

EFFECTO ALELOPÁTICO DE LA FRACCIÓN CLOROFÓRMICA DE *Lagascea mollis* Cav. (ASTERACEAE) SOBRE LA GERMINACIÓN Y EL CRECIMIENTO RADICULAR DE *Oryza sativa* L.

ALLELOPATHY EFFECT OF A CHLOROFORMIC FRACTION OF *Lagascea mollis* Cav. (ASTERACEAE) ON THE GERMINATION AND ROOT GROWTH OF *Oryza sativa* L.

Elizabeth MURILLO P.^{1*}, Amparo VIÑA P.¹, Víctor H. RUÍZ T.² y Carlos A. PÉREZ C.²

RESUMEN

En este trabajo se presenta el estudio de la actividad alelopática de las lactonas terpénicas presentes en las fracciones clorofórmicas de *Lagascea mollis* Cav (Asteraceae). Para tal efecto se evalúa el porcentaje de semillas germinadas y la longitud de radícula de semillas de arroz (*Oryza sativa* L.). La bioactividad observada en las fracciones clorofórmicas es contrastada con la correspondiente en el extracto etanólico crudo. El mecanismo de interacción del metabolito se establece teniendo en cuenta el índice mitótico del meristema radicular, el estudio micromorfológico de la raíz y la conductividad del eflujo celular. Adicionalmente se caracteriza la arvense mediante su descripción morfológica y la determinación de los índices farmacognósticos. La investigación demuestra que los constituyentes químicos de las fracciones clorofórmicas de *Lagascea mollis* manifiestan efecto significativo sobre la división celular y el crecimiento radicular de *Oryza sativa* donde se observan alteraciones morfológicas, lo que evidencia la actividad alelopática de la arvense sobre el crecimiento de la gramínea.

Palabras clave: efecto alelopático, arvense, *lagascea mollis*, *oryza sativa*, asteraceae.

ABSTRACT

In this work, the study of the allelopathic activity of terpenic lactones on chloroformic fractions of *Lagascea mollis* Cav (Asteraceae) is reported. To this effect it is determined the percentage of germinated seeds and the radicular length of rice seeds (*Oryza sativa* L.). The observed bioactivity is contrasted with the corresponding one in the raw ethanolic extract. The mechanism of the metabolite interaction is established taking into account the mitotic index of the radicular meristeme, the micromorphologic study of the root and the conductivity of the cellular efflux. Additionally, the weed or arvense characterization is done by morphologic description and determination of pharmacognostic indexes. This research demonstrates that chemical constituents of the chloroformic fractions of *Lagascea mollis* manifest significant effect on cellular division and radicular growth of *Oryza sativa* where morphological alterations are observed, evidencing the allelopathic activity of the weed on the growth of the gramineous species.

Keywords: allelopathic effect, weed, *lagascea mollis*, *oryza sativa*, asteraceae.

¹ Departamento de Química. Universidad del Tolima. Barrio Sta. Elena. Ibagué-Tolima.

² Departamento de Biología. Universidad del Tolima. Barrio Sta. Elena. Ibagué-Tolima.

* Autor a quien se debe dirigir la correspondencia: emurillo8@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

“Vegetación espontánea”, “maleza”, “mala hierba”, “plantas adventicias” o “plantas invasoras”, son algunos de los términos utilizados con frecuencia para describir especies vegetales que a más de ser ajenas a un cultivo, desarrollan formas de competencia por nutrientes, luz, agua, dióxido de carbono y espacio; asimismo hospedan y transmiten parásitos, plagas y enfermedades en los cultivos contribuyendo a su mal estado fitosanitario, por ello se les considera dañinas y tradicionalmente se ha inducido a su destrucción indiscriminada.

No obstante, estas plantas no sólo poseen su propia dinámica sino que además pueden evitar y controlar la erosión de los suelos, algunas son de importancia apícola, otras tienen aplicación como forrajeras para el ganado e incluso se conocen ciertas de ellas con valor alimenticio para el humano y en ocasiones se les da además uso etnomédico al constituirse en una rica fuente de sustancias medicinales ya sea para tratar heridas en el ganado o bien para curar hepatitis, conjuntivitis, cistitis, forúnculos y accesos, mordeduras de serpientes y picaduras de escorpiones o también como plaguicidas (1); se hizo entonces necesario la revaluación de su nombre por el de “arvense”, término que se refiere a una comunidad de plantas que invade los cultivos interactuando en forma diversa con éstos. El estudio de las interacciones bioquímicas planta-planta y de los aleloquímicos involucrados puede contribuir en la investigación de modelos de herbicidas naturales.

Una de las familias vegetales con mayor número de especies entre las Magnoliópsidas es la Asteraceae (Compositae), la cual ubican Rai and Acharya (2) como una de las más abundantes, con aproximadamente 30000 especies distribuidas en 1100 géneros. Muchas arvenses de la familia Asteraceae presentan efecto alelopático sobre diferentes plantas cultivadas u otras malezas, bioactividad que en casi todos los casos se ha asociado directamente con la síntesis de sesquiterpenlactonas, las cuales afectan el DNA, el RNA e inhiben la germinación y el crecimiento de las plántulas (3-7).

