

4
2j

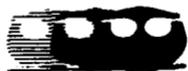


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"POTENCIAL ALELOPATICO DE *Ipomoea batatas*
(CONVOLVULACEAE): LAS RESINAS GLICOSIDICAS
COMO INHIBIDORES DEL CRECIMIENTO VEGETAL"

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A :
MARIA AURORA ALVA GARCIA



MEXICO, D. F.

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: DRA. RACHEL MATA ESSAYAG
VOCAL: DR. ROGELIO PEREDA-MIRANDA
SECRETARIO: M en C. PERLA CAROLINA CASTAÑEDA LOPEZ
1er. SUPLENTE: M en C. ADELINA JIMENEZ ARELLANES
2do. SUPLENTE: M en C. ALMA MIRIAM NOVELO TORRES

SITIO DONDE SE DESARROLLA EL TEMA:

LABORATORIO 123, DEPTO DE FARMACIA, CONJUNTO E FACULTAD DE QUIMICA Y EL LABORATORIO 206 DEL INSTITUTO DE FISIOLOGIA CELULAR, UNAM.

SUSTENTANTE:  MARIA AURORA ALVA GARCIA

ASESOR:  DR. ROGELIO PEREDA MIRANDA

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Rogelio Pereda Miranda mis más profundo agradecimiento por la oportunidad de haberme permitido lograr este trabajo, con la aportación de sus conocimientos, consejos, e ideas en fin por su valiosa dirección.

Al Dr. Kazumoto Miyahara, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University, Osaka Japón, por la muestra auténtica de la Simonina IV.

Al Dr. Tony Durst, Departamento de Química, Universidad de Ottawa, Canadá por las facilidades proporcionadas para el registro de los espectros de resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas.

A la Dra. Rachel Mata, a la Dra. Ana Luisa Anaya y a la M.C. Perla Castañeda, por el apoyo proporcionado, en la revisión del presente estudio.

A la Dra. Ana Luisa Anaya y a la Bióloga Blanca Hernández del Instituto de Fisiología Celular, quienes me permitieron realizar los ensayos biológicos relativos a la medida de los efectos sobre germinación de semillas y crecimiento radicular de los diferentes extractos de *Ipomoea batatas*.

DEDICATORIAS

A mis padres

Por el amor y apoyo incondicional que me han brindado siempre pero en especial en esta meta.

A Francisco y Claudia

Solo se me adelantaron un poco en el camino, pero aquí estoy.

A tía Marcela

Con todo el cariño y agradecimiento por lo que hemos compartido juntas.

A Moustapha por ser un amigo muy especial.

A todos mis compañeros del Laboratorio 123

A la Facultad de Química

INDICE

Lista de Cuadros	i
Lista de Figuras	iii
I. Introducción	1
1.- Antecedentes	1
1.1.- Generalidades sobre las especies de Ipomoea	1
1.1.1.- Las resinas glicosídicas del género Ipomoea	3
1.2.- Alelopatía	11
1.2.1.- Antecedentes de alelopatía en el género Ipomoea.	13
II. Objetivos	14
III. Parte experimental	15
1.- Material vegetal	15
2.- Técnicas fitoquímicas	16
2.1.- Métodos de extracción	16
2.2.- Análisis cromatográficos en capa fina	18
2.3.- Preparación de los extractos orgánicos totales.	19
2.3.1.- Análisis cromatográficos.	22
2.4.- Separación de los constituyentes del extracto clorofórmico No 1	23
3.- Evaluación del potencial Alelopático	24
3.1.- Procedimiento general del bioensayo de germinación semillas y crecimiento radicular.	24
3.1.1.- Bioensayo con los extractos hexánicos y clorofórmicos	25
3.1.2.- Bioensayo con los extractos metanólicos	25

3.2.- Procedimiento general de la bioautografía	27
3.3.- Procedimiento para el aislamiento y la purificación del agente alelopático mayoritario	30
3.4.- Caracterización del agente alelopático	31
3.5.- Evaluación del efecto alelopático de la Simonina IV.	32
IV.- Resultados y Discusión	33
4.1.- Ensayos biológicos preliminares	33
4.2.- Evaluación biológica secundaria de los extractos bioactivos.	50
4.3.- Aislamiento y caracterización del agente alelopático mayoritario de los constituyentes del extracto clorofórmico No 1.	57
V.- Conclusiones	65
VI - Apéndice	66
VII .- Bibliografía	72

Lista de Cuadros

Cuadro 1. Principales productos de la hidrólisis de las resinas glicosídicas de las convolvuláceas.

Cuadro 2. Sistemas de elución para la cromatografía en capa fina.

Cuadro 3. Efecto de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos de la variedad morada de *Ipomoea batatas* (material seco) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus*.

Cuadro 4. Efecto de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos de la variedad morada de *Ipomoea batatas* (material seco) sobre el crecimiento radicular de *Echinochloa crusgalli*.

Cuadro 5. Efecto de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos de la variedad amarilla de *Ipomoea batatas* (material seco) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus*.

Cuadro 6. Efecto de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos de la variedad amarilla de *Ipomoea batatas* (material seco) sobre el crecimiento radicular de *Echinochloa crusgalli*.

Cuadro 7. Efecto de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos de la variedad blanca de *Ipomoea batatas* (material seco) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus*.

Cuadro 8. Efecto de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos de la variedad blanca de *Ipomoea batatas* (material seco) sobre el crecimiento radicular de *Echinochloa crusgalli*.

Cuadro 9. Efecto de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos de la variedad roja de *Ipomoea batatas* (material seco) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus*.

Cuadro 10. Efecto de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos de la variedad roja de *Ipomoea batatas* (material seco) sobre el crecimiento radicular de *Echinochloa crusgalli*.

Cuadro 11. Efecto de los extractos orgánicos de los tubérculos de *Ipomoea batatas* (camote amarillo) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

Cuadro 12. Efecto de los extractos orgánicos de los tubérculos de *Ipomoea batatas* (camote blanco) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

Cuadro 13. Efecto de los extractos orgánicos de las partes aéreas de *Ipomoea batatas* (camote blanco) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

Cuadro 14. Efecto del agente alelopático mayoritario de *Ipomoea batatas* sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*

Lista de Figuras

Figura 1. Estructura de las resinas glicosídicas de *Exogonium purga* Benth. (*Ipomoea purga*) de acuerdo con Mannich y Shuman (1938).

Figura 2. Estructura de la tricolorina A, principal agente alelopático aislado de las resinas glicosídicas de *Ipomoea tricolor*.

Figura 3. Estructura de la simonina I aislada de *Ipomoea batatas* (cv. Simon).

Figura 4. Estructura de la simonina II aislada de *Ipomoea batatas* (cv. Simon).

Figura 5. Estructura de las simoninas III-V aisladas de *Ipomoea batatas* (cv. Simon).

Figura 6. Representación esquemática del Bioensayo en caja de Petri.

Figura 7. Procedimiento general para la bioautografía.

Figura 8. Efecto del lixiviado acuoso y los extractos orgánicos de *I. batatas* camote morado (parte aérea seca) sobre *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

Figura 9. Efecto del lixiviado acuoso y los extractos orgánicos de *I. batatas* camote morado (tubérculos secos) sobre *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

Figura 10. Efecto del lixiviado acuoso y los extractos orgánicos de *I. batatas* camote amarillo (parte aérea seca) sobre *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

Figura 11. Efecto del lixiviado acuoso y los extractos orgánicos de *I. batatas* camote amarillo (tubérculos secos) sobre *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

Figura 12. Efecto del lixiviado acuoso y los extractos orgánicos de *I. batatas* camote blanco (parte aérea seca) sobre *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

Figura 13. Efecto del lixiviado acuoso y los extractos orgánicos de *I. batatas* camote blanco (tubérculos secos) sobre *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

Figura 14. Efecto del lixiviado acuoso y los extractos orgánicos de *I. batatas* camote rojo (parte aérea seca) sobre *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

Figura 15. Efecto del lixiviado acuoso y los extractos orgánicos de *I. batatas* camote rojo (tubérculos secos) sobre *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

Figura 16. Efecto del lixiviado del material seco y extractos orgánicos de los tubérculos de *I. batatas* (camote amarillo) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

Figura 17. Efecto del lixiviado del material seco y extractos orgánicos de las partes aéreas de *I. batatas* (camote blanco) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

Figura 18. Efecto del lixiviado del material seco y extractos orgánicos de los tubérculos de *I. batatas* (camote blanco) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

Figura 19. Evaluación biológica del agente alelopático mayoritario (simonina IV) sobre el crecimiento radicular de las semillas de *Amaranthus hypochondriacus*.

Figura 20. Evaluación biológica del agente alelopático mayoritario (simonina IV) sobre el crecimiento radicular de las semillas de *Echinochloa crusgalli*.

Figura 21. Efecto de la simonina IV sobre el crecimiento radicular de las semillas de *Amaranthus hypochondriacus*.

Figura 22. Efecto de la simonina IV sobre el crecimiento radicular de las semillas de *Echinochloa crusgalli*.

I. INTRODUCCION

1.- ANTECEDENTES.

1.1.- Generalidades sobre las especies de *Ipomoea*

De acuerdo con la clasificación de Hegnauer (1964), la familia Convolvulaceae se divide en dos subfamilias, Cuscutioideae y Convolvuloideae. Siete tribus pertenecen a la subfamilia Convolvuloideae y de éstas la Ipomoeae y la Convolvuleae incluyen a los géneros más numerosos e importantes desde el punto de vista económico-medicinal. Dentro de las Convolvulaceae, existen aproximadamente 1100 especies agrupadas en 53 géneros.

El nombre de la familia se deriva del latín *convolvere* que significa entrelazarse y se refiere, en términos generales, a la forma de crecimiento ya que un gran número de estas plantas son volubles; es decir, enredaderas que trepan por un soporte enroscándose a él (Grieve, 1982).

Uno de los rasgos anatómicos más sobresalientes de las convolvulaceas es la presencia de hileras de células secretoras de resinas glicosídicas en los tejidos foliares y, en especial, en las raíces. Estas resinas glicosídicas constituyen una de las características quimiotaconómicas de esta familia y el empleo en la medicina tradicional de algunos géneros (e.g. *Convolvulus*, *Exogonium*, *Ipomoea*, *Merremia* y *Operculina*) se asocia con las propiedades laxantes de sus resinas. Su uso medicinal se encuentra ampliamente difundido en todo el mundo e incluso figura de manera oficial en numerosas farmacopeas (Millspauhg, 1974).

De la gran riqueza florística mexicana, el género *Ipomoea* constituye un grupo de plantas económicamente importantes para la vida cotidiana de nuestro pueblo y su uso es muy antiguo. Algunas especies han sido utilizadas desde

épocas prehispánicas con fines medicinales, e.g., el "tolómpatl" de los aztecas (Martínez, 1979) es un potente catártico que se obtiene de los tubérculos desecados de *Ipomoea purga* (Wender) Hayne; las semillas del "titlitzin" se utilizaron en los rituales religiosos adivinatorios debido a sus propiedades analgésicas y alucinógenas provenientes de su contenido en alcaloides(Schultes, 1976). Estas semillas usadas como narcótico por los antiguos aztecas pertenecen a la especie *Ipomoea tricolor* Cav. (*Ipomoea violacea* L), que en la actualidad son utilizadas por los indios zapotecas y chatines del estado de Oaxaca, donde se le conoce como badoh negro, o en zapoteco como "badungas" (Martínez, 1979, Shultes, 1976, Shultes y Hofman, 1979). Algunas variedades de *Ipomoea batatas* (L) Lam. deben su importancia económica a las propiedades alimenticias de sus tubérculos, conocidos en la culinaria nacional como camotes. Se supone que esta especie derivó de *Ipomoea tiliacea* (Willd) Choisy, como resultado del cultivo y la selección que de ellas hicieron los pueblos aborígenes de América (Roig y Mesa, 1974).

En diversas regiones del mundo, también son de uso común en la medicina popular las resinas obtenidas de las raíces y partes aéreas de numerosas especies del género *Ipomoea* que se utilizan como catárticos(Alzugaray y Alzugaray, 1984; Díaz, 1977; Millsbaugh; 1974; Roig y Mesa; 1974; Wagner, 1973).

1.1.1.- Las resinas glicosídicas del género *Ipomoea*

Un grupo distintivo de glicolípidos de estructura compleja se encuentra ampliamente distribuido en las especies pertenecientes a la familia de las convolvuláceas (Wagner, 1973). La Figura 1 ilustra la primera propuesta estructural para las resinas glicosídicas de *Ipomoea purga* de acuerdo con los estudios químicos de Mannich y Shumann (1938). Se han utilizado dos procedimientos para establecer la existencia de las resinas glicosídicas en esta familia: (1) por medio del uso generalizado de numerosas especies como purgantes en la medicina tradicional ya que la mayoría de las resinas poseen un fuerte efecto laxante; y (2) mediante el aislamiento de las resinas y la identificación de sus productos de hidrólisis. La complejidad en la composición de las resinas ha dificultado la purificación de los constituyentes individuales y, por lo tanto, su completa caracterización. Sin embargo, estos glicolípidos presentan rasgos estructurales que los unifican; cuando se someten a hidrólisis alcalinas, estos compuestos liberan ácidos alifáticos volátiles de cadena corta. Al mismo tiempo, se forma un ácido glicosídico, el cual se hidroliza en condiciones ácidas para generar un ácido graso hidroxilado, correspondiente a la porción de la aglicona, y varios azúcares.

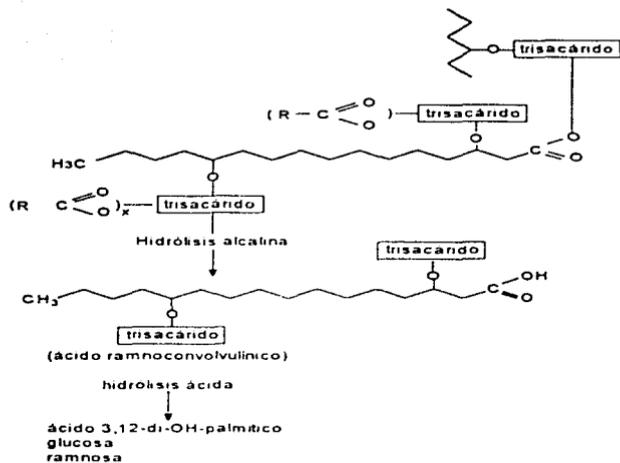


Figura 1. Estructura de las resinas glicosídicas de *Exogonium purga* Benth. (*Ipomoea purga*) de acuerdo con Mannich & Shumann (1938).

