

74  
24



FACULTAD DE CIENCIAS  
UNAM

TESIS

ESTUDIO QUIMICO COMPARATIVO DE EXTRACTOS DE DOS  
ESPECIES DE Tagetes Y ANALISIS MICROBIOLOGICO DE LA  
FRACCION FOTOTOXICA



LAURA PATRICIA GONZALEZ ALVARADO

BIOLOGA

1992

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## **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 está 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.

# INDICE

	Páginas
<b>I.INTRODUCCION</b>	1
<b>OBJETIVOS</b>	3
<b>II. ANTECEDENTES</b>	5
<b>III.UBICACION TAXONOMICA</b>	12
<b>IV.DESCRIPCION MORFOLOGICA</b>	14
<b>V.MATERIAL Y METODOS</b>	18
<b>1.PREPARACION DEL MATERIAL</b>	18
<b>2. PREPARACION DE EXTRACTOS</b>	20
<b>3. DETERMINACION DE GRUPOS DE METABOLITOS SECUNDARIOS</b>	22
<b>4. PERFILES CROMATOGRAFICOS</b>	25
<b>5. PRUEBA BIOLOGICA</b>	26
• <i>Determinación de la actividad bacteriostática de los extractos hexánlicos en frío.</i>	
<b>6. EXTRACCION DE ACEITES ESENCIALES Y DETERMINACION DE SU     COMPOSICION</b>	31
<b>7.EXTRACCION DE ANTOCIANINAS Y PERFIL CROMATOGRAFICO</b>	34
<b>VI.DISCUSION Y RESULTADOS</b>	35
<b>VII.CONCLUSIONES</b>	46
<b>VIII.BIBLIOGRAFIA</b>	49

## I. INTRODUCCION

*Es inquietante la enorme variedad de sustancias orgánicas que las plantas elaboran y acumulan y con éstas el estudio de su estructura química, biosíntesis, metabolismo, distribución natural y su función biológica (1).*

*Existe un grupo de plantas, las Asteráceas, que además de tener una amplia distribución mundial y estar representadas en casi todos los hábitats, tienen gran importancia económica, siendo la familia más numerosa de las fanerógamas. Dentro de ellas hay géneros que proporcionan plantas comestibles; otros géneros*

tienen especies a las que se les conoce como malas hierbas, y en otros hay plantas ornamentales ( 2 ).

La familia Asteraceae ha sido objeto de un gran número de estudios químicos. Dentro de éstos se ha encontrado que el género Tagetes contiene pollacetilenos y derivados tiofénicos que tienen actividad antibiótica, activados con luz ultravioleta, dentro de la región de 312 a 400 nm ( 3-5 ). El fenilheptatrino y el alfa-tertenilo son dos ejemplos de estos compuestos, los cuales muestran toxicidad tanto en organismos unicelulares como pluricelulares ( 6-7 ).

Tomando en consideración el estudio sistemático que se viene realizando en el Laboratorio de Química de la Facultad de Ciencias de la UNAM en especies de diferentes géneros de la familia y la relevancia de los estudios fitoquímicos que se han realizado con las diferentes especies del género Tagetes, se consideró importante hacer una exploración química de dos especies de este género, una con dos variedades, que no han sido reportadas en la literatura.

## OBJETIVOS GENERALES

- Realizar una comparación química a nivel intra e interespecífica entre las variedades de Tagetes foetidissima morado, verde y Tagetes coronopifolia.
- Realizar un análisis microbiológico de los extractos hexánicos en frío de las tres plantas.

## OBJETIVOS PARTICULARES

- Preparación de extractos hexánicos, en frío y en caliente, y de extractos metanólicos en caliente.
- A partir de los extractos:
  - Identificación de los grupos de metabolitos secundarios de las diferentes partes de cada una de las especies (raíz, parte aérea e involucros).

- *Elaboración de sus perfiles cromatográficos.*
- *Con los extractos hexánicos en frío:*
  - *Determinación de sus espectros en el ultravioleta. Prueba microbiológica de actividad fototóxica.*
- *De los involucros:*
  - *Obtención de aceites esenciales por medio de destilación con arrastre de vapor y análisis por cromatografía gas-líquido.*
  - *Extracción de antocianinas y obtención de su perfil cromatográfico.*

## II. ANTECEDENTES

*En la literatura reciente queda claro que las estructuras químicas de los agentes antimicrobianos encontrados en las plantas superiores pertenecen a las clases más comunes de metabolitos secundarios. Son los productos naturales de los que más se conoce su química, como ejemplo tenemos alcaloides, flavonoides y terpenos entre muchos otros ( 8 ).*



Dentro de las plantas que sintetizan metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas se encuentra el grupo de las llamadas fototóxicas. El género Tagetes, de la familia Asteraceae, pertenece a este grupo ( 9 ).

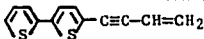
Towers, al realizar un estudio de Tagetes patula encontró que los compuestos responsables de la actividad fototóxica son poliacetilenos y sus derivados tiofénicos ( 5 ).

Los derivados tiofénicos se han extraído de diferentes especies de Tagetes, como el alfa-tertienilo, compuesto con fluorescencia de color azul intenso, aislado de Tagetes erecta ( 12 ). Este compuesto provoca dermatitis en piel humana en presencia de la luz solar (radiación U.V. de 320 a 400 nm) ( 10-11 ) y se encuentra en las raíces en mayor cantidad que en otras partes de la planta (3-13 ).

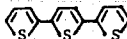
En otros estudios realizados en la familia Asteraceae se aislaron 33 tiofenos con actividad biológica fotoinducida. Tres de estos, el alfa-tertienilo, el 5-(3-buten-1-inil)-2,2'-bitienilo (BBT) y un monotiofeno acetilénico, se extrajeron de diferentes especies del genero Tagetes, en donde se observó una actividad fotodinámica antibiótica sobre Escherichia coli, Pseudomona aeruginosa y Saccharomyces cerevisiae (4, 14, 16 ) y acción nematocida en Aphelenchus avenae (15).

Ha despertado interés la potente propiedad nematocida de estos compuestos tiofénicos, originalmente descritos por Uhlenbroeck y Bijloo ( 17-18 ). Chan reporta que el 5-(3-buten-1-inil)-2,2'-bitienilo (a) y el alfa-tertienilo (b) son tóxicos para bacterias y levaduras en presencia de luz U.V., pero no se encontró toxicidad en la oscuridad ( 4 ).

(a)

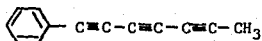


(b)



Otro grupo de compuestos químicos, los poliacetilenos, también se han reportado en especies de la familia Asteraceae y tienen, igualmente, actividad antibiótica, observada claramente en cultivos de bacterias Gram-positivas, levaduras y hongos filamentosos, al ser irradiados con luz ultravioleta. Uno de los compuestos causante de este efecto es el fenilheptatrieno (c), aislado de Bidens pilosa, que pertenece a esta familia ( 7, 20 ).

(c)



En las raíces de Chrysanthemum leucanthemum también se han encontrado poliacetilenos que, probados sobre Candida albicans, dieron como resultado una prueba positiva de fototoxicidad.

Estos compuestos, al igual que otros metabolitos secundarios cambian cualitativa y cuantitativamente con el crecimiento de la planta y la estación del año ( 5 ).

En otro aspecto, dentro del campo de la etnobotánica se tienen reportes de los usos medicinales, alimenticios y antihelmínticos de diversas especies de Togetes.

Peckolt (en Hoehne, 22 ) obtuvo, por destilación a vapor, aceites esenciales de Togetes minuta, que consideró un excelente antihelmíntico para cabras, a una dosis de una a tres gotas conforme a la edad. De igual forma se han obtenido los aceites esenciales de T. erecta, T. patula y T. lucida con la misma propiedad. Ensayos con el aceite volátil de T. minuta revelan que tiene propiedades tranquilizantes, broncodilatadoras, espasmolíticas y anti-inflamatorias ( 23 ). El aceite de esta planta es fuertemente repelente a la mosca que produce gusanera en el ganado (20).

*Tagetes erecta*, (cempoalxóchitl) es una planta representativa de este género, por tener gran importancia dentro de varios aspectos de la vida social, cultural y económica de nuestro país. Está íntimamente ligada a cultos religiosos particularmente con el "día de muertos" cuando se realizan arreglos florales que se colocan en tumbas y altares domésticos (21).

Es aconsejable cultivarla intercalada con otras hortalizas susceptibles a los nemátodos del nudo de la raíz, para inhibir su multiplicación. El aceite esencial de toda la planta se usa como condimento y saborizante en la fabricación de bebidas y pan, también son utilizadas las flores secas y molidas para pigmentar la carne de pollo y huevos, adicionándola al alimento de las aves (32).

Las hojas y las flores se usan en infusión contra los cólicos y las fiebres intermitentes, como también contra las afecciones estomacales y del hígado (21).

De acuerdo a un estudio farmacológico se ha considerado que T. lucida (pericón) tiene propiedades antidiarréicas y eficacia contra la malaria (24); así como también es empleada en infusión contra los gases y cólicos. A esta planta se le adjudican cualidades de protección en contra de "malos espíritus" y peligros imprevisibles, acomodando las plantas en forma de cruz y colocándolas en puertas y ventanas de las habitaciones. Se usan las flores y las hojas como colorantes y saborizantes en la preparación de algunos alimentos a nivel doméstico, se ha usado tradicionalmente para curar heridas, reducir inflamaciones y moretones (33).

En cuanto a T. patula, reduce la capilaridad, la permeabilidad y es antiespasmódico (25).

Existe una larga lista de cualidades medicinales de las diversas especies de este género, que lo caracteriza como un grupo de plantas ampliamente usadas dentro de la medicina tradicional (26, 27).

### III. UBICACION TAXONOMICA

<b>DIVISION:</b>	<i>Spermatophyta</i>
<b>SUBDIVISION:</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>CLASE:</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>SUBCLASE:</b>	<i>Asteridae</i>
<b>ORDEN:</b>	<i>Asterales</i>
<b>FAMILIA:</b>	<i>Asteraceae</i>
<b>TRIBU:</b>	<i>Tageteae</i>
<b>GENERO:</b>	<i>Tagetes</i>
<b>ESPECIE:</b>	<i>coronopifolia</i> (28,29)

<b>DIVISION:</b>	<b>Spermatophyta</b>
<b>SUBDIVISION:</b>	<b>Magnoliophyta</b>
<b>CLASE:</b>	<b>Magnolopsida</b>
<b>SUBCLASE:</b>	<b>Asteridae</b>
<b>ORDEN:</b>	<b>Asterales</b>
<b>FAMILIA:</b>	<b>Asteraceae</b>
<b>TRIBU:</b>	<b>Tageteae</b>
<b>GENERO:</b>	<b><u>Tagetes</u></b>
<b>ESPECIE:</b>	<b><u>foetidissima</u></b> <b>( 28,29).</b>



#### IV. DESCRIPCION MORFOLOGICA

Tagetes coronopifolia Willd.