La sesquiterpenlactonas conforman un grupo numéricamente importante de sustancias evocadas bajo el nombre de “principios amargos” encontradas en hongos, briofitas y en algunas an-

giospermas de las familias Apiaceae, Lauraceae y mayoritariamente en la Asteraceae, de la que se han aislado aproximadamente 3000 estructuras diferentes. Estos constituyentes químicos se localizan frecuentemente en pelos secretores situados a nivel de los tallos, hojas y brácteas de las inflorescencias, al igual que en los aquenios y raramente en los órganos subterráneos (8-12); constituyen uno de los mayores grupos de productos naturales y su aplicación en la quimiotaxonomía (13-15) junto con las actividades fitotóxicas (3, 5, 16, 17), alergénicas (18), antivirales (8), antitumorales (19), antifúngicas (20-22), entre otras, todo lo cual podría ser la base fundamental para abordar el estudio de las especies invasoras de la familia Asteraceae, relacionadas con el cultivo del arroz (*Oryza sativa*).

Partiendo de una arvense abundante y asociada al producto agrícola de mayor importancia económica en el Tolima, en este trabajo se seleccionó a *Lagascea mollis* Cav. (Asteraceae), entre muchas otras arvenses, como especie modelo para investigar su potencial alelopático y el posible mecanismo de acción, buscando con ello explorar posteriormente su uso como herbicida natural y además suministrar una base biológica para el manejo de las arvenses.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Del total de especies vegetales colectadas e identificadas como invasoras de cultivos de arroz establecidos en los municipios de mayor producción (23), se seleccionó a *Lagascea mollis* Cav (Pincelillo), adoptando como criterios la abundancia poblacional, la presencia manifiesta de lactonas terpénicas a través de pruebas químicas y análisis espectroscópicos, y la actividad revelada a través del bioensayo realizado sobre semillas de *Oryza sativa* L., variedad Fedearroz 50, proporcionadas por FEDEARROZ-Ibagué.

La recolección del vegetal se realizó mediante muestreos al azar durante los meses de Noviembre de 2003 a Febrero de 2004, en zonas ubicadas a alturas comprendidas entre los 280 y los 1000 m.s.n.m, temperatura promedio de 27°C y en un total de 62 lotes (491 Ha). Se prensaron 3 muestras para su determinación en el Herbario TOLI

de la Universidad del Tolima y se complementó la identificación a través de una descripción morfológica, un ejemplar de la especie se depositó en el herbario.

A las plantas recolectadas se les secó en estufa (40°C), se redujo su tamaño de partícula en un molino THOMAS-WILEY, malla de 2,0 mm y se les determinaron índices farmacognósticos incluyendo la micromorfología del vegetal así como también porcentaje de materia inorgánica extraña, orgánica extraña, humedad, extracto etéreo, fibra, proteína, material soluble en agua y en etanol al 50%, cenizas totales, cenizas solubles en agua, cenizas sulfatadas, cenizas insolubles en HCl al 10%; para todos los casos se siguió la metodología recomendada por la A.O.A.C. (24). Los contenidos de macro y micronutrientes se cuantificaron por espectrofotometría de absorción atómica de llama en un equipo SOLAR 969 con horno de grafito Thermo Elemental GF 90. La concentración de fósforo se determinó por el método de Bray y Kurtz N°2, en un espectrofotómetro UV/VIS Lambda 1 PERKIN-ELMER. Los espectros UV-VIS e IR se determinaron en un espectrofotómetro Genesis 5 y en uno Perkin Elmer de doble haz FTIR, respectivamente. Los reactivos utilizados en todas las determinaciones fueron de alto grado de pureza.

Preparación de los extractos

La parte aérea seca y molida de *L. mollis*, fue macerada con etanol (1:10); la extracción se incrementó mediante agitación ocasional durante 7 días, el solvente se renovó cada 24 horas hasta el agotamiento de la muestra. El extracto así obtenido fue caracterizado mediante la determinación de la densidad, los sólidos totales, el índice de refracción, el olor, el color y el pH.

El extracto etanólico crudo se concentró a presión reducida, se evaporó el solvente y el sólido obtenido fue resuspendido en etanol del 96%, se diluyó con agua (1:2) y se subdividió por polaridad creciente mediante extracción discontinua líquido-líquido con éter de petróleo y cloroformo como solventes. El extracto etanólico crudo y los subextractos orgánicos concentrados a presión reducida fueron sometidos a pruebas químicas, siguiendo la marcha fitoquímica establecida por Wall M. E., Krider M. y col., adaptada en algunas de sus partes en el Laboratorio de Fitoquímica de

la Universidad del Tolima (25,26), análisis espectroscópicos y ensayos de actividad biológica, con el propósito de evidenciar la presencia lactonas terpénicas.

Dado que el subextracto clorofórmico fue donde se detectó la mayor presencia del metabolito, se fraccionó por cromatografía líquida en columna de sílica gel 60 (relación 1:30), mezclas de cloroformo-acetato de etilo en polaridad creciente (95:5 a 100% de acetato de etilo) fueron aplicadas como eluentes.