De acuerdo con este comportamiento observado en soluciones ácidas y alcalinas, se propuso una estructura general para todas las resinas glicosídicas de las convulváceas, la cual representaba un polímero con un peso molecular entre 500 y 10,000 unidades de masa atómica de una unidad liposacárida, la cual correspondía al ácido glicosídico liberado por la acción de una base (Wagner, 1973). Los azúcares en estos complejos se encuentran en forma de di, tri, tetra, penta y hexasacáridos de un ácido graso hidroxilado, este núcleo liposacárido

representaría la unidad monomérica que se obtiene como producto de la saponificación del crudo resinoso total y la cual se encuentra parcialmente acilada por diferentes ácidos volátiles. Los nombres comunes con que se designan a las agliconas (ácidos grasos hidroxilados) de estos liposacáridos se han derivado del género o de la especie de la cual se han obtenido (Wagner, 1973) En el Cuadro 1 se enumeran los azúcares y los ácidos grasos que constituyen el núcleo oligosacárido de las resinas glicosídicas de las convolvuláceas.

Cuadro 1. Principales productos de la hidrólisis ácida de las resinas glicosídicas de las convolvuláceas.

Ácidos volátiles	Ácidos grasos hidroxilados	Azúcares
Ácido acético	7-OH-C ₁₀	D-glucosa
Ácido propiónico	11-OH-C ₁₄ (ácido convolvulínico)	L-ramnosa
Ácido isobutírico	11-OH-C ₁₀ (ácido jalapínico)	D-fucosa
Ácido 2-metilbutanoico	3,12-di-OH-C ₁₆ (ácido operculínico)	D-quinovosa
Ácido 3-hidro-2-metilbutanoico	3,11-di-OH-C ₁₄ (ácido ipurónico)	6-deoxigulosa
Ácido tiglico	tri-OH-C ₁₄ (ácido brasílicico)	
Ácido capríco		
Ácido decanoico		
Ácido dodecanoico		
Ácido exoigónico		

La complejidad de las resinas glicosídicas de las convolvuláceas y su alto peso molecular constituyen factores que han dificultado, y en la mayoría de los casos, impedido el aislamiento de sus constituyentes individuales. Los productos de la hidrólisis alcalina de las resinas, es decir los ácidos glicosídicos y los ácidos

volátiles, han constituido la única información utilizada por los farmacognostas para fines de identificación y clasificación de las especies medicinales utilizadas como materias primas para la preparación de las resinas laxantes.

Las resinas glicosídicas se han agrupado en dos categorías de acuerdo con su solubilidad; aquellas solubles en éter y conocidas como la jalapina y la porción del crudo resinoso insoluble en este disolvente o convolvulina (Trease y Evans, 1987; Ono *et al.*, 1989). A partir de las investigaciones conducidas por Kawasaki y Miyahara, al fin de la década pasada (Noda *et al.*, 1987; 1988; 1992, *inter alia*), se demostró que los constituyentes individuales de las resinas del género *Ipomoea* representan monómeros de un glicolípido cuya aglicona corresponde al ácido jalapínico, 11-(S)- hidroxihexadecanoico. El núcleo oligosacárido se combina con el grupo carboxilo de la aglicona para establecer un éster macrocíclico intramolecular y, en la mayoría de los casos, la porción sacárida se encuentra parcialmente acilada por ácidos alifáticos de cadena corta. La tricolorina A (Figura. 2), principal agente alelopático aislado de las resinas glicosídicas de *Ipomoea tricolor*, constituye un ejemplo de las características estructurales generales encontradas en todos los oligosacáridos macrocíclicos aislados a partir de las glicoresinas de la familia de las convolvuláceas.

El núcleo liposacárido de la tricolorina A se caracterizó como el 11-O- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 3)-O- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)-O- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D- fucopiranosido del ácido jalapínico. El éster macrocíclico se establece entre el carboxilo de la aglicona y el grupo hidroxilo de la posición C-3 en la tercera unidad del tetrasacárido. Las posiciones C-2 y C-4 de la segunda unidad del núcleo oligosacárido se encuentran esterificados por el ácido metil butírico (Pereda-Miranda *et al.*, 1993).

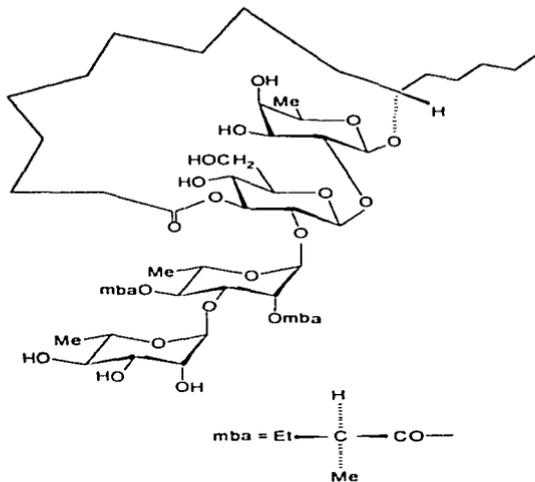


Figura 2. Estructura de la tricolorina A, principal agente alelopático aislado de las resinas glicosídicas de *Ipomoea tncolor*.

De las raíces de *I. batatas* (L.) Lam. cv. Simon se han aislado cinco resinas glicosídicas de la porción soluble en éter, las simoninas I-V (Noda *et al.*, 1992). La simonina I constituye el primer ejemplo de una jalapina sustituida con el ácido *trans*-cinámico, como uno de los componentes de la fracción orgánica ácida que esterifica el núcleo oligosacárido (Figura. 3). Este constituyente se caracterizó como el 11-O-(2-O-*trans*-cinamoil)-[(4-O-*n*-decanoil)]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-

O-(2-O-*n*-decanol)- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-O- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido jalapínico (1,2"-lactona).

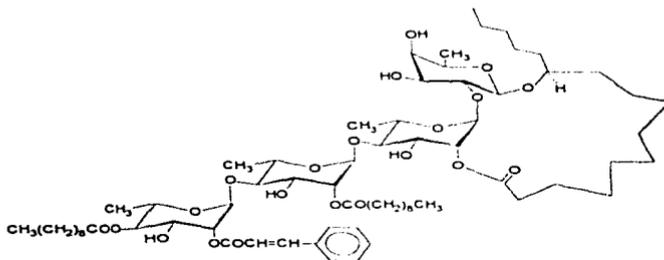


Figura 3. Estructura de la simonina I aislada de *Ipomoea batatas* (cv. Simon).

La hidrólisis alcalina de la simonina II (Figura. 4) permitió identificar los ácidos 2- metilbutanoico, dodecanoico y un nuevo ácido glicosídico, denominado ácido simónico A y cuya estructura se estableció como el 11-O- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 3)-O-(α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4))-O- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-O- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosido del ácido jalapínico.

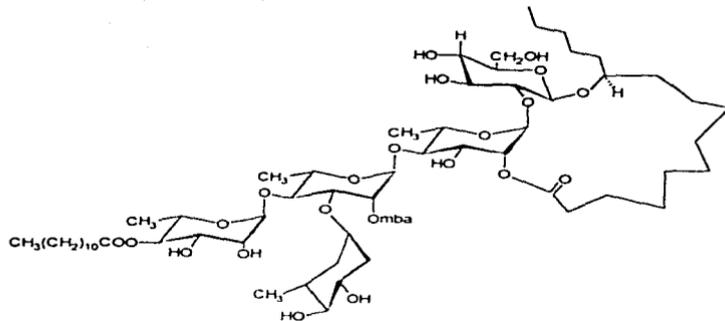
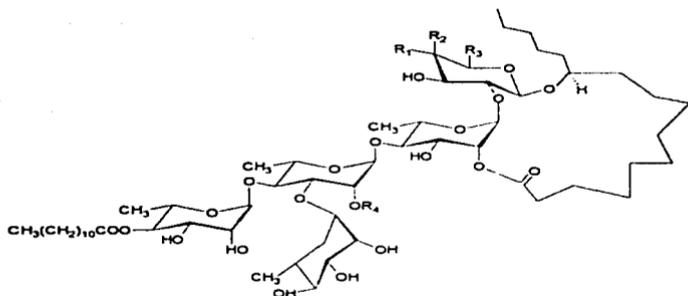


Figura 4. Estructura de la simonina II aislada de *Ipomoea batatas* (cv. Simon).

Las simoninas III-V (Figura. 5) comparten el mismo núcleo liposacárido, el cual se denominó con el nombre de ácido simónico B y cuya estructura se caracterizó como el 3"-O- α -L-ramnopiranosido del ácido operculínico C (Noda et al., 1992 b).



Simonina III: R₁ = H, R₂ = OH, R₃ = CH₃, R₄ = mba
 Simonina IV: R₁ = H, R₂ = OH, R₃ = CH₃, R₄ = deca
 Simonina V: R₁ = H, R₂ = OH, R₃ = CH₃, R₄ = octa

Figura 5. Estructura de la simonina III-V aisladas de *Ipomoea batatas* (cv. Simon).

1.2.- Alelopatía

La competencia constituye una de las interacciones planta-planta más importantes que involucra la lucha por el espacio, el agua, la luz y los nutrimentos del suelo, entre otros recursos. Existe otro tipo de interacción llamada alelopatía, término que fue propuesto por Molisch (1937), para referirse al efecto dañino o benéfico que una planta tiene sobre otra, por medio de la liberación al medio de diversas sustancias químicas (Datta y Sinha, 1974)

Rice (1979) también define a la alelopatía, como cualquier efecto benéfico o perjudicial de una planta sobre otra (incluyendo microorganismos), por medio de la producción de compuestos químicos liberados al ambiente.

Los compuestos químicos implicados en la alelopatía son fundamentalmente metabolitos secundarios denominados como alelopáticos. Rice (1984) clasificó estos compuestos dentro de quince categorías, entre las cuales se incluye a los ácidos fenólicos, las quinonas, los terpenos, los esteroides, las cumarinas y los ácidos grasos alifáticos de cadena larga.

En algunos casos los compuestos secundarios son tóxicos para las plantas que los producen, por lo que se han desarrollado diversas estrategias para mantenerlos alejados de las zonas donde se efectúan reacciones de importancia metabólica: son almacenados en vacuolas, son depositados en células muertas, en espacios intercelulares, en los pelos glandulares de la superficie de muchas plantas o, simplemente, son descargados al exterior (Anaya, 1981).

De acuerdo con Tukey (1969) la liberación de los compuestos alelopáticos al medio ocurre mediante algunos de los siguientes fenómenos:

- a) Volatilización a través de las hojas (como los aceites esenciales);
- b) Lixiviación o lavado de las partes aéreas de la planta por la lluvia, la niebla y el rocío (como los fenoles);

c) Exudación a través de las raíces (como las hidroquinonas de las especies de *Sorghum*);

d) Liberación de los compuestos de los restos orgánicos (hojarasca) por medio de lixiviación o por la descomposición microbiana de los mismos.

Los compuestos alelopáticos de la planta donadora pueden interferir con los procesos metabólicos primarios de la planta receptora. La actividad biológica de estos compuestos va a depender de la naturaleza química, de su concentración, de la sensibilidad de la planta receptora, del proceso metabólico implicado y de las condiciones ambientales (Putnam y Tang, 1986).

La interferencia con los procesos metabólicos es diversa, lo que implica una gran variedad de modos de acción de los alelopáticos. Cuando el efecto de un alelopático producido por una planta se manifiesta, por ejemplo, por una inhibición del crecimiento radicular, esto significa que el compuesto secundario, está afectando de manera específica alguno o varios de los procesos celulares, por ejemplo: el funcionamiento de las mitocondrias (respiración), los cloroplastos (fotosíntesis), los meristemos primarios y secundarios (división y elongación celular), las propiedades de las membranas, la cinética enzimática, la síntesis de proteínas, la estructura cromosómica, etc.

En muchos de los estudios de alelopatía, se ha comprobado que algunos alelopáticos que inhiben el crecimiento de diversas especies a ciertas concentraciones, pueden estimular el crecimiento de las mismas u otras especies, a concentraciones más bajas. Es muy probable que en la mayor parte de los casos en que se produce un efecto alelopático de una planta sobre otro organismo, en dicho efecto se encuentra implicado, no sólo un compuesto sino una mezcla de ellos.

1.2.1.- Antecedentes de Alelopatía en el género *Ipomoea*

En estudios previos se han reportado dos especies con actividad alelopática: *Ipomoea aquatica* Forsk e *Ipomoea batatas* L (Singhvi y Sharma, 1984, Howard y Peterson, 1986). De la primera, se aislaron diversas sustancias de naturaleza terpenoide y fenolica, las cuales afectaron el crecimiento de *Pennisetum typhoideum*. De *Ipomoea batatas* también se han aislado compuestos responsables de la inhibición del crecimiento de diferentes especies de semillas como *Panicum miliaceum*, *Abutilon theophrasti* y *Amaranthus retroflexus*, (Peterson y Harrison, 1991)

Varias especies de *Ipomoea* se utilizan en las zonas tropicales de México, ya sea en policultivo, o como cultivos de cobertura, al igual que varias especies de leguminosas, entre éstas la mas conocida es *Stizolobium deerengianum* ("nescafé"), que tienen propiedades alelopáticas y, por ello, logran interferir con otras arvenses con mucho éxito, inhibiendo su crecimiento y cubriendo los terrenos, en ocasiones con una dominancia absoluta (Anaya et al , 1990)

Ipomoea batatas (L.) Lam conocida popularmente como camote (blanco, rojo y morado), se ha utilizado de manera eficaz para el control de las malezas en un sistema de policultivo, debido a la cobertura que ejercio sobre el terreno en el Valle de Uxpanapa, Veracruz (Caamal, 1985). En los cañaverales del estado de Morelos, es común observar a la especie *Ipomoea tncolor* creciendo en forma abundante y extensa. En esta región, su uso práctico como planta controladora de malezas, es semejante al de otras especies del género *Ipomoea* y de algunas leguminosas (e.g. *Canavalia ensiformis* y *Stizolobium deerengianum*).

II. Objetivos

1.- Determinar el potencial alelopático de cuatro variedades de *Ipomoea batatas* sobre el crecimiento radicular de dos especies de semillas: *Amaranthus hypochondriacus* (L.) (Amarantaceae) y *Echinochloa crusgalli* L. Beauv. (Poaceae).

2.- Identificar a las resinas glicosídicas como los constituyentes bioactivos responsables de la actividad alelopática atribuida a las diferentes variedades de *I. batatas*.