*Planta anual, erecta, glabra hasta de 50 cm de alto, muy aromática al estrujarse; tallos por lo común ramificados, estriados; hojas hasta de 4 cm de largo, pinnadamente divididas en segmentos filiformes lineares, hasta de 12 mm de largo y hasta de 1 mm de ancho, éstos generalmente a su vez lobados o una vez más divididos en segmentos más cortos; cabezuelas a menudo numerosas, sobre pedúnculos bracteados hasta de 3 cm de largo; involucre cilíndrico, de 7 a 12 mm de alto, sus brácteas generalmente 5, rojo-moradas, con los ápices*

triangulares, agudos; flores liguladas 0 a 5, más chicas que las flores del disco, sus corolas amarillas, anaranjadas o verdosas, las láminas inconspicuas, de 0.5 mm de largo; flores del disco de 5 a 20, sus corolas amarillas o verdosas de 2 a 4 mm de largo; aquenios lineares de 6 a 7 mm de largo, negruzcos, puberulentos en los ángulos, vilano de una o dos escamas de 3 a 4 mm de largo, agudas, y 3 escamas de 1.5 a 2.5 mm de largo, romas, unidas entre sí. Huixquilucan a Tlalpan; Tlalnalapa a Amecameca. Alt. 2300-3000 m Bosques de Quercus, de Juniperus y pastizales, preferentemente en condiciones de disturbio; a veces como maleza arvense. Conocida del Estado de México e Hidalgo a Veracruz y Morelos ( 30 ).



Tagetes coronopifolia



( 7-12 mm )  
INVOLUCRO



( 1.5-  
2.5 mm )  
ESCAMAS

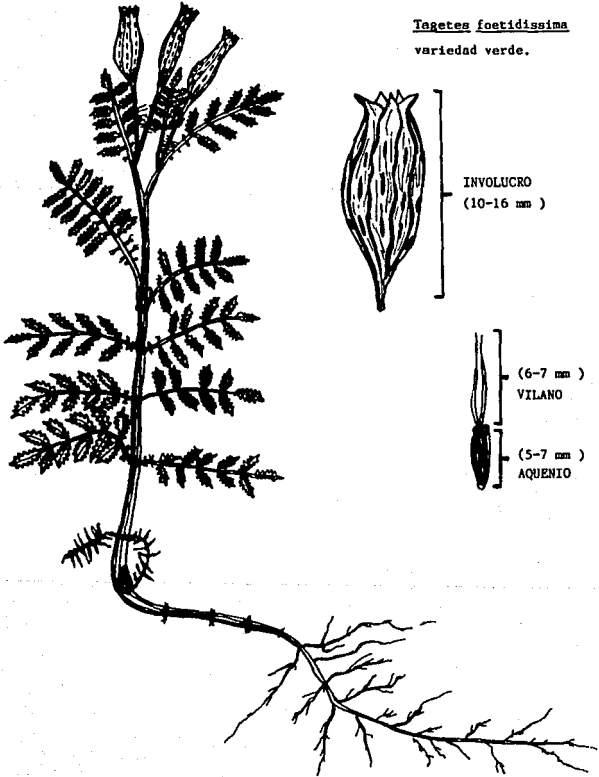
( 6-7 mm )  
AQUENIO

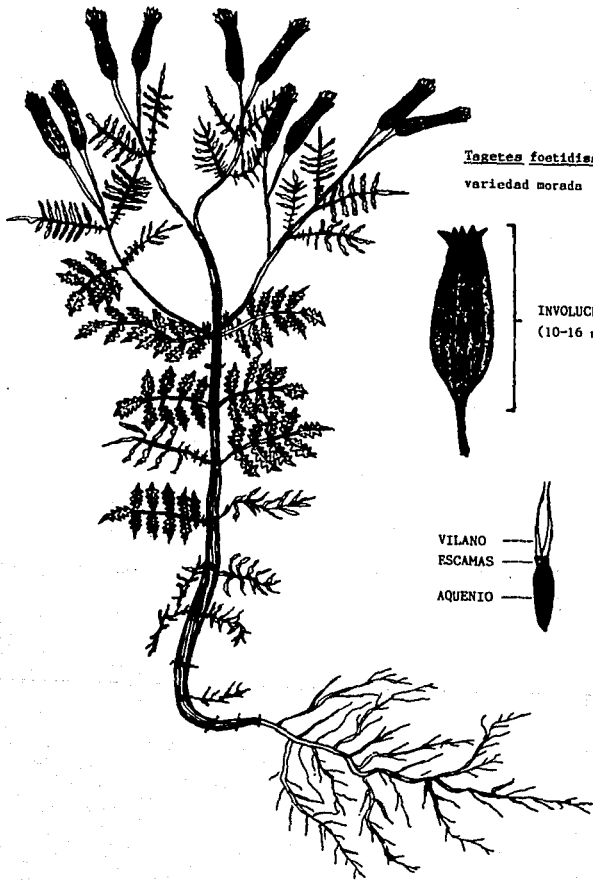
**Tagetes foetidissima D.C.**

*Planta anual, erecta, hasta de 1 m de alto, glabra, muy aromática al estrujarse; tallos más o menos ramificados, estriados, a menudo rojizos o morados; hojas hasta de 11 cm de largo, pinnadas, foliolos 11 a 29, oblongos a lanceolado-oblongos, de 0.8 a 3 cm de largo, obtusos en el ápice, cuneados en la base, el margen profundamente aserrado; cabezuelas mayormente agrupadas en conjuntos corimbiformes densos, sobre pedúnculos hasta de 3.5 cm de largo; involucro cilíndrico o fusiforme de 10 a 16 mm de alto, amarillo-verdoso o morado oscuro, sus brácteas 5, provistas de ápices deltoideos; flores liguladas por lo común 4 a 6, amarillo-verdosas, sus láminas inconspicuas, oblongas, de 1 a 3 mm de largo; flores del disco 4 a 9 sus corolas verdosas, de 7 a 8 mm de largo, por lo común densamente pubescentes en la parte superior; aquenios de 5 a 7 mm de largo, negruzcos, estriados, pubescentes, vilano de 1 o 2 escamas aristiformes de 6 a 7 mm de largo y 3 o 4 escamas romas de menos de 1 mm de largo. Distribuida en las zonas montañosas más húmedas. Pachuca y Epazoyucan; Iturbide a Tlalpan; Tlalmanalco y Amecameca. Alt. 2450-3100 m*

**Bosques de Abies, de Pinus, de Quercus y mesófilo, preferentemente en lugares perturbados, también a la orilla de campos cultiuvados del centro de México a Costa Rica ( 30 ).**

Tagetes foetidissima  
variedad verde.





Tegetes foetidissima

variedad morada

INVOLUCRO  
(10-16 mm)

VILANO  
ESCAMAS  
AQUENIO

## V. MATERIAL Y METODOS

### 1. PREPARACION DEL MATERIAL

#### a. Colecta

La colecta de las especies *Tagetes foetidissima*, variedad morada y variedad verde, y *Tagetes coronopifolia* se llevó a cabo en octubre de 1988, en el kilómetro 10 de la carretera federal 115, 4 kilómetros después de San Pedro



*Nexápa, en el Estado de México. De ambas especies se obtuvieron los ejemplares completos, incluyendo la raíz, que se depositaron en el herbario de la Facultad de Ciencias de la UNAM (FCME).*

**b. Secado**

*El material se secó a temperatura ambiente. Una vez seco se separó la raíz, parte aérea, aquenios e involucros, guardando las diferentes partes de la planta en bolsas de polietileno color negro, a fin de proteger los compuestos fotosensibles de la luz.*

**c. Molienda**

*Una vez separadas las diferentes partes de las plantas, se inició la molienda fina de la raíz, parte aérea y aquenios, con la ayuda de un molino manual. El material obtenido de ésta se guardó en frascos color ambar y se etiquetó, quedando así preparado para iniciar la extracción.*

## 2. PREPARACION DE EXTRACTOS

### *a. Extracción hexánica en frío*

*Al material molido y colocado en frascos color ambar (Tabla 1), le fue adicionado hexano hasta sobrepasar aproximadamente 1 cm el nivel del material. Después se dejaron tapados en la oscuridad por espacio de 8 días, agitándolos ocasionalmente. En la misma forma se efectuaron dos extracciones más, filtrando el extracto hexánico después de cada extracción.*

*Las tres soluciones obtenidas de la misma muestra, se reunieron y concentraron al vacío, casi a sequedad. Estos extractos se transvasaron a pequeños frascos color ambar, tarados, etiquetados y forrados con papel aluminio, para su secado completo y posteriormente se pesaron para calcular el rendimiento (Tabla 1). Por último, se pesaron tres mg de extracto de cada muestra para hacerles una prueba con luz ultravioleta (gráficas de la 1 a la 9).*

RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS HEXANICOS EN FRIO

	Peso de la muestra (g)			Peso de los extractos (g)			Rendimiento (%)		
	Raíz	Tallo	Aquenio	Raíz	Tallo	Aquenio	Raíz	Tallo	Aquenio
<u>T. coronopifolia</u>	60	90.8	6.3972	0.265	0.4774	0.4734	0.44	0.53	7.40
<u>T. foetidissima</u> M	37	46.1	0.7307	0.1163	0.2707	0.2714	0.32	0.59	37.14
<u>T. foetidissima</u> V	43	65.5	0.6770	0.4059	0.3534	0.5523	0.94	0.54	81.58

M = variedad morada V = variedad verde

Tabla 1

*b. Extracción hexánica en caliente*

*Para la extracción en caliente las muestras (Tabla 2 ) se colocaron a reflujó por separado, dentro de un matraz de fondo redondo de 250 ml, durante 8 horas. Este proceso se repitió dos veces más, se concentraron los tres extractos obtenidos de la misma muestra, casi a sequedad, y se transvasaron a pequeños frascos, previamente pesados y etiquetados; finalmente, y una vez secos se pesaron para obtener sus rendimientos (Tabla 3).*

