



Avances en Investigación Agropecuaria
ISSN: 0188-7890
revaia@ucol.mx
Universidad de Colima
México

Identificación molecular de *Lippia graveolens* Kunth s.l., Verbenaceae: Lantaneae, en la planicie costera del Golfo de México

Quiroz Velásquez, Jesús Di Carlo; Bazán Cruz, Bianca Edith; Cruz-Cruz, Jeremías; Salazar-Bravo, Ángel; Hernández-Mendoza, José Luis

Identificación molecular de *Lippia graveolens* Kunth s.l., Verbenaceae: Lantaneae, en la planicie costera del Golfo de México

Avances en Investigación Agropecuaria, vol. 21, núm. 3, 2017

Universidad de Colima, México

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=83757423001>

AVANCES EN INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA, volumen 21, número 3, octubre 2018 es una Publicación cuatrimestral editada por la Universidad de Colima, Av. Universidad # 333, Col. Las Víboras, Colima, Colima, México. CP 28045. Teléfono: (312) 3161000. Ext. 40011, www.ucol.mx/revaia, revaia@ucol.mx, aiagropecuarias@yahoo.com.mx. Director responsable José Manuel Palma García. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo No. 04-2016-112411015200-203, ISSN digital "2683-1716", ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización, MC. Rosa Alejandra del Viento Camacho e Ing. Manuel Gutiérrez Gómez, Av. Universidad # 333, Col. Las Víboras, Colima, Colima, México. C.P. 28045. Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación. Se autoriza la reproducción total o parcial de los textos aquí publicados siempre y cuando se cite la fuente completa y la dirección electrónica de la publicación.



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional.

Identificación molecular de *Lippia graveolens* Kunth s.l., Verbenaceae: Lantaneae, en la planicie costera del Golfo de México

Molecular identification of *Lippia graveolens* Kunth s.l., Verbenaceae: Lantaneae, in the coastal plain of the Gulf of Mexico

Jesús Di Carlo Quiroz Velásquez
Instituto Politécnico Nacional Centro de Biotecnología
Genómica, México

Redalyc: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=83757423001>

Bianca Edith Bazán Cruz
Universidad Autónoma de Tamaulipas Unidad Académica
Multidisciplinaria Reynosa, México

Jeremías Cruz-Cruz
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Departamento de Botánica, México

Ángel Salazar-Bravo
Instituto Politécnico Nacional Centro de Biotecnología
Genómica, México

José Luis Hernández-Mendoza
Instituto Politécnico Nacional Centro de Biotecnología
Genómica, México

Recepción: 01 Marzo 2017
Aprobación: 15 Enero 2018

RESUMEN:

El orégano es una especie de amplia distribución en territorio mexicano, donde sus poblaciones se han adaptado a condiciones geoclimáticas muy diversas. En este trabajo se ubican poblaciones nativas, se georeferencian y se realiza la identificación molecular usando ITS'S. Es importante recalcar que no existe en el NCBI información reportada de *Lippia graveolens*. Las secuencias obtenidas tienen alto nivel de identidad y cobertura con *Lippia sidoides*, la cual es considerada como sinónimo de *Lippia graveolens* y *L. berlandieri*, especies cuya presencia ha sido reportada en México en regiones montañosas y el altiplano mexicano.

PALABRAS CLAVE: Morfología floral, descripción, quimiotipos, frontera Tamaulipas-Texas.

ABSTRACT:

Oregano is a specie of wide distribution in Mexican territory, where their populations have adapted to very diverse geoclimatic conditions. In this work native populations were located, they georeference and they realize the molecular identification using ITS's. It is important to reiterate that in the NCBI reported information of *Lippia graveolens* does not exist. The sequences obtained have a high level of identity and coverage with *Lippia sidoides*, of which it is considered as synonym whit *Lippia graveolens* y *L. berlandieri*, species whose presence has been reported mountainous regions of Mexico and in the Mexican highlands.

KEYWORDS: Floral morphology, description, chemotypes, Tamaulipas-Texas border.

INTRODUCCIÓN

La tribu Lantaneae agrupa poblaciones presentes en medios ambientes variados, donde han desarrollado adaptaciones que reflejan una aparente plasticidad génica, que forma filogenéticamente una tribu rica en

especies dentro de la familia Verbenaceae, que está conformada por nueve géneros diferentes (Marx *et al.*, 2010; Lu y Olmstead, 2013), y de ellos *Lippia* spp, que se estima tiene unas 200 especies (Atkins, 2004). Por otra parte, un gran número de Lantaneae incluye especies con amplias variaciones en su morfología (hierbas, arbustos y árboles pequeños), arquitectura de inflorescencias y hojas: en *Lantana* se forman drupas, mientras que en *Lippia* spp lo típico son los esquizocarpos (Troncoso, 1974; Lu y Olmstead, 2013)

Los estudios filogenéticos realizados en plantas (Lohmann, 2006; Marx *et al.*, 2010; Bárcenas *et al.*, 2011; Yuan *et al.*, 2009) muestran un bajo rango de cambios moleculares, y los análisis multilocus parecen ser necesarios para mostrar diferencias entre especies (Lohmann, 2006; Yuan y Olmstead, 2008; Yuan *et al.*, 2009; Novak *et al.*, 2008; Cazares *et al.*, 2010). Sin embargo, el uso de la técnica de pentatricopeptide repeat (PPR), en la que se emplean varias secuencias de locis nucleares, puede ser aconsejable para estudios en verbenáceas y es valioso como herramienta filogenética en Lantaneae (Katsiotis *et al.*, 2009; O'Leary *et al.*, 2012; Lu y Olmstead, 2013).