III. Parte experimental

1.- Parte experimental

Las diferentes variedades de *Ipomoea batatas* utilizadas para la evaluación del potencial alelopático de esta especie se recolectaron en las siguientes localidades del estado de Guanajuato:

Variedad (Nombre común)	Follaje (Peso Kg)	Tubérculo (Peso Kg)	Localidad, Municipio
Camote morado	2.8	1.4	Sta. Rita, Maravatio
Camote amarillo	1.0	1.2	Sn. Nicolás, Salvatierra
Camote blanco	3.0	2.0	Sta. Rita, Maravatio
Camote rojo	1.2	2.6	Sn. Nicolás, Salvatierra

Una muestra de referencia (voucher: FB312, camote morado, FB1313, camote amarillo; FB1314, camote blanco; FB1315, camote rojo) se depositó en la colección etnobotánica del Herbario Nacional (MEXU) del Instituto de Biología, UNAM.

El material vegetal utilizado para el estudio del potencial alelopático incluyó los tubérculos y las partes aéreas de cada una de las variedades seleccionadas. El material se secó a temperatura ambiente, posteriormente, se cortó en trozos pequeños y se pulverizó en un molino de cuchilla modelo T. Willey.

2.- Técnicas fitoquímicas

2.1.- Métodos de extracción

Para la realización de los ensayos biológicos, se realizó el desgrase del material vegetal mediante un proceso de maceración con hexano. Se empleó un volumen de 1.5 l de disolvente para los tubérculos y 900 ml para las partes aéreas. Se realizaron tres extracciones, cada una por un periodo de 48 horas. Al término de éstas, se filtró y concentró al vacío obteniéndose los siguientes rendimientos:

Variedad	Tubérculos (g)	Parte aérea (g)
Camote morado	0.1318	0.2647
Camote amarillo	0.2445	0.9157
Camote blanco	0.3176	0.2183
Camote rojo	0.2773	1.2163

Posteriormente, el material vegetal se sometió a tres extracciones sucesivas con cloroformo empleando un total de 7.5 l de disolvente para los tubérculos y 2.7 l para las partes aéreas. La evaporación del disolvente proporcionó los siguientes rendimientos:

Variedad	Tubérculo (g)	Parte aérea (g)
Camote morado	0.2301	0.6514
Camote amarillo	0.2502	0.8821
Camote blanco	0.1603	0.4803
Camote rojo	0.1705	0.5907

Por último, el residuo vegetal se extrajo cuatro veces con metanol, empleando un volumen total de 2 l de disolvente para los tubérculos y 1.2 l para las partes aéreas. Cada extracción se realizó por un periodo de 48 horas. Finalmente, se filtró y concentró al vacío, obteniéndose los siguientes extractos:

Variedad	Tubérculo (g)	Parte aérea (g)
Camote morado	3.8358	2.9845
Camote blanco	8.9612	5.3871
Camote rojo	0.3339	4.0460
Camote amarillo	2.5356	2.7975

2.2.- Análisis cromatográficos en capa fina

Los extractos orgánicos (hexánicos, clorofórmicos y metanólicos) de las diferentes variedades, se analizaron mediante una cromatografía en capa delgada, comparándose con una muestra auténtica de simonina IV, constituyente previamente aislado de las raíces de *Ipomoea batatas* (L) Lam. C.V. Simon (Noda *et al.*, 1992).

Los análisis cromatográficos en capa fina se efectuaron siguiendo las técnicas convencionales (Touchstone y Dobbins, 1983). Se utilizaron placas de vidrio recubiertas con gel de sílice (silica gel 60 F₂₅₄, Merck) previamente desactivadas, empleando diversos sistemas de elución (Cuadro 1). Se utilizó una mezcla de sulfato cérico y ácido sulfúrico (12 g de sulfato cérico, 22.2 ml de H₂SO₄ conc y 350 mg de hielo picado) como agente cromogéno para la visualización de los constituyentes presentes en los extractos.

Cuadro 2.- Sistemas de elución para la cromatografía en capa fina.

Extracto	Composición	Proporción
Hexánico	CHCl ₃ -MeOH	8.5:1.5
Clorofórmico	CHCl ₃ -MeOH	8:2
Metanólico	CHCl ₃ -MeOH	9:1

Para la desactivación del soporte cromatográfico, se preparó una solución acuosa de H_3BO_3 (0.036 N). Esta solución se aplicó a cada una de las placas mediante un rociado homogéneo. Posteriormente, se evaporó el exceso de humedad en una estufa a una temperatura de 70-90 °C por 10 minutos aproximadamente.

2.3.- Preparación de los extractos orgánicos totales

Las variedades de *I. batatas* seleccionadas para preparar los extractos totales fueron el camote amarillo: tubérculos (No.1) y el camote blanco: partes aéreas (No.2) y tubérculos (No.3). El Diagrama 1 ilustra la secuencia utilizada para la obtención de estos extractos.

Se realizó el desgrase del material vegetal mediante un proceso de maceración con hexano. La evaporación del disolvente proporcionó los siguientes extractos:

Muestra	Material vegetal molido (g)	Hexano (l)	Extracto (g)	Apariencia
No 1	1.1	10	3.2424	Resina color marrón
No 2	2.9	20	4.3598	Resina verde oscuro
No 3	1.9	15	12.5622	Resina color ámbar

Posteriormente, el material vegetal se sometió a cuatro extracciones con metanol. La solución resultante se filtró y se obtuvieron tres extractos correspondientes a cada muestra. Estos se fraccionaron mediante un proceso de partición con una mezcla de CHCl_3 -MeOH (7:3), a la cual se le adicionó agua hasta la formación de dos fases. La fase de mayor densidad (clorofórmica) se concentró al vacío, esta operación proporcionó los siguientes rendimientos.

Muestra No	Extracto (g)	Apariencia
No 1	13.9505	Residuo resinoso amarillo
No 2	22.3894	Residuo verde resinoso
No 3	0.4570	Residuo ambar resinoso

Con la fase de menor densidad (acuosa), se realizaron dos extracciones con n-butanol, y así, se obtuvieron tres extractos orgánicos correspondientes a las muestras No 1, 2 y 3 (extractos butanólicos).

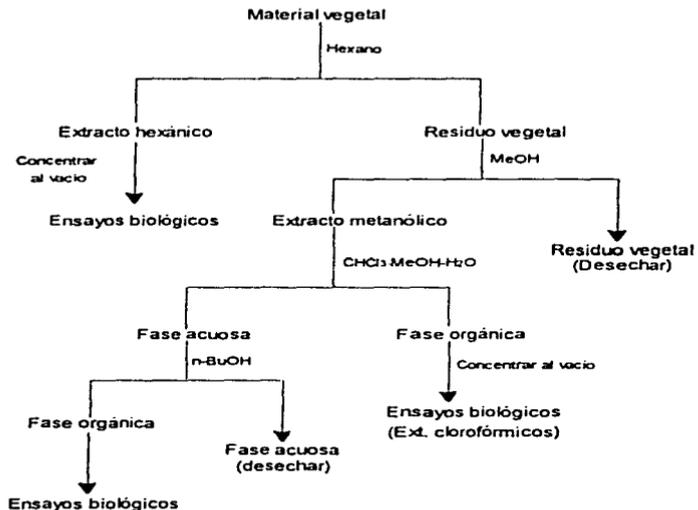


Diagrama 1. Secuencia utilizada para la obtención de los extractos orgánicos totales

2.3.1.- Análisis cromatográficos

Los análisis cromatográficos en capa fina se efectuaron siguiendo las técnicas convencionales mencionadas anteriormente para la evaluación de los extractos clorofórmicos, hexánicos y butanólicos (ver sección 2.2). Se empleó como agente revelador una solución de sulfato cérico-ácido sulfúrico y los siguientes sistemas de elución:

Extractos	Sistemas de elución	Proporción
Hexánicos	CHCl ₃ -MeOH	8:2
	CHCl ₃ -MeOH	9:1
Clorofórmicos	CHCl ₃ -MeOH	9:2
	CHCl ₃ -MeOH	8:2
Butanólicos	CHCl ₃ -MeOH-H ₂ O	7:3:1

Las placas fueron desactivadas previamente, y en todos los casos, para el desarrollo de la coloración, fue necesario calentar durante dos minutos a 110° C aproximadamente.

De los extractos No. 1, 2 y 3, tanto clorofórmicos como hexánicos, se realizaron análisis mediante cromatografía en capa fina, utilizando placas de gel de sílice (gel de sílice 60 F₂₅₄, Merck; 5 x 20 cm, de 0.25 mm de espesor). Se aplicaron 15 mg del extracto de prueba en cada una de ellas y las cromatografías se desarrollaron en los siguientes sistemas de elución:

Extracto	Sistema de elución	Proporción
Clorofórmicos	CHCl ₃ -MeOH	8.5:1.5
Hexánicos	CHCl ₃ -MeOH	8:2

2.4.- Separación de los constituyentes del extracto clorofórmico No 1

A) Preparación del cromatograma de referencia.

El extracto de prueba (15 mg) se aplicó a una placa de vidrio recubierta de gel de sílice (sílica gel 60 F₂₅₄, Merck; 5 x 20 cm, 0.25 mm de espesor) y, posteriormente, se eluyó en el sistema de elución CHCl₃-MeOH (8.5:1.5). La placa se reveló con sulfato cérico-ácido sulfúrico, con el objeto de visualizar cada uno de los constituyentes presentes y proceder a la determinación del R_f de los constituyentes mayoritarios. Estos fueron seleccionados como referencias para la comparación con las bandas presentes en las cromatoplasmas de prueba utilizadas en las bioautografías.

B) Preparación de la muestra

El extracto clorofórmico se resolvió utilizando cinco cromatoplasmas preparativas (gel de sílice 60 F₂₅₄, Merck; 5 x 20 cm, 0.25 mm de espesor), aplicando en cada una de ellas 25 mg del extracto y una cromatoplasma adicional (20 x 20 cm, 2 mm de espesor) en la cual se aplicaron 150 mg del extracto. La

elución se realizó utilizando la misma mezcla de disolventes empleada para la cromatografía de referencia (ver inciso anterior).

La visualización de los constituyentes se realizó mediante luz ultravioleta ($\lambda = 365$ y 254 nm), observándose en cada uno de los cromatogramas una serie de bandas distribuidas a lo largo de éstas. Los cromatogramas se compararon con los generados en las cromatoplasmas de referencia. Una vez identificadas las bandas de interés, se procedió a separarlas. Cada una de ellas se extrajo de manera individual con cloroformo durante 24 horas, y posteriormente, las soluciones se concentraron al vacío.

3.- Evaluación del Potencial Alelopático

3.1.- Procedimiento general del bioensayo de germinación de semillas y crecimiento radicular.

El potencial alelopático de *Ipomoea batatas* se evaluó sobre la germinación de semillas y el crecimiento radicular de dos especies de malezas, *Amaranthus hypochondriacus* L. Amaranthaceae y *Echinochloa crusgalli* L. Beauv (Poaceae) de acuerdo con los procedimientos descritos en la literatura (Anaya *et al.*, 1987; Pereda-Miranda *et al.*, 1993).

El material vegetal (1g) fresco y seco de las diferentes variedades de *Ipomoea batatas*, se lixivió con agua destilada (25 ml) durante 3 hrs. Posteriormente, se filtró (papel filtro Wattman No. 1) y se midió la presión osmótica (Osmómetro de punto de congelación Osmette A), para asegurar que la concentración presente en los lixiviados no fuera muy alta y afectara el crecimiento de las plántulas.

3.1.1.- Bioensayos con los extractos hexánicos y clorofórmicos

Los bioensayos se realizaron en cajas de Petri de 6 cm de diámetro interno, colocando en el fondo de éstas un disco de papel filtro (Whatman No. 42). Con cada uno de los extractos orgánicos se preparó una solución de cloruro de metileno a una concentración de 1000 ppm y a partir de ésta se realizaron diluciones para obtener concentraciones correspondientes a 50, 100 y 200 ppm. Se adicionó 1.5 ml de la solución de prueba a una caja de Petri, dejando evaporar el disolvente en una campana de extracción. Posteriormente, el papel filtro se humedeció con 1.5 ml de agua destilada.

Se prepararon los siguientes controles de prueba: a) Control con disolvente.- Se adicionaron 1.5 ml de cloruro de metileno a las cajas de Petri y, seguido de la evaporación se adicionaron 1.5 ml de agua destilada; b) Control acuoso - A cada caja control solo se le adicionó 1.5 ml de agua destilada.

3.1.2.- Bioensayos con los extractos metanólicos.

Con cada uno de los extractos orgánicos a evaluar (20 mg) se preparó una solución a una concentración de 1000 ppm con una mezcla de MeOH-H₂O (0.2-19.8 ml). Con esta solución se realizaron diluciones con agua destilada con el fin de obtener concentraciones de 100, 200 y 400 ppm. Estas concentraciones se diluyeron una vez más con una solución acuosa de agar-agar (purificado y exento de inhibidores) al 1.5 % para obtener concentraciones finales de 50, 100 y 200 ppm.

Se prepararon los siguientes controles de prueba: a) Control con disolvente.- Se preparó una solución con 0.3 ml de MeOH, y 24.7 ml de agua destilada, la cual se aforó a un volumen de 50 ml con una solución acuosa de

agar-agar al 1.5 %. b) Control con Agar.- A una alícuota de 25 ml de agua destilada se le adicionó una solución acuosa de agar-agar al 1.5%, la cual se aforó a un volumen de 50 ml.

El bioensayo se llevó a cabo adicionando a las cajas de Petri 6 ml de las soluciones a ensayar correspondientes a cada una de las concentraciones de prueba (50, 100, y 200 ppm). Esta operación también se realizó para cada uno de los controles. El agar se dejó solidificar a temperatura ambiente.

En cada caja de Petri se colocaron diez semillas de la especie de prueba escogidas al azar, las cuales se distribuyeron de manera equidistante formando un círculo sobre el papel filtro (Figura 6). Las cajas de Petri se mantuvieron en la oscuridad a 27 °C. Después de 24 horas de incubación para *A. hypochondriacus* y 48 horas para *E. crusgalli*, se midió la longitud radicular y se contabilizó el porcentaje de germinación. Los bioensayos de germinación de semillas y crecimiento radicular para cada uno de los extractos se llevaron a cabo evaluando las diferentes concentraciones de prueba de manera independiente y comparando los resultados con los obtenidos en los ensayos de control. En cada bioensayo se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento bajo un diseño completamente al azar. Los datos obtenidos se analizaron mediante un análisis de varianza ANOVA ($p < 0.05$).

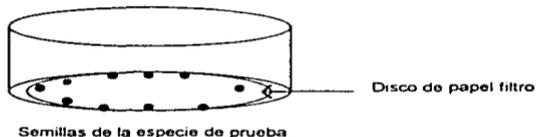


Figura 6. Representación esquemática del Bioensayo en caja de Petri.