*c. Extracción metanólica*

*Para esta extracción se siguió el mismo procedimiento que en la anterior, se efectuó sobre el material extraído con hexano, dejando secar primero las muestras para adicionarles enseguida el metanol. Los rendimientos aparecen en la Tabla 4.*

PESO DE LAS MUESTRAS EMPLEADAS PARA LOS EXTRACTOS HEXANICO Y METANOLICO EN CALIENTE

	Raiz	Tallo	Aquenio
<u>Tagetes coronopifolia</u>	17.7	35.0	17.0
<u>Tagetes foetidissima M</u>	16.9	13.7	18.7
<u>Tagetes foetidissima V</u>	18.8	35.0	24.8

peso expresado en gramos

Tabla 2

RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS HEXANICOS EN CALIENTE

	<u>T. coronopifolia</u>		<u>T. foetidissima M.</u>		<u>T. foetidissima V</u>	
	Peso Ex.	Rend.	Peso Ex.	Rend.	Peso Ex.	Rend.
Raíz	0.0994	0.56	0.0338	0.2	0.0273	0.15
Tallo	0.0718	0.20	0.0187	0.14	0.0619	0.18
Aquenio	0.1533	0.90	0.4814	2.58	0.2294	0.93

M = variedad morada      V = variedad verde

Peso Ex. = peso de los extractos (g)      Rend. = Rendimiento ( % )

Tabla 3

RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS METANOLICOS

	<u>T. coronopifolia</u>		<u>T. foetidissima M.</u>		<u>T. foetidissima V.</u>	
	Peso Ex.	Rend.	Peso Ex.	Rend.	Peso Ex.	Rend.
Raíz	1.7273	9.76	1.0353	6.12	1.1518	6.13
Tallo	4.3574	12.45	1.5036	10.98	3.4787	9.94
Aguenio	3.3179	19.51	2.0525	10.98	3.7822	15.25

Tabla 4

M = variedad morada      V = variedad verde

Peso Ex. = peso de los extractos (g)      Rend. = rendimiento (%)

### **3. DETERMINACION DE GRUPOS DE METABOLITOS SECUNDARIOS.**

*Para la realización de las pruebas se prepararon soluciones de cada extracto a una concentración de 1 mg/ml, que se mantuvieron tapadas en sus tubos con el fin de evitar la evaporación del disolvente; de ellas se tomó 1 ml para llevar a cabo cada una de las pruebas, cuyos resultados se muestran en las Tablas de la 5 a la 10.*

*Los extractos hexánicos se evaporaron a sequedad y se redisolieron en 1 ml de etanol para todas las pruebas, exceptuando la de terpenos y esteroides.*



**a. Alcaloides**

Se tomó un mililitro de cada una de las soluciones, se agregó a cada tubo 1 gota de ácido clorhídrico concentrado y dos gotas del reactivo correspondiente.

Esta prueba es positiva si forma un precipitado color amarillo paja con el reactivo de ácido silicotúngstico y naranja-marrón con el reactivo de Dragendorff.

**b. Flavonoides**

A 1 ml de cada una de las soluciones de los extractos hexánicos y metanólicos se agrega un trocito de limadura de magnesio y dos gotas de ácido clorhídrico concentrado. La prueba es positiva si la solución pasa a color violeta, anaranjado, rojo azulado, verde o azul.

**c. Glicósidos**

*De las soluciones de los extractos hexánico y metanólico se tomó 1 ml de cada una y se les agregó 2 gotas de una solución etanólica de alfa-naftol al 5% y 1 ml de ácido sulfúrico concentrado, resbalándolo por las paredes del tubo para que se estratificara a fin de poder observar el anillo que se forma en la interfase el cual, en caso de ser violeta indica la presencia de glicósidos.*

**d. Terpenos y esteroides**

*Se tomó 1 ml de las soluciones de los extractos hexánicos, disueltos en cloroformo, se les agregó 1 ml del reactivo de Lieberman-Bourchard; los extractos metanólicos se tuvieron que llevar a sequedad y redisolver en 1 ml de cloroformo para poder adicionar el reactivo. La prueba es positiva si la solución vira a azul verdoso, rosa rojo o violeta.*

#### **4. PERFILES CROMATOGRÁFICOS.**

*Se realizaron en capa fina, utilizando placas de 5 cm de largo, de gel de sílice Merck G. 60 F 254, y se buscaron los sistemas de eluyentes adecuados para correr las muestras de los extractos hexánicos y metanólicos.*

*Una vez corridas las muestras, se observaron las placas con luz ultravioleta de onda larga (en líneas punteadas) y posteriormente se revelaron con reactivo de sulfato cérico (líneas continuas) (figuras de la 1 a la 14).*

## 5. PRUEBA BIOLÓGICA.

*Determinación de la actividad bacteriostática de los extractos hexánicos en frío.*

*Los organismos utilizados en esta prueba fueron Bacillus subtilis, pertenecientes a la cepa no. 294 del Departamento de Microbiología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.*

*Esta muestra de la cepa se encontraba liofilizada, por lo que fue necesario rehidratarlas y resembrar en medio líquido para después hacer una resiembra, tanto en agar como en caldo nutritivo, y de esta manera conservar un reservorio de cepa madre, con el cual efectuar las pruebas biológicas.*

*Para realizar la resiembra toda la cristalería, el material utilizado y 60 ml. de agar Mueller Hinton, se esterilizaron en autoclave a 120 grados centígrados y 15 libras de presión durante 15 minutos. A partir de ese momento, toda la manipulación posterior se efectuó dentro de una campana estéril.*

*Una vez teniendo el agar a una temperatura aproximada de 45 grados centígrados, se vertieron 20 ml en cada una de 3 cajas de Petri de 9 cm de diámetro. Ya solidificado se llevó a cabo la resiembra con ayuda de hisopos que se introdujeron en el cultivo de reserva y se aplicaron al agar, procurando abarcar toda la superficie de la caja, con el objeto de obtener un crecimiento uniforme, y se incubaron por espacio de 24 horas.*

*Para efectuar la prueba con los extractos, el material se esterilizó en la forma descrita anteriormente así como 50 ml de caldo nutritivo y 500 ml de agar, previamente preparados.*

De cada uno de los 9 extractos hexánicos en frío, se pesaron 5 mg y se disolvieron en 1 ml de tween 80 al 10%, en pequeños tubos forrados con papel aluminio para evitar el contacto con la luz, y 5 mg de ampicilina, disuelta en 1.5 ml de tween 80 al 10%, ésta última utilizada como testigo.

Con ayuda de un hisopo se tomaron bacterias de una de las 3 cajas de la resembra, las cuales se suspendieron en 20 ml de caldo nutritivo estéril, de éstos, 13 ml se mezclaron con 500 ml de agar, igualmente estéril. La mezcla se distribuyó en 18 cajas de petri, colocando 25 ml en cada una de ellas, y se dejó solidificar. Una vez sólido, se hicieron 4 horadaciones alrededor de la caja con un horador estéril de 1 cm de diámetro y con una separación entre ellas de 2 cm; en cada una de éstas se colocaron 3 diferentes alícuotas de las disoluciones en tween de los extractos hexánicos para tener 3 concentraciones distintas:

alícuota ml

equivalencia de extracto en microgramos

0.04	200
0.08	400
0.12	600

Para el testigo se utilizaron 0.02 ml de la solución en tween 80 equivalente a 66.6 microgramos.

La concentración de bacterias del caldo nutritivo se midió a 530 nm, interpolando la absorbancia de 0.6 en la curva patrón (gráfica 10) y calculando la concentración con la tabla de estándares de McFarland (tabla 11) (31).

TABLA DE ESTANDARES DE MCFARLAND PARA  
DETERMINAR CONCENTRACION DE CELULAS.

	Número de tubos									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Cloruro de Bario (ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1
Acido Sulfúrico (ml)	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4	9.3	9.2	9.1	9
Densidad aproximada de células $\times 10^8$ /ml	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30

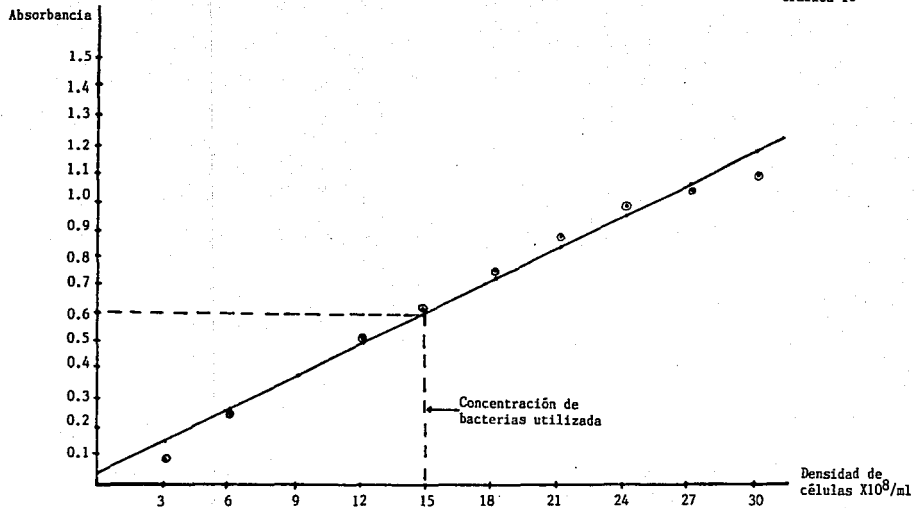
Tabla 11

PUNTOS DE LA CURVA PATRON		
Tubos estándares	Absorbancia leída	Absorbancia con regresión
1	0.09	0.153
2	0.27	0.2684
3	0.38	0.3830
4	0.51	0.4976
5	0.64	0.6122
6	0.75	0.7267
7	0.9	0.8413
8	1.0	0.9559
9	1.05	1.0705
10	1.1	1.1850



CURVA DE ESTANDARES DE McFARLAND AJUSTADA CON REGRESION LINEAL

Gráfica 10

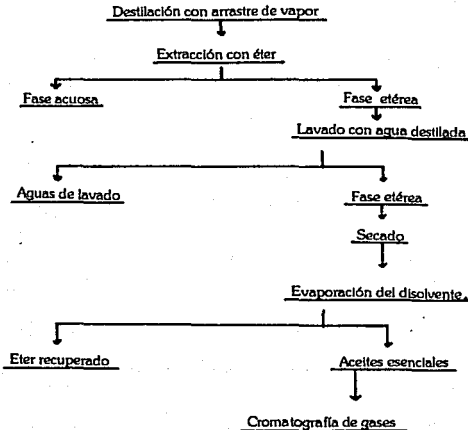


*La determinación de la actividad de los extractos se hizo por irradiación con luz ultravioleta, colocando 2 series de cajas, una protegida de la radiación con papel aluminio y otra libre de protección. Cada serie constó de 9 cajas, una para cada extracto y para cada parte de la planta (3 extractos, 3 partes).*

*Todas las cajas se colocaron en una campana bajo radiación ultravioleta de onda larga durante 24 horas. Al concluir este tiempo se suspendió la exposición a la luz y se hizo la observación de las cajas, midiendo las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano (Tablas de la 12 a la 14).*

## 6. EXTRACCION DE ACEITES ESENCIALES Y DETERMINACION DE SU COMPOSICION.

Para este propósito se trabajó con los involucros de las especies que fueron los que tuvieron aroma. El aceite se obtuvo por destilación con arrastre de vapor y se procesó de acuerdo al siguiente diagrama:



**a. Extracción con éter**

En un embudo de separación de 2 litros de capacidad se colocó el agua de destilación por arrastre con vapor (500 ml) se adicionaron 200 ml de éter, agitando vigorosamente y se dejó reposar por un lapso de 5 minutos, al término de los cuales se separó el éter y se repitió la operación 2 veces más.

