



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS PUEBLA

POSTGRADO EN ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA
REGIONAL

ETNOBOTÁNICA, FENOLOGÍA Y PERFIL FITOQUÍMICO DE *Bacopa procumbens* (Mill.) Small

ADA MARÍA RÍOS CORTÉS

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PUEBLA, PUEBLA, MÉXICO

2023



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

La presente tesis titulada: “Etnobotánica, fenología y perfil fitoquímico de *Bacopa procumbens* (Mill.) Small” realizada por la estudiante: “Ada María Ríos Cortés” bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS

ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO


DR. PEDRO ANTONIO LÓPEZ

ASESOR


DR. RAMÓN DÍAZ RUÍZ

ASESOR


DR. IGNACIO OCAMPO FLETES

ASESOR


DR. MANASÉS GONZÁLEZ CORTÁZAR

Puebla, Puebla, México, mayo de 2023

ETNOBOTÁNICA, FENOLOGÍA Y PERFIL FITOQUÍMICO DE *Bacopa procumbens*

Ada María Ríos Cortés, D. C.

Colegio de Postgraduados, 2023

RESUMEN

Bacopa procumbens es una planta ocupada en la medicina tradicional mexicana para aliviar enfermedades infecciosas, cicatrización de heridas y como antiséptico. Muchas de estas actividades han sido avaladas científicamente, por lo anterior los objetivos de este trabajo fueron identificar el conocimiento tradicional actual que poseen los habitantes de Huasca de Ocampo, Hidalgo, generar conocimiento en torno fenología, relacionada con su perfil fitoquímico orientado hacia los compuestos de interés medicinal, y su abundancia en las distintas fases de desarrollo de la planta. De esta manera, se pretende contribuir al conocimiento del cultivo de *B. procumbens* y aportar para un buen aprovechamiento de este recurso. Para el estudio se realizaron entrevistas estructuradas a los habitantes de este municipio ocupando un muestro por conveniencia, se hizo un análisis descriptivo de frecuencias y un análisis multivariado de correspondencias múltiples. Para el estudio fenológico se establecieron las metodologías para la germinación de las semillas y propagación vegetativa. Por la uniformidad en cuanto al crecimiento de las plantas y al inicio de vida de estas, se usaron las plantas obtenidas por semillas para realizar el estudio fenológico en donde se monitoreó la fase vegetativa, floración y fructificación, en condiciones de invernadero. En el análisis fitoquímico se realizaron extracciones para obtener los estándares y así cuantificar los metabolitos secundarios de interés, de acuerdo con su etapa fenológica. Se observó que el conocimiento tradicional en Huasca de Ocampo se concentra en las mujeres, el uso tradicional de la especie es para aliviar el dolor de estómago, aliviar heridas, dolor de muelas, dolor de riñón, hinchazón y fiebre. Las semillas tienen latencia, la floración inicia en primavera y culmina a finales de otoño, es necesario estudiar el manejo agronómico para que la planta no pierda la síntesis de las procumgastrodinas.

Palabras clave: medicina tradicional, fenología, cultivo, metabolitos secundarios.

ETHNOBOTANY, PHENOLOGY AND PHYTOCHEMICAL PROFILE

OF *Bacopa procumbens*

Ada María Ríos Cortés, D.C.

Colegio de Postgraduados, 2023

ABSTRACT

Bacopa procumbens (Mill.) is a plant used in traditional Mexican medicine to alleviate infectious diseases, wound healing, and as an antiseptic. Many of these activities have been scientifically confirmed, therefore the objectives of this work were to identify the current traditional knowledge possessed by the inhabitants of Huasca de Ocampo, Hidalgo, to generate knowledge about phenology, related to its phytochemical profile oriented towards the compounds of medicinal interest, and their abundance in the different phases of plant development. In this way, it is intended to contribute to the knowledge of the cultivation of *B. procumbens* and to contribute to a good use of this resource. For the study, structured interviews were carried out with the inhabitants of this municipality, occupying a sampling for convenience, a descriptive analysis of frequencies and a multivariate analysis of multiple correspondences were done. For the phenological study, the methodologies for seed germination and vegetative propagation were established. Due to the uniformity in terms of plant growth and the beginning of their life, the plants obtained by seeds were used to carry out the phenological study where the vegetative phase, flowering and fruiting were monitored, under greenhouse conditions. In the phytochemical analysis, extractions were made to obtain the standards and thus to quantify the secondary metabolites of interest, according to their phenological stage. It was observed that the traditional knowledge in Huasca de Ocampo is concentrated in women, the traditional use of the species is to relieve stomach pain, alleviate wounds, toothache, kidney pain, swelling and fever. The seeds have dormancy, flowering begins in spring and ends at the end of autumn, it is necessary to work on the agronomic management so that the plant does not lose the synthesis of procumgastrodins.

Key words: traditional medicine, phenology, cultivation, analysis of secondary metabolites.

DEDICATORIA

A ti el Alfa y la Omega, el principio y el fin,
Señor, gracias por ayudarme, por tu misericordia y por siempre estar conmigo.

Y

A mis padres:

Fernando Ríos Arizpe

y

María Teresa Cortés Cortés.

Gracias por su amor, oraciones y apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. En especial al Programa de Postgrado en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional, por darme la oportunidad de realizar mis estudios de doctorado; de este Programa me llevo una grata experiencia que me anima a emprender proyectos que involucren no solo ciencia y tecnología, sino los aspectos, sociales, ecológicos y culturales de manera responsable, siempre buscando la retribución a nuestra sociedad y al medio ambiente. Muchas gracias.

Agradezco al CONACyT por el apoyo que me otorgó para la realización de mi doctorado.

Agradezco al Instituto Politécnico Nacional por la ayuda otorgada para la realización de los experimentos y el doctorado.

Al Centro de Investigación Biomédica del Sur-IMSS, por abrirme las puertas desde mis estudios de maestría.

Agradezco al Dr. Pedro Antonio López por su apoyo, dedicación y comprensión, de quien aprendí no solo ciencia, sino el lado humano en la investigación, la ética, profesionalismo y el respeto al campo y sus trabajadores. Muchas gracias por su paciencia, consideración y sobre todo por su amistad.

Al Dr. Ignacio por su sencillez, ética y profesionalismo, su disposición a ayudar, siempre dando opiniones valiosas y objetivas en pro a la mejora de los proyectos de investigación, por el esmero notorio por brindar conocimiento a los alumnos.

Agradezco al Dr. Ramón por su ayuda, consejos, ideas y disposición en darme un tiempo aun con el cargo que tiene, gracias por sus palabras de ánimo, sus enseñanzas y su amistad.

Al Dr. Manasés por su continuo apoyo, por su sencillez, su disposición a enseñar y la alegría que emite al hacer su trabajo.

Agradezco al Dr. Abel por sus atinadas sugerencias para enriquecer este trabajo y por la pasión por la ciencia que contagia al impartir clase.

A la Dra. Ivonne Pérez por sus atinadas sugerencias en este trabajo y su amistad.

Al Dr. Higinio, de quien aprendí mucho en su clase redacción de artículos, muchas gracias doc. por brindarnos su conocimiento.

A todos los profesores del COLPOS de quienes tuve la fortuna de acudir a sus clases durante mi formación, muchas gracias.

Al personal administrativo y posgrado muchas gracias por sus atenciones y trato siempre amable, en especial a Kary, Javi, Roberto y Margarita.

Al Dr. Alejandro Zamilpa, Dra. Lolita, Dra. Pili, Jonatán, Itchel del CIBIS, muchas gracias por su apoyo y amistad.

A los habitantes de Huasca de Ocampo, en especial al biólogo Andrés Muñoz y familia por el apoyo brindado durante las visitas.

A mis amigos del IPN: Minerva, Geno, Oxana, Pkis, Valentín, Pico, Miriam M., Miriam V. Dra. Alma L. y Dra. Diana V. muchas gracias por su apoyo, amistad y consejos.

A mis queridos alumnos: Maleni, Nina, Eli, Karen, Juanito, Sandy, Javi, Brenda, Dani, Brandon y Pedro.

A mis hermanos, sobrinos, tíos y primos gracias por su apoyo, palabras de aliento y su cariño.

A mis amigas Norma Delia, Liz, Gaby, Chío, Martina, Kary, Gabrielle y Nayelita gracias.

A Totó, Tlacoyo y Jerry por su gran cariño.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTOS.....	vi
CONTENIDO.....	viii
LISTA DE CUADROS.....	xii
LISTA DE FIGURAS.....	xiv
LISTA DE SIGLAS.....	xix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	3
2.1 Objetivo general.....	3
2.1.1Objetivos específicos.....	3
2.2 Hipótesis general	4
2.2.1 Hipótesis específicas:	4
III. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
3.1 <i>Bacopa procumbens</i> (Mill) Small.....	5
3.2 Conocimiento tradicional.....	7
3.2.1 Conocimientos tradicionales asociados a los recursos biológicos.....	9
3.2.2 Conocimiento tradicional y propiedad intelectual.....	10
3.3 Fenología vegetal.....	12
3.3.1 Floración	14

3.3.2 Madurez fisiológica de semillas	16
3.4 Medicina tradicional	18
3.4.1 Plantas medicinales en México.....	20
3.4.2 Domesticación de plantas medicinales.....	21
3.4.3 Producción de plantas medicinales en México	25
3.5 Metabolismo secundario	26
3.5.1 Compuestos fenólicos.....	28
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	31
4.1 Estudio del conocimiento tradicional de <i>Bacopa procumbens</i> en Huasca de Ocampo, Hidalgo	31
4.1.1 Localidad	31
4.1.2 Técnica de investigación.....	32
4.1.3 Análisis estadístico	32
4.2 Propagación de plantas	33
4.2.1 Material vegetal.....	33
4.2.2 Reproducción de <i>B. procumbens</i>	33
4.2.2.1 Propagación vegetativa con diferente número de nudos	34
4.2.2.2 Propagación vegetativa con diferentes sustratos y etapa fenológica.....	35
4.2.3 Germinación de semillas.....	36
4.2.3.1 Aclimatación de plantas obtenidas <i>In vitro</i>	37
4.2.3.2 Germinación de semillas con diferente fotoperiodo y temperatura. a) medición de plantas, b) cultivo en solución hidropónica, c) cubierta para mantener humedad.....	38
4.3 Análisis en semillas de <i>B. procumbens</i>	38
4.3.1 Prueba de tetrazolio.....	38
4.3.2. Escarificación mecánica (lijado).....	39

4.3.3 Escarificación mecánica (incisión)	39
4.4 Fenología	39
4.4.1 Análisis de la antesis de <i>B. procumbens</i>	40
4.4.2 Madurez fisiológica del fruto de <i>B. procumbens</i>	41
4.5 Fitoquímica	41
4.5.1 Colecta de material vegetal	41
4.5.2 Extracción	42
4.5.3 Fraccionamiento y purificación de compuestos para la obtención de estándares	42
4.5.4 Cromatografía por HPLC	44
4.5.6 Extracción y cuantificación de compuestos en diferente etapa fenológica ..	46
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
5.1 Estudio del conocimiento tradicional de <i>Bacopa procumbens</i> en Huasca de Ocampo, Hidalgo	48
5.1.1 Características de los entrevistados	48
5.1.2 Características de las especies	50
5.1.3 Uso tradicional	51
5.1.4 Análisis de correspondencias múltiple	55
5.2 Propagación de plantas	57
5.2.1 Material vegetal e identificación taxonómica de la especie.....	57
5.2.2 Reproducción de <i>B. procumbens</i>	61
5.2.2.1 Propagación vegetativa con diferente número de nudos	61
5.2.2.2 Propagación vegetativa con diferentes sustratos	61
5.2.3 Germinación de semillas.....	66
5.2.4 Aclimatación	67

5.2.5 Germinación de semillas con diferente fotoperiodo y temperatura	68
5.3 Análisis en semillas de <i>B. procumbens</i>	68
5.3.1 Prueba de tetrazolio.....	68
5.3.1.1 Escarificación mecánica (lijado).....	69
5.3.1.2 Escarificación mecánica (incisión)	70
5.4 Fenología	71
5.4.1 Antesis	73
5.4.2 Madurez fisiológica del fruto de <i>B. procumbens</i>	76
5.5 Fitoquímica	78
5.5.1 Colecta de material vegetal	78
5.5.2 Extracción	78
5.5.3 Fraccionamiento y purificación de compuestos para obtención.....	81
de estándares	81
5.5.4 Cromatografía por HPLC de fracciones	83
5.5.5 Extracción y cuantificación de compuestos desde órganos de <i>B.</i> <i>procumbens</i>	83
5.5.6 Análisis UPLC – masas	87
VI. CONCLUSIONES.....	98
VII. LITERATURA CITADA	100
ANEXO I	114
ANEXO II	115
ANEXO III	117

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Descripción morfológica básica de <i>Bacopa procumbens</i>	5
Cuadro 2. Estadios de domesticación según niveles de cambio que sufren las poblaciones de plantas por manipulación humana y domesticación	22
Cuadro 3. Clasificación de compuestos fenólicos en plantas	29
Cuadro 4. Tratamientos para la propagación vegetativa de la planta.....	36
Cuadro 5. Estadios fenológicos considerados (Tomado de Denny et al., 2014)	41
Cuadro 6. Fracciones obtenidas de la cromatografía de columna fase normal	44
Cuadro 7. Fracciones obtenidas por cromatografía de columna fase reversa	45
Cuadro 8. Sistema de gradiente de equipo HPLC.....	46
Cuadro 9. Sistema de gradiente del equipo UPLC,.....	48
Cuadro 10. Perfil de las personas entrevistadas en Huasca de Ocampo, Hidalgo.....	50
Cuadro 11. Comparación de medias en longitud (cm) de parte aérea y raíz en la prueba de propagación de esquejes, en base al efecto de tratamientos.....	64
Cuadro 12. Comparación de medias en longitud (cm) de parte aérea y raíz en la prueba de propagación de esquejes, en base al efecto de cada factor.....	66
Cuadro 13. Fenología de <i>Bacopa procumbens</i> en Yucatán.....	76
Cuadro 14. Fenología de <i>Bacopa procumbens</i> en Nicaragua (Alemán et al., 2012).....	77
Cuadro 15. Fenología de <i>Bacopa procumbens</i> en Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala bajo condiciones de invernadero.....	77
Cuadro 16. Fracciones obtenidas en cromatografía de columna fase normal.....	83

Cuadro 17. Compuestos identificados en órganos de la planta <i>Bacopa procumbens</i> ...92
Cuadro 18.- Compuestos de <i>Bacopa procumbens</i> en cada etapa fenológica.....98

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Relaciones de conocimientos tradicionales (Rosas-Bustos, 2020)	8
Figura 2. <i>Barringtonia acutangula</i>	12
Figura 3. Rutas que intervienen en la floración de las plantas. Las líneas que terminan en flecha tienen efecto promotor, las líneas que terminan en barra tienen efecto inhibitorio (Tomado de: Blázquez et al., 2011). CO= proteína CONSTANS; FT y SOC1= genes dianas; VRN= gen silenciador; FLC= gen represor de la floración; FCA= gen inhibitorio; FT= gen integrador; AP1 y LFY= genes para el desarrollo floral; FLY= gen integrador de factores endógenos de la planta (Tomado de; Blázquez, Piñeiro y Valverde, 2011)	15
Figura 4. Germinación de una semilla en función de su madurez fisiológica y morfológica (Tomado de: De la Cuadra, 1993)	17
Figura 5. Rutas de biosíntesis de compuestos fenólicos (Taiz y Zeiger, 2006)	30
Figura 6. Ubicación de Huasca de Ocampo, Hidalgo (negro).....	32
Figura 7. Propagación por esquejes de <i>B. procumbens</i> a) Esquejes con dos nudos b) Esquejes con cinco nudos.....	35
Figura 8. Esquejes marcados puestos a enraizar en sustrato.....	36
Figura 9. Tratamientos para evaluar la propagación vegetativa con diferente número de nudos en etapas fenológicas y sustratos diferentes.....	37
Figura 10. Proceso de aclimatación de plantas <i>Bacopa procumbens</i> en sistema hidropónico. a) medición de plantas, b) cultivo en solución hidropónica, c) cubierta para mantener humedad.....	39
Figura 11. Diferentes etapas fenológicas de frutos de <i>Bacopa procumbens</i> hasta la madurez fisiológica.....	42
Figura 12. Planta de <i>Bacopa procumbens</i> en periodo de floración en invernadero	43

Figura 13. Usos medicinales de <i>Bacopa procumbens</i> en Huasca de Ocampo Hidalgo.....	53
Figura 14. Análisis de correspondencias en base a las respuestas de los informantes del municipio de Huasca de Ocampo, Hidalgo.....	58
Figura 15. a) a) Plantas colectadas en presa El Tejocotal a 2,149 msnm con Coordenadas 20°07'45" N 98°07'51"W. b) Plantas colectadas en San Miguel Regla a 2,086 msnm con coordenadas: 20°12'55" N 98°33'22"W.....	59
Figura 16. Modificaciones en las características fenotípicas de <i>Bacopa procumbens</i> a) población de San Miguel Regla, b) población de El Tejocotal.....	60
Figura 17. Flor y fruto de poblaciones de <i>Bacopa procumbens</i> mantenidas en invernadero: a) Plantas en floración de la población de San Miguel Regla, b) Frutos de la población de El Tejocotal.....	61
Figura 18. Crecimiento de primeras raíces adventicias	63
Figura 19. Comparación del crecimiento con los ocho tratamientos.....	63
Figura 20. a) Plántulas germinadas <i>in vitro</i> , b) plántulas germinadas <i>in vivo</i>	68
Figura 21. a) Plantas en proceso de aclimatación en cuarto de cultivo; b) plantas recién pasadas a sustrato en invernadero.....	69
Figura 22. a) Semilla de <i>Bacopa procumbens</i> sin teñir con cloruro de tetrazolio, observada a 100x. b) Semilla con testa teñida.....	70
Figura 23. Semilla de <i>Bacopa procumbens</i> con incisión.....	71
Figura 24. Primeras hojas en plántulas de <i>Bacopa procumbens</i>	72
Figura 25. Cultivo <i>in vitro</i> de <i>Bacopa procumbens</i> se puede observar la germinación epígea y las raíces.....	72

Figura 26. Estadios de <i>Bacopa procumbens</i> con plantas obtenidas desde semillas germinadas <i>in vitro</i>	73
Figura 27. Antesis de <i>Bacopa procumbens</i> en invernadero.....	74
Figura 28. Registro de temperatura, humedad e intensidad lumínica durante el periodo de floración.....	75
Figura 29. Proceso de madurez fisiológica de frutos de <i>Bacopa procumbens</i> . Fuente: elaboración propia.....	78
Figura 30. Cromatogramas de estándares de a) Arbutina y b) mezcla de procumgastrodinas.....	80
Figura 31. Cromatograma de planta silvestre y planta cultivada en invernadero, línea azul: invernadero, línea negra: silvestre.....	80
Figura 32. Cromatografía de placa fina con revelador Kowmarosky. Carril 1 referencia, carril 2 amirina, carril 3 gastrodina carriles restantes con fracciones de la 22 a la 30.....	82
Figura 33.- Cromatografía en capa fina en gel sílice 60 fase reversa visto en luz UV λ = 254 nm, ocupando un sistema H ₂ O: ACN, 5:5. G: Gastrodina, bloques 1, 2, 3 y 4.....	83
Figura 34. Cromatograma obtenido de la fracción 11C2, mediante espectro de absorción en el UV-Visible.....	84
Figura 35. Cromatograma obtenido de la fracción 14C2, mediante espectro de absorción en el UV-visible	85
Figura 36. Cromatograma obtenido de la extracción de la hoja de <i>Bacopa procumbens</i> obtenida con espectro de absorción en el UV-visible 260nm.....	86

Figura 37. Cromatograma obtenido de la extracción del tallo de <i>Bacopa procumbens</i> obtenida con espectro de absorción en el UV-visible 260nm.....	87
Figura 38. Cromatograma obtenido de la extracción de flor de <i>Bacopa procumbens</i> obtenida con espectro de absorción en el UV-visible 260nm.....	88
Figura 39. Cromatograma obtenido de la extracción de la raíz de <i>Bacopa procumbens</i> obtenida con espectro de absorción en el UV-visible 260nm.....	89
Figura 40. Espectro de masas de compuestos extraídos de hojas de la población de San Miguel Regla (m/z)	90
Figura 41. Espectro de masas de compuestos extraídos de tallos de la población de San Miguel Regla (m/z)	91
Figura 42. Espectro de masas de compuestos extraídos de flores de la población de San Miguel Regla (m/z)	91
Figura 43. Espectro de masas (amplificado) de compuestos extraídos de raíces de la población de San Miguel Regla (m/z)	92
Figura 44. Espectro de masas de compuestos extraídos de la fase vegetativa de la población de San Miguel Regla (m/z)	94
Figura 45. Espectrograma de masas de los compuestos extraídos de la fase vegetativa de la población de El Tejocotal.....	94
Figura 46. Espectro de masas de compuestos extraídos de la fase floración de la población de San Miguel Regla.....	95
Figura 47. Espectro de masas de compuestos extraídos de la fase floración de la población de El Tejocotal.....	96

Figura 48. Espectro de masas de compuestos extraídos de la fase reproducción de la población de San Miguel Regla97

Figura 49. Espectro de masas de compuestos extraídos de la fase reproducción de la población de El Tejocotal.....97

LISTA DE SIGLAS

Siglas o abreviaturas	Definición
mm	Milímetros
cm	Centímetros
m	Metro
mL	Mililitros
L	Litros
mg	Miligramo
μm	Micra
msnm	Metros sobre el nivel del mar
nm	Nanómetros
UV	Ultravioleta
λ	Longitud de onda
CoA	Coenzima A
km ²	Kilómetros cuadrados
LN	Latitud norte
LO	Longitud oeste
N	Norte
O	Este
W	Oeste
°C	Grados centígrados

h	Horas
RP-18	Fase reversa C-18
Kg ha ⁻¹	Kilogramo sobre hectárea
RPM	Revoluciones por minuto
Rf	Factor de retención
HPLC	High performance liquid chromatography
UPLC	Ultra performance liquid chromatography

I. INTRODUCCIÓN

El uso de las plantas medicinales en México representa un valioso elemento cultural que nos identifica como nación y que ha sido resguardado durante siglos por los médicos tradicionales y por los habitantes de los pueblos indígenas. La medicina tradicional ha recopilado el conocimiento sobre estas plantas y ha logrado transmitirlo de generación en generación (García de Alba, 2012). En los pueblos, los conocimientos tradicionales representan la base de su identidad pues determinan el manejo y aprovechamiento de su desarrollo económico, cultural, político y social. Para las industrias o centros de investigación, los conocimientos tradicionales pueden ser la entrada para identificar recursos susceptibles de utilización y comercialización. Como ejemplo de esto se encuentra *Bacopa procumbens* (Mill.) Small, comúnmente llamada por los pobladores como metatera, oreja de ratón, hierba esperanza o golondrina, planta usada en la medicina tradicional mexicana contra la malaria, desórdenes biliares, anemia, fatiga, manchas, erupciones de la piel, además de tener actividad antiséptica y de cicatrización, actividades que se han corroborado científicamente (González, 2019).

Hidalgo (2010), realizó un análisis fitoquímico donde observó que la fracción acuosa del extracto de *B. procumbens* estimula la adhesión de fibronectina en dosis bajas y tiempos cortos, por lo que promueve la cicatrización de heridas; Martínez (2017) desarrolló un fitofármaco nanofuncionalizado para el tratamiento tópico de heridas el cual aceleró el proceso de cicatrización en 48 h, regulando la expresión de los genes TGF β 1, α -SMA y colágeno tipo 1 y la activación del receptor PAR1 responsable de inducir la proliferación de fibroblastos. Por su parte González-Cortázar et al. (2019) aislaron siete compuestos activos, tres de ellos se derivan de la gastrodina nombrados como Procumgastrodina A, B y C, los cuatro restantes fueron arbutina, dos saponinas y una cumarina; a éstas se les evaluó el efecto antimicrobiano con concentración mínima inhibitoria, obteniendo efecto en contra de bacterias y las gastrodinas cys y trans presentaron efecto en contra de la levadura *Candida albicans*. Martínez-Cuatzil et al. (2022) identificaron los diecinueve compuestos responsables de la cicatrización.

Debido a esto, se considera que *B. procumbens* puede tener demanda en el mercado de los fitomedicamentos; sin embargo, para los estudios anteriores esta especie ha sido

colectada en su ámbito natural, desconociendo muchos aspectos relacionados con su cultivo para una propagación comercial de la especie y esto limita la disponibilidad de este recurso fitogenético y pone en riesgo a las poblaciones naturales debido a la recolección que puede llevar a la sobre explotación del recurso. Por lo que el objetivo de este trabajo fue generar mayor conocimiento sobre esta especie, para ello es necesario atender aspectos del conocimiento tradicional de la región en relación con la especie, analizar su comportamiento en la síntesis de metabolitos secundarios en condiciones controladas de cultivo, abordando los aspectos desde la germinación, la relación de la fenología con la cantidad y presencia de metabolitos secundarios producidos, los cuales son responsables de las propiedades medicinales, con la finalidad de contribuir a un mejor manejo de la especie que actualmente es aprovechada únicamente mediante la recolección.

II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1 Objetivo general

Identificar el conocimiento tradicional sobre el uso y propiedades de la planta medicinal *B. procumbens* en la población de Huasca de Ocampo, Hidalgo y determinar los estadios fenológicos de la especie y su relación con el contenido de metabolitos secundarios de interés para la medicina tradicional.

2.1.1Objetivos específicos

1. Identificar el conocimiento sobre el uso tradicional y propiedades medicinales de *B. procumbens* en Huasca de Ocampo, Hidalgo.
2. Determinar las condiciones para la germinación de semillas y los estadios fenológicos de *B. procumbens* en cultivo bajo cobertura.
3. Analizar los metabolitos secundarios que le confieren las propiedades medicinales a dos poblaciones vegetales de *B. procumbens* colectadas en el estado Hidalgo y su relación con las etapas fenológicas de la planta.

2.2 Hipótesis general

En las regiones donde se desarrolla *B. procumbens* existe conocimiento tradicional sobre sus usos y las propiedades cicatrizantes de esta especie y el contenido de los metabolitos secundarios responsables de esta acción depende de la etapa fenológica de la planta.

2.2.1 Hipótesis específicas:

1. Las familias de las comunidades rurales de Huasca de Ocampo, Hidalgo donde se desarrolla *B. procumbens*, tienen conocimiento sobre el uso y las propiedades medicinales de esta especie y su manejo.
2. La concentración de los metabolitos secundarios responsables de la acción cicatrizante de *B. procumbens* están relacionados con los estadios fenológicos de la planta.
3. En condiciones de cultivo, las diferentes poblaciones de *B. procumbens* provenientes de Hidalgo, presentan diferencias en la concentración de los metabolitos secundarios.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 *Bacopa procumbens* (Mill) Small

También conocida como *Mercadonia procumbens*. Esta planta rastrera se localiza en el continente americano, se ha ubicado desde los 700 a los 2850 msnm, desde el sur de Florida hasta Argentina (Standley y Williams, 1973). En Estados Unidos y Argentina se ha reportado como planta ornamental (CONABIO, 2022); sin embargo, es únicamente en México donde se registra su uso en la medicina tradicional. En el estado de Hidalgo se le conoce como metatera; siendo este el nombre más comúnmente utilizado, en Veracruz se le conoce como “chotecte” y “quina”, en Tabasco como “escabiosa” y “flución”, en San Luis Potosí como Huitzil a K’iicha, Tsakam wichab (tenek) y en Nayarit como quitamanchas. También es conocida como Violetilla, Esperanza, Hierba te, Trencilla y Hoja de quebranto; además, en maya es nombrada Xnocac, Xcanlum, Xakanlum, Xaaxkoch y X-mok’aak (Heike, 2012). Su descripción morfológica se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Descripción morfológica básica de *Bacopa procumbens*

Órgano	Morfología
Tallo	<ul style="list-style-type: none">• Procumbente o suberecto• Ramificado desde la base• De 4 a 30 cm de largo
Hojas	<ul style="list-style-type: none">• Opuestas• Sésiles, o brevemente pecioladas• Ovadas a obovadas• Ápice agudo o redondeado• Márgenes aserrados o aserrulados• De 5 a 15 mm de largo

Órgano	Morfología
Corola	<ul style="list-style-type: none"> • Bilabiada • Lóbulos amarillos • Venas de color oscuro • De 6 a 23 mm de largo
Frutos y semillas	<ul style="list-style-type: none"> • El fruto es una cápsula oblonga de 1 cm de largo • Semillas pequeñas y numerosas

En la Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana están reportados diferentes usos terapéuticos de esta especie: En Tabasco, se usa contra la fatiga del cuerpo, en Veracruz como antimalárico, contra la anemia, como ayuda en desórdenes biliares y la calentura; en Guanajuato como aplicación oftálmica; en Nayarit: contra las manchas de la piel y en otros lugares como antiséptico, tratamiento de erupciones y sabañones y como baño para la cuarentena después del parto (González-Cortázar, 2019).

Algunos de estos usos medicinales se han comprobado científicamente. Hidalgo (2010) evaluó el efecto cicatrizante del extracto acuétanólico de esta especie, avalando esta propiedad en las fracciones hexánica, clorofórmica y acuosa en procesos involucrados en la reparación de heridas en la línea celular 3T3 de fibroblastos de ratón, demostrando la capacidad de *B. procumbens* para incrementar la migración, adhesión y proliferación de fibroblastos. Molina-Mendoza (2013) realizó una recopilación de los usos terapéuticos de las plantas de la comunidad de San Miguel Regla en el estado de Hidalgo, entrevistando a un personaje clave de la región y encontrando principal interés en el uso de *B. procumbens* como cicatrizante. Posteriormente, Martínez (2017) realizó un gel nanoconjugado de oro, lo que potencializó el efecto de cicatrización de heridas hasta 100 veces más.

González-Cortázar et al. (2019) identificaron compuestos derivados de gastrodinas con actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *B. procumbens*, así como, las nanopartículas de oro sintetizadas a partir de dicho extracto, demostrando el potencial antimicrobiano de *B. procumbens* frente a bacterias Gram (-); específicamente, especies del género *Staphylococcus*. Martínez-Cuatzitl et al. (2022) identificaron los compuestos fenólicos responsables de la proliferación, migración, adhesión y diferenciación de los estudios hechos sobre fibroblastos NIH/3T3, logrando regular la proliferación, adhesión celular, mejorando la migración y reduciendo el área dañada, además de modular la diferenciación.

3.2 Conocimiento tradicional

El conocimiento tradicional *lato sensu*, es la sabiduría, experiencia, aptitud y práctica que ha sido generado, resguardado, aplicado y utilizado por comunidades y pueblos tradicionales, es transmitido de generación en generación y a menudo forman parte cultural o espiritual que caracterizan a las comunidades ya que constituyen el núcleo de la identidad, la herencia cultural y los medios de subsistencia de los pueblos indígenas. Estos conocimientos por lo regular son de propiedad colectiva y pueden transmitirse de forma oral o con expresiones artísticas. Lo que destaca a estos es que su aplicación siempre busca la administración respetuosa de tierras, territorios y recursos con la finalidad de no agotarlos (Valladares y Olivé, 2015; WIPO, 2022).

De acuerdo con Valladares y Olivé (2015) y CONABIO-GIZ (2017), por lo regular, el conocimiento tradicional posee diez características:

1. Común: Es un patrimonio común de la humanidad.
2. Origen histórico: Se ha desarrollado desde hace miles de años.
3. Comunitario: Derecho colectivo de la comunidad.
4. Dinámico: Se adapta a diversas situaciones y circunstancias.
5. Territorial: Se vincula con el territorio en sentido amplio.
6. Práctico: Se utiliza para resolver necesidades cotidianas de la comunidad.

7. Vital: Es esencial para el desarrollo de la vida.

8. Diverso: Es amplio y se expresa de distintas formas.

9. Cultural: Base de la identidad y su cultura.

10. Carácter oral y lingüístico: Relacionado con las lenguas como medio de preservación y transmisión intergeneracional.

Existe una interacción dinámica entre las actividades que ocurren en un territorio y que construyen los conocimientos tradicionales de cada cultura, diversos saberes tradicionales que están relacionados entre sí y que el conjunto de todos estos hace característica a cada cultura o pueblo (Figura 1).

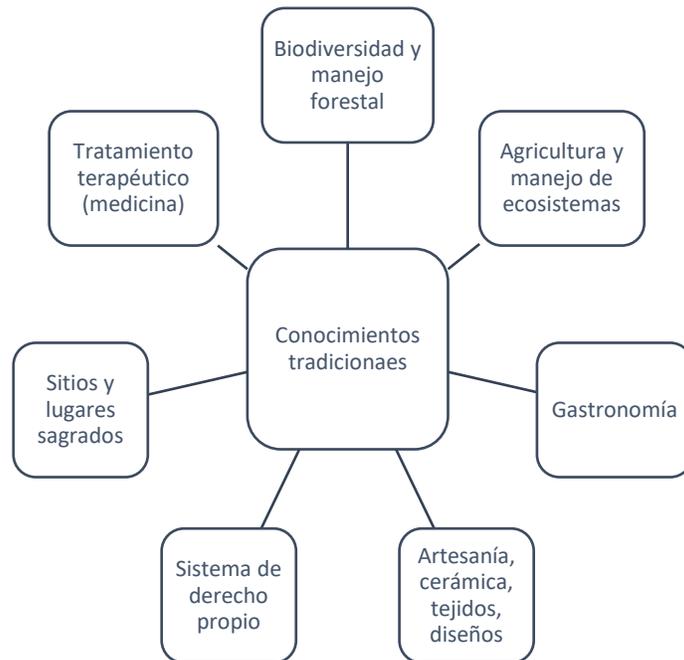


Figura 1. Relaciones de conocimientos tradicionales (Rosas-Bustos, 2020).

La continua práctica de muchos de estos conocimientos los valida, por lo que no debe menospreciarse por la ciencia, ya que, en este caso, el conocimiento no se limita solo a teoría, sino a la práctica y en individuos reales que buscan solución a ciertas necesidades. Sin embargo, este conocimiento dentro de las comunidades se ha analizado desde fuera, ocupando parámetros científicos diferentes, separando el

contexto cultural y de cosmovisión de donde surgen, lo que muchas veces al no comprender esto, los demeritan (Valladares y Olivé, 2015). Además, el conocimiento tradicional está bajo amenaza, está disminuyendo rápidamente en todo el mundo como resultado de fuerzas de represión, tergiversación, apropiación, asimilación, desconexión y destrucción, incluyendo cambios en el estilo de vida, educación y sistemas de creencias, globalización económica y cultural, urbanización, marginación, pérdida de derechos sobre la tierra y pobreza (Mistry et al., 2021)

No obstante, en los últimos años se ha prestado interés en los conocimientos tradicionales, ya que, según ecologistas y conservacionistas, son vitales para entender la conservación de la biodiversidad (Molnar y Babai, 2021). Además de que décadas atrás también han sido una guía para descubrir plantas con propiedades medicinales, ya que, al tener el conocimiento de las poblaciones, se ha aprovechado el registro de patentes sin retribuir o contemplar a esas culturas que han generado y preservado ese conocimiento.

3.2.1 Conocimientos tradicionales asociados a los recursos biológicos

De acuerdo con el Convenio sobre la Diversidad Biológica, los recursos biológicos son recursos genéticos, organismos o parte de ellos o cualquier componente biótico de los ecosistemas de valor o utilidad real o potencial para la humanidad (CBD-ONU, 2022). Para las comunidades indígenas o locales, son recursos de donde obtienen alimentos, medicinas, materiales para la construcción, necesidades espirituales o culturales para realizar ceremonias o ritos y estos son en base a su relación con el territorio.

Las comunidades han generado a través de generaciones saberes y prácticas relacionados a los recursos biológicos que forman parte de la identidad de la comunidad. Estos conocimientos representan la base de su identidad pues determinan el manejo y aprovechamiento de su desarrollo económico, cultural, político y social. Para las industrias o centros de investigación, los conocimientos tradicionales pueden ser la entrada para identificar recursos susceptibles de utilización y comercialización de productos (CONABIO-GIZ, 2017).

