal es el caso de Rodríguez (2014). Para el crecimiento de *Poliomintha longifolia* se ve afectado por las condiciones climáticas adversas. Por eso, *P. longifolia* presenta mayor crecimiento bajo menor exposición a luz por el efecto de escape al sombreado, datos que se contrastan con lo obtenido para *C. mexicana*, donde a menor exposición a la luz, menor TRC. Esto se podría explicar debido a los habitats de origen de *P. longifolia*, pertenecientes a climas templados y boscosos en contraste *C. mexicana* proviene de regiones del semidesierto con climas semi-secos y mayor exposición a la luz.

9.4.2 Peso fresco y peso seco

C. mexicana presenta en promedio, menor un peso fresco de 1.98 ± 0.69 g/planta en el tratamiento de verano, con respecto al tratamiento de invierno (2.12 ± 0.79 g/planta). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas ($p=0.5845$, $t=0.5477$, g.l.= 198, figura 12). El peso seco promedio en las condiciones de verano fue de 0.72 g/planta y para las condiciones de invierno de 0.95 g/planta. Se observa que el peso seco es mayor en el tratamiento de invierno, aunque no se encontraron diferencias significativas ($p=0.1121$, $t=1.596$, g.l.=198, figura 13).

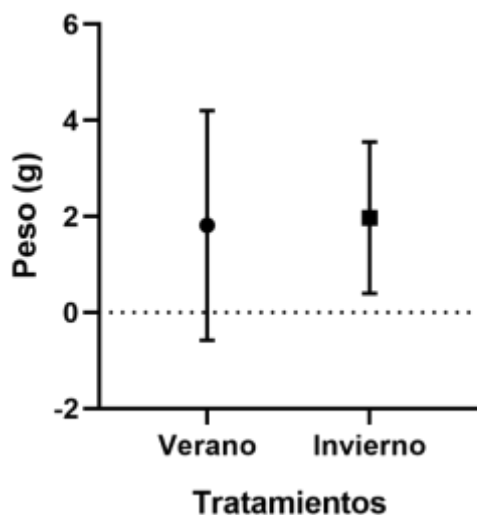


Figura 12. Peso fresco de *C. mexicana*.

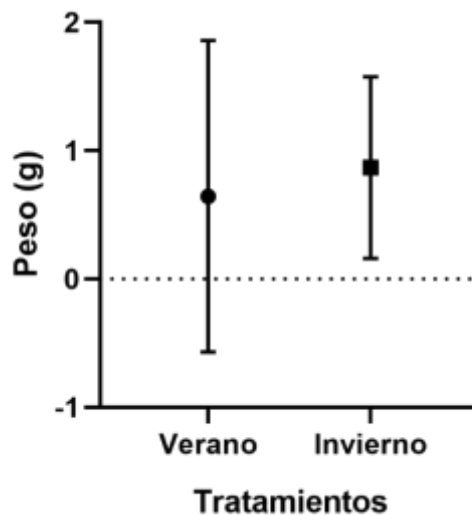


Figura 13. Peso seco de *C. mexicana*.

En las observaciones de plantas silvestres hechas durante este estudio en las diferentes estaciones, es notorio que las plantas son más altas con más follaje en verano. Sin embargo, los resultados de este estudio no coinciden con las observaciones de campo, asimismo, Mahmoud (2018) propone que un incremento en los niveles de irrigación aumenta el peso de hierba fresca de plantas de *M. vulgare*, lo cual resulta contrario a los resultados de estudio en las condiciones de verano e invierno.

9.4.3 Rendimiento de aceite esencial

El rendimiento de aceite esencial promedio para el tratamiento de condiciones de verano fue del 4.5% v/v, mientras que el tratamiento de invierno tuvo un rendimiento del 2.5% v/v. La densidad del aceite esencial de *C. mexicana* fue de 0.984 g/ml.

