

60  
2es



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

" POTENCIAL ALELOQUIMICO DE *Stauranthus perforatus*  
Liebm. (RUTACEAE) 'TANKASCHÉ' "

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el título de

B I O L O G O

Presenta

CLARA GARCIA SANTANA.



CIUDAD UNIVERSITARIA

MEXICO, D.F. 1995

FALLA DE ORIGEN

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

625



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule  
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Ciencias  
P r e s e n t e

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

" Potencial Aleloquímico de *Stauranthus perforatus* (Rutaceae)  
' Tankasché' "

realizado por Clara García Santana.

con número de cuenta 8823324-8 , pasante de la carrera de Biología.

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis  
Propietario

Dra. Ana Luisa Anaya Lang.

Propietario

Dra. Rachel Mata Essayag.

Propietario

M. en C. Andrea Torres Barragán.

Suplente

M. en C. Helia Reyna Osuna Fernández.

Suplente

Biol. Helvia Rosa Pérez y Vidales.

FACULTAD DE CIENCIAS

Consejo de Facultad de Biología

M. en C. Alejandro Martínez Mena.

COORDINACION GENERAL  
DE BIOLOGIA

**JURADO:**

Dra. Ana Luisa Anaya Lang.

Dra. Rachel Mata Essayag.

M. en C. Andrea Torres Barragán.

M. en C. Helia Reyna Osuna Fernández.

Biol. Helvia Rosa Pelayo Benavides.

El presente trabajo se realizó bajo la dirección de la Dra. Ana Luisa Anaya Lang (laboratorio de ecología química del Instituto de Fisiología Celular UNAM) y de la Dra. Rachel Mata Essayag (Departamento de Farmacia de la División de Bioquímica, Facultad de Química UNAM).

## AGRADECIMIENTOS

Doy mi mas sincero agradecimiento a las siguientes personas:

A la Dra. Ana Luisa Anaya por su constante apoyo y motivación durante la realización de este trabajo.

A la Dra, Rachel Mata Essayag por su valiosa asesoría y constanate apoyo durante el trabajo.

A la técnico Blanca Estela Hernández Bautista, por su constante ayuda y apoyo durante la realización de este trabajo.

A la M. en C. Mónica Raquel Calera Medina, por su valiosa asesoría

A la Biol. Helvia Rosa Pelayo Benavides, por sus importantes comentarios

A la M.en C. Andrea Torres Barragan, por su asesoría y sus comentarios.

A la Q.F.B. Perla Sanchez por la ayuda brindada y por la identificación de los compuestos.

A Laura Saldivar Tanaka y a Ma. del Carmen Flores Carmona, por su valiosa colaboración.

Esta tesis esta dedicada especialmente

A MI PADRE:

Arturo García Rodríguez

Con respeto y cariño.

A mis hermanos, con entrañable cariño:

Arturo, Ismael

Jesus y Jose Luis

A Rosa María.

Con afecto.

A toda mi familia.

A mis compañeros y amigos:

Alberto, Alfonso, Ana, Beatriz, Blanca,

Por los buenos tiempos

Eva, Leopoldo, Neria, y Ricardo.

Alejandra, Angelica, Dolores, Gabby

Por su amistad incondicional

Helia, Jaina, Lilia y Mariliza.

durante nuestra bendita carrera.

Rafael y Ricardo Martínez.

Por ser tan especiales.

A todos ellos como homenaje a los grandes amigos.

## INDICE

	Pagina
RESUMEN .....	1
I. INTRODUCCION .....	3
1. La Ecología Química y la Alelopatía.....	3
2. Modos de Accion de los Alelopáticos. ....	6
3. El Suelo y los Alelopáticos. ....	8
II. ANTECEDENTES. ....	10
1. Las Rutaceas y los Aleloquímicos. ....	10
2. Alcaloides.....	10
3. Cumarinas .....	11
4. <i>Stauranthus perforatus</i> .....	15
5. Justificacion.....	16
III. OBJETIVOS.	
1. Objetivo general .....	17
2. Objetivos específicos .....	17
IV. MATERIALES Y METODOS.	
1. Material Biológico.....	18
2. Evaluaciones biológicas preliminares.....	18
2.1. Lixiviados acuosos.....	18
2.2 Extractos orgánicos.....	19



3. Fraccionamiento del extracto.....	20
3.1. Pruebas sobre semillas.....	22
3.2. Pruebas sobre semillas pregerminadas.....	22
3.3. Pruebas sobre hongos fitopatógenos.....	22
4. Pruebas en invernadero.....	24
5. Pruebas sobre <i>Sitophylus zeamis</i> (plaga de granos almacenados)..	25
6. Pruebas de toxicidad en ratones.....	26
V. RESULTADOS Y DISCUSION	
1. Evaluaciones biológicas preliminares.....	27
1.1. Lixiviados acuosos.....	27
1.2. Extracto orgánicos.....	28
2. Fraccionamiento del extracto.....	29
2.1. Pruebas sobre semillas.....	32
2.2 Pruebas sobre semillas pregerminadas.....	36
2.3. Pruebas sobre hongos fitopatógenos.....	38
3. Experimentos en invernadero.....	41
4. Pruebas sobre <i>Sitophylus zeamis</i> .....	46
5. Pruebas de toxicidad en ratones.....	48
VI. CONCLUSIONES.....	50
VII. RECOMENDACIONES.....	51
VIII. LITERATURA CITADA.....	52
IX. LITERATURA CONSULTADA.....	56

## RESUMEN

*Stauranthus perforatus* L. (Rutaceae) es una especie utilizada (sólo en México) con fines medicinales para combatir los dolores de cabeza, la epilepsia, como anestésico y para los "malos aires".

Considerando que las plantas medicinales constituyen una fuente potencial de principios bioactivos, y que las especies de la familia Rutaceae contienen metabolitos secundarios (particularmente cumarinas y alcaloides) que pueden desempeñar un papel importante en las interacciones planta-planta y planta-microorganismo, se realizó un estudio fitoquímico biodirigido de la raíz de *Stauranthus perforatus*. Los bioensayos consistieron en la evaluación del efecto de extractos y compuestos aislados sobre: a) germinación y crecimiento radical de *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*; b) crecimiento radical de semillas pregerminadas de *A. hypochondriacus*, y c) crecimiento radial de 2 especies de hongos fitopatógenos: *Alternaria* sp. y *Fusarium oxysporum*. También se evaluó el efecto de la raíz y hojas incorporadas al suelo, sobre el potencial florístico del mismo; el efecto de la raíz sobre una plaga de granos de almacén (*Sitophilus zeamais*), y la posible toxicidad de estos granos, sobre ratones.

El extracto acuoso mostró una actividad inhibitoria significativa sobre el crecimiento radical de *A. hypochondriacus* (71.4%) en los diferentes bioensayos realizados. Posteriormente, el fraccionamiento biodirigido del extracto cloroformo-metanólico 1:1 condujo al aislamiento de la xantiletina, sesamina, pellitorina y una furano-cumarina aún no descrita en la literatura.

En las pruebas sobre semillas, se observó que la xantiletina mostró un efecto inhibitorio de la germinación y crecimiento de *A. hypochondriacus*;

mientras que la pellitorina es la que mas afectó el crecimiento radical de *E. crusgalli*.

La fracción 105-106 (300 ppm) mostró alta actividad antifúngica contra las dos especies de hongos; a 500 ppm, la fracción 31-36 fué mas activa para *Alternaria sp.*, mientras que para *F. oxysporum*, fué la fracción 53-59.

En las pruebas en invernadero, se observó que las hojas de *Stauranthus perforatus*, incorporadas al suelo, son las que demostraron el mayor efecto alelopático sobre el crecimiento de malezas.

Es altamente probable que la pellitorina y la sesamina sean las responsables de la actividad insecticida mostrada por la raíz de la planta sobre *Sitophylus zeamais* ya que éstas, han sido reportadas con estas propiedades además, es la primera vez que se describe al efecto inhibitor del crecimiento vegetal de la pellitorina.

Los granos de maíz utilizados en las pruebas con insectos, no mostraron ningún efecto sobre los ratones de prueba.

## I.- INTRODUCCION

### I.1 La Ecología Química y la Alelopatía.

Dentro de las comunidades, en todos los ecosistemas, muchas especies interactúan químicamente entre sí mediante la producción y liberación de metabolitos secundarios que pueden funcionar como atrayentes, estimuladores o inhibidores. Este fenómeno es materia de estudio de la ecología química.

