



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

Acumulación de terpenos en epazote (*Chenopodium
ambrosioides*) con déficit de agua

TESIS

Para obtener el título de

Licenciada en Biología

PRESENTA

Sotero Cesáreo Andrea

DIRIGIDA POR

Dr. Cesar Mateo Flores Ortiz



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

This work has been funded by MGU, a philanthropist based in Spain, as part of Project MGU-the Used Plants Project managed by the Royal Botanic Gardens, Kew.

A mi asesor el Dr. Cesar Mateo Flores Ortiz, por su apoyo, gran paciencia y por guiarme en este gran camino.

Al laboratorio de Fisiología Vegetal y Biogeoquímica de la Unidad de Biotecnología y Prototipos, por su apoyo en la realización experimental de mi trabajo.

A mis profesores de carrera que siempre dieron lo mejor y mostraron el mayor compromiso por guiar a cada uno de mis compañeros y a mí para ser lo que hoy somos.

A mis compañeros de carrera por los buenos y malos momentos que pasamos juntos, que sin lugar a dudas me enseñaron a jamás rendirme.

Dedicatoria

Mi tesis la dedico con todo mi amor y cariño a mis padres que me dieron la vida, pero sobre todo a mi madre que jamás dejo de creer en mí y en mis sueños y que sin lugar a dudas me hizo quien soy ahora.

A mi hermana Sandy que me enseñó tanto a lo largo de los años y me dio dos amores que llenaron mi corazón con alegría, mis sobrinos Julian y Araceli, a ellos que siempre me alegran mis días con sus sonrisas.

Al amor de mi vida Salvador por su apoyo y cariño, gracias por no dejar que mis sueños fueran abandonados, por estar a mi lado y ayudarme a superar el mayor de los obstáculos.

A mi mejor amiga Betty que me enseñó el valor de la perseverancia y que a pesar de su ausencia siempre la recordare con mucho amor, por dejar un vacío en mí siempre la extrañare.

Y a todas esas personas especiales que son parte de mi vida y que sin duda los quiero por ser parte de mis obstáculos y alegrías, sin ustedes no sería yo.

Gracias

''Es importante recordar que todos tenemos magia dentro de nosotros''

J.K. Rowling

INDICE GENERAL

Agradecimientos

Dedicatoria

Índice general

Índice de cuadros

Índice de Figuras

Resumen

Introducción

Antecedentes

Justificación

Hipotesis

Objetivos

Metodología

Resultados y Discusión

Conclusiones

Referencias

RESUMEN

En el presente trabajo se estableció como objetivo principal: determinar la relación existente entre la disponibilidad de agua en el suelo con la acumulación de terpenos en *C. ambrosioides*, por lo que se determinó la acumulación de terpenos en *C. ambrosioides* en invernadero con tratamientos, c.c.30% y c.c. 50% en los tiempos: 1, 2 y 3 (0, 7 y 14 días respectivamente); se valoraron los parámetros fisiológicos: fotosíntesis (asimilación de CO₂), conductancia estomática, transpiración, así como pigmentos fotosintéticos. Los resultados mostraron que las condiciones óptimas para la germinación fueron, el sustrato de tierra negra con agrolita, temperatura promedio de 25°C, humedad máxima de 82% y un fotoperiodo de 12/12 horas. Con relación a los terpenos, el tratamiento con c.c. 30% induce mayor acumulación de ascaridol con 379 µg/g a las 24 hrs posteriores del tratamiento, con diferencias significativas ($\alpha.05$), así como Cymol con un valor de 162 µg/g. Por otro lado la producción de pigmentos bajo condiciones de déficit de agua muestra un comportamiento similar en todos los tratamientos, existiendo un aumento para el día 14 en la producción de clorofila a, la cual mostró diferencias significativas para el tratamiento c.c. 30%. En cuanto a la actividad fotosintética no se presentaron cambios significativos dentro de los tratamientos. Las condiciones evaluadas de capacidad de campo, no tienen un efecto significativo sobre los parámetros de flujo hídrico.

INTRODUCCIÓN

Diversidad florística de México

México es un país megadiverso, con una gran variedad florística, que oscila según estimaciones entre 22 000 y 31 000 especies (Llorente-Bousquets y Ocegueda, 2008). A lo largo de los años el uso de las plantas que crecen y se distribuyen en su entorno, el desarrollo del conocimiento empírico y la convivencia con otras culturas, ha permitido difundir las propiedades curativas de las plantas silvestres. El incremento de su empleo y el progreso alcanzado en la medicina moderna, han permitido conocer mejor el efecto de los principios activos sobre el organismo humano y en las últimas épocas, al confirmarse y difundirse sus propiedades curativas, se han requerido grandes cantidades de materia prima por lo que su abastecimiento mediante los recursos naturales no ha sido suficiente y se ha hecho necesario el cultivo (Acosta, 1993).

Importancia de las plantas medicinales

Actualmente , alrededor del 25-30 % de todos los medicamentos disponibles como agentes terapéuticos se derivan de productos naturales (plantas, microorganismos y animales) y entre 65-80% de la población de países en vías de desarrollo dependen de plantas como primera herramienta para resolver problemas de salud (Calixto, 2005).

En nuestro país existe una gran diversidad de especies vegetales de origen tropical, de las cuales unas 5 mil plantas son usadas como medicinales y dada la diversidad vegetal podrían llegar a ser hasta 20 mil (Aguilar y Martínez, 1993; Estrada 1994).

A pesar de la riqueza y la variedad de la flora medicinal, el porcentaje de especies que poseen estudios fitoquímicos y farmacológicos es muy escaso (Mata, 1993), sin embargo actualmente estos estudios se encuentran en expansión debido a la gran demanda de fármacos.

Por otro lado, es importante que se conozcan diversos aspectos del uso de las plantas medicinales. En México, por ejemplo, el 99% de ellas son silvestres (Estrada, 1992), las cuales están sometidas frecuentemente a situaciones desfavorables para su desarrollo y funcionamientos óptimos ocasionadas por alteraciones en el medio ambiente. Este conjunto de situaciones desfavorables se conoce con el nombre de estrés medio ambiental (Barcelo *et. al.*, 2005), dividiéndose en estrés abiótico y biótico, teniendo como estrés abiótico más común el déficit hídrico con más incidencia en las plantas.

Descripción botánica de la planta, frutos y flores de *Chenopodium ambrosioides* L.

La especie *C. ambrosioides* es una planta anemófila, es decir se poliniza por el viento. En cuanto al porte o aspecto general de la planta, las Chenopodiáceas pueden ser herbáceas o arbustivas, con una duración anual, es decir, nacen, se desarrollan, florecen y fructifican en el mismo año o pueden tener duración perenne viviendo en este caso 3 o más años. El indumento o superficie puede ser carente de pelo (glabra), o bien glandular (pelos convertidos en glándulas secretoras) o farinosas. La disposición de las hojas en los tallos puede ser dos hojas enfrentadas en cada nudo (opuestas) o pueden sucederse a lo largo del tallo sin orden definido (alternas). La morfología de las hojas es simple, es decir con una extensión continua. La flor presenta una simetría en más de 2 planos (actinomorfa) y pueden ser hermafroditas o unisexuales (Alfaya y Marques, 2013)

Origen

Es una especie de origen Americano y nativa de México, con una distribución secundaria desde el sur de Estados Unidos hasta Argentina (Villaseñor y Espinosa, 1998). Es una planta aromática, perenne, más o menos pubescente, con el tallo usualmente postrado, olor fuerte, de aproximadamente 40 cm de altura; las hojas son oblongo-lanceoladas y aserradas, de entre 4 cm de longitud y 1 cm de ancho, con pequeñas flores verdes en panículos terminales densos, cada uno con cinco sépalos; el cáliz persistente circunda al fruto, y la semillas son

negras y no mayores de 0.8 mm de longitud (Gadano *et al.*, 2006, Jamali *et al.*, 2006).

Uso de la planta

La planta tiene varios nombres entre ellos podemos mencionar los siguientes: “quelite apestoso”, “hediondillo”, “epazote de toro”, “hierba del zorrillo”, “epazote del zorrillo”, entre otros (Martínez, 1996).

La infusión de hojas y flores es utilizada como remedio estomacal, carminativa, antihelmíntica y digestiva; en el Caribe y Centro América se emplea como tónico estomacal, carminativo y antihelmíntico por su acción paralizante y narcótica sobre ascárides, oxiuros y anquilostomas. Se ha comprobado que su extracto acuoso inhibe el crecimiento de *Staphylococcus aureus*; las hojas tienen actividad antiamebiana, antifúngica, antimalárica (*Plasmodium falciparum*, *P. vivax in vitro* y *P. berghei*, en ratones). El aceite posee actividad antibacteriana, antihelmíntica (particularmente contra *Ascaris lumbricoides*), antifúngica, antileishmania, acaricida, entre otras (Jaramillo, 2012). Durante las primeras décadas del siglo XX, el aceite esencial de *C. ambrosioides* era uno de los antihelmínticos de mayor uso en humanos, perros, gatos, caballos y cerdos. Su uso decayó en la década de los 40 al descubrirse antihelmínticos menos tóxicos (Gómez, 2008).

Propagación de semillas

La propagación por semillas implica el manejo cuidadoso de las condiciones de germinación y las instalaciones, así como el conocimiento de los requerimientos de las especies de semillas individuales.

- a) La semilla debe mantener el cultivar o especie que el propagador desea cultivar.
- b) Debe ser viable y capaz de germinar con vigor y rapidez para resistir en el almácigo posibles condiciones adversas.

- c) Se debe superar cualquier condición de letargo que pudiera inhibir la germinación aplicando los tratamientos de pre germinación adecuados. El propagador debe conocer los requerimientos de la semilla.
- d) En el caso de que la semilla sea capaz de germinar con prontitud, el éxito de la propagación depende de proporcionar las condiciones ambientales debidas: humedad, temperatura, oxígeno, luz u oscuridad, a la semilla y a las plántulas hasta su correcto establecimiento.

ANTECEDENTES

Composición química

El aceite esencial es un líquido incoloro, o ligeramente amarillo, de consistencia no muy viscosa, con olor penetrante y pungente parecido al alcanfor, con un sabor ligeramente amargo que se extrae de la planta completa, especialmente de las semillas y frutos, por destilación al vapor (Gadano *et al.*, 2006). Los componentes principales son productos de naturaleza monoterpénica (C10) y sesquiterpénica (C15), principalmente ascaridol, un peróxido terpénico, en concentraciones de hasta el 70%, así como limoneno, transpinocarveol, aritasona, β -pineno, mirceno, felandreno, alcanfor y α -terpineno (De Pascual *et al.*, 1980; Sagrero-Nieves *et al.*, 1995). Estos metabolitos secundarios son de importancia para la propagación, supervivencia y el éxito evolutivo de las plantas (Cavalier-Smith, 1992).