Con base en la prueba estadística de *t* de Student no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para las condiciones de verano e invierno en los rendimientos de aceite esencial ($p= 0.14$, $t= 0.29$, g.l.= 4.27; Figura

14). Sin embargo, se observa una tendencia de mayor rendimiento en el tratamiento de verano.

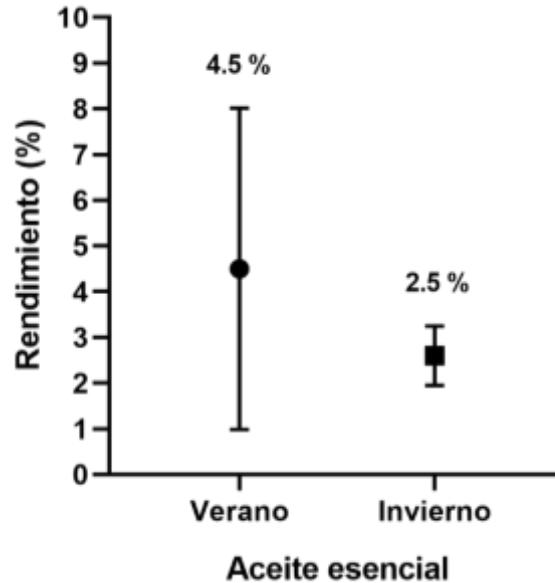


Figura 14. Rendimiento de los aceites esenciales de *C. mexicana* entre los tratamientos de verano e invierno.

Diversos autores han estudiado el rendimiento del aceite esencial de *C. mexicana*, este estudio es el que presenta mayor rendimiento de aceite esencial en comparación al de las investigaciones realizadas anteriormente (Cuadro 7). Esta diferencia puede deberse a las condiciones ambientales (verano e invierno) de las plantas usadas y los diferentes niveles de irrigación, por el contrario, en los estudios anteriores se usaron plantas provenientes de poblaciones silvestres. En este estudio se utilizaron tallos y hojas sometidos a distintas condiciones de cultivo, en comparación con otras investigaciones que han empleado otros métodos de extracción y distintas partes de la planta y plantas silvestres (Cuadro 7).

Cuadro 7. Tabla comparativa de extracciones de aceites esenciales de *C. mexicana*.

Año	Autor	Rendimiento (%) v/v	Condiciones	Estación	Método	Órganos	Localidad
2005	Cárdenas-Ortega <i>et al.</i>	0.94	Planta silvestre	Verano	Arrastre de vapor	Hojas frescas	San Luis Potosí
2011	Guerra-Boone <i>et al.</i>	0.06	Planta silvestre	Otoño	Hidrodestilación con Clevenger	Hojas	Coahuila
2011	Guevara-Campos <i>et al.</i>	0.41	Planta silvestre	Otoño	Hidrodestilación con Clevenger	Raíces	Coahuila
2016	Mendoza	1	Planta silvestre	Verano	Arrastre de vapor	Toda la planta	San Luis Potosí
2021	Este estudio	4.5 2.5	Planta cultivada	Verano e Invierno	Hidrodestilación con Clevenger	Partes aéreas	Querétaro

Para *C. mexicana* el riego influye en la obtención de los aceites esenciales. Tal como lo propone Mahmoud (2018), que un incremento en los niveles de irrigación y la deficiencia de riego influye en la acumulación de aceite esencial de plantas de *M. vulgare*

9.4.4 Capacidad Antioxidante por el método DPPH y FRAP

Por el método DPPH se encontró una capacidad antioxidante de los aceites esenciales de *C. mexicana* de 14.85 % para el tratamiento de verano, mientras que el tratamiento de invierno se encontró 13.79 %. El extracto de aceites esenciales de *C. mexicana* no presenta diferencias significativas entre las condiciones de verano e invierno ($P= 0.654$, $t= 0.465$, g.l.= 8, Figura 15, Cuadro 9). No obstante, aunque estadísticamente no existen diferencias significativas entre los tratamientos, hay una tendencia de mayor capacidad antioxidante en el tratamiento de verano. La significancia del análisis de estas condiciones de cultivo puede deberse a la cantidad de muestras obtenidas en el lugar de estudio.