La presencia y cuantificación de timol y carvacrol tienen importancia relevante por sus funciones como antibióticos, antioxidantes y antiparasitarios (Pino *et al.*, 2006; Arana *et al.*, 2010; Rocha *et al.*, 2007). Sin embargo, el uso principal del orégano es por la participación del follaje seco en el arte culinario, pues es altamente aromático (Castillo *et al.*, 2007).

El orégano mexicano (*Lippia graveolens* Kunth s.l.) es una planta que se encuentra presente en comunidades vegetales herbáceas, matorrales submontanos, espinosos, subinermes, rosetófilos y otros paisajes del desierto chihuahuense (Castillo, 1991; Huerta, 1997; Olhagaray *et al.*, 2005; Treviño y Valiente, 2005; Quezada *et al.*, 2011; Villavicencio, 2010; Granados *et al.*, 2013). Las áreas donde son reportadas las poblaciones tienen diferentes altitudes, condiciones climáticas y de calidad de suelo; debido a ello, se considera una planta con alta plasticidad y adaptabilidad al medio ambiente (Griffith y Sultan, 2006).

La distribución de la planta cambia de acuerdo a las condiciones ecogeográficas. Por ejemplo, en los estados de Puebla y Oaxaca, que tienen densidades que van desde 1,000 a 5,000 plantas/ha (Quezada *et al.*, 2011). En Jalisco, sus densidades alcanzan las 25,000 plantas/ha. En San Luis Potosí, la densidad promedio es de 4,000 plantas/ ha. En Tamaulipas, las poblaciones prosperan en montañas y lomeríos de los municipios de San Carlos, Hidalgo, Casas, Jaumuave, Bustamante y Méndez, este último, que está a una mayor latitud entre los mencionados, tiene una abundancia de 905 plantas/ha (Quezada *et al.*, 2011). En este estado, el registro más al norte del que se tiene conocimiento son las poblaciones de orégano situadas en las inmediaciones de la cabecera municipal de Méndez, Tamaulipas (25°06'37.8"N 98°36'26.5"W) (Quiroz *et al.*, 2016), ubicada a más 140 km en línea recta de la ciudad de Reynosa, Tamaulipas.

El presente artículo sirve para documentar la presencia de poblaciones nativas de orégano mexicano, *Lippia graveolens* Kunth s.l., ubicadas en la región fronteriza de México, así como las primeras secuencias obtenidas por Espaciadores Internos Transcritos (Internal Transcribed Spacer [ITS]) para la identificación molecular de dichas poblaciones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción morfológica

En el verano del 2014 se realizaron recorridos en la periferia de la ciudad de Reynosa, Tamaulipas, ubicada en la frontera de Tamaulipas con Texas-USA. Se recolectaron muestras de poblaciones nativas en sitios cuya ubicación se muestra en el cuadro 1.

CUADRO 1
Ubicación de los sitios muestreados en Reynosa, Tamaulipas, con poblaciones naturales de orégano.

Sitio	Altitud	Latitud norte	Longitud oeste	Densidad
Rey 01	53	26° 04' 22.7''	98° 20' 17.5''	81
Rey 02	79	26° 03' 48.0''	98° 23' 44.2''	26
Rey 02a	72	26° 03' 48.0''	98° 23' 44.2''	43
Rey 02b	69	26° 03' 41.3''	98° 23' 47.0''	12
Rey 02c	88	26° 03' 50.4''	98° 23' 28.1''	13
Viad 01	65	26° 00' 40.3''	98° 20' 57.6''	62
Sol 01	55	26° 04' 0.95''	98° 18' 47.7''	nd
Sol 02	58	26° 02' 14.8''	98° 20' 13.9''	nd

(Rey= Reynosa; Viad= Viaducto Noreste; Sol= Col. Solidaridad; nd= No determinado).

Las poblaciones se detectaron al sureste y al noroeste de la ciudad de Reynosa, donde los suelos tienen pH de 8.0. Las plantas crecen en suelo predominantemente calcáreo, con una geomorfología dominada por llanuras y pequeños lomeríos, vegetación xerófila, en altitudes de 53 a 88 m. En los sitios visitados (Rey 01 y Rey 02c), el suelo es de roca caliza, pedregoso, y en los sitios 2, 3 y 4, los suelos son profundos, rojizos y poco pedregosos. La precipitación promedio es de 650 mm anuales, con lluvias de verano, y en menor escala en invierno. Los sitios del 1 al 3 corresponden a zonas perturbadas con asentamientos urbanos a su alrededor; el sitio 4 conserva parte sin perturbar, es una ladera con un suelo pedregoso. El sitio 5 presenta un tipo de suelo castaño color rojizo oscuro. Todos los sitios, en las cercanías a la ciudad, están en peligro de desaparecer por la urbanización de la cual es objeto la zona. De hecho, los muestreos iniciales se realizaron en verano de 2014, y para el otoño del 2016, el orégano de los sitios 1 a 3 desapareció por el crecimiento urbano de la ciudad.

Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Cuantificación de timol y carvacrol, como parte de los aceites esenciales, se realizó por HPLC. La extracción de aceites se realizó con 10 g de hoja seca de orégano, colocados en un matraz de 250 mL⁻¹ y añadiendo 100 mL⁻¹ de etanol absoluto por durante 24 h; el sobrenadante se centrifugó a 10000 rpm durante 15 min, se filtró con membrana de nylon de 0.45 µm. La muestra se inyectó al HPLC (Hewlett Packard® modelo 1100, USA), previamente acondicionado y calibrado con estándares de timol (J.T. Baker®) y carvacrol (Sigma-Aldrich®), con una columna RP-18, marca Beckman Ultrasphere® de 150 mm de largo por 4.6 mm de diámetro. La fase móvil consistió en metanol-agua 50/50 (CH₃OH/H₂O) y el detector ajustado a 280 nm. El volumen de inyección fue 20 µL⁻¹, con flujo de 1 mL⁻¹/min, tiempo de corrida 10 min y temperatura de 30 °C.