**b. Lavado**

Los extractos etéreos se colocaron dentro del embudo de separación y se lavaron con 200 ml de agua, tres veces.

**c. Secado**

El secado de los extractos se llevó a cabo adicionando sulfato de sodio anhidro, agitando el matraz ligeramente y dejando reposar durante media hora, después de lo cual se separó el sulfato de sodio por filtración y el disolvente se eliminó por

destilación con columna de rectificación. Los aceites esenciales así obtenidos se analizaron por cromatografía de gases (gráficas de la 11 a la 13).

*Datos de la cromatografía de gases.*

*Columna: Carbowax 20-M de 50 m x 0.53 mm de diámetro de sílice fundida.*

*Temperatura de la columna igual a 70 - 195 °C a una velocidad de 6 °/min.*

*Detector de ionización de flama a una temperatura igual a 200 °C.*

*Gas acarreador; hidrógeno a 5 ml/min.*

*Temperatura del inyector igual a 200 °C.*

## 7. EXTRACCION DE ANTOCIANINAS Y PERFIL CROMATOGRAFICO.

*Un gramo de involucros de cada una de las plantas, ya secos, se maceró durante una hora en una mezcla de 99 ml de metanol y un ml de ácido acético. Se aplicó el mismo tratamiento a los pétalos frescos de tres flores de geranio, que sirvieron como testigo.*

*Después se filtraron los extractos y se cromatografiaron en papel, empleando como eluyente la siguiente mezcla: butanol-ácido acético-agua 4:1:5 (figura 15). Una vez corrida la placa y perfectamente bien seca se reveló con luz U.V. y se midieron los  $R_f$  de cada mancha. Por último, se midió la absorción de los extractos entre 510 y 550 nm (gráfica 14).*

## VI. RESULTADOS Y DISCUSION

### Grupos de Metabolitos Secundarios

*En la raíz de las tres especies se presenta una mayor cantidad de compuestos terpénicos y esteroidales, así como de alcaloides, en los extractos hexánicos, tanto en frío como en caliente, comparados con los extractos metanólicos, y no se puede establecer una diferencia intraespecífica entre las dos variedades de Tagetes foetidissima, ni interespecífica con Tagetes coronopifolia.*

## EXTRACTO HEXANICO EN FRIO

	R A I Z			T A L L O			AQUENIOS		
	T. c	T.f M	T.f V	T. c	T.f M	T.f V	T. c	T.f M	T.f V.
Terpenos y Esteroides	++	++	+	++	++	+++	+	lig.+	—
Glicósidos	++	+	+	—	—	—	—	—	—
Flavonoides	—	lig.+	—	lig.+	+	+	—	—	—
Alcaloides Ac. Silico.	+	lig.+	++	hue.	hue.	hue.	++	++	+++
Alcaloides Reac. Drag.	+++	+++	++	+++	++	++	++	+	++

Tabla 5

## EXTRACTO HEXANICO EN CALIENTE

	R A I Z			T A L L O			AQUENIOS		
	T. c	T.f M	T.f V	T. c	T.f M	T.f V	T. c	T.f M	T.f V
Terpenos y Esteroides	++	+++	+++	++	+++	++	lig.+	++	++
Glicósidos	lig.+	lig.+	lig.+	lig.+	lig.+	lig.+	—	lig.+	lig.+
Flavonoides	—	—	—	lig.+	lig.+	lig.+	—	++	—
Alcaloides Ac. Silico.	++	lig.+	lig.+	lig.+	+	lig.+	+	lig.+	lig.+
Alcaloides Reac. Drag.	++	+++	++	+++	+++	+++	++	++	++

Tabla 6



E X T R A C T O M E T A N O L I C O

R A I Z T A L L O A Q U E N I O S

	T. c	T.f M	T.f V	T. c	T.f M	T.f V	T. c	T.f M	T.f V
Terpenos y Esteroides	+	+	+	lig.+	lig.+	lig.+	+	lig.+	lig.+
Glicósidos	++++	+++	+++	++++	++	+++	+++	++	++
Flavonoides	---	---	---	lig.+	lig.+	++	---	---	++
Alcaloides	---	---	---	---	---	---	lig.+	---	---
Ac. Silico.	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Alcaloides	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Reac. Drag.	lig.+	++	---	+	lig.+	+	lig.+	lig.+	---

Tabla 7

Intensidad creciente de la reacción de + a +++

T. c= Tagetes coronopifolia

T.f M= Tagetes foetidissima variedad morada

T.f V= Tagetes foetidissima variedad verde

Los flavonoides prácticamente no se encontraron en raíz en ninguno de los extractos y los glicósidos se hallaron en mayor proporción en el extracto metanólico.

Para tallo se observa un patrón similar al de raíz, terpenos-esteroides y alcaloides predominan en los dos extractos hexánicos, en tanto que los glicósidos se encuentran en mayor proporción en el extracto metanólico. Los flavonoides se encuentran en los tres extractos y en pequeña proporción.

En cuanto a los aquenios, los alcaloides están presentes en mayor cantidad en los extractos hexánicos, al igual que los terpenos y esteroides excepto en T. coronopifolia, en la que se encuentran en igual proporción en ambos extractos. Los glicósidos siguen predominando en el extracto metanólico. En el extracto hexánico en frío no se pudieron detectar flavonoides, en el extracto en caliente, sólo en Tagetes foetidissima morado y en el metanólico, en las dos variedades de T. foetidissima.

Los resultados obtenidos para esta determinación no permitieron establecer diferencias significativas interespecíficas, ni tampoco para Tagetes foetidissima morado y verde.

Tabla 8

CONCENTRACION RELATIVA DE GRUPOS DE COMPUESTOS PARA LOS EXTRACTOS DE RAIZ DE LAS TRES PLANTAS

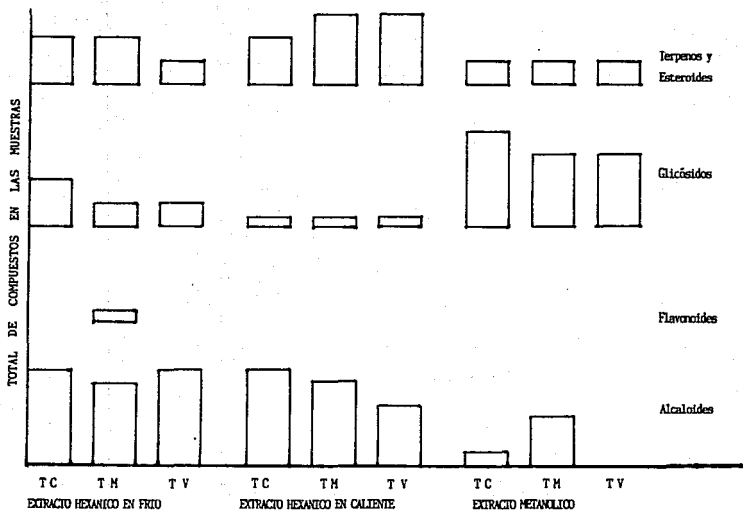


Tabla 9

CONCENTRACION RELATIVA DE GRUPOS DE COMPUESTOS PARA LOS EXTRACCOS DE TALLO DE LAS TRES PLANTAS

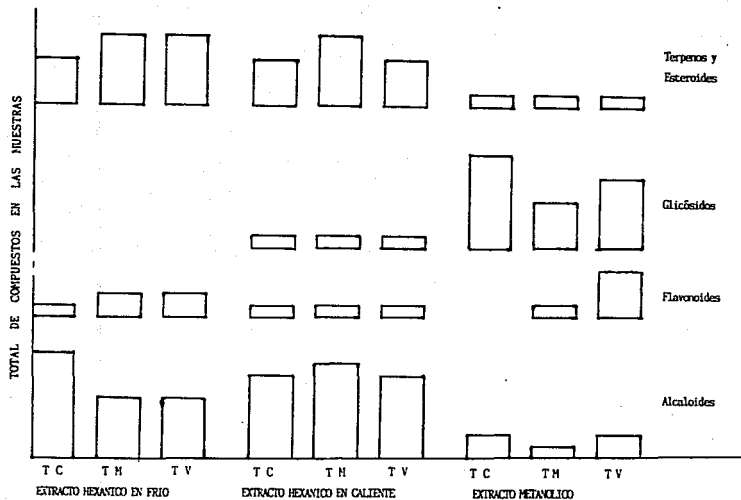
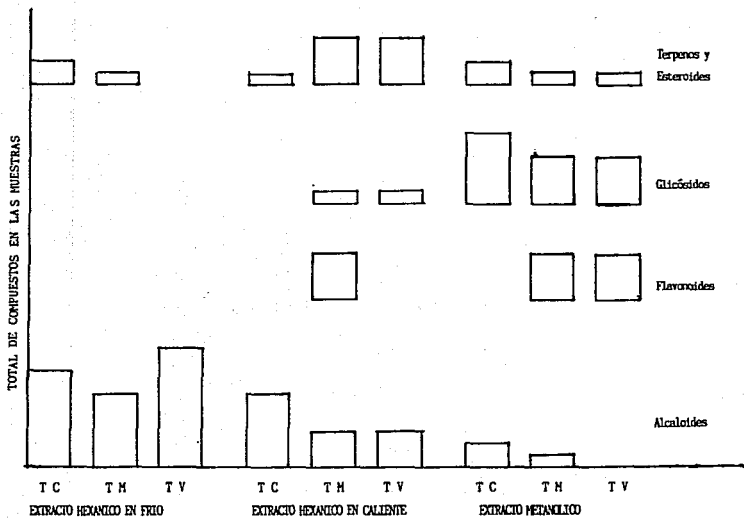


Tabla 10

CONCENTRACION RELATIVA DE GRUPOS DE COMPUESTOS PARA LOS EXTRACTOS DE AQENIOS DE LAS TRES PLANTAS



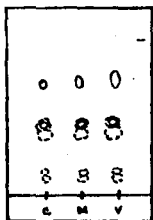
### Perfiles cromatográficos

El extracto hexánico en frío de raíz tuvo compuestos de muy distintas polaridades por lo que se requirió correr perfiles en tres eluyentes: hexano, hexano-acetato de etilo 2:1, hexano-acetato de etilo 1:1 (Fig. 1-3).