Un propósito importante es que las comunidades locales obtengan beneficios de forma justa e igual y también incentivar a la conservación y desarrollo comunitario. Es por esto que la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (OMPI), toma acciones en la protección del conocimiento tradicional, expresiones culturales, tradiciones y folcklore, con el fin de generar un sistema especial de protección que integre las características del conocimiento tradicional (CONABIO-GIZ, 2017).

3.2.2 Conocimiento tradicional y propiedad intelectual

La propiedad intelectual son los derechos legales resultantes de la actividad intelectual en los campos industriales, científicos, literarios y artísticos. Protege las creaciones del intelecto, como el secreto comercial, las obras literarias y artísticas, las invenciones, los diseños y los símbolos, y los nombres e imágenes, entre otros, que son usados para la comercialización. Estas leyes impiden a terceros el ocupar las invenciones y comercializar sin autorización de los autores (WIPO, 2022).

El conocimiento tradicional es la fuente de muchos productos de los que toda la humanidad se ha beneficiado, lamentablemente las comunidades rara vez han sido reconocidas y beneficiadas. Los derechos de propiedad intelectual pueden proteger diferentes creaciones intelectuales; sin embargo; no protegen directamente los conocimientos tradicionales y las expresiones culturales, sino que son útiles para proteger los productos y servicios que están relacionado con los conocimientos tradicionales y las expresiones artísticas de su pueblo o comunidad. Es por ello que la OMPI recomienda que cada país en sus normativas nacionales proteja estos conocimientos (WIPO, 2022).

México se encuentra en una situación especial ya que forma parte del listado de los diecisiete países megadiversos ocupando el quinto lugar, teniendo 71 pueblos indígenas contando estos con un acervo de conocimientos y expresiones artísticas. Por lo que es importante que el gobierno voltee a ver esta riqueza y la proteja. Sin embargo, en 2020 se publicó la Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial la cual abrogó la Ley de Propiedad Industrial, pero no hubo modificaciones para la protección del conocimiento tradicional (SIC, 2022).

Si bien la definición de la propiedad intelectual que tiene el OMPI excluye los conocimientos tradicionales y quizás su sistema no es apropiado para proteger estos conocimientos, algunos pueblos indígenas y comunidades locales han recurrido a éste para protegerlos, basándose en el artículo 31 de la Declaración de las Naciones Unidas (2007) sobre los derechos de los pueblos indígenas, que menciona lo siguiente:

“1. Los pueblos indígenas tienen derecho a mantener, controlar, proteger y desarrollar su patrimonio cultural, sus conocimientos tradicionales, sus expresiones culturales tradicionales y las manifestaciones de sus ciencias, tecnologías y culturas, comprendidos los recursos humanos y genéticos, las semillas, las medicinas, el conocimiento de las propiedades de la fauna y la flora, las tradiciones orales, las literaturas, los diseños, los deportes y juegos tradicionales, y las artes visuales e interpretativas. También tienen derecho a mantener, controlar, proteger y desarrollar su propiedad intelectual de dicho patrimonio cultural, sus conocimientos tradicionales y sus expresiones culturales tradicionales” (p. 10).

“2. Juntamente con los pueblos indígenas, los Estados adoptarán medidas eficaces para reconocer y proteger el ejercicio de estos derechos” (p. 11).

Si bien el OMPI no es claro en la forma de proteger los conocimientos tradicionales y las expresiones artísticas, ha generado guías para que con sus formas de protección los pueblos los salvaguarden ya sea como: derechos de autor, patente, diseño industrial, indicaciones geográficas, secreto comercial, marca, protección contra la competencia desleal. Un ejemplo se dio en una comunidad de Australia.

“La comunidad aborígen de los Jarlmadangah Burru habita en la región de Kimberley (Australia Noroccidental) y conoce bien las propiedades medicinales de la marjala (nombre científico: *Barringtonia acutangula*), planta que se emplea para aliviar el dolor (Figura 2). Esa planta es nombrada en el mito de la creación del Río Fitzroy. John Watson es un anciano de la comunidad Jarlmadangah Burru y cazador de cocodrilos y, en una oportunidad, uno de esos animales le arrancó un dedo. Para aliviar el dolor, mascó un trozo de corteza de marjala y lo aplicó en la herida; el dolor cesó y así pudo acudir al

hospital. La comunidad local se dio cuenta de que podrían sacar un beneficio económico de esa planta.



Figura 2. *Barringtonia acutangula*

Entonces, la comunidad se puso a estudiar cómo explotar comercialmente la marjala y firmó un convenio con la Universidad de Griffith. En 2004 la Universidad y la Sociedad Aborigen Jarlmadangah Burru presentaron en Australia una solicitud de patente para una invención denominada “Compuestos analgésicos novedosos, extractos de estos y métodos de preparación”. Según se indica en la solicitud de patente, la invención consiste en unos compuestos con propiedades analgésicas y en los extractos que los contienen. Dichos compuestos se obtienen de plantas del género *Barringtonia*. La patente de invención fue concedida a la Universidad de Griffith y a la Sociedad Aborigen Jarlmadangah Burru” (p. 36).

Como este existen diferentes ejemplos de cómo algunos pueblos han logrado proteger productos derivados de su conocimiento tradicional, bajo las diferentes figuras de protección que otorga el OMPI (OMPI, 2017).

3.3 Fenología vegetal

La fenología se deriva del griego *phaino* que significa mostrar o aparecer, es el estudio de las etapas recurrentes del ciclo de vida de plantas y animales, especialmente su

tiempo y relaciones con el tiempo y clima. Se ha usado a lo largo de la historia humana, seguramente poco tiempo después de que surgió la agricultura, las personas empezaron a relacionar el desarrollo de las plantas y los cambios en el clima (Schwartz, 2013). Se considera una ciencia integradora que ha cobrado mayor interés debido al cambio climático ya que esta ciencia, monitorea, analiza y predice eventos biológicos recurrentes relacionados con el clima, como la formación de hojas, floración y fructificación de poblaciones de plantas, de igual forma se está ocupando para usar modelos predictivos del cambio climático (Cerdeira et al., 2016).

La fenología vegetal hace referencia a la manera en que la fisiología de la planta opera a través del tiempo. En condiciones adecuadas, el crecimiento y desarrollo de estas es continuo en el tiempo, por lo que es posible discernir una serie de fases o etapas, muchas veces en respuesta a las condiciones climáticas en que las mismas se desarrollan (Fuentes et al., 2000). Una fase fenológica es el periodo en donde aparecen o desaparecen órganos de las plantas o puede definirse como el tiempo de una manifestación biológica. Una etapa fenológica es el intervalo de tiempo transcurrido entre dos fases (Díaz, 2020)

El registro fenológico de una especie durante un periodo de tiempo más o menos considerable permite conocer las fechas probables en que se producirán las fases de crecimiento y desarrollo, así como las fechas límites (tempranas y tardías) y la frecuencia de estas; es útil distinguir dos categorías para las fenofases del ciclo de vida de las plantas: vegetativas y reproductivas. Las primeras incluyen básicamente la producción de hojas nuevas y la caída de hojas, las fenofases reproductivas son la floración y la fructificación (Díaz, 2020).

Al analizar plantas medicinales es importante considerar este tipo de estudios para conocer la relación existente entre los ciclos de vida de las plantas y el contenido de metabolitos secundarios presentes en las mismas, así como la necesidad de conocer en qué fechas pueden colectarse los diferentes órganos de cada especie, y en particular, las semillas (Fuentes et al., 2000). Es importante contar con esta información para un mejor aprovechamiento de la planta y también este tipo de estudios son muy importantes para el análisis y manejo de sistemas ecológicos. También pueden ser útiles para

desarrollar programas de manejo, recuperación y para explicar la adaptación de las especies al ambiente (Fresnillo-Fedorenko et al., 1996).

3.3.1 Floración

La floración también llamada antesis, es una etapa fenológica que determina el final de la fase vegetativa y el inicio de la fase reproductiva en el ciclo de vida de las plantas, es decisiva en la reproducción (Díaz, 2020). La floración involucra el crecimiento y separación de los sépalos y pétalos de las flores que deja expuestos a los estigmas y estambres. Puede presentarse en masa con individuos produciendo un gran número de flores en un periodo de tiempo corto o puede ser presentada de forma gradual y constante, con individuos presentando flores en forma continua y prolongada (Rivera-Huntiel y Acevedo-Orellana, 2017).

Tuvieron que pasar varias décadas para lograr dilucidar como sucede la floración, si bien ayudaron las nuevas técnicas genéticas y moleculares, los estudios clásicos de fisiología ayudaron a esclarecerla (Amasino, 2010). La floración está controlada por señales ambientales como longitud de onda y temperatura y por factores endógenos como el estado nutricional de la planta y fitohormonas. Cada uno de estos factores activa canales de señalización donde participan genes clave y se han dilucidado tres rutas que son responsables para que esta etapa ocurra (Figura 3). A continuación, se reproduce la explicación de la figura mencionada, según plantean Blázquez, Piñeiro y Valverde (2011).

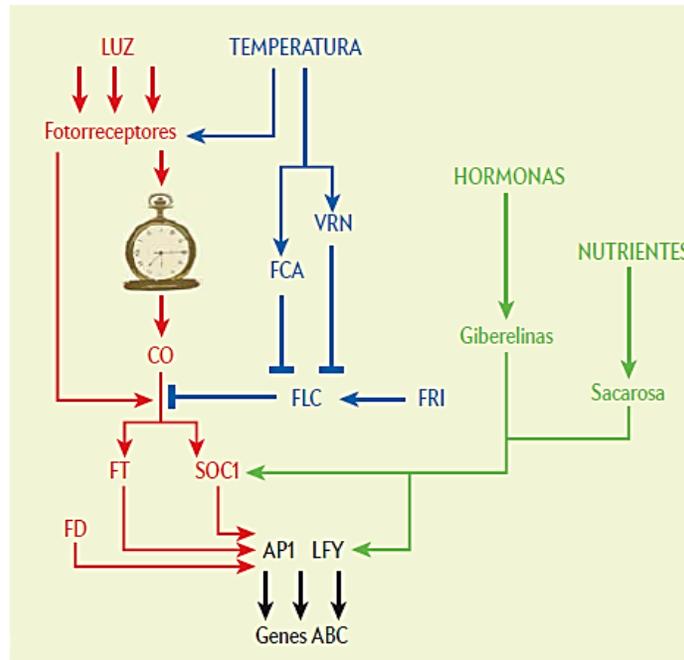


Figura 3. Rutas que intervienen en la floración de las plantas. Las líneas que terminan en flecha tienen efecto promotor, las líneas que terminan en barra tienen efecto inhibitorio (Tomado de: Blázquez et al., 2011). CO= proteína Constans; FT y SOC1= genes dianas; VRN= gen silenciador; FLC= gen represor de la floración; FCA= gen inhibidor; FT= gen integrador; AP1 y LFY= genes para el desarrollo floral; LFY= gen integrador de factores endógenos de la planta (Tomado de; Blázquez, Piñeiro y Valverde, 2011).

La ruta marcada con el color rojo es la ruta dependiente del fotoperíodo, las plantas ocupan un mecanismo en donde participan los fotorreceptores y el reloj circadiano; participando la proteína CONSTANS (CO) para que se activen sus genes dianas *FT* y *SOC1*, cuando los días se alargan. La longitud del día tiene un papel fundamental en la floración, plantas de día corto florecen cuando la longitud de la noche excede el promedio crítico, es decir, la duración de la noche es mayor y el día es relativamente corto. Las plantas de día largo florecen cuando la luz del día es superior a cierto umbral (Garner y Allard, 1920). También existen plantas de día neutro, es decir que su floración no está influenciada por el fotoperíodo.

La ruta de color azul corresponde a la temperatura, la exposición a bajas temperaturas (periodo de invierno), es necesaria para que los genes *VRN* silencien al gen *FLC*, el cual

es un represor de la floración, impidiendo que se active el gen *FT*. El aumento paulatino de la temperatura es percibido como una señal para que FCA inhiba FLC y se facilite así la activación de *FT* por parte de CO. *FT* se comporta como un integrador que se activa únicamente cuando las condiciones de luz y temperatura son propicias, consiguiendo que los genes APETALA 1 (*AP1*) y LEAFY (*LFY*) se expresen y se inicie el desarrollo floral. Este fenómeno se puede observar con las plantas de climas templados, las cuales tienen la capacidad de percibir las bajas temperaturas, por lo que florecen cuando ha pasado la estación invernal, este fenómeno en donde las plantas inician o aceleran su floración tras una exposición prolongada a bajas temperaturas se conoce como vernalización (Blázquez et al., 2011).

La ruta marcada con color verde corresponde a los factores endógenos en donde participan las fitohormonas y los nutrientes. En este caso el gen LEAFY, actúa como integrador de factores endógenos, como los que determinan el estado nutricional (como el caso de la sacarosa) y otros factores endógenos de la planta (mediados por el contenido de giberelinas).

3.3.2 Madurez fisiológica de semillas

Existe un momento durante el ciclo de vida de todas las plantas donde el equilibrio de los procesos fisiológicos cambia de crecimiento a la reproducción. En los órganos femeninos y masculinos se forman las células sexuales o haploides, la unión del gameto masculino con el gameto femenino que se encuentra en el ovario de la flor, dará origen a un embrión diploide (Fuentes et al., 2005). La embriogénesis dará lugar a la semilla, teniendo varios cambios morfológicos, estructurales y de expresión génica desde la maduración del cigoto hasta el final del desarrollo y maduración del embrión. De esto dependerá el éxito de la germinación y, por tanto, el desarrollo del nuevo individuo (Matilla, 2008). El embrión de una semilla por lo regular es capaz de permanecer vivo durante un largo periodo de tiempo, lo que se conoce como viabilidad de semilla y la facultad de germinar se llama poder germinativo, el cual también puede permanecer durante un periodo prolongado, estos dos aspectos pueden variar de acuerdo con la especie y a la forma de conservar la semilla.

Una semilla está madura cuando se separa de la planta, pero en realidad a esto solo se le denomina madurez morfológica. En el caso del término madurez fisiológica, este se refiere al momento cuando en el desarrollo de la semilla ésta alcanza su máximo peso seco, lo que representa el fin del periodo de llenado y es allí donde se da la máxima germinación y vigor de la semilla, continuando con el deterioro de ésta (Zavala-Hernández et al., 2015). En algunas especies se ha observado este proceso; sin embargo, en otras se ha observado que las semillas primero alcanzan el peso seco y luego la viabilidad y vigor denominando a este como madurez de masa (Ruiz, Pérez, Argüello y Balbinec, 2003). Por lo que se pueden presentar tres casos, como se muestra en la Figura 4.

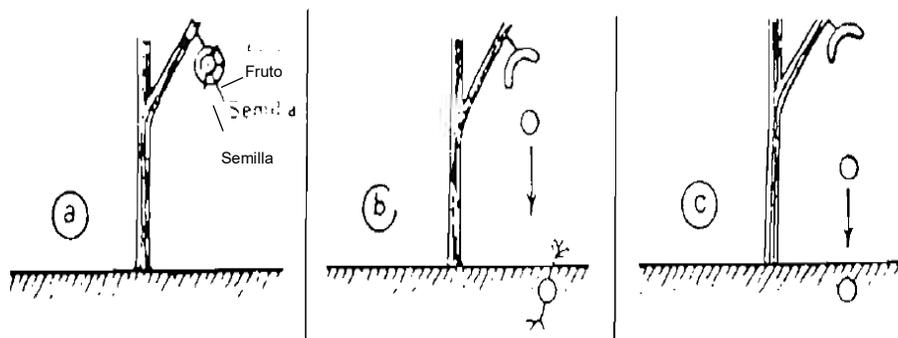


Figura 4. Germinación de una semilla en función de su madurez fisiológica y morfológica (Tomado de: De la Cuadra, 1993).

En el inciso a) se presenta la madurez fisiológica antes de la morfológica por lo que la semilla germina en la planta. b) En el segundo caso se presentan ambos tipos de madurez y la semilla puede germinar cuando se desprende de la planta. c) En el último caso, las semillas se desprenden de las plantas antes de desarrollarse por completo, teniendo dormancia (De la Cuadra, 1993). El conocer la madurez fisiológica de las semillas aporta conocimiento sobre la fenología y fisiología de las plantas, y su aplicación puede verse reflejada en la producción y conservación de semillas de dicha especie (Criollo et al., 1999).

3.4 Medicina tradicional

De acuerdo con la OMS (2013), la medicina tradicional es la suma de conocimientos técnicos y prácticas fundamentadas en las teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas y que se utilizan para mantener la salud, tanto física como mental. Es reconocida hoy como un recurso para la atención de la salud de muchas poblaciones, siendo una parte importante de la cosmovisión de los pueblos indígenas y representa el conocimiento milenario sobre la madre tierra y el uso de plantas medicinales que los pueblos indígenas han resguardado (Jiménez, 1994). Se ha estimado que el 80% de la población del mundo usa remedios herbolarios tradicionales y que al menos 35,000 especies vegetales presentan potencial para uso medicinal (García de Alba et al., 2012).

En México existen 71 pueblos indígenas que representan un 10% aproximado de la población total, por lo que se considera un país multiétnico y pluricultural, siendo la medicina tradicional un valioso elemento cultural que nos identifica como nación y que ha sido resguardado durante siglos por los médicos tradicionales y por los habitantes de nuestros pueblos indígenas (Jiménez, 1994). Por esto y por la diversidad florística presente en su territorio, México es considerado un país megadiverso, ocupando el segundo lugar en el mundo con más plantas medicinales registradas, después de China (Gobierno de México, 2022).

Esta práctica se inició antes de la invasión de los españoles y desde entonces ha jugado un papel notable en el combate de muchas enfermedades (Villareal et al., 2014). De los vestigios más antiguos se encuentra el Códice de la Cruz Badiano, cuyo título en latín es *Libellus de medicinalibus indorum herbis* que significa “Libro de las Hierbas Medicinales de los indios”. Cuya autoría es del médico xochimilca Martín de la Cruz, quien lo escribió en 1552 y fue traducido al latín por Juan Badiano, también xochimilca y estudiante del Colegio de Santa Cruz, este documento se puede considerar como el primer *Vademécum*, en donde se ilustran las plantas medicinales de esa época, proporciona fórmulas de aplicación, ingredientes y dosis para el tratamiento de diferentes enfermedades (Villareal et al., 2014).

También menciona las diferentes formas farmacéuticas que se usaban y que actualmente también se usan, siendo las siguientes: bálsamo, cataplasma, cocimiento, emplasto, emulsión, fomento, infusión, jabón, jarabe, jalea, jugo, linimiento, pasta, polvo, pomada, sahumero, solución, tónico, ungüento, vino medicinal, zumo. En cuanto a las formas de administración que manejaban y que aún se sabe que se siguen aplicando son: cutánea, meato, nasal, oral, ótica, oftálmica y rectal (Sánchez y Tejeda, 2011). Muchas de estas formas farmacéuticas y de administración son usadas actualmente en la medicina tradicional y alópata. En el país esto se ve reflejado en terapeutas especializados, por ejemplo: parteras, hueseros, curanderos; de igual manera, en las formas que existen de curación: tratamiento, sanaciones, rituales, masajes, sobadas (Alamilla y Neyra, 2020).

Es evidente que el uso de las plantas medicinales, desde el México prehispánico hasta nuestros días, es una práctica que ha tenido gran relevancia en los esquemas de salud pública de nuestro país. Actualmente, de acuerdo con los reportes del Herbario de Plantas Medicinales del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), existen más de 6,000 especies de plantas medicinales que son utilizadas por la población (Aguilar y Martínez, 1993). El IMSS, consciente de la trascendencia de la medicina tradicional, creó un centro de investigación biomédica en medicina tradicional y herbolaria con el fin de diseñar y poner en práctica estos métodos.

Esta institución realizó una investigación sobre la morbilidad en las zonas indígenas a partir del uso de plantas medicinales, obteniendo los siguientes resultados en cuanto a los usos de las plantas medicinales: uso de plantas para trastornos digestivos 38%, en el caso de padecimientos de tipo respiratorio un 13.6%; 13.5% para curar lesiones de la piel, infecciones cutáneas, traumatismo, dolor muscular o reumático y picaduras de animal. Un 13% para tratamientos de fiebre, dolor de cabeza y articulaciones y un 5% para tratar síntomas relacionados con el aparato reproductor femenino (Jiménez, 1994).

Actualmente el IMSS, con el programa Bienestar, vincula acciones mediante la participación de la comunidad, esto a través de la colaboración de 6,664 parteras. 754 médicos tradicionales y 15,775 voluntarios rurales de salud (IMSS, 2022). No obstante, a pesar de los esfuerzos que se realizan para la aceptación formal de la medicina

tradicional, se deben formular políticas y estrategias para la reglamentación, así como desarrollar investigación al respecto y así publicitar sus beneficios.

3.4.1 Plantas medicinales en México

A través de la historia, la humanidad ha empleado las plantas para satisfacer sus necesidades de alimentación, vestido, casa y para recuperar la salud. Por lo que en muchas culturas dieron culto a dioses de quien supuestamente recibieron el conocimiento para el uso de éstas, como el dios Baco quien proporcionó el conocimiento para el cultivo y uso de la vid (Velasco, Tapia y Vega, 2004). La Ayurveda en la India es la colección de tradiciones médicas desde hace más de cuatro milenios y comprende el empleo de plantas, nutrición, purificación y una forma de vida positiva para mantener la armonía y el equilibrio de la mente y cuerpo (Alcalde, 2006). En el caso de la medicina en China existen figuras legendarias como Sheng Nong “el divino agricultor” quien identificó numerosas plantas medicinales, adjudicándole también el descubrimiento del té (Velasco et al., 2004).

En el caso de México había al menos 40 especialistas como cirujanos, parteros, hueseros y existían escuelas relacionadas al tema de las plantas medicinales. Desafortunadamente los conquistadores destruyeron mucha información y mataron a sacerdotes que poseían este conocimiento. Sin embargo, se sabe que desde la época prehispánica se fundaron jardines botánicos en México, uno fue creado en la época de Netzahualcóyotl, entre 1420 y 1470, en el cerro de Tetzcotzingo (Gómez-Pompa, 2022) y otro fundado por Moctezuma Ilhuicamina, en Huaxtepetl, entre 1440 y 1468; en este último estaban clasificadas las plantas por su fragancia y uso medicinal, por lo que es considerado como el primer Jardín Botánico medicinal en el mundo, incluso antes que el primer jardín europeo, establecido en Italia en 1512 (Lozoya, 1998). Por todo esto, llamó la atención a los conquistadores el cuidado y conocimiento que se tenía sobre las plantas medicinales, por lo que fundaron colegios como el de Santa Cruz en Tlatelolco en 1536. Otro trabajo importante fue el realizado por Fray Bernardino de Sahagún, con el código Florentino donde se registraban 225 especies vegetales, principalmente del estado de Hidalgo y Tlatelolco (Gómez-Pompa, 2022).

De los registros que actualmente se tienen, se sabe que México cuenta aproximadamente con 21,703 a 23,424 plantas vasculares y, de acuerdo con los reportes del Herbario de Plantas Medicinales del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), existen más de 6,000 especies de plantas medicinales que son utilizadas por la población (Aguilar y Martínez, 1993); por lo que no es difícil imaginar que, dada la amplia biodiversidad del país, la población haya ocupado las plantas como remedio para combatir diversas enfermedades, representando la única alternativa médica en algunos sectores del país por no tener un fácil acceso a los servicios de salud, por lo que ponen su salud en manos de médicos tradicionales (Rhada et al., 2021).

No obstante, a pesar del amplio uso de las plantas medicinales, es importante contemplar el estudio de las plantas y su aplicación de manera científica, por lo que es necesario sistematizar el conocimiento tradicional de los recursos vegetales del país, realizar identificación taxonómica para evitar confusiones, establecer un plan de propagación para evitar la extinción de las especies, realizar estudios fenológicos de las plantas usadas, poner cuidado en la época de colecta, transporte, almacenamiento y dosificación. Además, hacen falta más estudios fitoquímicos, farmacológicos, toxicológicos y biotecnológicos para corroborar el efecto que tienen estas plantas sobre la salud humana.

3.4.2 Domesticación de plantas medicinales

Domesticar deriva de la palabra latina “domus”, que significa llevar a casa o incorporar a la casa, la domesticación de las plantas y animales realizada por la humanidad se considera uno de los desarrollos más importantes en la historia de la humanidad; desde hace unos 11,000 años, en el inicio del Holoceno, muchas civilizaciones tuvieron la transición de caza y recolección a la agricultura, marcando el inicio de la domesticación de las especies (Purugganan, 2022).

La domesticación se basa en el proceso de selección artificial realizado por la humanidad y el ambiente sobre los animales, plantas y microorganismos (Bautista et al., 2012; Chávez, 2017). Es un proceso evolutivo que se encuentra relacionado al uso diferencial de la variabilidad morfológica, genética y funcional en las poblaciones de las especies,

por lo que están relacionados con las culturas en donde se establecen los usos y manejo de recursos, debido al entorno socio ecológico. Se considera un proceso dinámico que va cambiando de manera paralela a los cambios de las culturas. También es considerado como un proceso diversificador de los sistemas biológicos ya que la domesticación en plantas causa cambios en las frecuencias de caracteres, tanto fenotípicos como genotípicos, generando divergencia respecto a sus ancestros, actuando en plantas bajo domesticación incipiente, semidomesticadas y plantas completamente domesticadas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Estadios de domesticación según niveles de cambio que sufren las poblaciones de plantas por manipulación humana y domesticación.

Estadio de domesticación	Cambios poblacionales
Silvestres	Población natural cuyos fenotipos y genotipos no han sido modificados por manipulación humana
Evolución en sistemas bajo manejo humano intensivo	Especies que crecen en ambientes perturbados por el hombre con posibles cambios a nivel genético, pero no son producto de la selección artificial.
Domesticación incipiente	Intervención humana por propagación o tolerancia en el sistema, pero con el fenotipo promedio del carácter seleccionado aun dentro del rango de variación encontrado en condiciones silvestres.
Semi-domesticación	Se presentan diferencias con respecto a las poblaciones silvestres por manipulación humana. Hay reducción de diversidad genética por efecto de cuello de botella. La planta posee adaptabilidad ecológica para reproducirse y sobrevivir sin cuidados humanos
Domesticación	La planta depende de los ambientes (campos de cultivo) y cuidados humanos para sobrevivir y reproducirse. La diversidad genética generalmente se reduce significativamente y se pierde la capacidad de adaptación.

Tomado de Bautista, Parra y Espinoza (2012).

Al seleccionar artificialmente, las especies vegetales sufren modificaciones como son la pérdida natural de dispersión de semillas, gigantismo en partes usadas por el ser humano, pérdida de dormancia en semillas y pérdida de mecanismos químicos contra herbívoros; a este conjunto de factores se le denomina, síndrome de domesticación (Chávez, 2017). En cuanto a los cambios en los metabolitos secundarios, probablemente se deba al incremento de la productividad; es decir, a que el hombre dirige la selección al tamaño de hojas, flores y semillas, menguando así la síntesis de los metabolitos secundarios. Esto se ve reflejado en que las plantas domesticadas se vuelven más vulnerables a los herbívoros, patógenos y competidores, en contraste a las plantas en estado silvestre (Corona y Hernández, 2019).

De igual forma, la manera de propagar la planta puede influir en la concentración de los metabolitos secundarios, ya que favorece la reproducción sexual sobre la vegetativa, genera una disyuntiva en la asignación del recurso dentro de la planta pues ésta dirige su energía a la productividad o a la reproducción sexual, ocurriendo esterilidad en las flores. Sin embargo, la reproducción sexual aporta diversidad en la concentración de los metabolitos secundarios. Cuando existe autopolinización y por resultado endogamia, se reduce la resistencia contra herbívoros. En el caso de la propagación vegetativa soluciona el problema de depresión endogámica; sin embargo, al reducir la variabilidad se incrementa el riesgo de ataques de biotipos de plagas y patógenos. No obstante, en sistemas tradicionales donde se reproducen clonalmente los cultivos, se seleccionan varios genotipos, por lo que la diversidad genética no se ve reducida y se pueden generar entrecruzas entre parientes cultivados y silvestres (Bautista, et al., 2012).

La variabilidad y la plasticidad fenotípica son aspectos morfológicos o químicos que también marcan el inicio de la domesticación, ya que la variabilidad resulta de las características genéticas de la especie y de su interacción con el entorno. En el caso de la plasticidad, esta se entiende como la capacidad de un organismo para producir fenotipos diferentes en respuesta a cambios en el ambiente (Gianoli, 2004). Finalmente, las variaciones en la concentración de los metabolitos secundarios están dadas por la influencia de factores bióticos y abióticos, siendo que en un proceso de domesticación

pueden resultar cambios en el metabolismo secundario al variar estos factores (Bautista et al., 2012).

En el caso de las plantas medicinales en México, se sabe que las principales familias usadas para este fin son Astereraceae, Lamiaceae y Solanaceae, donde muchas especies son aromáticas. En diversos estudios etnofarmacológicos realizados en Veracruz, Oaxaca, Chiapas y Yucatán, las propiedades organolépticas son un determinante para el consumo de plantas medicinales, confirmando que el olor y el sabor están inmersos en la cultura mexicana, al igual que la morfología, como el caso del epazote (*Dysphani ambrosoides*) donde el tamaño de la hoja, color y forma son las características seleccionadas por los habitantes de Santa María Tecomavaca, Oaxaca; de igual manera ocurre con el Toronjil (*Agastache mexicana*). Por lo que la genética, el ambiente y la fenología de la planta influyen en las características organolépticas de ésta y está relacionada con el contenido y constitución del aceite esencial, contribuyendo a la variación fenotípica entre las poblaciones, por lo que se hace necesaria la selección genética para distinguir las consecuencias de la plasticidad fenotípica en respuesta al ambiente (Carrillo-Galván et al., 2020).

Una estrategia para la domesticación de plantas silvestres medicinales debería tener los siguientes pasos según Franz (1993):

- a) Estudio del hábitat natural que incluyan el conocimiento botánico, suelo, clima, caracterización, distribución y propagación.
- b) Colección de propágulos para el establecimiento de colecciones en bancos de semilla o de campo.
- c) Estudios de propagación vegetativa o por semilla y establecimiento de siembras.
- d) Mejoramiento genético como estudios de variabilidad, selección, cruzamiento, fitoquímica y técnicas biotecnológicas.
- e) Probar las mejores localidades fertilización, manejo y técnicas de cultivo.
- f) Estudios de problemas sanitarios como enfermedades y plagas.

g) Duración del cultivo: cosecha, postcosecha, control de materia médica.

h) Evaluación económica y cálculo de rentabilidad.

Además de la domesticación, este tipo de actividades son importantes para el cultivo de plantas medicinales para así evitar diversos problemas como la extinción de plantas que se colectan de manera silvestre, además de evitar confusiones entre especies y así brindar con certeza la especie medicinal y el contenido de metabolitos secundarios que poseerá, todo esto dando pauta a una producción regulada de plantas medicinales.

3.4.3 Producción de plantas medicinales en México

Dada la amplia diversidad que existe en México, se sabe que, de las 23,000 especies vegetales reconocidas, se ha descubierto que aproximadamente 6,000 especies de estas son medicinales; sin embargo, no existe cultivo de la mayoría de estas especies, por lo que las pone en riesgo. Por lo regular en México las plantas medicinales se cultivan a pequeña escala, en traspatios, jardines y terrazas. Se ha documentado que el 85% de las especies que se comercializan en los mercados locales y tiendas naturistas, son recolectadas de manera silvestre por lo que carecen de control, se desconoce muchas veces el origen, condiciones, entorno, manejo, etc., y esto, definitivamente, representa un riesgo para la conservación de este recurso fitogenético (Rosete-Juárez, 2013) e incluso para la salud misma.

Todos estos factores hacen necesario reglamentar y sistematizar el cultivo de estas plantas que en su mayoría son silvestres, contribuyendo a evitar la sobreexplotación de estos recursos y evitando la extinción de estos, de igual manera se puede disponer de las plantas de manera continua, controlada y estandarizando la materia prima para laboratorios de esa rama, siempre y cuando se establezcan los lineamientos más apropiados para su cultivo, sin que pierdan sus propiedades curativas.

En México, no se había documentado el cultivo de plantas medicinales y aromáticas hasta el 2011, cuando se tuvo el registro sobre superficies destinadas a la siembra de plantas medicinales y aromáticas en México, reportándose 8,351 hectáreas destinadas a la producción comercial de hierbas aromáticas, siendo el cilantro la hierba aromática

más importante, ocupando un 71% de la superficie cultivada con este tipo de especies, la manzanilla representó un 10% y la albahaca, un 5%; en cuanto a rendimientos, en orden de importancia se reportaron al cultivo de perejil, con 14.65 t ha⁻¹, el zacate limón con 9.8 t ha⁻¹ y el cilantro con 9.21 t ha⁻¹ de peso en seco (Rosete-Juárez, 2014).

Las especies mencionadas no corresponden ni con el 10% de las plantas medicinales que se usan tradicionalmente en México, por lo que es necesario implementar el cultivo de las plantas silvestres medicinales, la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) y World Wide Fund for Nature (WWF) (OMS-UICN-WWF,1993) sugieren que para llevar una especie silvestre a cultivo se debe tomar en cuenta lo siguiente:

- Seleccionar para propagación el material genético más apropiado y realizar mejoramiento genético, analizando la mejor forma de propagación.

- Determinar las condiciones óptimas de cultivo, como suelo, clima, sombra y régimen de riego, definiendo los medios para proteger a las plantas contra plagas y enfermedades, desarrollar técnicas para eliminar las malezas.

- Elegir la época más apropiada de recolección.

- Examinar las posibilidades de mecanización.

- Elegir el mejor sistema para almacenar la cosecha.

3.5 Metabolismo secundario

Las plantas tienen estrategias de defensa contra factores bióticos y abióticos con la finalidad de cumplir con sus etapas fenológicas y con la finalidad de defenderse del daño ocasionado por patógenos o insectos. Una de las estrategias es la síntesis de metabolitos secundarios, estos compuestos son de bajo peso molecular y también participan en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente (Sepúlveda-Jiménez et al., 2003).

En las plantas estos metabolitos secundarios se sintetizan en vías metabólicas particulares por las cuales se pueden producir grandes cantidades de estos, la mayoría

de las cuales no tienen un rol específico conocido hasta la fecha. Al conjunto de estas vías metabólicas se les conoce como metabolismo secundario. El metabolismo secundario es mucho más heterogéneo entre las diferentes especies, las diferentes etapas de crecimiento y los diferentes tejidos, algunas de sus rutas pueden ser imprescindibles en ciertas situaciones ecofisiológicas (Suárez – Medina y Coy- Barrera, 2016).

Las funciones de los productos del metabolismo secundario son muy diversas, fundamentalmente relacionadas con la comunicación entre distintas partes de la planta y de ésta con otros seres vivos. En general, los productos del metabolismo secundario tienen las siguientes características y funciones: se acumulan en grandes cantidades sin efectos negativos en las células o en las plantas y tienen una distribución restringida, atraen a insectos polinizadores, inhiben el crecimiento de plantas vecinas, se protegen de insectos devoradores o infecciones, así mismo dan resistencia física a la planta o ejercen la transmisión de señales entre diferentes tejidos de la planta. Además, tienen la propiedad de formar glicósidos y de esta forma encontrarse de forma soluble para dar resistencia física a la planta (Egbuna et al., 2019).

Químicamente, los compuestos generados por el metabolismo secundario se clasifican en tres grupos: los terpenos, los fenoles y los compuestos que contienen nitrógeno (Egbuna et al., 2019).

Terpenos: son el grupo de metabolitos secundarios más abundantes y generalmente tienen su origen sintético en la ruta del ácido mavelónico, teniendo como unidad monomérica una cadena de cinco carbonos (C₅), el isopreno. El grupo además incluye a las saponinas, aceites esenciales, cardiotónicos y otros isoprenoides de origen mixto (Verpoorte y Alfermann, 2000).

Fenoles: son compuestos que contienen por mínimo un anillo bencénico unido a un grupo hidroxilo, este núcleo aromático procede principalmente del metabolismo del ácido shikímico y se clasifican en fenoles sencillos, ácidos fenólicos, flavonoides, taninos y quinonas (Gordo y Alonso, 2017).

Compuestos nitrogenados: estos metabolitos son de estructura compleja, teniendo un átomo de nitrógeno que generalmente es parte de un heterociclo y que procede, en la mayoría de los casos, de un aminoácido (Verpoorte y Alfermann, 2000).