Identificación molecular

Para la extracción del ADN se utilizó el kit Wizard Genomic DNA Purification de Promega®. Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 50 µL⁻¹, con 1.5 µL⁻¹ del DNA genómico, 5 µL⁻¹ de Buffer 10X (concentración final a 1X), 1.5 µL⁻¹ de cloruro de magnesio de 50 mM (final 3 mM), 1 µL⁻¹ de dNTPs 10 mM (0.2 mM), 1 µL⁻¹ del par de iniciadores intergénicos, ITS1-5.8S-ITS2, Forward (5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG3') y Reverse (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3'), 5 µM (final 0.1 µM) y 0.4 µL⁻¹ de la enzima Taq DNA polimerasa 5 U/µL⁻¹ en 50 µL⁻¹ de volumen final. El programa que se utilizó consistió de un ciclo de 3 min a 94 °C y 35 ciclos de 1 min a 94 °C, 1 min a 53 °C y 1 min a 72 °C, con un paso de extensión final de 1 min a 72 °C, manteniéndose a 4 °C. Las reacciones de PCR se

llevaron a cabo en un termociclador Peltier MJ Research®, y la visualización se realizó en un gel de agarosa al 1%, adicionando con 0.1 μL^{-1} syber gold y 0.4 μL^{-1} de orange.

Las muestras se corrieron en una cámara de electroforesis horizontal (Bio-Rad®) a 80 volts por 1 h⁻¹. Se visualizó el gel en el trasiluminador de luz ultravioleta, captando la imagen en el programa Kodak Digital Science™ 1D®. La reacción de secuenciación se realizó en BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit. Las muestras se secuenciaron en el Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional, en un secuenciador ABI-Prism® (Foster City, CA, USA).

Las secuencias que se obtuvieron fueron analizadas con el software CLC Sequence Viewer 7.6.1®, y comparadas con las secuencias de referencia depositadas en la base de datos del NCBI (National Center for Biotechnology Information).

RESULTADOS

Para la identificación taxonómica, se herborizaron plantas y se enviaron al Herbario del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Durango, del Instituto Politécnico Nacional, para ser identificadas, obteniendo confirmación de la especie como *Lippia graveolens* Kunth s.l. Las características descriptivas de las hojas de *Lippia* sp., del municipio de Reynosa se muestran en el cuadro 2.

CUADRO 2
Características de las hojas de acuerdo con la porción de la
planta de orégano de la región costera del Golfo de México.

	Baja	Media	Alta
Long. pedúnculo (mm)	0.646	0.862	0.620
Ancho de hoja (mm)	1.072	1.542	1.145
Longitud de hoja (mm)	2.172	2.971	2.088
Área foliar (mm ²)	1.547	4.237	2.767

DESCRIPCIÓN

La planta alcanza una altura máxima de un metro, con una arquitectura variable; plantas de escasos tallos, arborescente y otras plantas de varios tallos y muy ramificadas. Las ramas de los años anteriores, desarrollan una corteza que se desprende en tiras longitudinales. Al final de año, por lo general, tiran la mayor parte de las hojas, al igual que las semillas.

Hojas: son ternadas, pecioladas y sin estípulas. Los meristemos axilares originan yemas axilares de maduración ascendente. Las yemas son de desarrollo siléptico, que originan paraclados o yemas prolépticas que forman nuevas ramas. Estas últimas son de tipo homomórfico. Las hojas tienen forma oval de márgenes crenados, son anchas hacia la parte central y con terminación roma. Miden entre 2 y 5 cm, según su posición en la rama. Las más grandes están hacia la porción media (figura 1). Los bordes de las hojas son claramente dentados, con el limbo cóncavo y totalmente cubierto por tricomas en ambos lados. Los haces conductores son longitudinales y poco ramificados. Alcanzan los bordes de la hoja en ramificaciones terciarias o cuaternarias delgadas, que terminan en las hendiduras de los bordes.

Inflorescencias: las poblaciones de orégano que fueron muestreadas, presentan florescencias distribuidas en toda la rama, principalmente en la parte superior. Son cilíndricas. Son cabezuelas (espigas) glomerulares,

cilíndricas, que se desarrollan a partir de los puntos axilares de las hojas. Surgen en grupos de uno a ocho florescencias por axila. Tienen origen opuesto, igual que las hojas, y la orientación se alterna a lo largo de la rama. Están distribuidas a lo largo de la rama, predominantemente hacia la zona de crecimiento y cuando la planta está en etapa de floración, la florescencia corona la punta de la rama o del tallo (figura 3).