De tal manera que Jaramillo y colaboradores en el 2012 reportaron que el compuesto mayoritario encontrado en aceite esencial de *C. ambrosioides* fue α -terpineno (60,29 %), seguido de p-cimeno (20,49 %), 4-careno (7,96 %) y transascaridol (1,91 %). *C. ambrosioides* fue activo contra *Fusarium oxysporum* con un porcentaje de inhibición micelar de 97,3 % a 176,5 μ L de aceite esencial/litro de aire, leído a las 72 h; y un porcentaje de mortalidad contra *Sitophilus zeamais* de 100 % a 500 μ L de aceite esencial/litro de aire, después de 24 h de exposición. El porcentaje de inhibición del radical DPPH fue de 84,89 %.

Gómez en el 2008 realizó una revisión bibliográfica encontrando que esta especie contiene principalmente en el aceite esencial de *C. ambrosioides* productos de

naturaleza monoterpénica (C₁₀) y sesquiterpénica (C₁₅), principalmente ascaridol, un peróxido terpénico, en concentraciones de hasta el 70%, así como limoneno, transpinocarveol, aritasona, β-pineno, mirceno, felandreno, alcanfor y α-terpineol (De Pascual, 1980, Sagrero-Nieves *et. al.* 1995). En la figura 1 se muestran ejemplos de estos monoterpenos y sus derivados. Ahmed (Ahmed, 2000) aisló algunos alcoholes *p*-mentanos peroxigenados de *C. ambrosioides*, y elucidó sus estructuras por NMR. Realizó extracciones con un sistema *n*-hexano-Et₂O-MeOH (1:1:1) y se evaporó a vacío. El extracto se fraccionó por cromatografía en columna con un gradiente *n*-hexano-Et₂O, seguido de un gradiente Et₂O-MeOH. Los productos obtenidos de las diversas fracciones se muestran en la figura 2.

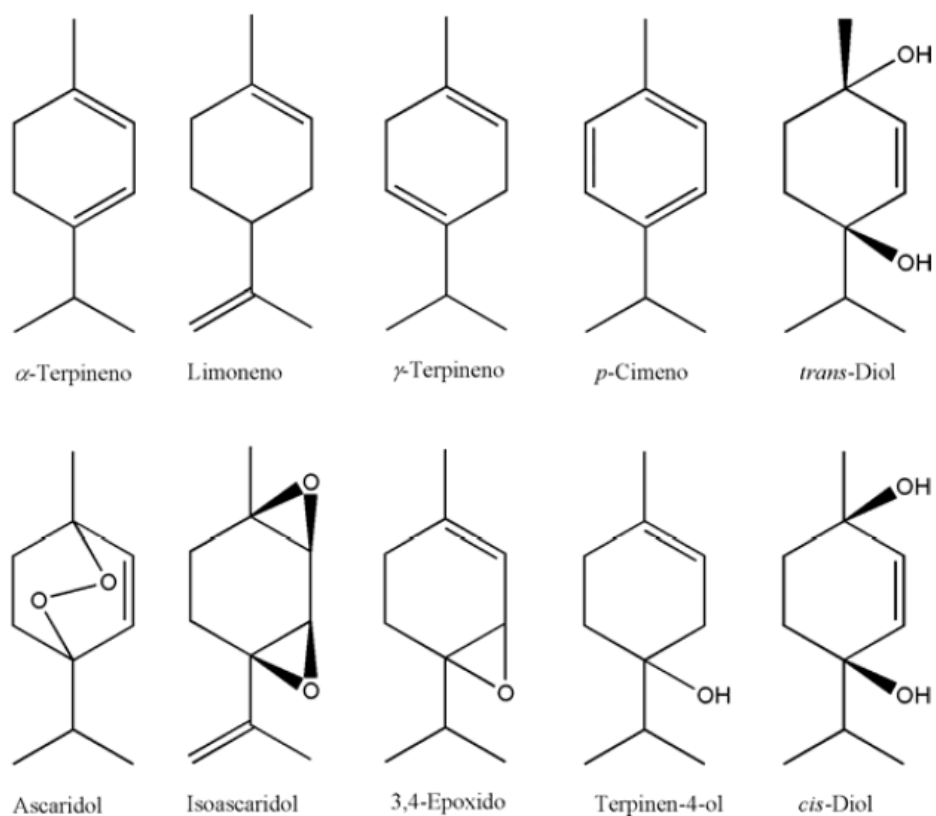


Fig. 1. Estructura de los principales terpenos en *C. ambrosioides* (Jhonson y Croteau, 1984).

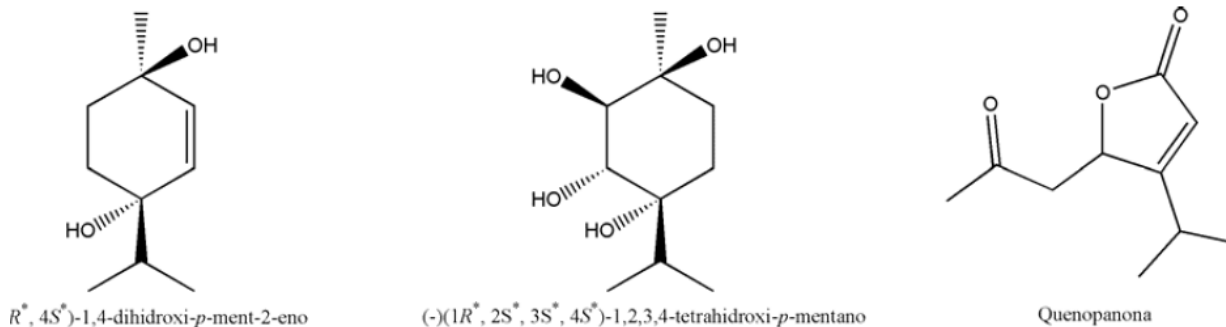


Fig. 2. Terpenos oxigenados reportados por Ahmed (Ahmed 2000).

Caferrata *et. al.* en el 2005 señala que el ascaridol (I) es un endoperóxido monoterpénico [(1-metil-4-(1-metiletil-2,3-dioxa-biciclo[2.2.2] oct-5-eno); 1,4-epidioxi-*p*-mentano ó 1,4-peróxido-*p*-ment-2-eno , de fórmula molecular $C_{10}H_{16}O_2$, como se puede observar en la figura 3, que constituye el principal (60-80%) principio farmacológicamente activo y relativamente volátil a temperatura ambiente, del aceite de quenopodio (*Chenopodium ambrosioides*), vegetal comúnmente denominado “paico” o “epazote”.

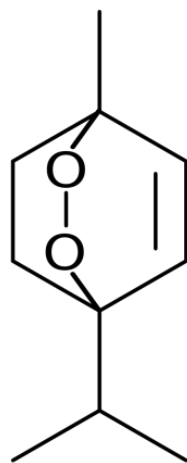


Fig. 3. Ascaridol

Aplicación de su composición química, en distintas áreas como farmacológicas o medicinales.

Dentro de las investigaciones realizadas (Hegazy *et. al.*, 2007) se ha probado que los alcaloides, flavonoides, aceites volátiles y terpenoides presentes en *C. ambrosioides* presentan un efecto inhibitorio sobre la germinación y crecimiento de malezas tales como *Lycopersicon esculentum* p. Mill (Solanaceae) y *Beta vulgaris* L. *var. rapa* (Chenopodiaceae) y dos malas hierbas; *Melilotus indica* L. (leguminacea) y *Sonchus oleraceus* L. (Compositae).

Jaramillo en el 2012 determinó la bioactividad del aceite esencial de *C. ambrosioides* contra el *Sitophilus zeamais* y sobre el hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* sp. Dianthi, reportando que *C. ambrosioides* exhibió importante actividad fungicida contra *F. oxysporum* y fumigante contra *S. zeamais*, esto debido a los ascaridoles presentes en su aceite esencial, sugiriendo así la posible explotación del aceite esencial de *C. ambrosioides* como fuente potencial vegetal en el control del biodeterioro por el ataque de hongos e insectos en productos alimenticios almacenados (poscosecha).

Tipos de estrés

Debido a esto la importancia de diversos estudios para aumentar la producción de metabolitos. Barcelo *et. al.* en el 2005 demostró que las plantas al estar sometidas frecuentemente a situaciones desfavorables para su desarrollo y funcionamientos óptimos ocasionadas por alteraciones en el medio ambiente propician la producción de metabolitos. Este conjunto de situaciones desfavorables se conoce con el nombre de estrés medio ambiental. Mediante la selección natural, las plantas han adquirido una serie de mecanismos que les han permitido sobrevivir en estas situaciones adversas.

Las condiciones adversas (estrés) a las que son sometidas las plantas pueden ser clasificadas en dos grupos principalmente: estrés abiótico y estrés biótico. El estrés abiótico, se refiere a los cambios en el medio ambiente, es decir, aumento en la temperatura, exceso de humedad, la sequía, el incremento en la salinidad

del suelo y baja temperatura. El estrés biótico, por otro lado, se refiere al ocasionado por organismos vivos, como son microorganismos patógenos (hongos y bacterias), insectos y herbívoros (Reyes *et. al.*, 2007; Dixon y Palva, 1995). Sin embargo este tipo de investigaciones se refieren principalmente a la acumulación de flavonoides y polifenoles (Figura 4) mientras que para terpenos existe una escasa investigación de su acumulación debido a estos tipos de estrés.

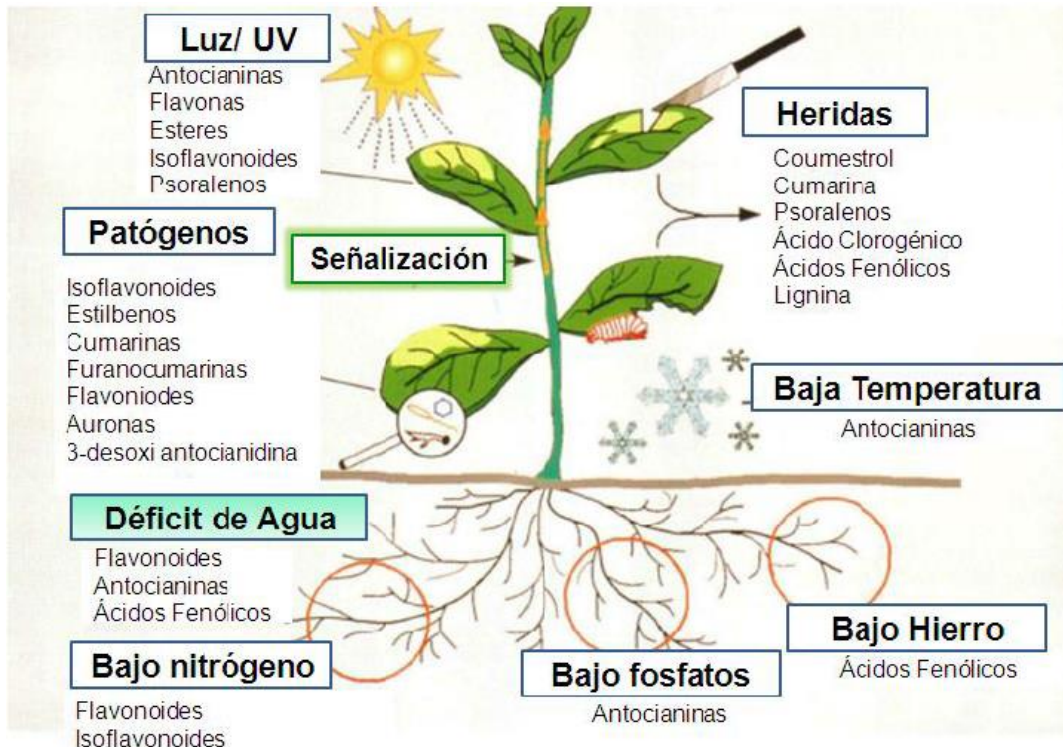


Figura 4. Diversos tipos de estrés abiótico y biótico, así como los metabolitos derivados de estos (Dixon y Palva, 1995).