La ecología química ha tenido un auge enorme en los últimos años debido en parte, al rápido incremento en la identificación de moléculas orgánicas en microcantidades, y, al conocimiento que los ecólogos han generado sobre el importantísimo papel que tienen estas sustancias, particularmente metabolitos secundarios como alcaloides, taninos y terpenoides, en las complejas relaciones que existen entre animal- animal, planta-animal o planta-planta, en el medioambiente (Harborne, 1989). Por ello es importante el redescubrimiento de la riqueza potencial de los vegetales, como fuente de una gran diversidad de compuestos que pueden ser utilizados en beneficio del hombre.

Dentro de la ecología química podemos reconocer diversos campos de estudio, por ejemplo, la alelopatía que es definida por Rice (1984) como cualquier efecto benéfico o perjudicial, directo o indirecto, de una planta sobre otra (incluyendo a los microorganismos), por medio de la producción de compuestos secundarios liberados al medio.

Varios tipos de metabolitos secundarios implicados en la alelopatía han sido discutidos con detalle por Rice (1979, 1984), Thompson (1985), y Putnam y Tang (1986). La mayoría de los metabolitos secundarios se producen a través de vías metabólicas secundarias, a partir de vías metabólicas principales; generalmente

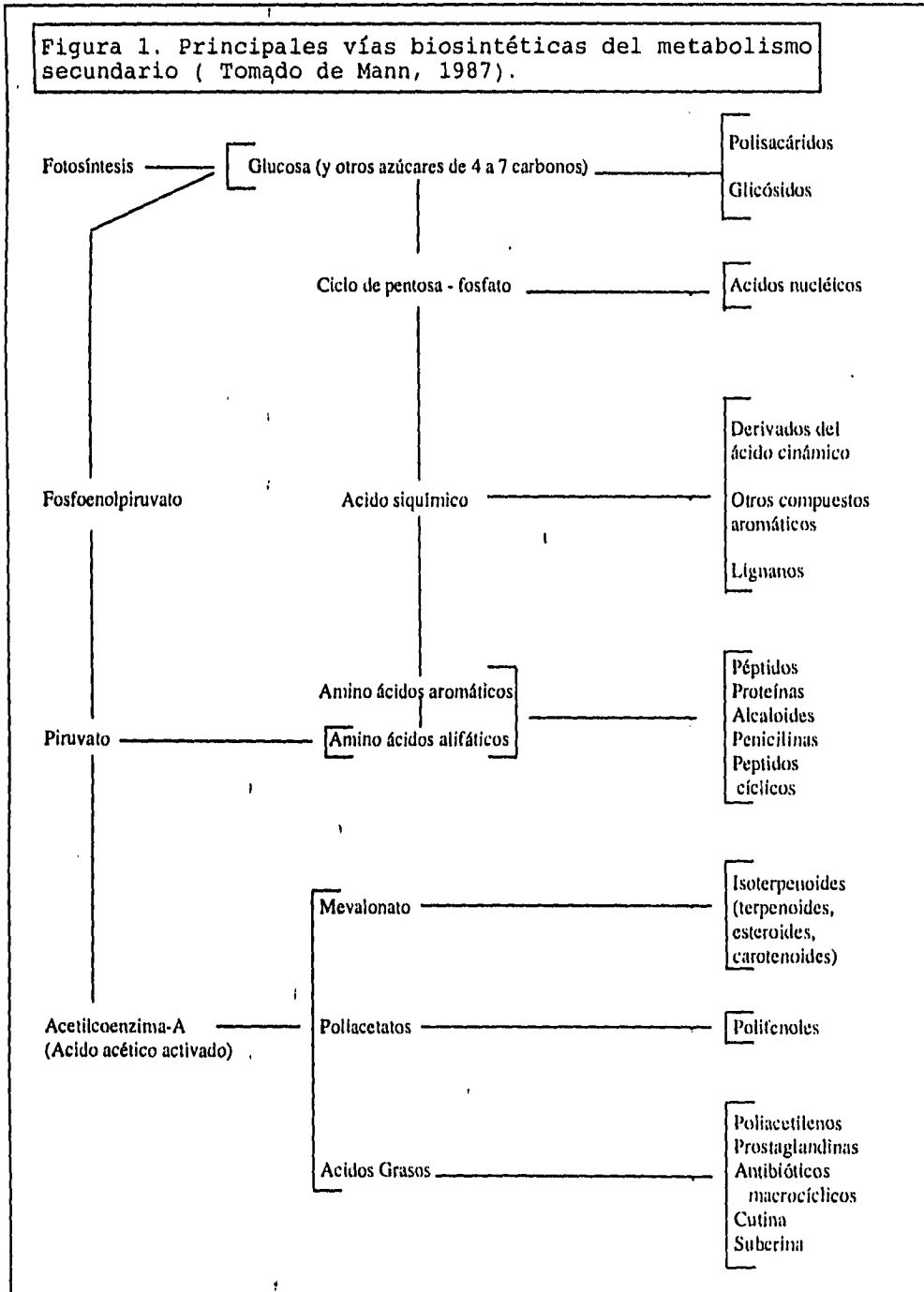
tienen su origen en las vías del ácido siquímico y del acetato, cuyas principales rutas de biosíntesis se muestran en la figura 1 (Mann, 1987).

La función de los metabolitos secundarios en la comunicación química entre los organismos, es de vital importancia para diversos procesos biológicos y ecológicos, como la defensa, la atracción de presas, la repelencia de depredadores, la supresión de competidores, la atracción de la pareja y por lo tanto la reproducción, el marcaje territorial, etc. A grandes rasgos, estos metabolitos secundarios se pueden clasificar en dos grupos: 1) Las feromonas, que son compuestos secundarios que median interacciones entre organismos de la misma especie; 2) los aleloquímicos que intervienen en las interacciones entre organismos de diferente especie.(Anaya, 1981).

Los metabolitos secundarios son muy variados y tal vez más numerosos que los primarios (proteínas, carbohidratos, lípidos, ácidos nucleicos), pero a diferencia de éstos, la mayoría no desempeña un papel metabólico fundamental en el organismo que los produce.

Los productos secundarios pueden ser clasificados, desde el punto de vista biosintético, en cinco grandes categorías: fenilpropanos, acetogeninas, terpenoides, esteroides y alcaloides (Whittaker y Feeny, 1971). El destino de estos compuestos secundarios es muy diverso, muchos de ellos pueden perjudicar a la planta que los produce, por ello, ésta debe deshacerse de ellos o neutralizarlos, ya sea que les adicione algún radical para tornarlos inocuos, los almacene en células muertas (duramen de la madera) o los descargue al exterior por diversos caminos como la lixiviación de la superficie foliar, gutación, exudación de las raíces, volatilización o descomposición (Anaya, 1981).

Figura 1. Principales vías biosintéticas del metabolismo secundario ( Tomado de Mann, 1987).