Las fracciones recolectadas se monitorearon mediante cromatoplasmas de sílica gel, desarrolladas con cloroformo-acetato de etilo (95:5) y como revelador ácido sulfúrico al 50% con calentamiento a 110°C, agrupándolas según el perfil evidenciado en los cromatogramas.

Bioensayo

Con el extracto etanólico crudo y las fracciones en las que se evidenció la presencia del anillo lactónico, se realizó un bioensayo para medir el efecto de las lactonas terpénicas sobre el número de semillas germinadas y el crecimiento radicular de *O. sativa*.

Siguiendo el método de Kato y col. recomendado por Krautmann, *et al.* (27), se impregnaron papeles de filtro (Whatman No 1, 9 cm de diámetro) colocados en cajas de Petri de vidrio, con 2 ml de soluciones clorofórmicas de 200, 400 y 600 ppm de cada fracción seleccionada y del extracto etanólico completo; como testigo se empleó cloroformo. Después de evaporar el solvente se colocaron 20 semillas de *O. sativa* var. Fedearroz 50 y se agregaron 5 ml de agua bidestilada para conservar el ambiente húmedo.

Al cabo de 120 horas de incubación (25°C en oscuridad), de las cajas de Petri con su contenido, se determinó el número de semillas germinadas, se midió la longitud de las radículas y se realizaron observaciones macro y micromorfológicas para detectar alteraciones. Cada experimento se repitió cuatro veces, tanto para las muestras como para el blanco.

Con la finalidad de establecer los posibles mecanismos de interacción alelopática se evaluó el índice mitótico (IM) y la conductividad del eflujo celular en radículas. Para el primero de ellos se fijaron los meristemos radiculares en solución de alcohol etílico y ácido acético (proporción 3:1)

durante 24 horas; luego fueron hidrolizados en HCl 1M (60°C, 3 minutos) empleando acetorceína como colorante (27), después del tiempo se determinó el IM del meristema radicular escogiendo campos microscópicos al azar.

Una parte de las radículas que emergieron después de las 120 horas, se incubaron (16 h, 25°C) en 10 ml de agua bidestilada y desionizada, al final se midió la conductividad específica frente a una solución patrón de KCl 0,1 M por medio de un CONDUCTIMETER 522-CRISOL.

Análisis estadístico

En la determinación del posible efecto alelopático de las fracciones se definieron las siguientes variables continuas de análisis: porcentaje de germinación, longitud de la radícula, conductividad eléctrica e índice mitótico. Con ellas se realizó un Análisis Exploratorio de Datos (AED), constituido por un conjunto de estadísticas descriptivas aplicadas a las variables de análisis consideradas como únicas, como también clasificadas por las variables fracción y concentración.

Paralelamente se llevó a cabo un Análisis de Varianza (ANOVA), a fin de concluir acerca del efecto de los diferentes tratamientos considerados en las cuatro variables analizadas. Estas variables se sometieron a análisis estadístico, mediante un diseño 3 x 4, desbalanceado para la longitud de radícula y balanceado para las demás.

El análisis de varianza se validó con la verificación de cuatro supuestos básicos: igualdad de varianzas, independencia de los residuos y los valores predichos, normalidad de los residuos, y la no autocorrelación de los mismos.

Los diseños antes mencionados se ejecutaron utilizando los programas MINITAB-13, SPSS 9.0 y el STATISTICA 4.5, utilizando como soporte Windows XP.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La frecuencia de aparición del vegetal en el cultivo se estableció dividiendo cada lote en tres áreas: centro (dentro del cultivo), borde (en los caballones) y periferia (alrededor del lote); sobre esta base se calificó como “abundante” cuando se localizó más de 30 especímenes en 50 m², “frecuente” si se encontró de 6 a 30 especímenes y “escasa” cuando sólo apareció hasta 5 especímenes.

De 12 especies vegetales invasoras colectadas en la zona arrocera establecida (datos no mostrados) pertenecientes a diferentes tribus, y por ende con características macromorfológicas diferentes en la forma de la hoja y en la disposición de las flores, *Lagascea mollis* Cav (Pincelillo) superó los criterios de selección satisfactoriamente. La especie se tipifica como una planta sufruticosa con hojas opuestas, ovadas, nervación actinodroma, borde dentado ciliado y pelos glandulares cortos, su inflorescencia aparece en glomérulo protegido por 5 - 6 brácteas foliosas y velludas de 5-12 mm de largo con ápice filamentosos.

En el análisis micromorfológico las hojas se notan provistas en gran abundancia de largos tricomas simples pluricelulares, células parenquimatosas corticales y esponjosas. Los tallos presentan fibras de esclerénquima, haces vasculares colaterales y una médula parenquimatosas. Se observa la presencia de celulosa.

El extracto etanólico crudo de la arvense se reveló de color verde y olor dulzón, el pH con ligera tendencia a la acidez (6.14), un índice de refracción (1.36) que parece guardar concordancia con los sólidos totales (2.20%), dando a entender buena solubilidad de los metabolitos en el solvente extractor; pese a esto la densidad fue relativamente baja (0.81 g/cm³, 27°C) lo que sugiere presencia de compuestos de peso molecular relativamente bajo pero con capacidad de interrelacionarse a través de puentes de hidrógeno.

