

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA.

ACTIVIDAD ALELOPATICA DEL
ACEITE ESENCIAL DE PIPER AURITUM

SERGIO CHATELAIN MERCADO

QUIMICO

1977.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CLAS Tesis 1977
ABO M-III **24**
FECHA _____
PROC _____
i _____



QUÍMICA

JURADO ASIGNADO:

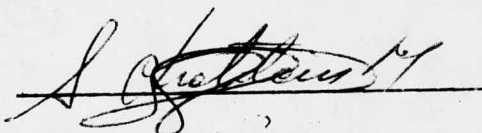
Presidente	Dra. Martha Albores Velasco
Vocal	Dr. Gabriel Siade Barquet
Secretario	Dr. Víctor M. Coronado Bravo
1er. Suplente	Q. Mauro Cruz Morales
2o. Suplente	Dra. Ana Luisa Anaya Lang

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

Div. de Estudios Superiores Fac. de Química UNAM
Instituto de Biología UNAM

Sustentante:

Sergio Chatelain Mercado



Asesor del tema:

Dr. Gabriel Siade Barquet



Supervisor Técnico:

Dra. Ana Luisa Anaya Lang



CONTENIDO.

	Pag.
I.- INTRODUCCION.	1
II.- PARTE TEORICA.	3
1.- Ecología .	3
2.- Ecología Química.	6
3.- Alelopatía.	7
4.- Papel de la Alelopatía en la sucesión secundaria.	10
III.- MATERIALES Y METODOS.	11
1.- Tolerancia a la presión osmótica.	11
2.- Pruebas con los extractos acuosos de hojas y raíces.	13
3.- Pruebas con los extractos de disolventes orgánicos.	14
4.- Pruebas con el aceite esencial y produc- tos puros.	14
IV.- RESULTADOS Y DISCUSION.	17
1.- Tolerancia a la presión osmótica	17
2.- Pruebas con los extractos acuosos de hojas y raíces.	33
3.- Pruebas con los extractos de hojas en disolventes orgánicos.	39
4.- Pruebas con el aceite esencial y produc- tos puros.	40
5.- Pruebas con el safrol y compuestos análogos.	59
V.- CONCLUSIONES	64
VI.- BIBLIOGRAFIA.	66

I.- INTRODUCCION.

Los vegetales dependen de una serie de factores ambientales para crecer y reproducirse. Estos factores se han clasificado en tres grupos: a). Climáticos, b). Edáficos y c). Bióticos. Dentro de estos últimos se encuentran la competencia, ya sea con organismos de la misma o diferente especie, la cual se acentúa cuando dos organismos tienen requerimientos semejantes, ya sea la luz, espacición, nutrientes, etc. Algunas especies de plantas son capaces de excretar, a través de las raíces o de las hojas, sustancias tóxicas para otras plantas, puesto que inhiben la germinación y el crecimiento, lo que constituye un medio muy eficaz para suprimir a los competidores potenciales. (10) Este mecanismo es de gran importancia en la sucesión ecológica y se le considera un factor relevante en los fenómenos que al respecto ocurren en la región de los Tuxtlas, Ver; ya que la presencia de pequeñas cantidades de ciertas sustancias elaboradas por algunas especies son responsables de reducciones masivas en el crecimiento de diversas plantas y en ocasiones de una eliminación total. (2, 5, 9, 10).

En el presente trabajo se describen las investigaciones realizadas, conjuntamente con un grupo de biólogos del Instituto de Biología de la UNAM, cuyo objetivo fue la explicación del mecanismo por medio del cual una especie de planta (Piper auritum) es capaz de subsistir e inhibir el desarrollo de otras.

Los experimentos realizados consistieron en determinar la actividad alelopática que presentan los extractos acuosos y de disolventes orgánicos; el aceite esencial, los componentes puros y compuestos de estructura similar a los aislados de éste.

Después de varios experimentos se pudo comprobar que el aceite esencial de Piper auritum, inhibe la germinación y el crecimiento de semillas y plántulas de especies pertenecientes a la vegetación secundaria de la misma región.

II.- PARTE TEORICA.

1.- Ecología.

El estudio de las relaciones entre las plantas y el medio ambiente, es el dominio de la Ecología Vegetal.

Las plantas crecen en comunidades de estructura muy diversa, dentro de las cuales unas especies son más abundantes que otras y por ello generalmente le confieren a la comunidad su fisonomía característica denominándose por ello especies dominantes. La estructura de estas comunidades está determinada por gran cantidad de factores ambientales agrupados en tres categorías:(15)

- a) Factores climáticos.- Actúan sobre la planta a través de la atmósfera. Entre estos se encuentran: Humedad atmosférica, temperatura y luz, estrechamente relacionados con la altitud, la latitud y en ocasiones con el relieve.
- b) Factores bióticos.- Estos son los que surgen de la presencia de otras plantas y animales, dentro de la

misma comunidad. Aquí están incluidos simbiosis, - parasitismo y competencia, entre otras relaciones y está involucradas en ellas casi todos los organismos animales y vegetales, bacterias, algas, protozoarios del suelo, hongos y plantas superiores.

- c) Factores edáficos.- Determinan las condiciones del suelo, que es un sistema complejo, compuesto de materia mineral (partículas de roca) restos de plantas y animales, agua del suelo y solutos disueltos, aire y - organismos vivos.

La estructura física y la naturaleza química del suelo, influyen marcadamente en el crecimiento de las plantas. La estructura física está caracterizada por el tamaño de partículas de materia mineral, el contenido de materia orgánica, así como consecuentemente la capacidad de retención de agua y aire. La naturaleza química del suelo está caracterizada por el contenido de los elementos útiles a las plantas en forma asimilable. De la concentración de algunos compuestos que contienen estos elementos, depende de otro factor del suelo muy importante que es el pH. (18)

Además de los factores mencionados que siempre están presentes en un ecosistema, el fuego tanto natural como provocado,

puede alterar profundamente al medio ambiente.

Una comunidad estable, o sea, en la que la producción y el consumo están en equilibrio, se conoce como comunidad clímax, que se establece al final de una sucesión. La sucesión ecológica, es un proceso ordenado de cambios, durante los cuales una serie de comunidades se sustituyen unas a otras en un área determinada; empezando con etapas precursoras que van siendo reemplazadas por otras más maduras, hasta llegar a una comunidad relativamente estable, que está en equilibrio con las condiciones locales. (13, 15)

Si la sucesión empieza en un área que no ha sido ocupada, el proceso se designa como sucesión primaria. Si el desarrollo ocurre en un área de la que otra comunidad ha sido eliminada, el proceso se llama sucesión secundaria y generalmente éste es más rápido. (13, 15)

Al establecer una comunidad vegetal, de tal modo que el consumo y la producción estén en equilibrio, se dice que es de tipo primario. Cuando por algún motivo ésta desaparece (incendio, tala, etc.) y es sustituida por otra comunidad, formada por especies sin ninguna relación con la vegetación primaria, entonces se habla de una vegetación secundaria. En ésta se presenta un desequilibrio entre consumo y producción hasta que poco a poco, unas

especies van sustituyendo a otras y finalmente se regenera la vegetación original, o sea la comunidad clímax. (13, 15)

2.- Ecología Química.

El objeto de estudio de la ecología química son las interacciones químicas entre los organismos. (17) Dentro de ella se encuentran problemas relacionados con la contaminación ambiental, el hallazgo de antibióticos, herbicidas, hormonas, repelentes, - atrayentes, etc.

Las sustancias que determinan el establecimiento de una relación entre dos organismos, se pueden clasificar desde el punto de vista funcional y adaptativo, de la siguiente manera: (9, 10)

1.- Los compuestos que intervienen en las relaciones entre organismos de la misma especie, se les conoce como:

- a) Autoxinas.- Cuando son tóxicas para la misma especie.
- b) Autoinhibidores adaptativos.- Cuando controlan el número de individuos de la población.
- c) Feromonas.- Cuando permiten la comunicación por medio de señales químicas.

2.- Los compuestos que determinan la relación entre dos organismos de diferentes especies; se denominan Aleloquímicos y éstos se clasifican en tres tipos:

- a) Alomonas.- Dan Ventajas al organismo que las produce.
- b) Kairomonas.- Dan ventajas al organismo que las recibe.
- c) Depresoras.- Sin darle ventajas al organismo que las produce, perjudican al que las recibe.

Entre los aleloquímicos, un grupo muy importante lo constituyen los inhibidores del crecimiento, cuya naturaleza química es muy diversa; se encuentran entre éstos: ácidos orgánicos, aldehidos, alcaloides, terpenos, auxinas, fenoles, aminoácidos, cumarinas, glucosidos, etc. No obstante su diferencia química sus funciones ecológicas son semejantes, ya que generalmente permiten al organismo productor tener ciertas ventajas en la lucha competitiva con otros organismos. (17, 21)

3.- Alelopatía.

En los últimos años se ha discutido mucho sobre la existencia de mecanismos químicos, de eliminación competitiva en las plantas superiores, semejantes a los existentes entre los - - -

microorganismos. (9, 14)

Las interacciones químicas desfavorables en las plantas superiores han sido ampliamente estudiadas en el presente siglo y son un mecanismo importante en los procesos de competencia en las comunidades vegetales. (2, 5, 6, 9, 10)

La alelopatía es el mecanismo por medio del cual, los organismos de una especie afectan al crecimiento, la salud, el comportamiento y en general la biología de poblaciones de otras especies, mediante la liberación de ciertas sustancias al medio ambiente. (21)

En ciertos casos, la alelopatía, es un hecho fácilmente comprobable, tanto en el medio ambiente natural como en el laboratorio, sin embargo, en muchas ocasiones es difícil de apreciar en condiciones naturales. El tipo de comunidad, el clima y el tipo de suelo, son factores que determinan que la alelopatía se manifieste o que se enmascare hasta el grado de que después de una observación superficial pueda asegurarse que no existe. (2, 8, 11, 12)

La alelopatía al igual que cualquier interacción biológica, - sufre cambios a través del tiempo. Es posible que los organismos que han compartido una historia evolutiva larga, no se afectan uno al otro, al grado de llegar a eliminarse sino que se han

adaptado en tal forma que puedan coexistir normalmente. En cambio aquellos que se han asociado recientemente si pueden verse involucrados en una relación seriamente perjudicial. Un ejemplo de este fenómeno lo constituyen los eucaliptos, en las selvas australianas, éstos conviven con una gran variedad de especies resultado de una larga adaptación, en cambio en Norte América esta adaptación no existe y los bosques de eucaliptos tienen escasa vegetación asociada. (7, 8)

La gran mayoría de las sustancias involucradas en la alelopatía pertenecen a los metabolitos secundarios o sea aquellos productos que no intervienen directamente en el metabolismo básico de la célula. (10) La liberación de estas sustancias al medio ambiente, es de las siguientes maneras: por lixiviación, volatilización, arrastre por la niebla, exudación por las raíces y descomposición. (20)

Algunas de las principales funciones biológicas de los alelopáticos son: la prevención por autoinhibición de una germinación prematura y la supresión de la germinación y el crecimiento de otras especies en el área adyacente. (5)

Para valorar la alelopatía, hay que tener en cuenta no sólo que la planta en cuestión produce un inhibidor, sino el tipo de

comunidad, el clima, el tipo de suelo y el mecanismo por el cual el alelopático se libera, se transporta dentro del medio, se acumula en el hábitat de la planta que inhibe y en que grado se descompone mediante los microorganismos. Además se debe determinar la importancia relativa de todos los factores físicos pertinentes que pueden modificar la naturaleza real del fenómeno. (3, 4)

4.- Papel de la Alelopatía en la Sucesión Secundaria.

Como se mencionó anteriormente, la sucesión secundaria en las zonas cálido-húmedas, se inicia inmediatamente después de que se perturba un área de selva o se abandona un campo de cultivo. Estos hechos provocan una serie de cambios ambientales tales como el aumento de la cantidad de luz, grandes fluctuaciones de temperatura y humedad, la exposición del suelo a la acción directa de la lluvia, etc., lo que determina el establecimiento de plantas distintas a las primarias, que invaden rápidamente el área perturbada. (15) Sin embargo no existe información precisa que explique los cambios posteriores durante el proceso sucesional.

Se ha comprobado que los compuestos dejados en el suelo, producidos por las primeras etapas de la sucesión, afectan a las

siguientes inhibiendo su crecimiento o retardando la invasión de nuevas especies vegetales, e incluso influyendo en la composición de la comunidad, puesto que los alelopáticos tienen una acción selectiva y obran de manera diferente sobre las plantas o sobre los microorganismos del suelo,⁽³⁾ provocando que las condiciones de éste no sean apropiadas para el establecimiento de nuevas especies en la sucesión, convirtiéndose así en un factor de selección muy importante dentro de ella.

III.- MATERIALES Y METODOS.

Con el fin de determinar las propiedades alelopáticas de Piper auritum, se realizaron bioensayos de diversos tipos de extractos de los diferentes organismos de la planta, sobre seis especies, pertenecientes también a la vegetación secundaria de la región, que son:

<u>Mimosa púdica</u> L.	(Leguminosae)
<u>Bidens pilosa</u> L.	(Compositae)
<u>Achyranthes aspera</u> L.	(Amaranthaceae)
<u>Ochroma lagopus</u> Sw.	(Bombacaceae)
<u>Heliocarpus donnell smithii</u> Rose	(Tiliaceae)
<u>Crusea calecephala</u> D.C.	(Rubiaceae)

1.- Tolerancia a la presión osmótica.

Antes de proceder a realizar las pruebas de actividad alelopática de los diversos extractos de Piper auritum sobre la germinación de las especies seleccionadas, hay que determinar los límites de tolerancia a la presión osmótica, ya que se corre el

peligro de que si se utilizan soluciones muy concentradas, las semillas se verán afectadas por la presión osmótica del extracto y no por la presencia de un compuesto tóxico en él.

Para determinar los límites de tolerancia, se prepararon - soluciones de presión osmótica conocida, como manitol en concentraciones molares de .02, .04, .06, .08, .1, .2 y 3, equivaliendo dichas concentraciones desde 20 hasta 300 m. osm/l respectivamente. Con estas soluciones se montaron cultivos con 100 - semillas de cada especie por tratamiento, las cuales fueron sembradas en cajas petri sobre papel filtro, en volúmenes iguales de cada una de las soluciones, selladas con cinta adhesiva para evitar la evaporación del agua y en consecuencia, alteraciones en la presión osmótica. El período de germinación se efectuó en una cámara de crecimiento a una temperatura de 25 a 28 °C, con - fotoperíodo de 12 horas.

El tiempo de germinación necesario para la evaluación de - parámetros en las seis especies es el siguiente:

<u>Mimosa pudica</u>	72 Hr.
<u>Achyranthes aspera</u>	144 "
<u>Bidens pilosa</u>	144 "
<u>Heliocarpus donnell smithii</u>	120 ""
<u>Ochroma lagopus</u>	144 "
<u>Crusea calopehala</u>	168 "
<u>Piper auritum</u>	480 "

Estos tiempos de germinación, aproximadamente fueron los mismos en todos los experimentos realizados posteriormente así como la temperatura y el fotoperíodo.

2.- Pruebas con los extractos acuosos de hojas y raíces.

Se prepararon homogeneizados en licuadora de 1 y 4 gr. de hojas secas en 100 ml. de agua destilada. El filtrado de éstos no rebasaba los límites de tolerancia a la presión osmótica de ninguna de las especies probadas, de manera que el efecto observado en la germinación y el crecimiento de las semillas debía ser causado por alguna sustancia con efecto biológico específico. Las pruebas se realizaron montando cultivos en forma similar a los de la tolerancia a la presión osmótica solamente que sin sellar las cajas con cinta adhesiva y utilizando como agente humectante gel de agar-agar al 1%.

Debido a que los extractos de mayor concentración, (4 g/ 100 ml.), tuvieron lógicamente mayor actividad inhibidora causada por los efectos sumados de inhibición y presión osmótica, solamente se trabajó con las soluciones obtenidas de los homogeneizados de 1 g/100 ml.

Para las pruebas con los extractos de raíz, se trabajó en igual forma que con los de hojas, utilizando raíces frescas en - -

concentraciones de 15 g/100 ml. de agua destilada.