3.5.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos están representados por un grupo muy amplio de estructuras químicas (más de 8,000). Todos ellos poseen un anillo aromático el cual es el benceno con un grupo hidroxilo como mínimo unido a él. Los fenoles se clasifican en función al número de carbonos de la cadena alifática que se encuentra unida al benceno (Cuadro 3).

Cuadro 3. Clasificación de compuestos fenólicos en plantas.

Número de carbono	Esqueleto básico	Clase	Ejemplo
6	C ₆	Fenoles simples	Catecol.
		Benzoquinonas	Hidroquinona, 2,6-dimethoxibenzoquinona
7	C ₆ -C ₁	Ácidos fenólicos	p-hidoxibenzoico, salicílico
8	C ₆ -C ₂	Acetofenonas	3-acetyl-6-methoxibenzaldehído
		Ácidos fenilacéticos	p-hydroxifenilacético
10	C ₆ -C ₄	Naphthoquinonas	Juglona, plumbagina
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xantonas	Mangiferina
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Estilbenos	Ácido lunularico
		Antraquinonas	Emodina

Número de Carbonos	Esqueleto básico	Clase	Ejemplos
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoides Isoflavonoides	Quercetina, malvin Genisteína
18	(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanós	Podofilotoxina
30	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂	Biflavonoides	Amentoflavona
n	(C ₆ -C ₃) _n	Ligninas	-
	(C ₆) _n	Catecol melaninas	-
	(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Flavolanos (taninos condensados)	-

Fuente: Baan y Nazmul (2022).

Los compuestos fenólicos pueden ser formados desde metabolitos primarios de la célula por dos rutas: la vía Policétido y la vía Shikímica (Figura 5). La primera es una importante fuente de productos fenólicos secundarios en hongos y bacterias y es de menor significancia en plantas superiores (Taiz y Zeiger, 2006). Esta vía necesita una molécula de arranque que, en la mayoría de los casos, es acetil CoA que se va adicionando a unidades de malonil CoA, con pérdida de un átomo de carbono, de modo que por cada malonil utilizado se integran dos átomos de carbono (Figura 5). A través de esta vía se originan quinonas, xantona, orcinoles, etc. (Taiz y Zeiger, 2006).

La ruta Shikímica (Figura 5) participa en la mayoría de los compuestos fenólicos en las plantas, hongos y bacterias, esta vía se inicia a partir de carbohidratos como la eritrosa-

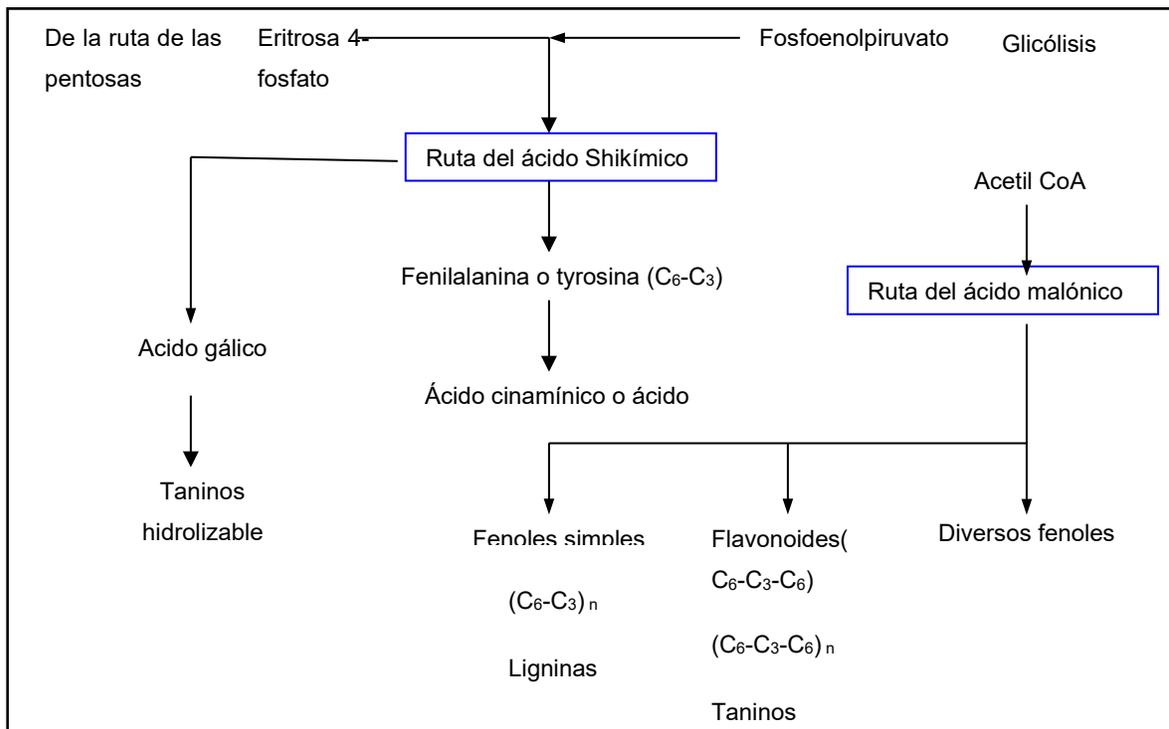


Figura 5. Rutas de biosíntesis de compuestos fenólicos (Taiz y Zeiger, 2006).

4-P y el fosfoenolpiruvato, y conduce a la síntesis de aminoácidos aromáticos, precursores de diversos compuestos fenólicos secundarios; por esta vía se generan los ácidos cinamínicos como fenoles sencillos, ácidos fenólicos, fenilpropanoides, etc. (Baan y Nazmul, 2022). Muchos compuestos con dos o más núcleos fenólicos son producto de la mezcla de origen biosintético, como por ejemplo en la biosíntesis de los bioflavonoides un anillo es originado en la ruta del shikimato y la otra derivada de la ruta de policétido.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Estudio del conocimiento tradicional de *Bacopa procumbens* en Huasca de Ocampo, Hidalgo

4.1.1 Localidad

La investigación se llevó a cabo en Huasca de Ocampo, municipio de Hidalgo, la cual cuenta con 66 localidades, cada una con población menor a 2,500 habitantes, de las que se considera que 65 son rurales y una urbana, con un total de 17,607 habitantes hasta el 2020 (Plan Municipal de Desarrollo, 2020; Data México). El municipio cuenta con una superficie de 305.80 km²; se ubica en las coordenadas 20°12'10" LN; 98°35'55" LO, con una altitud de 1800 a 2800 msnm. El municipio colinda al norte con Veracruz, al sur con los municipios de Tulancingo y Omitlán de Juárez; al este con el municipio de Acatlán y al oeste con Atotonilco el grande y Omitlán de Juárez (Figura 6). Por sus condiciones climáticas y geográficas se pueden encontrar diversas especies vegetales como: oyamel, pino, encino, sabino, árboles frutales, ocote, tule, madroño, flores aromáticas. Su principal actividad es el turismo; se continúa desarrollando la agricultura, sembrando maíz, frijol y cebada, principalmente (PMD, 2020).

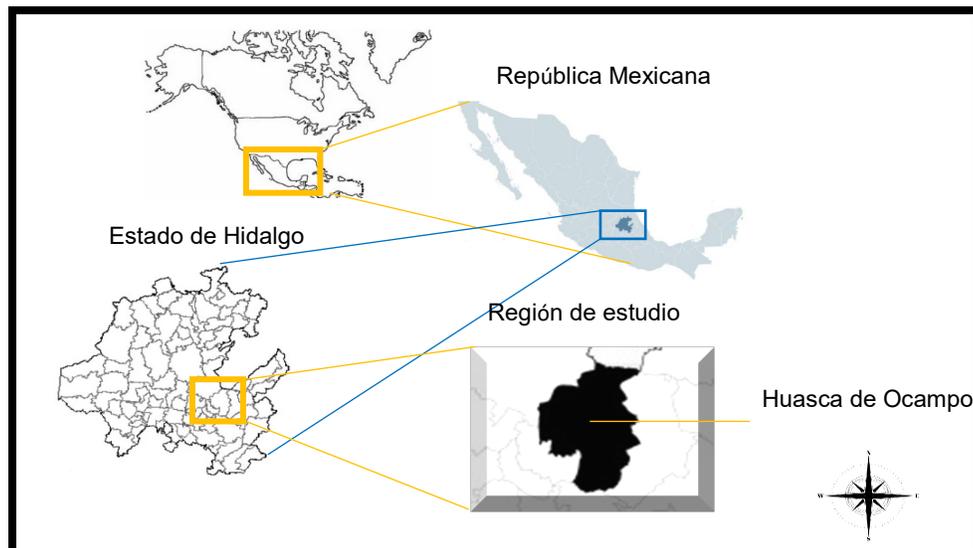


Figura 6. Ubicación de Huasca de Ocampo, Hidalgo (negro).

4.1.2 Técnica de investigación

La investigación inició en el año 2019, informando a las autoridades municipales de Huasca de Ocampo, Hidalgo acerca del proyecto, solicitando el permiso para la aplicación de cuestionarios y así obtener información con los pobladores; debido a que pocas personas reconocían a la planta *B. procumbens* se elaboró un tríptico (Anexo 1) con información e imágenes de esta planta para que fueran distribuidos con las personas que visitaban el palacio municipal debido a que iniciaba la pandemia COVID 19. Al no recibir respuesta se optó por realizar visitas periódicas en los años 2020 y 2021. El estudio se basó en una encuesta con un cuestionario estructurado, con la aplicación de preguntas cerradas de opción múltiple y preguntas abiertas (Anexo 2), con un total de 26 preguntas con las que se recolectaron datos cuantitativos y cualitativos. Las preguntas se enfocaron a documentar el conocimiento y el uso que los pobladores le dan a la planta. Los cuestionarios se aplicaron en diferentes meses a lo largo de estos años y los datos de los entrevistados se mantienen en confidencialidad. La aplicación del cuestionario fue mediante un muestreo oportunisto por conveniencia, obteniendo 26 entrevistas en total.

4.1.3 Análisis estadístico

La información recabada se sistematizó y se codificó. Los datos se capturaron en una hoja de cálculo de Excel y se exportó al paquete estadístico SAS® On Demand for Academics (SAS, 2012-2022; Duger, 2021) para realizar el análisis descriptivo sobre el uso de *B. procumbens*. También se realizó un análisis de correspondencias múltiple, esta técnica además de analizar la relación existente entre las variables permite conocer cómo se estructura la relación entre un conjunto de variables, permitiéndonos conocer si hay independencia entre diferentes variables, este análisis se llevó a cabo con el procedimiento PROC CORRESP de SAS On Demand for Academics (SAS, 2012-2022; Durner 2021). Los resultados del análisis se representaron mediante cuadros de frecuencias y mediante una gráfica, en el caso del análisis de correspondencias.

4.2 Propagación de plantas

4.2.1 Material vegetal

El material vegetal fue colectado en dos regiones del estado de Hidalgo, la población uno fue colectada en San Miguel Regla, perteneciente al municipio de Huasca de Ocampo, Hidalgo ubicado en las coordenadas 20°13'9.091" N y 98°33'39.06" O, con una altitud de 2060 msnm y la segunda población se colectó en la orilla de la presa El Tejocotal que pertenece al municipio de Acaxochitlán, Hidalgo, ubicado en 20°8'23.255" N y 98°7'33.557" O a 2132 msnm.

Los ejemplares se extrajeron de estos sitios con cepellón, con la finalidad de facilitar su propagación, para lo cual las plantas se ubicaron en el invernadero No. 2 del Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (CIBA-IPN), ubicado en Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala cuyas coordenadas son 19°16'N y 98°22'O a 2260 msnm. Con el fin de confirmar la especie taxonómica con la que se trabajó, se herborizaron tres ejemplares de las plantas recolectadas y se enviaron al Herbario del Jardín Botánico Universitario de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, para la identificación de la especie.

En el invernadero, las macetas (aproximadamente 10 de cada población) se regaron diariamente con agua corriente, una vez por mes se fertilizó con Nitrocel-45 (1 mg/L), nutriente foliar con 45% de Nitrógeno total y Biuret, no más del 5%, como prevención de plagas se utilizó el plaguicida comercial Critiking (1ml/L) cada tercer día.

4.2.2 Reproducción de *B. procumbens*

Estos experimentos se llevaron a cabo en el laboratorio de la Unidad CIBA-IPN, ubicada en Tepetitla de Lardizabal, Tlaxcala, donde el clima es templado subhúmedo con lluvias en verano.

Con la finalidad de obtener plantas para el estudio fenológico se realizaron diversos experimentos para la propagación de éstas, evaluando ambos tipos de reproducción de la especie: la propagación vegetativa y propagación por semilla.

4.2.2.1 Propagación vegetativa con diferente número de nudos

Las plantas pueden reproducirse asexualmente, esto consiste en la producción de una planta a partir de una célula somática, un tejido, órgano o parte de una planta madre, existen diferentes maneras como es el esqueje y el acodo. El esqueje se considera rama o tallo joven, o incluso hojas que se plantan originando nuevos individuos completos y el estolón son tallos verdes que surgen del principal y que crecen por debajo del suelo, o en la superficie como el caso de *B. procumbens*. Por lo que se realizó el primer experimento con las dos poblaciones procedentes de San Miguel Regla y El Tejocotal; este experimento consistió en cortar esquejes con dos nudos a partir de la yema apical, los esquejes se colocaron con el tallo de manera horizontal en macetas de polietileno con peat moss: tierra negra: agrolita en una proporción de 1:1:0.5; se realizaron 30 repeticiones por población (Figura 7). En el segundo experimento se tomaron esquejes con cinco nudos y se sembraron en las mismas condiciones y en el tercer experimento, algunas ramas de la planta madre fueron marcadas con un hilo y a partir del quinto nudo se hundió un poco la rama en el sustrato, sin cortarse, de manera que cuando surgió la raíz se separó de la planta madre (Figura 8). Se realizaron 30 repeticiones por población en un diseño completamente al azar.



Figura 7. Propagación por esquejes de *B. procumbens* a) Esquejes con dos nudos
b) Esquejes con cinco nudos.



Figura 8. Esquejes marcados puestos a enraizar en sustrato.

4.2.2.2 Propagación vegetativa con diferentes sustratos y etapa fenológica

Observando los resultados del experimento anterior, el segundo experimento únicamente se realizó con la población de San Miguel Regla, ya que es la que presentó mejor desarrollo foliar para obtener los esquejes, en contraste con la población de El Tejocotal. Se evaluó la propagación ocupando diferentes sustratos. Se probaron esquejes con tres y cinco nudos, también con flor y sin flor (Cuadro 4). Los sustratos empleados fueron una mezcla de peat moss: agrolita (2:1) y cubos de espuma fenólica (Oasis®, de la empresa Smithers Oasis Engineered products). Quedando ocho tratamientos con 25 repeticiones cada uno y se colocaron en una charola de unicel, se les aplicó riego diariamente y una solución de rootex® 1g/l (de la empresa Cosmocel) aplicándose cada tercer día (Figura 9).

Cuadro 4. Tratamientos para la propagación vegetativa de la planta.

Sustratos	Tratamiento	Esquejes con número de nudos
Espuma fenólica	T1	3 nudos sin flor
	T2	5 nudos sin flor
	T3	3 nudos con flor
	T4	5 nudos con flor

Sustrato	Tratamiento	Esquejes con número de nudos
Peatmoss: agrolita	T5	3 nudos sin flor
	T6	5 nudos sin flor
	T7	3 nudos con flor
	T8	5 nudos con flor

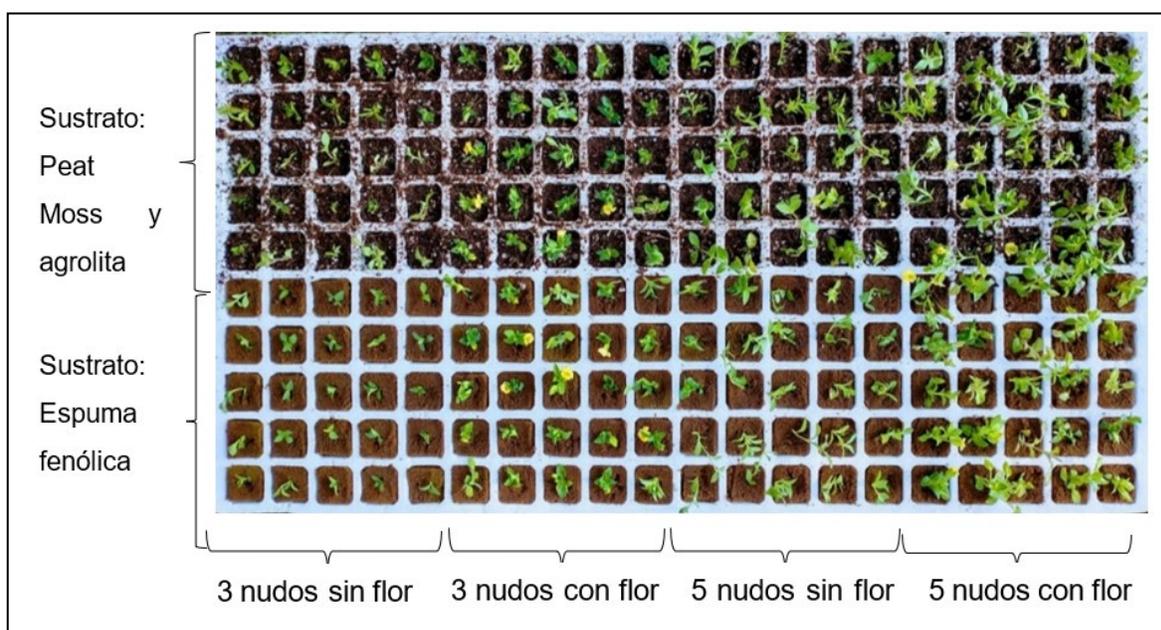


Figura 9. Tratamientos para evaluar la propagación vegetativa con diferente número de nudos en etapas fenológicas y sustratos diferentes.

4.2.3 Germinación de semillas

De igual forma, se realizaron diversos experimentos sobre germinación con la finalidad de obtener plántulas para el estudio fenológico.

El primer experimento fue bajo condiciones asépticas, colocando 25 semillas en cajas Petri, manteniéndolas por un mes en una cámara de crecimiento, controlando humedad (70%) y temperatura (35°C), bajo obscuridad. En el segundo experimento se colocaron 25 semillas de ambas poblaciones en cajas Petri, en condiciones no asépticas, bajo

temperatura, humedad y fotoperiodo ambiental. Para el tercer experimento se colocaron 25 semillas en tarros con medio Murashige y Skoog, desinfectando las semillas con una solución de hipoclorito de sodio y etanol durante 5 minutos. El experimento se desarrolló en un cuarto de cultivo *in vitro*, con una temperatura de 23°C y fotoperiodo de 16 h luz/8 h, oscuridad a 3500 luxes. Cada uno de estos experimentos se realizó bajo un diseño experimental completamente al azar con 10 repeticiones por población. El índice de germinación y velocidad de germinación se calcularon de acuerdo con González-Zertuche y Orozco-Segovia (1996) mediante las siguientes ecuaciones:

$$IG = \frac{\sum(n_i t_i)}{N}$$

$$M = \sum \frac{(n_i)}{t}$$

Donde IG= índice de germinación; n_i = número de semillas germinadas por día i ; t_i = número de días después de la siembra; N= total de semillas sembradas; M= velocidad de germinación; t= tiempo de germinación desde la siembra hasta la germinación de la última semilla.

4.2.3.1 Aclimatación de plantas obtenidas *In vitro*

Para la aclimatación de las plantas, el método se basó en un sistema hidropónico con una reducción gradual en la humedad relativa, se realizó según el método reportado por Ventura et al. (2003) con algunas modificaciones, como se especifica a continuación: diez frascos de vidrio (con capacidad de 80 mL), se llenaron con una solución hidropónica (Anexo III) y en cada contenedor se colocó una planta, en fase vegetativa, a la cual se midió raíz y parte aérea. La raíz quedó sumergida en la solución, para sostener la planta se cubrió con una tapa de aluminio y la parte aérea se cubrió con una bolsa de polietileno transparente (11 x 21 cm) previamente asperjada con agua. Para lograr la aclimatación, cada tercer día se le realizó un orificio con un diámetro de alrededor de 0.8 mm en la bolsa de polietileno con la finalidad que la planta iniciara el contacto con el ambiente externo y sus estomas fueran desarrollándose (Gogoi et al., 2017). De manera paralela se colocaron 10 plántulas mantenidas *in vitro*, pero se colocaron directamente en sustrato en el invernadero por 15 días y posteriormente se coloraron en una mezcla de sustrato,

peat moss: agrolita en una proporción 1:1, con la finalidad de observar si era necesario el proceso de aclimatación para esta especie (Figura 10).



Figura 10. Proceso de aclimatación de plantas *B. procumbens* en sistema hidropónico.

4.2.3.2 Germinación de semillas con diferente fotoperiodo y temperatura. a) medición de plantas, b) cultivo en solución hidropónica, c) cubierta para mantener humedad.

Con la finalidad de corroborar las condiciones idóneas para la germinación de las semillas de *B. procumbens* se realizó un experimento para corroborar los resultados obtenidos anteriormente, y también se evaluaron semillas de un año de edad y semillas recién colectadas. Los factores estudiados fueron: temperatura, a dos niveles (23 °C y 35°C) e iluminación (fotoperiodo y obscuridad), además de longevidad de la semilla (semillas nuevas y con edad de un año), resultando ocho tratamientos con 5 repeticiones con 10 semillas por unidad experimental, la cual consistió de una caja Petri.

4.3 Análisis en semillas de *B. procumbens*

Debido a los resultados obtenidos en los experimentos de germinación, se realizaron diferentes pruebas para determinar lo que ocurría en las semillas, así como la viabilidad y la latencia de estas.

4.3.1 Prueba de tetrazolio

Se realizaron diferentes pruebas para la tinción de las semillas; éstas se dejaron embebidas en una solución de tetrazolio al 1 y 2 % durante 12 y 24 h en obscuridad, de igual manera se realizó la tinción a semillas perforando la testa y dejándolas 12 y 24 h en la solución. Estas semillas se tomaron en diferentes etapas de maduración del fruto

(ISTA, 1985). Araoz y Del Longo (2006) sugieren que, para romper la latencia producida por las cubiertas seminales, se puede hacer mediante la escarificación, la perforación, raspado o ablandamiento de la cubierta del embrión. Basado en ello, se realizaron las siguientes pruebas:

4.3.2. Escarificación mecánica (lijado).

Las semillas de *B. procumbens* son de tamaño pequeño, lo que dificulta su manipulación, por lo que la escarificación se llevó a cabo con lijas de agua de grado 400, en una mesa se colocó una parte de lija, sobre ella fueron puestas las semillas, con otra lija del mismo calibre se frotaron realizando movimientos circulares ejerciendo ligera presión, hasta notar la liberación de la testa y un color blanquecino en la semilla. Posteriormente las semillas fueron puestas en cajas Petri con 10 semillas en cada una, con 5 repeticiones; para mantener hidratado el embrión se colocaron círculos de papel filtro humectados con agua destilada, proporcionando periódicamente agua, según su consumo. Las semillas se sometieron a 8 h diarias con fotoperiodo de luz blanca y luz roja.

4.3.3 Escarificación mecánica (incisión)

Se hizo una pequeña incisión en la testa de la semilla después de hidratarlas previamente durante cuatro días. Se realizaron 2 repeticiones en cajas Petri, cada repetición con 20 semillas; para mantener hidratado el embrión se colocaron círculos de papel filtro humectados con agua destilada, proporcionando periódicamente agua, según el consumo de cada caja. Las semillas se sometieron a 8 h diarias con fotoperiodo de luz roja. Se mantuvieron expuestas a humedad y temperatura ambiente.

4.4 Fenología

Para la identificación de etapas fenológicas de esta especie silvestre fue necesario adaptar diferentes metodologías, como la escala BBCH (Meier et al., 2009), tomando en cuenta los estadios principales de crecimiento y el método de monitoreo de fenología estandarizada que maneja la Red de Fenología de Estados Unidos, la cual especifica las feno-fases para grupos de plantas (Denny et al., 2014), en este caso se consideró para planta perenne; quedando las etapas fenológicas que aparecen en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Estadios fenológicos considerados (Tomado de Denny et al., 2014).

Estadio	Descripción
00	Germinación, brotación
01	Desarrollo de hojas
02	Formación de brotes laterales
03	Elongación de tallos
04	Aparición de flores
05	Formación de frutos
06	Maduración de frutos y semillas o coloración

Al no tener información acerca de la multiplicación de la especie, se realizaron diversos experimentos, observando que la población de San Miguel Regla se propagaba por estolón, se optó por realizar este tipo de propagación, sin embargo, en el caso de la población de El Tejocotal se observó formación de frutos en cada nudo de la planta. Por lo que para el estudio fenológico se requirió de plantas jóvenes procediendo a propagarlas vegetativamente y por semillas, realizando los siguientes experimentos.

4.4.1 Análisis de la antesis de *B. procumbens*

Con la finalidad de estudiar la antesis de *B. procumbens*, se observaron 22 flores de plantas de la población de San Miguel Regla. Se clasificaron diferentes periodos de floración, desde la aparición del botón, apertura, cierre floral y formación de fruto, para lo cual los brotes florales o flores se marcaron con hilos de colores, una vez marcadas las diferentes etapas de antesis se comenzó a monitorear para tener una medición del tiempo que le toma a una flor pasar por esas etapas, fecundarse y producir un fruto, así también se podría tener un porcentaje de cuantos frutos se generan en relación con el

número de plantas marcadas. Los frutos fueron medidos con un Vernier digital (Digital caliper INSIZE 0-6).

4.4.2 Madurez fisiológica del fruto de *B. procumbens*.

Este experimento se estableció para estudiar la madurez fisiológica del fruto mediante la medición del tiempo transcurrido desde la antesis hasta el fruto. Se marcaron 50 flores con hilos de colores y se observó cuales formaron fruto, las plantas se mantuvieron en macetas en invernadero y en el exterior, se consideraron tres etapas, la primera a los 15 días de verse el fruto, la segunda etapa fue en 30 días y la tercera a los 40 días (Figura 11).

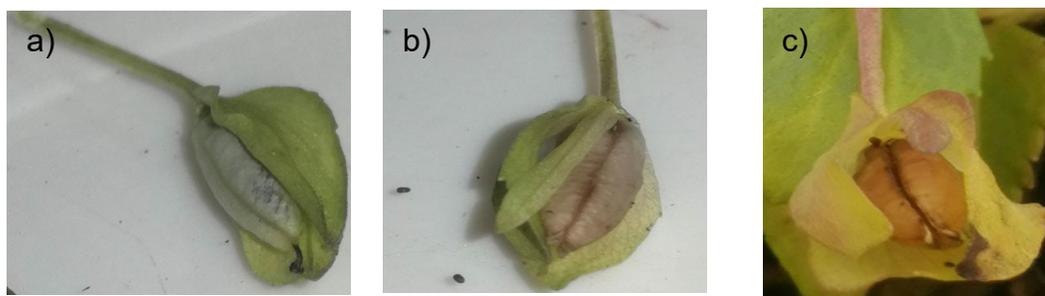


Figura 11. Diferentes etapas fenológicas de frutos de *B. procumbens* hasta la madurez fisiológica. a) fruto a los 15 días, b) fruto a los 30 días, c) fruto a los 40 días

Se registró el tamaño, peso fresco y peso seco. Posteriormente se cultivaron *In vitro* las semillas de estos frutos para evaluar el grado de madurez y su relación con la germinación de las semillas.

4.5 Fitoquímica

4.5.1 Colecta de material vegetal

Para realizar la extracción de los compuestos y así cuantificar la composición de metabolitos secundarios en diferentes etapas fenológicas, se colectó material vegetal de plantas desarrolladas en invernadero en un área de 1.5 x 2 m² (Figura 12), el cual fue puesto a secar en sombra en un cuarto cerrado y se molió con un molino de martillos.



Figura 12. Plantas de *Bacopa procumbens* en la etapa de floración, cultivadas en invernadero.

4.5.2 Extracción

El material vegetal de *B. procumbens* se maceró en solución agua:etanol (60:40) previamente secado. Se dejó reposar por 12 horas y posteriormente se filtró. El extracto obtenido se concentró mediante el proceso de destilación a presión reducida, en el rotavapor rotatorio Buchi®-490; (Buchi, Suiza) a 50 – 55 °C con 90 RPM.

4.5.3 Fraccionamiento y purificación de compuestos para la obtención de estándares

Para el fraccionamiento se emplearon técnicas cromatográficas convencionales como cromatografía en columna gravitacional abierta (CCA) fase normal; el extracto evaporado se absorbió con sílice 60 y se llevó a sequedad, se preparó una columna empacada con sílica gel de fase normal y se adiciono la fase móvil en las proporciones señaladas en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Fracciones obtenidas de la cromatografía de columna fase normal.

Fracción	Hexano-Acetato de Etilo
1 - 4	100
5 - 9	90 - 10
10 - 14	80 - 20
15 - 18	70 - 30
19 - 22	60 - 40
23 - 26	50 - 50
27 - 31	40 - 60
32 - 35	30 - 70

Estas fracciones tuvieron seguimiento con cromatografía en capa fina (CCF) ocupando placas de aluminio recubiertas de sílica gel F₂₅₄ (fase normal, cat. 1.05554.0001, Merck) usando para este caso una fase móvil de hexano:acetato de etilo y al llegar a las fracciones que corresponden a la 19 - 20 se cambió la fase móvil por H₂O: Acetonitrilo. Se usaron estándares de arbutina y gastrodina.

Al observar las fracciones que presumiblemente tenían los compuestos de interés, se reunieron las fracciones similares y se montó una cromatografía gravitacional abierta fase reversa sílica gel 60 RP-18 dada a la polaridad de los compuestos y para obtener una mayor purificación de ellos, el sistema ocupado para este caso se presenta en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Fracciones obtenidas por cromatografía de columna fase reversa.

Fracción	Fase móvil
	H ₂ O (%) -ACN (%)
1-5	100
6 – 10	90 - 5
11 – 15	90 - 10
16 – 20	85 - 15
21 – 25	80 - 20
26 – 30	75 – 25
31 - 35	70 - 30
36 - 40	65 – 35
41 - 45	60 – 40
46 - 50	55 - 45

4.5.4 Cromatografía por HPLC

El HPLC empleado consta de un sistema cromatográfico de Módulo de Separación (Waters 2695), un Detector de serie de fotodiodos (Waters 2996) y una Columna Licrosphere 100 RP-I8 de 250 x 4 mm (5 µm de tamaño de partícula). El sistema de gradientes empleado en el equipo HPLC se presenta en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Sistema de gradiente de equipo HPLC.

	Tiempo (min)	Flujo (ml/min)	%A	%D
1	0.00	0.90	100	0.0
2	1.00	0.90	100	0.0
3	2.00	0.90	95	5.0
4	3.00	0.90	95	5.0
5	4.00	0.90	70	30.0
6	20.00	0.90	70	30.0
7	21.00	0.90	50	50.0
8	22.00	0.90	50	50.0
9	23.00	0.90	50	5.0
10	24.00	0.90	20	80.0
11	25.00	0.90	20	80.0
12	26.00	0.90	0.0	100.0
13	27.00	0.90	0.0	100.0
14	28.00	0.90	100	0.0
15	30.00	0.90	100	0.0

4.5.5 Extracción y cuantificación de compuestos a partir de órganos de *B. procumbens*.

Con la finalidad de conocer en que órgano de la planta se concentran los metabolitos secundarios de interés, se separaron flor, hoja, tallo y raíz, de la planta y planta entera, se maceraron por dos días por separado, con acetato de etilo y por último con metanol.

4.5.6 Extracción y cuantificación de compuestos en diferente etapa fenológica

Las plantas obtenidas por germinación de semilla se conservaron en invernadero y a partir de ellas se tomaron muestras de la fase vegetativa, floración y reproductiva. Dichas muestras se maceraron con metanol en fresco, para su posterior análisis en HPLC, también se analizaron mediante UPLC masas.

4.6 Análisis en UPLC-Masas

Con la finalidad de identificar los metabolitos secundarios: arbutina, procumgastrodinas verificando su presencia con espectros UV y su peso molecular, se analizaron las muestras de órganos y fases fenológicas. También se tomó en cuenta únicamente por el peso molecular otros metabolitos identificados en la fracción orgánica de *B. procumbens* por Martínez-Cuazitl et al. (2022). Los pesos moleculares de los compuestos fueron identificados mediante análisis cromatográfico líquido usando un Acquity UPLC (Waters, Milford MA, EE. UU.). Se ocupó una columna Acquity UPLC BEH C18 de 1.7 μm de tamaño 2.1 x 50 mm. El sistema de gradientes ocupado en la cromatografía UPLC fue en la línea A agua al 0.5% de ácido trifluoroacético y en la línea B acetonitrilo (Cuadro 9). Este sistema de separación incluía una bomba cuaternaria, un horno de columna con muestreador automático y un detector de matriz de fotodiodos acoplado a un espectrómetro de masas triple cuádruple "Xevo" (Waters) equipado con una fuente de ionización por electroaspersión (ESI) (Waters) calentada a 150 °C. La temperatura de desolvatación 220 se ajustó a 500°C y el flujo de gas de desolvatación fue de 700 l / h de nitrógeno. Se utilizó argón como gas de colisión a un caudal de 0,10 ml / min. (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Alemania).

Cuadro 9. Sistema de gradientes del equipo UPLC

Tiempo	Flujo	%A	%B
Inicio	0.300	100	0.0
2.00	0.300	70	30
7.00	0.300	70	30
10.00	0.300	70	30
15.00	0.300	30	70
16.00	0.300	0.0	100
17.00	0.300	100	0
20.00	0.300	100	0

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Estudio del conocimiento tradicional de *Bacopa procumbens* en Huasca de Ocampo, Hidalgo

5.1.1 Características de los entrevistados

La mayoría de las personas entrevistadas que conocían la planta fueron mujeres (69 %), la mayor parte en edad adulta, entre 40 y 60 años, cuya ocupación principal es la de ama de casa. En menor proporción se presentaron mujeres jóvenes y adultas mayores (Cuadro 10). Estos resultados demuestran, como en otros estudios, que la participación de las mujeres en el conocimiento tradicional sobre el uso de las plantas es relevante, ya que a lo largo de la historia se considera que la selección, recolección y cultivo de plantas ha estado a su cargo (Alberti-Manzanares, 2006).

Entre los diferentes roles asignados a la mujer en la sociedad, uno de los más relevantes es la atención primaria de la salud dentro y fuera de la familia, aplicando su conocimiento sobre plantas medicinales para aliviar los malestares de su familia, generando con esto la conservación de recursos naturales, participando de esta forma en el avance del conocimiento científico médico (Alberti-Manzanares, 2006; Vázquez et al., 2011; Velázquez et al., 2019) y en la preservación de este conocimiento, el cual lo van heredando a su descendencia, principalmente de madre a hijos, tal como lo comentaron los entrevistados en este estudio.

De igual forma Jiménez et al. (2015), quienes realizaron un estudio sobre el proceso de transmisión e intercambio de saberes en medicina tradicional en la región Totonaca del estado de Veracruz, mencionan que el 100% de las mujeres entrevistadas admitían su interés en conservar y transmitir estos saberes tradicionales para su aplicación dentro de la familia, debido al rol que tienen en el cuidado general del hogar, incluyendo la salud de los miembros de su familia.