Índices farmacognósticos

Junto a las características morfológicas y a la clasificación taxonómica, los índices farmacognósticos, se constituyen en la huella digital de una especie vegetal, permitiendo por este medio agrupar parámetros para identificarlo o bien para establecer su origen.

Se ha observado que, los autores de folletos sobre “malezas”, los agrónomos y campesinos con frecuencia confunden fácilmente las plantas arvenses, en especial las de la familia Asteraceae, por su gran diversidad y dificultad en el acceso a literatura actualizada; se plantea entonces la necesidad de una completa descripción para la correcta clasificación de estos vegetales no sólo para programar métodos de control adecuados, pues para aplicar productos químicos la selección y la respectiva dosis dependen de la clase de arvense sino

además para un mejor conocimiento de especies que por años han sido subestimadas y por ende subutilizadas. La práctica de reconocimiento hacia el final del período vegetativo-reproductivo del cultivo en los lotes de descanso, sirve para predecir cuáles serán las arvenses predominantes en las futuras cosechas.

Particularmente se encontró un contenido de materia orgánica extraña relativamente bajo (1.96%), dando a entender que se recolecta biomasa viva aunque acompañada de tierra, arena o piedrecitas (materia inorgánica extraña), el porcentaje de humedad alto (70.39%), el cual parece encontrar explicación en las condiciones agrícolas (arroz riego) establecidas para *O. sativa*. El vegetal demora 2 d para el secado en estufa (40°C) y 4 d para el secado natural.

Resultó notorio el contenido de hierro (1043 mg/Kg). Para Olivares (28), 500 ppm puede aceptarse como un nivel normal de hierro en plantas terrestres; el resultado obtenido permite pensar en *L. mollis* como una especie indicadora de este micronutriente. Sin embargo, el contenido de cenizas totales (15.5%) insinúa que el vegetal puede considerarse como de buena calidad (29).

Importa mencionar que los valores que pueden alcanzar los índices farmacognósticos están altamente influenciados por las condiciones de cultivo de las plantas, así como por los diversos factores ecológicos tanto bióticos (plagas o microorganismos) como abióticos (fertilización, insecticidas, cambios de temperatura, técnicas de riego, etc.).

Análisis químico

El fraccionamiento en columna cromatográfica del subextracto clorofórmico permitió obtener 75 fracciones; aquellas separadas con mezclas de CHCl_3 :AcOEt 95:5 (f1-f11) y 90:10 (f12-f20) mostraron resultados positivos para el metabolito secundario. El análisis por CCD y las pruebas químicas de Kedde y de Legal condujeron a la determinación de reagrupar a f1 y f2 llamándolas en lo sucesivo F1 y unir de f3 a f20, denominándolas en adelante F2.

Los resultados obtenidos en las pruebas anteriores se confirmaron mediante un análisis espectroscópico aplicado a F1, F2 y F3, aprovechando el alto grado de desarrollo alcanzado por la espectrometría IR moderna. Se obtuvieron es-

pectros que dejaron ver frecuencias de absorción en 3400 cm^{-1} (OH), 2900 cm^{-1} (C-H), 1729 cm^{-1} (C=O), 1600 cm^{-1} (C=C), 1284 cm^{-1} (tensión asimétrica C-O-C), 1124 y 1074 cm^{-1} (tensión simétrica C-O-C).

La vibración de tensión del grupo carbonilo se presenta entre 1905 a 1550 cm^{-1} , no obstante la posición de la banda se afecta por factores externos (Ej.:la polaridad del solvente) y por efectos internos tales como la naturaleza electrónica y estérica de los sustituyentes, los dobles enlaces conjugados, el enlace de hidrógeno o el acoplamiento de vibraciones. El efecto de la tensión estérica se observa con claridad en compuestos con el grupo carbonilo haciendo parte de un anillo, en donde la disminución del ángulo de enlace desplaza la frecuencia a valores más altos, lo contrario sucede si el ángulo de enlace aumenta. Lo anterior se evidencia en las lactonas de seis miembros (α -lactona) que muestran la banda C=O a 1735 cm^{-1} , en tanto que las de cinco miembros (β -lactona) lo hacen en 1760 cm^{-1} (30). Sin embargo en el caso de existir conjugación del carbonilo con un doble enlace (CH=CH-C=O) en las α -lactonas la frecuencia del éster disminuye unos 35 cm^{-1} y la banda puede observarse hasta en 1720 cm^{-1} . Se puede afirmar entonces, a partir de la banda en 1729 cm^{-1} , que la arvense en estudio contiene γ -lactonas α,β -insaturada.

El espectro UV del extracto etanólico y de las fracciones dejó ver bandas en 247 y 349 nm ($A=3.812$ y 2.279 , respectivamente), insinuando la presencia de moléculas con grupos cromóforos en conjugación (dienos, anillos aromáticos), o que tal vez el cromóforo además de estar conjugado posee un heteroátomo (enonas) con un par de electrones no compartidos (31).