3.- Pruebas con los extractos de disolventes orgánicos.

Mediante un equipo de extracción Soxhlet, se prepararon extractos de hojas secas en disolventes orgánicos de distinta polaridad. Al extracto obtenido se le eliminó el disolvente por destilación a presión reducida en rotavapor y se trató con 100 ml. de agua destilada a baño María por 10 minutos a fin de lograr una mayor disolución. Para cada extracto se utilizaron de 20 a 30 G. de hojas secas en 500 ml. de disolvente.

Las pruebas se realizaron en forma semejante a la realizada en los experimentos anteriores, cuidando que las soluciones empleadas, no rebasaran los límites de tolerancia a la presión osmótica de las especies probadas.

4.- Pruebas con el aceite esencial y productos puros.

El aceite esencial utilizado en estas pruebas se obtuvo mediante destilación por arrastre de vapor, de hojas secas.

Se empleó un recipiente de 19 lt. de capacidad con una rejilla colocada a 10 cm. del fondo, una entrada para vapor en la parte inferior, unido a un generador de vapor de 5 lt. de capaci

dad y una salida en la parte superior, conectada a un refrigerante adecuado.

Se colocaron 2, 4 Kg. de hojas secas y se hizo pasar continuamente vapor a través de ellas por 14 horas, obteniéndose 11.4 g. de aceite crudo. La separación del aceite obtenido por el arrastre, se realizó por diferente densidad e inmiscibilidad con el agua del destilado y por extracciones con eter, el cual se eliminó destilándolo lentamente a presión atmosférica ya que a presión reducida en rotavapor a temperatura ambiente, existían grandes pérdidas de aceite.

Se realizaron los bioensayos con diferentes concentraciones del aceite crudo, demostrándose que el potencial alelopático de Piper auritum, se debe principalmente al aceite esencial. Con el fin de encontrar la o las sustancias responsables de esta actividad, se procedió a separar los diferentes componentes del aceite.

La separación se realizó mediante cromatografía preparativa en placa delgada de sílice, obteniéndose 10 fracciones, algunas de las cuales eran mezclas.

De las diez fracciones, la segunda menos polar, se encontró en una proporción mucho mayor que las demás, lo cual facilitó su identificación.

La fracción más abundante obtenida, se separó en sus componentes mediante cromatografía de gases preparativa, recogiendo el componente principal, al cual se le practicaron análisis espectroscópicos en el infrarrojo y de resonancia magnética nuclear.

Con las fracciones cromatográficas obtenidas, el producto - identificado como Safrol y otros productos de estructura similar a éste, tales como iso-safrol, eugenol, iso-eugenos, pipersonal y vainillina, se realizaron los bioensayos usuales, referidos anteriormente.

Todos los resultados obttenidos, se analizaron estadísticamente por medio de una prueba de F con ayuda de la computadora Burroughs, B-6700 del Centro de Investigaciones Matemáticas y - Análisis de Sistemas de la UNAM.

IV.- RESULTADOS Y DISCUSION.

Los parámetros que se observaron en todos los bioensayos realizados son:

- 1.- Porcentaje de germinación
- 2.- Longitud de raíz.
- 3.- Porcentaje de longitud de raíz.
- 4.- Longitud de tallo.
- 5.- Porcentaje de longitud de tallo.

1.- Tolerancia a la presión Osmótica.

Los resultados obtenidos se observan en las Tablas I a VII y en las figuras I a VII.

Como se observa en los resultados de los experimentos de tolerancia a la presión osmótica, todas las especies se afectan a presiones osmóticas altas, empezando desde los 40 mosm/l - aunque algunas especies muestran un crecimiento mayor que el testigo a concentraciones ligeramente mayores, lo cual indica que probablemente en medios con una cierta presión, estas especies

crecen con mayor facilidad. De las seis especies probadas, Mimosa púdica, es de las más sensibles aunque fue la más fácil de manejar en las pruebas por su alto porcentaje (95 a 100 %) y su corto tiempo de germinación (24 Hr.)

De acuerdo con los resultados obtenidos, se realizaron bioensayos, con extractos acuosos de hojas de Piper auritum, con el fin de comparar los efectos inhibidores de los extractos acuosos y soluciones de manitol con osmolaridades iguales. Los resultados obtenidos se comparan en las tablas mostrando que los extractos de hojas, son más inhibidores que las soluciones de manitol con igual osmolaridad, lo que indica que los extractos contienen sustancias inhibidoras cuyos efectos se suman a los de la presión osmótica.

Las presiones osmóticas registradas para las soluciones fueron de 17 mosm/l para el extracto de 1 g/100 ml. y de 68 - - mosm/l para el extracto de 4 g/100 ml.

TABLA I

Germinación y crecimiento de Mimosa púdica

Tratamiento	% de Germ.	Longitud raíz mm.	% Long. raíz	Longitud tallo mm.	% Long. tallo
TESTIGO	95	21.63	100	11.40	100
Manitol .02 M	95	21.31	98.5	11.02	97.0
Manitol .04 M	95	20.92	96.5	6.37	47.0
Manitol .06 M	95	18.71	86.5	6.67	58.5
Manitol .08 M	95	12.98	60.0	3.46	30.5
Manitol .10 M	96	13.25	61.0	4.31	37.5
Manitol .20 M	25	10.81	50.0	2.63	23.0
Manitol .30 M	0	0	0	0	0
1/100 P. aur	74 8.8	8.82	40.7	6.14	53.8
4/100 P. aur	64 7.1	2.92	13.4	2.76	24.2

TABLA II

Germinación y crecimiento de Achyranthes aspera .

Tratamiento	% de Germ.	Longitud raíz mm.	% Long. raíz	Longitud tallo mm.	% Long tallo
TESTIGO	93	13.86	100	6.78	100
Manitol .02 M	95	9.01	70.0	4.68	69.0
Manitol .04 M	94	11.40	88.5	5.10	75.0
Manitol .06 M	85	11.61	90.5	4.90	72.0
Manitol .08 M	91	8.16	63.5	4.28	63.0
Manitol .10 M	96	5.55	43.5	4.01	59.0
Manitol .20 M	95	5.29	41.0	4.03	59.0
Manitol .30 M	3	4.0	31.0	3.66	54.0
1/100 P.aur	77	8.05	58.0	4.28	63.1
4/100 P.aur	31	2.90	20.9	3.32	48.9

TABLA III

Germinación y crecimiento de Bidens pilosa.

Tratamiento	% de Germ.	Longitud raíz mm.	% Long. raíz	Longitud tallo mm.	% Long tallo.
TESTIGO	77	23.67	100	18.51	100
Manitol .02 M	91	19.41	82.0	26.68	144.0
Manitol .04 M	88	21.98	92.5	23.27	126.0
Manitol .06 M	72	18.68	79.0	22.09	119.5
Manitol .08 M	51	20.03	86.0	23.84	129.0
Manitol .10 M	46	17.34	73.5	20.08	113.0
Manitol .20 M	4	3.75	15.8	2.50	13.5
Manitol .30 M	0	0.0	0.0	0.0	0.0
1/100 P.aur	81	7.65	32.3	22.19	119.0
4/100 P.aur	0	0.0	0.0	0.0	0.0

TABLA IV

Germinación y crecimiento de *Heliocarpus donnell-smithii*

Tratamiento	% de Germ.	Longitud raíz mm.	% Long. raíz	Longitud tallo mm.	% Long. tallo
TESTIGO	78	10.88	100	10.91	100
Manitol .02 M	68	7.50	69.0	6.92	63.5
Manitol .04 M	72	6.93	63.5	5.90	54.0
Manitol .06 M	70	6.78	62.0	6.55	60.0
Manitol .08 M	74	7.28	66.5	7.63	70.0
Manitol .10 M	65	6.55	60.0	5.38	49.5
Manitol .20 M	40	3.55	32.5	0.97	0.9
Manitol .30 M	0	0.0	0.0	0.0	0.0
1/100 P.aur	60	5.75	52.8	2.90	26.5
4/100 P.aur	4	2.25	20.6	0.0	0.0

TABLA V

Germinación y crecimiento de Ochroma lagopus.

Tratamiento	% de Germ.	Longitud raíz mm.	% Long. raíz	Longitud tallo mm.	% Long. tallo
TESTIGO	45	10.99	100	5.99	100
Manitol .02 M	57.5	10.22	92.99	7.01	117.02
Manitol .04 M	42.5	9.12	82.98	8.24	137.56
Manitol .06 M	62.5	8.64	78.61	5.95	99.33
Manitol .08 M	40.0	11.0	100.09	6.06	101.16
Manitol .10 M	52.5	6.28	57.14	2.39	39.89
Manitol .20 M	2.5	1.0	9.09	0.5	8.34
Manitol .30 M	0	0.0	0.0	0.0	0.0
1/100 P.aur	49	9.77	88.9	5.75	96.1
4/100 P.aur	42	5.28	48.0	3.09	51.5

TABLA VI

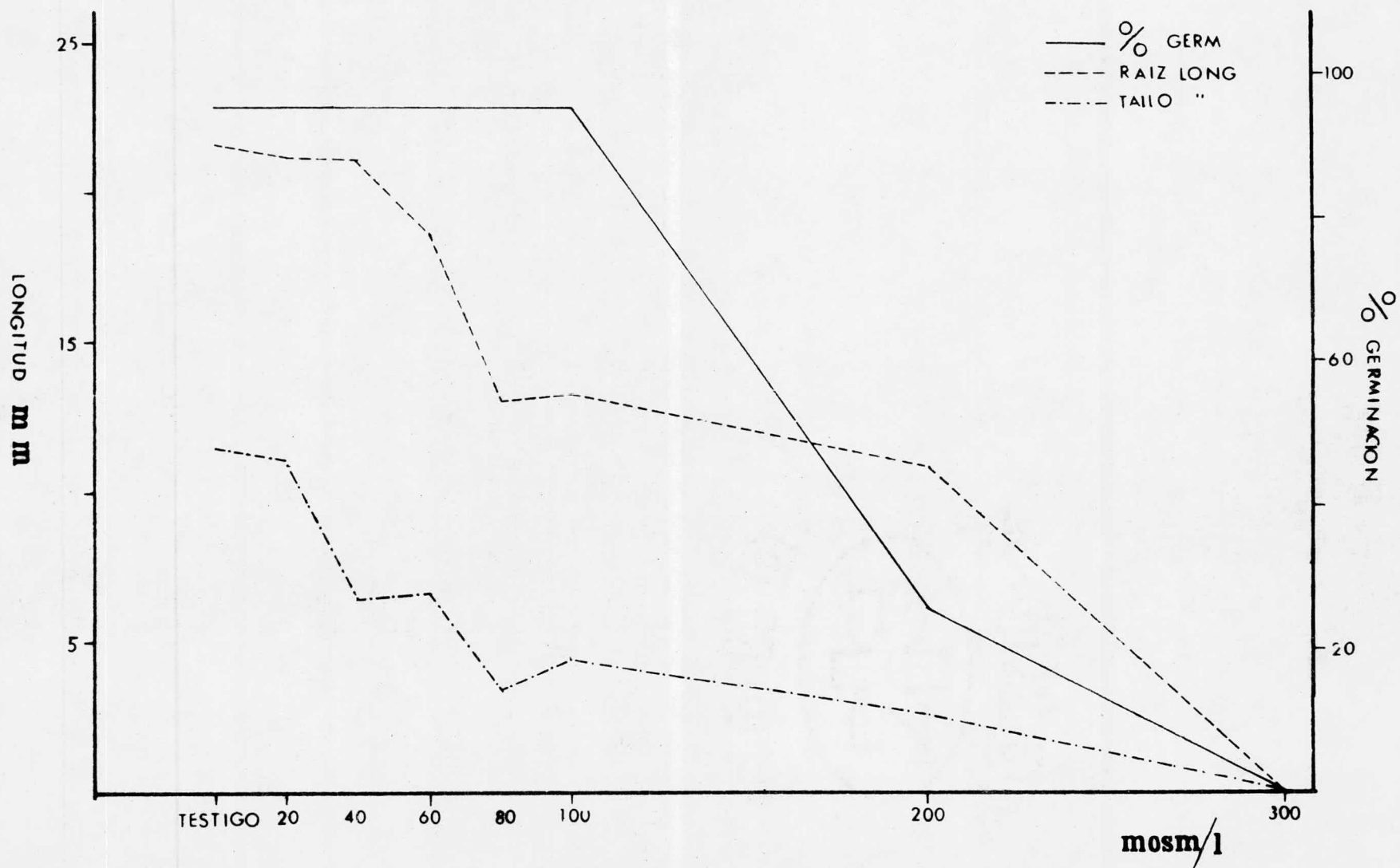
Germinación y crecimiento de Crusea calocephala.

Tratamiento	% de Germ.	Longitud raíz mm.	% Long. raíz	Longitud tallo mm.	% Long. tallo
TESTIGO	51	18.58	100	10.82	100
Manitol .02 M	63	14.92	80.3	7.33	67.7
Manitol .04 M	57	14.87	80.0	8.89	82.1
Manitol .06 M	47	14.10	75.8	7.70	71.1
Manitol .08 M	46	11.15	60.0	6.04	55.8
Manitol .10 M	2	9.0	48.4	3.50	32.3
Manitol .20 M	12	6.41	34.6	2.25	20.7
Manitol .30 M	1	7.0	37.6	2	18.4
1/100 P.aur	43	12.13	65.2	5.62	51.9
4/100 P.aur	3	4.66	25.0	2.00	18.4

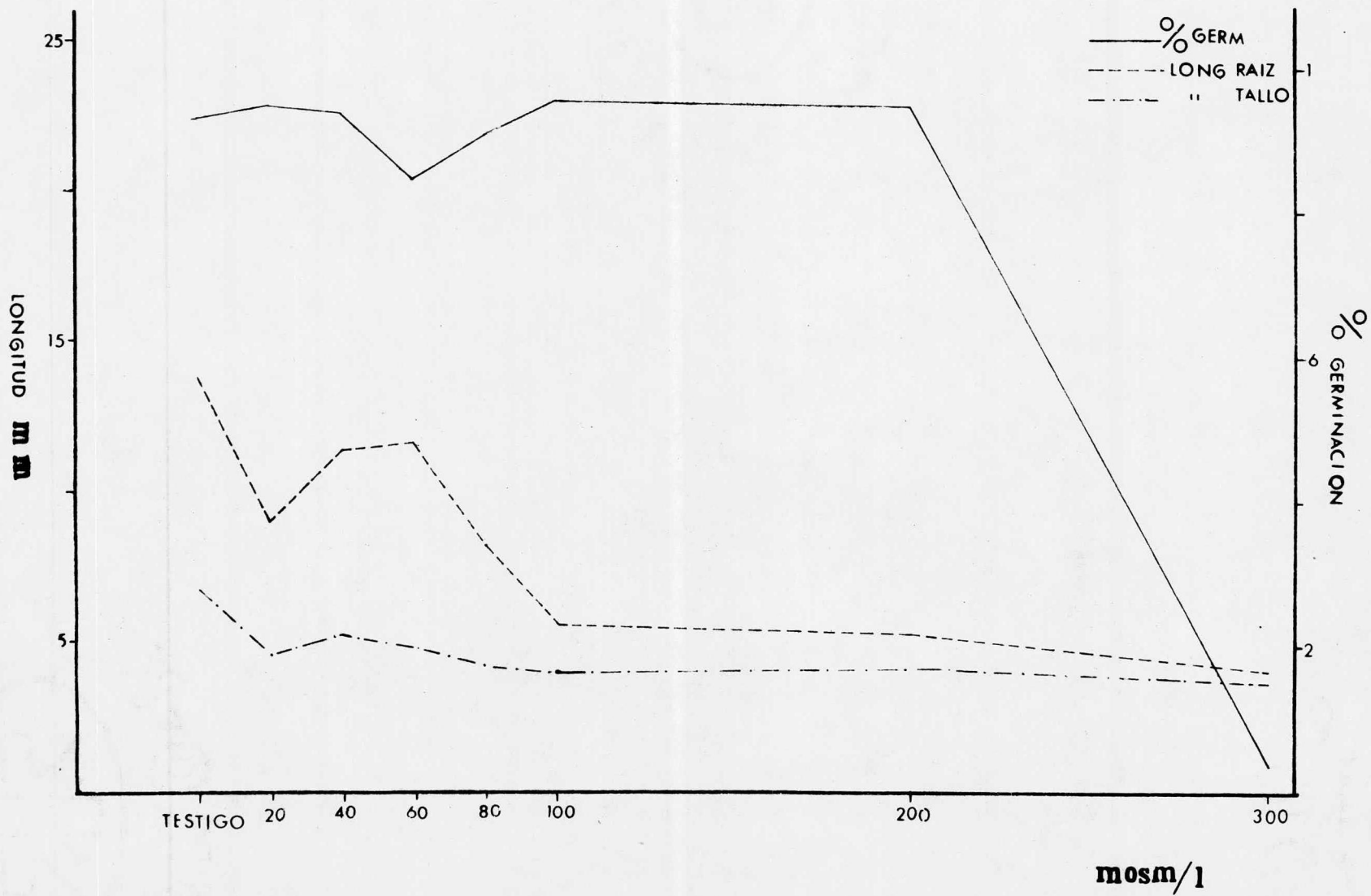
TABLA VII

Germinación y crecimiento de Piper auritum.