Los perfiles de las tres muestras corridos con hexano resultaron idénticos; en los determinados con los otros dos eluyentes hay identidad de perfiles en las dos variedades de T. foetidissima pero muestra ligeras diferencias con éstos el de T. coronopifolia.

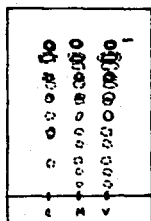
Para el extracto hexánico en caliente se requirió de una mezcla de eluyentes: hexano-acetato de etilo 3:1 y de nuevo se observó que el perfil de Tagetes coronopifolia es ligeramente diferente a los perfiles de las dos variedades de Tagetes foetidissima (Fig.4).

Perfiles Cromatográficos de Raíz del  
Extracto Hexánico en Frío



Eluyente: Hexano

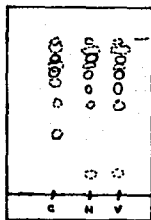
Fig. 1



Eluyente:

Hexano-Acetato de etilo 2:1

Fig. 2



Eluyente:

Hexano-Acetato de etilo 1:1

Fig. 3

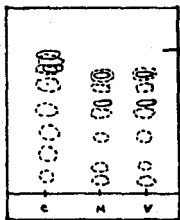
C= T. coronopifolia

M= T. foetidissima var. morada

V= T. foetidissima var. verde



Perfil Cromatográfico de Raíz del  
Extracto Hexánico en caliente



Eluyente:  
Hexano-Acetato de etilo 3:1

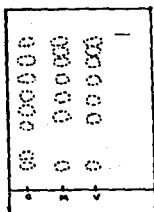
Fig. 4

En el extracto metanólico, por la polaridad de los compuestos que lo constituyen se requirió correr perfiles con tres eluyentes de diferente polaridad: hexano-acetato de etilo 1:2, acetato de etilo-metanol 1:1 y metanol.

Los perfiles obtenidos con el eluyente de menor polaridad y con el de mayor, fueron diferentes en las dos especies en tanto que los eluidos con polaridad mediana resultaron idénticos (Fig. 5-7).

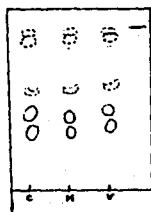
En tallo se observa que los perfiles del extracto hexánico en frío de las variedades de T. foetidissima son idénticos y guardan una pequeña diferencia con los de T. coronopifolia. Para todos estos perfiles se requirió solo una mezcla de eluyentes: hexano-acetato de etilo 3:1. Igual relación se observó en los perfiles de los extractos en caliente y metanólico. Para los extractos hexánicos se empleó como eluyente: hexano-acetato de etilo 1:1 y para los metanólicos acetato de etilo-metanol 6:4 (Fig.8-10).

Perfiles Cromatográficos de Raíz del  
Extracto Metanólico



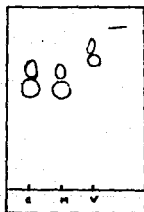
Eluyente:  
Hexano-Acetato de etilo 1:2

Fig. 5



Eluyente:  
Acetato de etilo-Metanol 1:1

Fig. 6

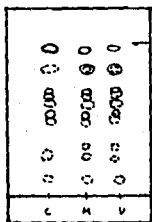


Eluyente: Metanol

Fig. 7

Perfiles Cromatográficos de Tallo

Ext. Hex. en frío

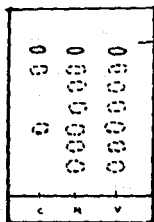


Eluyente:

Hexano-Acetato de etilo 3:1

Fig. 8

Ext. Hex. en caliente

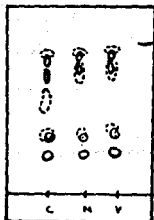


Eluyente:

Hexano-Acetato de etilo 1:1

Fig. 9

Ext. metanólico



Eluyente:

Acetato de etilo-Metanol 6:4

Fig. 10

Finalmente, en los perfiles del extracto hexánico en frío de aquenios hay identidad en las dos variedades de Tagetes foetidissima y diferencias con el de T. coronifolia. El eluyente empleado para estos perfiles fue: hexano-acetato de etilo 2:1 (Fig11).

Los perfiles del extracto hexánico en caliente de las tres muestras son diferentes y se corrieron en hexano-acetato de etilo 1:3 (Fig. 12).

Utilizando como eluyentes: hexano-acetato de etilo 1:1 y acetato de etilo-metanol 3:7 se corrieron los perfiles del extracto metanólico, encontrándose una ligera diferencia entre Tagetes coronifolia y las dos variedades de Tagetes foetidissima, con la primer mezcla, y una identidad de perfiles de las tres muestras corridas con el segundo eluyente (Fig.13 y 14).

Perfiles Cromatográficos de Aqueños

Ext. Hex. en frío

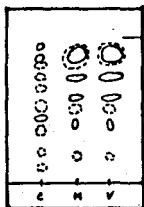


Fig. 11

Eluyente:

Hexano-Acetato de etilo 4:2

Ext. Hex. en caliente

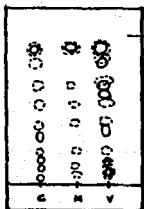


Fig. 12

Eluyente:

Hexano-Acetato de etilo 1:3

Perfiles Cromatográficos de Aqueños  
del Extracto Metanólico

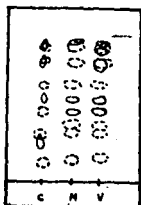


Fig. 13

Eluyente:  
Hexano-Acetato de etilo 1:1

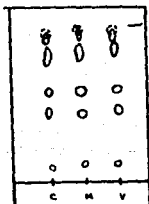


Fig. 14

Eluyente:  
Acetato de etilo-Metanol 3:7

### Actividad bacteriostática de la fracción fototóxica

Para iniciar el estudio microbiológico del extracto hexánico en frío, que fundamentalmente se preparó con este propósito, se determinaron los espectros en el ultravioleta de estos extractos para comprobar la presencia de compuestos fototóxicos. Los perfiles de los espectros de las tres muestras y de las tres partes analizadas indicaron presencia de fotosensibles.

En ratz, hay similitud de perfiles entre T. coronopifolia y T. foetidissima verde; en tallo la similitud se encuentra entre las dos variedades de Tagetes foetidissima y en aqueños, los tres perfiles guardan semejanza.

Los máximos de absorción ( $\lambda$  max) en la región de los 200 y 300 nm que registraron los perfiles indican presencia de compuestos poliacetilénicos y tiofénicos, que son los compuestos fototóxicos (34 ), ver tablas 15-17 y gráficas 1-9.



λ MAXIMA DE LOS ESPECTROS EN EL ULTRAVIOLETA DE LOS  
EXTRACTOS DE RAIZ.

<u>T. coronopifolia</u>	<u>T. foetidissima M</u>	<u>T. foetidissima V</u>
192	193	192
194	197	194
196	220	232 (d)
198	271 (i)	330 (i)
230 (d)	280 (h)	
330 (i)	325 (d)	

Tabla 15

λ MAXIMA DE LOS ESPECTROS EN EL ULTRAVIOLETA DE LOS  
EXTRACTOS DE TALLO

<u>T. coronopifolia</u>	<u>T. foetidissima M</u>	<u>T. foetidissima V.</u>
191	191	193
193	193	194
196	195	195
230 (m)	225 (m)	230 (m)
322 (i)	328 (i)	330 (i)
402 (m)	402 (m)	402 (m)

Tabla 16

λ MAXIMA DE LOS ESPECTROS EN EL ULTRAVIOLETA DE LOS  
EXTRACTOS DE AQUENIOS

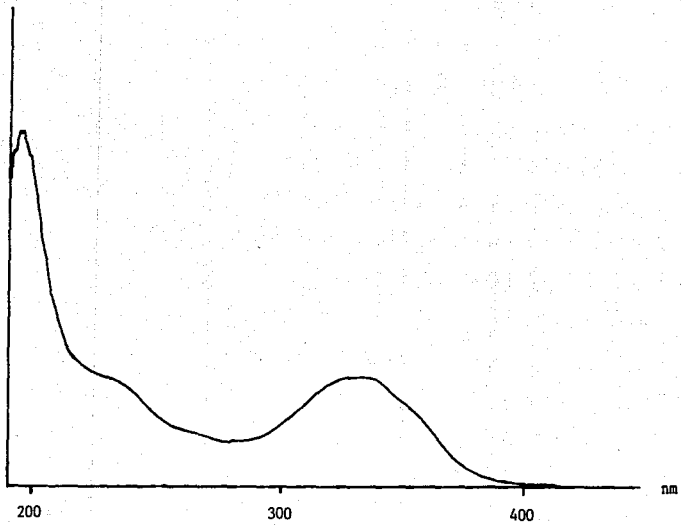
<u>T. coronopifolia</u>	<u>T. foetidissima M</u>	<u>T. foetidissima V</u>
191	191	196
193	194	198
194	196	228 (d)
195	225 (m)	260 (d)
230 (i)	258 (d)	340 (d)
340 (d)	336 (d)	

Tabla 17

(d)= débil (m)= mediana (i)= intensa (h)= hombro

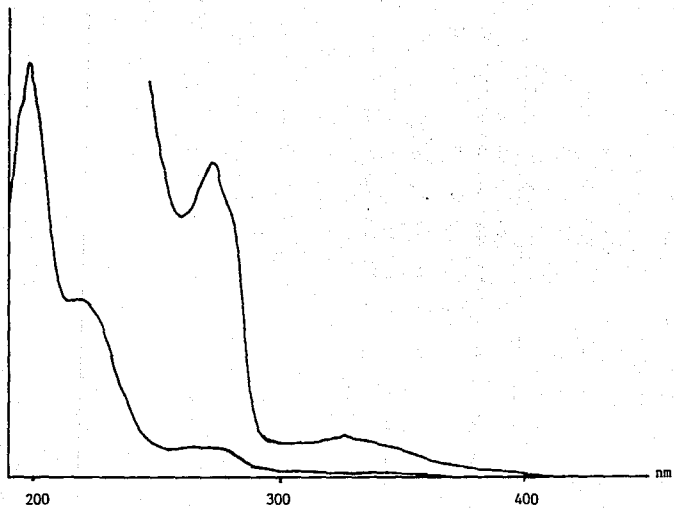
M= variedad morada V= variedad verde

ESPECTRO EN EL ULTRAVIOLETA DEL EXTRACTO HEXANICO EN FRIO DE RAIZ DE T. coronopifolia.