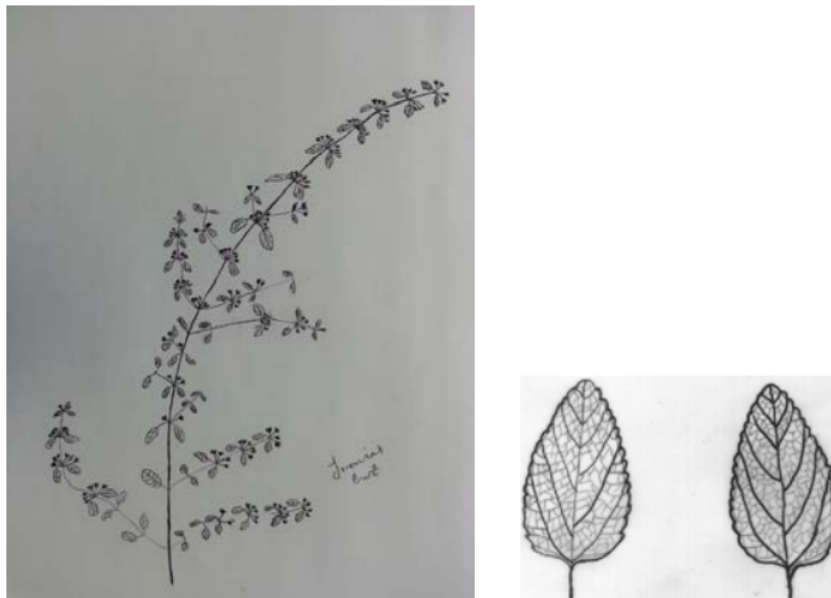


FIGURA 1
Esquema general de la distribución de hojas e inflorescencias.
Esquema de venación en envés y haz de una hoja.
Fuente: Esquemático por Jeremías Cruz-Cruz, UAAAN, CBG-IPN.

Flor: Las flores tienen brácteas, dispuestas en series. Son de color verde, cóncavas, imbricado-decusadas, soldadas entre sí y más pequeñas que las flores. Las flores son blancas o ligeramente amarillentas, alargadas, con un ensanchamiento central, por encima del cáliz, que es de color verde. El número va de una a nueve flores por inflorescencia (figura 3).

Los pétalos son de color blanco o blanco amarillento. El pétalo superior es más largo que los otros; el inferior es más ancho que largo y posee, además, dos pétalos laterales que son los más delgados. Los pétalos están irrigados por ases conductores de dos a ocho que se originan en la base. Recorren el tubo corolario hacia la orilla donde terminan abruptamente (figura 2).

Los pétalos cubren totalmente las estructuras reproductoras, las cuales se encuentran en la zona del ensanchamiento, donde los estambres, cuyos filamentos están adheridos a la corola, se separan para formar ocho anteras que posteriormente se llenan de polen (figura 2).

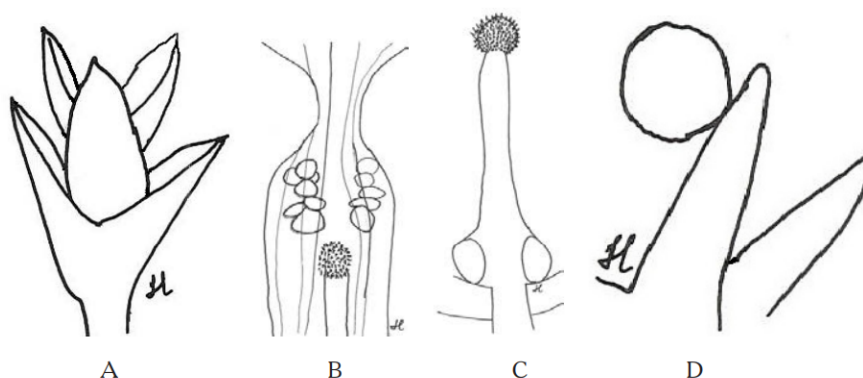


FIGURA 2
Detalles de la flor de orégano.

- A) Sección basal de la florescencia de orégano mostrando las brácteas en posición alternada.
B) Detalle de la flor, mostrando el angostamiento de la corola, los sacos polínicos y el ápice del estigma.
C) Estigma con ovario súpero y en la parte superior el estigma cubierto de prolongaciones receptoras de los granos de polen. Las líneas verticales corresponden a ases conductores que irrigan la flor.
D) Detalle de una protuberancia del ápice del estigma y un grano de polen adherido.

Fuente: Esquemático por Jeremías Cruz-Cruz, UAAAN, CBG-IPN.

El gineceo tiene un ovario súpero, bilobulado, de base ancha donde se encuentran los óvulos, posteriormente, toma forma tubular hasta que se ensancha para alojar los estambres. En el último tercio, el tubo corolario se angosta para abrirse finalmente y separar los pétalos. El gineceo es una estructura libre, central, que en etapa temprana se ensancha en la punta. Cuando está maduro, la estructura es delgada y muestra una punta cubierta de proyecciones terminadas en punta, que es donde se adhieren los granos de polen (figura 2).

El cáliz es de color verde pálido. Al retirar las brácteas que rodean el tallo interno de la inflorescencia, queda expuesto el cáliz que sostienen las flores, con orientación alterna en la inflorescencia (figura 2).

Los tricomas tienen una longitud máxima de 0.75 mm de longitud. Son huecos, se unen a la hoja por estructuras especializadas (figura 3). Los tricomas y las estructuras están presentes en todas las hojas y en la inflorescencia. Se pueden observar tricomas alargados o glandulares.

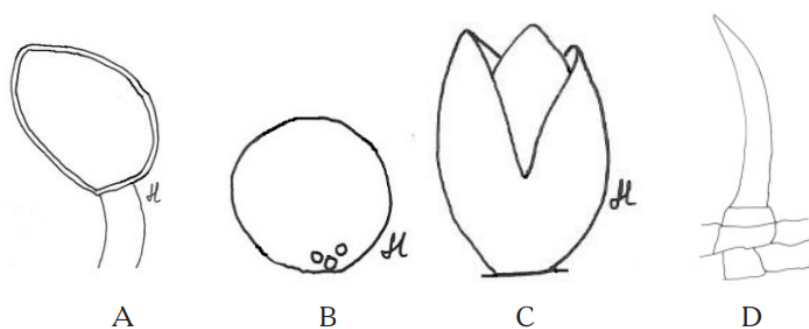


FIGURA 3
Detalle de estructuras de orégano *Lippia graveolens* Kunth s.l. de Reynosa, Tamaulipas.