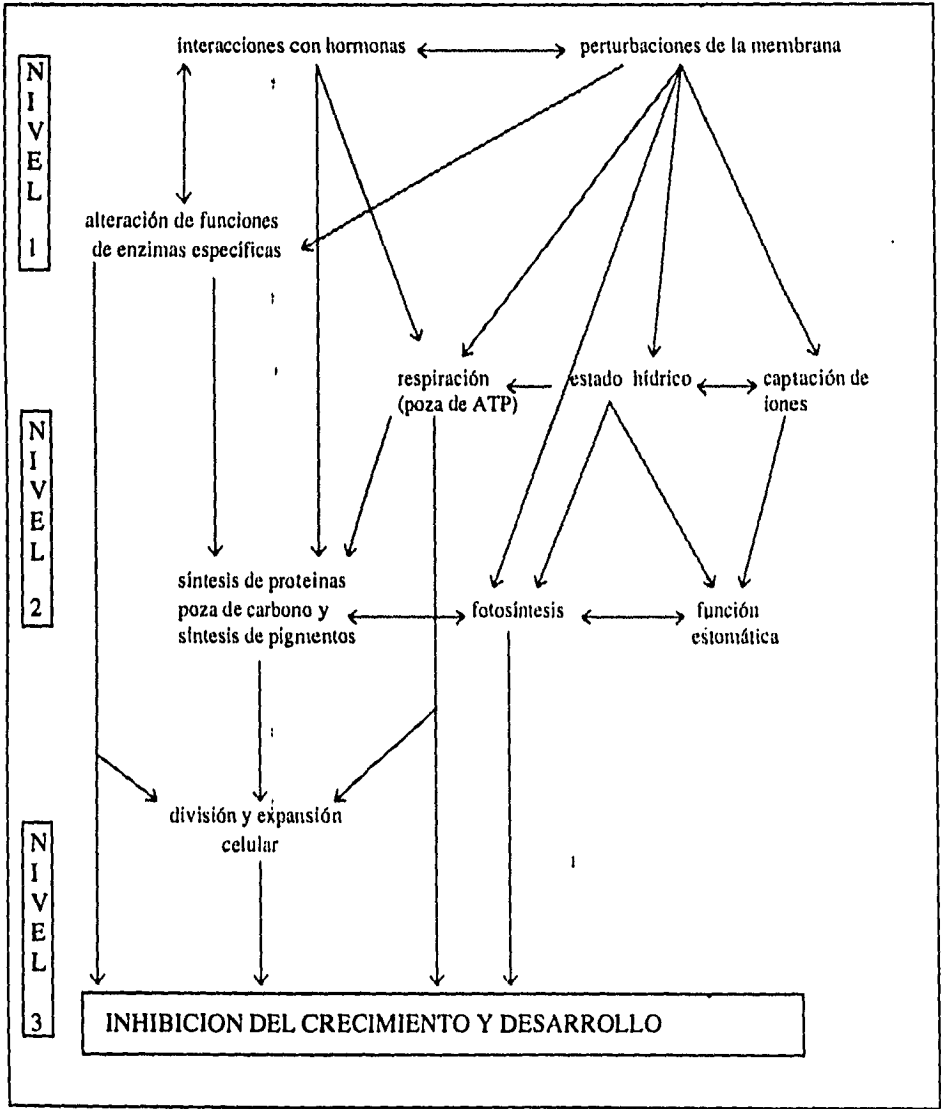
## I.2. MODOS DE ACCION DE LOS ALELOPÁTICOS

Los modos de acción a través de los cuales los compuestos alelopáticos alteran el crecimiento, el desarrollo, la reproducción o la salud de las plantas son difíciles de poner en evidencia. En general, sólo se evalúan procesos como la inhibición del crecimiento radicular o la germinación de las semillas; sin embargo, la alteración de estos procesos es en realidad, el resultado de los efectos primarios que ocurren a nivel fisiológico o bioquímico.

El modo de acción de los alelopáticos puede darse en forma directa o indirecta. Los que actúan de manera directa inciden sobre varios aspectos del crecimiento y del metabolismo de las plantas, a través de los llamados efectos primarios, alterándolos desde un nivel celular. Einhellig (1986) sugiere que las perturbaciones de las membranas y las interacciones con fitohormonas pueden ser dos de los modos primarios de acción de estos compuestos, y que éstos no son mutuamente excluyentes. La figura 2, muestra una posible secuencia de los modos de acción de los ácidos fenólicos y sustancias cercanamente relacionadas.

Los alelopáticos que actúan de manera indirecta, producen efectos a través de la alteración de las propiedades del suelo y su estatus nutricional, así como de cambios en las poblaciones de los organismos del suelo y por lo tanto, de su actividad nociva o benéfica. Esto consecuentemente, afecta el vigor y crecimiento óptimo de las plantas.

Figura 2. Niveles de acción de los Aleloquímicos. (Tomado de Einhellig, 1986)





### **1.3. El suelo y los alelopáticos**

El suelo es uno de los sitios donde se depositan y actúan los alelopáticos. El número de casos en que estos compuestos se han aislado e identificado y se ha demostrado que están relacionados con la inhibición de determinadas plantas en el medio, es aún pequeño. Esto se debe a la complejidad del problema, ya que junto con los alelopáticos, están involucrados, directa o indirectamente, otros factores, como los organismos patógenos del suelo, las deficiencias nutricionales y las propiedades físicas de los suelos (Anaya, 1981).

Los alelopáticos depositados en el suelo, generalmente provienen de exudados de las raíces de las plantas que los producen, de lixiviados de las hojas y los troncos, de toxinas que son elaboradas por los microorganismos como producto de su metabolismo, o por descomposición de la materia orgánica muerta.

Los aleloquímicos pueden ser transportados en la fase de vapor del suelo, como solutos en la fase acuosa o adheridos a las partículas del mismo; sin embargo, muchos procesos y factores pueden influir en el transporte de compuestos orgánicos en el suelo, como la estabilidad y reactividad del aleloquímico, las propiedades físicas y químicas del suelo (conductividad eléctrica, pH, capacidad de intercambio catiónico, contenido de materia orgánica y de arcilla), las condiciones ambientales en relación con la temperatura y la humedad, el estado fenológico y la actividad de las plantas y los microorganismos presentes; de todos éstos, la retención y la transformación (degradación) ocupan un lugar importante (Cheng, 1995).

El proceso de retención puede ser irreversible, si los compuestos químicos quedan adheridos al suelo y no están disponibles para la planta, o reversible

cuando solamente se retarda el transporte de los aleloquímicos. Frecuentemente, el proceso de retención se considera como una partición o división de los compuestos químicos entre la fase acuosa y la superficie de las partículas sólidas del suelo, y se asume que es irreversible y está en equilibrio. Los mecanismos que controlan la cinética de retención y activación de la energía requerida para liberar los compuestos químicos de la superficie de las partículas, son aún desconocidos.

El proceso de transformación (degradación) de la materia orgánica, puede inactivar ó incrementar el potencial alelopático de un compuesto químico o de un suelo. Se ha puesto especial atención a los procesos de transformación que llevan a cabo los microorganismos, en los cuales se basa el reciclaje de elementos y compuestos en el ecosistema.

Los aleloquímicos pueden ser altamente reactivos, como consecuencia, las reacciones entre éstos y los minerales del suelo son muy variables e impredecibles; por ejemplo, muchos ácidos fenólicos son rápidamente oxidados por el óxido de manganeso, que es común en el suelo. Este tipo de reacción química puede transformar los compuestos químicos rápidamente sin darles tiempo de expresar su potencial alelopático, esto determina que pierdan su fitotoxicidad (Cheng, 1995).

La influencia de la materia orgánica del suelo sobre la estabilidad de los aleloquímicos fue demostrada por Lehmann y Cheng (1988), quienes observaron que los ácidos fenólicos son más estables en la superficie de suelos de bosque que en suelos agrícolas cultivados, debido a que la materia orgánica en los suelos boscosos, reduce las posibilidades de reacción con el óxido de manganeso sobre la superficie. Esta reactividad puede ser reducida si la materia orgánica es removida del suelo mediante una oxidación.

## **II.- ANTECEDENTES**

### **II.1. Las rutáceas y los aleloquímicos**

La familia de las Rutaceas posee una gran riqueza de metabolitos secundarios. En diversos estudios realizados sobre esta familia, se han aislado e identificado diversos compuestos con actividad biológica. Además ha sido descrita como productora de aleloquímicos (Basquin et al., 1967), algunos de los cuales poseen propiedades alelopáticas (Berembaum, 1988)

Entre los compuestos caracterizados en especies de Rutaceas se encuentran los siguientes: alcaloides, cumarinas, agliconas flavonoides, glicósidos, cromonas, acetofenonas y terpenoides tetracíclicos altamente oxidativos (limonoides y cuasinoides), entre otros (Waterman, 1993). Dos de los grupos más abundantes dentro de las rutaceas son las cumarinas y los alcaloides.

### **II.2. ALCALOIDES**

La mayoría de los alcaloides se encuentran en el reino vegetal. El 40% de todas las familias de plantas poseen alcaloides, pero en las Rutaceas son muy comunes. La importancia de los alcaloides en el metabolismo de las plantas ha sido muy debatido, sin embargo, son numerosas las evidencias en relación a su papel como protectores contra el ataque de herbívoros y también como almacenes de nitrógeno.