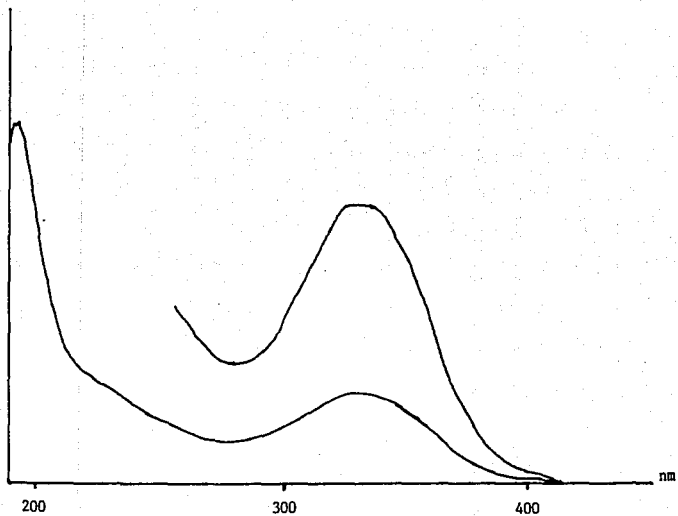
Gráfica 1

ESPECTRO EN EL ULTRAVIOLETA DEL EXTRACTO HEXANICO EN FRIO DE RAIZ DE T. foetidissima M



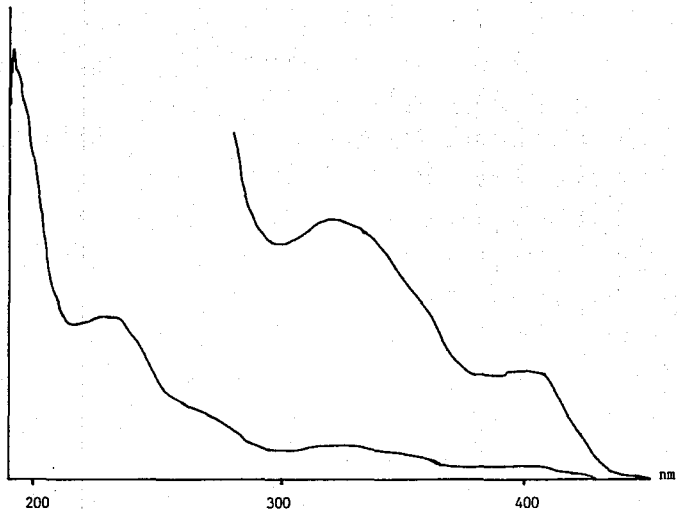
Gráfica 2

ESPECTRO EN EL ULTRAVIOLETA DEL EXTRACTO HEXANICO EN FRIO DE RAIZ DE T. foetidissima V



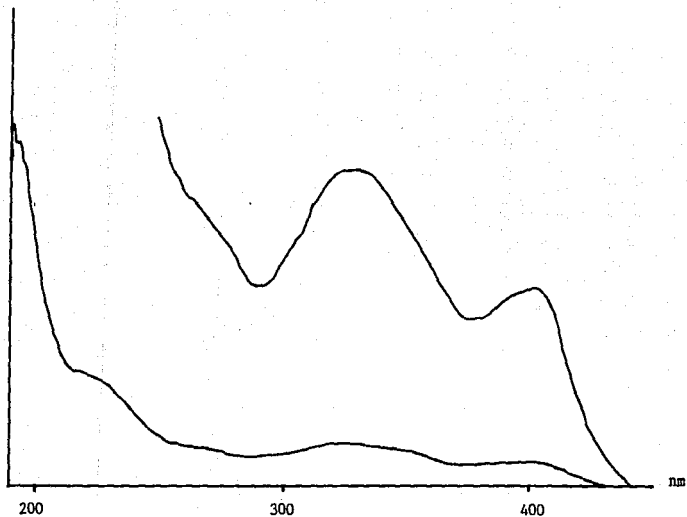
Gráfica 3

ESPECTRO EN EL ULTRAVIOLETA DEL EXTRACTO HEXANICO EN FRIO DE TALLO DE T. coronopifolia.



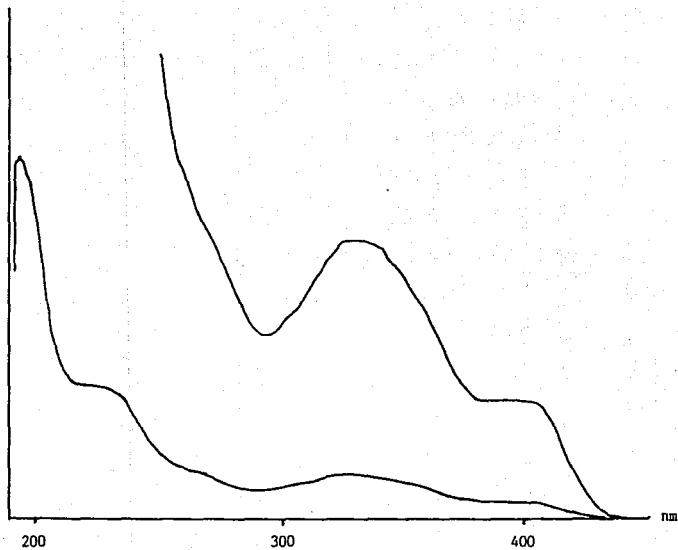
Gráfica 4

ESPECTRO EN EL ULTRAVIOLETA DEL EXTRACTO HEXANICO EN FRIO DE TALLO DE T. foetidissima M



Gráfica 5

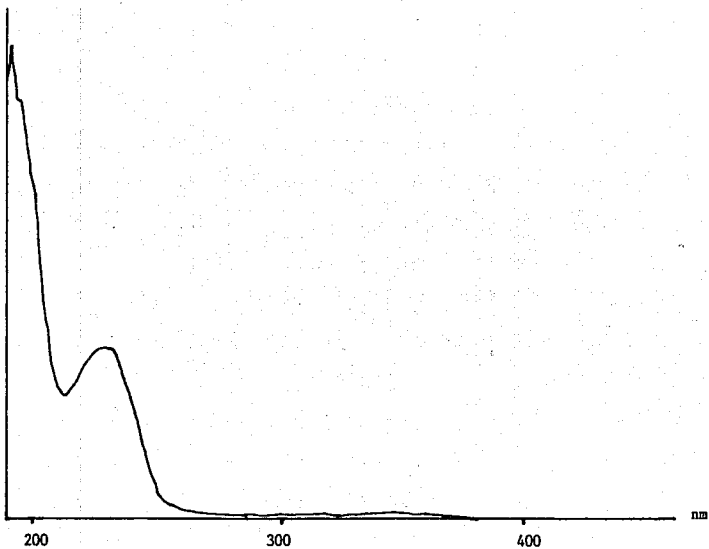
ESPECTRO EN EL ULTRAVIOLETA DEL EXTRACTO HEXANICO EN FRIO DE TALLO DE T. foetidissima V



Gráfica 6

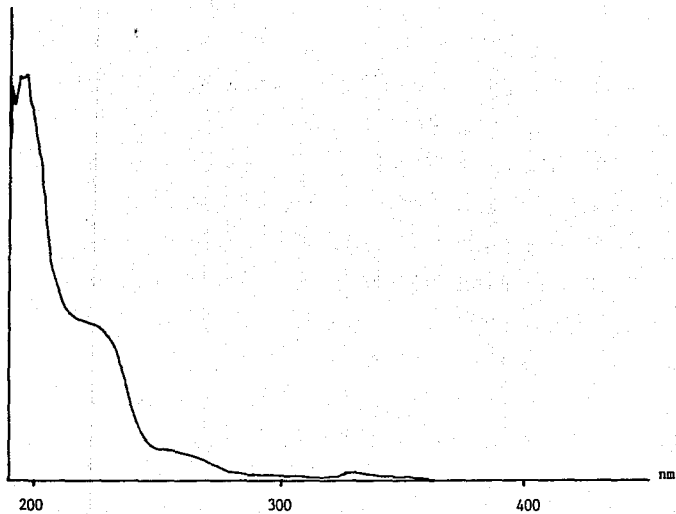


ESPECTRO EN EL ULTRAVIOLETA DE EXTRACTO HEXANICO EN FRIO DE AQUENIOS DE T. coronopifolia



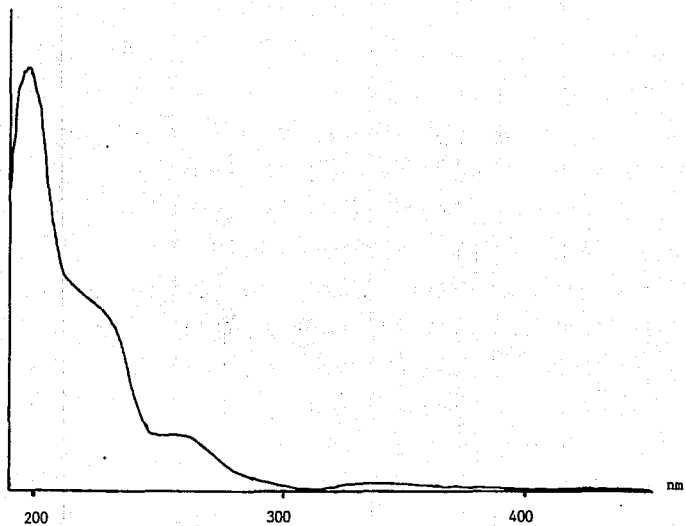
Gráfica 7

ESPECTRO EN EL ULTRAVIOLETA DEL EXTRACTO HEXANICO EN FRIO DE AQUENIOS DE T. foetidissima M



Gráfica 8

ESPECTRO EN EL ULTRAVIOLETA DEL EXTRACTO HEXANICO EN FRIO DE AQENIOS DE T. foetidissima V



Gráfica 9

Una vez establecida la presencia de estos compuestos se procedió a realizar las pruebas microbiológicas, con una concentración de bacterias de  $15 \times 10^8$  /ml. Los resultados obtenidos con estas pruebas indican que la parte más activa de la planta (fototoxicidad) fue la raíz, en la que T. coronopifolia se mostró ligeramente más activa que las dos variedades de T. foetidissima. Tallo y achenios tuvieron actividad fototóxica similar. Esta fue igual en tallo para las tres muestras analizadas y en achenios la de Tagetes coronopifolia resultó ligeramente más activa.