- A) Saco polínico y pecíolo que lo une a la corola tubular.
B) Detalle de grano de polen.
C) Semilla de orégano mostrando el embrión.
D) Tricoma típico que se encuentra distribuido en la flor del orégano.

Fuente: Esquemático por José Luis Hernández-Mendoza, CBG-IPN.

Aceites esenciales

En la figura 4, (la curva de calibración, estimada con diluciones de los estándares de carvacrol y de timol) se calcula que se pueden detectar valores en soluciones problema, comprendidos entre 20 y 100 ppm.

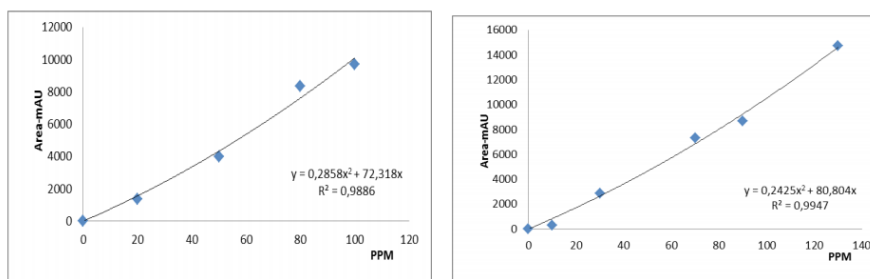


FIGURA 4

Curva de calibración del carvacrol (izq.) y timol (der.) a partir de las cuales se estiman los valores en las poblaciones estudiadas.

Cuantificación de los extractos de Lippia graveolens kunth s.l.

Las muestras analizadas del municipio de Reynosa, Tamaulipas, por sus contenidos de carvacrol y timol, se estima, corresponden al quimiotipo carvacrol, pues es el que presenta las mayores concentraciones; esto sin haber realizado los análisis de sesquiterpenos para completar este dictamen. La presencia del timol permite dar valor agregado a esta planta por la actividad antimicrobiana que le caracteriza (figura 5).

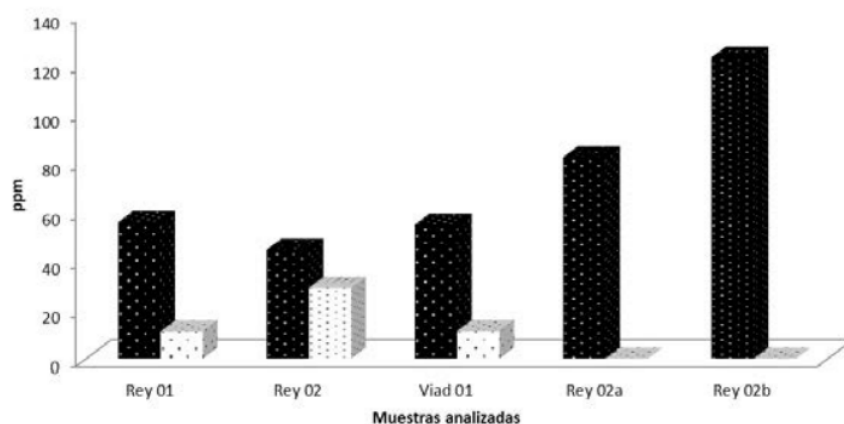


FIGURA 5

Cuantificación de carvacrol (barras negras) y timol (barras blancas), en muestras de orégano obtenidas de Reynosa, Tamaulipas.

(ppm: partes por millón. Sitios de muestreo descritos anteriormente).

(Rey= Reynosa; Viad= Viaducto Noreste).

Identificación molecular

Los fragmentos amplificados de la región ITS muestran una longitud de 600 pb; el análisis bioinformático de las secuencias amplificadas, reportó una homología del 98% con *Lippia graveolens* Kunth s.l.; los fragmentos amplificados se alinearon en el programa CLC Sequence Viewer 7.6[®]; se midió la distancia de los nucleótidos y, posteriormente, se generó un árbol filogenético, aplicando el método Neighbor Joining y Jukes-Cantor, realizando el análisis de bootstrap con 1000 réplicas. El dendrograma obtenido agrupó las accesiones con base en las distancias filogenéticas y, al hacerlo, se incluyeron a manera de testigos las secuencias reportadas en el ncbi (National Center for Biotechnology Information) de *Lippia filifolia*, *Lippia glandulosa* y *Lippia alba* (figura 6).

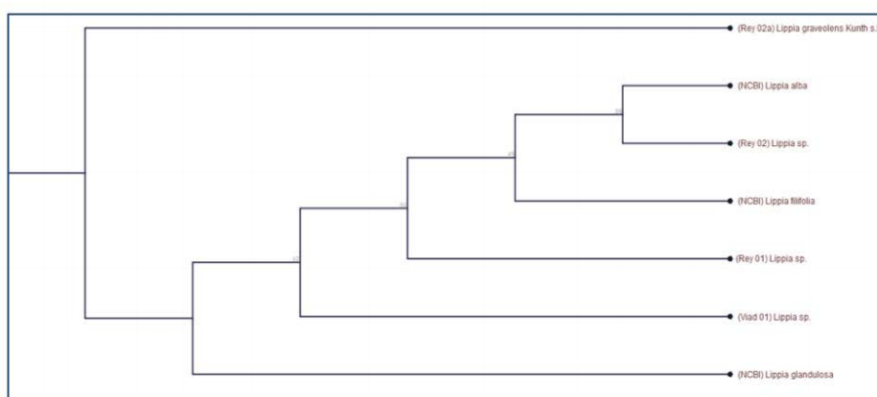


FIGURA 6
Dendrograma de poblaciones de *Lippia spp* y *Lantana sp* en Reynosa, Tamaulipas, con base en secuencias nucleotídicas.