Bioensayo alelopático

La actividad alelopática fue determinada tanto para las fracciones clorofórmicas F1y F2 como para el extracto etanólico crudo (F3), a diferentes concentraciones. Un análisis descriptivo aplicado a la proporción de semillas germinadas en las tres fracciones dejó ver un promedio homogéneo (70%) con un bajo error estándar (0.01) y un coeficiente de variación de 6.42%.

Un ANOVA mostró que no hay diferencias significativas entre las fracciones ($P > 0,05$), mientras que si entre las concentraciones ($P < 0,05$),

de lo que se infiere que el número de semillas germinadas es dependiente del nivel de concentración utilizado. La figura 1, muestra los intervalos de confianza del 95% para el porcentaje de semillas germinadas en las diferentes concentraciones consideradas, diferenciándose solamente el blanco con 400 ppm y 600 ppm.

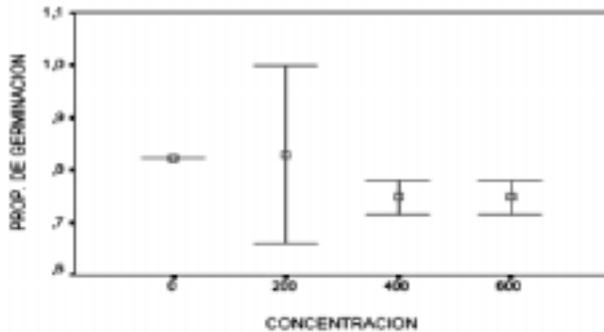


Figura 1. Proporción de germinación (intervalos de confianza del 95%) por concentración

Adicionalmente se observa actividad inhibitoria sobre la germinación a las mayores concentraciones, lo cual podría ser atribuido, en principio, a la cantidad relativamente alta de lactonas terpénicas detectada a este nivel. El efecto de estos metabolitos secundarios o de algunos de sus análogos ha sido probado (5, 25, 32) sobre la germinación de semillas de algunas dicotiledóneas (*Lactuca sativa*, *Trichocereus pasacana*) y en *Lolium sp.* (monocotiledónea).

El efecto alelopático de las diferentes fracciones en la longitud de la radícula deja ver un coeficiente de variación alto (33-53%), se deduce que las tres fracciones influyen de manera independiente en la elongación de la radícula. F1 y F2, que poseen lactonas terpénicas como constituyente más abundante, ejercen una acción más drástica que F3 (extracto etanólico completo).

La figura 2 deja ver para el blanco una distribución de frecuencia asimétrica a la derecha con tendencia hacia el aumento de radículas largas, en contraste con la mayor simetría para las diversas concentraciones, aunque con desplazamiento de las frecuencias hacia menores longitudes radiculares en tanto aumenta la concentración. Debe entenderse que las fracciones influyen sobre la longitud de la radícula en forma diferente (CV: 27-43%), a pesar de ello muestran un comportamiento similar, es decir, que en cualquier caso a

medida que se incrementa la concentración, disminuye la longitud radicular.

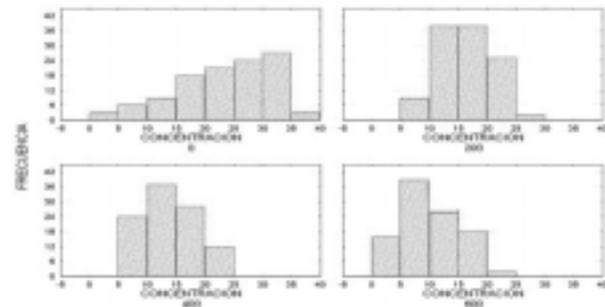


Figura 2. Histograma para la longitud de la radícula por concentración

El ANOVA aplicado confirma lo antes dicho ($P < 0,05$) para todas las interrelaciones, (fracción y concentración), es decir que F1, F2 y F3 además de diferenciarse por la actividad inhibitoria del crecimiento de la radícula, dicha acción resulta dependiente de la concentración empleada, como se visualiza en la figura 3. Se destaca F2 como el tratamiento que evidencia mayor influencia sobre el crecimiento radicular y por presentar diferencias a 400 ppm con todas las demás fracciones. Tanto el análisis espectroscópico como las pruebas químicas mostraron señales evidentes que permiten identificar a esta última fracción como la de mayor contenido en lactonas terpénicas.

Los valores de conductividad del eflujo celular obtenidos mostraron poco efecto sobre la permeabilidad de la membrana. El ANOVA demostró que no existe diferencias significativas entre las fracciones ni entre las concentraciones ensayadas así como tampoco entre sus interacciones y el testigo ($P > 0,05$).

Las medias estadísticas de los índices mitóticos (0.074, 0.139 y 0.215) indican una cierta proporcionalidad directa con la concentración; esta observación da a entender que en la radícula existe un alto número de células en división dependiente de la concentración.

Un análisis de las fases de la mitosis revela que todas las células se presentan en profase, con algunas excepciones en F3 a 200 ppm, en la cual aparecen otras fases de división como metafase y anafase, indicando que el aumento en el índice mitótico es debido a un bloqueo en el ciclo celular y no a una alta tasa de división.