ACTIVIDAD BACTERIOSTATICA

HALO DE INHIBICION (mm) DE LOS EXTRACTOS HEXANICOS  
EN FRIO DE RAIZ.

		Tc	Tm	Tv
	conc.			
LUZ U.V.	a)	5	5	6
	b)	7	7	7
	c)	9	8	8
	d)	5	5	5
OSCURIDAD	a)	5	5	5
	b)	7	7	6
	c)	7	6	7
	d)	5	5	5

Tabla 12

HALO DE INHIBICION (mm) DE LOS EXTRACTOS HEXANICOS  
EN FRIO DE TALLO.

		Tc	Tm	Tv
	conc.			
LUZ U.V.	a)	3	3	3
	b)	4	4	4
	c)	5	5	5
	d)	5	5	5
OSCURIDAD	a)	2	3	2
	b)	3	4	3
	c)	4	4	4
	d)	5	5	4

Tabla 13

Tc= Tagetes coronopifolia

Tm= Tagetes foetidissima variedad morada

Tv= Tagetes foetidissima variedad verde

HALO DE INHIBICION (mm) DE LOS EXTRACTOS HEXANICOS  
EN FRIO DE AQUENIOS.

		Tc	Tm	Tv
	conc.			
LUZ U.V.	a)	3	3	3
	b)	4	4	4
	c)	5	4	4
	d)	5	5	5
OSCURIDAD	a)	3	3	2
	b)	4	3	3
	c)	4	3	3
	d)	5	5	5

Tabla 14

conc. = concentraciones

a) 200 microgramos de extracto

b) 400 microgramos de extracto

c) 600 microgramos de extracto

d) 66.6 microgramos de ampicilina (testigo)

## Aceites esenciales

El análisis de los componentes de los aceites esenciales de los involucros de las tres muestras indican que la composición de las dos variedades de Tagetes foetidissima es igual, y difieren solamente en la cantidad de cada uno de los componentes.

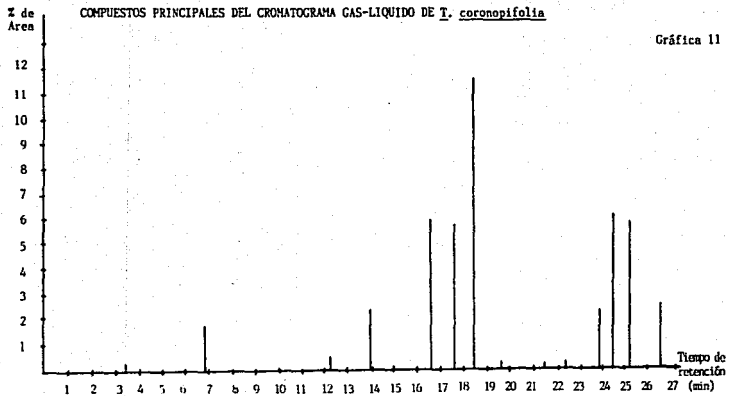
Los compuestos que presenta Tagetes coronopifolia difieren de los de Tagetes foetidissima. La primer especie presenta algunos compuestos diferentes y carece de otros que tienen las variedades de T. foetidissima; T. coronopifolia no tiene beta-pireno y eucaliptol, en cambio tiene eugenol que no lo presenta la otra especie.

En cuanto a las concentraciones de sus compuestos son también diferentes a las de las dos variedades de T. foetidissima.

COMPOSICION DEL ACEITE ESENCIAL DE Tagetes coronopifolia.

	Tiempo de retención	% de Area	Compuesto
1.	3.51	0.163	Alfa-Pireno
2.	6.89	1.632	Limoneno
3.	12.34	0.568	Acetato de bencilo
4.	13.99	2.285	Linalol
5.	16.63	5.960	Acetato de Linalilo
6.	17.65	5.818	Cariofileno
7.	18.49	11.483	Citral
8.	19.64	0.316	Citronelol
9.	21.48	0.038	Acetato de Geranilo
10.	22.39	0.199	Geraniol
11.	23.88	2.211	Fenil etanol
12.	24.52	6.061	Eugenol
13.	25.24	5.876	Alcohol Bencílico
14.	26.56	2.583	Mirceno





Alfa-pireno

Limoneno

Acetato de bencilo

Linalol

Acetato de linalilo

Geraniol

Citronelol

Acetato de geraniol

Geraniol

Fenil etanol

Eugenol

Alcohol bencílico

Mirceno

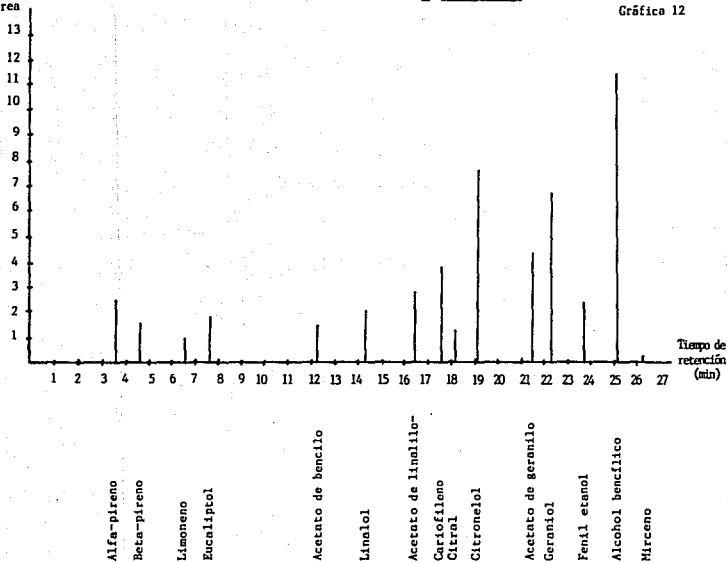
COMPOSICION DEL ACEITE ESENCIAL DE Tagetes foetidissima M

	Tiempo de retención	% de Area	Compuesto
1.	3.70	2.253	Alfa-Pireno
2.	4.73	1.497	Beta-Pireno
3.	6.67	0.938	Limoneno
4.	7.74	1.699	Eucaliptol
5.	12.37	1.466	Acetato de Bencilo
6.	14.45	2.017	Linalol
7.	16.55	2.769	Acetato de Linalilo
8.	17.66	3.701	Cariofileno
9.	18.27	1.221	Citral
10.	19.22	7.561	Citronelol
11.	21.55	4.375	Acetato de Geranilo
12.	22.28	6.734	Geraniol
13.	23.74	2.331	Fenil etanol
14.	25.17	11.247	Alcohol Bencílico
15.	26.68	0.010	Mirceno

% de  
Area

COMPUESTOS PRINCIPALES DEL CROMATOGRAMA GAS-LIQUIDO DE T. foetidissima M

Gráfica 12

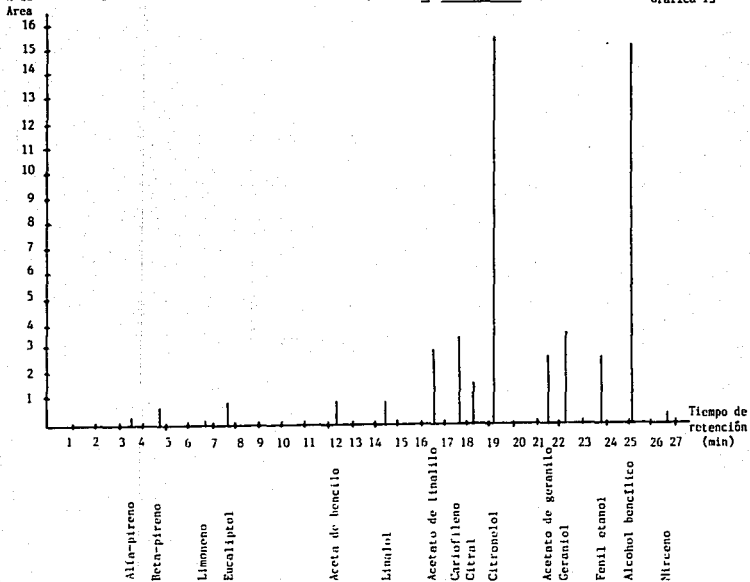


COMPOSICION DEL ACEITE ESENCIAL DE Tagetes foetidissima V

	Tiempo de retención	% de Area	Compuesto
1.	3.65	0.382	Alfa-Pireno
2.	4.77	0.619	Beta-Pireno
3.	6.76	0.136	Limoneno
4.	7.76	0.898	Eucaliptol
5.	12.39	0.787	Acetato de Bencilo
6.	14.48	0.867	Linalol
7.	16.64	3.021	Acetato de Linalilo
8.	17.68	3.471	Cariofileno
9.	18.30	1.587	Citral
10.	19.26	15.295	Citronelol
11.	21.61	2.825	Acetato de Geranilo
12.	22.34	3.613	Geraniol
13.	23.79	2.642	Fenil etanol
14.	25.24	15.143	Alcohol Bencílico
15.	26.74	0.385	Mirceno

COMPUESTOS PRINCIPALES DEL CROMATOGRAMA GAS-LIQUIDO DE T. foetidissima V

Gráfica 13



## Perfil cromatográfico de involucros

El perfil cromatográfico de los pigmentos de los involucros presentó para las dos especies los mismos compuestos, que se identificaron por medio de sus R<sub>f</sub>s y su correspondencia con los del testigo empleado y que fueron: pelargonidina (diglucósido 3,5) y malvinidina (monoglucósido 3) pero en diferentes concentraciones lo cual esta de acuerdo con las diferentes coloraciones que presentan los involucros.