Debido a sus propiedades bioactivas, algunas medicinales, los alcaloides son de gran interés para el ser humano; muchos de ellos son usados como drogas (atropina, morfina, cocaína y colchicina), otros como estimulantes (caféina y teobromina), y otros más como alucinógenos (mescalina). La clasificación de los alcaloides está basada en su

estructura y en su origen biosintético. De todos los grupos, solo algunas isoquinolinas están presentes en las Rutaceas; sin embargo, las quinolinas, las acridinas y las furoquinolinas son mayoritarias en especies de esta familia (Price, 1963; Watermann and Ground, 1985). Por ejemplo, en la ruda, *Ruta graveolens*, se han identificado todos los alcaloides del tipo quinoleínas. Algunos alcaloides encontrados en las Rutaceas, así como sus propiedades, se muestran en la tabla 1.

### II.3. CUMARINAS

Más de 700 compuestos cumarínicos han sido aislados de plantas. Existen tres grandes clases de cumarinas: las cumarinas simples, las furanocumarinas y las piranocumarinas.

Las cumarinas simples se han aislado de más de 100 familias de plantas superiores; las furano y piranocumarinas que usualmente se encuentran en estado libre en raíces y frutos, están restringidas principalmente a dos grandes familias de plantas, las Umbelliferae y las Rutaceae (Harborne and Baxter 1993).

Las furanocumarinas tienen mayor actividad biológica que las cumarinas simples; en particular, muestran efectos de fototóxicidad (Towers, 1980) y muchas son alergénicas (Mitchell and Rook, 1979). También se ha demostrado que tienen una cierta toxicidad sobre los insectos, aun cuando algunos de ellos son capaces de bloquear el efecto de estas toxinas (Berembaum and Zangerl, 1988). Para los mamíferos y los humanos, las cumarinas más peligrosas son las aflatoxinas, las cuales son hepatotóxicas, y el dicumarol que tiene efectos anticoagulantes. Actualmente se sabe que algunas cumarinas tienen actividad alelopática, pues a bajas concentraciones, las cumarinas simples y el ácido-*cis* cinámico, parecen estimular el crecimiento de plantas, y algunas otras furanocumarinas inhiben la germinación de semillas (Sinha-Raj et al, 1976. Citado por Gray, 1978.). Algunas de las cumarinas aisladas de la familia de las Rutaceas se muestran en la tabla 2.

Tabla 1: Algunos alcaloides aislados de las Rutaceas.

ALCALOIDES	ESPECIES	ACTIVIDADES
<b>ISOQUINOLINAS</b>		
<b><math>\alpha</math>-Allocriptopina</b> ( $\alpha$ -fagarina)	Excepcionalmente en <i>Zanthoxylum</i> spp.	Agente oxit6xico
<b>Canadina</b>	<i>Fagara rhoifolia</i> , <i>Zanthoxylum brachiacanthum</i> y <i>Z. veneficium</i> .	Actúa como hipotensivo.
<b>Fagaridina*</b>	<i>Zanthoxylum</i> spp. y <i>Z. tessmanii</i> .	No reportada.
<b>Fagaronina*</b>	<i>Z. zanthoxilloides</i> y otras Rutaceas.	Antitumoral, antibacterial, inhibe la transcriptasa reversa en varios virus.
<b>Magnoflorina</b> (talictrina, corytuberina, etc.)	<i>Zanthoxylum</i> spp.	Bloquea los agentes neuromusculares y es hipotensivo en roedores.
<b>Nitidina*</b> (angolinina)	<i>Zanthoxylum americanum</i> , <i>Z. clava</i> y <i>Fagara</i> spp.	Antitumoral, inhibe la transcriptasa reversa de varios virus oncogénicos.
<b>Sanguinarina</b> (pseudofuquelitrina)	<i>Zanthoxylum</i> spp.	Antibacteriana, antiinflamatorio, citot6xico, etc.
<b>QUINOLINAS</b>		
<b>Acronidina*</b>	<i>Acronychia baueri</i> , <i>Melicope leptococca</i> y <i>Sarcomeliope leiocarpa</i> .	No reportada.
<b>Acronicidina*</b>	<i>Acronychia baueri</i> y <i>Melicope fareana</i> .	Depresor del sistema nervioso central.
<b>Acronicina*</b>	<i>Acronychia baueri</i> , <i>A. haplophylla</i> y <i>Melicope leptococca</i> .	Agente antitumoral, puede ser carcinogénico.
<b>Acrofillina*</b>	<i>Acronychia haplophylla</i>	No reportada
<b>Arborina*</b> (glicosina)	<i>Glycosmis arborea</i> , <i>Ruta graveolens</i> y <i>Zanthoxylum budrunga</i> .	Hipotensivo e inhibidor del agonista del S.N.C.
<b>Arborinina*</b>	<i>Glycosmis arborea</i> , <i>Fagara lepreurii</i> , <i>Euodia xanthoxylodes</i> , <i>R. graveolens</i> , <i>T. natalensis</i> y otras.	Actividad espasmolítica.
<b>Atalantina*</b>	<i>Atalantia ceylanica</i> (sin. <i>A. wightii</i> )	La infusión de las hojas es aplicada para calmar la comezón y otras enfermedades de la piel.
<b>Balfourodinium*</b>	<i>Balfourodendron nedelianum</i> y <i>Choisya ternata</i> .	Inhibidor del crecimiento de plantas.
<b>Bucaralna*</b>	<i>Haplophyllum bucharicum</i>	Hipotérmico y supresor agresivo de las respuestas a estimulaciones eléctricas en ratas.
<b>Casimiroina*</b>	<i>Casimiroa eludis</i>	No reportada.
<b>Cusparina*</b>	<i>Galipea officinalis</i>	Antiespasmódico, antipirético, antidisentérico, antidiarreico, etc.
<b>Dictamnina*</b> (dictamina)	<i>Dictamnus</i> , <i>Atraegle</i> , <i>Esenbeckia</i> , <i>Ruta</i> , <i>Zanthoxylum</i> , <i>Geijera</i> , etc.,	Antibacteriana, antifúngica y estimulador de contracciones musculares.

Tabla 1: continuación.

<b>Dubamina*</b>	<i>Haplophyllum dubium</i> y <i>H. latifolium</i> .	Fuerte agente antimicrobiano
<b>Dubinidina*</b>	<i>Haplophyllum dubium</i>	Depresor del S.N.C., tiene actividad hipotérmica..
<b>Evoprenina*</b>	<i>Euodia alata</i>	No reportada.
<b>Evoxanthidina*</b>	<i>Euodia xanthoxyloides</i> .	No reportada.
<b>Evoxina*</b> (haploperina)	<i>Orixa japónica</i> , <i>E. xanthoxyloides</i> , <i>Teclea boiviniana</i> , <i>Moniera trifolia</i> , y <i>Haplophyllum</i> spp..	Efectos sedantes y espasmolíticos, actividad moderada como inhibidor del sabor en insectos.
<b>γ-Fagarina*</b> (haplofina, aegelinina, etc.)	<i>Fagara coco</i> , <i>Zanthoxylum</i> spp, <i>Aegle marmelos</i> , <i>Dictamnus angustifolius</i> , etc.	Anti-arrítmico, principal de <i>F. coco</i> .
<b>Flindersina*</b>	<i>Haplophyllum perforatum</i> , <i>Flindersia australis</i> .	No reportada.
<b>Gallipina*</b>	<i>Cusparia febrifuga</i>	Actividad antiespasmódica.
<b>Graveolina*</b> (rutamina)	<i>Ruta graveolens</i> y <i>R. bracteosa</i>	No reportada.
<b>Haplofilidina*</b>	<i>Haplophyllum perforatum</i> .	Hipnótico sinergista y fuerte depresor del S.N.C.
<b>Maculina*</b>	<i>Esenbeckia litoralis</i> , <i>Teclea simplicifolia</i> , <i>Flindersia maculosa</i> , <i>F. dissosperma</i> , <i>Sargentea greggii</i> .	No reportada.
<b>Melicopicina*</b>	<i>Acronychia baueri</i> , <i>Melicope leptococca</i> <i>Teclea boiviniana</i> ..etc.	No reportada.
<b>Pteleatina*</b>	<i>Ptelea trifoliata</i> .	Antibacterial contra <i>Mycobacterium smegmatis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Candida albicans</i> ,
<b>Robustina*</b>	<i>Dictamnus caucasicus</i> , <i>Zanthoxylum</i> spp, <i>Haplophyllum robustum</i> , etc.	Fuertes efectos barbitúricos.
<b>Ribalinium*</b>	<i>Ruta graveolens</i> y <i>Baltuorodendrum riedelianum</i> .	Gangliopélgico e inhibidor del crecimiento en plantas. sus sales son moderadamente antibacterianas.
<b>Robustina*</b>	<i>Toddalia aculeata</i> , <i>Haplophyllum robustum</i> , <i>Dictamnus caucasicus</i> , <i>Thamnosma montana</i> .	Produce potentes efectos barbitúricos.
<b>Rutacridona*</b>	<i>Ruta graveolens</i> y <i>Ruta chalepensis</i> .	No reportada.
<b>Rutacridona epoxica*</b>	<i>Ruta graveolens</i> .	Fuerte actividad antibacterial y antimicrbial.
<b>Skimmianina*</b> (cloroxilonina, β-fagarina, etc:)	muy común en las rutaceas: <i>Ruta g.</i> , <i>Glycosnis</i> , <i>Flindersia</i> , <i>Haplophyllum</i> , <i>Zanthoxylum</i> y <i>Murraya</i> spp.	Analgésico, anticonvulsivo, antipirético, toxico en <i>Candida albicans</i> y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .
<b>Veprisinium*</b>	<i>Vepris louisii</i>	El extracto es usado contra enfermedades de la piel de origen bacteriano.