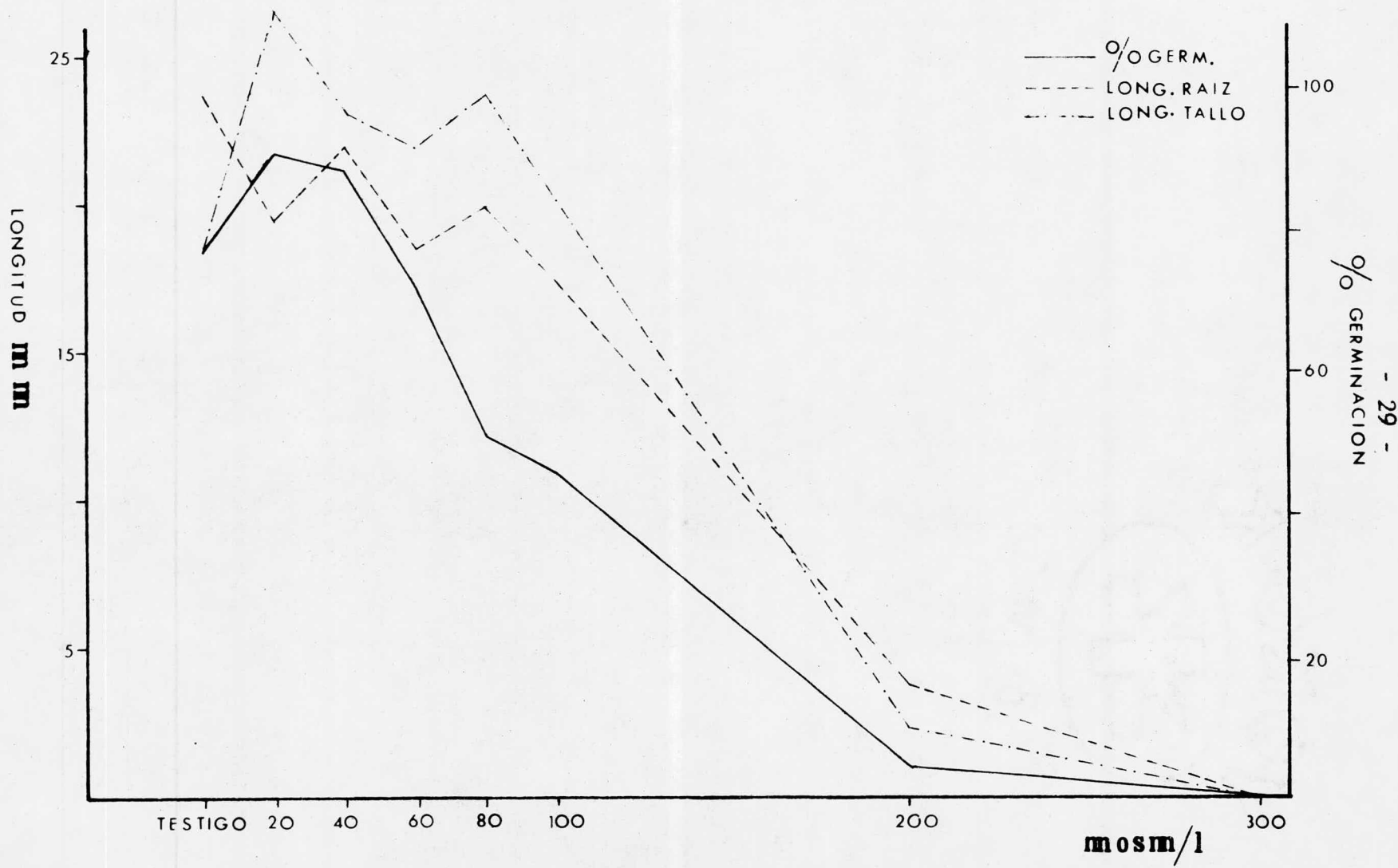
Tratamiento	% de Germ.	Longitud raíz mm.	% Long. raíz	Longitud tallo mm.	% Long. tallo.
TESTIGO	92.5	9.52	100	5.89	100
Manitol .02 M	97.5	7.65	80.35	4.92	83.53
Manitol .04 M	97.5	6.80	71.42	4.63	78.60
Manitol .06 M	87.5	5.88	61.76	4.93	83.70
Manitol .08 M	92.5	5.67	59.55	3.61	61.29
Manitol .10 M	87.5	4.16	43.69	3.63	61.63
Manitol .20 M	70.0	1.21	12.71	1.81	30.73
Manitol .30 M	52.5	1.0	10.50	0.51	8.65
1/100 P.aur	0	0.0	0.0	0.0	0.0
4/100 P.aur	0	0.0	0.0	0.0	0.0



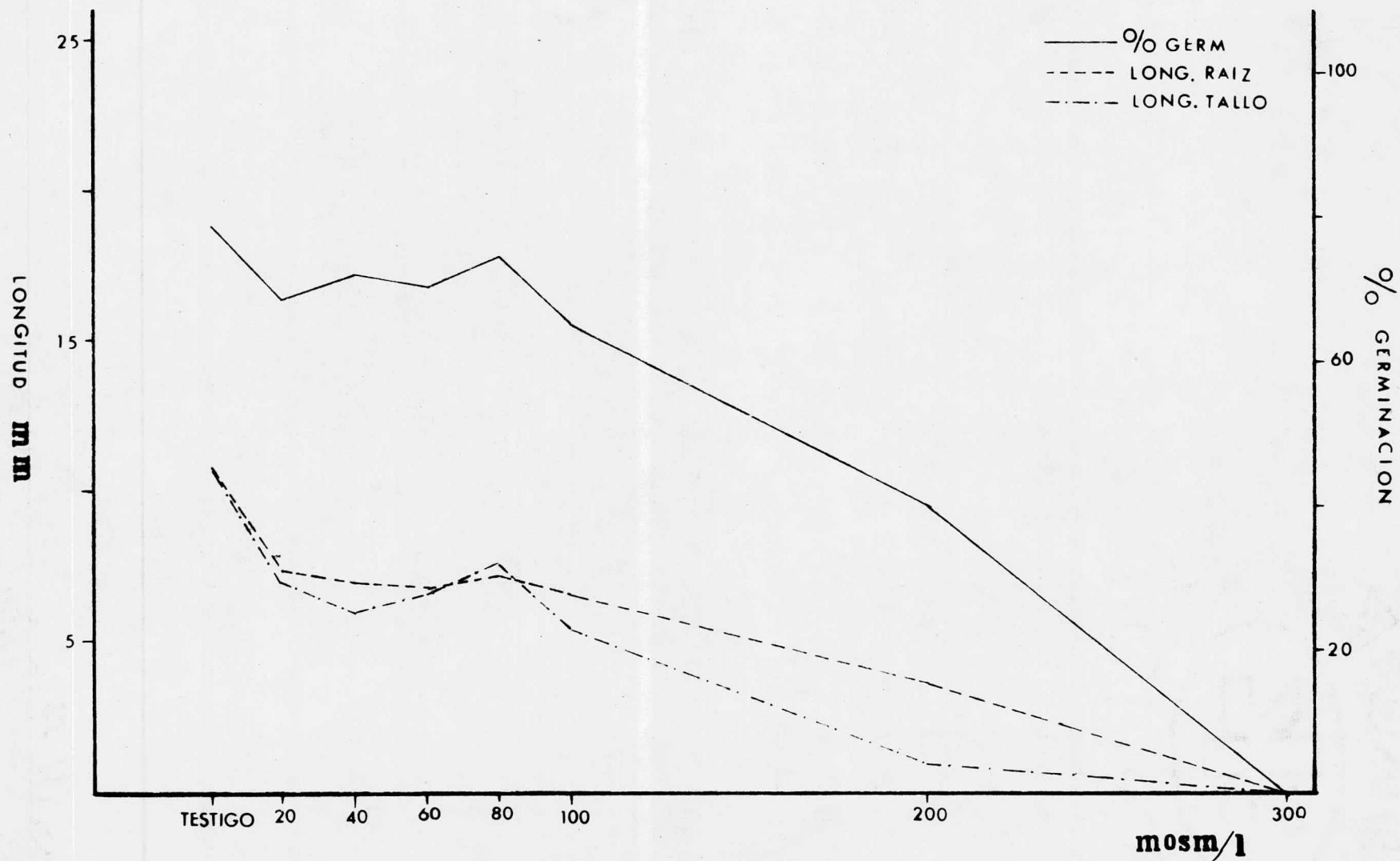
I *Mimosa pudica* PRESION OSMOTICA



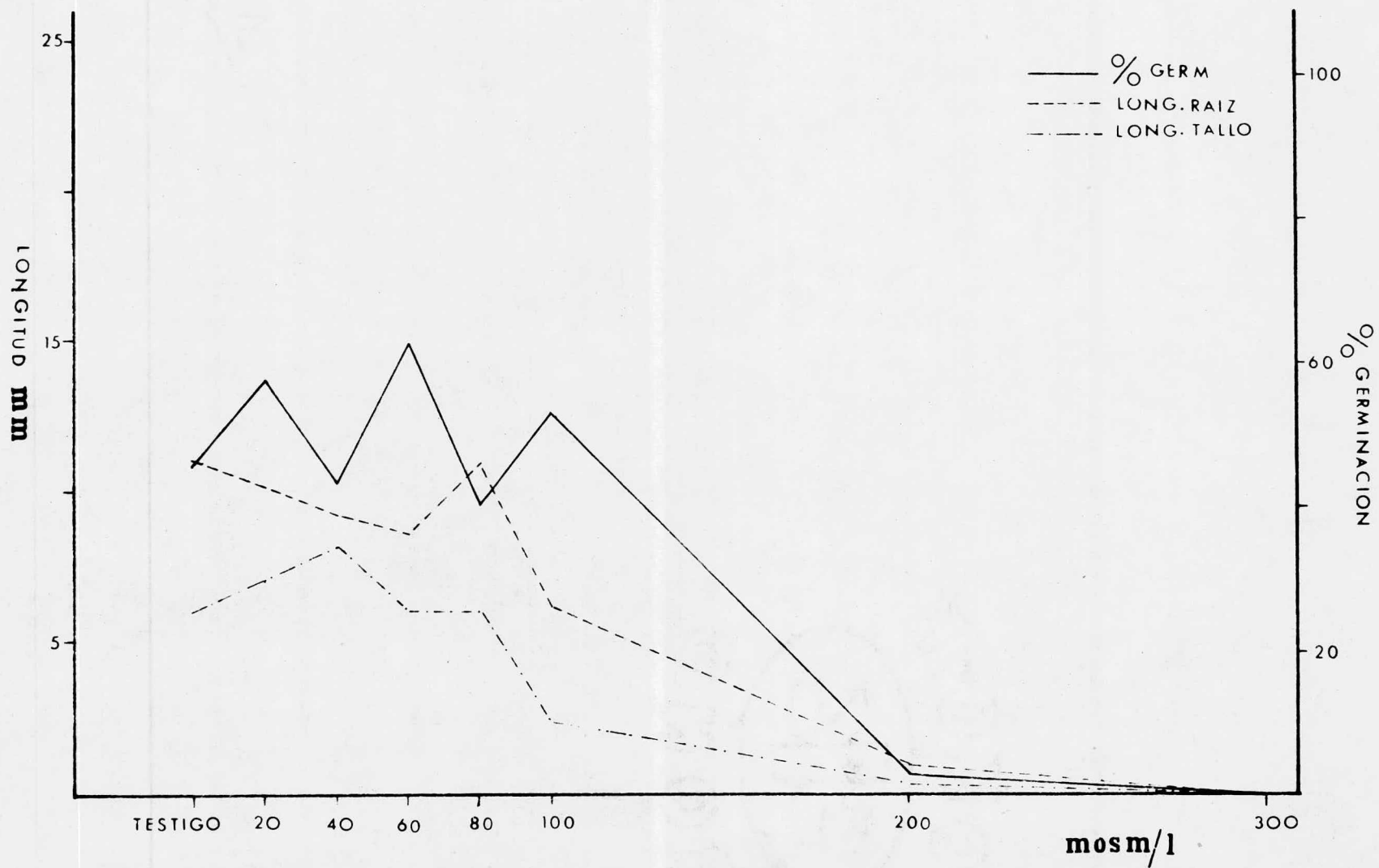
II *Achyranthes aspera* PRESION OSMOTICA