3.2.- Procedimiento general de la bioautografía

Cada uno de los extractos totales (hexánicos y clorofórmicos) se analizó mediante la técnica de bioautografía en una placa cromatográfica (Inoue *et al*; 1992., Li *et al*, 1992). Los extractos de prueba se evaluaron de la siguiente manera:

a) Placas problema: el extracto orgánico correspondiente (20 mg) a evaluar, previamente disuelto en MeOH (1 ml), se aplicó de manera uniforme sobre una banda aproximadamente de 0.3 cm de grosor a una distancia de 2 a 3 cm de la base de una placa cromatográfica de vidrio recubierta con gel de sílice (sílica gel 60 F₂₅₄, Merck; 5 x 20 cm, 0.25 mm de espesor); el disolvente se dejó evaporar mediante una corriente de aire. Posteriormente, se procedió con el desarrollo de la cromatografía utilizando el sistema de elución correspondiente

Extracto	Sistema de elución	Proporción
Hexánico	CHCl ₃ -MeOH	9.5-0.5
Cloroformico	CHCl ₃ -MeOH	8.5-1.5

Una solución acuosa de agar-agar al 10 % se adicionó a cada una de las placas con el fin de cubrirlas homogéneamente con una capa delgada y el agar se dejó solidificar a temperatura ambiente. De esta manera, se prepararon dos placas cromatográficas. Una de las cuales se sembró con semillas de *A. hypochondriacus* y la otra con semillas de *E. crusgalli*. Las semillas se distribuyeron colocando aproximadamente 8 columnas a lo ancho de la placa, y cada columna tenía aproximadamente 22 semillas equidistantes una de la otra. (Figura 7).

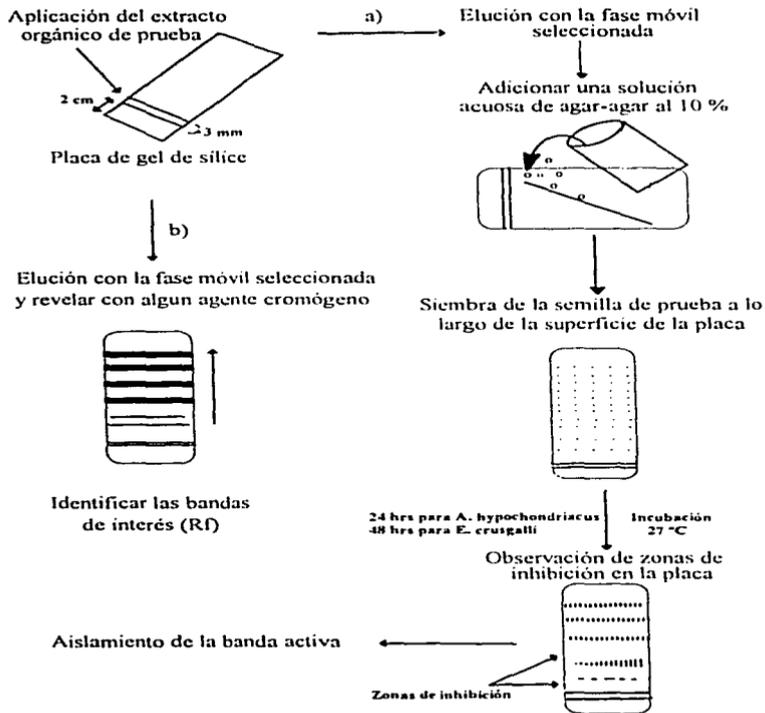


Figura 7. Procedimiento general para la bioautografía

Las placas se incubaron a 27 °C en la oscuridad, durante 24 hrs para *A. hypochondriacus* y 48 hrs para *E. crusgalli*; transcurrido este tiempo, se observó las zonas de inhibición del crecimiento radicular en las placas.

b) Placas testigos.- Dos cromatoplasmas de gel de sílice (sílica gel 60 F₂₅₄, Merck; 5 x 20 cm, 0.25 mm de espesor) se eluyeron en la fase móvil correspondiente dependiendo del extracto a ensayar, y posteriormente, se les adicionó una solución acuosa de agar-agar al 10 %, cubriéndolas homogéneamente con una capa delgada. El agar se dejó secar a temperatura ambiente, inmediatamente después se procedió a colocar las semillas de prueba a lo largo de la superficie de la placa distribuyéndolas de la misma manera que se realizó en las placas problema. Se empleó una placa para evaluar las semillas *A. hypochondriacus* y la restante para la evaluación de *E. crusgalli*. Las placas se incubaron a 27 °C en la oscuridad, durante 24 hrs para *A. hypochondriacus* y 48 hrs para *E. crusgalli*. A una tercera placa se le aplicó la misma cantidad del extracto de prueba y se eluyó en el sistema seleccionado. Esta placa control se reveló utilizando el agente cromógeno y la técnica convencional antes descrita (sección 2.2).

3.3.- Procedimiento para el aislamiento y la purificación del agente alelopático mayoritario.

Una vez desarrollada las cromatografías en capa fina se observaron a la luz ultravioleta de onda corta, con el objeto de visualizar alguna correlación entre las zonas que provocaron la inhibición del crecimiento radicular de las semillas de prueba y los Rf's observados para cada uno de los constituyentes detectados mediante el agente cromógeno. Posteriormente, cada uno de los extremos (1cm) de la cromatoplaqa se expusieron a la solución de ácido sulfúrico-sulfato cérico, desarrollándose el color por calentamiento. Este procedimiento permitió detectar cinco bandas (Rf = 0.35, 0.41, 0.47, 0.57 y 0.66). La separación de éstas se realizó de la siguiente manera: la zona no expuesta al revelador y que correspondía a una de las fracciones de interés fue separada del resto de la cromatoplaqa. La extracción de los constituyentes presentes en estas bandas separadas se realizó mediante desadsorción del soporte cromatográfico con cloroformo. Esta suspensión se mantuvo en maceración durante 24 hr. y una vez transcurrido este tiempo la gel de sílice se eliminó mediante filtración. La solución resultante se concentró a presión reducida y con un calentamiento aproximado de 35 °C en baño maría. Este procedimiento proporcionó 8.9 mg de la banda con un Rf = 0.41, misma que era la responsable de una notoria inhibición del crecimiento radicular de las especies de prueba.

3.4.- Caracterización del agente alelopático

El compuesto presente en la banda con $R_f = 0.41$ se obtuvo en forma de una resina de color ámbar, que después de una recristalización, formó pequeños sólidos incoloros cuyas propiedades físicas y espectroscópicas fueron idénticas a las registradas para una muestra auténtica de la Simonina IV (Noda *et al.*, 1992):
pf: 123-125 °C; n_D^{20} 36.0 ($n_D^{25} = 1.0$, MeOH), IR max (KBr) 3420, 2930, 1740, 1470, 1390, 1240, 1130, 1060 cm^{-1} ; EM-FAB negativo [Espectro 1] m/z (int. rel.): 1319 M-H (2.5), 871 (31.5), 725 (2.5), 579 (4.9), 417 (9.9), 271 (3.7); RMN ^1H (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, TMS) δ 6.12 (1H, *d*, $J = 1.5$ Hz, Ram $^{1-1}$), 5.99 (1H, *dd*, $J = 1.5, 2.9$ Hz, Ram $^{2-2}$), 5.92 (1H, *dd*, $J = 2.0, 3.0$ Hz, Ram $^{2-2}$), 5.90 (1H, *d*, $J = 1.0$ Hz, Ram $^{3-1}$), 5.80 (1H, *dd*, $J = 10.0, 10.0$ Hz, Ram $^{3-4}$), 5.58 (1H, *d*, $J = 1.0$ Hz, Ram $^{3-1}$), 5.46 (1H, *d*, $J = 2.0$ Hz, Ram $^{3-1}$), 4.99 (1H, *dd*, $J = 3.0, 10.0$ Hz, Ram $^{3-3}$), 4.89 (1H, *dd*, $J = 1.0, 3.0$ Hz, Ram $^{3-2}$), 4.71 (1H, *d*, $J = 7.5$ Hz, Fuc $^{1-1}$), 4.67 (1H, *dd*, $J = 1.0, 3.4$ Hz, Ram $^{3-2}$), 4.58 (1H, *dd*, $J = 2.9, 9.2$ Hz, Ram $^{3-3}$), 4.49 (1H, *dd*, $J = 3.4, 10.0$ Hz, Ram $^{3-3}$), 4.45 (1H, *dd*, $J = 3.0, 9.9$ Hz, Ram $^{3-3}$), 4.42 (1H, *dc*, $J = 9.9, 6.5$ Hz, Ram $^{5-5}$), 4.36 (1H, *dc*, $J = 10.0, 6.4$ Hz, Ram $^{5-5}$), 4.35 (1H, *dc*, $J = 9.2, 6.5$ Hz, Ram $^{5-5}$), 4.34 (1H, *dc*, $J = 9.9, 6.0$ Hz, Ram $^{5-5}$), 4.27 (1H, *dd*, $J = 9.2, 9.2$ Hz, Ram $^{4-4}$), 4.20 (1H, *dd*, $J = 9.9, 9.9$ Hz, Ram $^{4-4}$), 4.19 (1H, *dd*, $J = 10.0, 9.9$ Hz, Ram $^{4-4}$), 4.13 (1H, *dd*, $J = 7.5, 9.5$ Hz, Fuc $^{2-2}$), 4.04 (1H, *dd*, $J = 9.5, 3.5$ Hz, Fuc $^{3-3}$), 3.97 (1H, *d*, $J = 3.5$ Hz, Fuc $^{4-4}$), 3.84 (1H, *sa*, Jal $^{1-1}$), 3.75 (1H, *c*, $J = 6.5$ Hz, Fuc $^{5-5}$), 2.45 (1H, *ddd*, $J = 3.0, 7.5, 7.5$ Hz, decanoil $^{2-2}$), 2.40 (1H, *ddd*, $J = 3.0, 7.0, 15.0$ Hz, Jal $^{2-2}$), 2.30 (1H, *ddd*, $J = 4.0, 7.5, 7.5$ Hz, decanoil $^{2-2}$), 2.28 (1H, *ddd*, $J = 3.0, 7.0, 15.0$ Hz, Jal $^{2-2}$), 1.64 (3H, *d*, $J = 6.5$ Hz, Ram $^{6-6}$), 1.61 (3H, *d*, $J = 6.5$ Hz, Ram $^{6-6}$), 1.58 (3H, *d*, $J = 6.0$ Hz, Ram $^{6-6}$), 1.50 (3H, *d*, $J = 6.5$ Hz, Fuc $^{6-6}$), 1.42 (3H, *d*, $J = 6.4$ Hz, Ram $^{6-6}$), 0.89 (3H, *t*, $J = 7.0$ Hz, Jal $^{1-1}$) [Espectro 2]; RMN-2D; RMN ^{13}C (75.4 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, TMS): δ 104.3 (Fuc $^{1-1}$), 80.3 (Fuc $^{2-2}$), 73.3

(Fuc-3), 72.9 (Fuc- 4), 70.8 (Fuc-5), 17.3 (Fuc-6), 98.8 (Ram-1), 73.9 (Ram-2), 69.8 (Ram-3), 79.8 (Ram-4), 70.7 (Ram-5), 19.4 (Ram-6), 99.2 (Ram'-1), 73.2 (Ram'-2), 79.4 (Ram'-3), 80.1 (Ram'-4), 68.2 (Ram'-5), 18.8 (Ram'-6), 104.6 (Ram''-1), 72.5 (Ram''-2), 72.5 (Ram''-3), 73.6 (Ram''-4), 68.5 (Ram''-5), 18.5 (Ram''-6), 103.5 (Ram'''-1), 72.6 (Ram'''-2), 70.3 (Ram'''-3), 75.1 (Ram'''-4), 68.6 (Ram'''-5), 18.8 (Ram'''-6), 82.4 (Jal-11), 14.3 (Jal-16), 172.9 (Decanoil-1), 173.1 (Decanoil-1), 173.5 (Decanoil-1). [Espectro 3]; HETCOR.

3.5.- Evaluación del efecto alelopático de la simonina IV

Los bioensayos se realizaron en cajas de Petri, por lo que se procedió a preparar con el compuesto orgánico purificado (8.9 mg) una solución de 1000 ppm, a partir de la cual se realizaron disoluciones sucesivas para finalmente obtener concentraciones de 200, 150, 100, 50 ppm. Con estas concentraciones se evaluó el potencial alelopático sobre la germinación de las dos especies de semillas de prueba siguiendo el protocolo descrito anteriormente en la sección 3.1.1

4.- Resultados y Discusión

4.1.- Ensayos biológicos preliminares

La evaluación del potencial inhibidor de los extractos orgánicos (hexánicos, clorofórmicos y metanólicos) de cada una de las variedades de *Ipomoea batatas* sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli* proporciono los siguientes resultados. El Cuadro 3 y las Figuras 8 y 9 resumen el efecto del lixiviado del material vegetal seco y de los extractos orgánicos preparados a partir de las partes aéreas y los tubérculos de la variedad morada de *I. batatas* sobre el crecimiento radicular de *A. hypochondriacus*.

El extracto clorofórmico obtenido a partir de las partes aéreas del camote morado a 200 ppm provocó inhibición del crecimiento radicular del 60% sobre *A. hypochondriacus*, efecto similar al observado en los lixiviados de las partes aéreas secas. Sin embargo, los extractos hexánico y metanólico preparados a partir de las partes aéreas no presentaron ningún efecto inhibitorio significativo sobre *A. hypochondriacus*. En cambio, los extractos hexánicos y clorofórmicos del tubérculo de esta misma variedad concentraron la actividad inhibitoria y causaron un efecto inhibitorio significativo a las tres concentraciones probadas en congruencia con el provocado por el lixiviado.

Cuadro 3. Efecto de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos de la variedad morada de *Ipomoea batatas* (material seco) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus*.

Tratamientos	Partes aéreas % inhibición	Tubérculos % inhibición
Control	0 0	0 0
Lix. seco ^a	48 8*	54 8*
Ext. Hexánico (ppm)		
50	15 0	39 0*
100	16 0	46 0*
200	20 0	50 0*
Ext. Clorofórmico (ppm)		
50	22 7	39 4*
100	29 1*	41 8*
200	57 7*	44 4*
Ext. Metanólico (ppm)		
50	2 9	(7 5*) ^b
100	15 5	(7 2*)
200	14 9	4 6

^aLix. seco: lixiviado obtenido a partir del material seco

^b% de crecimiento sobre el 100 % de control

* p < 0.05

El Cuadro 4 y las Figuras 8 y 9 resumen los resultados del efecto inhibitor de los lixiviados y los extractos orgánicos preparados a partir de las partes aéreas y los tubérculos de la variedad morada sobre el crecimiento radicular de *E. crusgalli*.