\* Aisladas solo de rutaceas.

Tabla 2: Algunas cumarinas aisladas de las Rutaceas.

CUMARINAS	ESPECIES	ACTIVIDADES
<b>Alloimperatorina</b> (prangenidina)	<i>Aegle marmelos</i> , <i>Poncirus trifoliata</i> , y <i>Thamnosoma montana</i> .	Inhibidora del crecimiento de microorganismos.
<b>Bergapten</b> (bergapteno, heracina)	<i>Citrus bergamia</i> , <i>Fagara spp</i> y <i>Ruta graveolens</i> .	Tóxico para peces, sapos y caracoles. Es letal y causa efectos clastogénicos en cultivos celulares de mamíferos.
<b>Byakangelicina</b>	<i>Citrus spp.</i>	Inhibe la gonadotropina coriónica humana y en animales de laboratorio.
<b>Chalepensisina</b> (xitolenina)	<i>Ruta graveolens</i> , <i>Psilopeganum sinense</i> y <i>Boenninghausenia spp.</i>	Causa antifertilidad en ratas, en dosis no tóxicas.
<b>Decursinol</b>	<i>Aegle marmelos</i>	Disminuye la frecuencia cardiaca de células de miocardio en cultivo.
<b>Hellettina *</b> (calepina)	<i>Helietta longifolia</i> y <i>Ruta chalepensis</i>	Inhibidora tumoral in vitro
<b>Herniarin</b> (ayapanina)	<i>Ruta montana</i>	Actividades antifúngicas y antibacterianas
<b>Imperatorina</b> ( ammidina, marmelosina, etc.)	<i>Citrus meyeri</i> , <i>Aegle marmelos</i> , <i>Pastinaca</i> , <i>Angelica</i> y <i>Heracleum spp.</i>	Antimutagénica, tóxica para sapos y peces.
<b>Isopimpinellina</b>	<i>Citrus aurantifolia</i>	Efectos pesicidas y antifungicos, actividad tuberculostática.
<b>Luvangetina</b>	<i>Luvunga scandens</i> , <i>Chloroxylon swietenia</i> y <i>Hesperethusa crenulata</i> .	Actividad antifúngica moderada.
<b>Micromelina</b> (micromelumina)	<i>Micromelum integerrimum</i>	Actividad antitumoral reportada.
<b>Nodakenetina</b>	<i>Chloroxylon</i> y <i>Ptelea spp.</i>	inhibe la agregación de plaquetas humanas in vitro
<b>Osthol</b>	<i>Citrus</i> , <i>Clausenia</i> , <i>Creortidium</i> y <i>Haplophyllum spp.</i>	Actividad antimutagénica y propiedades antimalaríales.
<b>Ostruthina</b>	<i>Eriostemon tomentellus</i> , <i>Luvunga eleutherandra</i> y otros géneros.	Antifúngica, antibacterial y actividades antimalaríales.
<b>Psoralen</b> (licusina)	<i>Phebalium argenteum</i> , <i>Ficus carica</i> y <i>Xanthoxylum flavum</i> .	Actividad fotosensibilizante, inhibidora del crecimiento, etc.
<b>Rutamarina *</b> (acetato de calepina)	<i>Ruta graveolens</i> , <i>Boenninghausenia japonica</i> y <i>Chloroxylon swietenia</i> .	Actividad antitumoral contra las células HeLa, bloqueando la síntesis de DNA;
<b>Rutarina *</b> (campesénina)	<i>Ruta graveolens</i> y <i>Ruta chalepensis</i> .	Actividades antibacterianas y antifúngicas moderadas.
<b>Scoparona</b> (dimetoxi-cumarina, etc.)	<i>Fagara macrophylla</i> y <i>Zanthoxylum schinifolium</i> .	Actividad antihepatotóxica, movilización del calcio en el músculo liso.
<b>Seselina</b> (amirolina)	<i>Citrus aurantium</i> , <i>Haplophyllum dubium</i> <i>Flindersia bennettiana</i> y <i>Myrtopsis spp.</i>	Actividad antifungica contra <i>Curvularia lunata</i> y <i>Aspergillus niger</i> .
<b>Umbelliferona</b> (skimmetina, hydrangina, etc.)	<i>Aegle marmelos</i> y <i>Citrus grandis</i>	Antibacteriana y antifúngica; es usada en cremas y lociones.
<b>Xantoxina</b> (amoidina, methoxalen, etc.)	Es muy común en los géneros: <i>Ruta</i> y <i>Fagara</i> .	Antibacteriana inhibidora del crecimiento, espasmolítica, entre otros.

\* Aisladas solamente de Rutaceas.

#### II. 4. *Stauranthus perforatus* (Rutaceae)

##### Ubicación Taxonómica

La ubicación taxonómica de *Stauranthus perforatus* Liebm., de acuerdo con Gray'S (1950) es la siguiente:

Reino	Plantae
División	Spermatophyta
Subdivisión	Angiospermae
Clase	Dicotyledonae
Orden	Geraniales
Familia	Rutaceae
Género	<i>Stauranthus</i>
Especie	<i>S. perforatus</i> Liebm.

##### Características Generales.

Los individuos de esta especie son árboles o arbustos, con ramas pardo-rojizas, hojas unifoliadas, con el ápice repentinamente acuminado, coriáceas y de color verde brillante, la venación del envés es plana o prominulosa; el eje foliar es delgado pero prominente, el haz está densamente glánduloso y su venación es prominulosa. Las hojas miden de 6 a 9.5 cm de largo y 1.3 a 2.5 cm de ancho

Los peciolos son firmes, miden de 5 a 8 mm de largo y son subcilíndricos. Presenta pocas flores, en pequeños racimos o panículas terminales o axilares; pedicelos sólidos de 2 mm de largo; caliz de 1.8 mm de ancho, los lóbulos son muy obtusos; ovario liso; fruto globoso, alrededor de 8 mm. de diámetro; semillas globosas, de 7 mm. de diámetro.



## II.5. JUSTIFICACION

En México existen muchas especies de rutaceas que no han sido estudiadas desde el punto de vista fitoquímico, ni alelopático. Una de ellas es *Stauranthus perforatus*, que junto con otras especies de rutaceas como *Zanthoxylon fagara*, *Esenbeckia pentaphylla* y *Pilocarpus racemosus*, son conocidas por el nombre de Tankas-ché. Todas ellas son árboles hasta de 15 m de altura que se distribuyen casi exclusivamente en la península de Yucatán, en las selvas medianas y bajas de esa región.

Por su abundancia, los árboles de *Stauranthus perforatus* son elementos importantes en el estrato medio de las selvas. En algunas localidades se les da un uso medicinal (hojas y raíces) como remedio para los dolores de cabeza, para combatir la epilepsia y para los malos aires.

Por lo anterior, el estudio de *Stauranthus perforatus* es importante, pues contribuirá al conocimiento de nuevos y diversos metabolitos secundarios de las Rutaceas, que pueden tener un uso potencial en beneficio del hombre, y en un futuro pueden darnos alternativas para resolver problemas de control de plagas y malezas, entre otros.