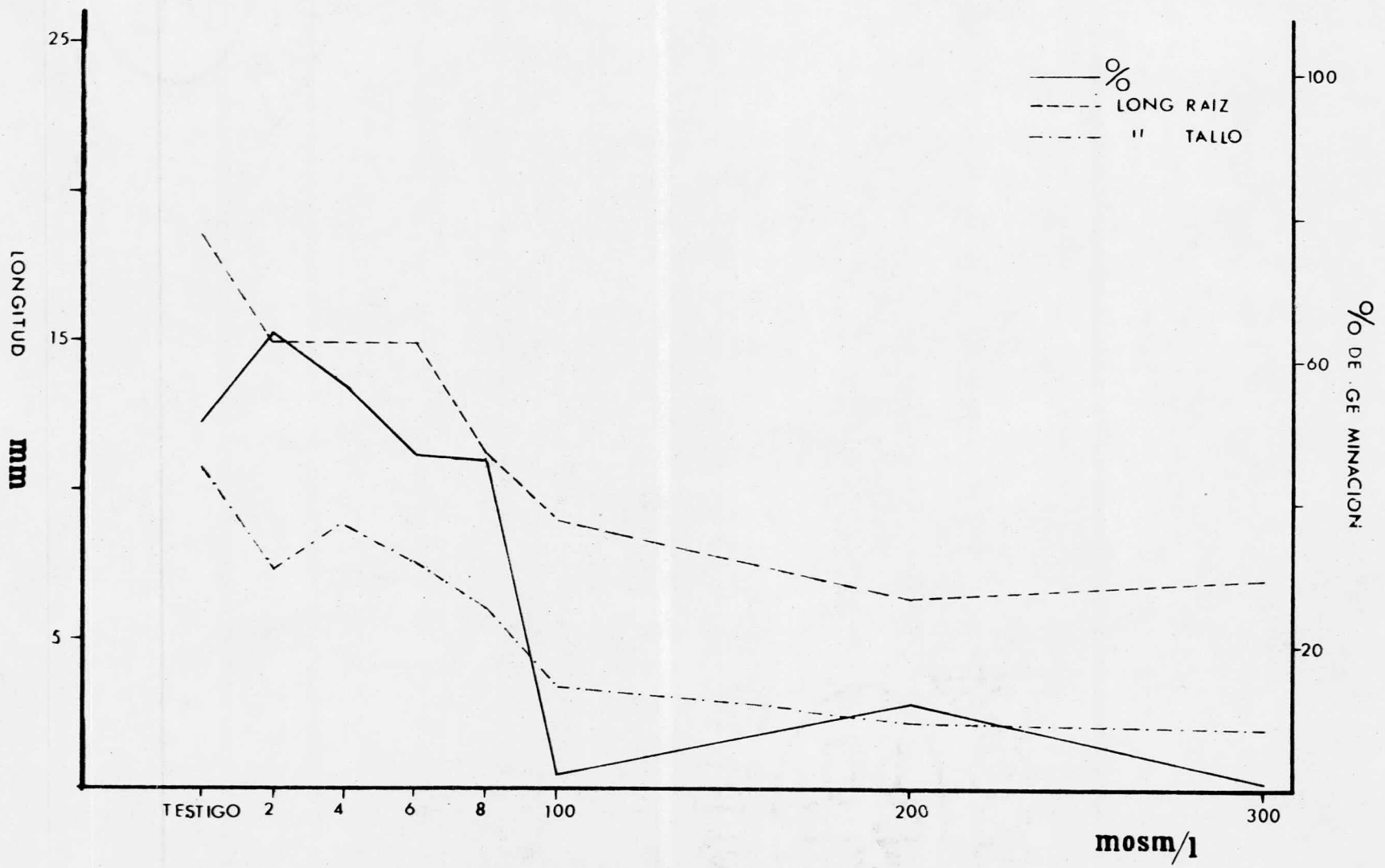
III *Bidens pilosa* PRESION OSMOTICA



IV *Heliocarpus donnell-smithii* PRESION OSMOTICA



V *Ochromo lagopus* PRESION OSMOTICA

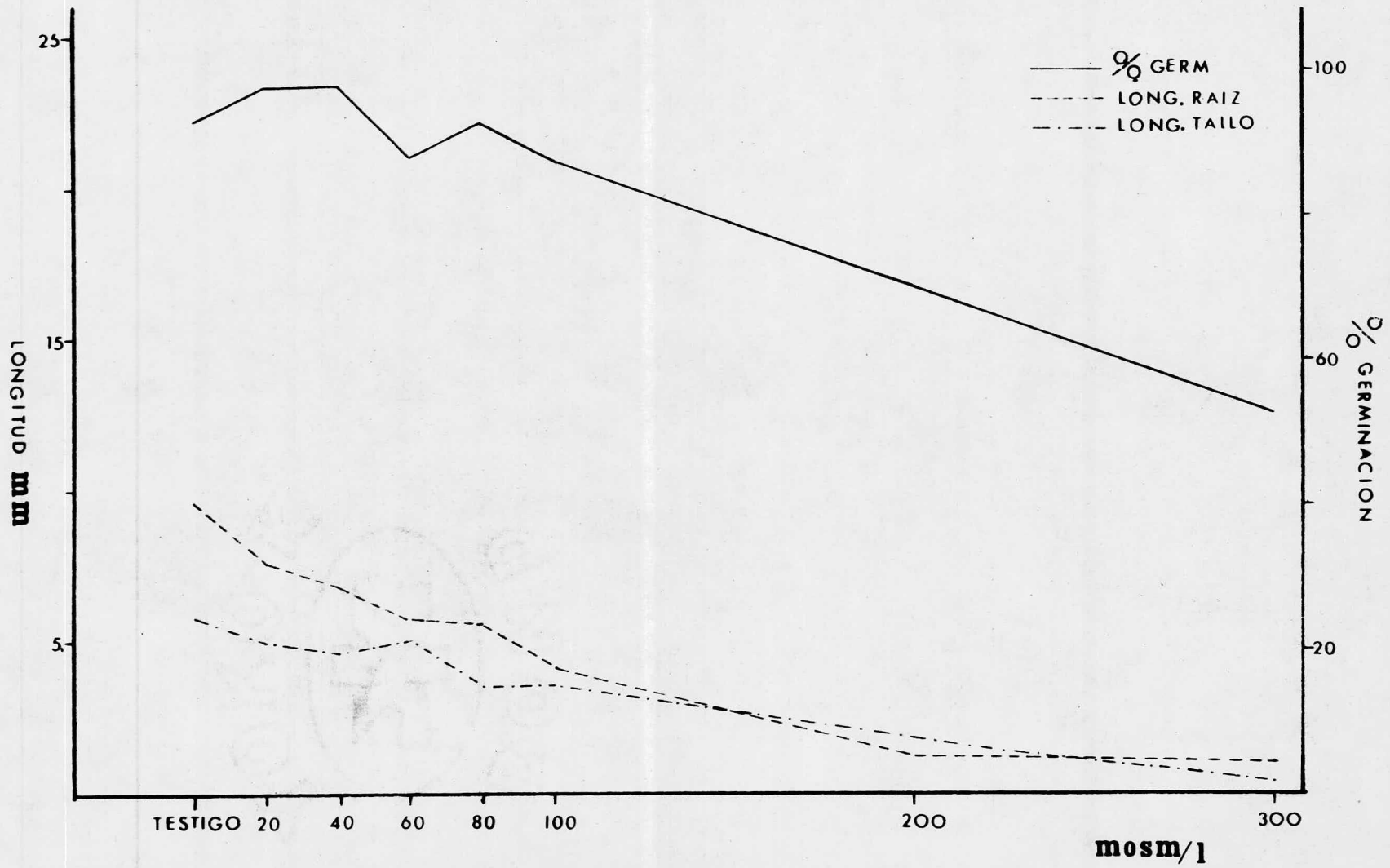


VI *Crusea calocephala* PRESION OSMOTICA

61060



400282



VII *Piper auritum* PRESION OSMOTICA

2.- Pruebas con los extractos acuosos de hojas y raíces.

Los resultados obtenidos en estas pruebas se observan en las Tablas VIII y IX y en las figuras VIII y IX.

Los efectos de los extractos sobre cada una de las especies es diferente en cada caso, mostrando grandes diferencias en el crecimiento de raíz y tallo.

Mimosa púdica, se ve más inhibida en la raíz que en el tallo. Achyranthes aspera se ve bastante afectada, presentando poca diferencia en las longitudes de raíz y tallo. En el caso de Bidens pilosa la raíz se inhibe fuertemente y el tallo resulta estimulado, creciendo más que el testigo. Para Heliocarpus donnell smithii y Crusea calopephala, la inhibición se acentúa más en el tallo que en la raíz. Ochroma lagopus es la especie más reciente frente a estos extractos ya que el tallo casi no muestra inhibición y la raíz sólo ligeramente.

Los resultados de los bioensayos sometidos a los extractos de raíz son contrarios a los de las pruebas anteriores, ya que en la mayoría de los casos resultan estimulantes. En el caso de Mimosa púdica la raíz se inhibe pero el tallo es estimulado, creciendo más que el testigo. Para Achyranthes aspera y Crusea calopephala resultan igualmente estimulados raíz y tallo. Bidens

pilosa, resulta afectada aunque no considerablemente y Ochroma lagopus, es la única especie que resulta más afectada.

Con los resultados hasta aquí obtenidos se comprueba que - las hojas son los órganos en que se producen principalmente las sustancias inhibidoras del crecimiento de las especies probadas.

TABLA VIII

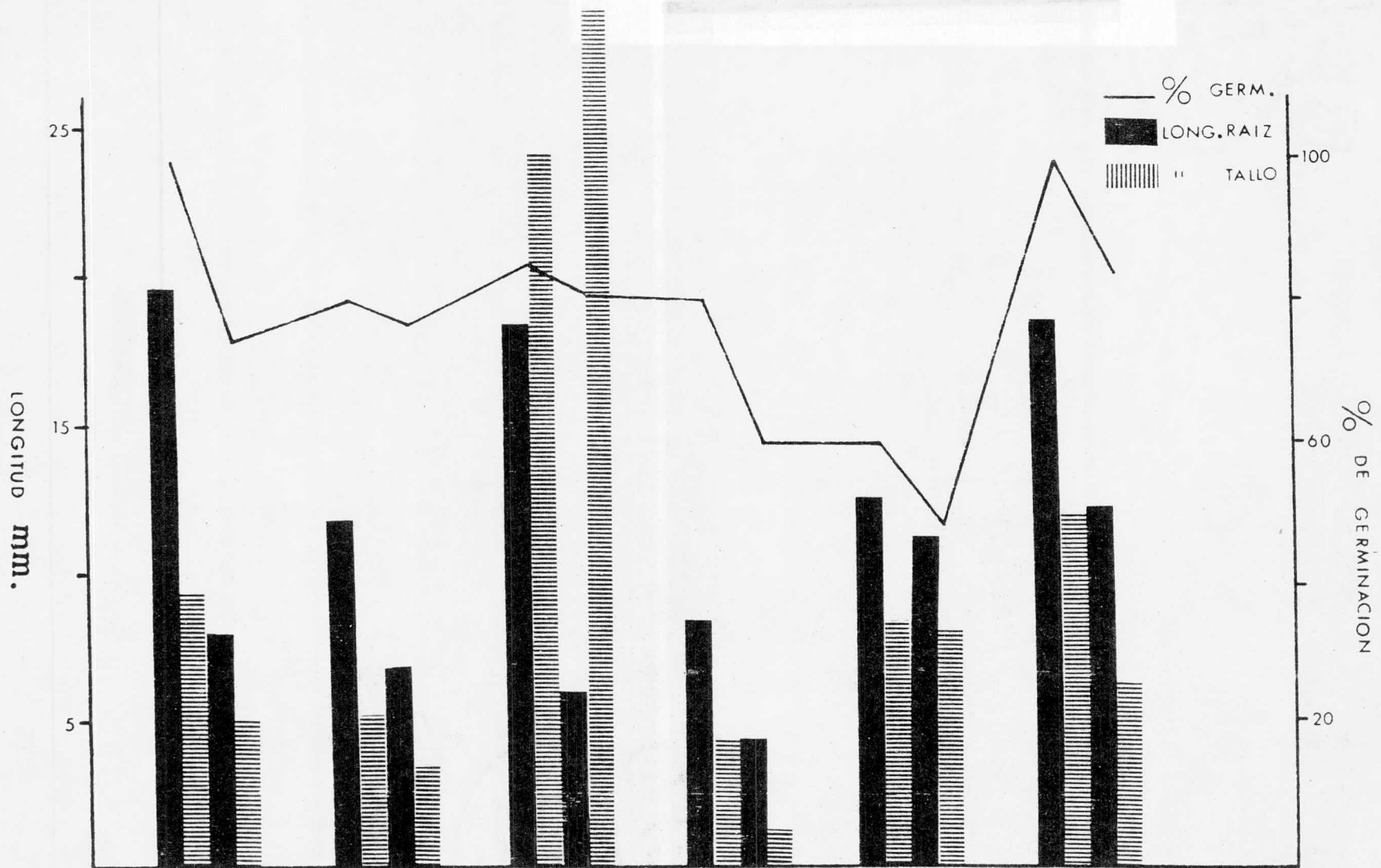
Germinación y crecimiento con los extractos acuosos de hojas.

Especie	% de Germ	Longitud raíz mm.	% Long raíz	Longitud tallo mm.	% Long. tallo
<u>Mimosa p</u>	74	18.03	40.76	5.06	53.82
Testigo	100	19.70	100	9.40	100
<u>Achyranthes</u>	77	6.85	57.8	3.35	63.08
Testigo	80	11.81	100	5.31	100
<u>Bidens p</u>	81	5.96	32.26	29.04	119.85
Testigo	85	18.47	100	24.23	100
<u>Heliocarpus</u>	60	4.42	52.80	1.19	26.44
Testigo	80	8.37	100	4.50	100
<u>Ochroma 1</u>	49	11.20	88.88	8.06	95.95
Testigo	60	12.6	100	8.4	100
<u>Crusea c</u>	84	12.13	65.39	6.25	51.86
Testigo	100	18.55	100	12.05	100

TABLA IX

Germinación y crecimiento con los extractos acuosos de raíces.

Espece	% de Germ.	Longitud raíz mm.	% Long. raíz	Longitud tallo mm.	% Long. tallo
<u>Mimosa p</u>	100	14.69	73.52	16.06	106.07
Testigo	95	19.98	100	15.14	100
<u>Achyranthes</u>	60	11.80	144.07	8.97	144.91
Testigo	72.5	8.19	100	6.19	100
<u>Bidens p</u>	80	10.00	71.89	19.40	95.66
Testigo	70	13.91	100	20.28	100
<u>Ochroma l</u>	55	8.04	78.90	4.49	82.53
Testigo	37.5	10.19	100	5.44	100
<u>Crusea c</u>	40	23.25	174.54	6.87	121.16
Testigo	87.5	13.32	100	5.67	100



T TESTIGO

1 MIMOSA PUDICA

2 ACHYRANTES ASPERA

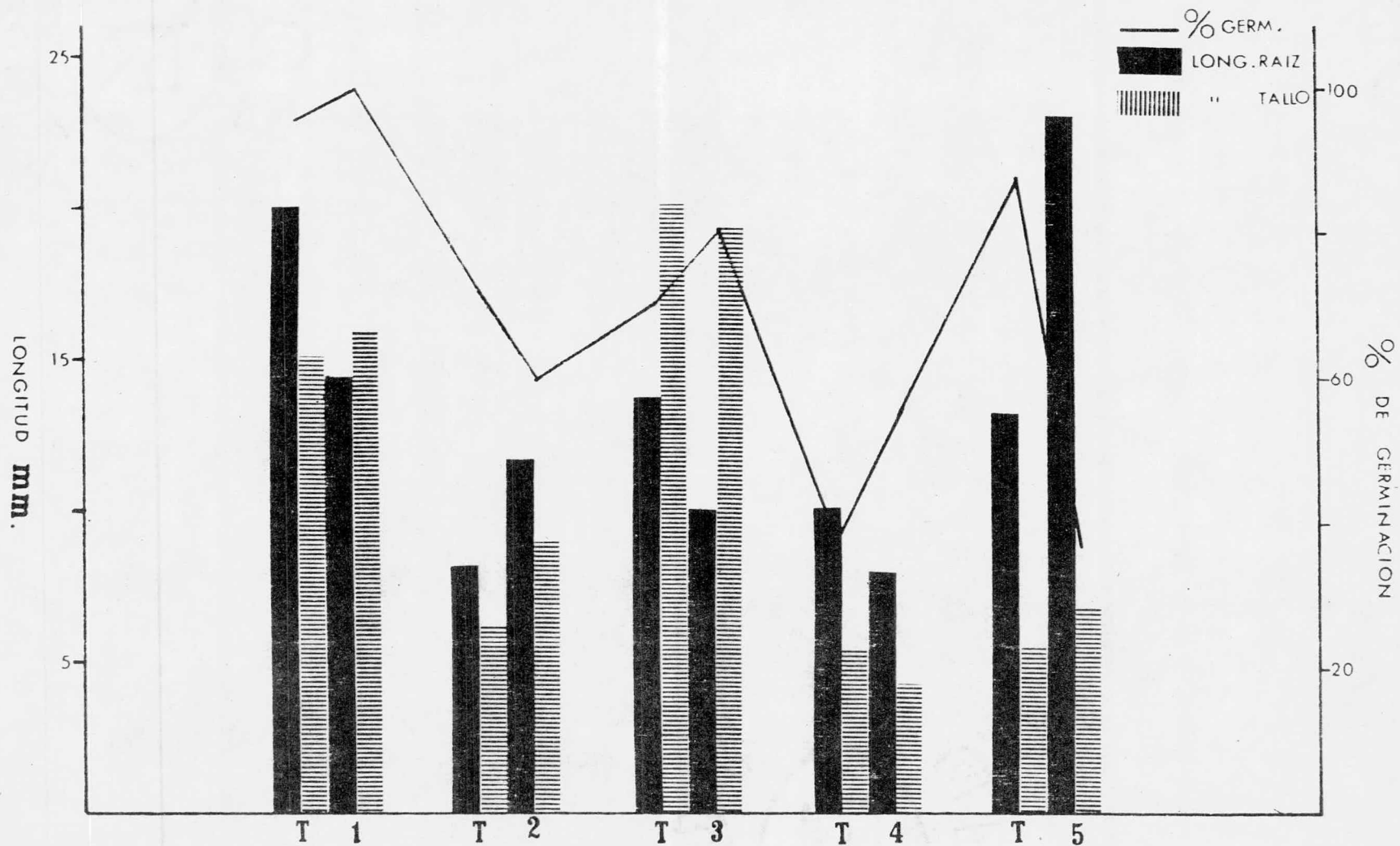
3 BIDENS PILOSA

4 HELIOCARPUS DONNELL-SMITII

5 OCHROMA LAGOPUS

6 CRUSEA CALOCEPHALA

VIII EXTRACTOS ACUOSOS DE HOJAS



IX EXTRACTOS ACUOSOS DE RAIZ

T TESTIGO

1 MIMOSA PUDICA

2 ACHYRANTES ASPERA

3 BIDENS PILOSA

4 OCHROMA LAGOPUS

5 CRUSEA CALOCEPHALA

3.- Pruebas con los extractos de hojas en disolventes orgánicos.