Estrés hídrico

Este estrés se produce en las plantas en respuesta a un ambiente escaso en agua, en donde la tasa de transpiración excede a la toma de agua. El déficit hídrico no sólo ocurre cuando hay poca agua en el ambiente, sino también por bajas temperaturas y por una elevada salinidad del suelo (Moreno, 2009), así

como bajas precipitaciones, baja capacidad de retención de agua del suelo, baja presión de vapor atmosférica o una combinación de estos factores.

Siendo éste, en cuanto a la cantidad de materia vegetal afectada, el estrés más importante que pueden sufrir las plantas y especialmente, los cultivos. Se ha calculado que un tercio de la superficie que potencialmente se podría cultivar en nuestro planeta recibe un aporte de agua insuficiente para el desarrollo vegetal, mientras que en el resto la falta de agua reduce los rendimientos agrícolas en mayor a menor medida.

Dentro de las adaptaciones que presentan las plantas ante este estrés tenemos mecanismos que permiten *tolerar* el estrés hídrico (Kramer, 1980). A este tipo pertenecen la mayor parte de las adaptaciones donde encontramos las siguientes dos divisiones:

- Adaptación a *retardar* la deshidratación. Son aquellas adaptaciones morfológicas, fisiológicas o bioquímicas (especialmente de la fotosíntesis) que reducen la transpiración o favorecen la captación de agua. Ciertos autores las definen como la capacidad de mantener alto el potencial hídrico de los tejidos durante períodos de sequía (Skiver y Mundy, 1990).
- Adaptaciones que permiten *tolerar* la deshidratación. Son adaptaciones que se producen a nivel celular y molecular y pueden definirse como aquellas modificaciones que permiten resistir el estrés hídrico cuando el potencial hídrico de los tejidos es bajo (Azcon y Talon, 1993).

Efecto del estrés hídrico en la acumulación de metabolitos en la especie o bien es en género o bien en la familia

Las investigaciones sobre estrés hídrico revelan que la sequía reduce la producción de plantas medicinales y aromáticas mediante tres mecanismos principales: primero, la absorción, todo incidente de radiación fotosintéticamente activa puede ser reducida, ya sea por la sequía inducida, por la limitación de la expansión de área foliar, marchitamiento temporal por hoja o durante los períodos de estrés severo, o por la senescencia prematura de las hojas. En segundo lugar,

el estrés por sequía disminuye la eficiencia con la que absorbe la radiación fotosintéticamente activa es utilizada por el cultivo para producir nueva materia seca (la eficiencia de uso de radiación). Esto puede ser detectado como una disminución en la cantidad de materia seca acumulada por el cultivo, por unidad de radiación fotosintéticamente activa absorbida en un período de tiempo dado, o como en la instantánea reducción de todo el dosel y la tasa neta de intercambio de CO₂ por unidad de radiación fotosintéticamente activa absorbida. En tercer lugar, la sequía puede limitar el rendimiento de grano de las plantas medicinales aromáticas al reducir el índice de cosecha (IC). Los metabolitos secundarios son sintetizados por las plantas debido a la adaptación de estas en respuesta al estrés biótico y abiótico, tales como el estrés por infección, exceso y déficit hídrico, el estrés por baja temperatura, la luz visible (Sharafzadeh y Zare, 2011).

Recientemente se ha propuesto que el estrés abiótico como la sequía, el daño solar, el déficit de nutrientes y el cambio climático, actuando por separado, así como sinérgicamente pueden ser los factores importantes en el desarrollo evolutivo y la producción de muchos tipos de metabolitos secundarios como los terpenos (Sharafzadeh y Zare, 2011).

Dentro de los trabajos que se tienen registrados, Mendoza en el 2013 evaluó el efecto del estrés hídrico en hierbabuena (*Mentha piperita*) sobre polifenoles y capacidad antioxidante de infusiones, obteniendo un mayor efecto en la producción de compuestos bioactivos para la condición de estrés que de rehidratación. Las infusiones preparadas con las hojas sometidas a estrés de 22% de humedad presentaron la mayor concentración de compuestos fenólicos y mayor capacidad antioxidante

Avendaño-Arrazate y colaboradores en el 2008, compararon la respuesta a la sequía, en términos de crecimiento vegetativo, desarrollo reproductivo y la acumulación de materia seca de cuatro variedades de maíz sometidas a diferentes niveles de estrés hídrico. Encontrando que en el índice de cosecha, las variedades originales disminuyeron menos que las mejoradas; mientras que, la biomasa fue menos afectada en las variedades mejoradas que en las originales

conforme se prolongó el periodo de sequía. Concluyendo que las variedades mejoradas han desarrollado un mecanismo de resistencia a sequía llamado “latencia”; mediante el cual, las plantas detienen su crecimiento en condiciones extremas de sequía, pero en el momento en que nuevamente hay humedad en el suelo, reinician su desarrollo hasta completarlo.

Ahora bien, Asensio *et. al.* en el 2012 han demostrado que la colonización de las raíces por hongos con micorriza arbuscular (AM) mejora la resistencia de la planta a factores de estrés abiótico y biótico y finalmente al crecimiento de las plantas. La colonización de raíces por hongos MA favorece la producción en la hoja de isoprenoides esenciales (ácido abscisico, clorofila y carotenoides) en lugar de los no esenciales (monoterpenos y sesquiterpenos) , especialmente en condiciones de sequía o después de la aplicación ácido jasmónico (JA).

JUSTIFICACIÓN

Por todo lo antes mencionado es importante el aportar investigaciones acerca de las consecuencias que tiene el déficit de agua sobre el desarrollo vegetativo, acumulación de pigmentos fotosintéticos y de terpenos en cultivos de valor medicinal, como es el caso de *Chenopodium ambrosoides* con lo que se contribuye a ampliar la limitada información que existe alrededor de la fisiología de esta especie, ya que la escasa investigación que se ha realizado, disminuye la posibilidad de un mejor aprovechamiento tanto a nivel fisiológico como económico.

HIPOTESIS

Las plantas de epazote (*Chenopodium ambrosioides*) bajo déficit hídrico presentaran mayor contenido de terpenos

OBJETIVOS

GENERAL

- Determinar la relación existente entre la disponibilidad de agua en el suelo con la acumulación de terpenos en *C. ambrosioides*.

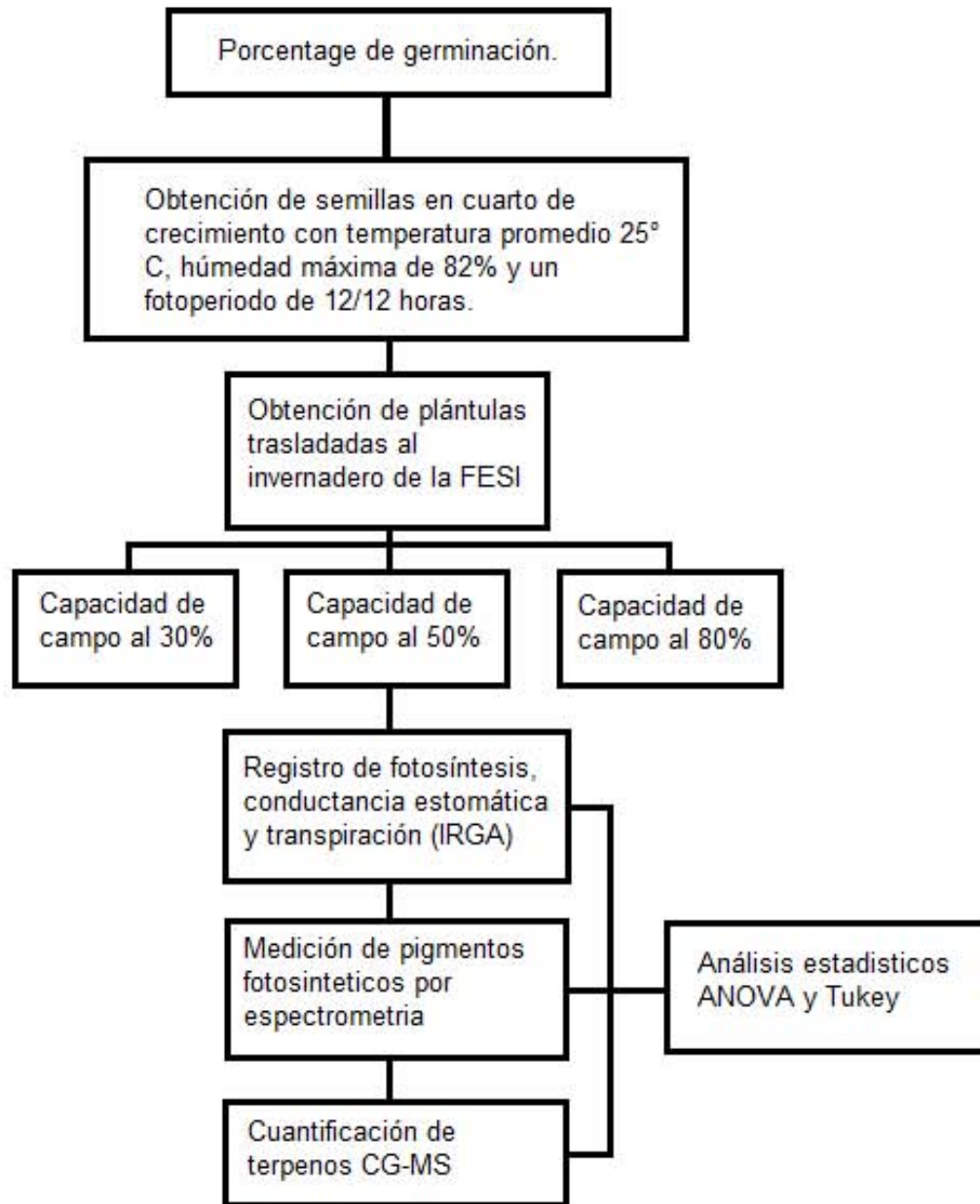
PARTICULARES

- Determinar las condiciones óptimas para la germinación y establecimiento de plántulas de *C. ambrosioides*.
- Cuantificar los niveles de terpenos en *C. ambrosioides* en condiciones de déficit de agua
- Evaluar el efecto del déficit de agua sobre la acumulación de pigmentos fotosintéticos
- Determinar si se presenta un estrés hídrico en *C. ambrosioides*

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

Para la experimentación se formaron tres grupos con cinco repeticiones cada uno, el grupo control con una capacidad de campo (c.c.) al 80%, el segundo grupo fue asignado con una condición de c.c. de 50%, el tercer grupo se le aplicó la c.c. al 30%. La condición de campo se les aplicó a las plantas en la fase adulta y durante su etapa de floración hasta su muerte.