Cuadro 10. Perfil de las personas entrevistadas en Huasca de Ocampo, Hidalgo

Características	Número de entrevistados		Número total
	Masculino	Femenino	
Género	8 (31%)	18 (69%)	26 (100%)
Edad (Categoría)			
20-30 (Joven)	3 (11%)	1 (4 %)	4 (15%)
41-50 (Adulto)	2 (8 %)	4 (15 %)	6 (23 %)
51-60 (Adulto)	1 (4 %)	10 (38 %)	11 (42 %)
61-70 (Mayor)	0	1 (4 %)	1 (4 %)
71-80 (Mayor)	2 (8 %)	1 (4 %)	3 (12 %)
81-90 (Mayor)	0	1 (4 %)	1 (4 %)
Ocupación	8 (31 %)	18 (69 %)	26 (100 %)
Ama de casa	0	10 (38 %)	10 (38 %)
Agricultor	2 (8 %)	1 (4%)	3 (12 %)
Brigadista	2 (8 %)	0	2 (8 %)
Comerciante	3 (11 %)	6 (23 %)	9 (34 %)
Servidor público	0	1 (4 %)	1 (4 %)
Jubilado	1 (4 %)	0	1 (4%)

La edad de las y los informantes osciló desde 23 hasta 83 años, mostrando una amplitud de 60 años, lo cual resalta que, aunque hay pocas personas que identifican a la especie

B. procumbens, el conocimiento en torno a esta planta se distribuye ampliamente entre jóvenes y adultos mayores; sin embargo, los informantes que identifican y hacen uso de esta planta son de las categorías de adultos y adultos mayores; es decir, de más de 40 años, predominando el grupo de más de 50 años (Cuadro 9). De manera similar Molina-Mendoza (2013) señala que el conocimiento sobre las plantas medicinales en San Miguel Regla, municipio de Huasca de Ocampo, se conserva en personas de más de 50 años.

Este aspecto es relevante porque permite establecer que, aunque la identificación de la planta puede darse entre informantes menores de 40 años, el conocimiento sobre sus propiedades medicinales se reduce a un grupo de adultos y adultos mayores con edad superior a 50 años. Resultados similares obtuvo Garzón (2016) quien hizo un estudio sobre el conocimiento medicinal en Macedonia, Amazonas, encontrando que el conocimiento radica en los adultos y adultos mayores principalmente y en un estudio realizado por Canales et al. (2006), quienes realizaron un análisis cuantitativo del conocimiento tradicional de plantas medicinales del valle de Tehuacán, revelando que existe una tendencia a que las personas de mayor edad y con mayor antigüedad en el poblado, son quienes conocen más plantas de uso medicinal.

5.1.2 Características de las especies

Las especies vegetales comúnmente son conocidas por los habitantes de las distintas regiones de acuerdo con sus propiedades o características físicas, ya sea por tamaño, forma, color, uso medicinal, ornamental o alimenticio. Estos nombres comunes o vulgares dependen de la lengua nativa, de la comunidad en donde se ubican y de cómo aprecian los grupos humanos a esas especies. En este sentido las y los entrevistados conocen a *B. procumbens* con el nombre popular de: metatera, oreja de ratón y un entrevistado mencionó el nombre de trencilla; los nombres anteriores ya han sido reportados por otros autores (Standley y Williams, 1973; González-Cortázar et al., 2019). Al parecer existe confusión en los nombres comunes con que se identifica a *B. procumbens*, pues en otros estudios se le ha referido como hierba golondrina; sin embargo, en el presente estudio la mayoría de los informantes coincidió en que no se trata de la hierba golondrina, pues ésta tiene tallos rojos y es más pequeña que *B. procumbens*. Directamente en campo algunos entrevistados ubicaron para mostrar a la

otra especie vegetal, lo que sugiere que está siendo confundida, con otra planta, la cual fue identificada como: *Acalypha phleoides* Cav. (ID: 85811). Si bien esta última no es una planta rastrera, en invierno se encuentra a ras del piso e inicia su crecimiento meses después.

Los informantes coincidieron en su mayoría (90 %) que *B. procumbens* es una planta que se encuentra abundantemente en la región y refirieron encontrarla en los llanos, en época de lluvias (primavera-verano); también señalaron que principalmente son las mujeres las encargadas de colectarla. Este resultado permite corroborar el papel que tiene la mujer en el cuidado de la salud de su familia y la labor milenaria que ha tenido a través de la historia, como recolectora y manejadora de las plantas medicinales (Rodríguez et al., 2008). Lo anterior permite relacionar a esta especie vegetal en una estrecha relación con las mujeres, quienes son las encargadas de identificar y conocer el ciclo de las plantas útiles, mediante la ubicación de este recurso, la recolección del mismo y la preparación para su consumo (Alberti-Manzanares, 2006) o aplicación.

Para Alqethami et al. (2020) el conocimiento acerca de las especies vegetales es diferente en el aspecto de género, pues las mujeres poseen el conocimiento tradicional de las plantas medicinales y los hombres al tener el papel de proveedor de recursos, usan a las especies con otros propósitos como lo comentaron los entrevistados en este estudio, al señalar que ellos observaban que el ganado consumía esta planta cuando se les pastoreaba; lo anterior refleja el sentir del enfoque ecofeminismo socialista en el cual se considera que el origen de las diferencias de relación que hombres y mujeres mantienen con el entorno están dadas por las actividades que han sido asignadas socialmente, siendo las mujeres las que tienen un contacto más directo con los recursos naturales (Carcaño, 2008).

5.1.3 Uso tradicional

En este estudio se indagó acerca de los usos medicinales tradicionales de *B. procumbens* en el municipio de Huasca de Ocampo, encontrando que se usa para disminuir o aliviar el dolor de estómago, para sanar heridas, para calmar el dolor de muelas, dolor de riñón, hinchazón y fiebre; la mayoría de los entrevistados mencionó que

usan la planta para aliviar dolores de estómago (Figura 13); en otro estudio sobre esta especie Argueta et al. (1994) reportan el uso de esta planta para el tratamiento de enfermedades infecciosas como diarrea, malaria, desórdenes biliares y tosferina. El uso de esta especie para el tratamiento de heridas coincide con lo mencionado por Molina-Mendoza (2013), quien realizó un estudio etnomédico en San Miguel Regla, entrevistando a una persona recomendada por los habitantes del municipio y concluye que en esta comunidad se utiliza a *B. procumbens* para el tratamiento de heridas. Este dato fue corroborado por Hidalgo (2010), quien determinó el efecto cicatrizante del extracto acuotánico de *B. procumbens* en fibroblastos de ratón. Al igual que la especie *Bacopa monnieri*, planta usada en la medicina tradicional hindú y cuya actividad cicatrizante se confirmó al usar un extracto etanólico de las partes aéreas de la planta en modelos murinos, siendo las saponinas las responsables de tal efecto (Gosh et al., 2007).

Otro de los usos mencionados fue el de remedio para aliviar la fiebre; este uso ya ha sido reportado previamente por Gheno et al. (2011) en su estudio realizado en Veracruz. Otra aplicación reportada por los informantes fue el tratamiento para el dolor de muelas; este uso no había sido reportado previamente para esta especie; sin embargo, este uso puede relacionarse con los efectos como desinflamante y antimicrobiano reportados por Argueta et al. (1994) y González-Cortázar et al. (2019) en sus respectivos estudios.

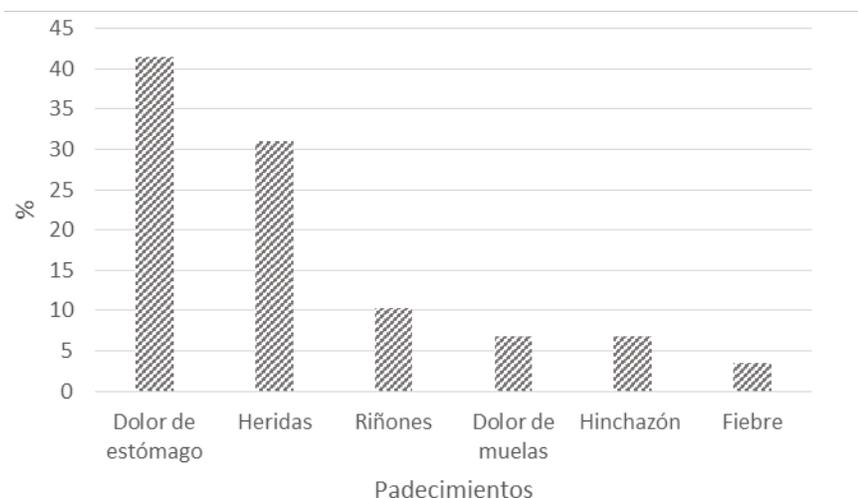


Figura 13. Usos medicinales de *B. procumbens* en Huasca de Ocampo, Hidalgo.

El conocimiento acerca de las plantas útiles a la humanidad data de muchos siglos, nuestros ancestros colectaron una gran cantidad de especies, aprendieron sobre el ciclo de las plantas (Evans, 1996) y el aprovechamiento de las mismas mediante un proceso empírico descrito por Webb (1973), el cual consistió en “comer, morir y aprender”; mediante este proceso se considera que adquirieron el conocimiento de diferenciar qué plantas eran comestibles y cuáles no, así como las que tenían algún efecto en su organismo (Webb, 1973, citado en Evans, 1996).

De esta manera lograron seleccionar a las plantas medicinales (Santillán, 2012) y a otras especies que satisfacían otras necesidades inherentes al ser humano. Muchas de estas plantas usadas de manera empírica han sido fuente importante de los fármacos en uso en la medicina contemporánea. Tal es el caso de la sedante escopolamina extraída de *Datura metel*, L-Dopa, un antiparkinsoniano obtenido de *Mucuna deeringana*; Colchicina antitumoral, antigotoso obtenido de *Conchicum autumnale* L., entre otros (Fransworth et al. 1989).

El conocimiento sobre el uso empírico de las plantas medicinales reviste importancia para el proceso de investigación científica en torno a una planta con estas propiedades, pues este conocimiento inicia con las investigaciones etnobotánicas, mediante las cuales se diseñan y aplican metodologías que han de ser complementadas con otras disciplinas de la ciencia como fitoquímica, farmacología, toxicología y biotecnología, a fin de corroborar las propiedades medicinales de dichas especies y sus efectos en los organismos vivos. Lo anterior resalta la necesidad de valoración del conocimiento tradicional hacia las plantas medicinales (Bermúdez et al., 2005).

La combinación de diversas plantas medicinales para atender algún problema de salud es una práctica muy popular, reconociéndose que la eficacia terapéutica de ciertas mezclas de plantas es conocida y ha sido documentada, ya que existen enfermedades multifactoriales que pueden tratarse mejor con la combinación de diversas plantas (Gras, et al., 2018); sin embargo, en algunos casos las plantas utilizadas en las mezclas se seleccionan con actividades similares, con la finalidad de potencializar el efecto terapéutico (Almeida et al., 2021) o simplemente para mejorar el sabor de la preparación (Gras et al., 2018).

Con base en lo anterior se preguntó si combinaban a *B. procumbens* con otras plantas. Dos entrevistados mencionaron que al presentarse una enfermedad gástrica mezclaban con *Bacopa* diversas plantas para aliviar el malestar, con la finalidad de potencializar el efecto y quitar el dolor más rápido y también combinaban con otras plantas para suprimir el vómito o diarrea.

La eficacia de un remedio tradicional se relaciona estrechamente con la forma de prepararlo y administrarlo para obtener el efecto deseado (López, 2002). Las formas tradicionales de preparación de los remedios han sido, infusiones, zumos, decocción, maceración, tinturas, vinos principalmente y los tipos de administración en la medicina tradicional son de forma oral, tópica y en baños (Garzón, 2016). Al respecto, los informantes mencionaron que la manera más común de preparar a *B. procumbens* para su aplicación es hervida; es conocido que esta forma de preparación y la administración oral son las más comunes en la medicina tradicional, ya que este procedimiento permite extraer las sustancias activas y las infusiones se utilizan, tanto para vía interna, como externa (López, 2002). Uno de los entrevistados comentó que él realizaba una tintura, la cual empleaba para el dolor de muelas.

La mayoría de los entrevistados mencionó que ocupan únicamente tallos y hojas, como se ha reportado en otros trabajos (Alberti-Manzanares, 2006; Ríos et al., 2017) lo que permite la conservación de este recurso vegetal. Esto es característico del conocimiento tradicional, que además de incluir creencias, valores, respeto y cuidado del medio ambiente, también incluye el conocimiento del manejo de las plantas medicinales con la finalidad de la conservación (Cortés y Venegas, 2011). Este punto es importante porque cuando la planta es recolectada en su totalidad, en ocasiones no se toma en cuenta la abundancia o disponibilidad del mismo y existe la posibilidad de contribuir a la reducción de la disponibilidad de la especie, poniendo en riesgo la conservación de ésta en su hábitat.

La combinación de diferentes especies, así como la forma de su preparación son factores importantes a tomar en cuenta en la atención a ciertos problemas de salud, ya que las plantas crudas, hervidas o extractos de éstas, incluyen diversos metabolitos secundarios como son fenoles, flavonoides, saponinas, taninos, terpenos, etc., los cuales tienen

actividad biológica en el metabolismo de los humanos; además, la manera de prepararlos puede modificar el efecto de su uso, alterando los compuestos orgánicos suministrados, pudiendo afectar la concentración de los mismos al ser ingeridos (Carrillo et al., 2010).

Todos los entrevistados coincidieron en que esta especie no está relacionada con algún ritual o leyenda local que ellos conozcan, lo que puede sugerir que a pesar de la importancia local que dan a esta planta como parte de la atención de su salud, esta importancia no trasciende a otros ámbitos propios de la cultura de la población; en contraste, *Bacopa monnieri* en la India, es usada en la medicina aryuvedica, siendo este un sistema médico tradicional practicado en la India que considera al ser humano en su totalidad (cuerpo, mente y espíritu) combinando el empleo de plantas, una nutrición apropiada, purificación y una forma positiva de vivir para mantener armonía y equilibrio (Alcalde, 2006; Kumar et al., 2016; Mishra et al., 2018).

5.1.4 Análisis de correspondencias múltiple

Por la importancia de las respuestas a las preguntas individuales, se consideró importante buscar si existe relación entre la edad, en las categorías de joven, adulto y mayor, el género de los informantes (masculino y femenino), quién le enseñó a utilizar la planta, la forma de almacenamiento o conservación y si se cultivaba o no a la misma; para lo anterior se realizó un análisis de correspondencias. Con este análisis se encontró que con las dos primeras dimensiones se explicó el 37.7 % de la inercia total, la cual es el equivalente a la varianza (SAS, 2012-2018), con un valor de Chi-cuadrada total de 342.5, el cual resultó altamente significativo estadísticamente ($p < 0.0001$), denotando que las variables tienen cierta correspondencia entre ellas.

Con base en estos resultados, se elaboró una gráfica de dispersión para las primeras dos dimensiones (Figura 14) resultando que los adultos del género femenino están más relacionados con el aprendizaje del uso de esta especie a través de sus amistades y, generalmente no almacenan a la planta, lo que significa que cuando se requiere de la misma, se colecta directamente en el campo. En la Figura 14 también se observa que no es común cultivar a la planta, por lo que seguramente el nivel de domesticación de esta es incipiente y el uso se limita a través de la recolección. De igual manera, se observa

que el uso de esta planta mediante la preparación y conservación en alcohol es poco frecuente. También se observa que la categoría de personas mayores y del género femenino están más relacionados con el aprendizaje del uso de esta planta a través de la familia y, que también están más relacionados con la conservación de la misma mediante el desecado de la planta; sin embargo, a la categoría de jóvenes se les relaciona menos con las variables antes mencionadas.

Lo anterior es importante de resaltar porque deja apreciar las diferencias generacionales en el conocimiento tradicional y la adquisición de este sobre el uso de *B. procumbens*. Resultados similares presentaron Pasquini, et al. (2014) en un estudio acerca del conocimiento de plantas comestibles en tres comunidades afrodescendientes en Colombia, en donde la generación de jóvenes evidenció niveles más bajos de conocimiento de algunas plantas bajo estudio. También se observó que los hombres (55.1 %) proporcionaban más información de algunas plantas respecto a las mujeres (51.4 %). Estos resultados según los autores se deben a que los hombres juegan un papel importante en el reconocimiento de las plantas comestibles y semi-silvestres, en contraste con las mujeres donde su conocimiento se ubica en hábitats más intervenidos como huertos familiares, campos de cultivo, etc.

Únicamente dos entrevistados mencionaron que tenían la planta en su patio, con la finalidad de abastecerse cuando fuera necesario, esto demuestra el incipiente proceso de domesticación al que está sometida esta especie; esta manera de conservar a la especie es importante debido a que no merma las poblaciones silvestres y se evita poner en amenaza o peligro de extinción cuando un recurso vegetal es explotado en exceso, además conlleva otras ventajas en cuanto al uso medicinal, al tener a la planta bajo cultivo se obtiene una colecta homogénea de las plantas sin correr el riesgo de una identificación errónea, contaminación de plagas o enfermedades. No obstante, se debe tomar en cuenta que en el establecimiento como cultivo, se deben considerar condiciones específicas en el manejo, evaluando siempre el efecto terapéutico o la producción de los compuestos activos (Martínez, 2017), pues se corre el riesgo de generar una variación (o disminución) de la producción de los metabolitos secundarios, los cuales se sintetizan debido a los factores bióticos y abióticos que rodean a las plantas

en su ambiente natural, los cuales son los responsables del efecto terapéutico (Bautista et al., 2012).

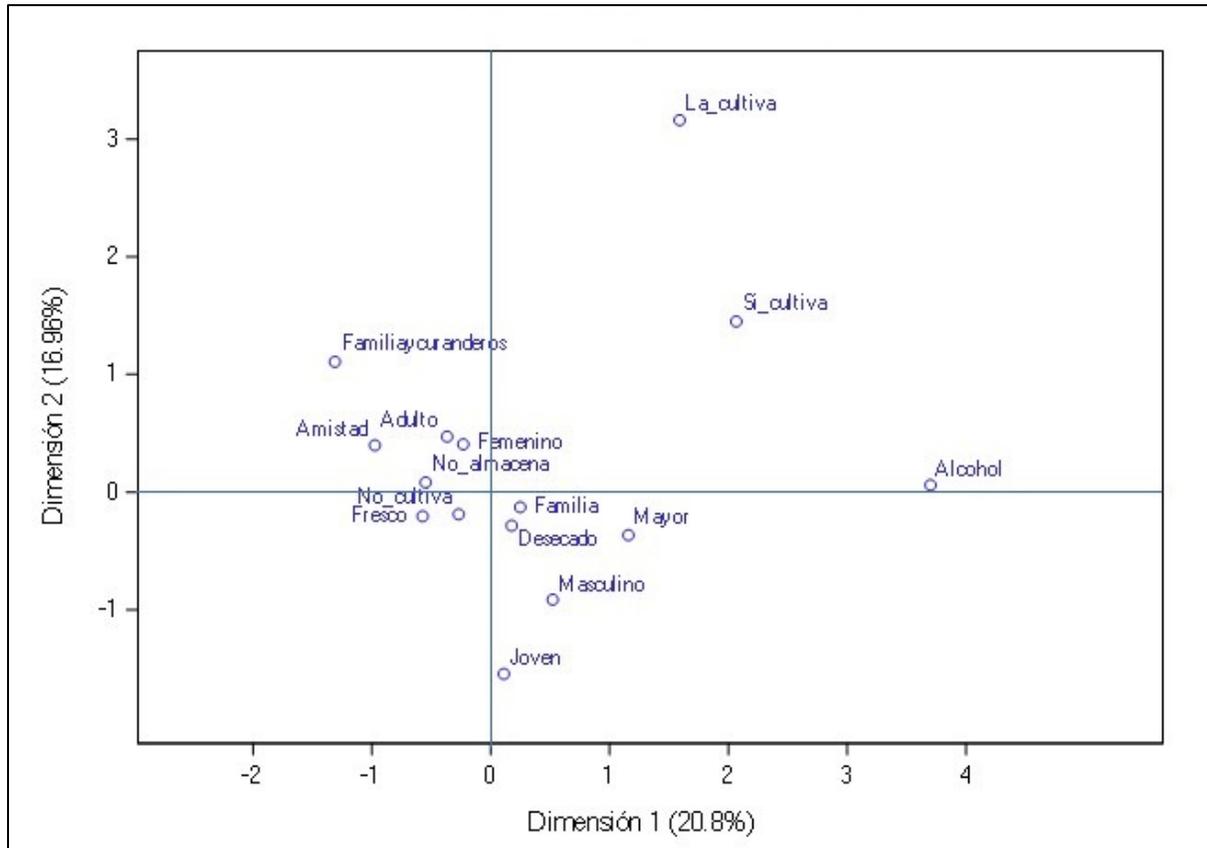


Figura 14. Análisis de correspondencias en base a las respuestas de los informantes del municipio de Huasca de Ocampo, Hidalgo.

5.2 Propagación de plantas

5.2.1 Material vegetal e identificación taxonómica de la especie

Las plantas colectadas se propagaron en el invernadero de CIBA-IPN, donde se han mantenido y propagado (Figura 15). Las plantas procedentes de la población de San Miguel Regla fueron identificadas taxonómicamente por la bióloga María Edith López Villafranco con fichas depositadas en el herbario IZTA-FLORA ÚTIL DE MÉXICO de la Facultad de Estudios Superiores de Iztacala, UNAM, con número de registro 1792 y en la BUAP teniendo el número de registro 85813 para el caso de la población de El Tejocotal.

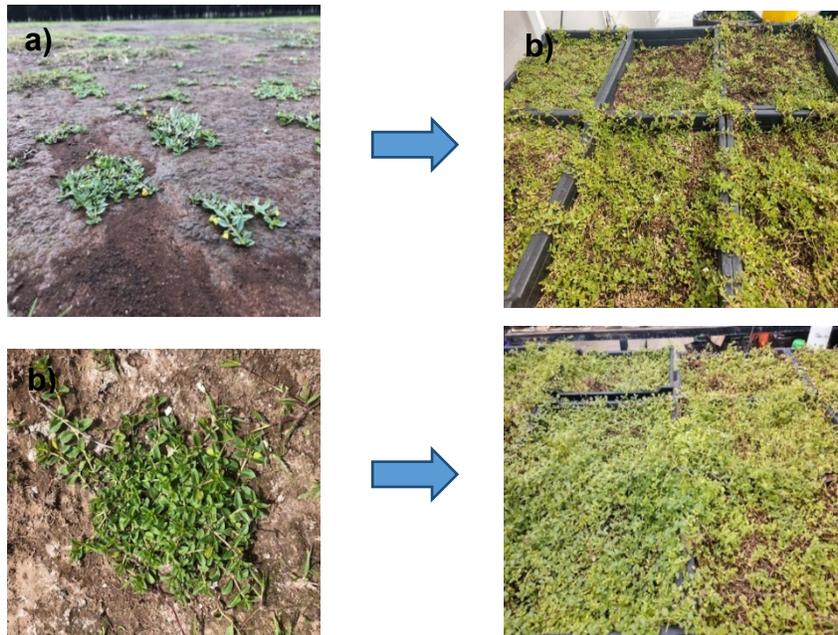


Figura 15. a) Plantas colectadas en presa El Tejocotal a 2,149 msnm con Coordenadas 20°07'45" N 98°07'51"W. b) Plantas colectadas en San Miguel Regla a 2,086 msnm con coordenadas: 20°12'55" N 98°33'22"W.

Las características morfológicas de las plantas desarrolladas en invernadero se han mantenido, en relación con sus características mostradas en su lugar de recolección; la población de San Miguel Regla colectada en un ecosistema boscoso presenta nudos más largos, flores y frutos escasos; tamaño de hoja mayor (0.5 cm más); en contraste con la población de El Tejocotal (orilla de una presa), la cual presenta una coloración verde intensa y en cada nudo forma flor o fruto, tiene un menor tamaño en hojas y su velocidad de crecimiento es menor a la observada en la población de San Miguel Regla (Figura 16).

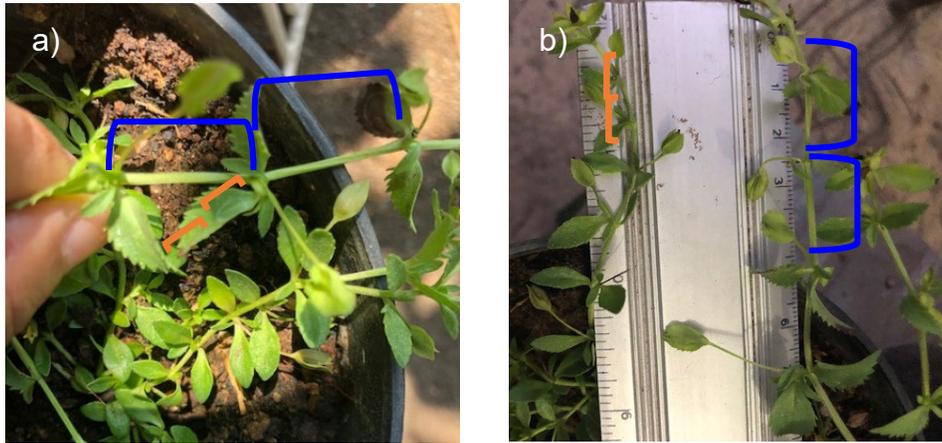


Figura 16. Modificaciones en las características fenotípicas de *Bacopa procumbens*
a) población de San Miguel Regla, b) población de El Tejocotal.

Estas características han sido descritas por varios autores, quienes señalan que los alargamientos de los entrenudos y la reducción de ramas constituyen un síndrome de respuesta a situaciones de sombra (Crawley, 1997; Gurevitch et al., 1986). Tal como sucede con la planta *Convolvulus anensis*, la cual al estar en sombra presenta alargamiento de entrenudos, peciolo, menor ramificación, alargamiento y adelgazamiento del tallo principal; hojas más grandes, redondeadas y menos gruesas, estas características las presenta la población de San Miguel Regla. En el caso de la población de El Tejocotal, la cual se ubica a la orilla de una presa donde existe un suministro de humedad constante, se observa acortamiento de entrenudos y peciolo, acortamiento de tallo principal, hojas pequeñas y de menor peso, tal como lo menciona Gianoli (2001) que ocurre en otras especies; por lo anterior se puede concluir que *B. procumbens* presenta plasticidad fenotípica en la expresión de sus características, ya que tiene la capacidad de generar diferentes fenotipos en respuesta a cambios en el ambiente (Valladares et al., 2006).

Al observar las características de ambas poblaciones en campo y en invernadero, se puede inferir que la propagación de la población de San Miguel Regla tiene la tendencia a propagarse mayormente de manera asexual, en contraste con la población de El Tejocotal, ya que esta última presenta abundantes frutos o flores en sus ramas (Figura 17); al respecto, muchas poblaciones pueden mantenerse por reproducción sexual o

propagación clonal, esto varía por los diferentes hábitats en los que se encuentren éstas, tal como sucede en estas dos poblaciones que fueron la base para el presente estudio.

Estas variantes reproductivas surgen por adaptaciones en la interacción con el ambiente, en el caso de la propagación clonal, ésta ocurre cuando las plantas se deben adaptar a hábitats severos con recursos limitados, como agua, luz y nutrientes, como ocurre con la población de San Miguel Regla (González y Gianoli, 2004). Las ventajas de la reproducción asexual incluyen la habilidad para colonizar rápidamente en hábitats abiertos para formar parches densos y tener así mayores tasas de crecimiento y sobrevivencia. En el caso de la reproducción sexual, ésta incluye el incremento de diversidad, reduce la competencia intraespecífica local, aumenta la dispersión potencial para iniciar nuevas poblaciones lejos de las plantas parentales (Liu et al., 2017), esta forma de reproducción puede generarse por la necesidad de una recombinación genética para acelerar la adaptación a un nuevo hábitat (Qing-Yu et al., 2014).



Figura 17. Flor y fruto de poblaciones de *Bacopa procumbens* mantenidas en invernadero: a) Plantas en floración de la población de San Miguel Regla, b) Frutos de la población de El Tejocotal.

5.2.2 Reproducción de *B. procumbens*

5.2.2.1 Propagación vegetativa con diferente número de nudos

Los esquejes con dos nudos formaron raíz, pero no hubo sobrevivencia pues se presentó pudrición en las plantas obtenidas, probablemente debido al tamaño del esqueje y a que estuvo en contacto directo con la humedad del sustrato por la manera de colocarlos. En el caso de los esquejes con cinco nudos, se presentó la formación de dos a cuatro nudos nuevos, en el caso de la población de San Miguel Regla, fue en donde se encontró la presencia de raíz por cada nudo de los esquejes y mayor crecimiento, en contraste con la población de El Tejocotal, donde también se registró un crecimiento menor y si bien todos los esquejes presentaban raíz, el número de nudos enraizados de cada uno de ellos fue menor respecto a la población de San Miguel Regla; sin embargo, en la población de El Tejocotal se observó floración y fruto.

Esto podría deberse al esfuerzo productivo de la planta, ya que la reproducción sexual y clonal paralelamente puede generar una disyuntiva en el destino de los recursos por cada estrategia de reproducción, repercutiendo en el crecimiento de la planta, como en el caso de la población de El Tejocotal (Avendaño, 2016).

Respecto a la propagación por estolón se observó la aparición de raíz a los 10 días en cada nudo, teniendo una sobrevivencia del 100%.

5.2.2.2 Propagación vegetativa con diferentes sustratos

Para los sustratos (peat moss y la espuma fenólica) en los que se colocaron los esquejes se observaron las primeras raíces después de 4 a 5 días de haber realizado el trasplante (Figura 18), esto ocurrió con todos los esquejes colocados, es decir los de 3 y 5 nudos, con flor y sin flor, aunque se observó que después de dos semanas (15 días) de haber realizado el trasplante y después del registro de datos de los esquejes, los que se colocaron en espuma fenólica con 3 y 5 nudos con y sin flor, fueron los que generaron mayor crecimiento radicular (Figura 19).



Figura 18. Crecimiento de primeras raíces adventicias.

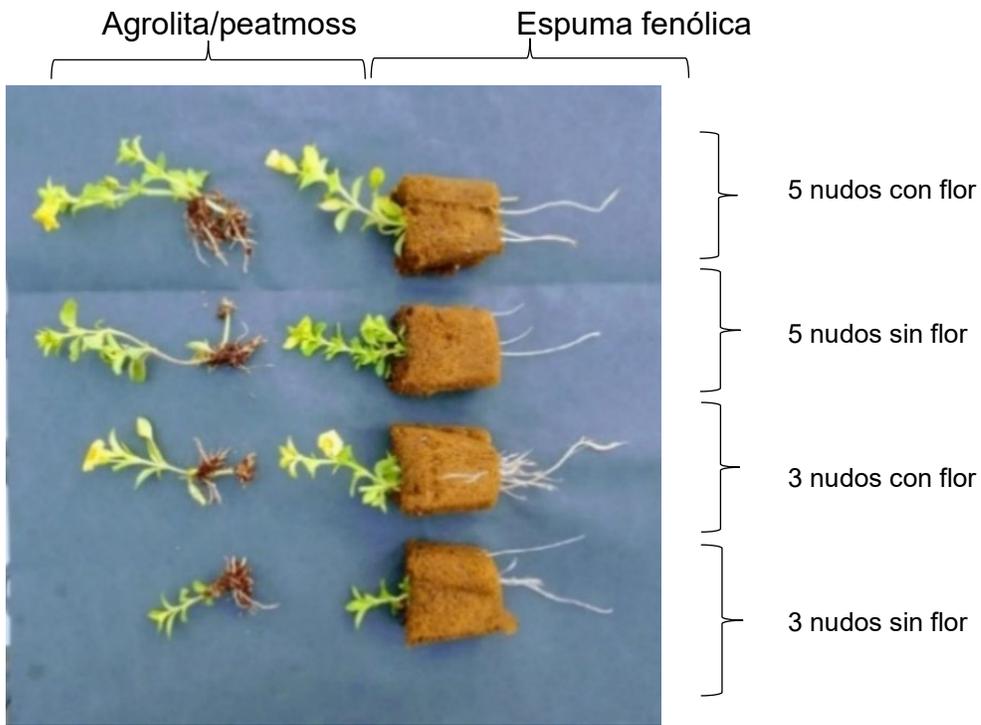


Figura 19. Comparación del crecimiento con los ocho tratamientos.

Del análisis de varianza tomando los ocho tratamientos se encontró que hubo diferencias estadísticas significativas ($p < 0.0001$) para las longitudes (cm) alcanzadas en la parte

aérea y la raíz, entre tratamientos, es decir, en las combinaciones del tipo de sustrato con los diferentes esquejes, con la presencia de flor o sin flor y con diferente número de nudos. Al observar los resultados de la comparación de medias de Tukey ($p = 0.05$), en el crecimiento de la parte aérea no se observa una tendencia clara, aunque en el crecimiento de raíz, los valores superiores en crecimiento de raíz coinciden con el sustrato de espuma fenólica (Cuadro 11).

La propagación de la planta *B. procumbens* en espuma fenólica es más efectiva que en la mezcla de peat moss con agrolita, pues hubo mayor crecimiento radicular en el mismo número de días, estos datos nos indican que la porosidad y aireación son un factor importante para que la raíz pueda expresar su máximo potencial, pues la espuma fenólica tiene una porosidad del 96 %, superior a la de la mezcla peat moss:agrolita, la cual presenta una porosidad del 87 %, de acuerdo con Ansorena (1994). Lo anterior influye en la aportación de espacio al sistema radicular para poder penetrar fácilmente y expandirse; además del material sólido que conforma al sustrato, pues la espuma fenólica es mucho menor en su cantidad de materia sólida, generando menos resistencia al crecimiento de las raíces (Cuadro 12).

Cuadro 11. Comparación de medias en longitud (cm) de parte aérea y raíz en la prueba de propagación de esquejes, en base al efecto de tratamientos.

Tratamiento	Longitud de parte aérea (cm)	Longitud de raíz (cm)	Sobrevivencia (%)
T6 _{p5s}	5.364±0.576a	2.144 ± 0.380c	92
T4 _{e5f}	5.256±0.613a	6.008±0.653a	96
T8 _{p5f}	5.236±0.596a	2.500±0.536c	92
T2 _{e5s}	5.008±0.494a	5.164±0.515b	96
T3 _{e3f}	2.224±0.265b	6.052±0.650a	100
T7 _{p3f}	2.192±0.368b	2.500±0.500c	96

Tratamiento	Longitud de parte aérea (cm)	Longitud de raíz (cm)	Sobrevivencia (%)
T5 _{p3s}	2.108±0.336b	2.100±0.341c	96
T1 _{e3s}	2.084±0.303b	5.064±0.610b	100
DMSH	0.402	0.464	

Medias con las mismas letras en columnas son estadísticamente iguales (Tukey, $p=0.05$). T=Tratamiento. DMSH= Diferencia mínima significativa de Tukey. Las siglas en subíndices significan las condiciones de cada tratamiento: p: peat moss; e: espuma fenólica; 5: cinco nudos, 3: tres nudos; f: con flor; s: sin flor.

Al analizar la información en base a los factores sustrato, presencia o ausencia de flor en el esqueje y 3 o 5 nudos en cada esqueje, encontramos que para la longitud de parte aérea no existieron efectos para sustrato ni para presencia o ausencia de flor en el esqueje de propagación; sin embargo, hubo diferencias estadísticas significativas ($p<0.0001$) para el efecto del número de nudos presentes en el esqueje de propagación, lo cual indica que este factor es importante para el crecimiento de la parte aérea de la planta en la propagación de esta especie, aunque es evidente ya que los tratamientos (T6, T4, T8 y T2) con esquejes de 5 nudos fueron los que presentaron mayor altura, teniendo mayor ventaja que los de 3 nudos.

Este comportamiento fue diferente al crecimiento de la raíz, pues para esta variable si hubo diferencias estadísticas ($p<0.0001$) en el efecto de sustrato y de la presencia o no de flor en los esquejes de propagación; las diferencias fueron a favor del uso de espuma fenólica como sustrato y al emplear esquejes con flor (Cuadro 12); al contrario de lo ocurrido en la parte aérea, no hubo diferencias significativas en el crecimiento de la raíz para el número de nudos presentes en los esquejes de propagación.

Debe señalarse que la interacción sustrato x presencia o ausencia de flor fue altamente significativa ($p<0.0001$). Lo anterior puede explicarse por el hecho de que el efecto del sustrato es más directo en el crecimiento de la raíz, pues debe existir cierta porosidad que permita el crecimiento de este órgano subterráneo. El efecto del crecimiento radicular y los esquejes con flor puede deberse a los niveles de giberelinas, las cuales

son hormonas vegetales que actúan en la elongación de raíces, hojas jóvenes y floración, participando estrechamente en los procesos de iniciación floral, las principales etapas en donde se genera esta fitohormona se dan durante el desarrollo apical en las plantas (Alcántara et al., 2019). Es de destacarse que tanto para el crecimiento de la parte aérea como para el crecimiento de la raíz los valores del coeficiente de determinación (r^2) fueron bastante altos (0.92 y 0.91, respectivamente) (Cuadro 12).