Para estas pruebas se trabajó con cuatro de las seis especies probadas, utilizando las soluciones acuosas de los extractos hexánico, acetónico y metanólico a los que previamente se les había evaporado el disolvente.

Los resultados obtenidos permiten apreciar la diversidad de respuestas obtenidas entre las plántulas de las especies seleccionadas. Como se observa, los extractos hexánico y acetónico, provocan una fuerte estimulación en Mimosa y Bidens, contrario al efecto sobre Achyranthes y Ochroma lagopus que resultan inhibidas. El extracto metanólico provoca una inhibición más fuerte y homogénea en las cuatro especies.

TABLA X

Germinación y crecimiento con los extractos de disolventes orgánicos.

Porcentaje de inhibición de raíz y tallo.						
Especie	Hexánico		Acetónico		Metanólico	
	raíz	tallo	raíz	tallo	raíz	tallo
<u>Mimosa p</u>	-53.33	-22.07	-14.16	-15.58	17.77	54.68
<u>Achyranthes</u>	3.23	11.43	57.90	45.72	90.72	97.68
<u>Bidens p</u>	-20.98	-17.64	-19.01	33.83	66.67	77.95
<u>Ochroma 1</u>	17.10	-1.26	21.28	3.80	-14.28	18.0

4.- Pruebas con el aceite esencial y productos puros.

Las pruebas preliminares con el aceite esencial crudo, se realizaron a concentraciones de 0.3% y 1%.

Los resultados obtenidos se observan en la Tabla XI y en la figura X. Ambas concentraciones produjeron una fuerte inhibición en todas las especies, por lo cual se consideró que el aceite esencial, contenía las sustancias responsables del potencial -- alelopático de esta planta, por lo cual fue necesaria la purificación y la identificación de los componentes.

El aceite crudo se separó mediante cromatografía preparativa en placa de sílice obteniéndose diez fracciones, algunas de las cuales eran mezclas de varios productos. Con estas fracciones se realizaron bioensayos en la forma usual cuyos resultados se observan en las Tablas XII a XVII y en las figuras XI a XVI.

La variabilidad de las respuestas de las semillas aun de la misma especie, frente a la misma fracción cromatográfica se debe posiblemente a que los componentes del aceite son lábiles y se degradan rápidamente, impurificándose aun más las fracciones con estos productos de degradación.

En base al análisis estadístico, todas las fracciones resulta-

ron con actividad alelopática, lo que indica que el aceite esencial, contiene un gran número de compuestos inhibidores. También - de los resultados se advierte que las especies en general, se ven más afectadas por las fracciones de mayor polaridad, siendo éstas las 6, 7, 8, 9 y 10, siendo más acentuado este efecto por las fracciones 6, 7 y 8. Además todas las especies tienen diferentes respuestas aun en las repeticiones de los experimentos.

En lo que respecta a germinación, se observa claramente que Mimosa y Cruces varían muy poco su porcentaje en todos los tratamientos. En cambio Bidens y Achyranthes, reducen notablemente su germinación frente a las fracciones más polares. Ochroma y Heliocarpus, muestran una variabilidad muy grande en el porcentaje de germinación.

La respuesta de crecimiento de raíz y tallo en algunas especies como Mimosa y Ochroma, es más o menos paralela, pero en los demás se observa que frecuentemente se disparan hacia los extremos.

El crecimiento de Mimosa es inhibido por todas las fracciones especialmente por las 4, 6, 7, 8 y 9. Achyranthes se afecta más con las fracciones más polares (6 a la 10), pero el tallo muestra una estimulación de más de 100% frente a la fracción 2

en el primer experimento y muy ligera con la fracción 3 en el segundo experimento. Bidens, al igual que Achyranthes, se afecta notablemente con las fracciones más polares, siendo estimulado el tallo, por las fracciones 1, 2 y 3, la raíz se estimula frente a las fracciones 1, 3 y 5. Ochroma, responde en el primer experimento de manera incostante en cuanto al crecimiento de raíz y tallo. En el segundo experimento, se puede notar que al igual que las demás especies, es más inhibida por las fracciones más polares. Las respuestas de Heliocarpus y Crusea, se disparan hacia los extremos aún bajo el efecto de una misma fracción.

Numerosas semillas de las seis especies utilizadas en los bioensayos, se vieron afectadas no sólo en la germinación y el crecimiento, sino también en la síntesis de pigmentos y en las respuestas geotrópicas. El grado de albinismo varía según la especie y la fracción cromatográfica pero en muchos casos fue total. El geotropismo estaba invertido en numerosas plántulas.

Los resultados obtenidos indican que los componentes del aceite esencial con mayor poder alelopático se encuentra en las fracciones 6 a la 10, pero la identificación de los constituyentes de cada una de éstas no se ha realizado por ser mínima la cantidad de producto obtenido.

La fracción dos, se encuentra en una proporción mucho mayor que el resto, llegando a constituir entre el 50 y 70% del total del aceite. Esto facilitó el trabajo con ella, practicándole cromatografía de gases preparativa, obteniéndose un producto puro al cual se le realizaron análisis espectroscópicos en el Infrarojo y de Resonancia magnética nuclear, lo cual fue suficiente para concluir que este producto es el Safrol (4-alil-1,2-dioximetilen-benceno).

Es necesario hacer una consideración de carácter fitoquímico y quimiotaxonómica respecto a la presencia de tan grandes cantidades de Safrol en el aceite esencial de Piper auritum. Hasta 1969, Hegnauer reportaba como componentes de los aceites esenciales de piperáceas a los siguientes:

Chavicol	Metil chavicol	alil brezcatequina
Elemicina	Miristecina	Apiol
Chavivetol	Eugenol	Metil eugenol
Dillapiol	Anetol	Asaron

En esta lista destaca la ausencia de Safrol, que desde 1956 fue reportado(4) precisamente como componente del aceite esencial de Piper auritum y posteriormente en 1971, reportan(1) un 69% de safrol en el aceite esencial de Piper cavalcantei . El Safrol es un compuesto frecuente en algunos géneros de la familia Lauraceae y también en la familia Monimiaceae, ambas cercanas filogenéticamente. En cambio Piper auritum pertenece a las piperáceas que son consideradas como rama independiente y terminal de los ancestros directos de las ranales. Laurales y monimiáceas pertenecen en cambio al orden Laurales. El parentesco así visto parece demasiado lejano como para considerar la presencia de safrol como indicio de cercanía filogenética de los taxones mencionados. Como dato complementario cabe mencionar que el safrol ha sido reportado en numerosos trabajos como: Antihelmíntico, antibacteriano, acaricida, dermatomicógeno, fungicida, insecticida, para controlar termitas y como alelopático y altamente tóxico para los tejidos vivos.

TABLA XI

Germinación y crecimiento con el aceite esencial crudo.

Espece	% de Germ.	Longitud raíz mm.	% Long. raíz	Longitud tallo mm.	% Long. tallo
<u>Mimosa p</u>	52	2.92	13.49	0.97	8.59
Testigo	95	21.63	100	11.40	100
<u>Heliocarpus</u>	1	1.0	9.19	0.0	0.0
Testigo	78	10.88	100	10.91	100
<u>Crusea</u>	0	0.0	0.0	0.0	0.0
Testigo	51	18.58	100	10.82	100
<u>Achyranthes</u>	50	2.58	18.61	1.0	0.0
Testigo	93	13.86	100	6.87	100
<u>Bidens</u>	0	0.0	0.0	0.0	0.0
Testigo	77	23.67	100	18.61	100
<u>Ochroma</u>	38	1.97	25.88	0.0	0.0
Testigo	57	7.61	100	7.19	100
<u>Piper auri</u>	0	0.0	0.0	0.0	0.0
Testigo	84	6.70	100	3.30	100

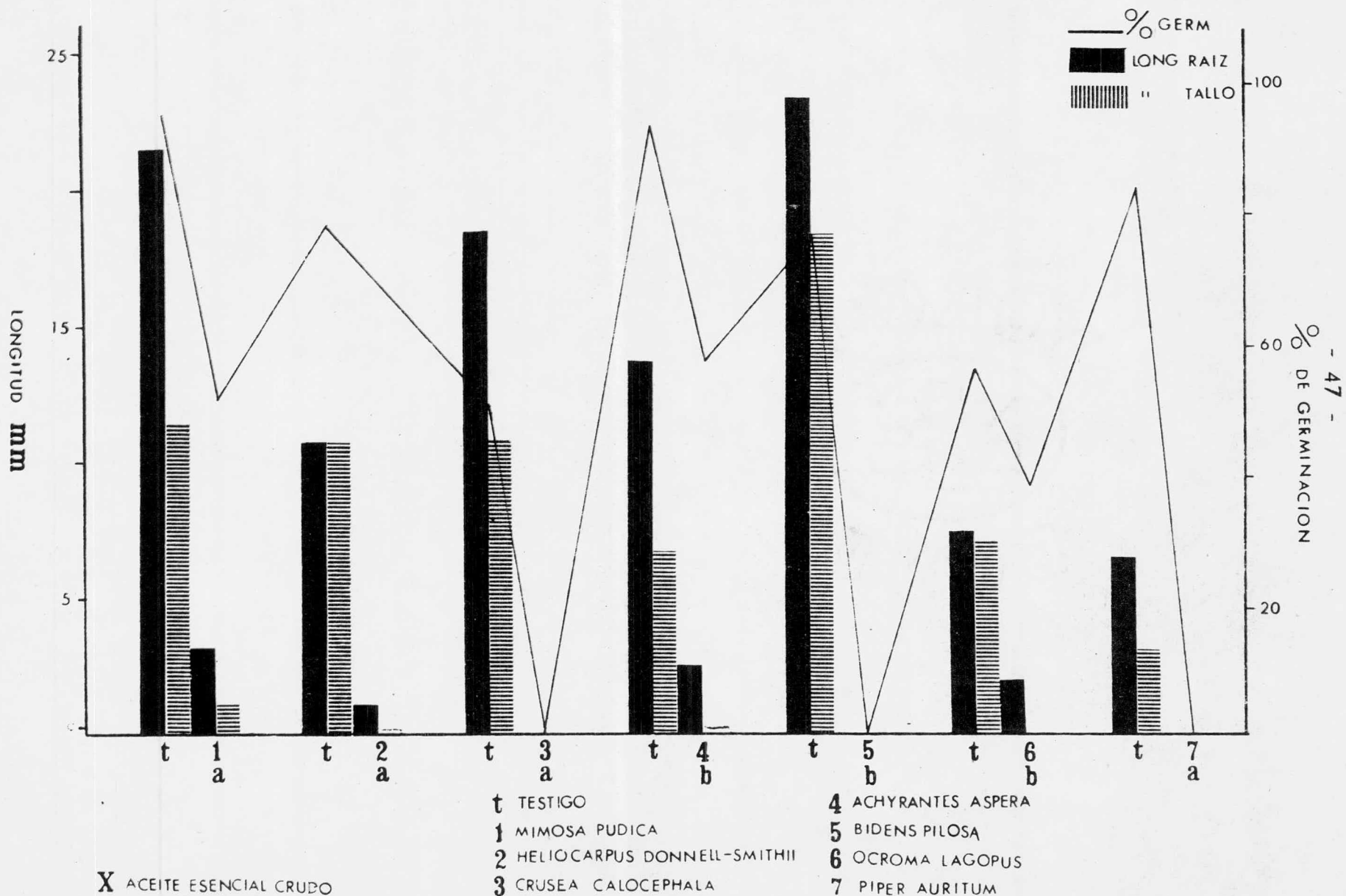


TABLA XII

Mimosa pudica. Germinación y crecimiento con las Fracciones Cromatográficas del Aceite Esencial de P. auritum
Repeticiones 1 y 2

Tratamiento	% de germ.		long raíz mm		% long raíz		long tallo mm		% de long tallo		% de inhibic raíz		% de inhibic tallo	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Testigos	100	100	27.0	25.45	100	100	9.56	7.25	100	100	0	0	0	0
Fracción 1	96	100	20.95*	24.1	77.59	94.69	8.04	7.25	84.10	100	22.41	5.31	15.90	0
Fracción 2	100	100	22.44	24.55	83.11	96.46	4.80**	4.05**	50.20	55.86	16.89	3.54	49.80	44.14
Fracción 3	96	100	19.41	17.25	71.88	67.77	6.37*	5.25*	66.63	72.41	28.12	32.23	33.37	27.59
Fracción 4	92	95	10.21**	9.63**	37.81	37.83	4.0**	3.73**	41.84	51.44	62.19	62.17	58.16	48.56
Fracción 5	92	95	14.73**	21.26	54.55	83.53	3.17	5.63	33.15	77.65	45.45	16.47	66.85	22.35
Fracción 6	92	90	17.47*	10.5**	64.70	41.25	3.52**	3.16**	36.82	43.58	35.30	58.75	63.18	56.42
Fracción 7	100	100	14.84**	11.3**	54.96	44.40	3.56**	3.8**	37.23	52.41	45.04	55.60	62.77	47.59
Fracción 8	100	100	15.92**	13.25**	58.96	52.06	3.16**	3.5**	33.05	48.27	41.04	47.94	66.95	51.73
Fracción 9	96	90	15.00**	11.00*	55.55	43.22	3.33**	2.22**	34.83	30.62	44.45	56.78	65.17	69.38
Fracción 10	-	100	-	15.0	-	58.93	-	4.60**	-	63.44	-	41.07	-	36.56

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

TABLA XIII

Achyranthes aspera. Germinación y crecimiento con las Fracciones Cromatográficas del Aceite Esencial de *P. auritum*. Repeticiones 1 y 2

Tratamiento	% de germ.		long raíz mm		% long raíz		long tallo mm		% de long tallo		% de inhibic raíz		% de inhibic tallo	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Testigos	72	55	10.38	5.09	100	100	5.72	4.90	100	100	0	0	0	0
Fracción 1	48	80	5.66**	6.43	54.52	126.32	4.83	6.31*	84.44	128.77	45.48	-26.32	15.56	-28.77
Fracción 2	76	70	6.68**	11.78*	64.35	231.43	6.21	5.78	108.56	117.95	35.65	-131.43	-8.56	-17.95
Fracción 3	68	70	10.76	5.78	103.76	113.55	5.70	3.71	99.65	75.71	-3.76	-13.55	0.35	24.29
Fracción 4	68	50	2.88**	5.10	27.74	100.19	3.41**	4.1	59.61	83.67	72.26	- 0.19	40.39	16.33
Fracción 5	72	30	7.61*	5.16	73.31	101.37	4.55	2.5**	79.54	51.02	26.69	- 1.37	20.46	48.98
Fracción 6	12	0	8.66	0	83.42	0	4.33	0	75.69	0	16.58	100	24.31	100
Fracción 7	28	25	2.28**	1.40**	21.96	27.50	1.85**	0.6**	32.34	12.24	78.04	72.5	67.66	87.76
Fracción 8	12	5	4.66**	1.0**	44.89	19.64	2.66**	0	46.50	0	55.11	80.36	53.50	100
Fracción 9	12	30	1.0**	1.66**	9.63	32.61	1.33**	1.0**	23.25	20.40	90.37	67.39	76.75	79.60
Fracción 10	-	20	-	2.75**	-	54.02	-	2.0**	-	40.81	-	45.98	-	59.19

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

TABLA XIV

Bidens pilosa. Germinación y crecimiento con las Fracciones Cromatográficas del Aceite Esencial de *P. auritum*. Repeticiones 1 y 2

Tratamiento	% de germ		long raíz mm		% long raíz		long tallo mm		% de long tallo		% de inhibic raíz		% de inhibic tallo	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Testigos	72	60	7.72	9.75	100	100	28.55	23.0	100	100	0	0	0	0
Fracción 1	64	45	10.50**	7.33	136.01	75.17	18.18**	29.0*	63.67	126.08	-36.01	24.83	36.33	-26.08
Fracción 2	64	50	7.68	11.20	99.48	114.87	19.06**	24.8	66.76	107.82	0.52	-14.87	33.24	- 7.82
Fracción 3	52	50	10.53**	13.3**	136.39	136.41	17.46**	25.7	61.15	111.73	-36.39	-36.41	38.85	-11.73
Fracción 4	20	60	4.80**	7.75*	62.17	79.48	5.0**	9.91**	17.51	43.08	37.83	20.52	82.49	56.92
Fracción 5	48	60	9.50*	7.16*	123.05	73.43	17.25**	12.91**	60.42	56.13	-23.05	26.57	39.58	43.87
Fracción 6	52	15	6.53	4.33**	84.58	44.41	11.53**	3.33**	40.38	17.47	15.42	55.59	59.62	85.53
Fracción 7	8	10	6.5	6.00**	84.19	61.53	5.0**	5.00**	17.51	21.73	15.81	38.47	82.49	78.27
Fracción 8	24	5	3.5**	5.0**	45.33	51.28	6.00**	3.0**	21.01	13.04	54.67	48.72	78.99	86.96
Fracción 9	24	15	4.33**	10.66	56.08	109.33	4.16**	9.66**	14.57	42.0	43.92	- 9.33	85.43	58.0
Fracción 10	-	5	-	3.0**	-	30.76	-	3.0**	-	13.04	-	69.24	-	86.96

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

1
05
!