Germinación de semillas

Se limpiaron las semillas de *C. ambrosioides* proporcionadas por el Banco de Semillas de Zonas Áridas y Semiáridas de México ubicado en la UBIPRO de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, colectadas en San Rafael, Coxcatlán, Puebla. Una vez limpias se establecieron las condiciones óptimas de escarificación de semillas mediante tratamientos físicos, para tal caso se frotaron las semillas en un tamiz del # 12, así como químicos, previa desinfección con NaClO al 1% durante 5 minutos, seguido de enjuague 3 veces con agua destilada. Las semillas se dejaron en imbibición en agua destilada una noche para ser sembradas posteriormente en sustrato, papel y agrolita con tierra proporción 1:1, para evaluar porcentajes de germinación.

Las plántulas obtenidas fueron trasplantadas a semilleros con el sustrato con mayor porcentaje de germinación.

El material biológico se colocó en el cuarto de crecimiento a una temperatura promedio de 25°C, con una máxima de 33.1°C y una mínima de 27.4°C; Humedad máxima de 82% y un fotoperiodo de 12/12 horas, con flujo fotónico de 81µmol m⁻²s⁻¹. Los resultados se expresaron en términos de porcentaje de germinación, tiempo promedio de germinación, tasa máxima de germinación y sincronía; la germinación fue considerada como la emergencia de la radícula.

Propagación en invernadero

Una vez obtenidas las plántulas de *C. ambrosioides* con un mínimo de 4 hojas, se establecieron en el invernadero de la FES-Iztacala, UNAM en Tlalnepantla, Estado de México, ubicado en las coordenadas N 19°31'17.7" W 99°11'19.5" a 2254 m s.n.m. Las plántulas se trasplantaron de los semilleros a macetas con la mezcla de sustrato elegido en pruebas preliminares a saturación con solución Hoagland completa, para evitar deficiencias nutricionales. Las condiciones ambientales del invernadero (temperatura y luminosidad) se registraron cada 30 minutos por medio

de un dispositivo HOBO UA002-64 Pendant temp/light, Serial 986598, versión 1.0.6.

Déficit de agua

El déficit de agua se definió con base en los resultados de capacidad de campo del sustrato seleccionado y en el punto de marchitez permanente. Se realizaron mediciones de los parámetros fisiológicos con el fin de asegurar la condición de estrés óptima. La cantidad de agua fue de 80%, 50%, y 30% para los tratamientos, siendo el 80% el grupo control.

Dicho tratamiento se aplicó en la fase de adultez de la planta y así consecutivamente en cada etapa que siguió a esta.

Tasa de crecimiento

Desde la germinación de las semillas de *C. ambrosoides*, se registró la fenología de las plantas: días a emergencia (E), inicio de floración (R6) y madurez fisiológica (R9).

Las mediciones se realizaron localizando las hojas, se les midió el largo y el ancho, la altura de la planta, el número de hojas y vástagos.

La medición de las dimensiones se repitió a intervalos de tiempo adecuado. Se registró el número de hojas nuevas y vástagos, y aspecto, crecimiento y longevidad de cada órgano.

Pigmentos fotosintéticos

Para la cuantificación de los diferentes pigmentos se utilizaron discos de hojas provenientes de los tratamientos, previamente congeladas en nitrógeno líquido y almacenadas a -80°C propuesto por Lichtenthaler en 1987.

Los pigmentos se extrajeron a partir de 0,1 g de peso fresco y se homogeneizaron en 10 ml de acetona al 80% durante 2 minutos en oscuridad. Con el fin de eliminar los restos de material vegetal, el homogeneizado se centrifugó a 3000 rpm durante 15 minutos en tubos protegidos de la luz, para evitar de esta manera la fotodegradación de los pigmentos. El sobrenadante se volcó a otros tubos fotoprottegidos, desechándose el precipitado. Se tomaron 0,2 ml del sobrenadante anterior a los que se añadieron 2 ml de acetona al 80% y se agitó. Posteriormente se midió la absorbancia a 750, 663 y 646, empleándose como blanco la acetona al 80%. Igualmente el contenido de carotenos y xantofilas (carotenoides) se cuantificaron a 470 nm (Lichtenthaler, 1987).

La concentración de clorofilas se calculó mediante las siguientes fórmulas, teniendo en cuenta que el disolvente empleado es acetona al 80%:

$$\text{Chla } (\mu\text{g} / \text{ml}) = 12,25 \times A663 - 2,79 \times A646$$

$$\text{Chlb } (\mu\text{g} / \text{ml}) = 21,50 \times A646 - 5,10 \times A663$$

$$\text{Chla+b} = 7,15 \times A663 + 18,71 \times A64$$

$$1000 \times A470 - 1,82 \text{ Chla} - 85,02 \text{ Chlb}$$

$$\text{Cx+c (Carotenoides)} (\mu\text{g} / \text{ml}) = \frac{\text{-----}}{\text{-----}}$$

198

x + c = xantofilas + carotenos

Identificación y cuantificación de metabolitos secundarios

Terpenos

Se realizó un extracto hexánico durante 24 horas, posteriormente se centrifugó a 14000 rpm durante 3 minutos, previa inyección en el GC-MS. Se inyectó de modo

split (volumen de inyección de 1 μ L) a un cromatógrafo de gases Agilent technologies 6850 equipado con una columna capilar Agilent HP-5;S 5% fenil metil siloxano con un grosor de película de 0.25 μ m; acoplado a un espectrómetro de masas 5975C VL MSD, Agilent technologies.

El programa de temperatura del horno inicio a 70°C, con una primera rampa a 20°C/min hasta 230°C, y la segunda rampa a 8°C hasta 280°C. La temperatura del inyector fue de 250°C. Los parámetros de operación del MS fueron los siguientes: un voltaje de ionización 70ev, temperatura de la fuente de ionización electrónica de 230°C, temperatura del cuadrupolo de 150°C y un rango de escaneo de 35 a 750 unidades de masa atómica. El gas acarreador fue helio, con un flujo de 20 ml min⁻¹. Todos los productos de terpenos fueron identificados con el software Agilent Technologies usando la biblioteca NIST08, usando 4-isopropilfenol Aldrich®, CAS 99-89-8, como estándar interno (Abu-Lafi et al., 2008) y en el caso del timol (CAS 89-83-8) y el carvacrol (CAS 499-75-2) se usaron los estándares auténticos Sigma-Aldrich®.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos de los terpenos y parámetros fisiológicos entre los diferentes grupos experimentales se contrastaron aplicando una ANOVA de dos factores con medidas repetidas (los dos factores a analizar fueron los tiempos y los tratamientos) con $\alpha \geq 0.05$ para cada uno de los parámetros fotosintéticos y para la acumulación de los metabolitos, así como una prueba de Tukey $\alpha 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Germinación

Dentro de los resultados de porcentaje de germinación, se obtuvo que el mejor medio para este cometido es sustrato (tierra negra con agrolita proporción 1:1), con un porcentaje de germinación del 62% al día 11 como se observa en la Fig. 5, esto debido a que el sustrato le proporciona los nutrientes necesarios, así como la captación de humedad necesaria para que esta eclosione. Contrario a esto se observó que la germinación en papel al día 11 alcanza tan solo un 30%, esto se explica por el exceso de humedad que esta contenía, no permitio el flujo de aireación ni ningún nutriente a la plántula cuando esta salía, por tanto moría la plántula o simplemente no había una germinación en las semillas. Las condiciones óptimas para la germinación con el sustrato de tierra negra con agrolita fue con una temperatura promedio de 27.4°C, con una máxima de 33.1°C y una mínima de 25 °C; Humedad máxima de 82% y un fotoperiodo de 12/12 horas.

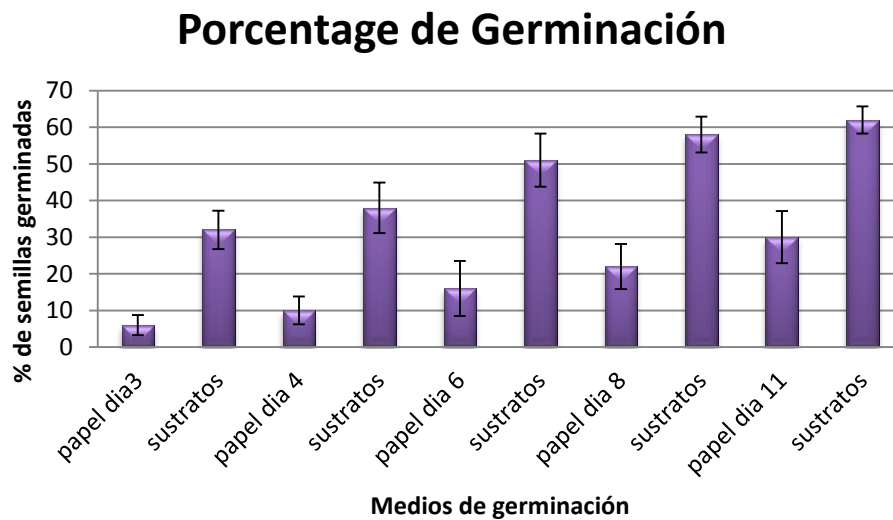


Figura. 5. Porcentaje de germinación a los días 3, 4, 6, 8 y 11 días con papel y sustrato tierra negra con agrolita, proporción 1:1.

Seguidamente los resultados del peso seco al finalizar el ciclo de vida de *C. ambrosioides* encontramos que una disminución en el tratamiento con CC 30% (Fig. 7), lo que nos indica una pérdida de vegetación, lo cual concuerda con lo reportado por Nuñez *et al.* 1998, quienes trabajaron con frijol común, pues frente al déficit hídrico obtuvo una baja en la producción de materia seca en la parte aérea de la planta, esto debido al aumento de la tasa de senescencia en sus tratamientos. Esto último se ve reflejado en la pérdida de hojas, ya que como podemos observar hay un aumento en la senescencia de éstas, observando que a partir del día 76 hay una mayor pérdida de hojas, siendo de 4 a 7 hojas las que se pierden en comparación con el control que pierde entre 2 y 4 hojas (Fig. 7).