Estas observaciones han sido reportadas por Dayan et al. (3) en estudios comparativos de fitotoxicidad con la artemisinina y análogos, quienes afirman que la interferencia en la división celular es un efecto directo de los mecanismos de acción de las sesquiterpenlactonas que ellos estudiaron; proponen, basados en evidencias en raíces de *Allium cepa* L., que estos metabolitos irrumpen en la formación de los centros organizadores de los microtúbulos.

Autores interesados en el estudio del efecto alelopático de arvenses de la familia Asteraceae (3, 16, 17, 27), han reportado resultados similares a los encontrados en este trabajo; en todos los casos la bioactividad ha sido atribuida a las sesquiterpenlactonas, sin perder de vista que el 80% de las encontradas en la naturaleza han sido aisladas de vegetales pertenecientes a la familia Asteraceae (26). Podría pensarse que la acción revelada por *L. mollis* se debe básicamente al contenido de este tipo de lactonas terpénicas, constituyentes principales de las fracciones clorofórmicas (F1 y F2).

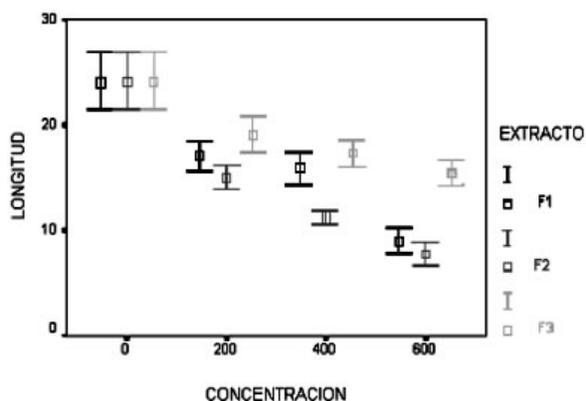


Figura 3. Longitud radicular (intervalos de confianza del 95%)

El ANOVA mostró diferencias significativas para cada uno de los factores analizados y su interacción ($P < 0.05$). De nuevo resulta destacable el comportamiento de F2, que a todas las concentraciones probadas, registra los valores más altos del índice mitótico, sin mayores diferencias con F1 aunque si notable con el blanco y F3. Este comportamiento es de esperarse en tanto F1 y F2 son las fracciones con mayor contenido de lactonas terpénicas, a las cuales puede atribuirse el efecto.

Sin embargo F2 y F1 presentan diferencias significativas en su efecto sobre la elongación radicular a 400 ppm, lo que podría encontrar explica-

ción en el diferente contenido del componente fitotóxico como también a la presencia de otros metabolitos constituyentes que pueden realizar una acción antagónica o sinérgica.

Si se tiene en cuenta que las fracciones clorofórmicas afectan la etapa germinativa al influir sobre el crecimiento radicular, se puede afirmar que la acción de los metabolitos se fundamenta básicamente sobre el bloqueo del ciclo de división celular.

El efecto de los aleloquímicos de la arvense estudiada sobre *Oryza sativa* representa un deterioro de los procesos fisiológicos de esta planta, evidenciado en malformaciones de la radícula que seguramente reducen su vigor y crecimiento, situación ya reportada para otras plantas alelopáticas (33-35).

Los agentes químicos que inhiben la división celular pueden actuar afectando la síntesis o la estructura del DNA – RNA o por disminución de la producción de energía necesaria para los procesos de mitosis (4, 5). Quizá otros procesos pueden también verse involucrados, incluyendo respiración, fotosíntesis, dinámica enzimática y síntesis de proteínas (36-39) dando a entender que la influencia sobre el ciclo celular pueda ser una manifestación secundaria de un cambio en otros procesos del metabolismo primario inducido por los metabolitos secundarios.

Nuestros resultados son una evidencia clara de que las fracciones clorofórmicas de *Lagascea mollis* muestran un efecto significativo sobre la división celular y el crecimiento radicular de *Oryza sativa*; estas fracciones presentan diferencias en su actividad alelopática entre sí, dependientes de la concentración de lactonas terpénicas,; distinguiéndose a su vez su comportamiento con el del extracto etanólico completo, indicando la fitotoxicidad de este metabolito. En general la especie estudiada podría ser utilizada como herbicida constituyéndose en una ayuda en sistemas de agricultura ecológica, como una alternativa para los cultivadores de escasos recursos económicos. De otra parte, el trabajo permitió la completa determinación de una especie invasora de los cultivos de arroz en el Tolima utilizando nomenclatura actualizada, ya que esta labor casi siempre se hace por comparación con ilustraciones de libretos de malezas; la sistematización por simple comparación y sin análisis de caracteres, fácilmente conduce a identificaciones