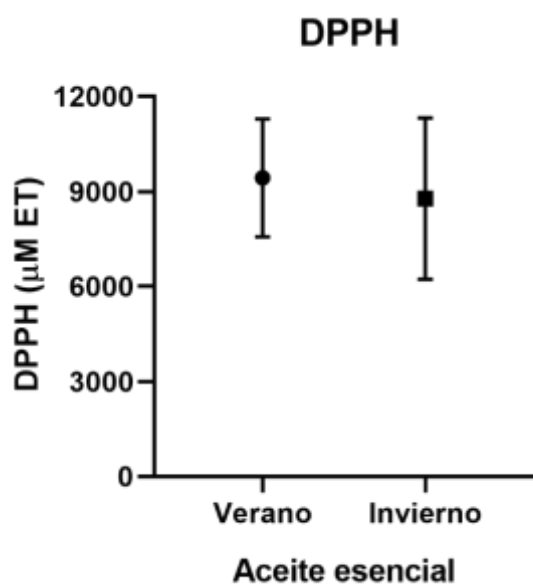


Figura 15. Capacidad antioxidante por DPPH de los aceites esenciales de *C. mexicana* entre los tratamientos de verano e invierno.

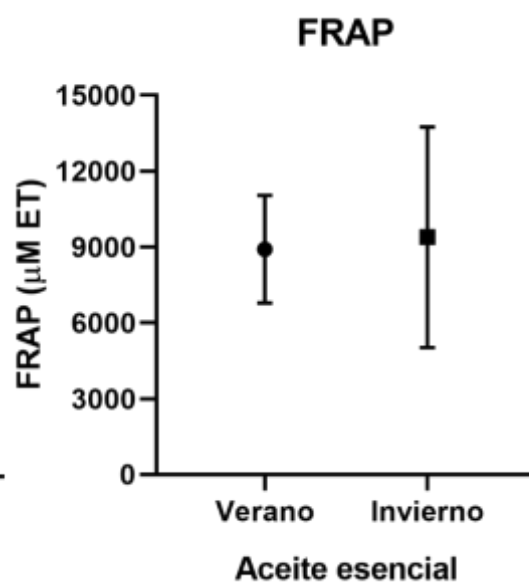


Figura 16. Capacidad antioxidante por FRAP de los aceites esenciales de *C. mexicana* entre los tratamientos de verano e invierno.

Por el método FRAP la capacidad antioxidante de *C. mexicana* mostró concentraciones de $8912.5 \pm 2131.25 \mu\text{M ET}$ para las condiciones de verano, mientras que en condiciones de invierno se obtuvo $9389.9 \pm 4366.04 \mu\text{M ET}$. No existen diferencias significativas entre los tratamientos de invierno y verano ($P=0.831$, $t=0.219$, $g.l.=8$, Figura 16, Cuadro 8).

Cuadro 8. Capacidad antioxidante de *C. mexicana* por DPPH y FRAP.

Tratamientos	DPPH (µM ET)	FRAP (µM ET)
Verano	9436.4 ± 1920.32	8912.5 ± 2131.25
Invierno	8779.2 ± 2551.8	9389.9 ± 4366.04

La capacidad antioxidante de *C. mexicana* por los métodos DPPH y FRAP, se ha analizado por Guerra-Boone *et al.* (2013), donde menciona que *C. mexicana* presenta una nula capacidad antioxidante a una concentración máxima de 250 µg/ml sin obtener un porcentaje de reducción de DPPH. En cambio, en este estudio se obtuvo una mayor capacidad antioxidante bajo el método DPPH (14.75 % verano e invierno 13.79 %).