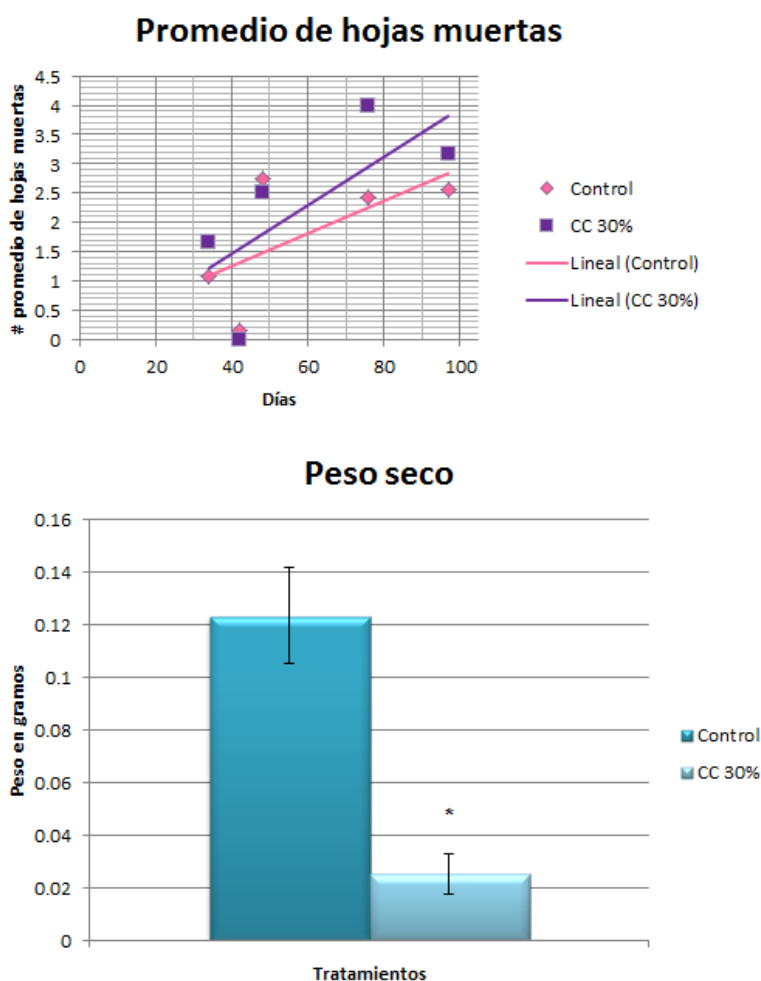


Fig. 7. Promedio de hojas muertas a lo largo de 120 días y peso seco al finalizar el ciclo de vida de *Chenopodium ambrosioides* representado en gramos.

TERPENOS

En cuanto a los resultados del análisis de terpenos se observa el efecto del déficit de agua sobre la acumulación de terpenos en *C. ambrosioides*. En la Fig. 8 se presentan los resultados obtenidos en la acumulación del ascaridol, donde se puede observar una tendencia general de incremento conforme transcurren los días del experimento, el grupo Control registró los más bajos niveles de concentración de Ascaridol con un valor de 54 $\mu\text{g/g}$ en el día 1; los valores en los que se encuentra el grupo van de los 54 $\mu\text{g/g}$ a los 568 $\mu\text{g/g}$. La condición de cultivo con déficit de agua mostró un aumento en las concentraciones a las 24 hr posteriores del tratamiento de c.c.30% con un valor de 379 $\mu\text{g/g}$, el tratamiento de c.c.50% permaneció similar al grupo Control. Observando diferencias significativas entre los tratamientos a lo largo de los 3 muestreos en el grupo control, así como para el grupo con c.c. 30%.

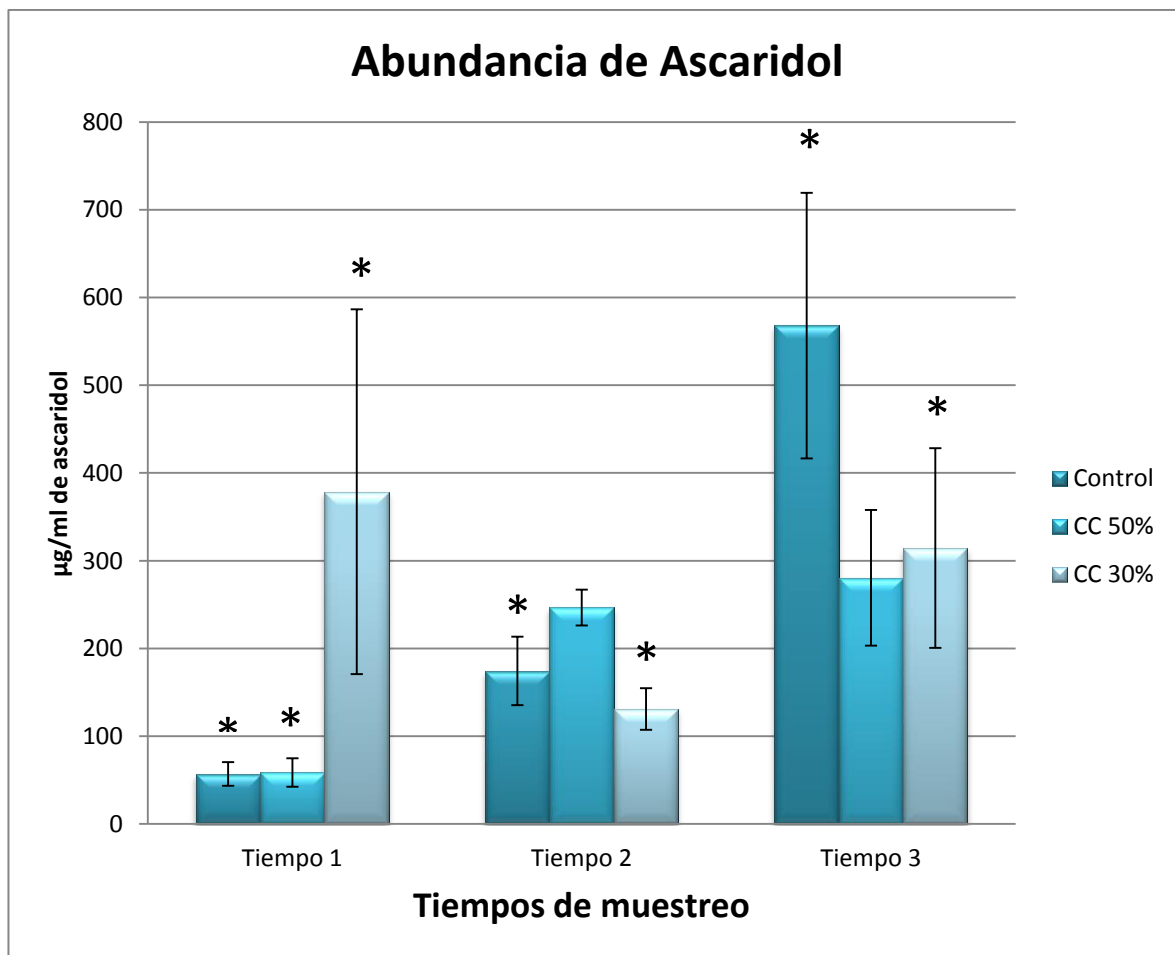


Fig. 8. Promedios de las concentraciones de ascaridol en *C. ambrosioides* bajo déficit de agua a CC30% y CC50% n=5

Las concentraciones de cymol muestran un comportamiento similar al del ascaridol, el grupo control presenta los más bajos niveles de ascaridol con 12 µg/g en el día 1. Los valores en los que varía el terpeno van de 12µg/g a los 198µg/g. Por otro lado, el déficit hídrico mostró un aumento significativo ($\alpha=05$) en las concentraciones con el tratamiento de c.c.50% con un valor de 103µg/g para el día 7, el tratamiento de c.c.30% obtuvo el valor más alto para el día 1 con 162µg/g, en ambos tratamientos permanecieron por debajo del grupo control para el final del experimento. Del mismo modo que los resultados de ascaridol, se encontraron diferencias significativas para el grupo control y el grupo c.c. 30% durante los tres

muestreos, sin embargo para el grupo c.c. 50% solo se observaron diferencias significativas para el tiempo 2.

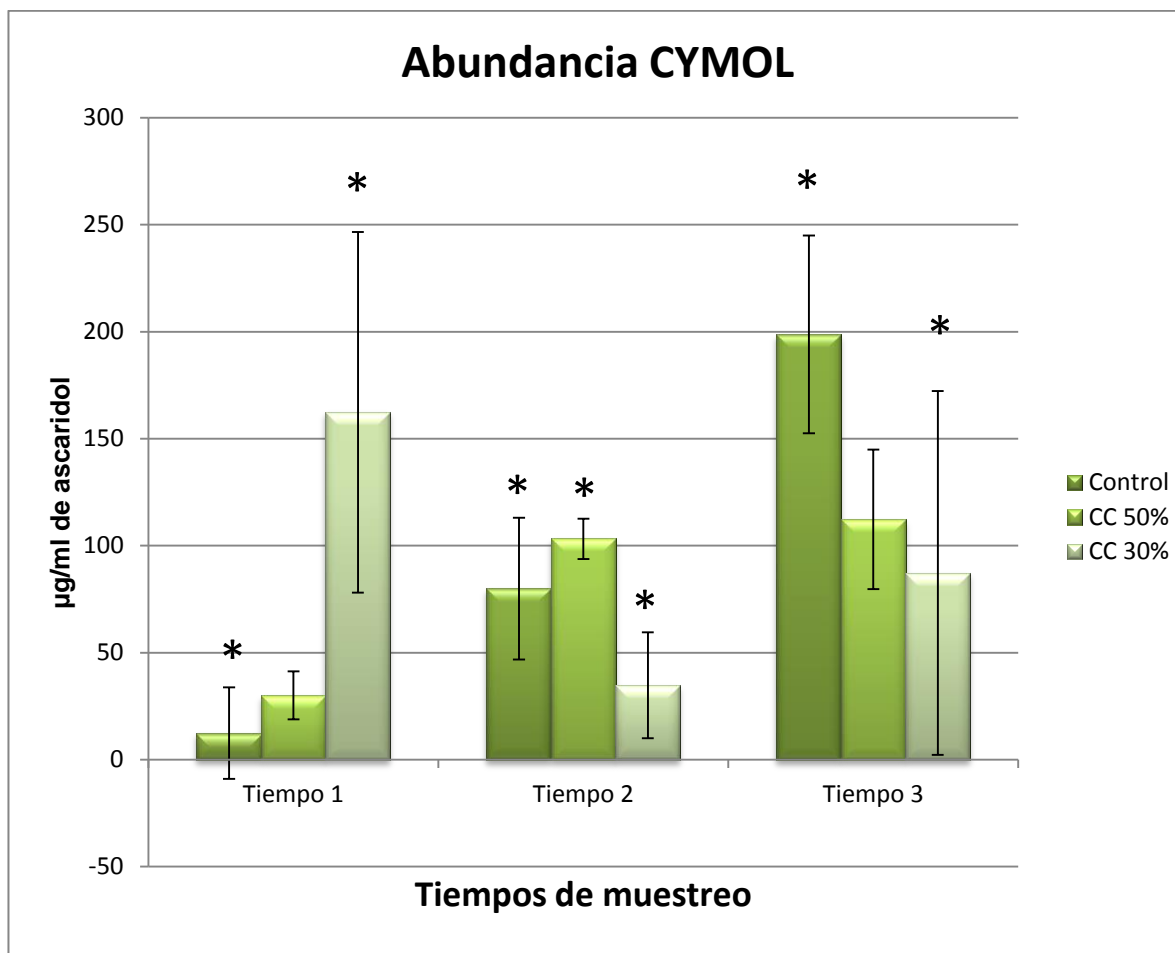


Fig. 9. Promedios de las concentraciones de Cymol en *C. ambrosioides* bajo déficit de agua a CC30% y CC50% n=5