TABLA XV

Heliocarpus donnell-smithii. Germinación y crecimiento con las Fracciones Cromatográficas del Aceite Esencial de *P. auritum*. Repeticiones 1 y 2

Tratamiento	% de germ		long raíz mm		% long raíz		long tallo mm		% de long tallo		% de inhibic raíz		% de inhibic tallo	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Testigo	60	70	17.06	10.21	100	100	21.66	5.07	100	100	0	0	0	0
Fracción 1	52	85	19.38	10.88	113.59	106.56	11.0**	6.35*	50.78	125.24	-13.59	- 6.56	49.22	-25.24
Fracción 2	32	85	15.87	10.52	93.02	103.03	12.37**	3.94*	57.10	77.71	6.98	- 3.03	42.90	22.29
Fracción 3	52	80	17.23	12.18	100.99	119.29	11.92**	6.93**	55.03	136.68	- 0.99	-19.29	44.97	-36.68
Fracción 4	52	80	12.53**	5.87**	73.44	57.49	6.07**	1.43**	28.02	28.20	26.56	42.51	71.98	71.80
Fracción 5	84	95	16.66	9.15	97.65	89.61	9.85**	2.57**	45.47	50.69	2.35	10.39	54.53	49.31
Fracción 6	12	45	6.33**	7.66**	37.10	75.02	1.66**	2.77**	7.66	54.63	62.90	24.98	92.34	45.37
Fracción 7	48	85	10.91**	5.58**	63.95	54.65	5.0**	1.17**	23.08	23.07	36.05	45.35	76.92	76.93
Fracción 8	52	50	13.23**	5.6**	77.54	54.84	5.38**	1.0**	24.83	19.72	22.46	45.16	75.17	80.28
Fracción 9	84	75	9.76**	8.06*	57.20	78.94	1.71**	1.33**	7.89	26.23	42.80	21.06	92.11	73.77
Fracción 10	-	80	-	5.68**	-	55.63	-	0.93**	-	18.34	-	44.37	-	81.66

* Significativo al 5%
 ** Significativo al 1%

TABLA XVI

Ochroma lagopus. Germinación y crecimiento con las Fracciones Cromatográficas del Aceite Esencial de *P. auritum*. Repeticiones 1 y 2

Tratamiento	% de germ		long raíz mm		% long raíz		long tallo mm		% de long tallo		% de inhibic raíz		% de inhibic tallo	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Testigos	72	70	18.77	16.85	100	100	25.44	11.50	100	100	0	0	0	0
Fracción 1	52	40	19.76	13.25**	105.27	78.63	15.38**	10.00	60.45	86.95	- 5.27	21.37	39.55	13.05
Fracción 2	68	35	13.58**	12.42**	72.34	73.70	22.88	9.85	89.93	85.65	27.66	26.30	10.07	14.35
Fracción 3	84	40	18.90	12.88**	100.69	76.43	17.47**	10.77	68.67	93.65	- 0.69	23.57	31.33	6.35
Fracción 4	48	55	18.58	13.63	98.98	80.89	16.58**	11.81	65.17	102.69	1.02	19.11	34.83	- 2.69
Fracción 5	76	40	14.89**	15.0	79.32	89.02	20.05**	10.25	78.81	89.13	20.68	10.98	21.19	10.87
Fracción 6	68	50	18.29	9.50**	97.44	56.37	19.05**	8.30**	74.88	72.17	2.56	43.63	25.12	27.83
Fracción 7	48	50	12.00**	10.3**	63.93	61.12	16.33**	5.50**	64.19	47.82	36.07	38.88	35.81	52.18
Fracción 8	88	50	21.09	17.3	112.36	102.67	13.04**	8.7**	51.25	75.65	-12.36	- 2.67	48.75	24.35
Fracción 9	52	45	19.33	12.77**	102.98	75.78	10.76**	6.88**	42.29	59.82	- 2.98	24.22	57.71	40.18
Fracción 10	-	35	-	14.42	-	85.57	-	9.71	-	84.43	-	14.43	-	15.57

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

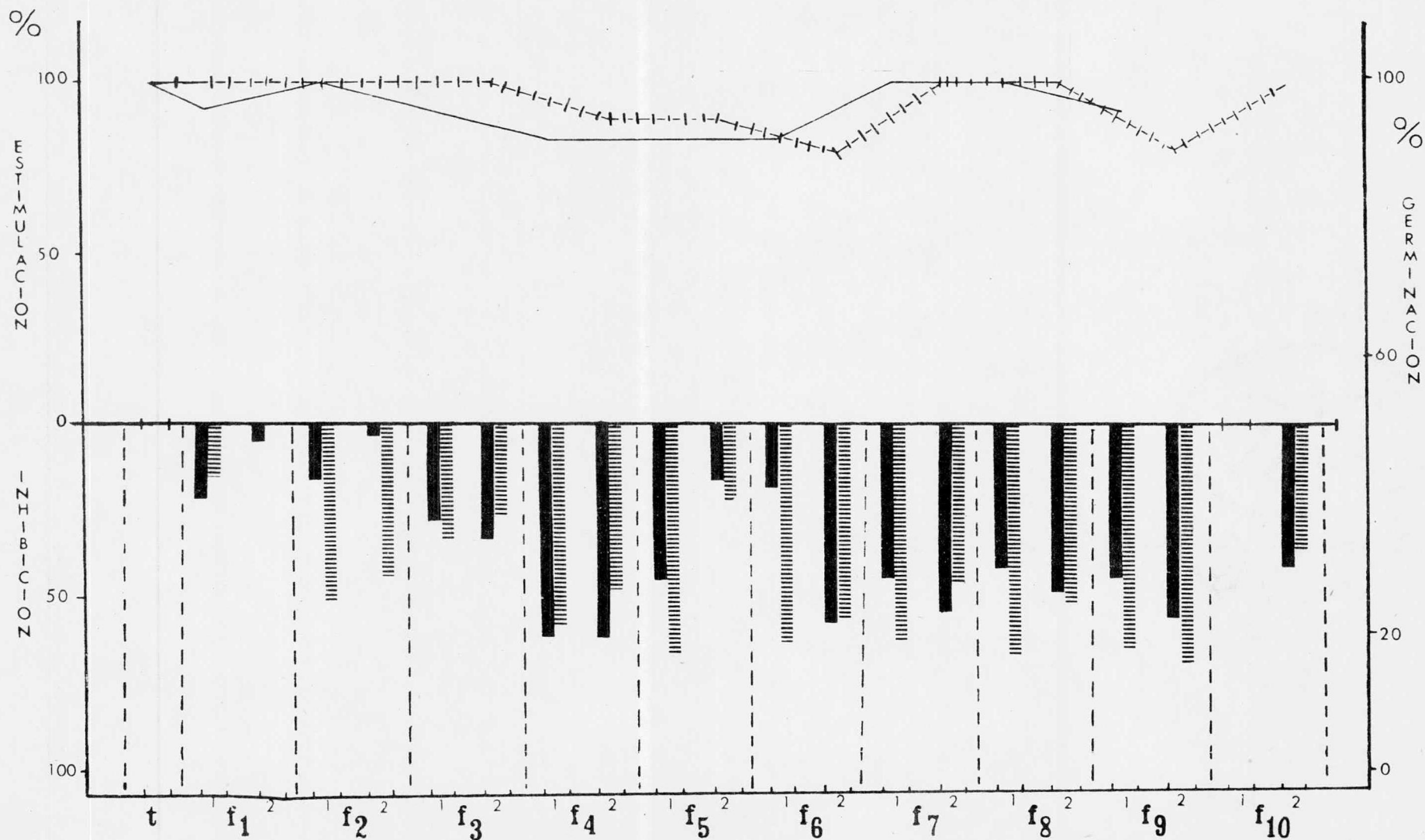
TABLA XVII

Crusea calcephala. Germinación y crecimiento con las Fracciones Cromatográficas del Aceite Esencial de P. auritum. Repeticiones 1 y 2

Tratamiento	% de germ		long raíz mm		% long raíz		long tallo mm		% de long tallo		% de inhibic raíz		% de inhibic tallo	
	1a.	2a.	1a.	2a.	1a.	2a.	1a.	2a.	1a.	2a.	1a.	2a.	1a.	2a.
Testigos	76	80	24.63	24.5	100	100	15.0	10.44	100	100	0	0	0	0
Fracción 1	72	80	22.5	18.37*	91.35	74.97	10.83*	7.90*	72.2	75.67	8.65	25.03	27.8	24.33
Fracción 2	88	85	16.95**	16.52*	68.81	67.42	12.0*	7.47*	80.0	71.55	31.19	32.58	20.0	28.45
Fracción 3	80	95	21.60	17.26*	87.69	70.44	12.85	5.78**	85.66	55.36	12.31	29.56	14.34	44.64
Fracción 4	76	90	22.52	16.44*	91.43	67.10	12.31	3.38**	82.06	32.37	8.57	32.90	17.94	67.63
Fracción 5	76	85	27.68	22.11	112.38	90.24	15.26	6.58**	101.73	63.02	-12.38	9.76	-1.73	36.98
Fracción 6	76	80	29.57*	12.43**	120.05	50.73	14.05	2.43**	93.66	23.27	-20.05	49.27	6.34	76.73
Fracción 7	76	80	23.78	13.37**	96.54	54.57	7.26**	2.25**	48.4	21.55	3.46	45.43	51.6	78.45
Fracción 8	92	80	21.04	14.18**	85.42	57.87	7.65**	3.12**	51.0	29.88	14.58	42.13	49.0	70.12
Fracción 9	92	80	20.60	15.06**	83.63	61.46	6.69**	2.43**	44.6	23.27	16.37	38.54	55.4	76.73
Fracción 10	-	70	-	5.92**	-	24.16	-	1.71**	-	16.37	-	75.84	-	83.63