El lixiviado acuoso y los extractos hexánico y clorofórmico de la parte aérea tienen un efecto inhibitor más acentuado que el extracto metanólico. En relación con los tubérculos, el efecto inhibitor más significativo se concentró en el lixiviado acuoso, el extracto hexánico y clorofórmico, particularmente a 200 ppm.

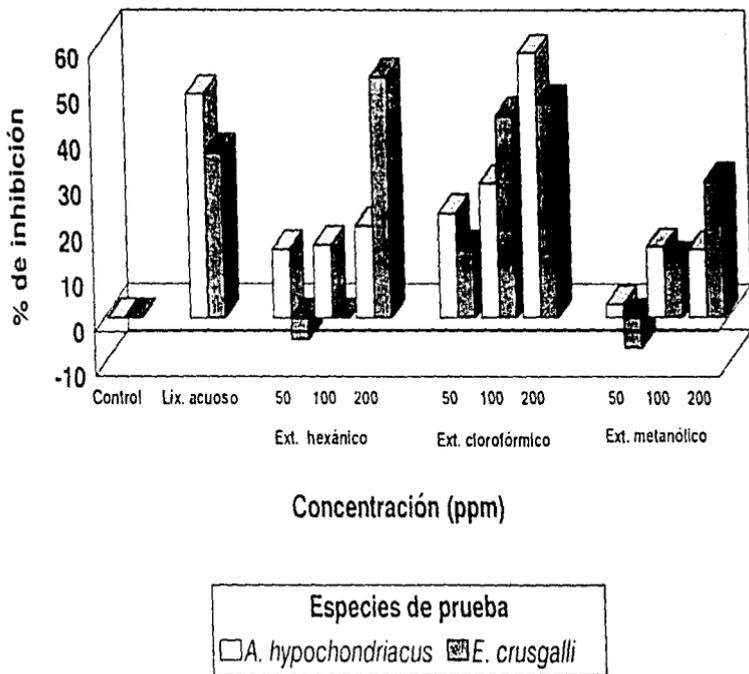


Figura. 8. Efecto del lixiviado acuoso y los extractos orgánicos de *I. batatas* camote morado (parte aérea seca) sobre *A. hypochondriacus* y *E. crugalli*.

Cuadro 4. Efecto de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos de la variedad morada de *Ipomoea batatas* (material seco) sobre el crecimiento radicular de *Echinochloa crusgalli*.

Tratamientos	Partes aéreas % inhibición	Tubérculos % inhibición
Control	0.0	0.0
Lix seco ^a	36.0*	57.2*
Ext. Hexánico (ppm)		
50	(5.0+) ^b	42.9*
100	0.0	63.7*
200	52.5	81.6*
Ext. Clorofórmico (ppm)		
50	15.0	22.5*
100	43.9	26.6*
200	46.6	43.9*
Ext. Metanólico (ppm)		
50	(6.8+)	(9.6+)
100	12.4	8.7
200	29.6	20.7

^aLix seco lixiviado obtenido a partir del material seco

^b% de crecimiento sobre el 100 % de control

* p < 0.05

Los Cuadros 5 y 6 y las Figuras 10 y 11 resumen el efecto alelopático de la variedad amarilla de *I. batatas* sobre el crecimiento radicular de *A. hypochondriacus* y *E. crusgalli*, respectivamente. Los extractos clorofórmicos preparados a partir de los tubérculos provocaron la inhibición del crecimiento radicular (80-100 %) de las dos especies de prueba a una concentración de 200 ppm. El efecto inhibitorio del lixiviado acuoso de la parte aérea sobre el crecimiento de *A. hypochondriacus* fue también notable.

Cuadro 5. Efecto de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos de la variedad amarilla de *Ipomoea batatas* (material seco) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus*.

Tratamientos	Partes aéreas % inhibición	Tubérculos % inhibición
Control	0 0	0 0
Lix seco ^a	100 0*	50 6*
Ext.Hexánico (ppm)		
50	10 0	20 0
100	15 0	22 5
200	48 4	25 6*
Ext.Cloroformico (ppm)		
50	22 5	50 0*
100	26 6	72 8*
200	43 9	100 0*
Ext. Metanólico (ppm)		
50	(16 2)* ^b	(7 1)*
100	3 8	(4 3)*
200	16 0	(1 6)*

^aLix seco lixiviado obtenido a partir del material seco

^b% de crecimiento sobre el 100 % de control

* p < 0.05

Los extractos hexánicos, cloroformicos y metanólicos obtenidos de las partes aéreas de esta misma variedad de camote no presentaron prácticamente ninguna actividad sobre el crecimiento de las semillas de *E. crusgalli*, en comparación con el efecto provocado sobre las semillas de *A. hypochondriacus* especialmente para el extracto cloroformico y hexánico a 200 ppm.

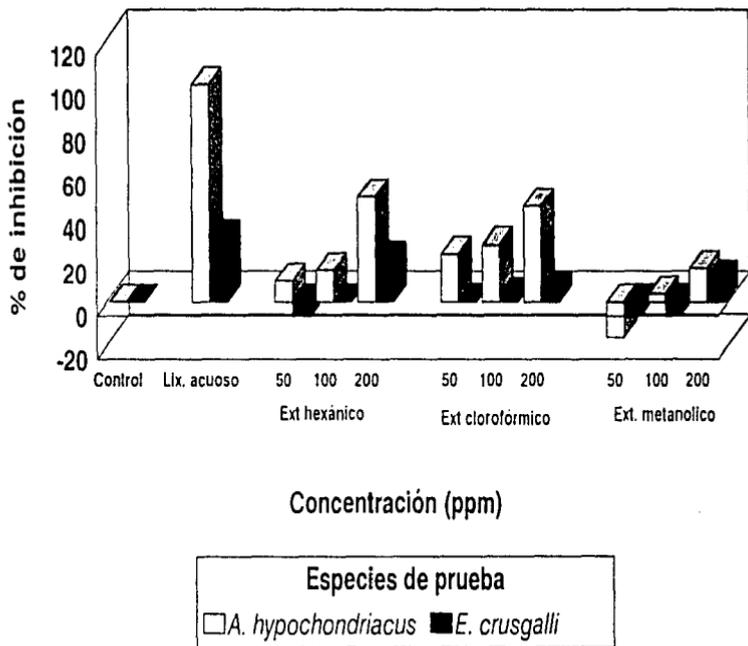


Figura 10. Efecto del lixiviado acuoso y los extractos orgánicos de *I. batatas* camote amarillo (parte aérea seca) sobre *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

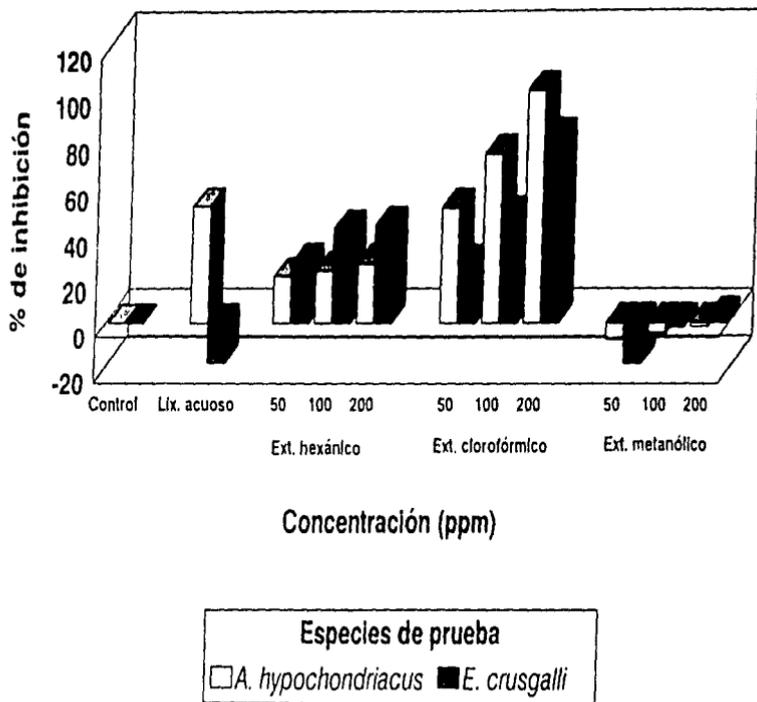


Figura 11. Efecto del lixiviado acuoso y los extractos orgánicos de *I. batatas* camote amarillo (tubérculos secos) sobre *A. hypochondriacus* y *E. crugalli*.

Cuadro 6. Efecto de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos de la variedad amarilla de *Ipomoea batatas* (material seco) sobre el crecimiento radicular de *Echinochloa crusgalli*.

	Partes aéreas	Tubérculos
Tratamientos	% inhibición	% inhibición
Control	0 0	0 0
Lix seco ^a	29.3	(17.6) ^b
Ext.Hexánico (ppm)		
50	(6.5)*	26.1
100	0 0	40.6*
200	20.0*	42.1*
Ext.Cloroformico (ppm)		
50	0.4	25.0
100	3.1	46.4*
200	6.1	79.8*
Ext. Metanólico (ppm)		
50	(5.2)*	(17.6)*
100	(4.3)*	(1.9)*
200	11.2	2.9

^aLix seco lixiviado obtenido a partir del material seco

^b% de crecimiento sobre el 100 % de control

* p < 0.05

En el Cuadro 7 y las Figuras 12 y 13 se observa que los extractos hexánico y cloroformico de las partes aéreas de la variedad blanca de *I. batatas* presentaron una mayor actividad alelopática (83.4% y 61.4% de inhibición, respectivamente) sobre el crecimiento de semillas de *A. hypochondriacus* a la concentración de 200 ppm. Mientras que los extractos metanólicos provenientes de partes aéreas y tubérculos como el extracto hexánico correspondiente a los tubérculos, no presentaron actividad inhibidora significativa. Sin embargo, debe hacerse notar que el extracto metanólico de la parte aérea estimuló significativamente el crecimiento de *A. hypochondriacus*.

Cuadro 7. Efecto de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos de la variedad blanca de *Ipomoea batatas* (material seco) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus*.

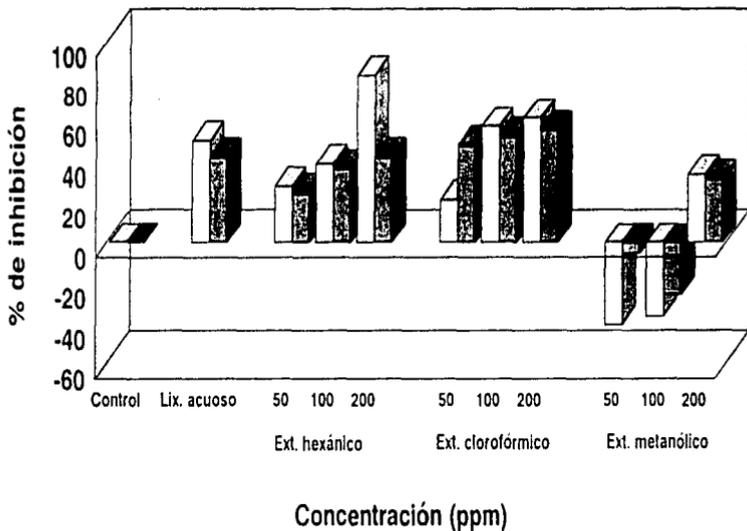
Tratamientos	Partes aéreas	Tubérculos
	% inhibición	% inhibición
Control	0 0	0 0
Lix seco ^a	50 0*	49 5*
Ext.Hexánico (ppm)		
50	27 9*	16 0
100	38 7*	16 8
200	83 4*	23 0
Ext.Cloroformico (ppm)		
50	21 4	15 9
100	57 1*	23 7
200	61 4*	37 3*
Ext. Metanólico (ppm)		
50	(40 5+) ^b	(8 7+)
100	(38 6+)	4 6
200	33 5	9 0

^aLix seco lixiviado obtenido a partir del material seco

^b% de crecimiento sobre el 100 % de control

* p < 0 05

En el cuadro 8 y las Figuras 12 y 13 se observa que los extractos hexánico y cloroformico preparados a partir de las partes aéreas y tuberculos de la variedad blanca de *I. batatas*, presentaron una considerable actividad inhibitoria (42 a 100 %) sobre el crecimiento de *E. crusgalli*, siendo el extracto cloroformico correspondiente a los tubérculos el que presentó el mayor porcentaje de inhibición (100 %) a una concentración de 200 ppm. En contraste con lo anterior, los extractos metanólicos correspondientes a las partes aéreas y tubérculos tuvieron una débil actividad alelopática sólo a 200 ppm.



Especies de prueba

□ *A. hypochondriacus* ■ *E. crugalli*

Figura 12. Efecto del lixiviado acuoso y los extractos orgánicos de *I. batatas* camote blanco (parte aérea seca) sobre *A. hypochondriacus* y *E. crugalli*.

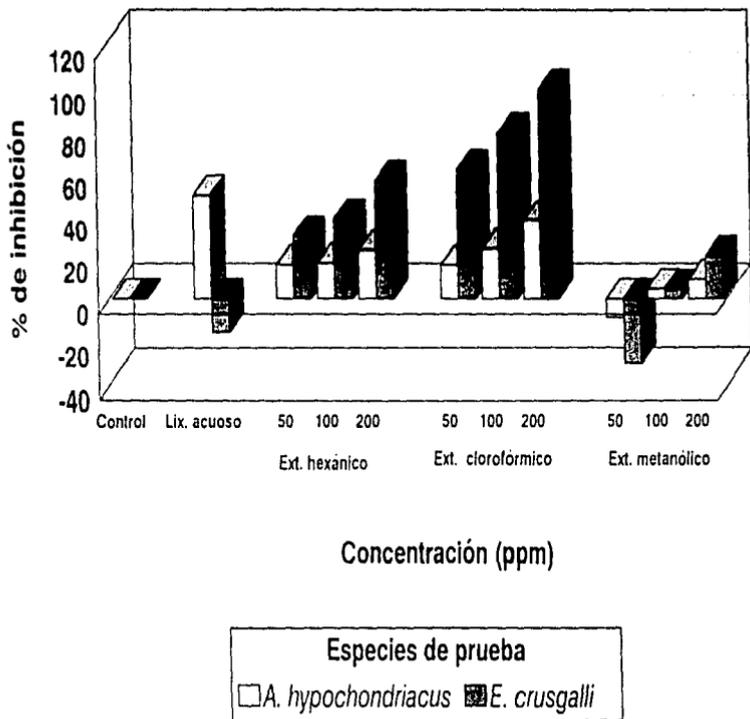


Figura 13. Efecto del lixiviado acuoso y los extractos orgánicos de *I. batatas* camote blanco (tubérculos secos) sobre *A. hypochondriacus* y *E. crusgalli*.