La capacidad antioxidante para la familia Asteraceae se ha evaluado por Soto (2018) para la especie *Tagetes patula* por el método DPPH. Los resultados de la evaluación muestran una concentración de 87.6 µmol./g ET, resultados que en comparación con *C. mexicana* (9.58 µmol./g ET) tiene menor capacidad antioxidante.

La capacidad antioxidante del aceite esencial de *C. mexicana* por el método FRAP, no había sido registrada en estudios anteriores.

9.5 Protocolo de propagación de unidades de reproducción de *Chrysactinia mexicana* A. Grey

Con base en los datos obtenidos en este estudio se elaboró un protocolo de propagación de *C. mexicana*. Los resultados que se muestran son de laboratorio, pero es posible ajustar a condiciones de invernadero, por lo cual se ponen notas y recomendaciones para la producción en invernadero o casa sombra (Cuadro 9).

Cuadro 9 Protocolo de propagación por UD de *C. mexicana*.

Información de la especie	
Nombre científico	<i>Chrysactinia mexicana</i> A. Grey.
Nombre común	Falsa damiana, damianita, Hierba de San Nicolás, romerillo.
Familia	Asteracea, Tribu Tagetae.
Origen	México.
Uso	Medicinal.
Caracteres diagnósticos	Arbustos, 20–40 cm alto. Hojas alternas, simples, lineares, suculentas con glándulas oleíferas notorias. Flores radiadas, amarillas, en ocasiones amarillo–verdosas; flores del disco, amarillas.
Método de colecta	Con tijeras de poda, recolectar la infrutescencia o la cabezuela en frascos con tapa o bolsas de papel estraza.
Época de colecta	De agosto a octubre.
Material de propagación	Cortar cabezuelas florales maduras, sin lígulas, con vilano expuesto.



Unidades de dispersión Aquenios 3-4 mm largo,
cilíndricos, negros. Cerdas del vilano, 3.5-5.0 mm de
largo.



Peso: 2900 achenios/g

Almacenamiento Colocar los frutos en frascos (100 ml) con tapa,
agregar silicagel para reducir la humedad y
conservar los frutos. Mantener en sombra y a
temperatura ambiente (15-25 °C) y humedad
ambiental (30 %).

**Tratamientos
pregerminativos** No se requiere

**Método de germinación y
sustratos** En laboratorio: en caja Petri, se recomienda como
sustrato algodón en pads.

Bajo invernadero o en campo, en charolas de
germinación, se recomienda peat moss

Humedad ambiental 30%

**Fotoperiodo e intensidad
lumínica** 12 h luz / 12 h oscuridad a 1500 lux.

Riego 1 L para charola de 28 cavidades cada 4 días.

Temperatura	Es favorable a 20 °C.
Intervalo de germinación	Del día 3 al 12.
Porcentaje de germinación	de 73 %
Trasplante	Una vez obtenidas las plántulas, después de alcanzar los 10 cm se recomienda cambiar a charolas de germinación de 25 a 50 cavidades o bolsa maceta de ¼ L, se recomienda como sustrato vermiculita, lama, arena y composta (30:10:60:5).

10 CONCLUSIONES

Con este estudio se caracterizaron que los frutos de *C. mexicana*, los cuales son aquenios de una coloración café oscuro a negra, cilíndricos con estrías longitudinales y presentan una longitud promedio de 3.15 mm. por 0.3 mm. de ancho, en condiciones de almacenamiento presentan aroma, el mismo de las hojas.

La viabilidad de las UD de *C. mexicana* con un corte transversal permitió evaluar de forma eficiente la viabilidad de las semillas (36% de viabilidad).

La germinación de UD de *C. mexicana* es favorable a los 20 °C, tanto en luz como en oscuridad ya que las unidades de reproducción son fotoblásticas neutras con un porcentaje de germinación del 73%.