erróneas. Se pretende ahora la identificación del tipo de lactonas terpénicas presentes en la fracción clorofórmica de la arvense estudiada.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el soporte económico del Comité Central de Investigaciones de la Universidad del Tolima. El apoyo logístico del Departamento de Química es altamente apreciado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Esquivel, H. E. (1999). Estudio de las especies arvenses de la familia Asteraceae en el departamento del Tolima (Colombia). Trabajo de grado (M.Sc. en biología-línea sistemática vegetal). Universidad Nacional de Colombia-Facultad de Ciencias. Santa fe de Bogotá, p. 3.
- Raf, M.K. and D. Acharya. (1999). Screening of some Asteraceous plants for antimycotic activity. *Compositae Newsletter*, 34:37-43.
- Dayan, F. E., Hernández, A., Allen, S. N., *et al.* (1999). Comparative phytotoxicity of artemisinin and several sesquiterpene analogues. *Phytochemistry*. Vol. 50: 607-614.
- Koitabashi, R., Suzuki, T., Sakai, A., *et al.* (1997). 1,8-cineole inhibits roots growth and DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* L. *Journal of Plant Research* 110:1-6.
- Gianfrancisco, S., Pastoriza, A., Riscala, E. (1998). Efecto alelopático de un extracto clorofórmico de *Raphanus sativus* L. sobre la germinación y el crecimiento de plántulas de achicoria. *Rev. Fac. Agríb. (LUZ)*. 15: 414-421.
- Burim, V., Canalle, R., Callegari Lopes, J., *et al.* (1999). Genotoxic action of sesquiterpene lactone Glaucolide B on mammalian cells in vitro AND in vivo. *Genetic and Molecular Biology*, 22 (3): 401-406.
- Wen, J., Kyung-Ran Y., So-Youn L., *et al.* (2002). Oxidative Stress-mediated Apoptosis. The anticancer effect of the sesquiterpene lactone parthenolide. *Biol. Chem.*, Vol. (27), Issue 41, 38954-38964.
- Bruneton, J. (2001). Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas Medicinales. Acribia. España. pp. 611-615.
- Vajs, V., Nevescanin, M., Macura, S., *et al.* S. (2003). Sesquiterpene lactones from the aerial parts of *Inula oculustrchristi*. *Fitoterapia*, July 1; 74 (5): 508-10.
- TJ Ha, DS Jang, JR Lee., *et al.* (2003). Cytotoxic effects of sesquiterpene lactones from the flowers of *Hemisteptia lyrata* B.Arch Pharm Res, November 1; 26 (11): 925-8
- Douglas, J.A., Smallfield, B.M., Burgess, E. J., *et al.* (2004). Sesquiterpene lactones in *Arnica montana*: a rapid analytical method and the effects of flower maturity and simulated mechanical harvesting on quality and yield. *Planta Med*, February 1; 70 (2): 166-70.
- Huang, J. M., Fukuyama, C. S., Yang Minami, H., *et al.* (2000). Three new sesquiterpene lactones from the pericarps of *Illicium merrillianum*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, May 1. 48 (5): 657-659.
- De La Fuente, J. R.; Uriburu, M. L; Burton, G., *et al.* (2000). Sesquiterpene lactone variability in *Parthenium hysterophorus* L. *Phytochemistry*. Vol. 55: 769-772.
- Spring, O., Zipper, R., Klaiher, I., *et al.* (2000). Sesquiterpene lactone *Viguiera eriphora* and *Viguiera puruana*. *Phytochemistry*. Vol. 55: 255-261.
- Da Costa, F.B., Terfloth, L and Gasteiger, J. (2005). Sesquiterpene lactone-based classification of three Asteraceae tribes: a study based on self-organizing neural networks applied to chemosystematics. *Phytochemistry*, 66 (3): 345-53.
- Milosavljevic, S., Bulatovic, V. y Stefanovic, M. (1999). Sesquiterpene lactones from the Yugoslavian wild growing plant families Asteraceae and Apiaceae. *J. Serb. Chem. soc.* Vol. 64, (7/8): 397-442.
- Murillo, E. y De Los Reyes, L. M. (2001). Potencial fitotóxico de lixiviados acuosos y los extractos orgánicos de *Artemisia absinthium* (Asteraceae). *VITAE*. Vol. 10, (1): 51-58.
- Martinez, M. A. (2001). Sesquiterpenlactonas. Medellín: Universidad de Antioquia-Facultad de Química Farmacéutica: 1-5.
- Quintero, A., Pelcastre, A. and Solano, D. J. (1999). Antitumoral activity of new pyrimidine derivatives of sesquiterpene lactones. *J. Pharm Pharmaceut Sci.* Vol. 2, (3): 108-112.
- Tan, R. X., Tang, H. Q., Hu, J. And Shuai, B. (1998). Lignans and Sesquiterpene lactones from *Artemisia sieversiana* and *Inula racemosa*. *Phytochemistry*. Vol. 49, No 1:157-161.
- Skaltsa, H., Lazari, D., Panagouleas, C., *et al.* (2000). Sesquiterpene lactones from *Centaurea thessala* and *Centaurea attica*. Antifungal activity. *Phytochemistry*. Vol. 55: 903-908.
- Torreñegra, G. R. D. (2000). Química y actividad antifúngica de *Senecio pampae*. Universidad Javeriana de Colombia. Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas. Vol. 12: No 1. 56.
- Colombia, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2001). Anuario Estadístico del sector Agropecuario y Pesquero 2001. Santa fe de Bogotá, El Ministerio p.24.
- ASSOCIATION OF OFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. (2000). Official methods of analysis. 17th Edition. Arlington (Estados Unidos): The Association, p. 24.
- Murillo, P. E. (2004). Guía metodológica para la investigación fitoquímica preliminar en plantas medicinales. Universidad del Tolima. Facultad de Ciencias. Departamento de Química. Ibagué. p. 28
- Sanabria, G. A. (1983). Análisis fitoquímico preliminar: Metodología y su aplicación en la evaluación de 40 plantas de la familia Compositae. Santa fe de Bogotá: Universidad Nacional de Colombia-Facultad de Ciencias-Departamento de farmacia, p. 1-5.
- Krautmann, M., Turbay, S. y Riscala, E. (2001). Efectos alelopáticos de *Tridax procumbens* L. s.l.: Universidad Nacional de Tucumán-Fac. de Agronomía y Zootecnia. *Revista Domingueza* Vol. 17 (1), p. 13-23.
- Olivares, E. (1999). Nutrientes y metales en *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray (Asteraceae). Caracas-Venezuela: Instituto de Investigaciones Científicas, s.f. p. 1-14.
- Mendez, G., Fuentes, F. V. R., Soler, B. A., *et al.* (2001). Variación de índices farmacognósticos en *Pasiflora incarnata* L. con la época y hora de cosecha de la droga. *Rev. Cubana Plant. Med.* (3): 98-104.
- Conley, R. T., Calderón, M. J., Avendaño, R. R. (1979). Espectroscopía Infrarroja. Primera edición española. Alhambra. Madrid. pp. 144-177.
- Silverstein, R. M., Clayton, B. G., Morrill, T. C. (1991). Spectrometric Identification of Organic Compounds. Fifth Edition. John Wiley & Sons, Inc. New York. pp. 295-315
- Cazón, A., de Viana, M. y Gianello, J. C. (1999). Identificación de un compuesto alelopático de *Baccharis boliviensis* (Asteraceae) y su efecto en la germinación de *Trichocereus pasacana* (Cactaceae). Universidad Nacional de San Luis. Pedernera y Chacabuco. San Luis. Argentina. pp. 1-5.
- Sobrero, M.T., Ochoa, M. del C. and Chaila, S. (2004). Allelopathic potencial of *Wedelia glauca*: effects on horticultural species. *Planta daninha*. V (22). n.1 pp. 71-75