Cuadro 12. Comparación de medias en longitud (cm) de parte aérea y raíz en la prueba de propagación de esquejes, en base al efecto de cada factor.

Variable	Sustrato		Presencia de flores en esquejes		Número de nudos en esquejes	
	Espuma fenólica	Peat moss:Agrolita	Con flores	Sin flores	3 nudos	5 nudos
Longitud de parte aérea (cm)	3.725a DMSH=0.129	3.643a	3.727a DMSH=0.129	3.641a	2.152b DMSH=0.129	5.216a
Longitud de raíz (cm)	5.572a DMSH=0.149	2.311b	4.265a DMSH=0.149	3.618b	3.929a DMSH=0.149	3.954a

Medias con la misma letra en hileras y para cada factor, son estadísticamente iguales (Tukey, $p=0.05$). DMSH= Diferencia mínima significativa de Tukey.

La asignación de los recursos energéticos que requieren las plantas para su reproducción se conoce como esfuerzo reproductivo, el cual dependerá del tipo de reproducción, sexual o clonal. En el caso de las plantas perennes como *B. procumbens*, proporcionan más recursos al crecimiento, mientras que algunas especies anuales o bianuales invierten más recursos en la reproducción sexual, dado que este evento ocurre una sola vez durante su vida (Avendaño, 2016). Mandujano (2007) menciona que para las plantas el asignar más o menos recursos a la reproducción depende de las características de cada especie, pues destinar mas energía a la reproducción puede

generar limitaciones en el crecimiento de otras estructuras, que aunque tenga semillas pequeñas, la planta las va a generar ya que la reproducción está en la genética de las especies para producir semillas y así perpetuar la especie.

5.2.3 Germinación de semillas

Respecto a los experimentos de las semillas bajo diferentes condiciones: cuarto de cultivo, cámara de crecimiento y condiciones *in vivo*; las semillas que fueron mantenidas por un mes en la cámara de incubación bajo obscuridad no presentaron germinación. En el caso de las semillas en el cuarto de cultivo con temperatura y fotoperiodo controlados, éstas germinaron a los 15 días, se observó que durante el cultivo aséptico que se realizó, las semillas perdieron color, ya que de ser semillas negras pasaron a color beige, estas semillas presentaron un 88 % de germinación, con un índice de germinación de 21.6 y una velocidad de germinación de 3.58. En el caso de las condiciones *in vivo*, las semillas iniciaron su germinación al día 30 después de la siembra con un 74.6 % de su germinación, con un índice de germinación de 22.28 y una velocidad de 4.3.

Como se puede observar en este último caso, la velocidad de germinación fue mayor a la del experimento dos, debido a que la velocidad de germinación aumenta en forma directa con la temperatura, respondiendo a fluctuaciones estacionales (Taylor et al., 1999) ya que en el cuarto de cultivo se mantiene una temperatura constante de 23°C, en contraste con el tratamiento tres, cuya temperatura ambiente fluctuó de 30 a 26°C como máximas y de 16 a 18°C como mínimas.

Las semillas de *B. procumbens* son fotoblásticas positivas, ya que no germinan en la oscuridad, sino que necesitan de luz para su germinación, como se pudo observar en el experimento uno, donde no hubo germinación al mantener las semillas en obscuridad (Figura 20). El tratamiento para el cultivo aséptico quizás funcionó como un tratamiento de estratificación, ya que las semillas del experimento dos, germinaron a los 15 días, en contraste con las semillas del experimento tres, las cuales germinaron hasta los 30 días.

Las mejores condiciones para la germinación de semillas y el desarrollo de plantas se obtuvieron en el experimento dos, con las semillas sembradas en cultivo *in vitro*, por lo que se dio el seguimiento correspondiente del crecimiento en el cuarto de cultivo. No

obstante, este experimento se repitió ocupando las poblaciones de San Miguel Regla y El Tejocotal, sin obtener los mismos resultados, ya que al tratarse de una especie silvestre los periodos de latencia variaron de 8, 15, 30 y hasta 45 días en los diferentes experimentos montados.

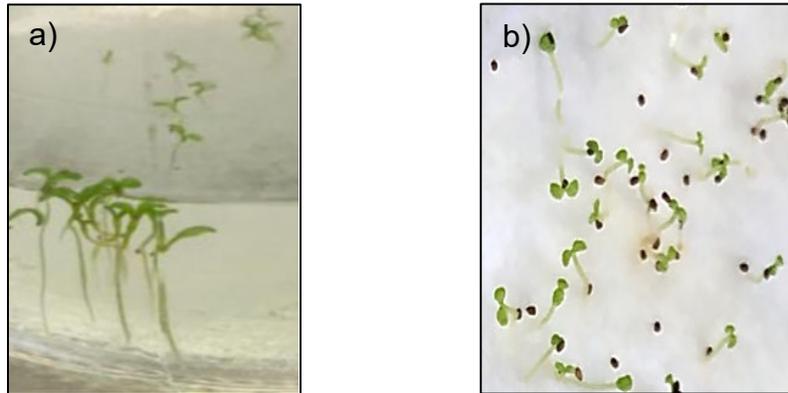


Figura 20. a) Plántulas germinadas *in vitro*, b) plántulas germinadas *in vivo*

5.2.4 Aclimatación

A los 30 días de la aclimatación, las plántulas presentaron buen desarrollo, duplicando su tamaño, teniendo una altura de 7.83 ± 3.202 , con una longitud de raíz de 38.708 ± 15.020 con un 100 % de sobrevivencia, por lo que se pasaron a charolas con sustrato y se colocaron bajo condiciones de invernadero para su observación. Las plántulas sembradas directamente a sustrato no presentaron un buen crecimiento y se observaron daños debido al cambio drástico de ambiente al pasar de la cámara de cultivo al invernadero (Figura 21). Por lo anterior, se puede señalar que es necesaria la aclimatación de las plántulas de *B. procumbens* obtenidas *in vitro*, siendo la reducción gradual de humedad un método eficiente para este caso.

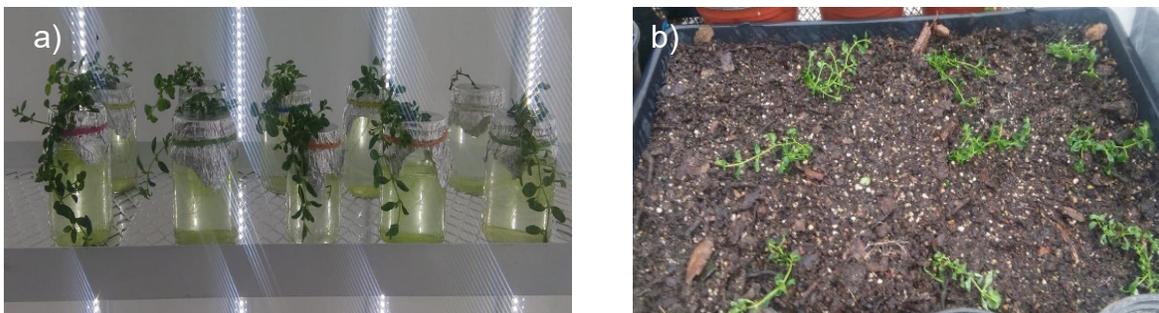


Figura 21. a) Plantas en proceso de aclimatación en cuarto de cultivo; b) plantas recién pasadas a sustrato en invernadero

5.2.5 Germinación de semillas con diferente fotoperiodo y temperatura

En este experimento hubo un bajo porcentaje de germinación, las primeras semillas que germinaron lo hicieron a los 30 días y esto se presentó únicamente en las semillas recién cosechadas; las condiciones fueron fotoperiodo y temperatura de 23°C. Los resultados en este caso ayudaron a corroborar que las semillas de *B. procumbens* requieren luz con fotoperiodo para lograr su germinación; sin embargo, la temperatura a 35°C no influyó en la germinación como los resultados que se obtuvieron en el experimento anterior. Dado el bajo índice de germinación no se pudo realizar el análisis estadístico. Los resultados anteriores dieron lugar a la necesidad de estudiar con más detalle el proceso de germinación de las semillas y de los factores que están influyendo sobre este proceso. A continuación, se mencionan los resultados más relevantes obtenidos con los experimentos relacionados con la estructura y fisiología de las semillas.

5.3 Análisis en semillas de *B. procumbens*

5.3.1 Prueba de tetrazolio

Pese a las diferentes pruebas que se realizaron con diferentes semillas de distintos frutos, diferentes concentraciones de tetrazolio manejadas y los diferentes tiempos de tinción de las 90 semillas de *B. procumbens* expuestas al tratamiento de tetrazolio, únicamente se logró observar que una sola semilla se tiñó de color violeta en algunas zonas, como se observa en la Figura 22, donde se encuentra visible bajo microscopio óptico a 100x, después del tratamiento de 48 h. Las semillas de *B. procumbens* control

a las cuales se les retiro la testa fueron observadas también a las 48 h en microscopio (Figura 22).

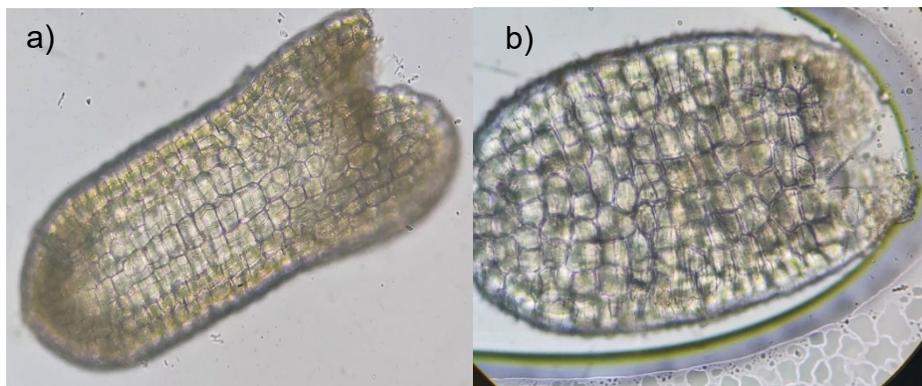


Figura 22. a) Semilla de *Bacopa procumbens* sin teñir con cloruro de tetrazolio, observada a 100x. b) Semilla con testa teñida.

Probablemente se debe establecer con otras variantes el protocolo para teñir las semillas de esta planta, de forma que las tinciones sean lo suficientemente homogéneas para asegurar una buena interpretación de los resultados. Estos resultados en ocasiones se ven afectados por la cantidad de lípidos, tiempo de tinción, condiciones de temperatura en las que se lleva a cabo la reacción, o incluso experiencia del analizador en dicha especie y en el método (Barone et al., 2016).

5.3.1.1 Escarificación mecánica (lijado)

De las cinco repeticiones con lijado, pasados 60 días no se presentó ninguna plántula de *B. procumbens*, a pesar de que se seleccionó uno de los métodos que han tenido buenos resultados en semillas con latencia por factores físicos. En el caso de semillas de *B. procumbens* no se consiguió una exitosa germinación, puesto que las semillas son de un tamaño considerablemente pequeño y existe la posibilidad de haber causado algún daño, de manera involuntaria, al embrión durante la escarificación.

5.3.1.2 Escarificación mecánica (incisión)

En la experimentación con semillas a las que se les realizó incisión, de las dos repeticiones realizadas con este método se observaron las semillas durante 20 días, encontrando en la primera repetición que 11 de 20 semillas lograron su germinación, obteniendo un 55% de germinación; en algunos casos solo se observó una pequeña radícula, apenas visible, como en la Figura 23. Estos resultados se pueden explicar en el hecho de que al realizar una abertura en las cubiertas seminales se favoreció la absorción de agua por la semilla, proceso de importancia para la respiración, síntesis proteica y movilización de reservas, a la división y alargamiento celular y teniendo como resultado la emergencia de la radícula (Doria, 2010).



Figura 23. Semilla de *Bacopa procumbens* con incisión.

Con las semillas germinadas se observó que *B. procumbens* tiene una germinación de tipo epigea, es decir que los cotiledones emergen del sustrato debido a un considerable crecimiento del hipocótilo. Después de esto inicia el desarrollo de epicótilo en cuyo extremo se formarán las primeras hojas u hojas verdaderas (Figura 24). En el caso de este tipo de germinación, las hojas cotiledonales tienen comúnmente color verde y realizan funciones fotosintéticas durante el crecimiento temprano de la plántula (Rosabal et al., 2014).



Figura 24. Primeras hojas en plántulas de *Bacopa procumbens*

5.4 Fenología

La fenología de esta especie se monitoreó bajo condiciones *in vitro* desde la germinación. Para lo anterior, se realizó el cultivo de las semillas en repetidas ocasiones y los días en donde inicio la germinación fue variable, desde los 8, 15, 30 y 35 días después de la siembra *in vitro*, se pudo observar el despliegue de la radícula claramente y el desarrollo de estas, lo que sería difícil de conseguir en una siembra directa en sustrato (Figura 25).



Figura 25. Cultivo *in vitro* de *B. procumbens* donde se puede observar la germinación epígea y las raíces.

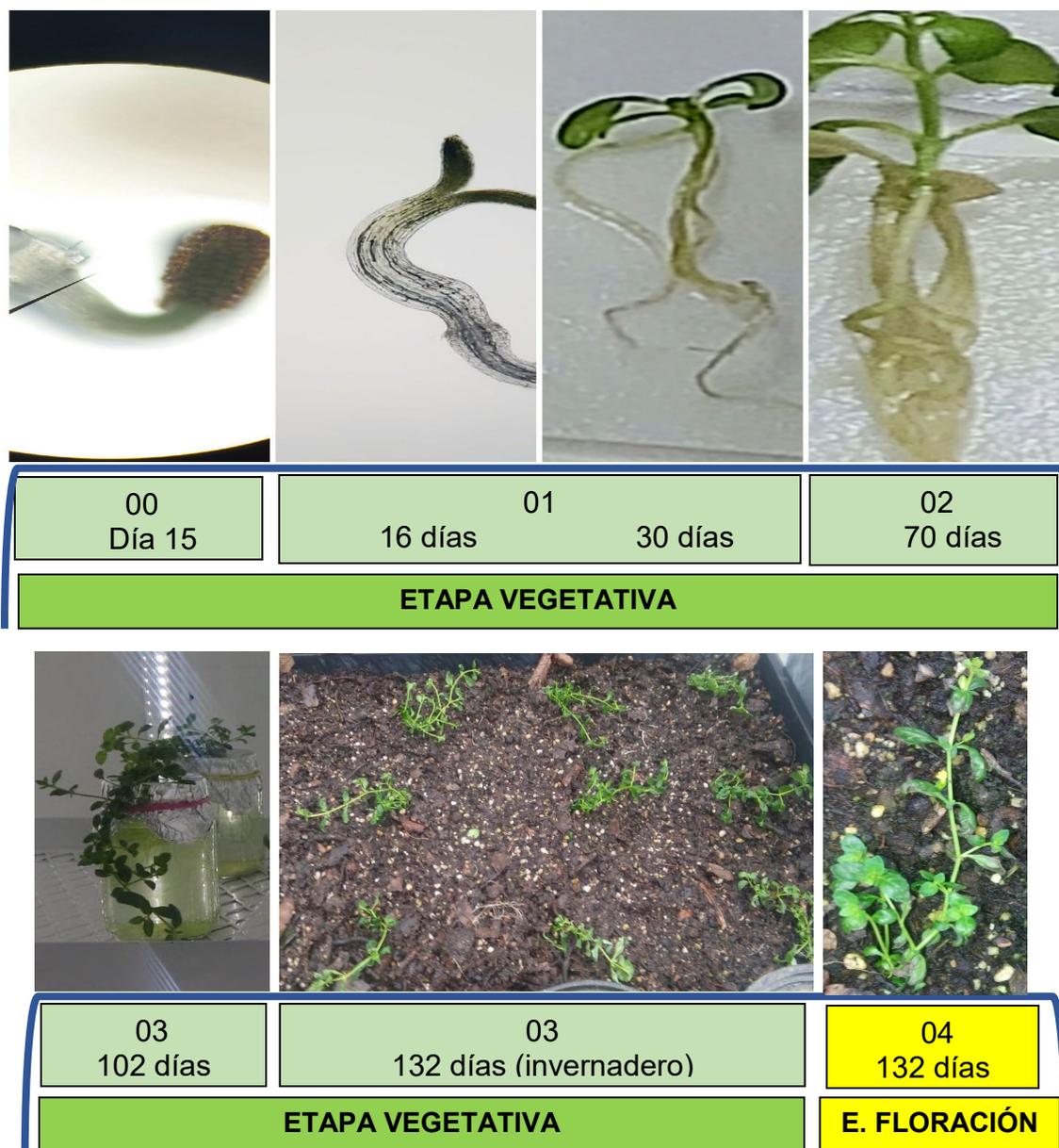


Figura 26. Estadios de *Bacopa procumbens* con plantas obtenidas desde semillas germinadas *in vitro*.

Después de la germinación, al transcurrir un día, se observaron las hojas cotiledonales y a los 12-15 días más, la formación de las hojas verdaderas. Después de 20 a 25 días más, las plántulas *in vitro* contaban con 5 o 6 nudos, por lo que se procedió a aclimatarlas a los 70 días después de su germinación, y al mes de estar aclimatadas se pasaron a invernadero, en las cuales, al tener 30 días de estar ahí, se observaron las primeras flores (Figura 26).

5.4.1 Antesis

En la Figura 27 se observan las distintas etapas de la floración, así como su duración en días. El alargamiento del botón floral duró aproximadamente 2.8 días, antes de la antesis sobresalió el estigma y para cuando éste alcanzó su longitud definitiva se abrieron los pétalos, dejando expuestos los estambres con anteras ya cubiertas con polen. La antesis tuvo una duración de 3.5 días. El polen se mantuvo en las anteras hasta antes del amanecer. La senescencia inició cuando las estructuras florales perdieron color y turgencia (6 días) momento en el cual comenzaron a perder partes florales (pétalos y anteras), fase reconocida en este estudio como “sin flor”. Posteriormente a la antesis, generalmente el estigma y algunos estambres ya opacos son las únicas estructuras florales que prevalecen en el cáliz, el cual se encuentra ya cerrado; esta fase duró 10 días.



Figura 27. Antesis de *Bacopa procumbens* en invernadero.

Dentro del periodo de monitoreo de las variables de temperatura, humedad y luz, se detectaron cambios en los promedios registrados por día. El día 5 aumentó la intensidad de luz promedio, como se muestra en la Figura 28 y la temperatura empezó a ascender 2 días antes, en ese día se observó la apertura de más del 75% de flores (antesis), como sucede con varias especies vegetales, las plantas identifican el momento para florecer, las condiciones ambientales propicias como lo son el fotoperiodo y la temperatura (Rey de las Moras, 2008).

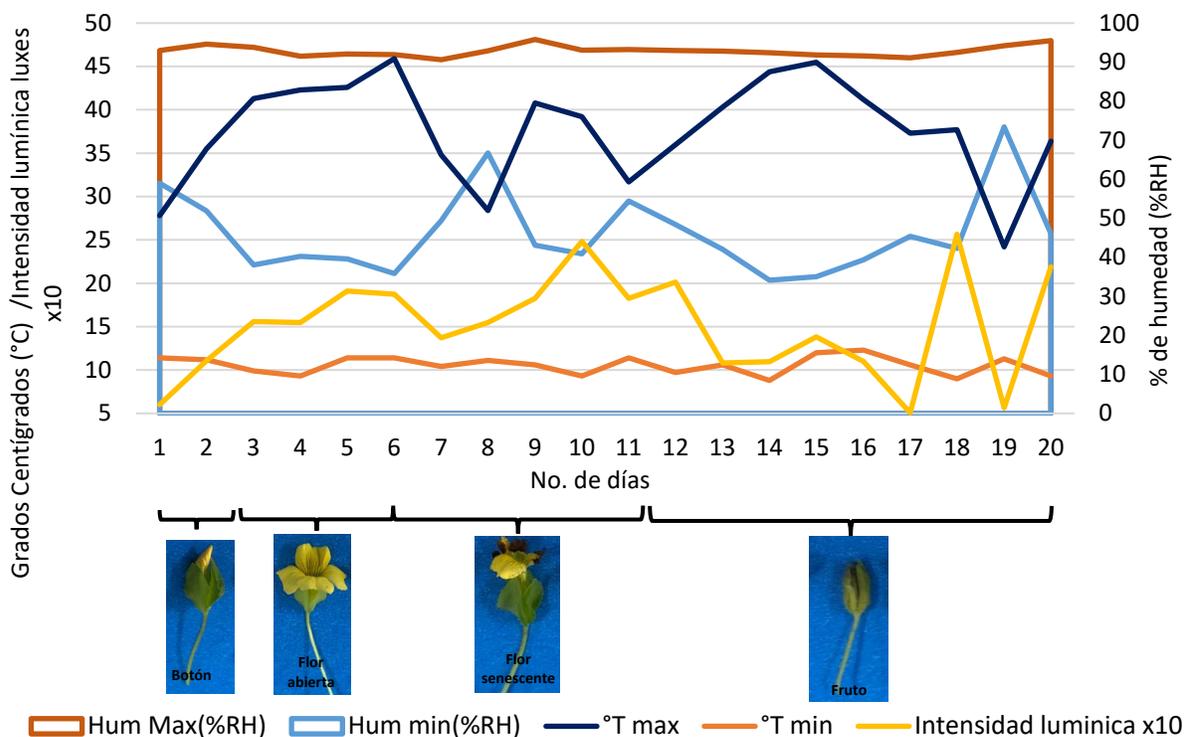


Figura 28. Registro de temperatura, humedad e intensidad lumínica, durante el periodo de floración.

En el caso del día 6 se registró la temperatura promedio más alta y humedad promedio más baja (Figura 27), al mismo tiempo más del 50 % de los botones ya se encontraban en antesis, posteriormente el día 8 la temperatura promedio registrada fue menor respecto a la anterior y hasta ese momento se apreciaba la caída de la corola de más del 50 % de las flores, los siguientes dos días (9 y 10) se observó un aumento en la temperatura y luminosidad y se registraron los primeros tres frutos. El fruto se observó durante un promedio de 10.6 ± 1.6 días, del total de botones marcados (21), cuatro botones murieron, los que siguieron con el proceso fueron 17, el 52 % de ellos produjo fruto dentro de los días monitoreados, se concluyó el experimento después de este período debido a que después de la fase de botón, aún después de 20 días, ya era visible el ovario no fecundado (0.8 ± 0.14) o el crecimiento de frutos (2.14 ± 0.28).

Blázquez et al. (2011) mencionan que las plantas han desarrollado una señalización compleja para encontrar el tiempo más idóneo para florecer, no obstante, actualmente se conoce que responden a periodos de invierno y la duración del día, por consiguiente,

a los cambios de temperatura y luz media diaria, se sugiere la posibilidad de que la actividad bioquímica de las proteínas sea sensible a estos cambios. La floración está controlada por factores ambientales y endógenos, estos se encargan de mandar señales particulares a ciertos genes de diferente naturaleza que ponen en acción a los genes ABC responsables de la floración. “Las plantas son, pues, enormemente plásticas a la hora de determinar el momento exacto de florecer, y de ello depende su éxito como especies” (Blázquez et al., 2011. p. 36).

Respecto a esta etapa fenológica, la cual es importante, pues las plantas del estado juvenil pasan a la etapa de la adultez, se realizó una comparación con otras investigaciones conforme a los meses en donde se ha observado el comportamiento de esta especie. El herbario del Centro de Investigación de Yucatán CICY realizó un catálogo de la flora en la península de Yucatán, este lugar tiene elevaciones menores de 350 m, hidrografía superficial escasa, con temperaturas medias anuales de 25 y 28°C y precipitaciones que no exceden de 2,200 msnm, es en este sitio donde también se ha ubicado a *B. procumbens* mencionando los meses de floración (Cuadro 13).

Cuadro 13. Fenología de *Bacopa procumbens* en Yucatán

	Ene	Feb	Mar	Abril	May	Jun	Jul	Agos	Sep	Oct	Nov	Dic
Flor			X	X			X					
Fruto												

En Nicaragua, Alemán et al. (2012) reportan a *B. procumbens*, a la cual ubican cerca de charcas o en áreas abiertas, requiere de sitios húmedos, mencionan que es anual o perenne de corta duración, por la altitud y relieve el clima de Nicaragua es tropical; sin embargo, en zonas bajas el clima es cálido y en las zonas altas predomina un clima fresco a templado y los siguientes meses para floración y fructificación (Cuadro 14)

Cuadro 14. Fenología de *Bacopa procumbens* en Nicaragua (Alemán et al., 2012).

	Ene	Feb	Mar	Abril	May	Jun	Jul	Agos	Sep	Oct	Nov	Dic
Flor	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Fruto	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

En el caso de las plantas localizadas en los invernaderos de Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala, cuya altitud es a 2260 msnm con clima templado subhúmedo con lluvias en verano se observó que *B. procumbens* florece en los meses mencionados en el Cuadro 15.

Cuadro 15. Fenología de *Bacopa procumbens* en Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala bajo condiciones de invernadero.

	Ene	Feb	Mar	Abril	May	Jun	Jul	Agos	Sep	Oct	Nov	Dic
Flor			X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Fruto			X	X	X	X	X	X	X	X	X	

Como se observa en el Cuadro 15, las plantas de *B. procumbens* florecen a partir de primavera, cuando las temperaturas se empiezan a elevar y esta floración se extiende hasta otoño, en invierno no se observa floración y, por ende, no hay fructificación. Con estos resultados se puede decir que *B. procumbens* es una planta de día largo, pues requiere de días largos para que las etapas de floración y fructificación se lleven a cabo.

5.4.2 Madurez fisiológica del fruto de *B. procumbens*.

Como parte de la fenología y para conocer el momento correcto para cosechar el fruto y así tener un mayor porcentaje de germinación, se realizó un estudio sobre la madurez fisiológica, el cual es el momento en el desarrollo de la semilla en el que alcanza su máximo peso seco, dando lugar al fin del periodo de llenado, y es allí donde se da la máxima germinación y vigor, comenzando el deterioro de las semillas (Ruíz, et al., 2003).

Se marcaron 50 flores de plantas que se mantuvieron en macetas en invernadero, las cuales se monitorearon hasta la caída de pétalos y formación de fruto, donde se observó una baja polinización, menos del 10 %, por lo que se colocaron otras plantas en la parte exterior del invernadero, con menor respuesta. Se tomaron frutos en tres etapas: la primera fue a los 15 días de observarse el fruto, la segunda etapa fue en 30 días y la tercera a los 45 días.

Se realizaron pruebas de germinación de las semillas provenientes de los frutos de estas plantas a diferentes edades, observando que las semillas provenientes de frutos con edad de 8 días presentaron mayor porcentaje de germinación. Es importante señalar que, pese a que el fruto no se desprende de la planta, permanece adherido a la misma; sin embargo, los frutos son dehiscentes y al abrir, aún adherido a la planta, las semillas se desprenden (Figura 29).

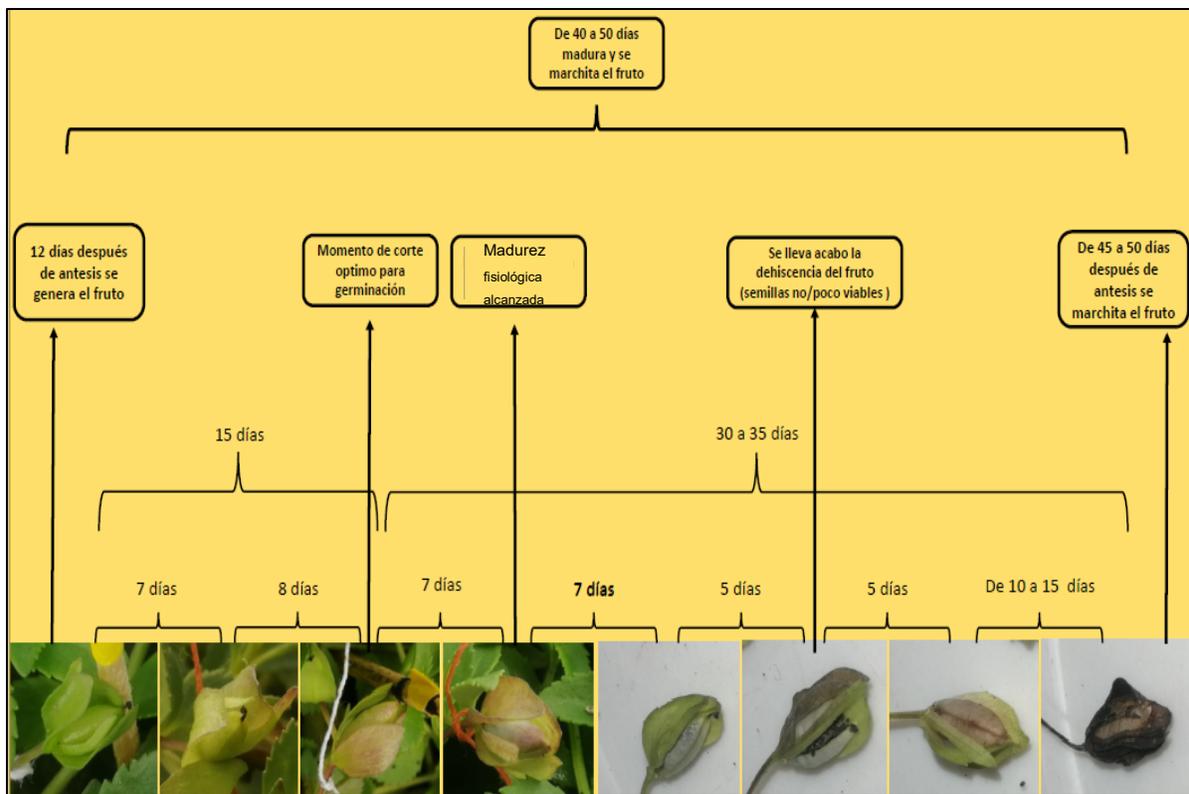


Figura 29. Proceso de madurez fisiológica de frutos de *Bacopa procumbens*.

Fuente: elaboración propia.

5.5 Fitoquímica

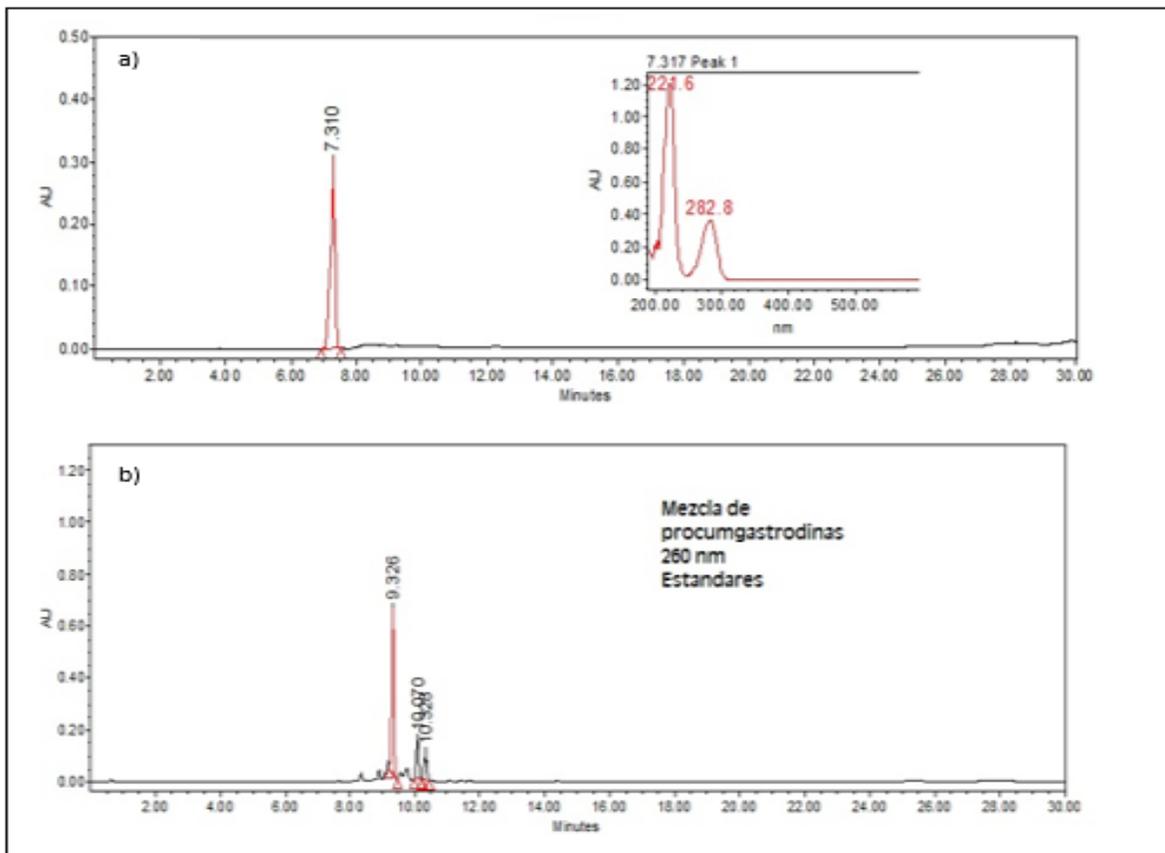
5.5.1 Colecta de material vegetal

Del material fresco colectado se obtuvieron 3,145 g de material vegetal, este se llevó a secar y moler obteniendo un peso de: 1,345.7 g, este proceso se llevó a cabo en repetidas ocasiones con el fin de obtener los compuestos arbutina y procumgastrodinas.

5.5.2 Extracción

El extracto obtenido fue de 187 g, a este se le añadió silica gel para llevar a cabo la cromatografía por columna abierta gravitacional, fase normal.

Se compararon los estándares de arbutina y de procumgastrodinas obtenidos por Beteta (2017) (Figura 30) con los extractos de plantas silvestres y plantas mantenidas en invernadero (Figura 31).



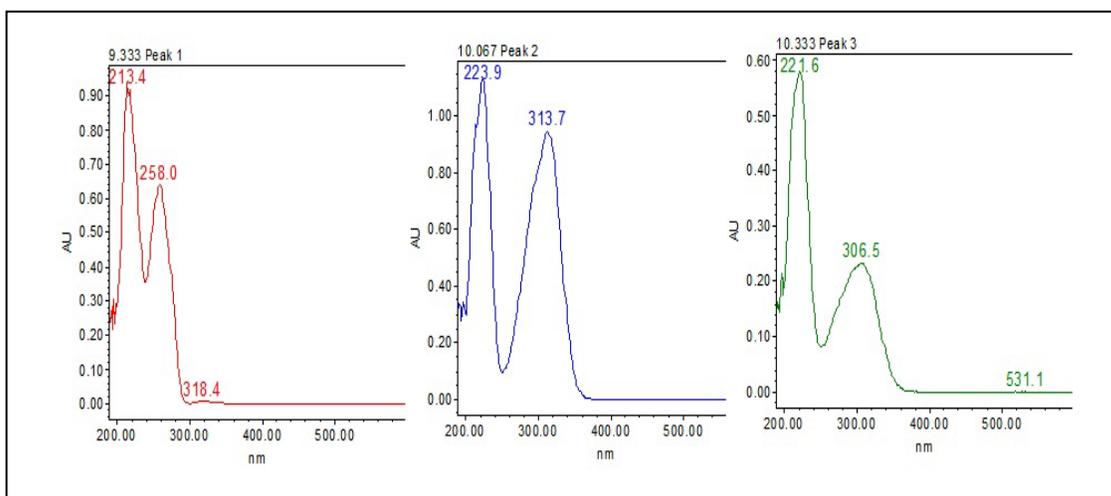


Figura 30. Cromatogramas de HPLC y espectros de UV de a) Arbutina con espectros y b) mezcla de procumgastrodinas.