Al no haber diferencias significativas entre las condiciones ambientales de verano e invierno y el peso seco de las plantas de *C. mexicana*. Se recomienda su cultivo en condiciones de verano para obtener mayor rendimiento de aceites esenciales.

En cuanto a los rendimientos de aceites esenciales, se obtuvo los rendimientos más altos registrado hasta la fecha, 4.5% para verano y 2.5% para invierno.

C. mexicana presentó una mayor actividad antioxidante en el tratamiento de verano por los métodos DPPH (14.85 %, 9436.4 $\mu\text{M ET/L}$) y FRAP (8912.5 \pm 2131.25 $\mu\text{M ET}$). Estos resultados muestran la mayor capacidad antioxidante registrada en aceites esenciales para la especie. Estos datos son un aporte para los estudios fitoquímicos de *C. mexicana*.

Este es el primer estudio de *C. mexicana* enfocado a la propagación y manejo de la especie como cultivo.

11 TRABAJOS CITADOS

- Baser, K. H. C., y Buchbauer, G. 2009. Handbook of essential oils: science, technology, and applications. Taylor & Francis Group. NW, EUA. 39–121 p.
- Benzie, I. F. y Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical biochemistry, 239 (1), 70-76.
- Boom, E. A., Orozco, J. A., Alean, J. D. y Rojano, B. 2018. Evaluación de la actividad antioxidante de aceites esenciales de eucaliptos cultivados en Colombia. Información tecnológica, 29:6, 57-66.
- Brand-williams, W., Cuvelier, M. E. y Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm.-wiss. U.-technol, 28: 25-30.
- Cadavid, G., D. 2010. Aceites esenciales: Una alternativa de diversificación para el eje cafetero. Colombia: Universidad Nacional de Colombia. 9 p.
- Calvo-Irabien, L., M. 2018. Native Mexican aromatic flora and essential oils: current research status,. Industrial crops & products, 111: 807-822.
- Cárdenas-Ortega, N. C., Juárez-Flores, B. I., Pinos-Rodríguez, J. M. y Aguirre-Rivera, J. R. 2011. Biocide effects of *Chrysactinia mexicana* a. Gray. Plant-Phytochemicals in Animal Nutrition. 119-134.
- Cárdenas-Ortega, N. C., Zavala-Sánchez, M. A., Aguirre-Rivera, J. R., Pérez-González, C. y Pérez-Gutiérrez, S. 2005. Chemical composition and

- antifungal activity of essential oil of *Chrysactinia mexicana* a. Gray. Journal of agricultural and food chemistry 11:53, 4347-4349.
- Cassani, J., Ferreyra-Cruz, O. A., Dorantes-Barrón, A. M., Viguera Villaseñor, R. M., Arrieta-Baez, D. y Estrada-Reyes, R. 2015. Antidepressant-like and toxicological effects of a standardized aqueous extract of *Chrysactinia mexicana* A. Gray (Asteraceae) in mice. Journal of Ethnopharmacology, 171: 295-306.
- Corella-Bernal, R. A., Ortega-Nieblas, M. M. 2013. Importancia del aceite esencial y la producción de orégano *Lippia palmeri* Watson en el estado de Sonora. Biotecnia, 15:1, 57-64.
- Delbón, N. E. 2014. Biología y conservación de especies de *Flourensia* DC. (Asteraceae) endémicas del centro de Argentina. Argentina: Universidad Nacional de Córdoba. 122 p.
- Elizalde, V., García, R., Peña, C. e Ybarra, M. 2016. Viabilidad y germinación de semillas de *Hechita perotensis* (Bromeliaceae). Revista de Biología Tropical. 65:1, 153-165.
- Estrada-Reyes, R., Ferreyra-Cruz, O. A., Jiménez-Rubio, G., Hernández-Hernández, O. T. y Martínez-Mota, L. 2016. Prosexual effect of *Chrysactinia mexicana* A. Gray (Asteraceae), false damiana, in a model of male sexual behavior. Biomed Research International.
- Forsyth, C. y Staden, J. V. 1983. Germination of *Tagetes minuta* L. I. Temperature effects. Annals of Botany. 52:5, 659-666.
- García Torrico, A. I., Jiménez-Alfaro, B. y Fernández-Pascual, E. 2011. Implicaciones de la viabilidad y germinación de semillas en la conservación de *Aster pyrenaeus* Desf. ex DC. (Asteraceae). Col-loqui internacional de botànica Pirenaico-Cantàbrica a Ordino, Andorra, 147-154.
- García-Hernández, K. Y., Vibrans, H., Rivas-Guevara, M. y Aguilar-Contreras, A. 2015. This plant treats that illness? The hot-cold system and therapeutic procedures mediate medicinal plant use in San Miguel Tulancingo, Oaxaca, México. Journal of Ethnopharmacology, 163: 12-30.
- García-López, J. C., Pinos-Rodríguez, J. M., Álvarez-Fuentes, G., Juárez-Flores, B. I., Jasso-Pineda, Y., Camacho-Escobar, M. A. y Hernández-Arteaga, L. O. 2016. Effect of *Chrysactinia mexicana* A. Gray extract on laying hens organs challenged with *Salmonella typhimurium*. Journal of Applied Life Sciences International, 5:1,1-8.