Los tratamientos evaluados en el presente trabajo muestran que, el tratamiento con c.c. 30% registran mayor acumulación de ascaridol y de cymol al principio de la experimentación con los tratamientos. La evaluación de terpenos en el presente trabajo, muestra que el principal compuesto activo del epazote es el ascaridol, lo cual está acorde con trabajos previos donde se reporta un 60-80% de ascaridol en

el aceite esencial de *C. ambrosioides* y en 1% en peso fresco, junto con niveles significativos de α -terpineno (Gómez 2008). A su vez, Marangon *et al.* (2008) reporta como compuestos mayoritarios al ascaridol (61.4%), carvacrol (3.9%), y β -pineno (2%). En el presente trabajo no fue evaluado el aceite esencial sino un extracto orgánico a base de diclorometano de una hoja por individuo, donde se encontraron valores máximos con déficit hídrico de 379 μ g de ascaridol en 1g de tejido fresco en el tratamiento de c.c. de 30%, el valor máximo registrado en el grupo control fue 568 μ g de ascaridol sobre 1g de tejido fresco.

Si bien todos los tratamientos obtuvieron efectos positivos en la producción de metabolitos secundarios, el comportamiento fue distinto entre los tratamientos y el grupo control, ya que se muestra una disminución en las concentraciones al final del experimento por parte de la mayoría de los tratamientos y un aumento por parte del grupo control. En este sentido, se debe mencionar que en la presente investigación solamente se analizaron terpenos, ya que este tipo de compuestos son los que se han asociado con sus propiedades medicinales, sin embargo, se sabe que el déficit hídrico se ha relacionado con otros metabolitos, tales como antioxidantes y prolina (Mendoza 2013; Martínez y Moreno 1992). Los valores de terpenos del grupo control se comportan con un ligero incremento durante el experimento; esto podría ser explicado debido al desarrollo vegetativo de la especie, donde trabajos como el de Johnson y Croteau., (1984) observaron que en los aceites esenciales obtenidos de hojas jóvenes se observa menor de ascaridol, mientras que en los aceites esenciales con hojas maduras la concentración de ascaridol llegó a niveles mayores, lo que apoya nuestros resultados.

En el análisis del contenido de terpenos se registró un aumento de 322 μg en el tratamiento de c.c. 30% a corto plazo en relación con el grupo control a largo plazo, dicho tratamiento con mas deficiencia de agua es efectivo en medida que el ascaridol sea requerido en un periodo de 24hrs.

El cymol al igual que el ascaridol mostró un comportamiento en aumento conforme el tiempo en el grupo control. Es importante mencionar que en contraste con las proporciones de ascaridol y cymol determinadas en este estudio, trabajos previos reportan que el cymol constituye el 50% del aceite esencial de extractos de *C ambrosioides* (Tapondjou *et al*; 2002).

PIGMENTOS FOTOSITÉTICOS

Los pigmentos fotosintéticos que se muestran en la Fig. 10 presentan un aumento en las concentraciones de clorofilas para el día 14, alcanzando valores máximos para los tratamientos cc.30% y cc.50%; la chl_b muestra la misma tendencia de la clorofila a el valor máximo 430 $\mu\text{g/g}$ para c.c30%, el grupo control se mantienen por debajo de los 300 $\mu\text{g/g}$; las Xantofilas tienen su valor máximo de 451 $\mu\text{g/g}$ para c.c30% mostrando diferencias significativas ($\alpha.05$), los grupos control se mantienen por debajo de los 300 $\mu\text{g/g}$. Los pigmentos fotosintéticos totales reflejan un aumento de las concentraciones de pigmentos para el día 14 en las plantas sometidas a estrés.

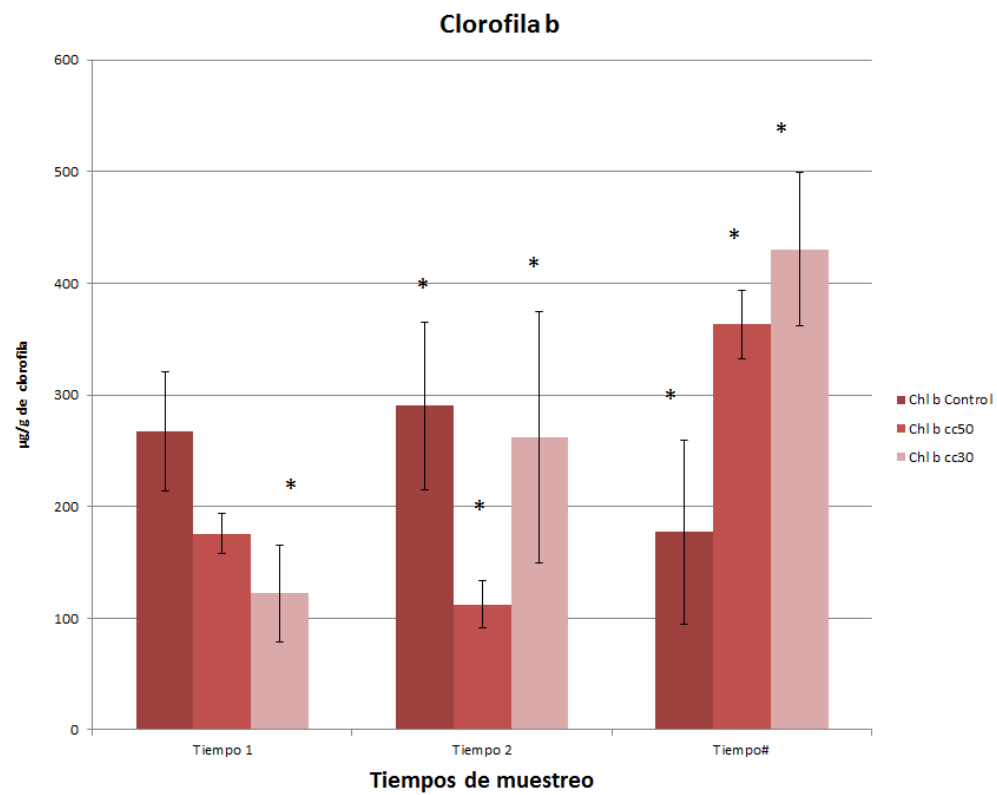
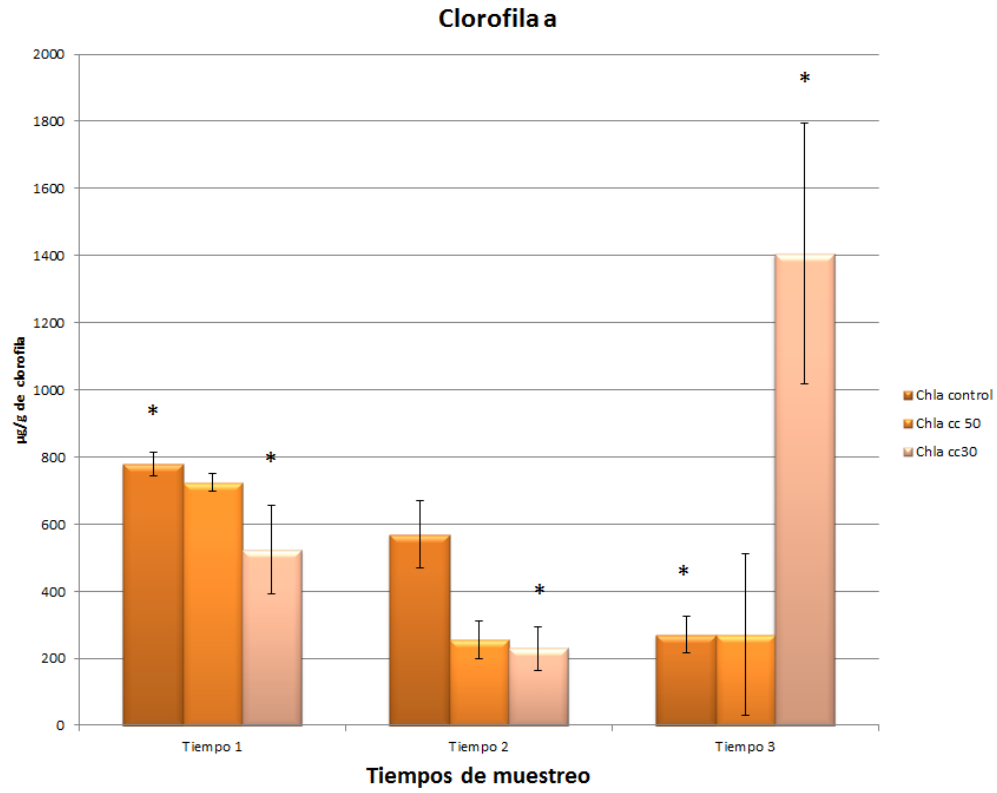


Fig. 10. Promedios de las concentraciones de Clorofila a y b en *C. ambrosioides* bajo déficit de agua a CC30% y CC50% n=5

La producción de pigmentos bajo condiciones de déficit de agua muestra un comportamiento similar en todos los tratamientos, existiendo un aumento para el día 14 en la producción de clorofila a mostrando diferencias significativas para el tratamiento c.c. 30%, al contrario de lo reportado por Moeini *et al.*(2006) donde el estrés por sequía ocasiona una pausa en la actividad de los cloroplastos, lo que disminuye la cantidad de clorofila; por lo tanto la formación de la clorofila a y b. Esto debido a que en condición de déficit de agua la concentración de aminoácido prolina aumenta, ya que la clorofila y prolina son ambos síntesis de la misma sustancia, por lo que podemos decir que el aumento en la síntesis de prolina conduce a la disminución de la síntesis de la clorofila en la condición de estrés por sequía. Lo que propone que para el déficit hídrico la síntesis de prolina disminuyó y la producción de clorofilas aumentara para el tratamiento c.c.30%, por lo que se sugiere una evaluación de la síntesis de prolina en estudios posteriores. En el déficit hídrico la producción de xantofilas muestra un aumento significativo en el tratamiento de c.c. 30% para el día 14, lo cual es la respuesta de las plantas sometida a estrés para evitar la fotooxidación (Devlin, 1982).