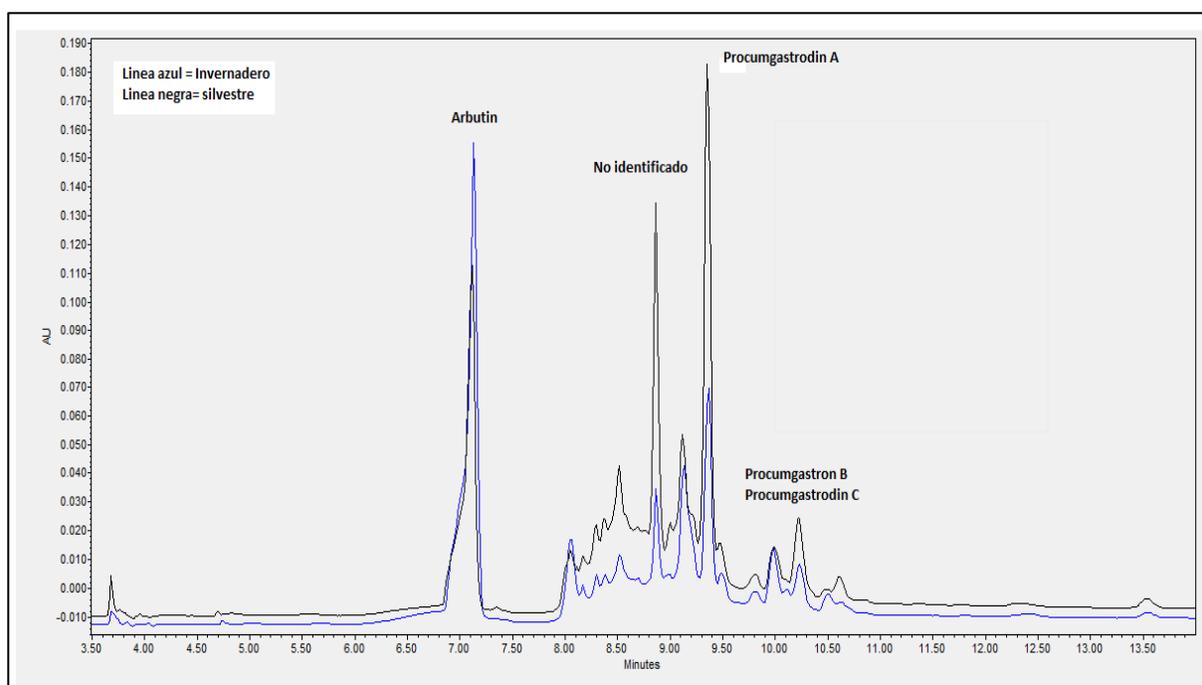


Figura 31. Cromatograma de HPLC de planta silvestre y planta cultivada en invernadero. Línea negra: planta silvestre y línea azul: planta de invernadero.

Como se puede observar los compuestos arbutina y procumgastrodinas del extracto, tienen el mismo tiempo de retención que los estándares. En el caso del compuesto

arbutina se observa una mayor concentración en el extracto de las plantas provenientes del invernadero que la planta silvestre, probablemente se debe a que la arbutina es un compuesto derivado del aminoácido tirosina el cual está estrechamente relacionado con las fitoanticipinas, las cuales son inhibidores de hongos patógenos, por lo que quizás sintetizaron más este compuesto al contar ya con un riego continuo, en contraste con las plantas silvestres. En el caso de las procumgastrodinas disminuyeron más del 70 % respecto a la planta silvestre, quizás estos metabolitos secundarios son usados como defensa al estar expuesta la planta.

Existen diversos trabajos sobre el estrés hídrico de plantas medicinales y su efecto en la concentración de los metabolitos secundarios respecto al riego, como lo describen Eman et al. (2008) al analizar el efecto del tipo de suelo y los intervalos de riego sobre los metabolitos secundarios de *Thymus vulgaris*, comúnmente llamado tomillo. El experimento consistió en regar con agua (natural) a plantas de tomillo cultivadas en suelo calcáreo en intervalos de 3 días y en otro experimento el riego se efectuó en intervalos de 10 días. Las plantas con riego continuo (cada 3 días) presentaron altos valores en parámetros de crecimiento; sin embargo, presentaron menor contenido de p-cimeno, en contraste con las plantas regadas cada 10 días, en donde se encontró mayor contenido de este metabolito secundario. Esto se debe a que se ve comprometido el crecimiento vegetal por la síntesis de los mecanismos de defensa, los metabolitos secundarios.

No obstante, esto no se cumple en todas las especies, como lo demuestran Netshiluvhi y Eloff (2016) al probar diferentes volúmenes de agua de riego en intervalos de 3, 14 y 21 días y también con diferentes volúmenes de agua de riego cada 2 días por 240 días, esto sobre diferentes cultivos de plantas medicinales, *Thulbaghia violácea*, *Hypoxis hemerocallidea*, *Leonotis dysophylla* y *Bulbine frutescens*, todas con actividad antimicrobiana. Ellos observaron que los tratamientos de riego no causan efectos significativos sobre la actividad antimicrobiana de los extractos. Sin embargo, los autores comentan que la percepción que se tiene sobre el efecto del cultivo de plantas medicinales podría ocurrir para otros compuestos que no posean esta actividad.

Para realizar curvas de calibración y así obtener los estándares arbutina y procumgastrodinas se utilizó más de un kilo de planta seca cultivada en invernadero de

la población de San Miguel Regla (SMR) por ser la más abundante. Se realizó primero una CCA fase normal y fase reversa, esta última con la finalidad de purificarlos y se fue monitoreando con CCF.

5.5.3 Fraccionamiento y purificación de compuestos para obtención

de estándares

Se obtuvieron 30 fracciones de la cromatografía gravitacional fase normal, de las cuales se realizaron CCF normal de la fracción 1 a la 21. En la capa fina se aplicó la referencia, la cual es el extracto de la planta, amirina, gastrodina y las fracciones; fue a partir de la fracción 22 cuando se cambió a fase reversa, dada a la polaridad que tiene la gastrodina precursor de las procumgastrodinas, compuestos de interés (Figura 32).

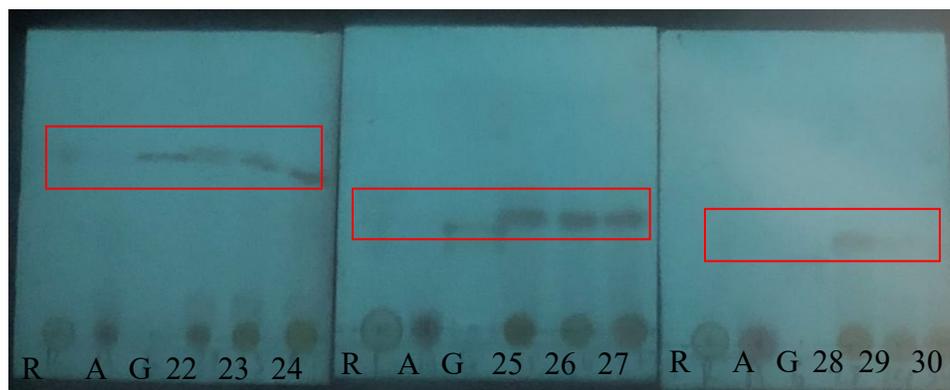


Figura 32. Cromatografía de placa fina con revelador Kowmarosky. Carril 1 referencia, carril 2 amirina, carril 3 gastrodina carriles restantes con fracciones de la 22 a la 30.

De las 30 fracciones obtenidas en la CCA se reunieron en cuatro grupos por tener factores de retención o compuestos con R_f (factor de retención) similar (Cuadro 16) quedando de la siguiente manera:

Cuadro 16. Fracciones obtenidas en cromatografía de columna fase normal

Bloque	Fracciones obtenidas de CCA fase
1	12 – 15
2	16 – 20
3	21 – 25
4	27 - 30

Con la finalidad de verificar el bloque en donde se encontraban las procumgastrodinas se realizó una cromatografía de placa fina de estas fracciones en fase reversa, ocupando estándar procumgastrodina y como revelador Komarowsky, con el que se puede observar que los bloques 2 y 3 tienen un Rf similar al de las procumgastrodinas (Figura 33).

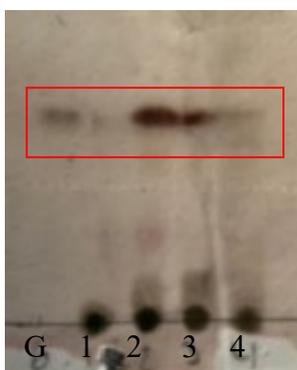


Figura 33. Cromatografía en capa fina en gel sílice 60 fase reversa visto en luz UV λ = 254 nm, ocupando un sistema H₂O: ACN, 5:5. G: Gastrodina, bloques 1, 2, 3 y 4.

Con los bloques 2 y 3 se hizo una cromatografía en columna gravitacional abierta fase reversa, iniciando con un sistema H₂O:ACN 100:0 modificando de 10 en 10 la concentración de los disolventes hasta llegar a un sistema 50:50, obteniendo 38 fracciones, las cuales se evaporaron y se realizó CCF de cada fracción.

5.5.4 Cromatografía por HPLC de fracciones

Se tomaron las siguientes fracciones para analizarlas por HPLC: 3C2, 4C2, 5C2, 7C2, 10C2, 11C2, 14C2, 43C2, también el extracto de la planta en fresco y extracto metanólico de la planta extraída previamente con acetato de etilo. De estas fracciones se seleccionó la 4C2 para realizar la curva de la arbutina. Para el caso de las procumgastrodinas, se analizaron las fracciones 11C2 y 14 C2 (Anexo IV).

Sin embargo, se observa que ninguno de los espectros UV corresponden a la arbutina y las procumgastrodinas como lo refiere Beteta (2017), estas extracciones se realizaron en repetidas ocasiones con la finalidad de obtener los compuestos puros para manejarlos como estándares; sin embargo, no se lograron obtener.

5.5.5 Extracción y cuantificación de compuestos desde órganos de *B. procumbens*

Se realizaron extracciones de los diferentes órganos de la planta y se analizaron mediante HPLC y UPLC- masas.

En las hojas de *B. procumbens*, se puede observar que el espectro del pico 1 con tiempo de retención de 6.78 corresponde a arbutina. El pico 4 con tiempos de retención 9.317, corresponde a procumgastrodina A (Figura 36).

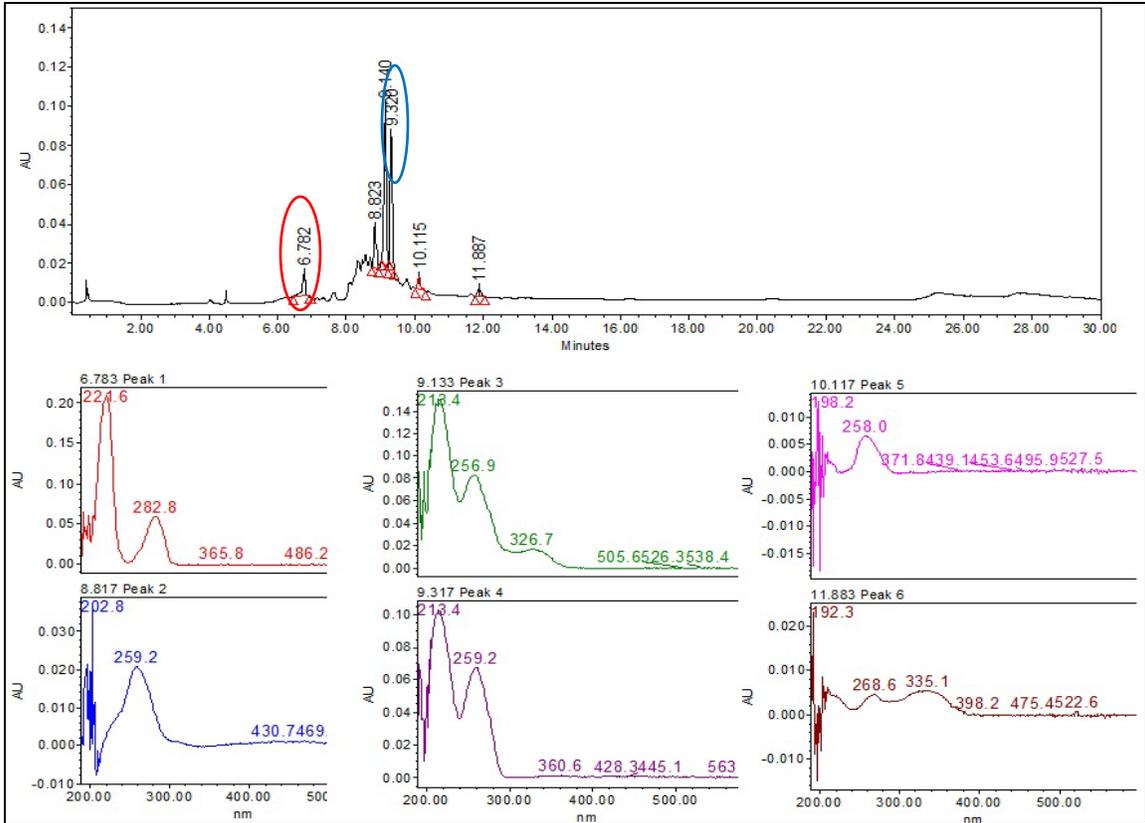


Figura 36. Cromatograma de HPLC y espectros de UV obtenido de la extracción de la hoja de *Bacopa procumbens* obtenida con espectro de absorción en el UV-visible 260nm.

En el caso del tallo, únicamente se observó arbutina con un tiempo de retención de 7.276 y procumgastrodina A con un tiempo de retención de 9.133 (Figura 37).

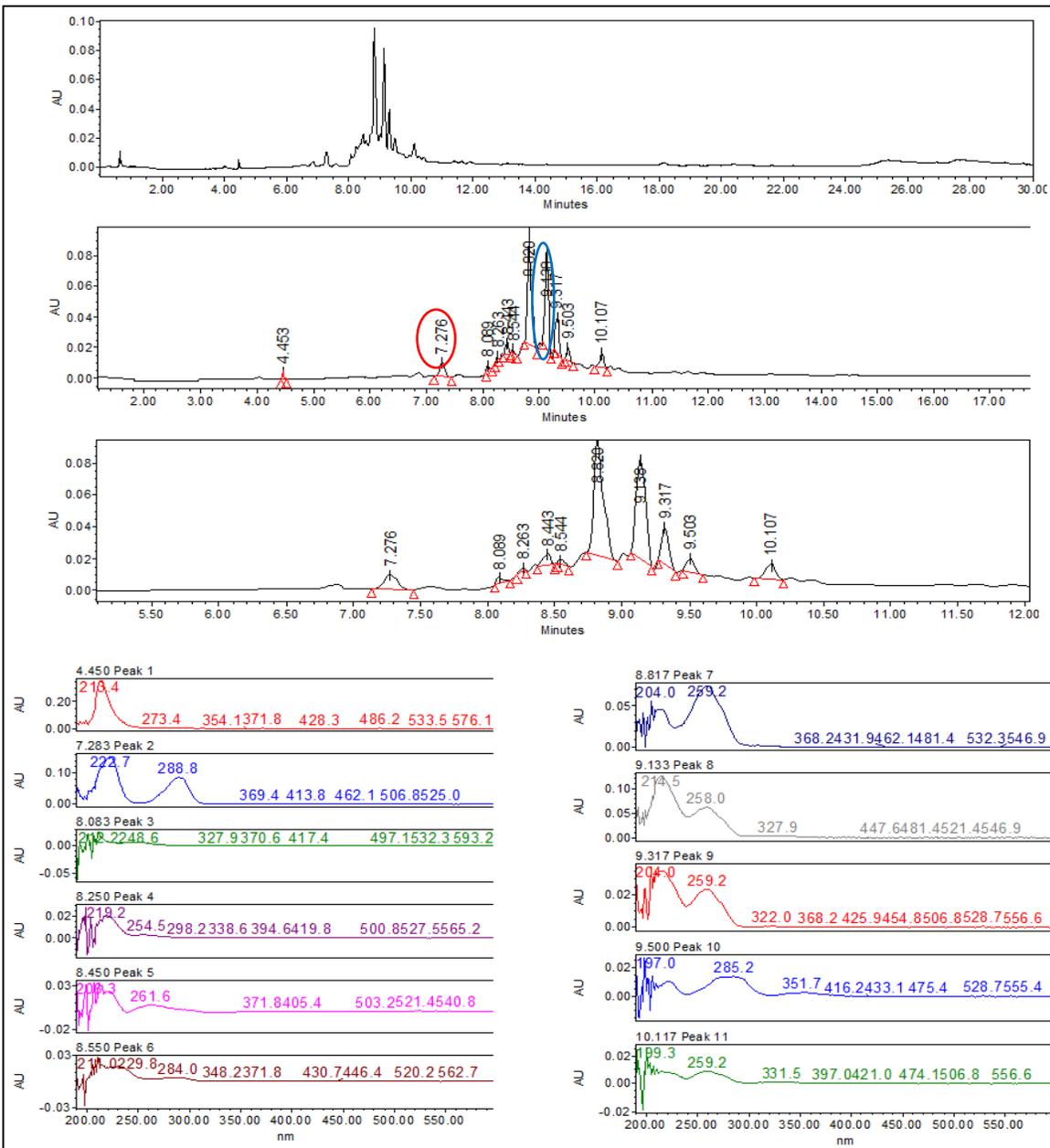


Figura 37. Cromatograma de HPLC y espectros de UV obtenido de la extracción del tallo de *Bacopa procumbens* obtenida con espectro de absorción en el UV-visible 260nm.

En el caso de la flor de *B. procumbens* se pueden observar más compuestos que los que se presentan en hoja, tallo y raíz (Figura 38). En el pico 3 se puede observar el espectro arbutina y el pico 4 procumgastrodina C.

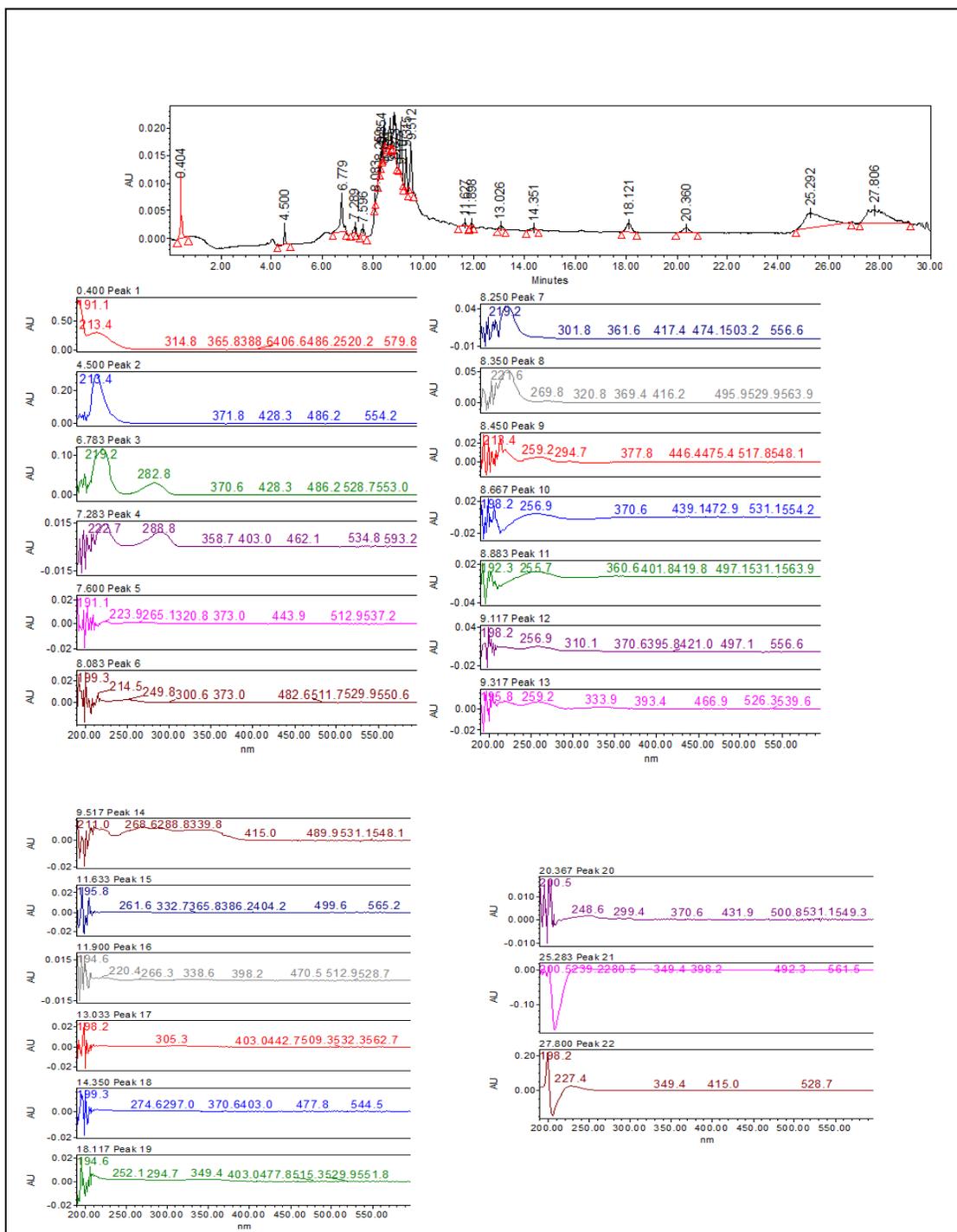


Figura 38. Cromatograma de HPLC y espectros de UV obtenido de la extracción de flor de *Bacopa procumbens* obtenida con espectro de absorción en el UV-visible 260nm

El siguiente cromatograma corresponde a la raíz, donde se observan al compuesto arbutina en el pico 3 y a la procumgastrodina A en el pico 6 (Figura 39).

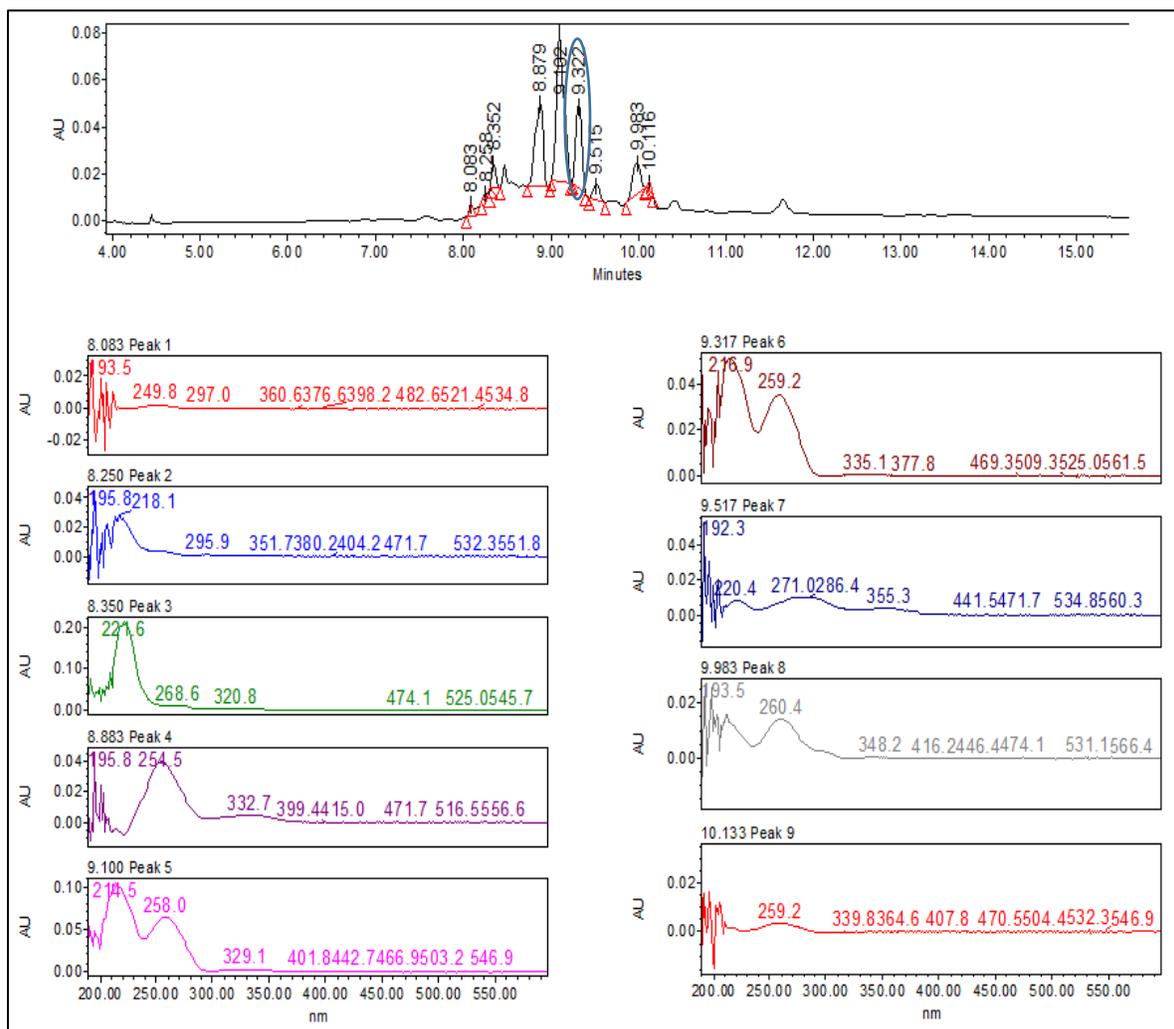


Figura 39. Cromatograma de HPLC y espectros de UV obtenido de la extracción de la raíz de *Bacopa procumbens* obtenida con espectro de absorción en el UV-visible 260nm.

Ya que no se lograron analizar o identificar más compuestos, se procedió a realizar el análisis mediante UPLC-Masas.

5.5.6 Análisis UPLC – masas

El siguiente espectrograma corresponde al extracto de hojas de *B. procumbens* (Figura 40), aquí se identificaron los siguientes compuestos: Arbutina: 272 [M+Na],

procumgastrodina A: 585 [M]⁺, procumgastrodina B: 611 [M]⁺ y los compuestos de la fracción cicatrizante: ácido florético:166 [M+Na], alcohol homovaníllil: 168 [M+Na], orobol: 309 [M]⁺, Narigenin -C-hexoside: 457 [M+Na], Paeoniflorin: 480.5 [M]⁺.

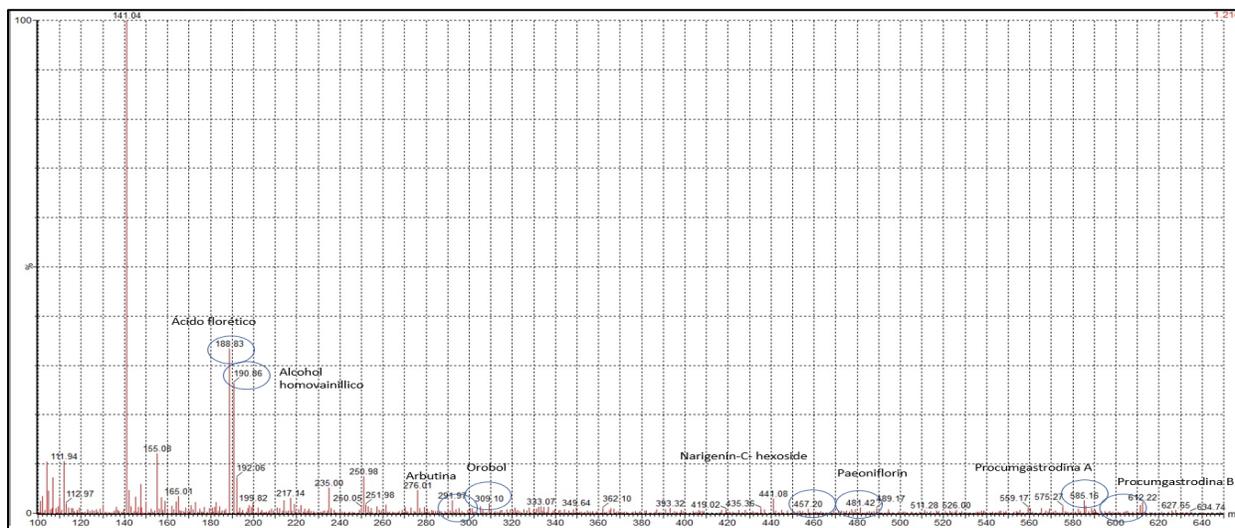


Figura 40. Espectro de masas (IE) de compuestos extraídos de hojas de la población de San Miguel Regla (m/z).

En el caso del extracto de tallo se identificaron los siguientes compuestos (Figura 41): procumgastrodina A: 585 [M]⁺, procumgastrodina B: 611 [M]⁺, en el caso de arbutina solo trazas, resultado que se asemeja a lo obtenido por HPLC en donde se observa una pequeña concentración de este metabolito secundario (Figura 37), de los metabolitos reportados por Martínez et al. (2022) se ubicaron los siguientes únicamente por el peso molecular: Ácido p-coumárico: 164 [M]⁺, Ácido florético:166 [M+Na], alcohol homovaníllil: 168 [M+Na], Equol 7-O- glucoronide: 441 [M+Na], Narigenin-C-hexoside: 457 [M+Na].

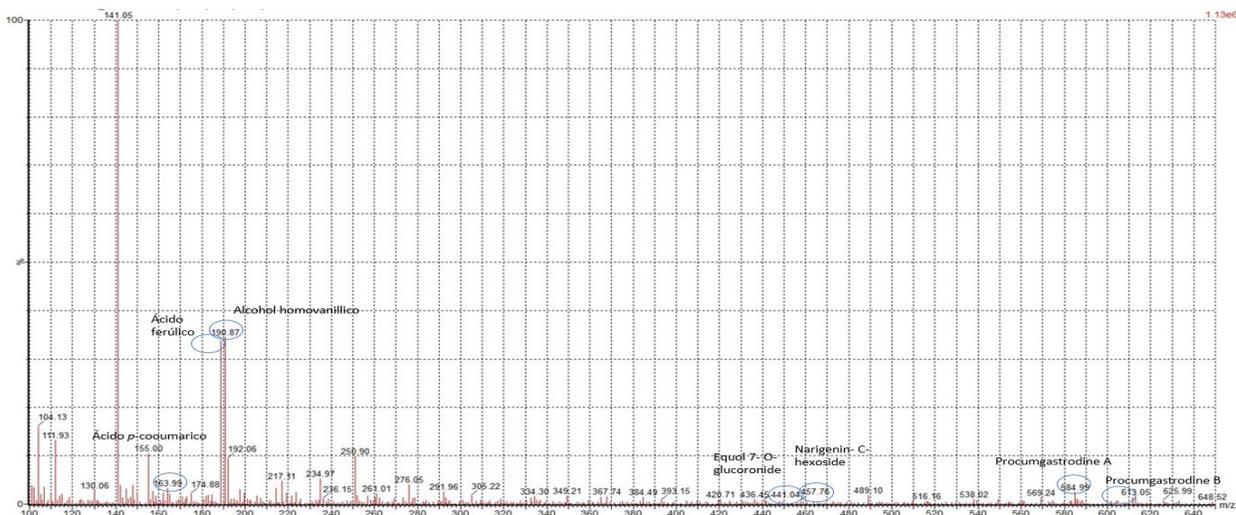


Figura 41. Espectro de masas de compuestos extraídos de tallos de la población de San Miguel Regla (m/z).

Respecto al extracto de flores (Figura 42), se identificaron los compuestos: arbutina: 295 [M+Na], procumgastrodina A: 585 [M]⁺, procumgastrodina B: 611 [M]⁺ y los compuestos: ácido *p*-coumárico: 164 [M]⁺, ácido florético: 166 [M+Na], alcohol homovanillil: 168 [M+Na], orobol: 286.2 [M+Na], Z- astringin: 406 [M+Na], Equol 7-O- glucoronide: 441 [M+Na], narigenin-C- hexoside: 434.12 [M+Na].

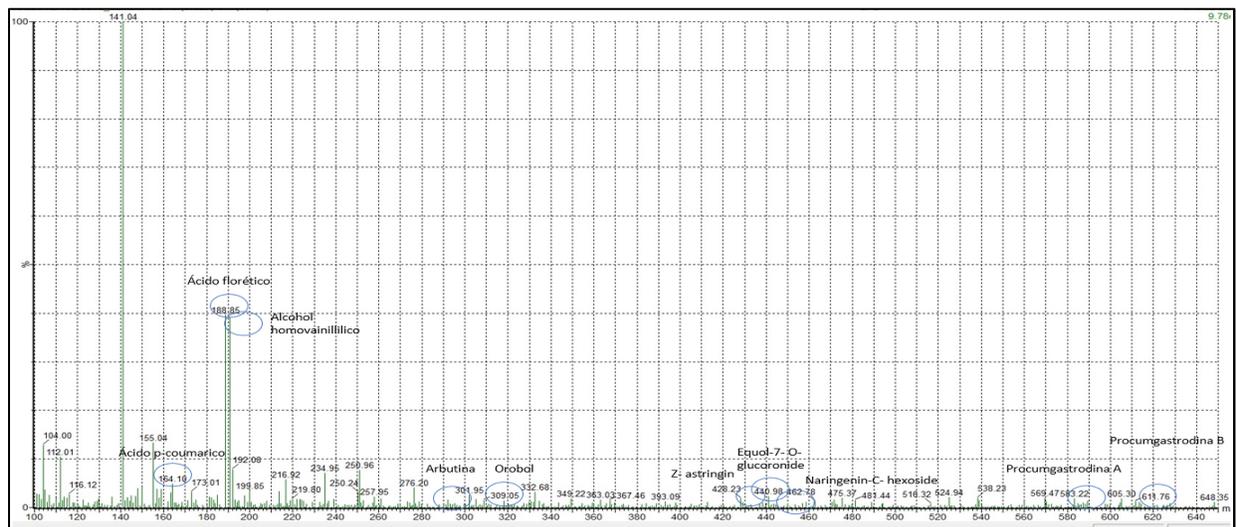


Figura 42. Espectro de masas de compuestos extraídos de flores de la población de San Miguel Regla (m/z).

Respecto a la raíz el espectrograma mostró los siguientes compuestos (Figura 43):

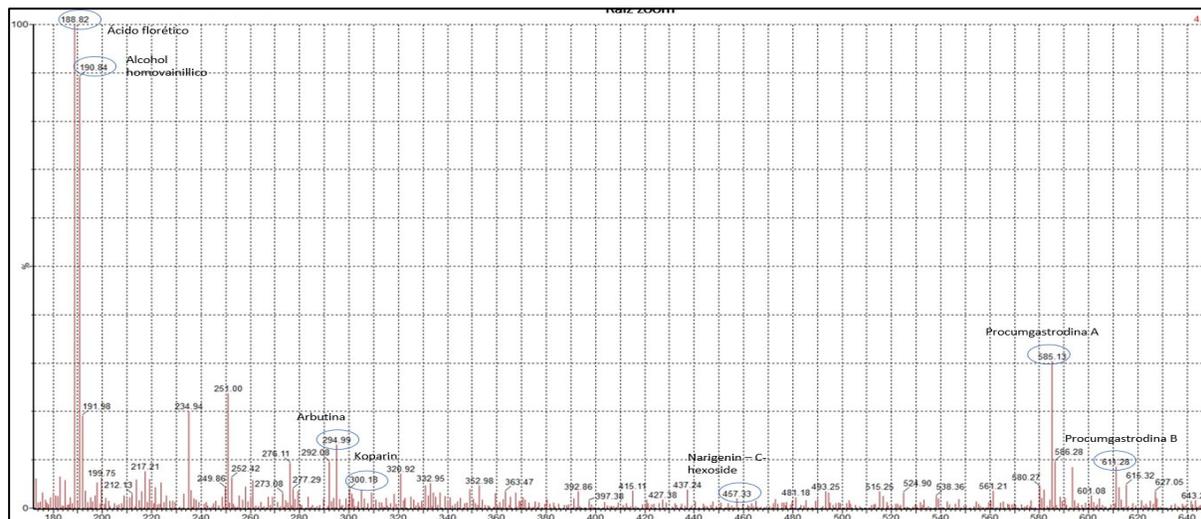


Figura 43. Espectro de masas (amplificado) de compuestos extraídos de raíces de la población de San Miguel Regla (m/z).