- Gioannini, R., Al-Ajlouni, M., Kile, R., Vanleeuwen, D. y St. Hilaire, R. 2018. Plant communities suitable for green roofs in arid regions. *Sustainability*. 10:6, 1755-1776.
- Gomez-Macias, E., Mellado-Bosque, M. A., Ascacio-Valdes, J. A., Aguirre-Arzola, V. E., Martinez-Avila, G. C., Aguilar, C. N., Aguilera-Carbo. 2019. Polyphenolic profile antioxidant potential and antimicrobial activity of *Chrysactinia mexicana* A. Gray (hierba de san nicolas). *International Journal of Pharmacognosy*, 390-396.
- Guerra-Boone, L., Álvarez-Román, R., Salazar-Aranda, R., Torres-Cirio, A., Rivas-Galindo, V. M., Waksman de Torres, N., Pérez-López, L. A. 2013. Chemical compositions and antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils from *Magnolia grandiflora*, *Chrysactinia mexicana* and *Schinus molle* found in northeast México. *Natural Product Communicatios*, 6:12, 135-138.
- Guevara Campos, B. M., Torres Cirio, A., Rivas Galindo, V. M., Salazar Aranda, R., Waksman de Torres, N., Pérez-López, L. A. 2011. Activity against *Streptococcus pneumoniae* of the essential oil and 5-(3-buten-1-ynyl)-2, 2'-bithienyl isolated from *Chrysactinia mexicana* roots. *Natural Product Communications*, 6:7, 1035-1038.
- Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, Jr., F. T. y Geneve, R. L. 2002. Hartmann and Kester's Plant propagation: Principles and Practices. 8th Ed. University Prentice Hall. Hoboken, NJ. USA. 915 p.
- Hendawy, S. F., El Gendy, A. G., Omer, E. A., Pistelli, L. y Pistelli, L. 2018. Growth, yield and chemical composition of essential oil of *Mentha piperita* var. *Multimentha* grown under different agro-ecological locations in Egypt. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21:1, 23-39.
- Holubowicz, R., Wang, X., Siutaj, W. 2001. Use of tetrazolium (TTC), Germ's and greenhouse plant emergences methods for testing seed vigour of selected ornamental plant species. *Acta Agrobotanica*, 54:2, 5-7.
- International Seed Testing Association, ISTA. (2016). Rules Proposals for the International Rules for Seed Testing. 1-7 p.
- Joosen, R. V., J. Kodde, L. A., Williems W. Ligterink, van der Plas, L. H., y H. W. Hilhorst. 2010. Germinator: a software package for high throughput scoring and curve fitting of Arabidopsis seed germination. *Plant J*, 62: 148 - 159.
- Juárez-Rosete, C. R., Aguilar-Castillo, J. A., Juárez-Rosete, M. E., Bugarín-Montoya, R., Juárez-López, P. y Cruz Crespo, E. 2013. Hierbas aromáticas