PARÁMETROS FISIOLÓGICOS

La actividad fotosintética no muestra cambios drásticos en las plantas sometidas a estrés (figura 4), donde el valor máximo $12.5 \mu\text{mol CO}_2\text{ms}^{-2} \text{s}^{-1}$ fue registrado en el tratamiento de c.c.50% al día 14 sin diferencias significativas, el valor mínimo es de $1.7 \mu\text{mol CO}_2\text{ms}^{-2} \text{s}^{-1}$ en el mismo tratamiento parar el día 7. El grupo control registro valores entre 2.9 a $6.8 \mu\text{mol CO}_2\text{ms}^{-2} \text{s}^{-1}$, todos los grupos mostraron un

ligero aumento para el día 14 esto debido al crecimiento morfológico de la planta y su demanda fotosintética.

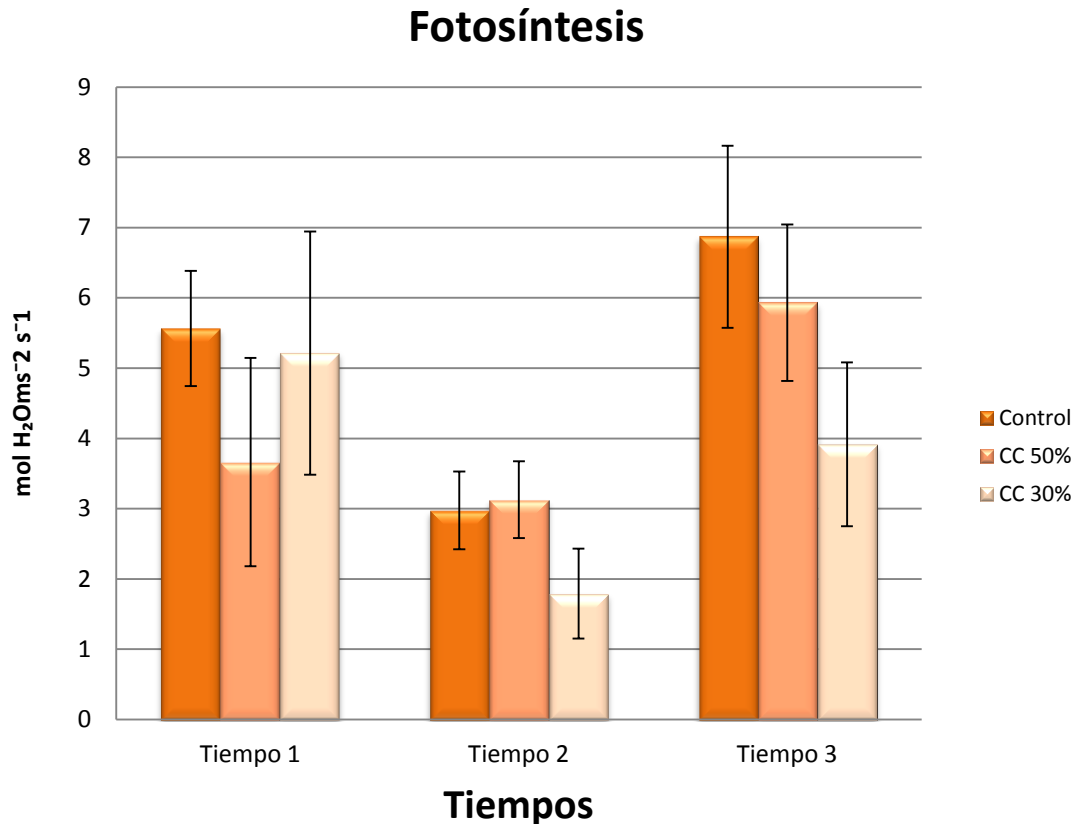


Fig. 11. Promedios de las concentraciones de Fotosíntesis en *C. ambrosioides* bajo déficit de agua a CC30% y CC50% n=5
Estos datos obtenidos coinciden con lo reportado por Farquhar y Sharkey en 1982, dado que comprobaron que el estrés hídrico en papa afecta significativamente a los procesos de intercambio gaseoso en las hojas, los que se manifiestan como limitaciones estomáticas que alteran el metabolismo fotosintético a nivel de tejido del mesofilo, coincidiendo a su vez con el trabajo de Singh *et al.* 1973 así como Blum y Ebercon en 1976, acertando en que la prolina tiene un rol importante en la recuperación de las plantas una vez terminado el

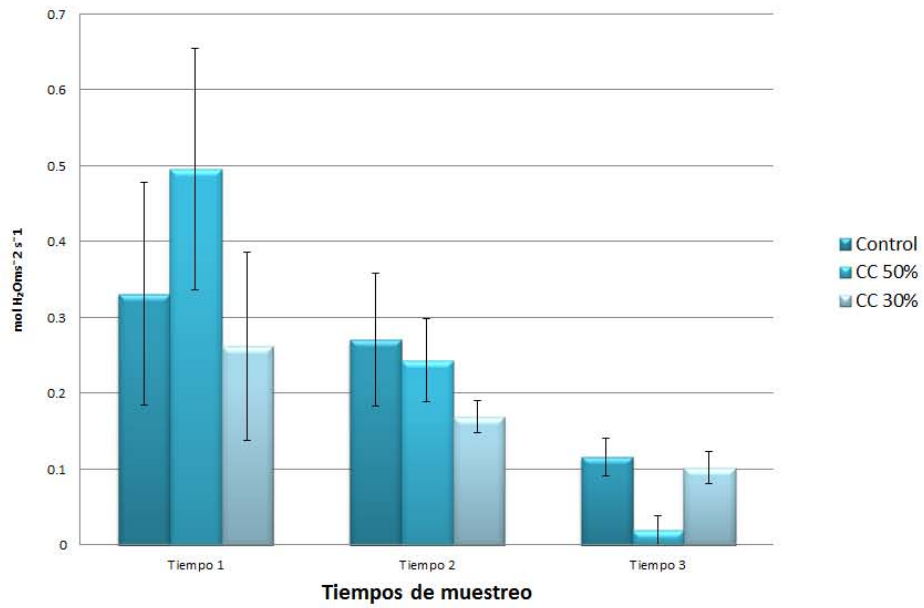
período de estrés hídrico. Una función protectora de enzimas, dada la capacidad de la prolina para ligar agua a proteínas y así mantener su hidratación, también ha sido propuesta por Schobert en 1979. Por lo que la capacidad de las plantas para continuar fotosintetizando durante el estrés hídrico y para recuperarse rápidamente después, es un importante índice de la resistencia a la sequía, la cual se puede observar en *C. ambrosioides*.

En cuanto al flujo hídrico que presentan las plantas sometidas a déficit hídrico, muestra efectos en la actividad estomática y la transpiración, en el tratamiento de c.c.50% en el día 1 con el valor máximo de $0.02 \text{ mol H}_2\text{Oms}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en la conductancia estomática y en el grupo control con el valor máximo de $0.001 \text{ mol H}_2\text{Oms}^{-2} \text{ s}^{-1}$, en cuanto al comportamiento estomático presentó mayor actividad en el tratamiento c.c. 50%, mientras que para el tratamiento de c.c.30% fluctuaba entre los valores del grupo control. La transpiración registró valores máximos de $0.42 \text{ mol H}_2\text{Oms}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en el grupo Control –día 7 y $0.02 \text{ mol H}_2\text{Oms}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en el cc. 50%-día 1 en contraste a con los valores de cc.30%, sin ninguna diferencia significativa como se muestra en la Fig. 12.

La disminución de la conductancia en los tratamientos con déficit hídrico coinciden con los resultados reportados por Núñez *et al.*, (1998), ya que los tratamientos de sequía en frijol disminuyeron la conductancia estomática y en menor intensidad las tasas de fotosíntesis, respaldado a su vez por Turner y Kramer (1980), reportaron cierres estomáticos para diferentes cultivos provocados por la alta demanda

atmosférica de humedad observada durante el mediodía. Conjuntamente con los datos de pérdida foliar de la Fig. 7 y la disminución de la conductancia, se asocia a la disminución de tasa fotosintética y finalmente la producción de materia seca como se observan en la Fig. 7 como lo describe Shultz y Hall en 1982, quienes trabajaron con plantas C3.

Transpiración



Conductancia

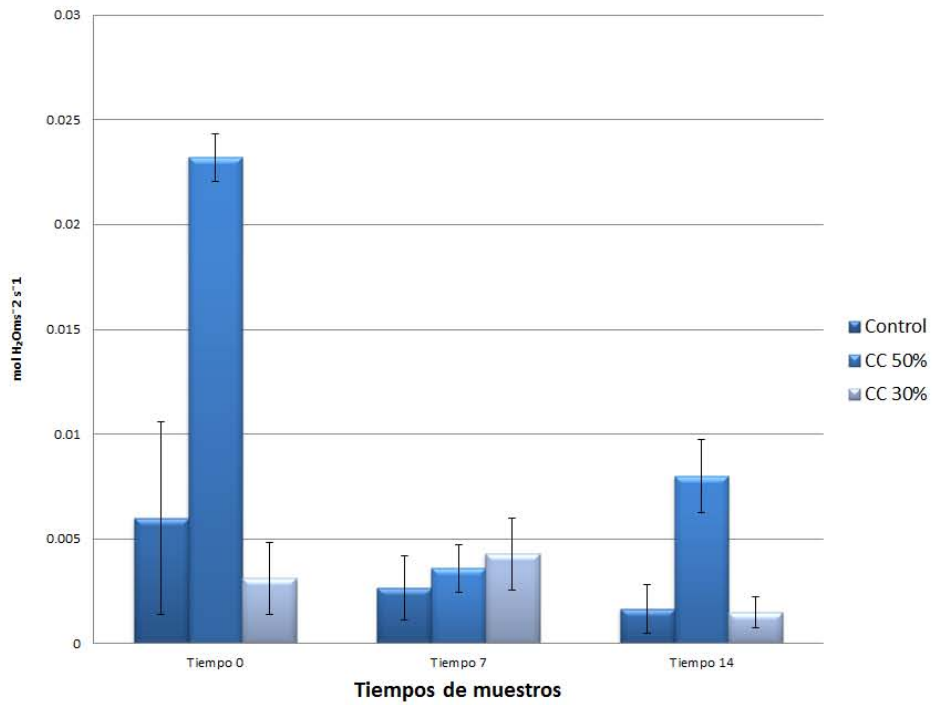


Fig. 12. Promedios de las concentraciones de Conductancia y Transpiración en *C. ambrosioides* bajo déficit de agua a CC30% y CC50% n=5

Con respecto a los datos anteriormente analizados, observamos que no hay una clara relación entre los parámetros de disminución de humedad y la acumulación de terpenos en *C. ambrosioides*, por lo que se afirma que en términos generales las condiciones de humedad no fueron las suficientes para provocar un estrés hídrico. Por lo que finalmente, se recomienda un estudio adicional para determinar las condiciones adecuadas para inducir estrés hídrico en *C.ambrosioides*, para así contribuir con la información que se tiene acerca de esta especie.