En función de lo anterior, la especie a la que corresponden las poblaciones de orégano que fueron detectadas en esta región corresponden a *Lippia graveolens* Kunth s.l.

DISCUSIÓN

Las especies de la familia Verbenaceae han desarrollado adaptaciones en una aparente plasticidad génica, por lo que son adaptables a diversos medios ambientes (Yuan *et al.*, 2009; Marx *et al.*, 2010; Lu y Olmstead, 2013). El género *Lippia* spp., comprende alrededor de 200 especies (Atkins, 2004), de acuerdo a Quezada *et al.*, 2011. *Lippia graveolens* Kunth s.l., está ampliamente distribuida en México, sobre todo en regiones serranas. En el estado de Tamaulipas, está reportado en los municipios de Jaumave, Bustamante, Miquihuana, Tula, Llera, Victoria, Casas, Burgos, Padilla, Hidalgo, San Carlos, San Nicolás, Cruillas y Méndez.

Estudios realizados por Quiroz *et al.*, 2016, enfocados a la distribución real y potencial del orégano mexicano, con base en los registros de diversas bases de datos, no revelaron la presencia de *Lippia graveolens* Kunth s.l., en la parte norte de la planicie costera del Golfo de México, donde esta especie no había sido reportada (26° 01' 0" N 98° 14' 0" W - Reynosa, Tamaulipas), ubicado a más 120 km en línea recta del último sitio descrito (25°06'37.8"N 98°36'26.5"W - Méndez, Tamaulipas).

Las muestras de orégano analizadas en este trabajo de investigación, se tipificaron por la presencia de terpenoides, de los cuales, según las cantidades de carvacrol, timol y sesquiterpenos, sirven para designarlos (Castillo *et al.*, 2007; Acosta, 2011; Martínez *et al.*, 2014).

En este caso, se cuantificó sólo timol y carvacrol y, de acuerdo con sus contenidos, corresponden al quimiotipo carvacrol, a diferencia de otras especies como *Lippia berlandieri* (Cáceres *et al.*, 2013), donde el quimiotipo principal es el timol, presentando valores de 3.569 ppm y carvacrol de 2.066 ppm. Esta detección, en el presente estudio, es relevante pues el compuesto principal tiene función como antibiótico, antioxidante y antiparasitario (Pino *et al.*, 2006; Arana *et al.*, 2010; Rocha *et al.*, 2007).

Para la ubicación taxonómica de plantas, la región intergénica, se ha postulado como "código genético de barras" (Hollingsworth *et al.*, 2009; Hebert *et al.*, 2003; Chase *et al.*, 2005) y en este estudio, demostró su capacidad para la identificación de la especie. Esto se constituye en un avance para contribuir a la estrategia de identificación taxonómica de especies de plantas de múltiples intereses. Finalmente, las muestras estudiadas, al ser sometidas al análisis BLASTN del NCBI, demostraron homología con *Lippia* sp., convirtiéndose este caso en la primera evidencia de la presencia de *Lippia graveolens* Kunth s.l. en la frontera de México y Texas.

CONCLUSIÓN

La presente investigación reporta, por primera vez, poblaciones de orégano mexicano en la parte norte de la planicie costera del Golfo de México, donde la altitud es inferior a los 100 msnm, los suelos calcáreos, y es, además, un área totalmente fuera de los sitios de distribución típicos de la especie. El uso de herramientas moleculares basadas en ITS' s contribuyó a la ubicación taxonómica; las secuencias reportadas en el NCBI, así como las poblaciones aquí analizadas, tienen alta homología con varias especies de *Lippia spp*, algunas de ellas consideradas como sinónimo de *L. graveolens* Kunth y de *L. berlandieri* Shauer.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por la Universidad Autónoma de Tamaulipas y el Instituto Politécnico Nacional (IPN). Hernández-Mendoza, J.L., es becario COFAA-IPN, EDI-IPN y del Sistema Nacional de Investigadores (SNI-1). Bazán Cruz, B. y Cruz Cruz, J., alumnos de pregrado en estancia, en el laboratorio de biotecnología experimental.