- y medicinales en México: Tradición e Innovación. *Revista Bio Ciencias*, 2:3, 119-129.
- León Méndez, G., Osorio Fortich, M., Torrenegra, M. E. y González, J. G. 2015. Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de *Plectranthus amboinicus* L. *Revista Cubana de Farmacia*, 708-718.
- López de la Cruz, R. P. y Caso Orihuela, N. V. 2015. Rendimiento y composición química de aceites esenciales de *Eucalyptus archeri* y *Schinus molle* Valle del Mantaro. Universidad Nacional del Centro del Perú.
- Lovey, R. J., Perissé, P., Vieyra, C. y Coraglio, J. C. 2010. Caracterización de semilla, germinación y plántula de *Cologania broussonetii* (Balb.) DC. *Revista Phytón*. 79: 2010, 5-10.
- Magallán, F., Alvarado, A., Ocampo, R. y Guerrero, L. 2015. Informe técnico: protocolos de propagación de plantas nativas aromáticas y medicinales con uso potencial en la industria farmacéutica y cosmética. Querétaro: fondo de vinculación tecnológica.
- Mahmoud, A. A., Gendy, A. S., Said-Al Ahl, H. A., Grulovad, D., Astatkie, T. y Abdelrazik, T. M. 2018. Impacts of harvest time and water stress on the growth and essential oil components of orehound (*Marrubium vulgare*). *Scientia Horticulturae*, 139–144.
- Mancipe-Murillo, C., Calderón-Hernández, M. y Pérez-Martínez, L. V. 2018. Evaluación de viabilidad de semillas de 17 especies tropicales altoandinas por la prueba de germinación y la prueba de tetrazolio. *Calsadia*, 40:2, 366-382.
- Márquez Guzmán, J., Collazo Ortega, M., Martínez Gordillo, M., Orozco Segovia, A., Vazquez Santana, S. 2013. *Biología de agiospermas*. México: UNAM.
- Medina-de la Cruz, O., Leal-Morales, C. A., Meza-Menchaca, T., Guillen, L., Juárez-Flores, B. I. y Gallegos-García, V. 2020. Efecto del aceite esencial de *Chrysactinia mexicana* A. Gray sobre aislados clínicos de *Candida glabrata*. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, 23:1, 28-35.
- Mendoza Hernández, C. 2016. Efecto del aceite esencial de *Chrysactinia mexicana* A. Gray en aislados clínicos de *Candida albicans* de mujeres con neoplasia intraepitelial cervical. San Luis Potosí: Universidad Autónoma de San Luis Potosí. 27 p.
- Molina-Salinas, G. M., Pérez-López, A., Becerril-Montes, P., Salazar-Aranda, R., Said-Fernández, S. y Waksman de Torres, N. 2007. Evaluation of the flora