Cuadro 8. Efecto de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos de la variedad blanca de *Ipomoea batatas* (material seco) sobre el crecimiento radicular de *Echinochloa crusgalli*.

Tratamientos	Partes aéreas	Tubérculos
Control	0 0	0 0
Lix seco ^a	42 0*	(15 9+) ^b
Ext.Hexánico (ppm)		
50	24 7**	29 8
100	36 3*	38 3*
200	42 1*	56 3*
Ext.Cloroformico (ppm)		
50	47 9*	61 3*
100	52 2*	78 9*
200	55 5*	99 6*
Ext. Metanólico (ppm)		
50	(5 3+)	(30 5+)
100	25 5	4 2
200	31 1*	20 0

^aLix seco lixivado obtenido a partir del material seco

^b% de crecimiento sobre el 100 % de control

* p < 0.05

En el Cuadro 9 y las Figuras 14 y 15 se observa que el lixiviado acuoso y el extracto cloroformico de las partes aéreas de la variedad roja presentaron la mayor actividad (60 y 50 %, respectivamente) sobre el crecimiento de *A. hypochondriacus*; los extractos hexánicos de ambas partes tuvieron un efecto más débil y ambos extractos metanólicos no presentaron prácticamente ningún efecto.

Cuadro 9. Efecto de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos de la variedad roja de *Ipomoea batatas* (material seco) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus*.

Tratamientos	Partes aéreas	Tubérculos
	% inhibición	% inhibición
Control	0 0	0 0
Lix.seco ^a	59.6*	59.5*
Ext.Hexánico (ppm)		
50	8.8	7.1
100	25.0	24.6
200	30.0*	32.5*
Ext.Cloroformico (ppm)		
50	21.2	15.8
100	42.0*	19.0
200	49.0*	26.4
Ext. Metanólico (ppm)		
50	(18.8+) ^b	(3.2+)
100	(13.3+)	(2.4+)
200	21.3	3.7

^aLix.seco lixiviado obtenido a partir del material seco

^b% de crecimiento sobre el 100 % de control

* p< 0.05

Por último, en el Cuadro 10 y las Figuras 14 y 15 se observa que el mayor efecto inhibitorio de los extractos preparados a partir de la variedad roja de *Ipomoea batatas*, se obtuvo con el extracto cloroformico de los tubérculos a una concentración de 200 ppm sobre el crecimiento de semillas de *E. crusgalli*, en tanto que los extractos hexánicos de las partes aéreas, como los preparados con los tubérculos, presentaron una actividad del 60 % a la misma concentración. En relación con las partes aéreas, el extracto con menor actividad fue el cloroformico. El extracto metanólico de las partes aéreas a 200 ppm tuvo un efecto inhibitorio significativo similar al del lixiviado acuoso.

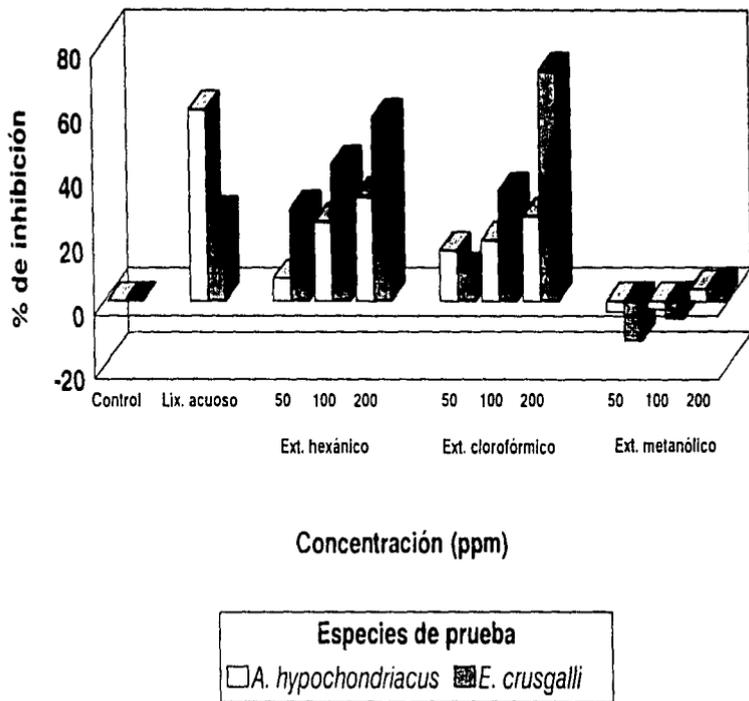


Figura 15. Efecto del lixiviado acuoso y los extractos orgánicos de *I. batatas* camote rojo (tuberculos secos) sobre *A. hypochondriacus* y *E. crugalli*.

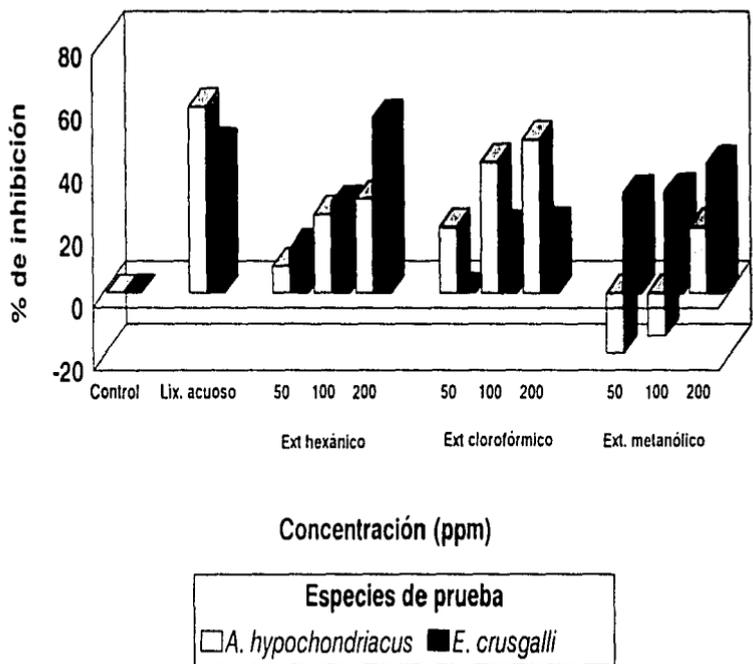


Figura 14. Efecto del lixiviado acuoso y los extractos orgánicos de *I. batatas camote rojo* (parte aérea seca) sobre *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

Cuadro 10. Efecto de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos de la variedad roja de *Ipomoea batatas* (material seco) sobre el crecimiento radicular de *Echinochloa crusgalli*.

Tratamientos	Partes aéreas % inhibición	Tubérculos % inhibición
Control ^a	0 0	0 0
Lix seco ^a	46 8*	26 6
Ext.Hexánico (ppm)		
50	14 7	28 5*
100	28 5*	42 3*
200	56 1*	57 0*
Ext.Cloroformico (ppm)		
50	0 4	9 3
100	20 4	34 0*
200	21 4	71 4*
Ext. Metanólico (ppm)		
50	31 8*	(12 5+) ^b
100	32 3*	(5 4+)
200	41 5*	4 1

^aLix seco: lixiviado obtenido a partir del material seco

^b% de crecimiento sobre el 100 % de control

* p < 0.05

4.2.- Evaluación biológica secundaria de los extractos bioactivos.

Los análisis biológicos preliminares permitieron observar que la mayor actividad inhibidora se presentó concentrada, en general, en los extractos hexánico y clorofórmico de cada una de las diferentes variedades de camote ensayadas. Los extractos clorofórmicos preparados a partir de los tubérculos del camote amarillo y del camote blanco mostraron la máxima actividad inhibidora sobre el crecimiento radicular de las malezas de prueba y, en algunos casos, inhibieron en un 100 % el crecimiento vegetal a una concentración de 200 ppm.

Por lo anterior, se procedió a realizar una segunda evaluación biológica con estos extractos bioactivos con el fin de verificar la actividad previamente detectada y realizar su seguimiento mediante cromatografía en capa delgada. Los resultados obtenidos de esta evaluación se presentan en el Cuadro 11 y la Figura 16. Los extractos clorofórmico de los tubérculos de la variedad amarilla de *I. batatas* presentaron un claro efecto alelopático sobre las semillas de *Amaranthus hypochondriacus* (100 % de inhibición) y *Echinochloa crusgalli* (80 %), superando incluso el efecto de los lixiviados acuoso. Los extractos hexánico presentaron una menor actividad inhibidora sobre las semillas de prueba.

Cuadro 11. Efecto de los extractos orgánicos de los tubérculos de *Ipomoea batatas* (camote amarillo) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

	Partes aéreas	Tubérculos
Tratamientos	% inhibición	% inhibición
Control	0.0	0.0
Lix seco ^a	50.6	(17.6) ^b
Ext.Hexánico (ppm)		
50	15.2	13.1*
100	16.7	26.7*
200	21.3	30.3*
Ext.Cloroformico (ppm)		
50	57.8*	26.9*
100	62.7*	43.7*
200	100.0*	78.0*

^aLix seco lixiviado obtenido a partir del material seco

^b% de crecimiento sobre el 100% de control

* p < 0.05

En el Cuadro 12 y Figura 17 se presentan los efectos provocados por los extractos hexánico y cloroformico de los tubérculos de la variedad blanca de *I. batatas* sobre el crecimiento radicular de *A. hypochondriacus* y *E. crusgalli*, en esta última especie se observó la máxima actividad alelopática provocada por el extracto cloroformico a una concentración de 200 ppm.

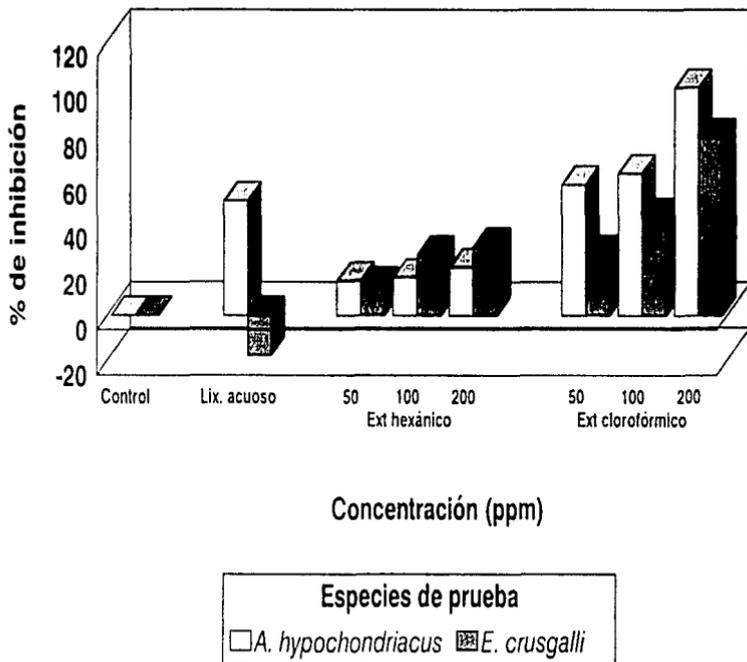


Figura 16. Efecto del lixiviado del material seco y extractos orgánicos de los tubérculos de *I. batatas* (camote amarillo) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

Cuadro 12. Efecto de los extractos orgánicos de los tubérculos de *Ipomoea batatas* (camote blanco) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

	Partes aéreas	Tubérculos
Tratamientos	% inhibición	% inhibición
Control	0.0	0.0
Lix seco ^a	49.5*	(15.9)* ^b
Ext.Hexánico (ppm)		
50	1.8	20.5*
100	20.7	38.0*
200	22.2	56.2*
Ext.Cloroformico (ppm)		
50	19.9	64.0*
100	31.7	70.6*
200	33.7	96.9*

^aLix seco: lixiviado obtenido a partir del material seco

^b% de crecimiento sobre el 100 % de control

* p < 0.05

El Cuadro 13 y la Figura 18 muestran los resultados del efecto de los lixiviados y los extractos hexánico y cloroformico de las partes aéreas de la variedad blanca de *I. batatas* sobre el crecimiento de las dos plantas de prueba. Este ensayo confirmó que el extracto cloroformico a la concentración de 200 ppm presentó el mayor porcentaje de inhibición (60 %) sobre el crecimiento de las semillas de *E. crusgalli*. El mayor efecto inhibitorio sobre *A. hypochondriacus* lo provocó el extracto hexánico.

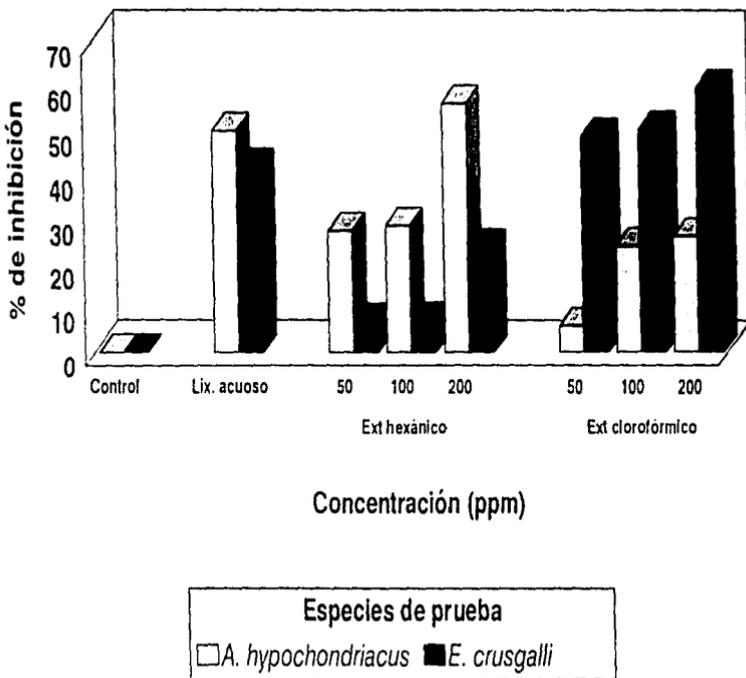


Figura 17. Efecto del lixiviado del material seco y extractos orgánicos de las partes aéreas de *I. batatas* (camote blanco) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

Cuadro 13. Efecto de los extractos orgánicos de las partes aéreas de *Ipomoea batatas* (camote blanco) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

	Partes aéreas	Tubérculos
Tratamientos	% inhibición	% inhibición
Control	0.0	0.0
Lix seco ^a	50.0*	42.0*
Ext.Hexánico (ppm)		
50	27.6*	6.8
100	28.8*	7.0
200	56.1*	23.8*
Ext.Cloroformico (ppm)		
50	6.0	48.8*
100	24.2	50.3*
200	26.4*	59.6*

^aLix seco, lixivado obtenido a partir del material seco

* p < 0.05

De esta manera, la evaluación secundaria corroboró que la máxima actividad alelopática sobre las dos especies de prueba se observó con los tratamientos que emplearon el extracto cloroformico obtenido del tubérculo de la variedad amarilla de *I. batatas*. Por lo tanto, este extracto se seleccionó para su posterior análisis mediante cromatografía en capa delgada.