Arbutina: 295 [M+Na], procumgastrodina A: 585 [M]⁺, procumgastrodina B: 611 [M]⁺, ácido florético: 166 [M+Na], alcohol homovanillico: 168 [M+Na], koparin: 300 [M+Na], narigenin-C-hexoside: 434.12 [M+Na]. Ya que los compuestos se identificaron por el peso molecular pero no se cuantificaron se tomó en cuenta las concentraciones relativas que están en los cromatogramas de los órganos de *B. procumbens* y se muestran en el siguiente cuadro:

Cuadro 17. Compuestos identificados en órganos de la planta de *Bacopa procumbens*

Compuestos	Hoja	Tallo	Flor	Raíz
Arbutina ^{1,2}	5%		2%	5%
Procumgastrodina A ¹	3%	3%	2%	3%
Procumgastrodina B ¹	1%	1%	1%	1%
Ácido <i>p</i> -coumarico ²	—	2%	5%	—
Alcohol Homovanillyl ²	28%	36%	38%	20%

Compuestos	Hoja	Tallo	Flor	Raíz
Naringenin-C-hexoside ²	1%	1%	0.5%	0.3%
7-O- Equol glucuronide ²	–	0.5%	1%	–
Z-Astringin	–	–	1%	–
Paeoniflorin ²	1%	–	–	–
Orobol ²	3%	–	1%	–
Ácido florético ²	35%	35%	40%	23%
Koparin ²	–	–	–	5%

¹Compuestos que participan en la fracción antimicrobiana. ²Compuestos que participan en la fracción cicatrizante.

De igual manera que Martínez-Cuazilt et al. (2022) en la fracción acuosa que ellos analizaron, los compuestos que se presentaron en mayor abundancia fueron: Naringenin-C- hexoside, equol 7-O-glucoronide entre otros. Sin embargo, no reportan el ácido florético ni al alcohol homovanillico ni las procumgastrodinas A y B, estas últimas reportadas por Gonzalez et al. (2019) en la fracción hidroalcohólica. De los 28 compuestos reportados por Martínez no se identificaron los siguientes: ácido hydroxybenzónico, feruloyl glucosa, esculetina, catalposide, genisteína, syringaresinol-glucoside, 4´methoxipigenina rutinosido, prunetin, urolithin C, stevenin. Esto podría deberse también a las condiciones ambientales bajo las cuales se cultivó a la planta ya que la síntesis de los metabolitos secundarios responde a las condiciones del ambiente (Sharma, 2011) y también por el tipo de extracción.

5.5.6 Extracción y análisis en diferente etapa fenológica por UPLC-Masas

En la Figura 44 se presenta el espectrograma que corresponde a la fase vegetativa de la población de San Miguel Regla donde se identificaron los siguientes compuestos: Arbutina: 272 [M+Na], ácido florético:166 [M+Na], alcohol homovanilil: 168 [M+Na], ácido

3-O caffeoyl shikimico: 335 [M+Na], daidzen 7-O-glucuronide: 430 [M+Na], astilbina: 450 [M+Na] y procumgastrodina A: 585 [M]+.

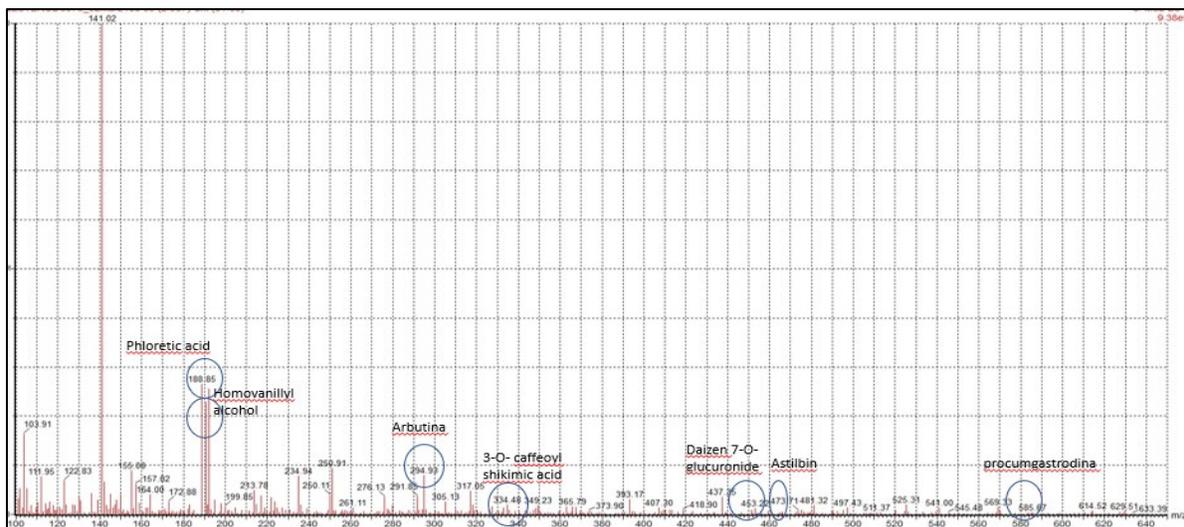


Figura 44. Espectro de masas de compuestos extraídos de la fase vegetativa de la población de San Miguel Regla (m/z).

El espectrograma de la población del El Tejocotal en fase vegetativa a simple vista se ven mayor número de compuestos, así como mayor abundancia relativa de estos en contraste a la población de San Miguel Regla; sin embargo, solo se pudieron identificar los siguientes (Figura 45) compuestos esperados:

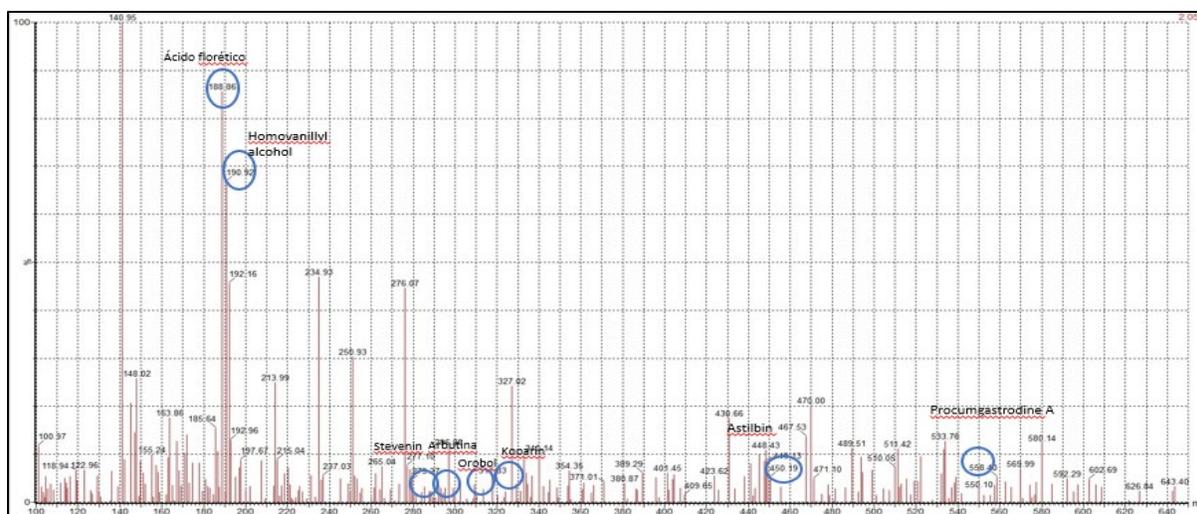


Figura 45. Espectrograma de masas de los compuestos extraídos de la fase vegetativa de la población El Tejocotal.

Arbutina: 272 [M+Na], procumgastrodina A: 585 [M]+, Ácido florético: 166 [M+Na], alcohol homovanillilico: 168 [M+Na], astilbina: 450, stevenin 284 [M]+, orobol: 286 [M+Na], koparin: 300 [M+Na].

El metabolito arbutina se observa en una concentración relativamente similar en ambas poblaciones; se identificó también a procumgastrodina A; sin embargo, es en la población El Tejocotal donde se observa una mayor concentración relativa (8%). Respecto a los metabolitos secundarios que se reportaron en la fracción que promueve la cicatrización, éstos difieren en ambas poblaciones, el ácido florético (85%) y el ácido homovanillilico (70%) se encuentran en mayor concentración en la población El Tejocotal, no siendo así en la población de San Miguel Regla: ácido florético 28% y alcohol homovanillil 23%. De los compuestos stevenin, orobol y koparin sólo se identificaron en El Tejocotal.

El siguiente espectrograma corresponde a la fase de floración de San Miguel Regla (Figura 46) donde se identificaron los siguientes compuestos: arbutina= 272 [M+Na], procumgastrodina A: 558 [M]+, procumgastrodina B: 611 [M]+, ácido florético: 166 [M+Na], alcohol homovainillil: 168 [M+Na], ácido 3-O-cafeoyl shikímico: 335 [M+Na], 7-O Equol glucuronide: 441 [M+Na], paeoniflorin: 480.5 [M+Na].

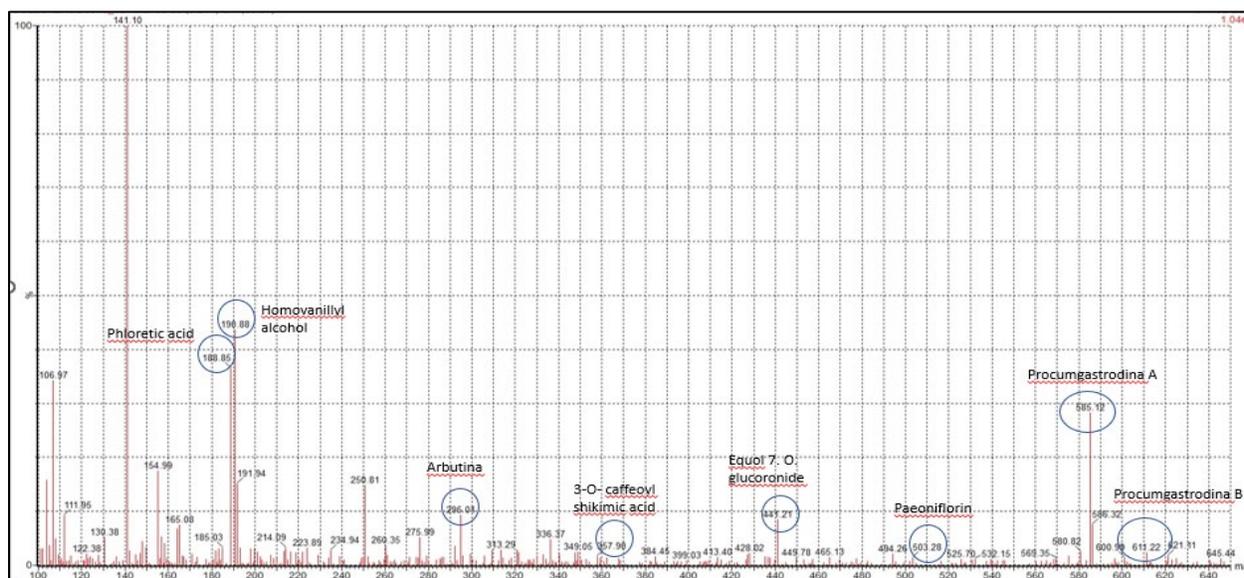


Figura 46. Espectro de masas de compuestos extraídos de la fase floración de la población de San Miguel Regla.

En la población de El Tejocotal en la fase de floración se lograron identificar los siguientes compuestos (Figura 47): arbutina= 272 [M+Na], procumgastrodina B: 611 [M]+, ácido florético: 166 [M+Na], alcohol homovanillil: 168 [M+Na], naringenin-C-hexoside: 456 [M+Na].

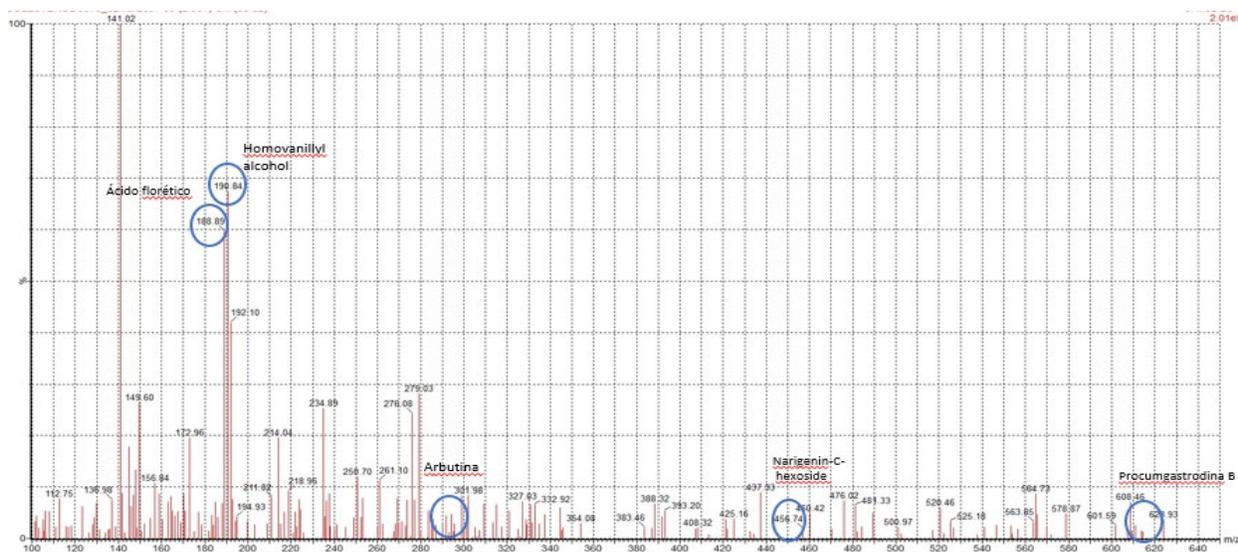


Figura 47. Espectro de masas de compuestos extraídos de la fase floración de la población de El Tejocotal.

En el caso de la floración se logró observar que el metabolito arbutina se encuentra en una concentración relativa mayor en la población de San Miguel Regla (10%) y en menor porcentaje en la población de El Tejocotal (8%). En ambas poblaciones aparece procumgastrodina B, que a diferencia de la fase vegetativa no se encontraba, respecto a los compuestos de la fracción cicatrizante se puede observar que en el caso de la población originaria de San Miguel Regla la mayoría elevó su concentración y se identificaron otros que no aparecían en la fase vegetativa. En la población de El Tejocotal, si bien se identificó a procumgastrodina B, no ocurrió lo mismo para procumgastrodina A, en el caso de la población de San Miguel Regla este metabolito se ve en mayor concentración que en la fase vegetativa (30%). Los metabolitos: stevenin, orobol, koparin y astilbin no aparecieron en esta fase en ambas poblaciones.

El espectrograma que se muestra a continuación corresponde a la fase de reproducción de la población de San Miguel Regla (Figura 48).

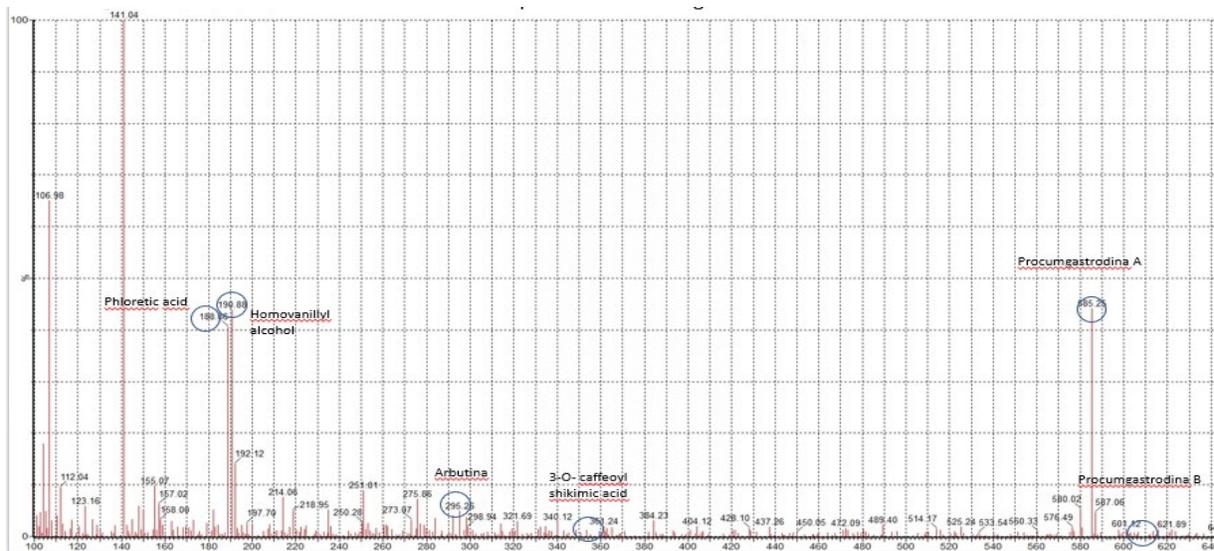


Figura 48. Espectro de masas de compuestos extraídos de la fase reproducción de la población de San Miguel Regla.

En este caso se ubicaron los compuestos: Arbutina: 272 [M+Na], procumgastrodina A: 585 [M]+, procumgastrodina B: 611 [M]+, ácido florético: 166 [M+Na], alcohol homovanillil: 168 [M+Na], ácido 3-O- cafeoil shikimico: 335 [M+Na].

El espectrograma de la Figura 49, corresponde a la población El Tejocotal, en la etapa de reproducción.

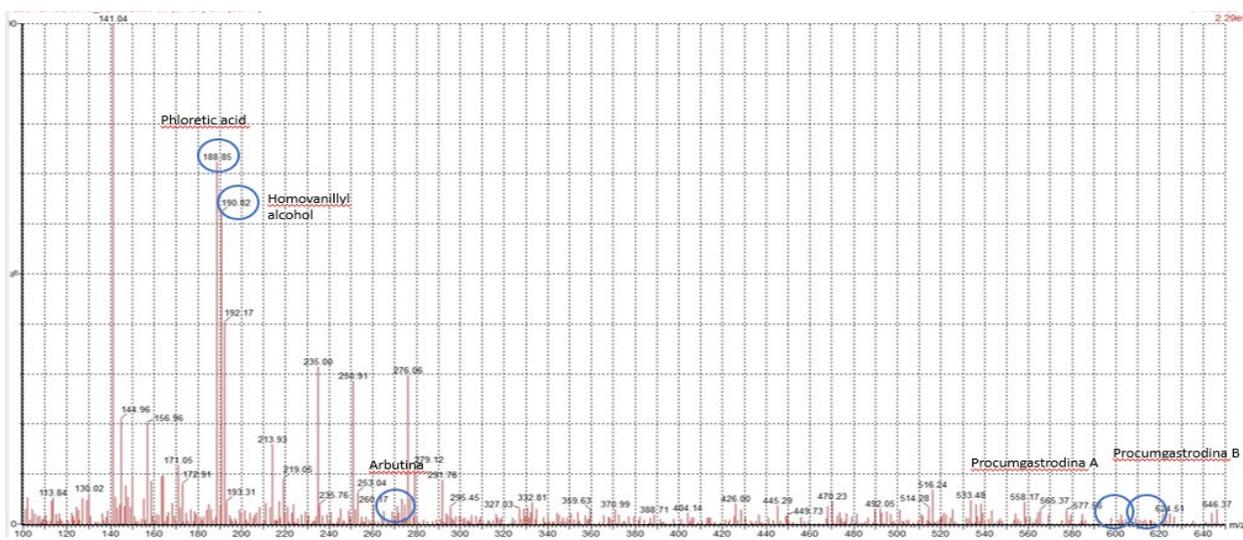


Figura 49. Espectro de masas de compuestos extraídos de la fase reproducción de la población de El Tejocotal.

La población de El Tejocotal mostró los siguientes compuestos: Arbutina: 272 [M+Na], procumgastrodina A: 585 [M]+, procumgastrodina B: 611 [M]+, ácido florético: 166 [M+Na], alcohol homovanillil: 168 [M+Na].

Los compuestos encontrados en la población de San Miguel Regla fueron similares a los encontrados en la fase de floración, con la excepción de dos compuestos: Equol glucuronide y paeoniflorin. De igual forma ocurrió en la población de El Tejocotal solo que en esta fase si se ubicó a procumgastrodina A, en contraste con la fase de floración.

En el Cuadro 18 se realiza una comparación de los compuestos que se sintetizan en las diferentes fases fenológicas conforme a cada población y el porcentaje de abundancia relativa de los compuestos.

Cuadro 18. Compuestos aislados de *Bacopa procumbens* en cada etapa fenológica

Compuestos	Fase vegetativa		Fase de floración		Fase reproductiva	
	SMR	Tj	SMR	Tj	SMR	Tj
Arbutina ^{1,2}	9%	12%	9%	4%	5%	5%
Procumgastrodina A ¹	0.5%	0.5%	29%		43%	3.7%
Procumgastrodina B ¹			3%	2%	0.5%	4%
Ácido 3-O-caffeoyl shikimico ²	2%		1%		1%	
Alcohol Homovanillyl ²	23%	68%	44%	68%	45%	62%
Naringenin-C-hexoside ²				1%		
Astilbin ²	0.5%	1%				
7-O- Equol glucuronide ²			8%			
7-O-glucuronide Daidzein ²	2%					

Paeoniflorin ²			1%			
Orobol ²		1.9%				
Ácido florético ²	27%	86%	38%	50%	40%	72%
Koparin ²		1.2%				
Stevenin ²		1%				

SMR: población de San Miguel Regla, Tj: población de El Tejocotal. Compuestos con superíndice 1 participan en la fracción antimicrobiana (González, 2019).

Compuestos con superíndice 2 participan en la fracción cicatrizante (Martínez, 2022).

Se puede observar que los compuestos con actividad antimicrobiana como son arbutina y las procumgastrodinas se encuentran presentes en ambas poblaciones, en el caso de la síntesis de arbutina, esta prevalece en las tres etapas fenológicas, en contraste con la procumgastrodina A la cual no se encontró en la fase de floración de la población El Tejocotal. En el caso de la procumgastrodina B esta se presentó a partir de las fases de floración y reproducción, en la fase vegetativa no se presentó en ninguna de las poblaciones.

Respecto a los compuestos que pertenecen a la fracción cicatrizante de *B. procumbens* se observó que los compuestos: ácido florético el cual es un compuesto derivado del ácido *p*-coumarico, (Filannino, et al., 2014; Lyu e Ishida., 2019) y el alcohol homovanillil, compuesto cuya actividad es cardio protector y evita la oxidación eritrocitaria (De la Torre et al., 2017; Paiva-Martins et al., 2013) se mantienen en las tres fases fenológicas en ambas poblaciones. En el caso del metabolito Astilbin cuya actividad es promover la cicatrización en las quemaduras y tener efecto antibacteriano (Kimura et al., 2007) únicamente se presentó en la fase vegetativa. Los compuestos orobol, koparin, stevenin se pudieron identificar únicamente en la fase vegetativa de la población de El Tejocotal. Los compuestos 7-O- Equol glucuronide y 7-O-glucuronide Daidzein únicamente se presentaron en la población de San Miguel Regla, en la fase vegetativa y floración, respectivamente.

VI. CONCLUSIONES

Los resultados muestran que, en Huasca de Ocampo, Hidalgo son pocas las personas que tienen conocimiento de *B. procumbens* y de sus propiedades. Sin embargo, el conocimiento tradicional sobre el uso medicinal de esta especie se concentra en las mujeres, quienes demostraron conservar este conocimiento en torno a la especie. Los pobladores han encontrado diferentes usos para *B. procumbens*, principalmente para disminuir o aliviar el dolor de estómago, sanar heridas, calmar el dolor de muelas, calmar el dolor de riñón, eliminar la hinchazón y fiebre, utilizando principalmente las hojas y los tallos hervidos en agua, la planta no la siembran, sino que la obtienen por recolección.

La propagación de la planta se puede realizar de forma sexual y asexual. De manera sexual, ocupando las semillas *B. procumbens*, la germinación puede tardar de 30 a 40 días, las semillas de *B. procumbens* al parecer sufren de latencia, requieren de luz para germinar, por lo que son fotoblásticas positivas y su germinación es epigea; el tamaño de la semilla complica su manipulación, por lo que su germinación se facilita bajo condiciones de cultivo *in vitro*. En cuanto a la propagación vegetativa, la raíz se presenta máximo a los 10 días después del trasplante, ocupando estolón y a los 15 días ocupando esquejes. En cuanto a la fenología de las plantas en cultivo bajo cobertura, se observó que las fases reproductivas floración y fructificación disminuyen sus periodos en invierno, por lo que se consideraría a *B. procumbens* como una planta de días largos.

Se encontró que la fase de floración es la óptima para obtener los compuestos responsables del efecto terapéutico de igual manera es en la flor donde se encuentran las mayores concentraciones de los metabolitos buscados.

Se requiere un mayor conocimiento sobre el manejo agronómico en el cultivo de *B. procumbens* bajo invernadero para orientar las labores culturales a las fases y órganos en donde se encuentran estos compuestos mayoritariamente.

RECOMENDACIONES

Debido a la escasez de material vegetal, la etapa del análisis bioquímico se enfocó a la separación de los metabolitos secundarios arbutina y procumgastrodinas; por lo anterior, se recomienda continuar con el estudio, enfocándose al perfil fitoquímico de la especie.

VII. LITERATURA CITADA

- Aguilar A., Martínez M. (1993). "Los Herbarios Medicinales de México", La Investigación Científica de la Herbolaria Medicinal Mexicana. México, DF: Secretaría de Salud, pp. 89-102.
- Alamilla L., Neyra L. (2020). Medicinal. Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad, Cd. De México. México. <https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/medicinal>. Consultado: marzo 2023
- Alberti-Manzanares, P. (2006). Los aportes de las mujeres rurales al conocimiento de plantas medicinales en México: Análisis de género. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo*, 3(2). Recuperado de: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-54722006000200003&lng=es&nrm=iso. ISSN 1870-5472. Consultado: marzo 2023
- Alcalde T. (2006). La tradición ayurvédica. Líneas de productos cosméticos. OFFARM.25, volumen 25 (9), 82- 86. Recuperado de: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-la-tradicion-ayurvedica-13094156>. Consultado: marzo 2023
- Alcántara J., Godoy J., Alcántara J., Sánchez R. (2019) Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. NOVA. 17 (32) 109 – 129. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n32/1794-2470-nova-17-32-109.pdf>. Consultado: marzo 2023
- Alemán Z., Quezada J. y Garmendia M. (2012). Flora arvense y ruderal del pacífico y centro de Nicaragua. Universidad Nacional Agraria. Vol. 1. Recuperado de: <https://repositorio.una.edu.ni/3186/1/nf70a367f.pdf>. Consultado: marzo 2023
- Almeida B., Ribeiro D., Santos M., de Macedo D., Macedo J., Macedo M., y Menezes I., and Souza M. (2021). Mixtures of medicinal plants from caatinga: Basis for further bioprospecting studies. *South African Journal of Botany* 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.12.025>. Consultado: marzo 2023
- Alqethami A., Aldhebiano A., and Teixidor-Toneu T. (2020). Medicinal plants used in Jeddah, Saudi Arabia: A gender perspective. *Journal of Ethnopharmacology*. 257:1-12. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112899>. Consultado: marzo 2023
- Argueta A., Cano A., y Rodarte M. (1994). Atlas de las plantas de la medicina mexicana II. 1ra ed. Instituto Nacional Indigenista, México, p 792.
- Amasino R. (2010). Seasonal and development timing of flowering. *The Plant Journal*. 61: 1001 – 1013. DOI: [10.1111/j.1365-313X.2010.04148.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04148.x). Consultado: marzo 2023

- Ansorena M. (1994). *Sustratos. Propiedades y caracterización*. Mundi-Prensa. Madrid. España.
- Araoz S., & Del Longo T. (2006). Tratamientos pregerminativos para romper la dormición física impuesta por el endocarpo en *Ziziphus mistol* Grisebach. *Quebracho (Santiago del Estero)*, (13), 56-65. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-30262006000100007#:~:text=Se%20concluye%20que%20la%20dormici%C3%B3n,la%20inmersi%C3%B3n%20en%20%C3%A1cido%20sulf%C3%BArico. Consultado: marzo 2023
- Avendaño M. (2016). La reproducción de las plantas: costos y beneficios. *Ciencia. Comunicaciones libres p.p.* 80 - 84 https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/images/revista/67_4/PDF/ReproduccionPlantas.pdf. Consultado: marzo 2023
- Baan T. y Nazmul M. (2022). Bioactive secondary metabolites from plant sources: Types, Synthesis, and their therapeutics uses. *International Journal of Plant Biology*. 13, 4 – 14. <https://doi.org/10.3390/ijpb13010003>. Consultado: marzo 2023
- Barone J., Duarte E. y Luna C. (2016). Determinación de la eficacia de métodos de evaluación de calidad de semillas de especies forestales nativas de la Selva Atlántica. *Quebracho, Revista de Ciencias Forestales*. 24 (2) 70-80. <https://www.redalyc.org/journal/481/48163565003/html/>. Consultado: marzo 2023
- Bautista A., Parra F. y Espinosa-García F. (2012). Efectos de la Domesticación de Plantas en la Diversidad Fitoquímica, 253-267. En: J. C. Rojas y E. A. Malo (eds.). *Temas Selectos en Ecología Química de Insectos*. El Colegio de la Frontera Sur. México. 446 p. <https://www.researchgate.net/publication/233408389>. Consultado: marzo 2023
- Beteta Hernández E. (2017). Análisis del Efecto de los compuestos presentes en el extracto de *Bacopa procumbens* en la biosíntesis de nanoestructuras metálicas. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional. México.
- Blázquez A., Piñeiro, M., & Valverde, F. (2011). Bases moleculares de la floración. *Investigación y Ciencia*, mayo, 28-36. <https://www.ciencia.cl/CienciaAlDia/volumen3/numero3/articulos/articulo3.html>. Consultado: marzo 2023
- Canales M., Hernández T., Caballero. J., Romo de Vivar A., Durán A. y Lira R. (2006). Análisis cuantitativo del conocimiento tradicional de las plantas medicinales en San Rafael, Coxcatlán, Valle de Tehuacán-Cuicuitlán, Puebla, México. *Acta Botánica Mexicana*. 75, 21-43. Recuperado: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-71512006000200002. Consultado: marzo 2023

- Carcaño V. (2008). Ecofeminismo y ambientalismo feminista. Una reflexión crítica. 2008. Argumentos UAM Nueva Época 21 (56), 183 – 188. Recuperado: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57952008000100010. Consultado: marzo 2023
- Carrillo E., Lara C. y Ruiz M. (2010). Hierbas, medicina herbolaria y su impacto en la práctica clínica. Revista Investigación Médica del Sur 17(3), 124-130. Recuperado de: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=41879>. Consultado: marzo 2023
- Carrillo-Galván G., Bye R., Eguiarte L., Cristians S., Pérez-López P., Vergara-Silva F. y Luna Cavazos M. (2020). Domestication of aromatic medicinal plants in México: Agastache (Lamiaceae) an ethnobotanical, morpho-physiological, and phytochemical analysys. Journal of Ethnobiology and ethnomedicine. 16:22. <https://doi.org/10.1186/s13002-020-00368-2>. Consultado: marzo 2023
- Cerderia L., Alberton B., Alvarado S., Borges B., Buisson E., Camargo M., Cancian L., Carstensen D., Escobar D., Leite P., Mendoza I., Rocha N., Soares N., Freire T., Staggmeier V., Streher A., Vargas B. y Peres C. 2016. Linking plant phenology to conservation biology. Biological conservation. 195: 60- 72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2015.12.033>. Consultado: marzo 2023
- CONABIO (2022). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. (2022). Scrophulariaceae *Bacopa procumbens* (Mill.) Greenm. *Mercadonia procumbens* (Mill.) Small) Hoja quebranto. Recuperado de: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/scrophulariaceae/bacopa-procumbens/fichas/ficha.htm>. Consultado: marzo 2023
- CONABIO-GIZ (2017). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad -Cooperación Alemana al Desarrollo Sustentable en México Conocimiento tradicional asociado a los recursos biológicos. Cuaderno de divulgación 1. Proyecto Gobernanza de la Biodiversidad: Participación justa y equitativa de los beneficios que se deriven del uso y manejo de la diversidad biológica, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO)-Cooperación Alemana al Desarrollo Sustentable en México (GIZ). Ciudad de México. México. 1-15. Recuperado de <https://www.giz.de/de/downloads/giz2017-es-biodivers-abs.pdf>. Consultado: marzo 2023
- CBD- ONU Convenio sobre la diversidad. (2022). <https://www.cbd.int/undb/media/factsheets/undb-factsheets-es-web.pdf>. Consultado: marzo 2023
- Chávez M. (2017). Síndromes de domesticación en plantas. CICY. 9:79- 83 http://www.cicy.mx/sitios/desde_herbario/. Consultado: marzo 2023

- Corona T. y Hernández C. (2019). Domesticación de plantas. Saber más Revista de divulgación de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 8 (44) 28 - 34. [http:// https://www.sabermas.umich.mx/archivo/revistas-en-pdf.html?start=20](http://https://www.sabermas.umich.mx/archivo/revistas-en-pdf.html?start=20). Consultado: marzo 2023
- Cortés R. y Venegas C. (2011). Conocimiento tradicional y la conservación de la flora medicinal en la comunidad indígena de Santa Catarina, B.C., México. Rha Ximhai 7 (1), 117-122. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/pdf/461/46116742011.pdf>. Consultado: marzo 2023
- Crawley M J (1997) Life history and environment. En: Crawley MJ (ed). Plant Ecology: 73-131. Blackwell, Oxford. Consultado: marzo 2023
- Criollo H., Cardozo C. y Guevara C. (1999). Determinación de la madurez fisiológica y potencial almacenamiento de semillas de Zapallo *Curcubita moschata* (Duch. Ex Lam) Duch. Ex Por), Variedad "Bolo verde". Acta agronómica 49 ¾. 24- 30. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=CO2022400345>. Consultado: marzo 2023
- Cuevas J. y Estrada E. (1984). Etnobotánica (Notas de curso). Universidad Autónoma de Chapingo. México.
- Data México (2022). Secretaría de Economía. Recuperado de: <https://datamexico.org/es/profile/geo/huasca-de-ocampo>. Consultado: marzo 2023
- De la Cuadra C. (1993). Germinación, latencia y dormición de las semillas. Dormición en las avenas locas. Hojas divulgadoras. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. España, Rivadeneyra S.A. p. 7. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=140363>. Consultado: marzo 2023
- Denny E., Gerst K., Miller-Rushing J., Tierney G., Crimmins T., Enquist C., Guertin P., Rosemartin A., Schwartz M., Thomas K. y Weltzin J. (2014). Standardized phenology monitoring methods to track plant and animal activity for science and resource management applications. International Journal Biometeorol. 58:591 – 601. DOI [10.1007/s00484-014-0789-5](https://doi.org/10.1007/s00484-014-0789-5). Consultado: marzo 2023
- De la Torre R., Corella D., Castañer O., Martínez-González M., Salas-Salvador J., Vila J., Estruch R., Sorli J., Arós F., Fiol M., Ros E., Serra-Majem L., Pintó X., Gómez-Gracia E., Lapetra J., Ruíz-Canela M., Basora J., Asensio E., Covas M., Fito M. Protective effect of homovanillyl alcohol on cardiovascular diseases total mortality: virgin olive oil, wine, and catecol-methylthionin.(2017). The American Journal of Clinical Nutrition. 105 (6) 1297 – 1304. <https://doi.org/10.3945/ajcn.116.145813>. Consultado: marzo 2023
- Díaz R. (2020) Tecnologías y fenología aplicadas a producción de cultivos. Curso de fenología COLPOS-Puebla.