- of northern México for *in vitro* antimicrobial and antituberculosis activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 109:3, 435–441.
- Moré, E., Fanlo, M., Melero, R. y Cristóbal, R. 2010. Guía para la producción sostenible de plantas aromáticas y medicinales. Catalunya: Centro Tecnológico Forestal de Cataluña (CTFC). 10 p.
- Nishimura, T., Ohyama, K., Goto, E. y Inagaki, N. 2009. Concentrations of perillaldehyde, limonene, and anthocyanin of *Perilla* plants as affected by light quality under controlled environments, *Scientia Horticulturae*, 122: 134–137.
- Pivatto, M. S., Funes, G., Ferreras, A. E., y Gurvich, D. E. 2014. Seed mass, germination and seedling traits for some central Argentinian cacti. *Seed Science Research*, 24:01, 71–77.
- Reyes-Bautista, Z. y Rodríguez, D. 2005. Efecto de la luz, temperatura y tamaño de semilla en la germinación de *Nolina parviflora* (H.B.K.) Hemsl. Universidad Autónoma de Chapingo, México. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 11:2, 99-104.
- Ramos Llica, E., Castañeda Castañeda, B. e Ibáñez Vásquez, L. A. 2008. Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. *Rev Acad Peru Salud*. 15:1, 42-46.
- Rodríguez Perón, J. M., Menéndez López, J. R. y Trujillo López, Y. 2001. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev Cubana Med Mllit*. 30:1, 36-44.
- Rodríguez, P., A. 2014. Evaluación estacional de la producción y calidad del aceite esencial en plantas de orégano (*Poliomintha longiflora* Gray.) en dos sistemas de cultivo. Nuevo león: UANL. 32 p.
- Rojano, B. A., Gaviria, C. A., Gil, M. A., Saez, J. A., Schinella, G. y Tournier, H. 2008. Actividad antioxidante del isoespintanol en diferentes medios. *Vita E, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. 15:1, 173-181.
- Salazar-Aranda, R., Pérez-López, L. A., López-Arroyo, J., Alanís-Garza, B. A. y Waksman de Torres, N. 2011. Antimicrobial and antioxidant activities of plants from northeast of Mexico. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 11: 536139, 6p.
- Scandaliaris, M. y G. E. Barboza. 2013. Differentiation of Argentine species of *Clinopodium* (Lamiaceae: Nepetoideae) through morphological and anatomical characteristics of its fruits. *J. Bot. Res. Inst. Texas*. 7: 203-215.

- Sebei, K., Sakouhi, F., Herchi, W., Larbi, M. y Boukhchina, S. 2015. Chemical composition and antibacterial activities of seven *Eucalyptus* species essential oils leaves. *Biological Research*, 48, 7.
- Sepúlveda-Jiménez, G., Ducoing, P., Rocha, H. y Sosa, M. 2004. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21: 355-363.
- Soriano, M. L. 2013. Contenido antioxidante en damiana (*Turnera diffusa* Willd Ex Schult) y factores que lo modifican: condiciones ambientales de cultivo y manejo postcosecha. Baja california: CIBNOR.
- 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*. 9:5, 949-959.
- Stashenko, E. E. 2009. Aceites esenciales. Universidad Industrial de Santander. Santander, Colombia. 16 p.
- Torrenegra, M. E. 2015. Actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales. *Revista Cubana de Farmacia*, 512-523.
- Torrenegra, M. E. 2015. Comparación de la hidro-destilación asistida por radiación de microondas (mwhd) con hidro-destilación convencional (hd) en la extracción de aceite esencial de *Minthostachys mollis*. *Información tecnológica*, 26(1), 117-122.
- Villarreal Q., J. Á. 2003. Facículo 113: Familia compositae: Tribu Tagetae. Flora del Bajío y Regiones Adyacentes. UAAAN. Saltillo, Coahuila. 13 p.
- Villaseñor, J. L. y Redonda-Martínez, M. D. 2009. El género *Chrysactinia* (Asteraceae, tribu Tageteae) en México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 80: 29- 37.
- Wilkinson, K. M. y Jacobs, D. F. 2014. Crop planning: propagation. United States Department of Agriculture: USDA. 69 p.
- Wu, S., Sun, Y., Niu, G., Altland, J. y Cabrera, R. 2016. Response of 10 aster species to saline. *Hortscience*, 51:2, 197–201.
- Zavala-Mendoza, D., Grasa, L., Zavala-Sánchez, M. Á., Pérez-Gutiérrez, S. y Divina Murillo, M. 2016. Antispasmodic effects and action mechanism of essential oil of *Chrysactinia mexicana* A. Gray on rabbit *ileum*. *Molecules*, 21:6, 783-795.