34. Singh, H. P., Batish, D. R., Kohli, R. K., *et al.*, (2002). Effect of parthenina sesquiterpene lactone from *Parthenium hysterophorus* on early growth and physiology of *Ageratum conyzoides*. *J Chem Ecol*, 28 (11): 2169-79.
35. Macias, F. A., Galindo, J.C., Castellano, *et al.* (2000). Sesquiterpene lactones with potential use as natural herbicide models II. guaianolides. *J Agric Food Chem*, 48 (11): 5288-96.
36. Dirsch, V. M., Stuppner, H. and Vollmar, A. M. (2001). Helenalin Triggers a CD95 Death Receptor-independent Apoptosis That Is Not Affected by Overexpression of Bcl-x_L or Bcl-2. *Cancer Research* 61, 5817-5823
37. Dirsch, V.M., Stuppner, H. and Vollmar, A.M. (2001). Cytotoxic sesquiterpene lactones mediate their death-inducing effect in leukemia T cells by triggering apoptosis. *Planta Med*, 67 (6): 557-9.
38. Calera, M. R., Anaya, A. L. and Gavilanes-Ruiz, M. (1995). Effect of a phytotoxic resin glycoside on the activity of the ATP-asa from plasma membrana. *Journal of chemical Ecology*. Vol. (21): 289-297.
39. Lopez M. E., Giordano O.S., Lopez L.A. (2002). Sesquiterpene lactone dehydroleucodine selectively induces transient arrest in G2 in *Allium cepa* root meristematic cells. *Protoplasma*, 219 (1-2):82-8.

Fecha de Recibo: Enero 28 de 2005
Fecha de Aceptación: Marzo 8 2005.

Centro de Información y Documentación de Medicamentos, Alimentos y Productos Naturales de la Universidad de Antioquia

CIDUA



- Si usted tiene alguna duda sobre aspectos relacionados con los medicamentos, alimentos y los productos naturales, consulte al teléfono: 2 10 54 55 o solicite personalmente su consulta en la Universidad de Antioquia Facultad de Química Farmacéutica bloque 02- 123, de lunes a viernes en el horario de 8 a.m a 6 p.m.
- El CIDUA cuenta con textos y revistas especializadas en el área de los medicamentos, alimentos y productos naturales, con bases de datos sobre medicamentos MICROMEDEX, IDIS y acceso a base de datos sobre productos naturales NAPRALERT.
- Entre la población beneficiada se encuentran estudiantes de pre y posgrado del área de la salud, instituciones de salud, empresas fabricantes y distribuidoras de medicamentos, alimentos y productos naturales, empresas prestadoras de servicios y la comunidad en general.

Teléfono: 2 10 54 55 Telefax: 2 10 54 56
Dirección electrónica: cidua@farmacia.udea.edu.co