### III.- OBJETIVOS

#### III.1. GENERAL

1) Determinar el potencial aleloquímico de *Stauranthus perforatus* por medio de un estudio fitoquímico biodirigido, e iniciar el aislamiento e identificación de los constituyentes bioactivos.

#### III.2. ESPECIFICOS

1.1) Realización de bioensayos con lixiviados acuosos y extractos orgánicos de *Stauranthus perforatus* sobre:

a.- Germinación y crecimiento radical de una dicotiledonea (*Amaranthus hypochondriacus*) y una monocotiledonea (*Echinochloa crusgalli*).

b.- Crecimiento radial de hongos fitopatógenos (*Alternaria sp.* y *Fusarium oxysporum*)

1.2) Fraccionamiento del extracto orgánico de la raíz, con el fin de seguir la actividad biológica a través de los bioensayos antes mencionados, y facilitar la purificación y aislamiento de los constituyentes bioactivos.

1.3) Evaluar el efecto de la raíz y las hojas de *S. perforatus*, incorporadas al suelo, sobre el Potencial florístico del mismo.

1.4) Evaluar el efecto de la raíz sobre insectos plaga de granos almacenados (*Sitophilus zeamais*).

1.5) Evaluar su toxicidad en ratones.

## **IV. MATERIALES Y METODOS**

### **IV.1. MATERIAL BIOLÓGICO**

La planta fué colectada (en 1993) en el municipio de Carrillo Puerto, Quintana Roo y fué identificada en el herbario del Instituto de Biología de la UNAM. Para este trabajo se utilizaron las hojas y la raíz las cuales se secaron a temperatura ambiente.

### **IV.2. EVALUACIONES BIOLÓGICAS PRELIMINARES**

Se realizaron pruebas preliminares con la raíz y las hojas de *Stauranthus perforatus* por separado, poniendo en práctica los siguientes procedimientos y bloensayos. Todas las pruebas realizadas a lo largo de todo el trabajo, se resumen en la figura 3

#### **IV.2.1. Lixiviados acuosos.**

Se prepararon lixiviados acuosos de cada una de las partes de la planta, a una concentración del 1 Y 2%, poniendo a remojar el material vegetal en agua destilada durante 3 horas. Los lixiviados se filtraron con papel filtro Whatman No.4, y se les midió la presión osmótica (osmómetro de punto de congelación Osmette A) para asegurar que ésta no fuera muy alta y afectara por sí sola a los organismos de prueba (7 y 17 mosm.)

Los lixiviados acuosos se probaron sobre la germinación y el crecimiento radical de una dicotiledonea, *Amaranthus hypochondriacus* L. (Amaranthaceae) y una monocotiledonea, *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv. (Poaceae); las cuales son especies de fácil manejo, alta viabilidad y germinación. Además, A.

*hypochondriacus* es un semicereal de importancia económica y la *E. crusgalli* esta considerada dentro del grupo de las 10 malezas más importantes a nivel mundial.

Los bioensayos se realizaron en cajas de Petri de 5 cm de diámetro. En cada caja se agregaron 1.5 ml del lixiviado correspondiente. Los controles se prepararon con 1.5 ml de agua destilada.

En cada caja se sembraron 10 semillas de la especie respectiva. Las cajas se colocaron en una estufa a 27° C y en la oscuridad. Los experimentos se realizaron bajo un diseño de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones por tratamiento. Después de 24 horas se midió la longitud radicular de *A. hypochondriacus*, y después de 48 horas la de *E. crusgalli*; asimismo, se determinó el porcentaje de germinación. Los resultados obtenidos se analizaron por medio de un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias (Duncan  $\alpha = 0.05\%$ ) (fig. 3).

#### **IV.2.2. Extractos orgánicos**

10 g de raíz y hojas de *S. perforatus* secas y molidas, se maceraron por separado en metanol durante 48 horas a temperatura ambiente. Los extractos se filtraron a través de papel filtro Whatman No. 4. Después de filtrados, el disolvente se evaporó a sequedad.

La actividad alelopática de estos extractos fué determinada por medio de bioensayos sobre semillas, realizados en cajas de Petri de 5 cm de diámetro. En cada caja se colocó un círculo de papel filtro al que se le adicionó 1.5 ml del extracto disuelto en metanol, a diferentes concentraciones (50, 100 y 200 ppm). Las cajas abiertas se colocaron en una campana de extracción para evaporar el disolvente, y posteriormente se humedeció el papel con 1.5 ml de agua destilada.

A diferencia de los bioensayos anteriores (Inciso IV.2.1), aquí se utilizaron 2 tipos de testigos; al primero se le agregó 1.5 ml de disolvente al papel filtro, se dejó evaporar y luego se le adicionó 1.5 ml de agua; al segundo, sólo se le agregó 1.5 ml de agua destilada al papel filtro. Las condiciones experimentales de estos bioensayos fueron las mismas que para los anteriores (fig. 3).

### **IV.3. FRACCIONAMIENTO DEL EXTRACTO**

Con base en las pruebas anteriores, se realizó un extracto con cloroformo-metanol (1:1) de la raíz de la planta, como se muestra en la figura 4.

El extracto obtenido se fraccionó mediante una columna cromatográfica, utilizando como adsorbente 2.53 kg de gel de sílice desactivado (G60 Merck de 0.2-0.5 mm). El proceso de elución se efectuó con hexano, acetato de etilo y metanol en diferentes proporciones; se recogieron un total de 115 fracciones de 500 ml cada una. Cada fracción se analizó por cromatografía en capa fina, y se unieron aquellas que fueron similares.

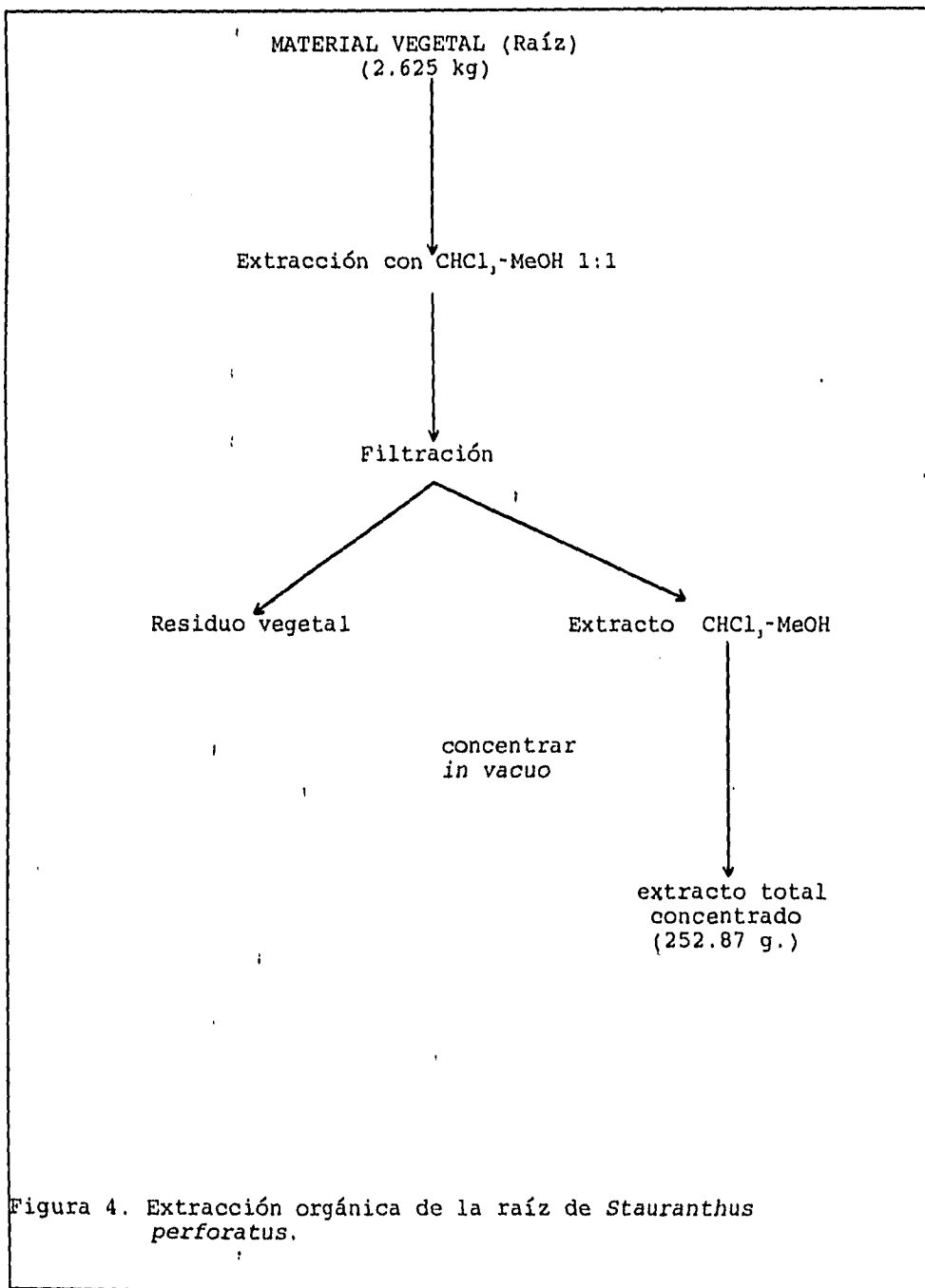


Figura 4. Extracción orgánica de la raíz de *Stauranthus perforatus*.