* Significativo al 5%

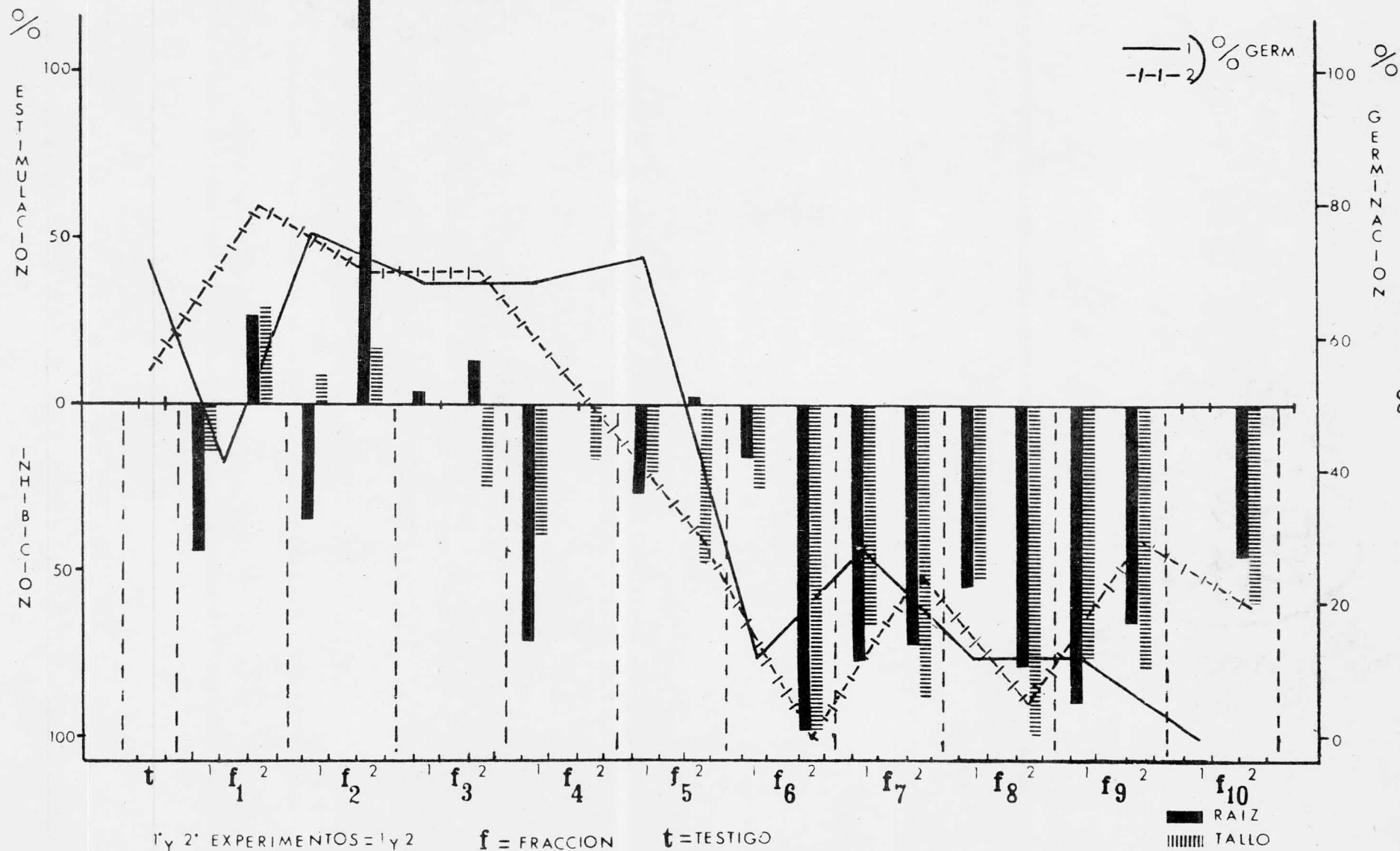
** Significativo al 1%



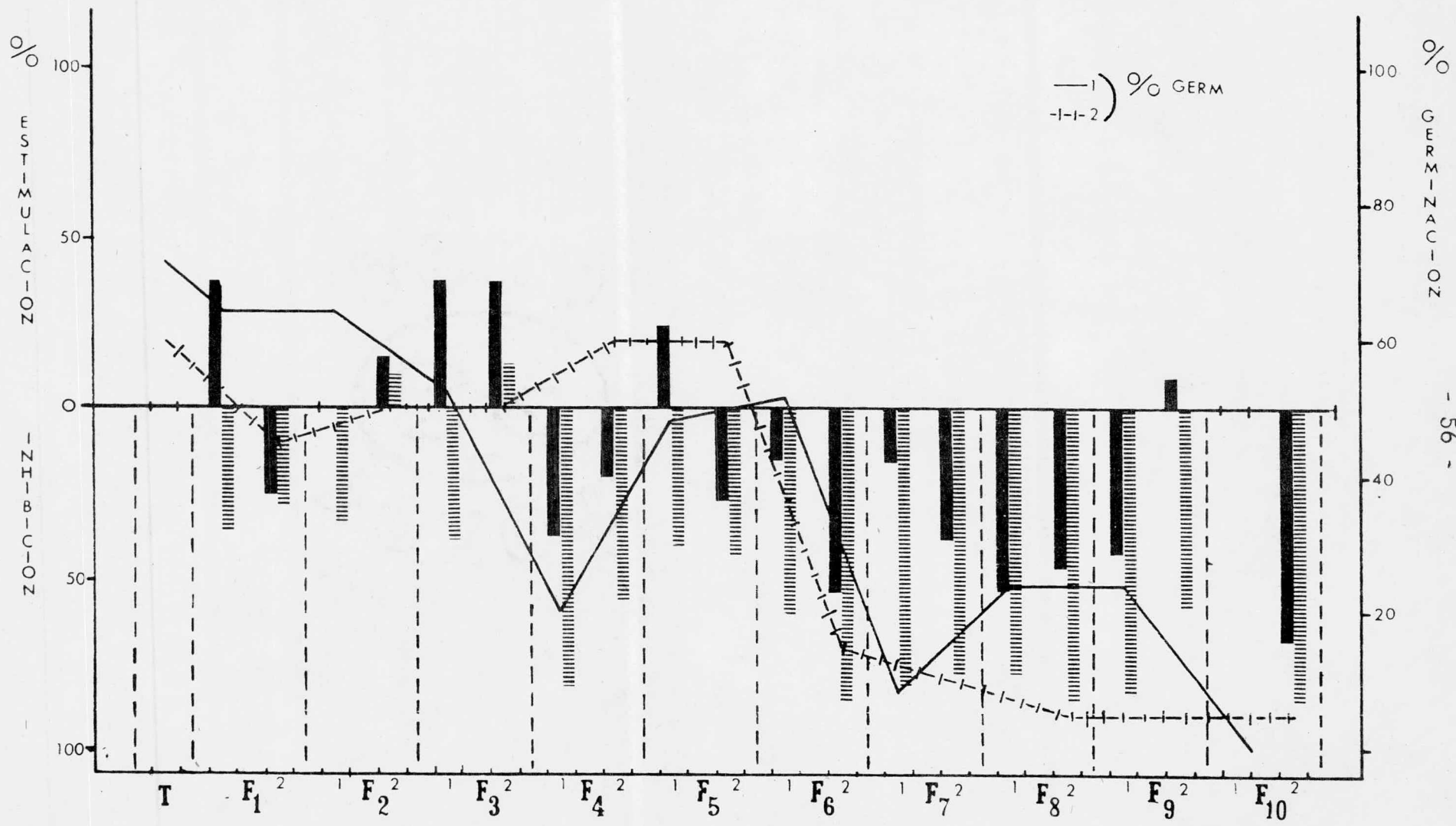
1 y 2 EXPERIMENTOS = 1 y 2 f = FRACCION t = TESTIGO

XI Mimosa pudica FRACCIONES CROMATOGRÁFICAS

1) ——— % GERM.
 2) - - - - -
 ■ RAIZ
 ▨ TALLO



XII *Achyrantes aspera* FRACCIONES CROMATOGRÁFICAS

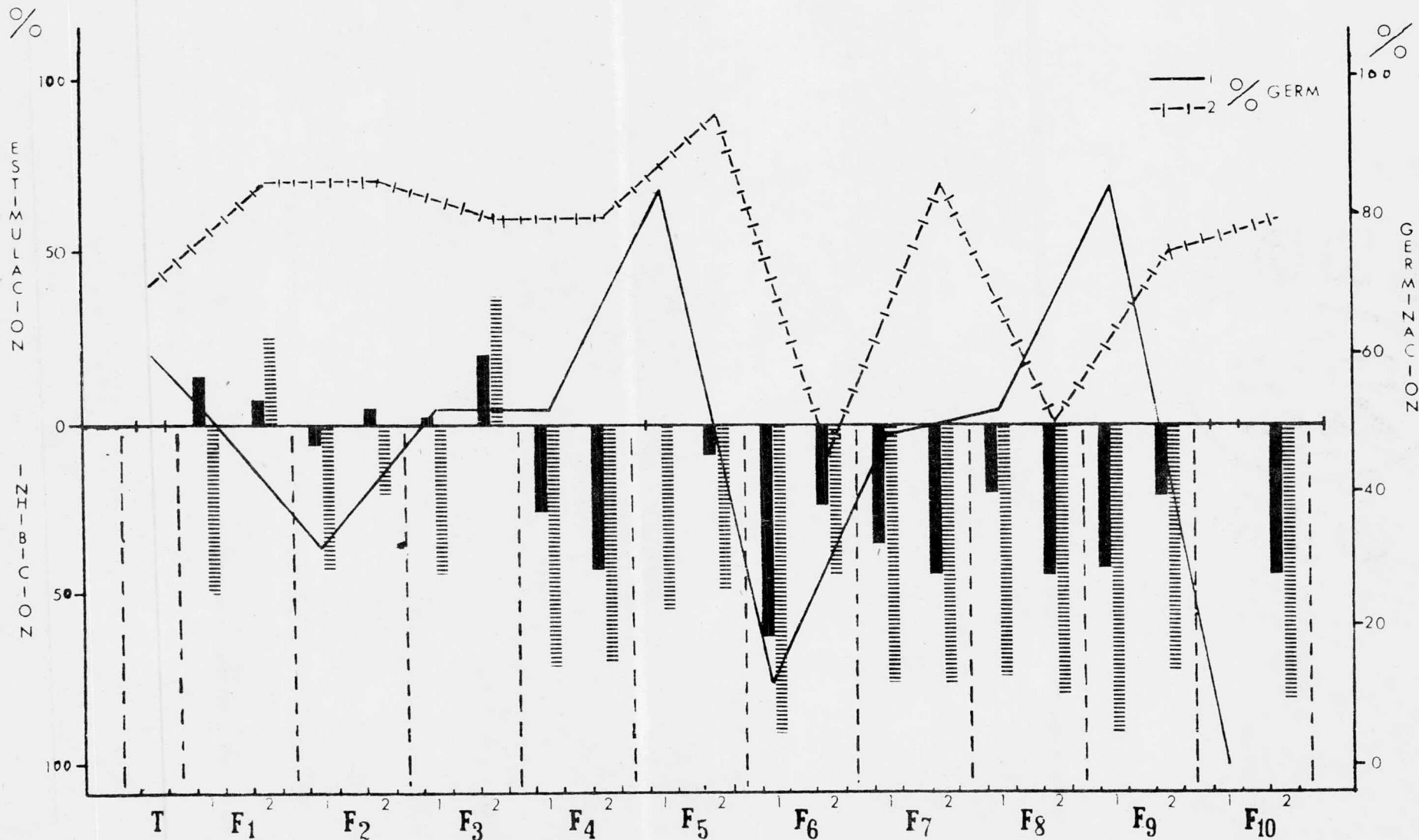


1 y 2 EXPERIMENTOS = 1 y 2

F = FRACCION T = TESTIGO

■ RAIZ
▨ TALLO

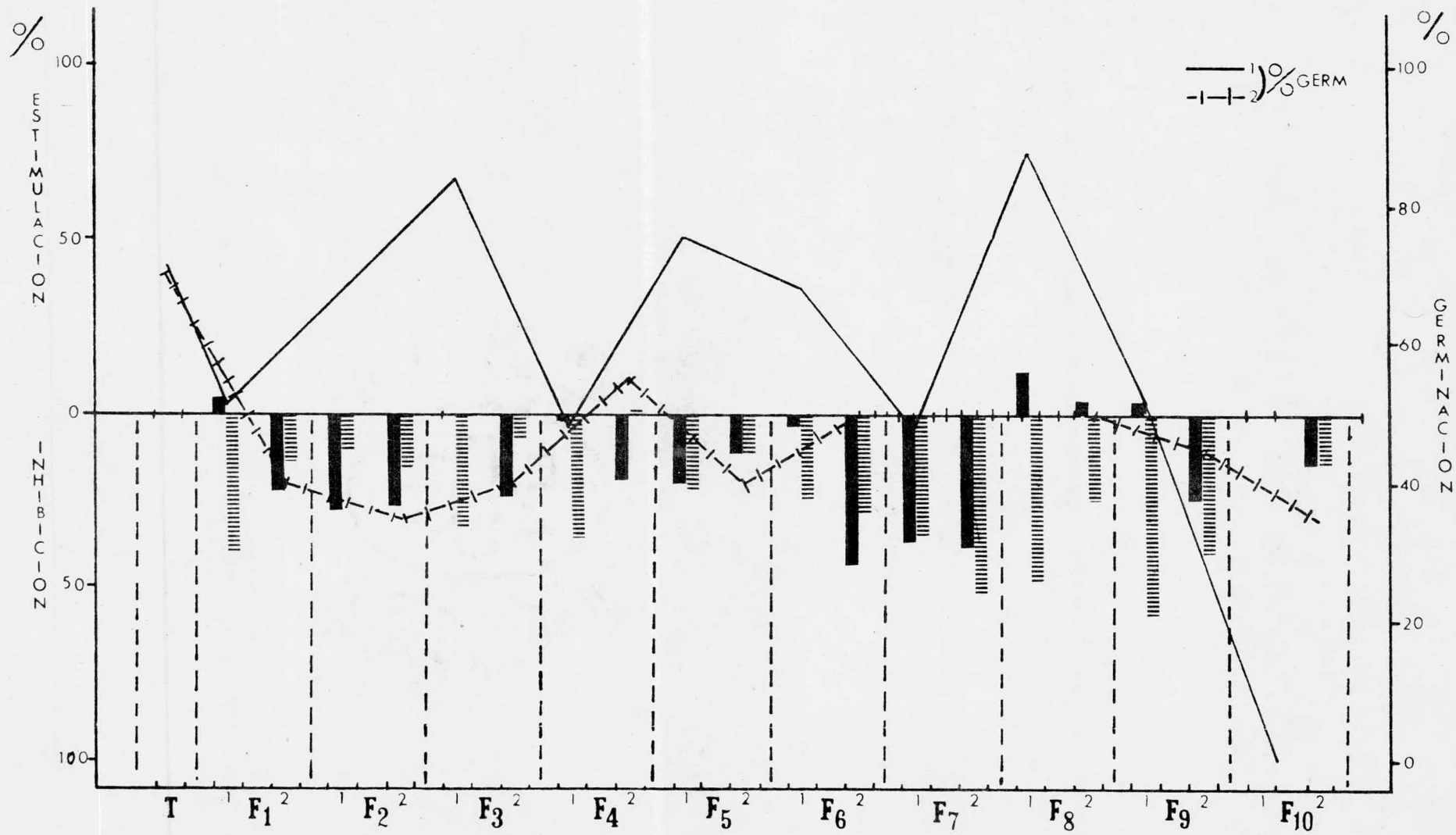
XIII Bidens pilosa FRACCIONES CROMATOGRATICAS



1 y 2 EXPERIMENTOS = 1 y 2 T=TESTIGO F= FRACCION

XIV *Heliocarpus donnell-smithii* FRACCIONES CROMATOGRÁFICAS

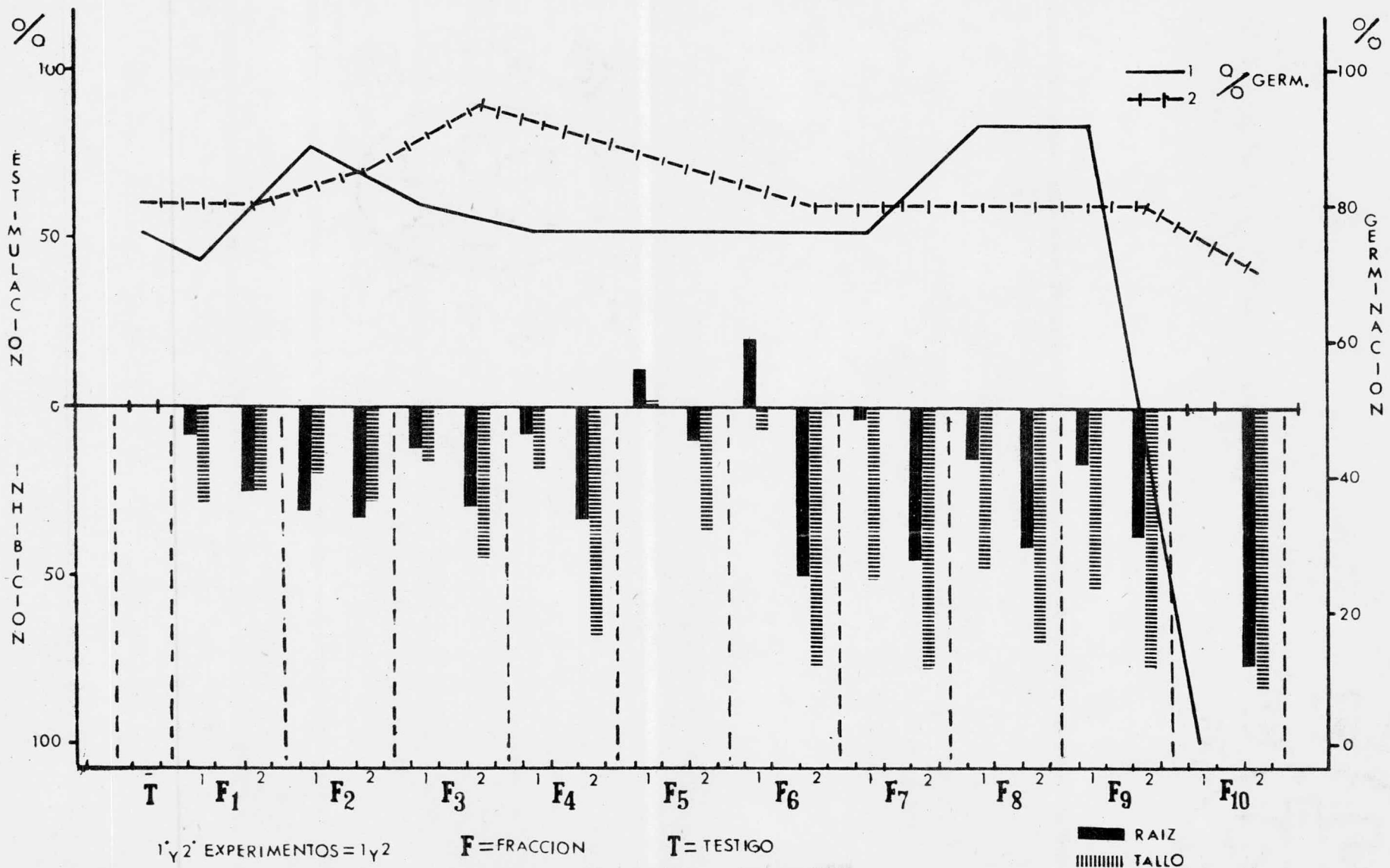
RAIZ
TALLO



1 y 2' EXPERIMENTOS = 1 y 2 F = FRACCION T = TESTIGO

XV Ochroma lagopus FRACCIONES CROMATOGRÁFICAS

■ RAIZ
 ||||| TALLO

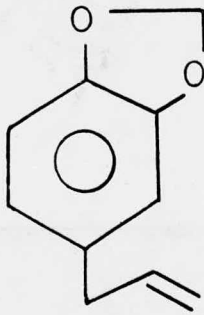


XVI Crusea calocephala FRACCIONES CROMATOGRÁFICAS

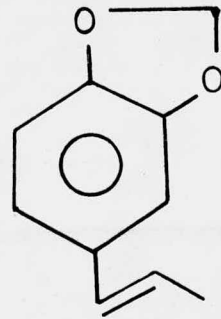
5.- Pruebas con el Safrol y compuestos Análogos.

Siendo el safrol el componente principal en el aceite esencial y habiéndose obtenido una cantidad apreciable del mismo, se pensó en realizar con el algunas pruebas biológicas, en base a los antecedentes existentes sobre su toxicidad sobre los tejidos vivos. Junto con el Safrol se probaron algunas sustancias análogas con el objeto de determinar a nivel molecular, el sitio de acción de estos compuestos. Las sustancias probadas fueron: - Safrol, Isosafrol, Eugenol, Iso-eugenol, Piperonal y Vainillina, - Fig. XVII, los resultados obtenidos se muestran en la Tabla XVIII y las Figuras XVIII y XIX. En ellas es posible apreciar en términos generales, que el iso-safrol, es más tóxico que el Safrol, aunque el primero estimuló significativamente el crecimiento de la raíz de Bidens pilosa. El eugenol e iso-eugenol producen efectos inhibitorios semejantes, pero son más tóxicos que el safrol e isosafrol y ninguno de los dos primeros produce estimulación. El piperonal, inhibe en mayor proporción que la vainillina el crecimiento de todas las especies. La vainillina en cambio, a 1 mg. de concentración estimuló la raíz de Mimosa y Ochroma y el tallo de Heliocarpus. Además todas las especies resistieron aunque muy inhibidas, la concentración más alta de vainillina.