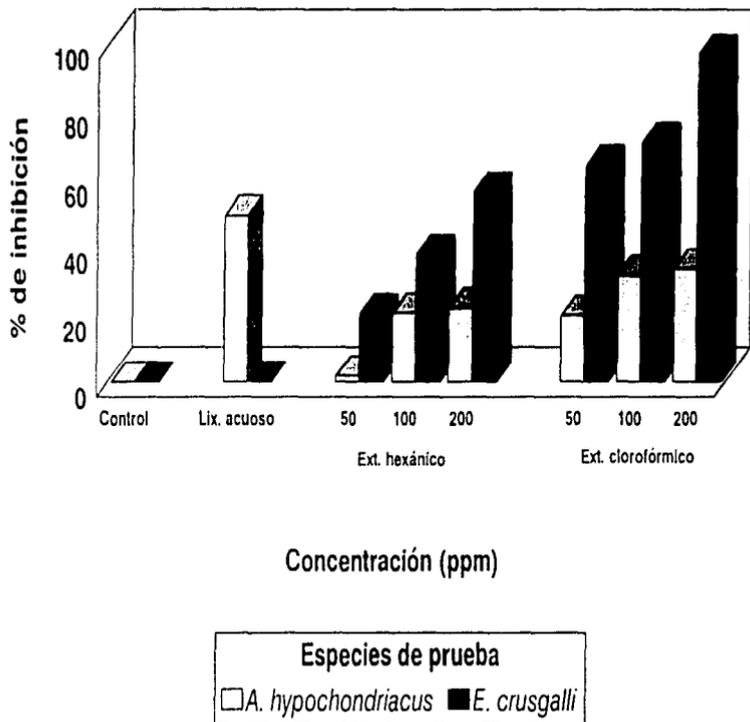


Figura 18. Efecto del lixiviado del material seco y los extractos orgánicos de los tubérculos de *I. batatas* (camote blanco) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

4.3.- Aislamiento y caracterización del agente alelopático mayoritario a partir del extracto clorofórmico No 1.

Como resultado de los bioensayos descritos anteriormente, el extracto clorofórmico que desarrolló la mayor actividad alelopática, se utilizó para proceder con la separación de los constituyentes mayoritarios responsables de los efectos inhibidores del crecimiento vegetal. El empleo de la bioautografía en combinación con análisis cromatográficos en capa fina de este extracto bioactivo, permitieron la separación de cinco compuestos con los siguientes rendimientos:

Banda No	Rf	Muestra Obtenida
1	0.35	7.9
2	0.41	8.9
3	0.47	6.6
4	0.57	10.9
5	0.66	23.5

La banda No 2 ($R_f = 0.41$), demostró un efecto alelopático similar al observado para el extracto total en los ensayos bioautográficos y, por lo tanto, se purificó mediante una cromatografía en capa fina adicional. La identificación de este metabolito como la simonina IV, se realizó al comparar sus constantes físicas y sus propiedades espectroscópicas con las citadas en la literatura (Noda *et al.*, 1992) y las generadas por una muestra auténtica (ver Parte Experimental, sección 3.4). [Esquema A]

Este compuesto purificado se evaluó a diferentes concentraciones (200, 150, 100 y 50 ppm) sobre el crecimiento radicular de las dos especies de semillas de prueba con el objetivo de determinar la concentración inhibidora media (CI₅₀). Los resultados de dichas evaluaciones se resumen en el Cuadro 14.

Cuadro 14. Efecto del agente alelopático mayoritario de *I. batatas* sobre el crecimiento radicular de *A. hypochondriacus* y *E. crusgalli*.

	Amaranthus	Echinochloa
Tratamientos	% inhibición	% inhibición
Control	0.0	0.0
Concentración (ppm)		
50	41.3	23.1
100	60.3	42.3
150	86.8	58.8
200	90.5	73.1

Las concentraciones de 150 y 200 ppm provocaron un efecto inhibitorio significativo sobre el crecimiento radicular de las semillas de *A. hypochondriacus* (> 85 %) y de *E. crusgalli* (> 55 %) [Figura 19 y 20].

La Figura 21 presenta la curva concentración-respuesta para la simonina IV sobre el crecimiento radicular de *A. hypochondriacus*. El valor de la CI₅₀ calculado mediante análisis de probit para el crecimiento radicular de *A. hypochondriacus* correspondió a 65.7 µg/ml (49.8 µM).

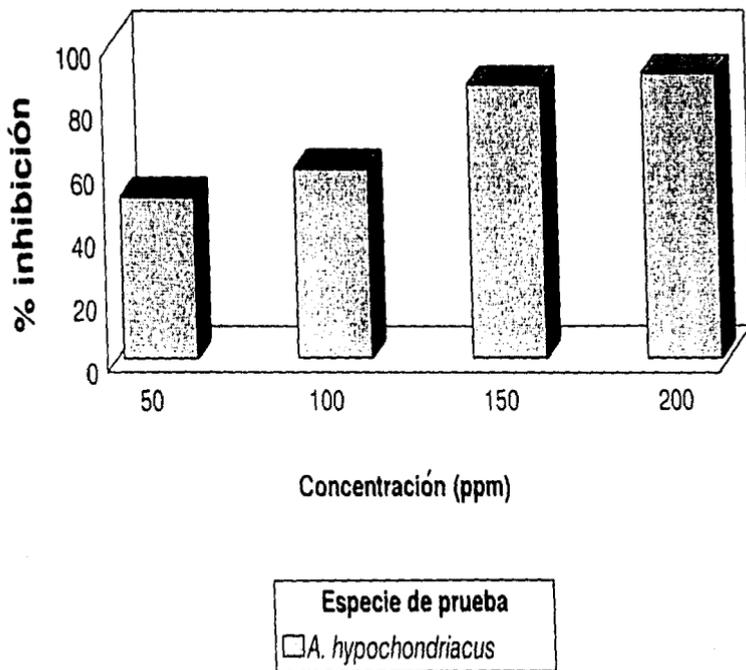


Figura 19. Evaluación biológica del agente alelopático mayoritario (Simonina IV) sobre el crecimiento radicular de semillas de *A. hypochondriacus*.

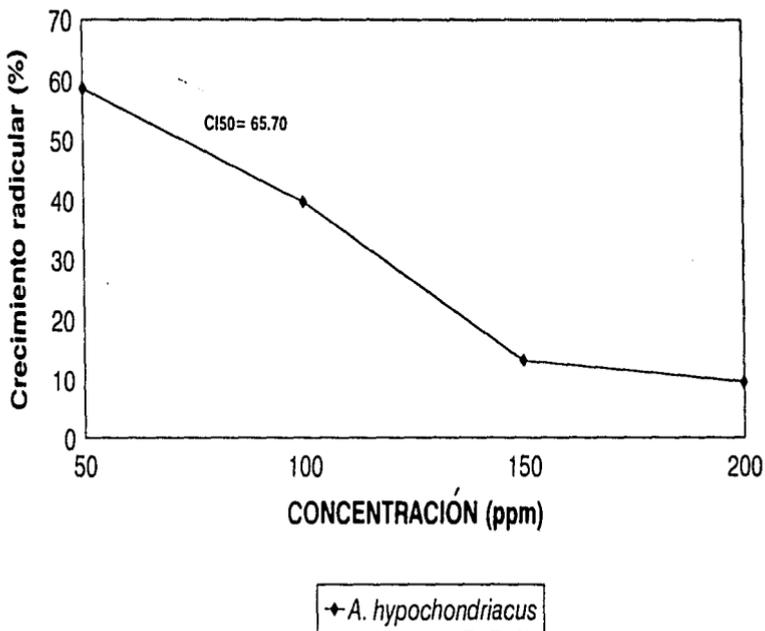
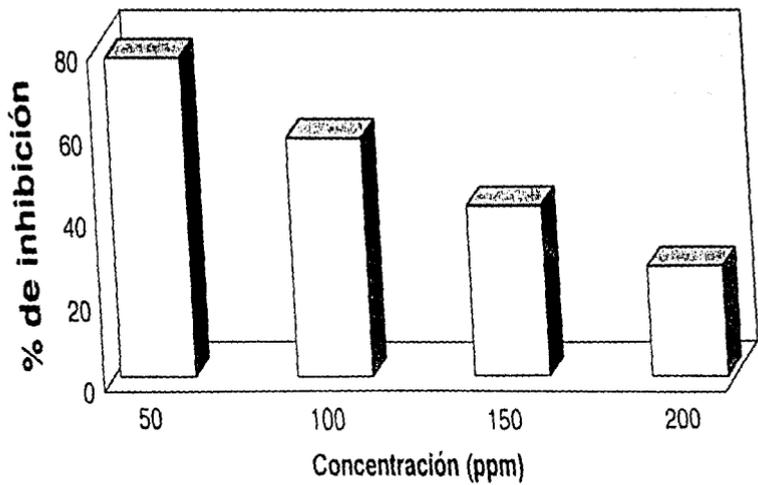


Figura 21. Efecto de la Simonina IV sobre el crecimiento radicular de las semillas de *A. hypochondriacus*

El crecimiento radicular de *E. crusgalli* resultó menos sensible al compuesto ensayado y el valor de la CI_{50} calculado correspondió a 113.8 $\mu\text{g/ml}$ (86.2 μM) [Figura 22].

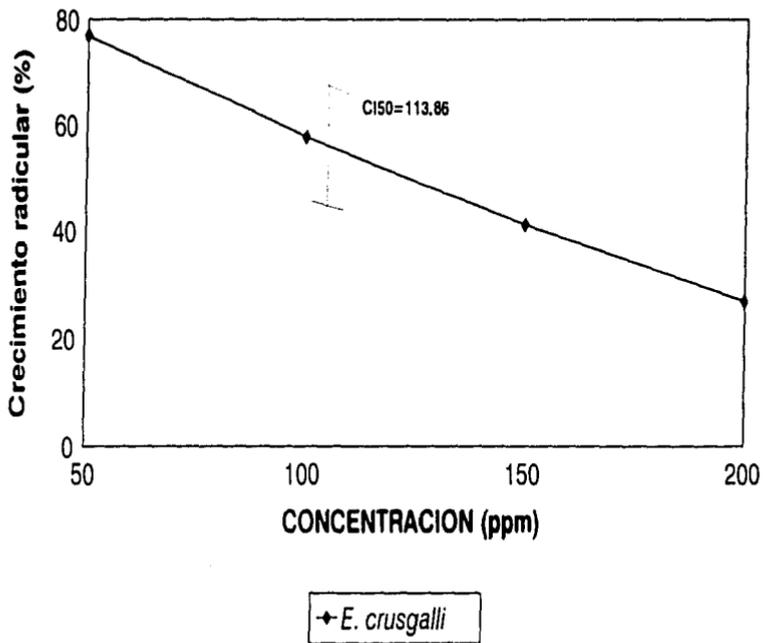
La inhibición del crecimiento radicular inducida por la simonina IV para las dos especies de prueba, corresponde a uno o dos órdenes de magnitud inferiores a las concentraciones requeridas para provocar este efecto por la mayoría de los productos de origen vegetal, cuya actividad alelopática se ha demostrado y que corresponde al intervalo de 100-1000 μM (Einhellig, 1989)

Esta actividad alelopática es comparable con la fitotoxicidad observada para la tricolorina A, constituyente mayoritario de las resinas glicosídicas de *Ipomoea tricolor*, en diseños experimentales similares a los descritos en la presente investigación (Pereda-Miranda *et al.*, 1993)



Especie de prueba
□ *E. crusgalli*

Figura 20. Evaluación biológica del agente alelopático mayoritario (Simonina IV) sobre el crecimiento radicular de semillas de *E. crusgalli*.