#### **IV.3.1. Pruebas sobre Semillas**

Todas las fracciones se probaron sobre las mismas especies de semillas, siguiendo un procedimiento similar descrito en el inciso b (extractos orgánicos) con el fin de seguir la actividad biológica e ir separando los compuestos responsables. Como las fracciones resultaron solubles en distintos solventes, se hicieron cinco bioensayos, cada uno de los cuales correspondía al solvente en el cual se disolvían las respectivas fracciones.

#### **IV.3.2. Pruebas sobre semillas pregerminadas.**

Se pusieron a germinar de 100 a 200 semillas de *A. hypochondriacus* sobre papel filtro humedecido en cajas de petri de 15 cm de diámetro durante 18 horas, en la oscuridad, a 27°C, con objeto de que la germinación se llevara a cabo (se consideró que las semillas habían germinado cuando la raíz protuyó). Esta prueba no se realizó con *E. crusgalli* debido a que se tenía poca cantidad de cada una de las fracciones. Posteriormente se escogieron al azar las plántulas, colocando 10 en cada caja de petri con los diversos tratamientos (50, 100 y 200 ppm). Estos bioensayos se realizaron bajo un diseño de bloques completamente al azar, con cuatro repeticiones por tratamiento y en las mismas condiciones arriba descritas. Después de 24 horas se midió la longitud de la radícula. los datos se analizaron mediante la prueba de t-Student (fig.3).

#### **IV.3.3. Pruebas con hongos fitopatógenos**

Se escogieron dos especies de hongos fitopatógenos de importancia económica: *Alternaria sp* y *Fusarium oxysporum*. Los bioensayos se realizaron en cajas de Petri de 10 cm de diámetro; en cada caja se agregaron 10 ml de medio de cultivo PDA (papa-dextrosa-agar) y 10 ml de solución a 100, 300 y 500 ppm de la

fracción cromatográfica correspondiente, disuelta en agua destilada a baño maría. Al control sólo se le agregaron 10 ml de PDA y 10 ml de agua destilada. Una vez que el PDA se solidificó, se procedió a inocular cada caja con un inóculo de 7 mm de diámetro del hongo correspondiente, que se tomó de una cepa pura de ocho días de crecimiento. Las cajas se incubaron en una estufa a 27°C. El experimento se realizó bajo un diseño de bloques al azar con tres repeticiones por tratamiento.

El crecimiento radial de los hongos se midió dos veces, a los 3 y 8 días de la siembra del inóculo, tomando dos lecturas transversales del diámetro y promediándolas. Los datos obtenidos se analizaron por medio de un análisis de Varianza y pruebas de comparación de medias (Duncan  $\alpha = 0.05\%$ ).



#### IV.4. PRUEBAS EN INVERNADERO

Para determinar la acción fitotóxica de la raíz y las hojas de *Stauranthus perforatus* incorporadas por separado al suelo, se realizó un experimento en invernadero de la siguiente forma:

La raíz y las hojas se trituraron por separado en un molino mecánico; posteriormente se incorporaron al suelo en proporciones del 1 y 2%, en macetas de plástico (con capacidad de 250 g) como se muestra en la siguiente tabla:

Contenido por maceta					
Tratamientos (1%)	Tierra (g)	Vermiculita (g)	Herbicida (dosis)	Raíz (g)	Hojas (g)
Control negativo	247.5	2.5	-	-	-
Control positivo	247.5	2.5	5.6 kg/H	-	-
Raíz	247.5	-	-	2.5	-
Hojas	247.5	-	-	-	2.5
Tratamientos (2%)					
Control negativo	245.0	5.0	-	-	-
Control positivo	245.0	5.0	11.2 kg/H	-	-
Raíz	245.0	-	-	5.0	-
Hojas	245.0	-	-	-	5.0

El suelo utilizado fue colectado en San Pablo Oztotepec, Milpa Alta, D.F. Se secó al aire y se tamizó a través de una malla (1.41 mm) para eliminar los restos orgánicos y algunos organismos del suelo. Este suelo se eligió debido al abundante potencial florístico que posee.

Con la finalidad de comparar el efecto de un herbicida con el de la planta, se utilizó como control usando Dacthal w-75. El control negativo contenía sólo suelo. Para el caso del herbicida se utilizaron dos dosis: la dosis recomendada (11.2 kg/Ha) y una dosis baja (5.6 kg/Ha). Este experimento se realizó en el invernadero bajo un diseño de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones por

tratamiento. Semanalmente se realizó un conteo del número de malezas presentes en cada maceta. El experimento tuvo una duración de siete semanas. Los datos fueron procesados por medio de un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias (Duncan  $\alpha = 0.05\%$ ).

#### **IV.5. PRUEBAS SOBRE *Sitophilus zeamais* (plaga de granos de almacén)**

Se determinó el efecto de la raíz de *S. perforatus* secada, tamizada y molida (malla 0.297 mm), sobre la sobrevivencia de *Sitophilus zeamais* Mots (Coleoptera: Curculionidae), un gorgojo plaga de granos almacenados.

Los insectos fueron proporcionados por el laboratorio de toxicología del Instituto de Fitosanidad del Colegio de Posgraduados. En el laboratorio se mantuvieron en condiciones adecuadas dentro de frascos con semillas de maíz cachuazintle (*Zea mays* L. var. cachuazintle).

El experimento se realizó en frascos de plástico, cada uno conteniendo 100 g de maíz cacahuazintle. Los tratamientos fueron los siguientes:

- 1.- Control: Maíz solo.
- 2.- Maíz espolvoreado con 1g de raíz en polvo.
- 3.- Maíz con 2g de raíz en polvo.
- 4.- Maíz con 3g de raíz en polvo.
- 5.- Maíz con 4g de raíz en polvo.

Se colocaron 12 parejas de *Sitophilus zeamais* en cada frasco y el experimento se realizó bajo un diseño de bloques al azar con 4 repeticiones por tratamiento; al final del experimento se midió el porcentaje de sobrevivencia, mismo que se obtuvo contando el número de organismos vivos en cada frasco, al término

de 2 semanas de iniciado el experimento. Después de esto, los adultos, tanto vivos como muertos, se retiraron de todos los frascos.

#### **IV.6. PRUEBAS DE TOXICIDAD EN RATONES**

Se realizó también una prueba con ratones para determinar la posible toxicidad de los granos del maíz tratado con la raíz en polvo de *S. perforatus*.

En este experimento se usaron 20 ratones machos de la misma colonia, los cuales se dejaron en ayuno durante 24 horas. Posteriormente se separaron en cuatro grupos de cinco ratones cada uno; se pesaron individualmente y se les proporcionó como alimento los siguientes tratamientos:

- 1) dieta habitual, nutri cubos (Raison-ration). Control 1.
- 2) granos de maíz. Control 2.
- 3) granos de maíz previamente impregnados con raíz en polvo al 1% de *Stauranthus perforatus*.
- 4) granos de maíz, previamente impregnados con la raíz al 1%, enjuagados con agua común y secados para eliminar el polvo de la planta.

Se revisó diariamente que no les faltara agua ni alimento de su respectivo tratamiento y se realizaron observaciones de comportamiento frente al alimento. Una semana después, se dió por terminado el experimento, se pesó a cada ratón, obteniéndose así, el peso final. Además se midió la cantidad de alimento consumido en cada tratamiento.