CONCLUSIONES

- Las condiciones óptimas para la germinación fueron, el sustrato de tierra negra con agrolita: temperatura promedio de 25°C; Humedad máxima de 82% y un fotoperiodo de 12/12 horas.
- El ascaridol se encuentra en todos los individuos y claramente aumentan durante la maduración fisiológica.
- Se detectó la presencia de cymol en todos los tratamientos.
- No se observa una clara relación entre el déficit hídrico y la acumulación de terpenos, sin embargo, la condición de cultivo con c.c.30% induce una mayor acumulación de ascaridol a las 24 horas posteriores del tratamiento, en tanto que se registró un aumento en las concentraciones de Cymol con el tratamiento significativo para el día 7.
- La actividad fotosintética no presenta cambios significativos dentro de los tratamientos y en comparación al grupo Control; obteniendo diferencias significativas solo en los tratamientos de c.c.30%

- Las condiciones evaluadas de capacidad de campo, no tienen un efecto significativo sobre los parámetros de flujo hídrico

REFERENCIAS

- Abu Lafi S, Odeh I, Dewik H, Qabajah M, Hanus LO, Dembitsky VM (2008). Thymol and carvacrol production from leaves of wild Palestinian Majorana syriaca. *Bioresour. Technol.*, 99: 3914-3918
- Acosta, L. 1993. *Proporciónese Salud CultivePlantas Medicinales*. Editorial Científico-Técnica. La Habana, Cuba. 227 p.
- Aguilar, C. A., Martínez, A. M. a. 1993. Los herbarios medicinales de México. En: Secretaria de Salud (ed.). *La investigación científica de la herbolaria medicinal mexicana*. México, p. 89-102.
- Ahmed, A. 2000. Highly oxygenated monoterpenes from *Chenopodium ambrosioides*. *J. Nat. Prod.*, 63(7):989-991.
- Alfaya A. T. y Marqués A. I. *Chenopodiáceas / Amarantáceas*. http://www.e-alergia-ca.com/polinosis/pdf-zip/3_3_chenopodiaceas.pdf [Consultado el 08 de febrero del 2013].
- Asensio D., Rapparini FJ. 2012. AM fungi root colonization increases the production of essential isoprenoids vs. nonessential isoprenoids especially under drought stress conditions or after jasmonic acid application. *Phytochemistry*. 77:149-161.
- Avendaño-Arrazate C. H., Molina-Galan J. D., Trejo-López C., López-Castañeda C., Cadena-Iñiguez J. 2008. *Agronomía Mesoamericana*. 19(1):27-37.
- Azcon, B., Talon M. *Fisiología vegetal*. McGraw-Hill-Interamericana de España. Pag. 538.
- Barcelo C., Nicolas R., Sabater G., Sánchez C. 2005. *Fisiología vegetal*. Tercera edición. Madrid España. Ediciones Piramide. Pag. 537.

- Blum A., y Ebercon A., Geriotypic responses in sorghum to drought stress III. Fre proline accumulation and drought resistance. *Crop Science*. 16:428-431, 1976.
- Calixto, J. 2005. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin American, a personal view. *Journal of Ethnopharmacology* 100:131-134.
- Caferrata F. R. L., Jeandupeux R., Rimada S. R. 2005. Método Simple y Rápido para la Determinación de Ascaridol en Medio Acuoso Utilizando CLAE (RP-HPLC). *Acta Farm. Bonaerense* 24 (4): 567-71
- Cavalier-Smith, T. 1992. Origins of secondary metabolism. *Secondary metabolites: their function and evolution*. a. J. W. Chadwick, John Wiley & sons. 171: 64-87.
- De Pascual, T. J., Torres, B.C., Perez, M.A: 1980. Essential oil of *Chenopodium ambrosioides*. *Riv. Ital. Ess.*, 62(1):123-125.
- Devlin, M.R. 1982. *Fisiología Vegetal*. Ediciones Omega. Barcelona España, 3ª Edición. p 200.
- Dixon, R., Palva, N. Stress-Induced Phenylpropanoid Metabolism. *American Society of Plant Physiologists. The Plant Cell*, 1995; vol.7:1085-1097.
- Espinosa, F. J. y J. Sarukhán, 1997. *Manual de Malezas del Valle de México. Claves, descripciones e ilustraciones*. Universidad Nacional Autónoma de México. Fondo de Cultura Económica. México, D. F.
- Estrada, L. E. 1992. Jardines botánicos comunitarios; plantas medicinales. En: Estrada, L. E. (ed.). *Plantas medicinales de México. Introducción a su estudio*. Universidad Autonoma de Chapingo. México, p. 254.
- Estrada, L. E. y Quezada, N. 1994. Chamanismo y plantas medicinales. En: estrada, L. E. (ed.). *Plantas Medicinales de México. Introducción a su estudio*. Universidad Autonoma de Chapingo. México, p. 1-12.
- FARQUHAR, G.D. & SHARKEY, T.D. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology*, 33:317-345, 1982.
- Gadano, A. B., Gurni, A.A., Carballo, M.A. 2006. Argentine Folk medicine: Genotoxic effects of Chenopodiaceae family. *J. Ethnopharmacol.*, 103 (3):246-251.

- Gómez, C.J.R. 2008. Epazote (*C. ambrosioides*). Revisión a sus características morfológicas, actividad farmacológica y biogénesis de su principal principio activo, ascaridol. Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas. 7 (1):3.
- Hegazy K. A., Farrag F. H. Allelopathic. 2007. Potential of *Chenopodium ambrosioides* on germination and seedling growth of some cultivated and weed plants. Global Journal of biotechnology & Biochemistry 2(1): 01-09.
- Jamali, A., Kouhila, M., Ait Mohamed, L., Jaouhari, J.T., Iddimam, A., Abdenouri, N. 2006. Sorption isotherms of *Chenopodium ambrosioides* leaves at three temperatures. J. Food Eng., 72(1):77-84
- Jaramillo C. B. E., Duarte R. E., Delgado W. 2012. Bioactividad del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* colombiano. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2012; 17(1)54-64.
- Johnson, M. A., Croteau, R. 1984. Biosynthesis of ascaridole: Iodide peroxidase-catalyzed synthesis of a monoterpene endoperoxide in soluble extracts of *Chenopodium ambrosioides* fruit. Arch. Biochem. Biophys., 235(1):254-266.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophyll and carotenoids: Pigments of Photosynthetic biomembranes. Methods Enzymol. 148: 350-382
- Llorente-Bousquets, J., y S. Ocegueda. 2008. Estado del conocimiento de la biota, en Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México, pp. 283-322.
- Kramer, P. 1980. Drought, stress and the origin of adaptations. En: Adaptations of plants to water and high temperature stress. N. C. Turner y P. J. Kramer. (eds.), Wiley & Sons, Nueva York, 7-20.
- Marangon J. C., Gulab Newandram J. G. , Dev D. O., Moreira F. M. 2008. Composition and Antifungal Activity of the Essential Oil of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. Journal of Chemical Ecology .34: 9: 1213-1218.

- Martínez C. A., Moreno E. U. 1992. Expresiones fisiológicas de resistencia a la sequía en dos variedades de papa sometidas a estrés hídrico en condiciones de campo. R. Bras. Fisiol. Veg. 4(1):33-38, 1992.
- Mata, R. 1993. Estudios químicos y aspectos biológicos de algunas plantas usadas en la medicina tradicional de México. En: Secretaría de Salud. (ed.). La investigación científica de la herbolaria medicinal mexicana. México, p. 143-156.
- Martínez, Maximino, 1996, Las plantas medicinales de México, Editorial Botas, México
- Mendoza G. M. E. 2013. Efecto del estrés hídrico en hierbabuena (*Mentha piperita*) sobre polifenoles y capacidad antioxidante de infusiones. Tesis para obtener el título de Ingeniero Químico en Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química. Santiago de Querétaro, Querétaro. 68 pp.
- Moreno F. L. P. 2009 Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. Agronomía Colombiana 27(2), 179-191.
- Moeini H. A., Heidari R., Hassani A., Dizaji A. A., 2006. Effect of water stress on some morphological and biochemical characteristics of purple basil (*Ocimum basilicum*). Journal of Biological Sciences. 6(4):763-767.
- Núñez A., Ritchie J., Smucker A J.M..1998. El efecto de sequía en el frijol común. Agronomía Mesoamericana 9(2): 01-08.
- Pinedo P. M., Regifo, S., Cerruti, S. T. 1997. Plantas medicinales de la Amazonía Peruana: Estudio de uso y cultivo. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. 163-166 pp.
- Reyes, H., Beltrán, E., García, E., Pardo, M., Soriano. 2007 E. La Bioquímica y la Biología Molecular. Su relevancia en el estudio de los mecanismos de defensa y desarrollo de las plantas. Cuerpo Académico de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas,; No. 48.
- Rzedowski, G. C. de, J. Rzedowski y colaboradores, 2005. Flora fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología, A. C. y Comisión

Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán. 2:1046 pp.

- Sagrero-Nieves, L., Bartley, J.P. 1995. Volatile constituents from the leaves of *Chenopodium ambrosioides* L. J. Essential Oil Res., 7:221-223.
- Sharafzadeh S. y Zare M. 2011. Effect of drought stress on qualitative and quantitative characteristics of some medicinal plants from Lamiaceae family: a review. *Advances in Environmental Biology*. 5(8):2058-2062.
- Schobert, B. 1979. Die Akkumulierung von Prolin in *Phaeodactylum tricornutum* und die function der "compatible solutes in Pflanzenzellen unter Wasserstress. *Berichte de Deutschen Botanischen Gesellschaft*. 92:23-30.
- Singh, T. N., Paleg, L. G. y Aspinall, D. 1973. Stress metabolism III. Variations in response to water deficit in the barley plant. *Australian Journal of Biological Science*. 26:65-76.
- Skiver, K. y Mundy, J.: <<Gene expression in response to abscisic acid and osmotic stress>>. *The plant cell*, 2:503-512, 1990.
- Shultz, E.D.; Hall, A.E. 1982. Stomatal responses, water loss and CO₂ assimilation rates of plants in contrasting environments. *Encycl. Plant Physiol*. 12B:181-230.
- Tapondjou, L. A., Adler. C., Bouda, H. and Fontem, D. A. 2002. Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain proctentants against six-stored product beeltes. *Journal of Stored Products Research*, 38: 395-402.
- Turner, N.C.; Kramer, P.J. 1980. *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. Wiley Interscience, N.Y. 387p.
- Villaseñor, J.L. y Espinosa G., F.J. 1998. *Catálogo de Malezas de México*. Universidad Nacional Autónoma de México y Fondo de Cultura Económica. México, D.F. 449 pp.