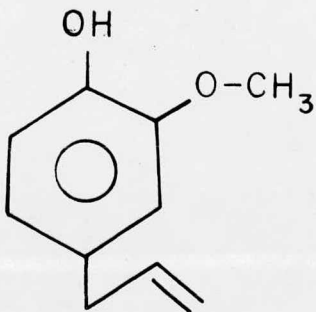
Figura XVII . Estructuras del Safrol y los isómeros utilizados.



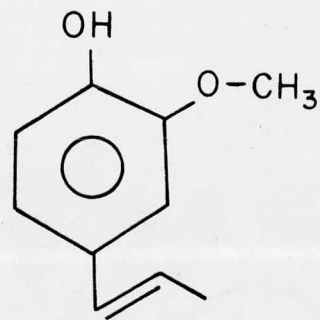
Safrol



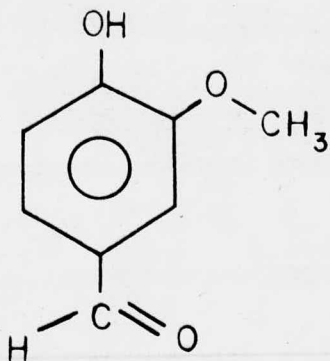
Isosafrol



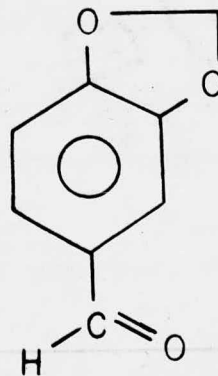
Eugenol



Isoeugenol



Vainillina



Piperonal

TABLA XVIII

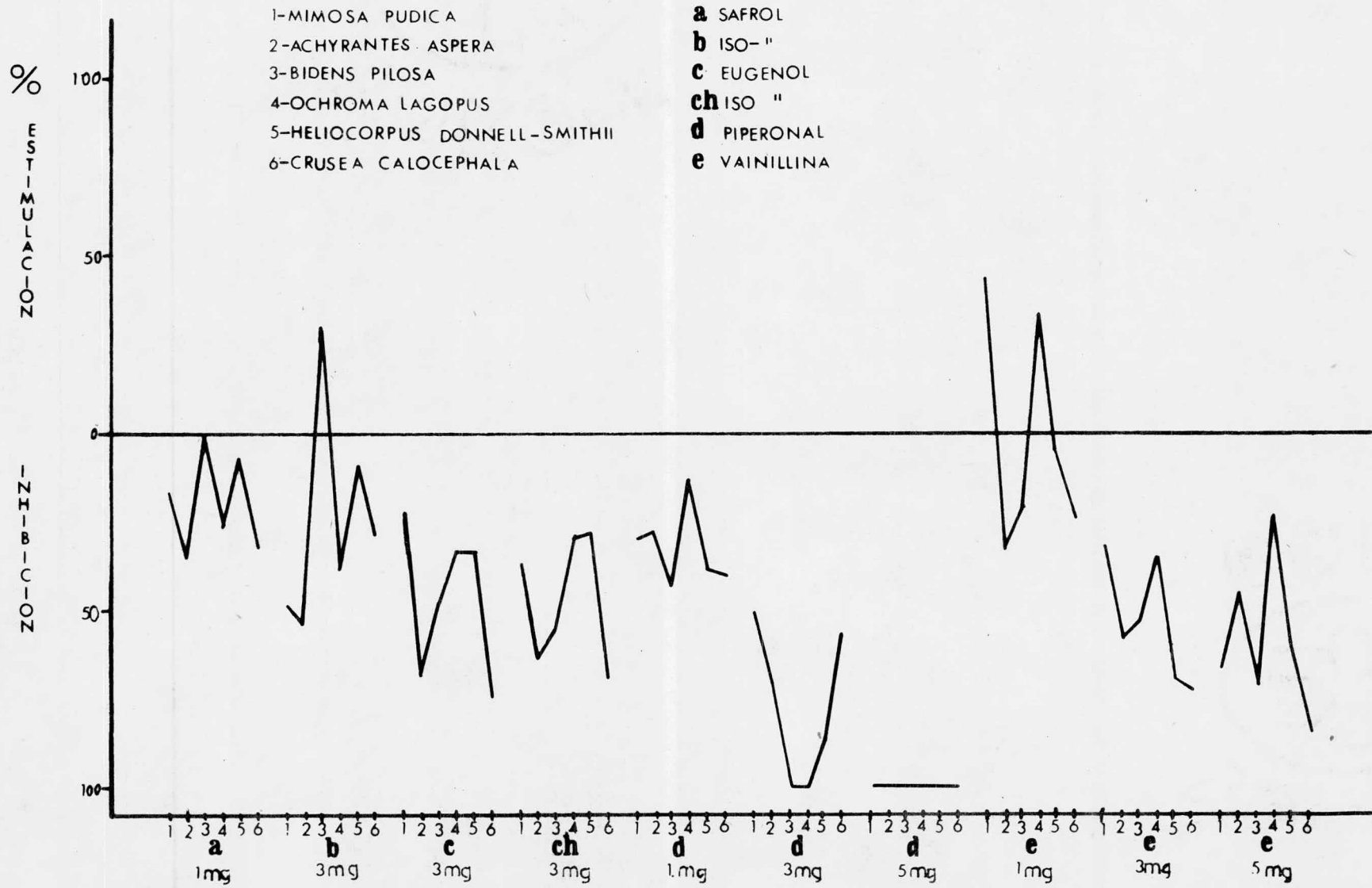
Porcentaje de inhibición de Raíz y Tallo en 6 especies con el Safrol y compuestos análogos

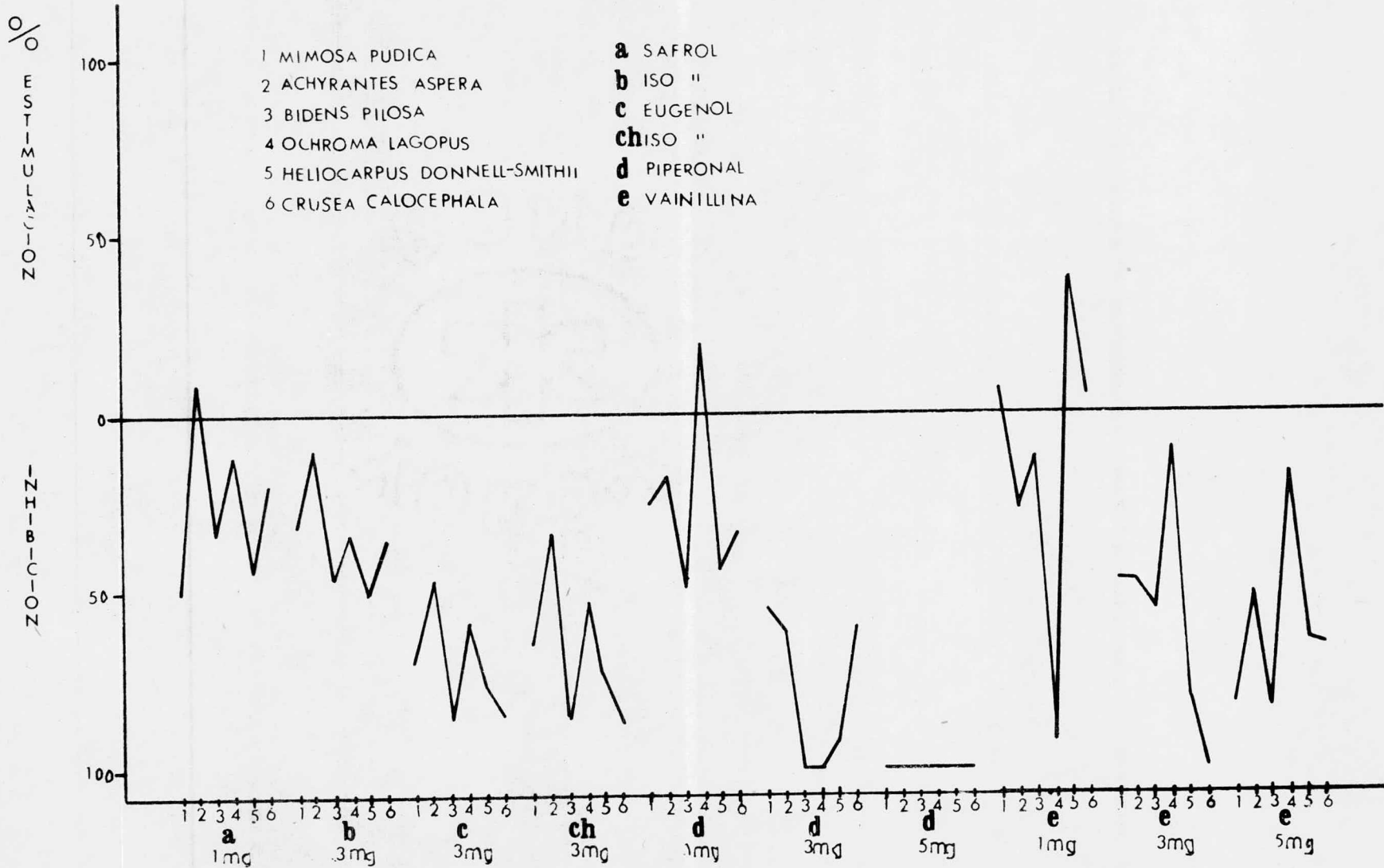
Tratamiento	Especie	Mimosa pudica		Achyranthes aspera		Bidens pilosa		Ochroma lagopus		Helicarpus donnell-smithii		Crusea calcephala	
		Raíz	Tallo	Raíz	Tallo	Raíz	Tallo	Raíz	Tallo	Raíz	Tallo	Raíz	Tallo
Safrol	3 mg.	16.89*	49.80**	35.65**	-8.56	0.52	33.24**	27.66**	11.60*	6.98	42.90**	31.19**	20.00*
Isosafrol	3 mg.	47.80**	31.18**	53.47**	10.67*	-30.44**	46.66**	39.27**	33.97**	8.56	51.71**	28.95**	35.94**
Eugenol	3 mg.	22.30**	66.35**	68.69**	47.56**	48.19**	86.41**	33.41**	59.24**	33.36**	77.52**	75.64**	85.34**
Isoeugenol	3 mg.	36.90**	64.86**	63.88**	33.40**	55.70**	86.52**	30.43**	52.84**	27.73**	72.72**	78.04**	86.14**
Piperonal	1 mg.	29.61**	24.73*	28.24**	16.07*	43.10**	49.92**	13.52*	-20.0	39.25**	43.70**	39.56**	33.09**
Piperonal	3 mg.	49.64**	55.46**	70.79**	61.81**	100**	100**	100**	100**	86.32**	93.16**	57.15**	59.82**
Piperonal	5 mg.	100**	100**	100**	100**	100**	100**	100**	100**	100**	100**	100**	100**
Vainillina	1 mg.	-42.80**	-6.68	34.28**	26.23*	21.18*	11.06*	-32.75**	91.72**	4.77	-38.21**	22.72*	-5.32
Vainillina	3 mg.	32.01**	47.00**	59.11**	47.55**	53.00**	55.93**	35.14**	10.00	70.29**	79.46**	72.91**	100**
Vainillina	5 mg.	66.93**	82.41**	45.28**	50.82**	72.00**	82.66**	24.33*	16.8*	61.54**	62.88**	84.75**	65.25**

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

Porcentaje De Inhibicion De Raiz





XIX Tallo

V.- CONCLUSIONES.

Los resultados obtenidos indican que:

- 1.- Primeramente se concluye que *Piper auritum* si es productor de alelopáticos sumamente efectivos.
- 2.- El mayor número de este tipo de compuestos, o al menos los más activos, se encuentran en el aceite esencial.
- 3.- La actividad de los alelopáticos obtenidos de *Piper auritum*, sobre las especies probadas, es totalmente diferente, siendo generalmente inhibidores del crecimiento y en algunos casos estimulantes, ya sea sobre el crecimiento de la raíz, del tallo o el porcentaje de germinación.
- 4.- El Safrol, compuesto identificado y en mayor concentración en el aceite esencial, presenta efectos alelopáticos específicos y selectivos sobre todas las especies probadas, así como el resto de las fracciones no identificadas.
- 5.- La diversidad de resultados obtenidos aún en las mismas especies sometidas a un mismo extracto, se debe posiblemente a una serie de factores como son la labilidad de los compuestos, factores ecológicos, factores genéticos, etc.

- 6.- Las pruebas con los compuestos con estructura modificada del safrol, no permiten establecer el sitio de acción inhibitoria a nivel molecular.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Alencar, R. et al. Oleos essenciais de plantas brasileiras. Acta Amazônica 1 2 41-43 (1971).
- 2.- Anaya, A.L. y Gómez-Pompa, A. Inhibición del crecimiento producida por el "Pirú" (*Schinus molle* L). Rev. de la Sociedad Mexicana de Hist. Natural. Tomo XXXII 99-109 - - (1971).
- 3.- Anaya, A.L. Estudio sobre el potencial alelopático de algunas plantas secundarias de una zona cálido-húmeda de México. Tesis Doctoral Fac. de Ciencias (Biología) UNAM- (1976).
- 4.- Collera, Z.O. Estudio del aceite esencial de Piper auritum Tesis. Esc. Nal. de Ciencias Químicas UNAM. México - (1956).
- 5.- Evenari, M. Germination Inhibitors. The Botanical Review. 15 3 153-199 (1949).
- 6.- Garb, S. Differential growth-inhibitors produced by plants. The Botanical Review. 27 422-443 (1961).
- 7.- Moral, R. del y Muller, C.H. A mechanisms of toxin - - transport from *Eucalyptus globulus*. Bull. Torrey. Bot. - - Club. 96 4 467-475 (1969).
- 8.- Moral, R. del y Muller, C.H. The allelopathic effects of *Eucalyptus camaldulensis*. The Amer. Midland. Natur. 83 1 254-282 (1970).
- 9.- Moreland, D.E. et al. Regulation of plant growth by constituents from higher plants. Natural pest. Control agents - 112-141 (1965).
- 10.- Muller, C.H. The role of chemical inhibition (allelopathy) in Vegetational Composition. Bull. Torrey Bot. Club. 93 5 332-351 (1966).
- 11.- Muller, C.H. y Moral, R. del Soil toxicity induced by terpenes from *Salvia leucophylla*. Bull Torr. Bot. Club. 93 2 130-137 (1966).

- 12.- Muller, C.H. Phytotoxins as plant habitat variables. Recent advances in Phytochemistry. 3 105-127 (1970).
- 13.- Odum, E. P. Ecología, 2da. Edición. Ed. Interamericana México (1969).
- 14.- Rice, E. L. Allelopathy. Academic Press, New York (1974)
- 15.- Robins, W.W. et al. Botany. John Wiley & Sons Inc. New York (1964).
- 16.- Rovalo, M.M. Detección de Inhibidores de la Germinación y el crecimiento en las hojas de *Piper hispidum*. Tesis Fac. de Ciencias (Biología) UNAM México (1973).
- 17.- Sondheimer, E. and Simeone, B. Chemical Ecology. Academic Press. New York (1970)
- 18.- Stallings, J.H. El Suelo, su uso y mejoramiento, 2da. Edición. Cía. Ed. Continental, S.A. México (1972).
- 19.- Tode, E.H. et al. Physiology of Seed Germination. U.S. - Department of Agricultura; Plant Industry Station, Beltsville Maryland (1970).
- 20.- Tukey, H.B. Implication of allelopathy in agricultural plant Science. The Botanical Review 35 1 1-16 (1969).
- 21.- Whittaker, R.H. and Feeny, P.P. Allelochemics: Chemical Interaction between species. Science 171 757-770 (1971).