En los involucros de T. coronopifolia, de color morado-rojizo predomina la malvinidina y se encuentra en pequeña cantidad la pelargonidina. En la variedad morada de T. foetidissima que presenta esta coloración, predomina también la malvinidina pero la pelargonidina se encuentra en mayor concentración que en la especie anterior. Y en la variedad verde, cuyo involucro presenta una coloración verde con vetas moradas, las dos antocianinas se encuentran en mayor proporción que en las muestras anteriores, predominando la malvinidina sobre la pelargonidina.

PERFIL CROMATOGRAFICO DE ANTOCIANINAS

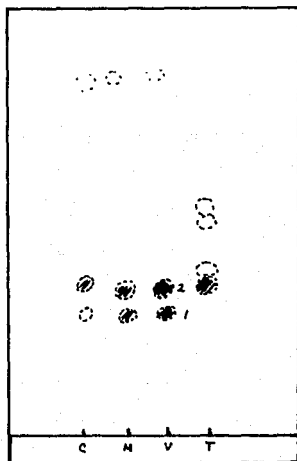


Fig. 15

(1) Pelargonidina (diglucósido 3,5) color naranja

(2) Malvinidina (monoglucósido 3) color morado

C= T. coronopifolia M= T. foetidissima var. morada

V= T. foetidissima var. verde T= testigo

Se determinó también la absorción de los pigmentos en el espectro electromagnético entre 510 y 550 nm. y se observó que el máximo de absorción de T. coronopifolia (520 nm.) se encuentra a una longitud de onda menor que el de las dos variedades de T. foetidissima (525 nm). Los perfiles de las dos variedades de Tagetes foetidissima son también diferentes entre sí, observándose en la variedad morada un pequeño máximo a 540 nm que no presenta la variedad verde .



ESPECTROS EN EL VISIBLE DE LAS ANTOCIANINAS

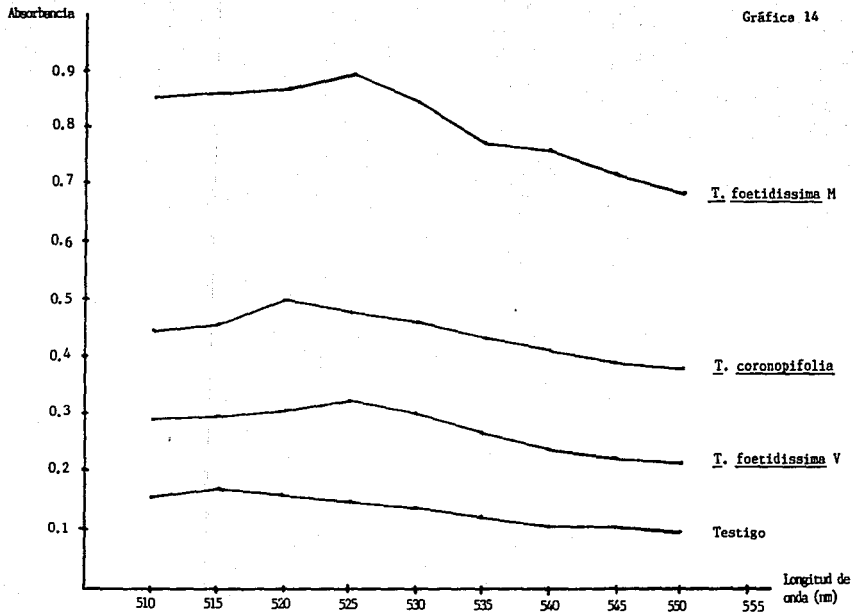
Longitud de onda (nm.)	A B S O R B A N C I A			
	TC	TM	TV	T
510	0.45	0.85	0.29	0.167
515	0.46	0.86	0.30	0.17
520	0.5	0.87	0.31	0.160
525	0.48	0.9	0.33	0.155
530	0.47	0.85	0.31	0.14
535	0.44	0.78	0.275	0.135
540	0.42	0.76	0.245	0.117
545	0.4	0.72	0.23	0.11
550	0.39	0.69	0.22	0.1

TC= T. coronopifolia TM= T. foetidissima var. morada

TV= T. foetidissima var. verde T= Testigo

ESPECTROS EN EL VISIBLE DE LAS ANTOCIANINAS

Gráfica 14



## VII. CONCLUSIONES

*Las determinaciones de grupos de metabolitos secundarios no permitieron establecer diferencias significativas interespecificas.*

*Los perfiles cromatográficos mostraron diferencia interespecifica, pero los de las dos variedades fueron iguales.*

Los perfiles de los espectros en el ultravioleta indican presencia de poliacetilenos y tiofenos en las tres partes de las plantas y no hay diferencia marcada entre especies, pero sí en la distribución de estos compuestos en la planta.

Se observó actividad fototóxica tanto en raíz, como en tallo y aquenios, en T. coronopifolia se pudo apreciar una actividad ligeramente mayor que en las dos variedades de T. foetidissima.

El análisis de los aceites esenciales indicó diferencia en composición entre las dos especies tanto por lo que respecta a compuestos, como en su concentración. En las dos variedades de T. foetidissima la composición del aceite es igual y difiere solamente en concentración.

El perfil cromatográfico de los pigmentos de los involucros indicó en las dos especies la presencia de las mismas antiocianinas, el diglucósido 3,5 de la

pelargonidina y el monoglucósido 3 de la malvinidina, pero la concentración de estas antocianinas varió en las tres muestras analizadas.

Se pudo establecer una diferencia interespecífica mediante los perfiles cromatográficos de los tres extractos analizados, y mediante la composición de los aceites esenciales.

Las variedades de T. foetidissima no registraron diferencias ni en los perfiles cromatográficos de los extractos, ni en la composición de los aceites esenciales, pero sí en la actividad bacteriostática de raíz y en la concentración de antocianinas de los involucros.

## VIII.BIBLIOGRAFIA

- 1.- Harborne, J.B. (1984). Phytochemical Methods. Chapman and Han U.S.A.
- 2.- Scagel, R.F. et al.(1977).El Reino Vegetal.Omega,S.A.Barcelona.
- 3.- Camm, E.L., Towers, G.H.N. and Mitchell, .C.(1975).Phytochemistry. 14,2007-2011.
- 4.- Chan, G.F.Q., Towers, G.H.N. and Mitchell, J.C.(1975).Phytochemistry. 14,2295-2299.

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

- 5.- Towers, G.H.N., Wat, C.K., Graham, E.A. et al.(1977). *Lloydia*. 40, 487-498.
- 6.- Towers, G.H.N. and Wat, C.K.(1978). *Rev. Lat. Quim.* 9,162-170.
- 7.- Wat, C.K., Biswas, R.K., Graham, E.A. et al.(1978). *J.Nat.Produc.* 42, 103-111.
- 8.- Mitscher, L.A., Drake, S., Gollapudi, R. and Okwute, S.K.(1987). *J.Nat.Prod.* 50;6 1025-1040.
- 9.- Funayama, S., Cordell, G.A. (1983). *Heterocyclos*, 20, 2397.
- 10.- Hughes, G.K., Lahey, F.N., Prico, J.R., Webb, L.J.(1948). *Nature*.162, 223.
- 11.- Mac Donald, P.L., Roberston, A.V.(1966). *Aust.J.Chem.* 19, 275.
- 12.- Zechmeister, L. and Sease, J.W.(1947). *J.Am.Chem.Soc.* 69, 273.
- 13.- Chan, G.F.Q., Lee, M.M., Glushka, J., and Towers, G.H.N.(1979). *Phytochemistry*, 18, 1566.
- 14.- Towers, G.H.N.(1980). *Progress in Phytochemistry*, Vol.6. 183-202. Pergamon Press, New York.
- 15.- Gommers, F.J.(1972)., Baker, J. and Wynberg, H.(1982). *Photochem. Photobiol.* 35, 615-619.
- 16.- Gommers, F.J.(1972). *Nematologica*. 18, 458-462.
- 17.- Uhlenbroek, J.H. and Bijloo, J.D.(1958). *Recuell.* 77, 1004.

- 18.- Uhlenbroek, J.H. and Bijloo, J.D.(1959).Recueil. 78, 382.
- 19.- Downum, K.R., Tower, G.H.N.(1983).J.Nat. Prod. 46;98-103.
- 20.- Usher, G. (1971) A Dictionary of Plants Used by Man. McMillan. London.
- 21.- O'Gorman, H. (1963) Plantas y flores de México. Dir. General de Publicaciones. UNAM. México.
- 22.- Hoehne, F.C.(1939). Plantas e Substancias Vegetals Tóxicos e Medicinals. Graphicars, S. Paulo Rfo. 310.
- 23.- Chandhoke, N. y Gratak, B.J.R.(1969).Indian J.Med.Res.57: 864-876.
- 24.- Martínez, M.(1969). Las Plantas Medicinales de México.Ed. Botas. México.
- 25.- Dobrescu,D., Cristea, E., Tarpo, E. y Georgescu, C.(1970). Chem. Abst.74: 2511 u.
- 26.- Díaz, J.L. (1976). Uso de las Plantas Medicinales de México.II.IMEPLAM, A.C.México.
- 27.- Mendieta, R.M., Del Amor, R.S. (1981). Plantas Medicinales del Estado de Yucatán.Ed. CECSA. México.
- 28.- Rogers,Mc. Vaugh: Flora Novo-Gallicana A descriptive account of the vascular plants of western México. Vol. 12, Compositae, University of Michigan Press. pp.8-12.
- 29.- Strasburger, E. et. al. (1985). Tratado de Botánica. Ed. séptima Ed. Marín, España.



- 30.- Rzedowski y Rzedowski (1985 ). Flora Fanerogámica del Valle de México. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto de Ecología. IPN. México,
- 31.- Bailey, W. R. (1986). Diagnostic Microbiology. Séptima ed. St.Louis: Mosby.
- 32.- González de Cosío, M. (1984). Especies Vegetales de Importancia Económica en México. Porrúa, S.A. México.
- 33.- Plantas Medicinales. (1987). Ed. Reader's Digest. México.
- 34.- Bohlmann, F. T., Burkhardt, C. Zdero. (1973). Naturally Occurring Acetylenes. Academic Press, London N.Y.



**artes gráficas a su servicio**

**REP. DE BOLIVIA N° 15 A CENTRO  
MEXICO, 06020 D.F. TEL. 526-04-40**