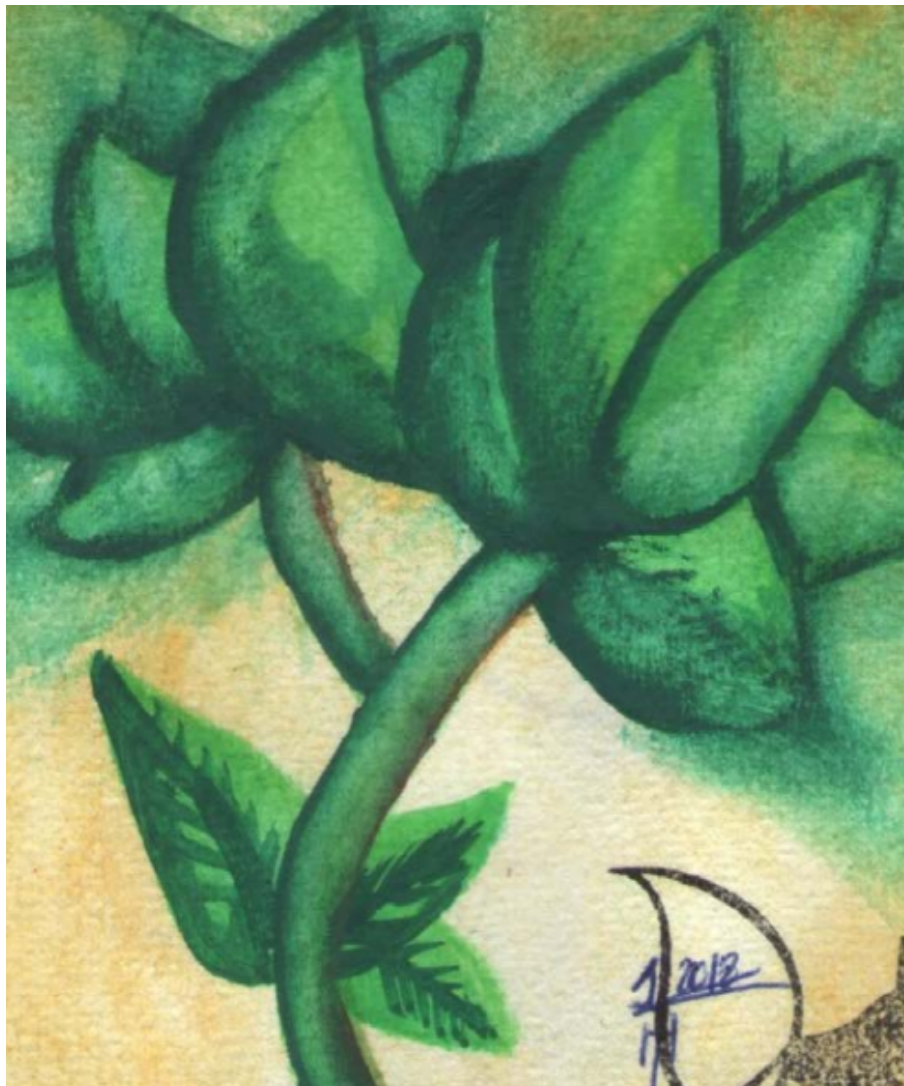
REFERENCIAS

- Acosta, A.V. (2011). Variación en la composición química del aceite esencial de *Lippia graveolens*, en poblaciones silvestres de Yucatán, y su relación con factores edafoclimáticos. Tesis de maestría. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C. México.
- Arana, S. A.; Estarrón, E. M.; Obledo, V. E. N.; Padilla, C. E.; Silva, V. R. and Lugo, C. E. (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of Mexican oregano essential oils (*Lippia graveolens* H. B. K.) with different composition when microencapsulated in β -cyclodextrin. *Letters in Applied Microbiology* 50: 585–590.
- Atkins, S. (2004). Verbenaceae. In: Kadereit, J. W. (ed.). *The families and genera of flowering plants*. Vol. 7. Springer-Verlag, Berlin. 449-468 Pp.
- Bárcenas, R. T.; Yesson, C. and Hawkins, J. A. (2011). Molecular systematics of the Cactaceae. *Cladistics* 27: 470–489.
- Cáceres, R. I.; Colorado, V. R.; Salas, M. E.; Muñoz, C. L. N. y Hernández, O. L. (2013). Actividad Antifúngica *in vitro* de Extractos Acuáticos de Especies contra *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium digitatum* y *Aspergillus niger*. *Revista mexicana de fitopatología* 31(2): 105-112.
- Cazares, A. N. P.; Almeyda, L. I. H.; Pecina, Q. V.; Verde, S. J. y Villavicencio, G. E. E. (2010). Caracterización molecular y producción de aceites esenciales de diferentes genotipos de orégano (*Lippia* sp.). *Rev. Mex. Cien. For.* 1(1): 85-94.
- Castillo, Q. D. (1991). Distribución y ecología del orégano en el municipio de General Cepeda Coahuila. En: Meléndez, G. R. S.; Ortega, S. A. y Peña, R. R. (eds). *Estado actual del conocimiento sobre el orégano en México*. Unidad Regional de Zonas Áridas, Universidad Autónoma de Chapingo. Bermejillo, Durango. México.
- Castillo, H. G. A.; García, F. J. A. and Estarrón, E. M. (2007). Extraction method that enriches phenolic content in oregano (*Lippia graveolens* H. B. K) essential oil. *J Food Process Eng.* 30(6): 664 – 669.
- Chase, M. W.; Salamin, N.; Wilkinson, M.; Dunwell, J. M.; Kesanakurthi, R. P.; Haidar, N. and Savolainen, V. (2005). Land plants and DNA barcodes: short-term and longterm goals. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 360: 1889-1895.
- Granados, S. D.; Martínez, S. M.; López, R. G. F.; Borja, D. A. y Rodríguez, Y. G. A. (2013). Ecología, Aprovechamiento y Comercialización del Orégano (*Lippia graveolens* H. B. K.) en Mapimí, Durango. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 19 (2): 305-321.
- Griffith, T. M. y Sultan, S.E. (2006). Plastic and constant developmental traits contribute to adaptive differences in co-occurring Polygonum species. *Oikos*. 114:5-14.