- Doria J. (2010). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales*. 31 (1) 74 – 85. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=CU2010401702>. Consultado: marzo 2023
- Durne F. (2021). *Applied Plant Science Experimental Design and Statistical Analysis. Using SAS® OnDemand for Academics*. CABI NosworthyWallingfordOxfordshireOX10 8DE, UK. 406 p.
- Egbuna, C., Ifemeje C., Udedi C., & Kumar, S. (2019). Phytochemistry, Fundamentals, Modern Techniques, and Applications. *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 1). Estados Unidos: Apple Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>. Consultado: marzo 2023
- Eman E., Aziz S., Hendawi, Ezz E., Azza and Omer E. (2008) Efecto of soil type irrigation intervals on plant growth, essential oil yield and constituents of *Thymus vulgaris* plant. *American-Eurasian J. Agriculture and Environmental Science*. 4 (4): 443-250.
- Evans L. (1996). *Crop evolution, adaptation and yield*. Cambridge, UK:Cambridge University Press. ISBN 0-521-29588-0. UK 500 p. Consultado: marzo 2023
- Filannino, P., Gobbetti, M., De Angelis, M. y Di Cagno, R. (2014). Hydroxycinnamic acids used as external acceptors of electrons: an energetic advantage for strictly heterofermentative lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 80, 7574-7582. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25261518/>. Consultado: marzo 2023
- Fransworth N., Akerele O. Bingel A., Soejarto D. y Guo Z. (1989). Las plantas medicinales en la terapéutica. *Boletín de la oficina Sanitaria Panamericana* 107 (4).
- Franz Ch. (1993). Domestication of wild growing medicinal plants. *Plant Research and Development* 37:101-111. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7193375/>. Consultado: marzo 2023
- Fresnillo Fedorenko D., Fernández O., Busso C. y Elia O. (1996). Phenology of *Medicago minima* and *Enodium cicutarium* in Semi-arid Argentina. *Journal of Arid Environments* 33:409-416. <https://doi.org/10.1006/jare.1996.0076>
- Fuentes F., Granda M., Lemes, H. y Rodríguez C. (2000). Estudios fenológicos en plantas medicinales. *Revista cubana plant med*. 5(3) 106 – 113. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-4796200000300008. Consultado: marzo 2023
- Fuentes E., Carreras M. y Lovey R. 2005. *Botánica agrícola taxonómica*. Brujas. 1ª Edición. p 6.
- García de Alba J., Ramírez B., Robles G., Zañudo J., Salcedo A. y García de Alba V. (2012). Conocimiento y uso de las plantas medicinales en la zona metropolitana de Guadalajara. *Desacatos* 39: 29-44. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1607-050X2012000200003&script=sci_abstract. Consultado: marzo 2023

- Garner W. y Allard H. (1920) Effect of the Relative Length of Day and Night and Other Factors of the Environment on Growth and Reproduction in Plants. *Journal of Agricultural Research*, 18, 553-606. https://journals.ametsoc.org/view/journals/mwre/48/7/1520-0493_1920_48_415b_eotrl_2_0_co_2.xml. Consultado: marzo 2023
- Garzón G. L. (2016). Conocimiento tradicional sobre plantas medicinales de Yarumo (*Cecropia sciadophylla*), carambolo (*Averrhoa carambola*) y uña de gato (*Uncaria tomentosa*) en el resguardo indígena de Macedonia, Amazonas. *Luna Azul* 43, 383-414 DOI: [10.17151/luaz.2016.43.17](https://doi.org/10.17151/luaz.2016.43.17)
- Gheno H., Nava B., Martínez C. y Sánchez V. (2011). Las plantas medicinales de la organización de parteras y médicos indígenas tradicionales de Ixhuatlancillo Veracruz, México y su significancia cultural. *Polibotánica* 331, 199-251. Recuperado: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-27682011000100012&script=sci_abstract. Consultado: marzo 2023
- Gianoli E. (2001). Lack of differential plasticity to shading of internodes and petioles with growth habit in *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae). *International Journal of Plant Sciences* 162: 1247-1252. <https://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/322950>. Consultado: marzo 2023
- Gianoli E. (2004). Plasticidad fenotípica adaptativa en plantas. *Fisiología ecológica en plantas, mecanismos y respuestas a estrés en los ecosistemas*. 13-25. <http://www2.udec.cl/~egianoli/04gianolifisioeco.pdf>. Consultado: marzo 2023
- Gobierno de México. <https://www.gob.mx/agricultura/yucatan/articulos/mexico-segundo-lugar-mundial-en-registro-de-plantas-medicinales-294271?idiom=es#:~:text=M%C3%A9xico%20cuenta%20con%20distinci%C3%B3n%20a,por%20su%20amplia%20riqueza%20flor%C3%ADstica&text=M%C3%A9xico%20cuenta%20con%20una%20enorme%20riqueza%20de%20plantas%20de%20uso%20medicinal>. Consultado: marzo 2023
- Gogoi G., Borua P., Al-Khayri J. (2017). Improved micropropagation and in vitro fruiting of *Morus indica* L. (K-2 cultivar). *Genetic Engineering and Biotechnology Journal*. 15:249- 256. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6296645/pdf/main.pdf>. Consultado: marzo 2023
- Gómez-Pompa. (2022). Sitio oficial. <https://www.reservaeleden.org/agp/index.html>. Consultado: marzo 2023
- Gordo M. y Alonso D. (2017). Los compuestos fenólicos: un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. *Revista de Investigación agraria y ambiental*. 9 (1) 81-104. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6383704#:~:text=Los%20compuestos%20fen%C3%B3licos%20hacen%20parte,y%20la%20del%20acetato%20malonato>. Consultado: marzo 2023

- González-Cortázar, M., López-Gayou V., Tortoriello J., Domínguez-Mendoza B., Ríos-Cortés A., Delgado-Macuil R., Hernández-Beteta E., Blé-González E., Zamilpa A. (2019). Antimicrobial gastrodin derivatives isolated from *Bacopa procumbens*. *Phytochemistry Letters*. 31:33-38. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2019.03.005>
- González A. y Gianoli E. (2004). Morphological plasticity in response to shading in three *Convolvulus* species of different ecological breadth. *Acta oecologica* 26: 185. 190. <https://doi:10.1016/j.actao.2004.05.001>
- González-Zertuche, L. y Orozco-Segovia A. (1996). Métodos de análisis de datos en la germinación de semillas, un ejemplo: Manfreda *Brachystachya*. *Bol. Soc. Bot. México* 58: 15-30. [file:///C:/Users/Ada%20Maria/Downloads/1484-Article%20Text%20\(DOC%20or%20DOCX\)%20\(Public%20PDF\)%20-8542-2-10-20170706.pdf](file:///C:/Users/Ada%20Maria/Downloads/1484-Article%20Text%20(DOC%20or%20DOCX)%20(Public%20PDF)%20-8542-2-10-20170706.pdf). Consultado: marzo 2023
- Gosh T., Kumar T., Kumar D. and Bose A. 2007. A study on wound healing activity of *Bacopa monnieri* Linn. aerial parts. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine* 7(2), 150-156. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/244943929_A_study_on_wound_healing_activity_of_Bacopa_monnieri_Linn_aerial_parts. Consultado: marzo 2023
- Gras T., Kumar T., Kumar D. and Bose A. (2007). A study on wound healing activity of *Bacopa monnieri* Linn. aerial parts. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine* 7(2), 150-156. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/244943929_A_study_on_wound_healing_activity_of_Bacopa_monnieri_Linn_aerial_parts. Consultado: marzo 2023
- Gras A., Parada M., Rigat M., Vallès J., and Garnatje T. (2018). Folk medicinal plant mixtures: Establishing a protocol for further studies. *Journal of Ethnopharmacology*. 214, 244-273. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.12.014>
- Gurevitch T., Teeri J., Wood A. (1986). Differentiation among populations of *Sedum wrightii* (Crassulaceae) in response to limited water availability: water relations, CO₂ assimilation, growth, and survivorship. *Oecologia* 70:198-204. <https://www.jstor.org/stable/4218033>. Consultado: marzo 2023
- Heike, V. (2012). Malezas de México. Retrieved May 30, 2018 de: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/2inicio/home-malezas-mexico.htm>. Consultado: marzo 2023
- Herbario CICY
https://www.cicy.mx/sitios/flora%20digital/ficha_virtual.php?especie=1960.
Consultado: marzo 2023
- Hernández S. R., Fernández C. C. y Baptista L. P. (2014). Metodología de la Investigación 6ª Edición. México: McGraw-Hill/ Interamericana Editores, S.A. de C.V. México, D.F. 600 p.

- Hidalgo Alegría O. (2010). Determinación del efecto cicatrizante del extracto acuoso de la planta *Bacopa proumbens* en la línea celular 3T3 de fibroblastos de ratón. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional. México.
- Instituto Mexicano del Seguro Social IMSS. 2022. Boletín de prensa <https://www.imss.gob.mx/prensa/archivo/202209/460>. Consultado: marzo 2023
- Instituto Nacional de las Mujeres INMUJERES (2015). Situación Torres personas adultas mayores en México. http://cedoc.inmujeres.gob.mx/documentos_download/101243_1.pdf. Consultado: marzo 2023
- ISTA (International Seed Testing Association). (1985). The germination test. *Proceedings of the International Seed Testing Association* 13: 421-463.
- Jiménez A. 1994. Medicina tradicional. Boletín CONAMED-OPS. (13) 33 - 34
- Jiménez C., Hernández J., Espinosa S., Mendoza C. y Torrijos A. (2015). Los saberes en medicina tradicional y su contribución al desarrollo rural: estudio de caso Región Totonaca, Veracruz. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 6(8), 1791-1805. Recuperado de: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342015000801791&script=sci_abstract. Consultado: marzo 2023
- Khanam, UKS., Oba S., Yanase E., Murakami, Y. (2012). Phenolic acids, flavonoids and total antioxidant capacity of selected leafy vegetables. *J. Funct Foods* 4, 979-987.
- Kimura Y., Sumiyoshi M y Sakanaka M. (2007). Effects of *Astilbe thunbergii* rhizomes on wound healing: Part 1. Isolation of promotional effectors from *Astilbe thunbergii* rhizomes on burn wound healing. *Journal of Ethnopharmacology*. 109 (1) 72 – 77. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.07.007>
- Kuehl, R. O. 2001. Diseño de experimentos. Principios estadísticos de diseño y análisis de investigación. Thomson Learning. 2a. (Ed.). México, D. F. 665 p.
- Kumar J., Gond P., Dabas R., Tripathi J., Byadgi P., Tewari P., Kumar S. and Kumar R. (2016). Medicinal importance of *Bacopa monnieri* (L.) Pennell. *Indian Journal of Agriculture and Allied Science*. 2(3), 89- 96. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/332012659_MEDICINAL_IMPORTANCE_OF_Bacopa_monnieri_L_Pennell. Consultado: marzo 2023
- Liu H., Lin Z., Zhang M., Qi X. (2017). Relative importance of sexual and asexual reproduction for range expansion of *Spartina alterniflora* in different tidal zones or Chinese coast. *Estuarine, coastal and shelf science*. 185: 22-30. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecss.2016.11.024>
- López L. M. (2002). Formas de administración más habituales de plantas medicinales. *Fitoterapia*. *Offarm* 21 (2) 122-125. Recuperado de: <https://www.elsevier.es/es->

[revista-offarm-4-articulo-formas-administracion-mas-habituales-plantas-13026490](#).

Consultado: marzo 2023

Lozoya, X. (1998). La herbolaria en México. Tercer Milenio, CONACULTA. México México, D.F.

Lyu Y., Ishida H. (2019). Natural-sourced benzoxazine resins, homopolymers, blends and composites: a review of their synthesis, manufacturing and applications. Progress in Polymer Science. 99: 101168. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2019.101168>

Mandujano S. (2007). La clonalidad y sus efectos en la biología de poblaciones, en L. E. Eguiarte, V. Souza y X. Aguirre (comps.), Ecología molecular, México, Instituto Nacional de Ecología, pp. 215-250.

Martínez A. J. (2018). Domesticación de plantas medicinales. Agroproductividad, 4(4), 3 - 7. Recuperado de: <https://revista-groproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/581>. Consultado: marzo 2023

Martínez Cuazitl A. (2017). Desarrollo de un fitofármaco nanofuncionalizado para el tratamiento tópico de heridas. Tesis para obtener el grado de doctorado IPN. Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía.

Martínez-Cuazitl A., Gómez-García M., Hidalgo-Alegría O., Medel-Flores O., Nuñez-Gastelum J., Martínez E., Ríos-Cortés A., García -Solís M., Pérez-Ishiwara G. (2022). Characterization of polyphenolic compounds from *Bacopa procumbens* and their on wound-healing process. *Molecules* 27 (19):6521 1-18. <https://doi.org/10.3390/molecules27196521>

Matilla A. (2008). Desarrollo y germinación de las semillas. Fundamentos de fisiología vegetal. <https://www.researchgate.net/publication/271512205>. Consultado: marzo 2023

Meier U., Bleiholder H., Buhr L., Feller C., Hack H., HeB Martin, Lancashire P., Schnock U., StauB R., van de Boom T., Weber E. y Zwerger. (2009). The BBCH system to coding the phenological growth stages of plants history and publications. *Journal for Kulturpflanzen*. 61 (2) 41 – 52. https://www.researchgate.net/publication/281574833_The_BBCH_system_to_coding_the_phenological_growth_stages_of_plants-history_and_publications. Consultado: marzo 2023

Mishra A., Mishra A. and Shivesh J. (2018) Effect of traditional medicine bhrami vati and bacoside A-rich fraction of *Bacopa monnieri* on acute pentylentetrazole-induced seizures, amphetamine-inducen modelo of schizophrenia, and scopolamine-inducen memory in laboratory animals *Epilepsy & Behavior* 80, 144-151. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2017.12.040>

- Mistry J., Jafferally D., Xavier R., Albert G., Robertson B., Benjamin R., Mendonca S. and Ingwall-King L. (2021). Assessing the state of at national level. *Global environmental change*. 71: 102409.
<https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2021.102409>
- Molnar Z. y Babai D. (2021). Inviting ecologists to Delve deeper into traditional ecological knowledge. *Trends in ecology and evolution*. 36 (8): 679 – 690.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2021.04.006>
- Molina-Mendoza J. (2013). Aplicación etnomédica de *Mercadonia procumbens* (Mill.) Small. en San Miguel Regla, Huasca de Ocampo, Hidalgo. *Revista electrónica de Investigación COCS-UST* 5(1):1-12. Recuperado de:
<https://docplayer.es/44767021-Aplicacion-etnomedica-de-mecardonia-procumbens-mill-small-en-san-miguel-regla-huasca-de-ocampo-hidalgo.html>.
Consultado: marzo 2023
- Molina-Mendoza, Galván V.R., Patiño A.P., Fernández N.R. (2013). Plantas medicinales y listado florístico preliminar del municipio de Huasca de Ocampo, Hidalgo, México. *Polibotánica*. No. 34. México. pp. 259-291.
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682012000200013. Consultado: marzo 2023
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology plant*, 15, 473-479.
<http://wolfe91.free.fr/MMBI/milieu%20MS/Murashige.pdf>. Consultado: marzo 2023
- Netshiluvhi T. y Eloff J. (2016). Effect of water stress on antimicrobial activity of select medicinal plant species. *South African Journal of Botany*. 102: 202-207.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2015.04.005>
- OMPI. (2017). Proteja y promueva su cultura. Guía práctica sobre la propiedad intelectual para los pueblos indígenas y las comunidades locales. Organización Mundial de Propiedad Intelectual. <https://www.wipo.int/tk/es/>. Consultado: marzo 2023
- OMS. (2013). Estrategia de la OMS sobre la medicina tradicional. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf. Consultado: marzo 2023
- OMS-UICN-WWF. (1993). Directrices sobre Domesticación de Plantas Medicinales. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42870/9243546279.pdf;jsessionid=9561C8B80B0FF5BB1D4D3BC02B9C616B?sequence=1>. Consultado: marzo 2023
- Ozuna T. L., Tapia P. M, y Aguilar C. A. (2006). Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales. Estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico. *Publicacions i Edicions. Universitat de Barcelona*. 9-161.

- Paiva-Martins F., Silva A., Almeida V., Carvalheira M., Serra C., Rodrigues-Borges J. Fernandes J., Belo L., Santos-Silva A. (2013). Protective activity of hydroxytyrosol metabolites on erythrocyte oxidative-induced hemolysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61 (27) 6636 – 6642. <https://doi.org/10.1021/jf4016202>
- Pasquini M., Sánchez O., y Salvador M. (2014). Distribución del conocimiento y usos por generación de plantas comestibles en tres comunidades afrodescendientes en Bolívar, Colombia. *Luna Azul* No. 38 (8), 58 – 85. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-24742014000100004. Consultado: marzo 2023
- Pathak Anunendra, Kulshreshtha D.K., Rakesh M. (2006). Chemical constituents of *Bacopa Procumbens*. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 19(2), 131-136, DOI: 10.1080/14786410410001704732
- Phillips O. (1996). Some quantitative methods for analyzing ethnobotanical knowledge. En Alexiades M (Ed.) *Selected Guidelines for ethnobotanical Research: a Field Manual*. New York Botanical Garden. Nueva York, EEUU. pp. 171-198.
- Plan Municipal de Desarrollo. PMD. 2020-2024, Huasca de Ocampo. (2020). Recuperado: http://planestataldedesarrollo.hidalgo.gob.mx/pdf/PMD/2020-2024/PMD_HuascadeOcampo2020-2024.pdf. Consultado: marzo 2023
- Purugganan M. (2022). What is domestication?. *Trends Ecology and Evolution*. 2996: 1-9 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2022.04.006>
- Qing-Yu Li, Jian -Ping T., Zhang-Cheng y Yong-Jian W. (2014). Growth Performance, Sexual reproduction and clonal propagation of *Iris japonica* Thunb. Natural populations in contrast reciprocal habitats on Jinyun Mountain, China. *Sains Malaysiana*. 43 (2) pp. 161 – 168. <http://journalarticle.ukm.my/6842/>. Consultado: marzo 2023
- Rey de las Moras M. (2008). Factores que influyen en el Desarrollo: el fotoperiodo. *Fisiología de Cultivos. Agricultura*. Recuperado de: https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_Agri%2FAgri_2008_913_920_922.pdf
- Rhada P., Udhayavani C., Nagaraj R., and Sivaranjani K. (2021). Documentation and quantitative analysis of the traditional knowledge on medicinal plants in Udumalpet Block, Tiruppur District, Tamil Nadu, India. *Acta Ecologica Sinica*. 42 (2) 122-124. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2021.10.009>.
- Ríos A., Alanís G., y Favela S. (2017). Etnobotánica de los recursos vegetales, sus formas de uso y manejo, en Bustamante, Nuevo León. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*. 8 (44) 1-23. Recuperado de: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11322017000600089. Consultado: marzo 2023

- Rivera-Huntiel A. y Acevedo-Orellana. (2017). Biología floral y productiva de *Esacallonia pulvuerenta* (Ruiz et Pav.) Pers (Escalloniaceae) y su relación con los visitantes florales. Gayana. Botánica 74: 82 – 93. https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-66432017000100082. Consultado: marzo 2023
- Rodríguez M. Zapata E., Vázquez V., Rodríguez M., Martínez B y Vizcarra I. (2008). Saberes femeninos y uso de plantas medicinales en Santa Catarina del Monte, Estado de México. Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente 8 (15), 17-41. Recuperado de: <https://sociedadesruralesojs.xoc.uam.mx/index.php/srpma/article/view/118>. Consultado: marzo 2023
- Rosabal A., Martínez G., Reyes Y., Dell'Amico R. & Núñez M. (2014). Aspectos fisiológicos, bioquímicos y expresión de genes en condiciones de déficit hídrico. Influencia en el proceso de germinación. Cultivos Tropicales, 35(3), 24-35. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v35n3/ctr03314.pdf>. Consultado: marzo 2023
- Rosas-Bustos C. (2020). Factibilidad de Gestión de los conocimientos tradicionales desde el hacer de la cultura sobre el territorio. Revista de estudios andaluces. 40, 96-116. <https://dx.doi.org/10.12795/rea.2020.i40.06>
- Rosete-Juárez C., Aguilar-Castillo J., Juárez-Rosete M., Bugarin-Montoya R., Juárez-López P., Cruz Crespo E. (2014). Hierbas aromáticas y medicinales tradición e innovación. Revista de Biociencias 2(3) 119-129.
- Ruíz M., Pérez M., Argüello J y Babinec F. 2003. Madurez fisiológica de la semilla de *Bromus auleticus* Trin. (cebadilla chaqueña). Revista de Investigaciones agropecuarias. 32 (2) 3-19. <https://www.redalyc.org/pdf/864/86432201.pdf>. Consultado: marzo 2023
- SADER. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2022). México, segundo lugar en registro de plantas medicinales. Recuperado de <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/mexico-segundo-lugar-mundial-en-registro-de-plantas-medicinales?idiom=es>. Consultado: marzo 2023
- Sánchez J., Tejeda M. (2011). Las formas farmacéuticas en el *libellus* de *medicinalibus indorum herbis*. Revista mexicana de ciencias farmacéuticas. 42 (4) 39 – 49.
- Santillán M. L. (2012). El uso tradicional de las plantas medicinales, un aporte para la ciencia. Ciencia UNAM. Recuperado de https://ciencia.unam.mx/leer/97/El_uso_tradicional_de_las_plantas_medicinales_u_n_aporte_para_la_ciencia. Consultado: marzo 2023

- Sharman M., Sharma A., Kumar A. y Basu S. (2011). Enhancement of secondary metabolites in cultures plant cells through stress stimulus. *American journal of plants physiology*. 6 (2) 50-71.
- SAS, Statistical Analysis System (2012-2022) SAS On demand for academics. https://www.sas.com/es_mx/software/on-demand-for-academics.html (Febrero 2022).
- Schwartz M. (2013). *Phenology an interactive environmental science*. (2a edition). Springer. 1 p.
- SIC. (2022). Sistema de información cultural, pueblos indígenas. https://sic.cultura.gob.mx/index.php?table=grupo_etnico. Consultado: marzo 2023
- Sepúlveda-Jiménez, Porta-Ducoing y Rocha-Sosa. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21(3) 355 – 363. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61221317.pdf>. Consultado: marzo 2023
- Standley P. y Williams L. (1973). *Scrophulariaceae. Flora of Guatemala. Part IX*, Ed. Field Museum Natural History, E.U. Fieldiana. Botany 24 (3-4), 319-418.
- Suárez-Medina K. y Coy-Barrera E. (2016). Diversidad de los compuestos orgánicos bioactivos de origen natural: una singularidad manifestada por la plasticidad en el metabolismo secundario. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*. 12 (2) 252-269.
- Taiz L. y Zeiger E. (2006). *Plant Physiology*. 3a Edición. Universitat Jaume
- Taylor, J., Wester D., and Smith L. (1999). Soil disturbance, flood management, and riparian woody plant establishment in the Rio Grande floodplain. *Wetlands* 19: 372-382
- Valladares, L. y Olive, L. (2015). ¿Qué son los conocimientos tradicionales? Apuntes epistemológicos para la interculturalidad. *Cultura Representaciones Sociales*, 10(19), 61-101. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-81102015000200003&script=sci_abstract. Consultado: marzo 2023
- Valladares F., Sánchez-Gómez D., Zavala M. (2006). Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. 2006. *Journal Ecology* 94, 1103-1116.
- Vázquez M., B., Martínez C., B., Aliphat F., M., y Aguilar C., A. (2011). Uso y conocimiento de plantas medicinales por hombres y mujeres en dos localidades indígenas en Coyomeapan, Puebla, México. *Interciencia*, 36(7), 493-499. ISSN: 0378-1844. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33919424004>. Consultado: marzo 2023

- Velázquez V. G., Pérez A. B., Ortega M. L. y Nelly J. Z. (2019). Conocimiento etnobotánico sobre el uso de plantas en la Sierra Negra de Puebla, México. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 18(3), 265-276. DOI: <https://doi.org/10.37360/blacpma.19.18.3.17>
- Velasco R., Tapia R., Vega A. (2004). Aspectos históricos para el uso de las plantas medicinales. *Contactos* 51: 11 – 20. <http://www2.izt.uam.mx/newpage/contactos/anterior/n51ne/plantas.pdf>. Consultado: marzo 2023
- Ventura E., Salcedo M., Hernández B. Martínez G., Trejo T., De Jesús, S., Velázquez V., and Jiménez A. (2003). In vitro regeneration and acclimatization of plants of tumeric (*Curcuma longa* L.) in a hydroponic system. *Biotechnol. Appl.* 20: 25-31.
- Vervoort R. y Alfermann A. (2000). *Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism*. Kluwer academic publisher. London.
- Villareal M., Cardoso-Taketa Alexandre, Ortíz Anabel y Ashutosh Sharma. (2014). "Biotecnología Para Producir Medicinas de Plantas Mexicanas" *Revista Digital Universitaria*, Vol. 15, No.8. <http://www.revista.unam.mx/vol.15/num8/art62/index.html>. Consultado: marzo 2023
- WIPO. World Intellectual Property Organization. (2022). <https://www.wipo.int/tk/es/>. Consultado: marzo 2023
- Zavala – Hernández T., Córdova – Tellez L., Martínez-Herrera J., Molina-Moreno J. (2015). Desarrollo del fruto y semilla de *Jatropha curcas* L. e indicadores de madurez fisiológica de la Semilla. *Revista fitotécnica Mexicana*. 83 (3) 275 – 284. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802015000300006#:~:text=La%20madurez%20fisiol%C3%B3gica%20de%20la%20rendimiento%20y%20calidad%20de%20semilla. Consultado: marzo 2023

ANEXO I



Necesitamos de su apoyo para conocer más de sus usos y ubicación de esta planta





SI LA HA VISTO FAVOR DE COMUNICARSE AL SIGUIENTE NÚMERO
TEL: 222 464 4412



Colegio de Postgraduados



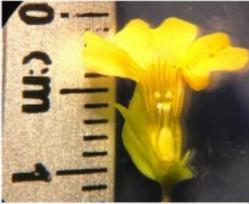
¿CONOCE ESTA PLANTA?

BACOPA

Esta planta se encuentra distribuida en el estado de Hidalgo, algunos la conocen como metatera; también como esperanza, hierba té, hoja de quebranto, violetilla, trencilla, hierba de la golondrina, oreja de ratón y científicamente se conoce como *Bacopa procumbens*.



¿Con qué otro nombre la conoce?



Posee diferentes usos medicinales que incluyen cicatrización, problemas de infecciones, diarrea, desórdenes biliares, antifatiga.

¿Conoce otro uso medicinal de esta planta?



USO TRADICIONAL

Se conoce que se aplica en fomentos con agua y alcohol para las heridas, también se ha usado en té y en lavados

¿Conoce alguna otra forma de usarla?



Tríptico

Cuestionario aplicado a los habitantes de Huasca de Ocampo, Hidalgo.

ANEXO II

Nombre:		Ocupación/profesión:	
Localidad:		Edad:	Tel:

DATOS DE LA ESPECIE

Nombre popular:								
Abundancia:	Muy rara	Rara	Común	Abundante				
¿Es medicinal?	si			no				
¿Qué uso le da?	En heridas	Para la piel	Dolor estomacal	Dolor de cabeza	otros			
¿Dónde se recolecta?	Silvestre	cultivada	A la orilla de los lagos	En monte	En linderos	Llanos	En el bosque	
Parte de la planta utilizada	Tallos	Hojas	Frutos	Flores	Raíz	Flores	Planta entera	
Época de recolección	Primavera		Verano	Otoño	Invierno			
¿Existe alguna preferencia en el calendario o santoral para su recolecta?				SI	NO			
¿Quién colecta?	Informante	Adquirida por otra persona	Niños	Mujeres				
	Hombres	Ambos	Ancianos	Comprada				
¿Cómo se recolecta?	Se toman hojas de las plantas			Se toma toda la planta				
¿Cuándo se puede conseguir?	Marzo - Junio	Julio-Septiembre	Octubre-Diciembre	Enero-Marzo				
Forma de uso	Fresco	Con alcohol	Hervida	Asada	Compresas	Otro		
¿Lo combina con otros elementos o plantas?	si			no				
¿Qué otros elementos o plantas?								
¿Se conoce alguna leyenda o ritual de esta planta?				Si	No			
¿Cuál? ¿Podría comentarla?								
¿Se emplea para otros usos?	Medicina	Veterinaria	Forrajes para animales	Artesanías	Otros			
¿Cómo aprendió a usarla?	Familiares	Amistades	Curanderos/Chamanes	Naturistas	Médicos			

Almacenamiento y conservación	Desecado	Extracto	Alcohol	Cultivo
¿Cómo la cultiva? Primero: ¿Usted la cultiva? ¿Desde cuándo?	Maceta	Suelo		
¿Lo hizo con semilla o por planta?	Si		No	
¿En Qué fecha sembró?				

ANEXO III

Formulación de solución hidropónica

Nutriente	Ppm o mg/L
Nitrógeno (N)	180
Calcio (C)	158
Fósforo (P)	41
Potasio (K)	172
Magnesio (Mg)	25
Manganeso (Mn)	0.70
Hierro (Fe)	1.50
Boro (B)	0.13
Zinc (Zn)	0.14
Cobre (Cu)	0.06
Molibdeno (Mo)	0.05
Azufre (S)	55
Total ppm	633

ANEXO IV

Cromatogramas de fracciones obtenidas

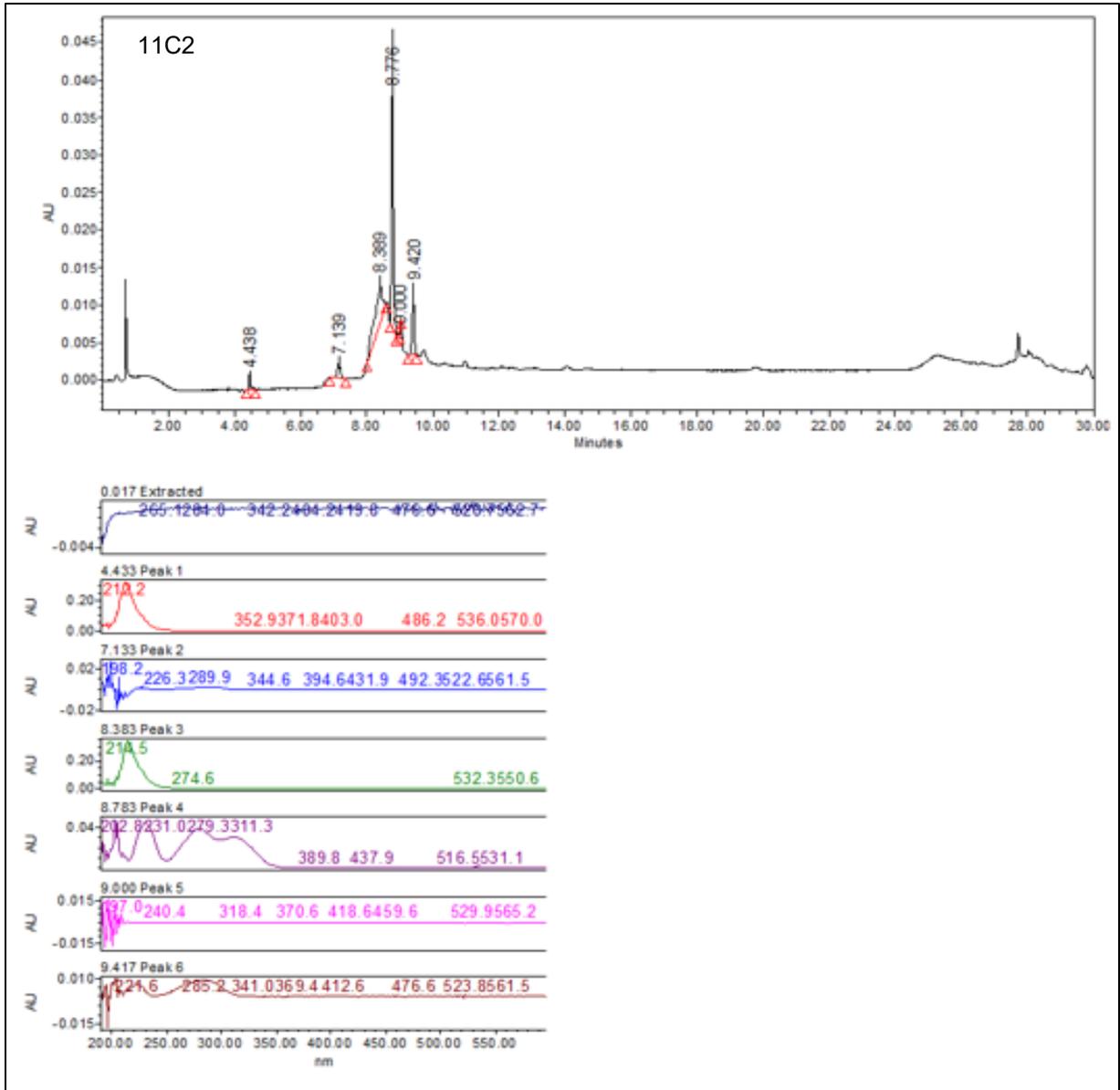


Figura 34. Cromatograma obtenido de la fracción 11C2, mediante espectro de absorción en el UV-visible

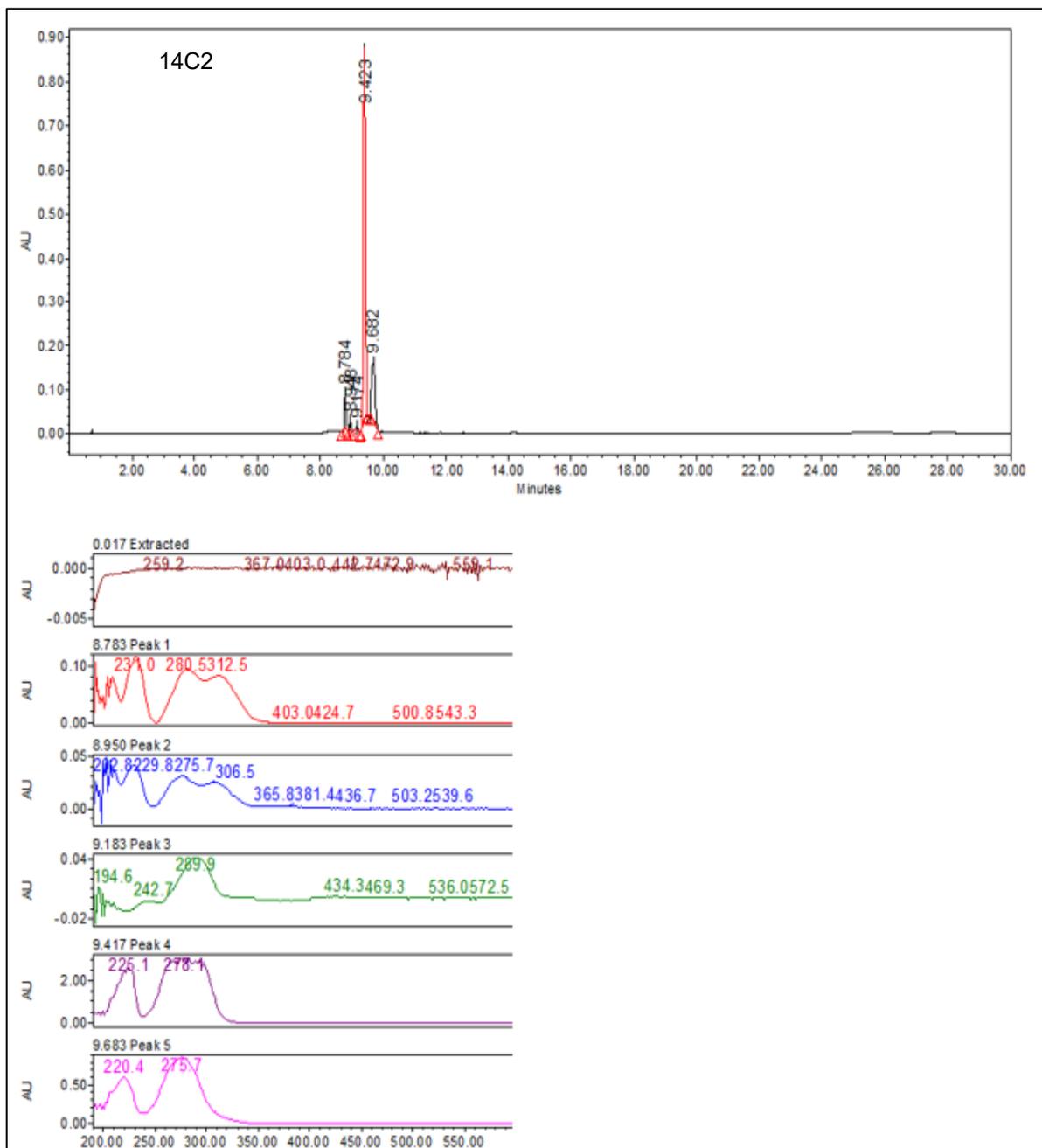


Figura 35. Cromatograma de HPLC obtenido de la fracción 14C2, mediante espectro de absorción en el UV-visible.