Σ

Figura 22. Efecto de la Simonina IV sobre el crecimiento radicular de las semillas de *E. crusgalli*

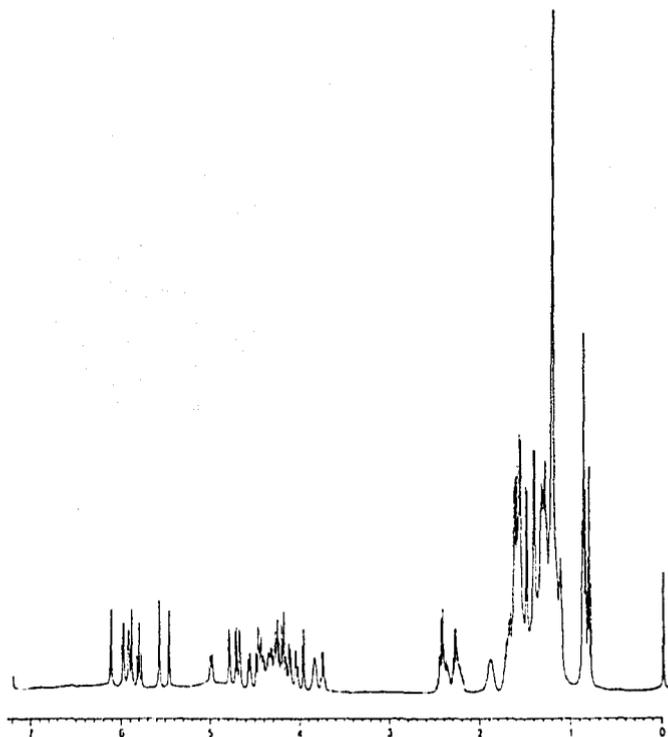
V. Conclusiones

1.- El estudio fitoquímico de los diferentes extractos orgánicos preparados a partir de las distintas variedades de *Ipomoea batatas*, utilizando como bioensayo la determinación del potencial alelopático, sobre el crecimiento radicular de dos especies de semillas (*Echinochloa crusgalli* y *Amaranthus hypochondriacus*), permitió identificar a las resinas glicosídicas como los constituyentes bioactivos responsables de la actividad alelopática atribuida a las diferentes variedades de la especie de prueba, permitiendo además, el aislamiento y caracterización del agente alelopático mayoritario presente en el extracto cloroformico

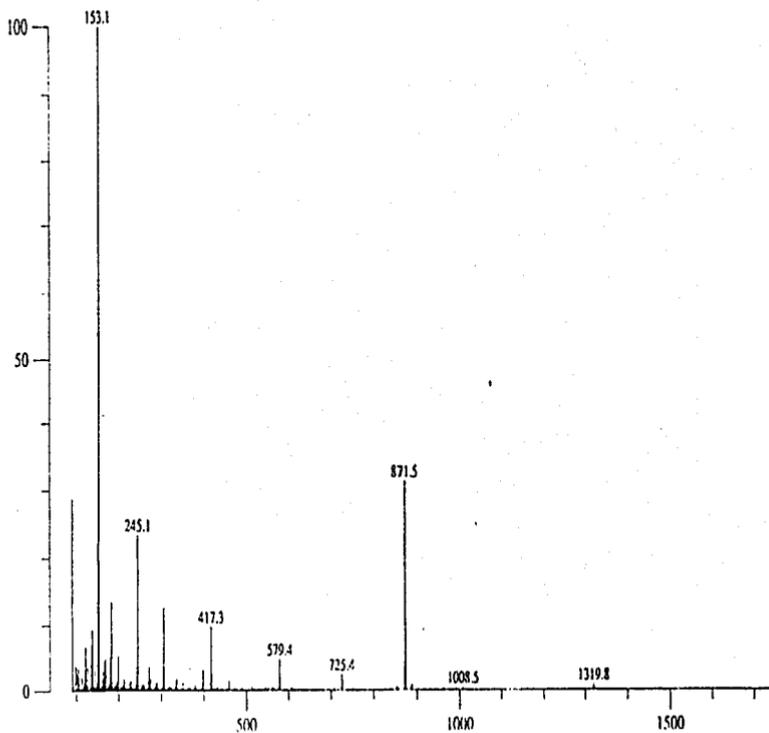
2 - La simonina IV representó el glicolípido bioactivo mayoritario. Este compuesto inhibió la germinación de semillas de *A. hypochondriacus* con un valor para la concentración inhibidora media (CI_{50}) de 49.8 μ M.

3.- Estos resultados permiten apoyar la postulación de los glicolípidos presentes en las resinas de las Convolvuláceas, como los principales agentes químicos involucrados en las interacciones alelopáticas de las especies de *Ipomoea*, e.g. *I. tricolor* e *I. batatas*, utilizadas como cultivos de cobertura en la agricultura tradicional de nuestro país.

APENDICE



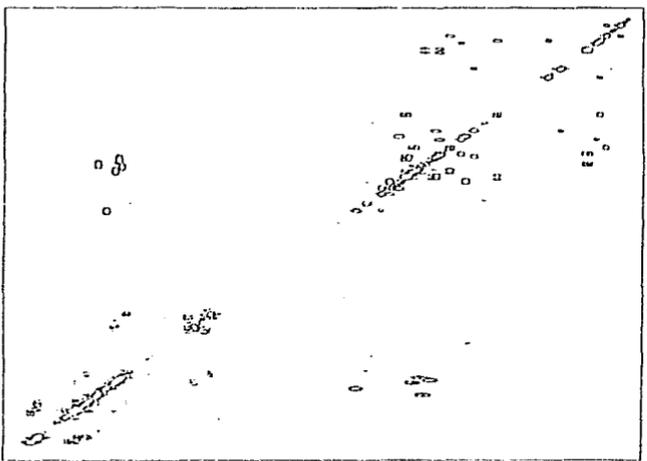
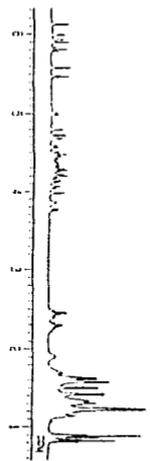
ESPECTRO A. Espectro de RMN-1H de la Simonina IV.



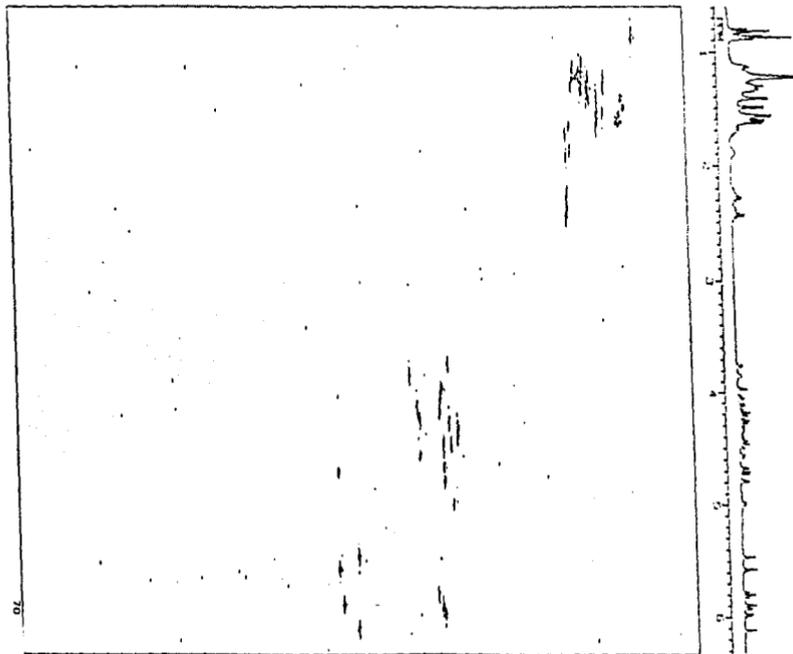
ESPECTRO 1. Espectro de Masas-FAB negativo de la Simonina IV.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

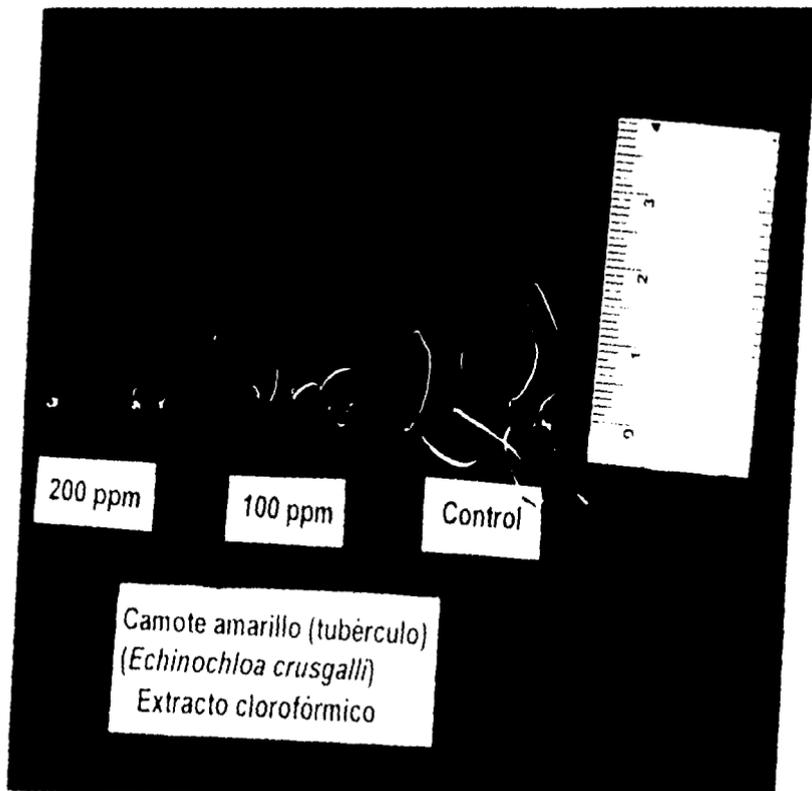
69



ESPECTRO 2. Espectro de RHM-2D de la Simoniina IV.



ESPECTRO 3. Espectro de correlación heteronuclear (HETCOR) de la Simonina IV.



ANEXO I Efecto del extracto cloroformico de la variedad amarilla de *Ipomoea batatas* sobre el crecimiento radicular de *E. crusgalli*

VI Bibliografía

Alzugaray, D. y Alzugaray, C. (1984) *Plantas que Curan*. Grupo de Comunicação Três, São Paulo, S.P., Brasil, Vol. 3, p. 264.

Anaya, A.L. (1981) Importancia de la alelopatía dentro de la ecología química, En: Peña A., Drucker, R.C., y Tapia, R. (Eds) *Temas selectos de fisiología celular*. UNAM. México, 69-99 pp.

Anaya, A.L., Calera, M. R., Mata, R. and Pereda-Miranda, R. (1990) Allelopathic potential of compounds isolated from *Ipomoea tricolor* CAV. (Convolvulaceae). *Journal of Chemical Ecology* 16, 2145-2152

Anaya, A.L., Ramos, L., Hernández, J.G. y Cruz, R. (1987) Allelopathy in Mexico. En: G.R. Waller (ed.), *Allelochemicals: Role in Agriculture and Forestry*. American Chemical Society Symposium series 330, Washington, D.C., pp. 89-101.

Caamal, M.J.A. (1985) Algunos aspectos ecológicos de un sistema agrícola de policultivo en una zona tropical húmeda. Tesis profesional. Fac. de Ciencias, UNAM. México.

Datta, S.C., y Sinha Roy, S.P. (1974) Allelopathy and inhibitors. *Science and Culture* 40 (2), 47-59.

Díaz, J.L. (1977) *Usos de las Plantas Medicinales de México*. Instituto Mexicano para el estudio de las Plantas Medicinales, A.C., México, p. 66.

Einhellig, F.A (1989) Interactive effects of allelochemicals and environmental stress. En C.H Chou y G.R. Waller (eds.), *Phytochemical Ecology: Allelochemicals Mycotoxins and Insect Pheromones and Allomones*. Institute of Botany, Academia Sinica Monograph Series No. 9 Taipei, Taiwan, pp. 101-118.

Grieve, M. (1982) *A Modern Herbal* 2a. ed. Dover Publications, New York, p. 220.

Hegnauer, R. (1964) *Chemotaxonomie der Pflanzen* Birkhäuser Verlag, Stuttgart, Vol. 3, p. 547-561.

Howard, F. H., y Peterson, J.K. (1986) Allelopathic effects of sweet potatoes (*Ipomoea batatas*) on yellow nutsedge (*Cyperus esculentus*) and alfalfa (*Medicago sativa*). *Weed Sci* 34, 623-627.

Inoue, M., Nishimura, H., Li, H-H. and Mizutani, J. (1992) Allelochemicals from *Polygonum sachalinense* FR SCHM. (POLYGONACEAE). *Journal of Chemical Ecology*, 18, 1833-1841.

Li, Hai- Hang., Nishimura, H., Hasegawa, K., and Mizutani, J. (1992) Allelopathy of *Sasa cernua*. *Journal of Chemical Ecology* 18, 1785-1795

Mannich, C. y Shumann, P. (1938) Jalap resin and its principal constituent, convolvulin. *Archiv der Pharmazie* 276, 211-226.

Martinez, M. (1979) *Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas*. Fondo de Cultura Económica, México.

Millspaugh, C.F. (1974) *American Medicinal Plants* Dover Publications, New York, pp. 479-480.

Molish, H. (1937) *Der einfluss einer pflanze auf die andere allelopathie*. Gustave Fisher Verlag, Jena.

Noda, N., Kobayashi, H., Miyahara, K. y Kawasaki, T. (1988) Resin glucosides. II. Identification and characterization of the component organic and glycosidic acids of the crude resin glycoside from the seeds of *Ipomoea muricata*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* 36, 627-633.

Noda, N., Ono, M., Miyahara, K., Kawasaki, T. y Okabe, M. (1987) Isolation and structure elucidation of orizabin- I, II, III, and IV, genuine resin glycosides from the root of *Ipomoea orizabensis*. *Tetrahedron* 43, 3889-3902.

Noda, N., Yoda, S., Kawasaki, T. y Miyahara, K. (1992) Resin glycosides. XV. Simonins I-V, ether-soluble resin glycosides (jalapins) from the roots of *Ipomoea batatas* (cv. Simon). *Chemical Pharmaceutical Bulletin* 40, 3163-3168.

Ono, M., Kawasaki, T. y Miyahara, K. (1989) Resin glucosides. V. Identification and characterization of the component organic and glycosidic acids of the ether-soluble crude resin glycosides ("jalapin) from rhizoma jalapae brasiliensis (roots of *Ipomoea operculata*). *Chemical Pharmaceutical Bulletin* 37, 3209-3213.

Pereda-Miranda, R., Mata, R., Anaya, A.L., Wickramaratne, D.B., Pezzuto J., and Kinghorn D. (1993) Tricolorin A, mayor Phytogrowth inhibitor from *Ipomoea tricolor*. *Journal of Natural Products* 56, 571-582.

Peterson, J.K. y Harrison Jr., H.F. (1991) Isolation of substance from sweet potato (*Ipomoea batatas*) periderm tissue that inhibits seed germination. *Journal of Chemical Ecology* 17, 943-951

Putnam, A.R. y Tang, Ch-S (1986). The science of Allelopathy. Wiley-Interscience. U.S.A, 317 pp.

Rice, E.L. (1979) Allelopathy. 1a ed. Academic Press. New York, 353 p p.

Rice, E.L. (1984) Allelopathy. 2a ed. Academic Press. New York, 422 p p.

Roig y Mesa, J.T. (1974) *Plantas Medicinales, Aromáticas o Venenosas de Cuba*. Instituto del Libro. La Habana, Cuba, p. 124

Schultes, R.E. 1982. *Plantas alucinógenas*. La Prensa Medica Mexicana. México, 160 p p.

Shultes, R.E. y Hofmann, A. (1979) *Plants of the Gods: Origins of Hallucinogenic Use*. Mcgraw Hill Book Co. England, p. 190.

Singhvi, N.R., y Sharma, K.D. (1984) Allelopathic effects of *Ludwigia adscendens* Linn. and *Ipomoea aquatica* Forsk on seedling growth of pearl millet (*Pennisetum typhoideum* Rich). *Trans. Isdt & Ucds*. 9 (2), 95-100.

Trease, G.E y Evans, W.C. (1988) *Tratado de Farmacognosia*. 12a. ed. Editorial Interamericana, México, pp. 491-492.

Tukey, H.B. (1969) Implications of allelopathy in agricultural plant science. *The Bot. Rev.* 35, 1-16.

Wagner, H. (1973) The chemistry of resin glycosides of the convolvulaceae family. *Nobel Symposium 25*, 235-240.