- Hebert, P. D. N.; Ratnasingham, S. and de Waard, J. R. (2003). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270 (Suppl 1): S96–S99.
- Hollingsworth, M. L.; Andra, C. A.; Forrest, L. L.; Richardson, J.; Pennington, R. T.; Long, D. G.; Cowan, R.; Chase, M. W.; Gaudeul, M. and Hollingsworth, P. M. (2009). Selecting barcoding loci for plants: evaluation of seven candidate loci with species-level sampling in three divergent groups of land plants. *Molecular Ecology Resources* 9: 439–457.
- Huerta, C. (1997). Orégano Mexicano: Oro vegetal. CONABIO. *Biodiversitas* 15: 8-13.
- Katsiotis, A.; Nikoloudakis, N.; Linos, A.; Dorssou, A. and Constantinidis, T. (2009). Phylogenetics relationships in *Origanum* spp. Based on rDNA sequences and intragenetic variation of Greek *O. vulgare* subsp hitum revealed by RAPD. *Scientia Horticulturae* 121: 103-108.
- Lohmann, L. G. (2006). Untangling the phylogeny of Neotropical lianas (Bignoniaceae, Bignoniaceae). *American Journal of Botany* 93: 304–318.
- Lu, I. P. and Olmstead, R. G. (2013). Investigating the evolution of Lantaneae (Verbenaceae) using multiple loci. *Botanical Journal of the Linnean Society* 171: 103-119.
- Martínez, N. D. A.; Parra, T. V.; Ferrer, O. M. M. and Calvo, I. L. M. (2014). Genetic diversity and genetic structure in wild populations of Mexican oregano (*Lippia graveolens* H.B.K.) and its relationship with the chemical composition of the essential oil. *Plant Syst Evol.* 300: 535–547.
- Marx, H. E.; O’Leary, N.; Yuan, Y. W.; Lu, I. P.; Tank, D. C.; Múlgura, M. E. and Olmstead, R. G. (2010). A molecular phylogeny and classification of Verbenaceae. *American Journal of Botany* 97(10): 1647–1663.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI), U.S. *National Library of Medicine* 8600 Rockville Pike, Bethesda MD, 20894 USA. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Novak, J.; Lukas, B.; Bolzer, K.; Grausgruber, G. S. and Decenhardt, J. (2008). Identification and characterization of simple sequence repeat markers from glandular *Origanum vulgare* expressed sequence tag. *Molecular Ecology Resources* 8: 599-601.
- O’Leary, N.; Dehan, S. S.; Salimena, F. and Múlgura, M. E. (2012). Species delimitation in *Lippia* section *Goniostachyum* (Verbenaceae) using the phylogenetic species concept. *Botanical Journal of the Linnean Society* 170: 197-219.
- Olhagaray, E.; Serrato, R.; Del Río, F. y Casas, A. (2005). *Cuantificación de orégano (Lippia berlandieri Shawer) en diez localidades del municipio de Nazas, Durango, México*. 2da Reunión Nacional sobre Orégano. Centro de Investigación para los Recursos Naturales.
- Pino, J. A.; Marbot, R.; Payo, A.; Chao, D. and Herrera. P. (2006). Aromatic plants from Western Cuba. VIII. Composition of the leaf oils of *Psidium wrightii* Krug et Urb., *Lantana involucrata* L., *Cinnamomum montanum* (Sw.) Berchtold et J. Persl. and *Caesalpinia violaceae* (Mill.) Standley. *Journal of Essential Oil Research* 18(2): 170-174.
- Quezada, F. H.; Sánchez, R. G.; Lara, V. M.; Medina, M. T.; y Pérez, Q. L. M. (2011). Parámetros ambientales y abundancia del orégano mexicano (*Lippia graveolens*) en el estado de Tamaulipas. *Ciencia UAT*. 6(1): 24-31.
- Quiroz, V. J. D. C.; Reyes, L. M.; García, O. J.; Salazar, B. A.; Bazán, C. B. E. y Hernández, M. J. (2016). Factores climáticos, geográficos y fisiográficos que contribuyen a la distribución potencial del orégano (*Lippia* spp.) en México. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes* 69: 21-25.
- Rocha, G. N. E.; Gallegos, I. J. A.; González, L. R. F.; Ramos, G. M., Rodríguez, M. M. E.; Reynoso, C. R.; Rocha, U. A. and Roque, R. M. R. (2007). Antioxidant effect of oregano (*Lippia berlandieri* vs. Shauer) essential oil and mother liquors. *Food Chemistry* 102: 330–335.
- Treviño, J. y Valiente, A. (2005). La vegetación de Tamaulipas y sus principales asociaciones vegetales. En: Barrientos, L.; Correa, A. Horta, J. V. y García, J. (Eds). *Biodiversidad Tamaulipeca*. Vol I. Dirección General de Educación Superior Tecnológica. Instituto Tecnológico de Cd Victoria. México.
- Troncoso, W. (1974). Los géneros de Verbenáceas de Sudamérica extratropical. *Darwiniana*. 12: 256-292.

- Villavicencio, G. E. (2010). *Metodología para determinar las existencias de orégano (Lippia graveolens H.B.K.) en rodales naturales de Parras de la Fuente, Coahuila*. INIFAP. 29 p.
- Yuan, Y. W. and Olmstead, R. G. (2008). A species-level phylogenetic study of the Verbenaceae complex (Verbenaceae) indicates two independent intergeneric chloroplast transfers. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 48 (1): 23-33.
- Yuan, Y.W.; Liu, C.; Marx, H. E. and Olmstead, R. G. (2009). The pentatricopeptide repeat (PPR) gene family, a tremendous resource for plant phylogenetic studies. *New Phytol.* 182: 272–283.

Apéndice



Lippia Graveolens

Autora: Marisol Herrera Sosa

Técnica: Acuarelas

Medidas: 10.7 cm x 10.7 cm