## V.- RESULTADOS Y DISCUSION

### V.1. Evaluaciones biológicas preliminares:

#### V.1.1. Lixiviados acuosos

Los resultados obtenidos en los bioensayos realizados con los lixiviados acuosos de la raíz y las hojas de *Stauranthus perforatus* (tabla 3), mostraron una actividad inhibitoria significativa sobre el crecimiento radical de *A. hypochondriacus*; sin embargo, sobre *Echinochloa crusgalli*, sólo presentaron actividad los lixiviados al 2%. Con respecto a la germinación, esta no fué afectada. Estos resultados dieron una muestra de la fitotoxicidad de la planta, al afectar el crecimiento radical.

Tabla 3: Efecto de los lixiviados acuosos de *Stauranthus perforatus* sobre la germinación y el crecimiento radical de *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*

Tratamientos	<i>A. hypochondriacus</i>		<i>E. crusgalli</i>	
	Germinación (%)	Crecimiento (mm)	Germinación (%)	Crecimiento (mm)
<b>Raíz</b>				
Control	97.5	8.4 ± 0.65	85.0	24.8 ± 2
Lixiv. 1%	92.5	4.5* ± 0.65	95.0	19.9 ± 3.8
Lixiv. 2%	85.0	2.4* ± 0.3	87.5	18.6* ± 2.3
<b>Hojas</b>				
Control	97.5	13.7 ± 0.74	82.5	34.2 ± 3.3
Lixiv. 1%	97.5	7.3* ± 0.7	87.5	27.3 ± 6.8
Lixiv. 2%	85.0	5.7* ± 0.7	92.5	24.2* ± 2.6

\* Valores que difieren significativamente del control (Duncan,  $\alpha$  0.05). Cada cifra representa el promedio de 4 repeticiones.

### V.1.2. Extractos orgánicos

El efecto de los extractos metanólicos de la raíz y las hojas sobre el crecimiento y la germinación de las semillas de prueba, se puede observar en la tabla 4. La germinación fué afectada en ambas especies por el extracto de la raíz a 100 y 200 ppm. El extracto de las hojas sólo afecta ligeramente la germinación de *E. crusgalli*.

Todas las concentraciones del extracto metanólico de la raíz tuvieron un efecto significativo sobre el crecimiento radical de *A. hypochondriacus*, pero *E. crusgalli* sólo fué afectada a 200 ppm. El extracto metanólico de las hojas no mostró actividad sobre *A. hypochondriacus*, pero si afectó el crecimiento radical de *E. crusgalli* a 200 ppm.

Tabla 4: Efecto del extracto metanólico de *Stauranthus perforatus* sobre el crecimiento radical y la germinación de *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.

Tratamientos	<i>A. hypochondriacus</i>		<i>E. crusgalli</i>	
	Germinación (%)	Crecimiento. (mm)	Germinación (%)	Crecimiento. (mm)
<b>Raíz</b>				
Control	92.5	9.8 ± 0.46	82.5	21.1 ± 2.5
50 ppm	82.5	4.6* ± 1.5	82.5	16.3 ± 0.33
100 ppm	77.5	4.4* ± 0.63	77.5	15.6 ± 1.3
200 ppm	75.0	0.0* ± 0.0	75.0	13.6* ± 1.5
<b>Hojas</b>				
Control	92.5	11.6 ± 1.4	80	23.6 ± 3
50 ppm	92.5	10.8 ± 0.7	80	20.8 ± 4.3
100 ppm	92.5	10.4 ± 0.5	70	23.6 ± 1.5
200 ppm	95.0	10.6 ± 1.2	70	18.7* ± 2.2

\* Valores que difieren estadísticamente del control (Duncan,  $\alpha = 0.05$ ). Cada cifra representa el promedio de 4 repeticiones.

## V.2. FRACCIONAMIENTO DEL EXTRACTO.

El extracto clorofórmico-metanólico 1:1 obtenido de la raíz (252.87 g.) fué fraccionado mediante una cromatografía en columna, de la cuál se obtuvieron un total de 115 fracciones de 500 ml cada una. Todas estas fueron nuevamente cromatografiadas en capa fina para poder unir aquellas que fueran similares. El resumen de este fraccionamiento se muestra en la tabla 5.

En algunas fracciones se precipitaron compuestos (en polvo o en cristales) casi totalmente puros, y de los cuales se aisló lo siguiente: de las fracciones 27-28, una furano-cumarina; de la 38, un lignano; de la 40-41, una pirano-cumarina; y de la 42, una amida. Tres de estos compuestos ya han sido reportados en la literatura con los siguientes nombres: Xantiletina para la pirano-cumarina (González et al, 1982), como Pellitorina, la amida (Cremllyn, 1991); y como Sesamina, el lignano (William, 1962). Las estructuras de estos compuestos se muestran en la figura 5.

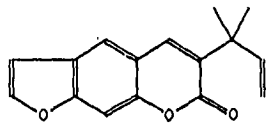
Todas las fracciones resultantes, así como los compuestos, fueron probados (a 100 ppm) sobre el crecimiento y la germinación de *A. hypochondriacus* y *E. crugalli*, sobre el crecimiento radical de semillas pregerminadas de *A. hypochondriacus* y sobre el crecimiento radial de dos hongos fitopatógenos: *Alternaria sp.* y *Fusarium oxysporum*.

Tabla 5. Resumen del fraccionamiento cromatográfico del extracto clorofórmico - metanólico (1:1) de *Stauranthus perforatus*

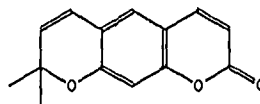
ELUYENTE	PROPORCIÓN (%)	No. FRACCIONES	FRACCIONES COMBINADAS	RENDIMIENTO (g)	COMPUESTO
Hexano	100	1 - 24	1 - 7	2.1627	
			8 - 15	11.6501	
			16 - 24	12.4598	
Hexano - AcoEt.	95:5	25 - 36	25 - 26	38.1864	
Hexano - AcoEt.	85 : 15		27-28 pd*	1.4709	Furano cumarina
			27-30	2.4859	
			31 - 36	1.6578	Sesamina Xantiletina Pellitorina
			38 pd*	0.112	
			40 - 41 pd*	2.0157	
			42 pd*	0.1251	
			37 - 42	6.4335	
			43 - 48	9.5246	
49 - 52	1.8537				
Hexano - AcoEt.	75 : 25	57 - 68	53 - 59	14.6632	
			60 - 71	1.6828	
Hexano - AcoEt.	65 - 35	69 - 80	72 - 78	4.695	
Hexano - AcoEt.	1 - 1	81 - 87	79 - 93	perdidas	
Acetato de etilo	100	94 - 101	94 - 101	8.7684	
AcoEt.- Metanol	1 - 1	102 - 111	102 - 104	64.0115	
			105 - 106	5.8962	
Metanol	100	112 - 115	107 - 115	18.1614	

\* Fracciones que produjeron precipitados.

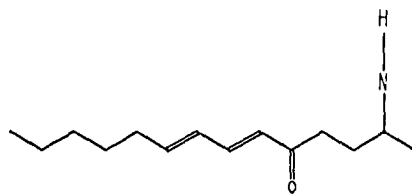
AcoEt = acetato de etilo.



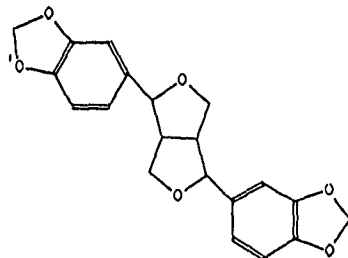
**Furano cumarina,**



**Xantiletina (pirano cumarina)**



**Peillitorina (amida)**



**Sesamina (lignano)**

**Figura 5: Estructuras de los compuestos aliados de *Stauranthus perforatus***

**Nota: estas estructuras fueron elucidadas por Perla Sanchez, como parte de su tesis de maestría. Facultad de Química UNAM.**



### **V.2.1. Pruebas con las fracciones cromatográficas, sobre la germinación y el crecimiento radical de *A. hypochondriacus* y *E. crusgalli*.**

Los resultados de las pruebas sobre semillas, se pueden observar en la tabla 6.

Los resultados muestran que el crecimiento radical de *A. hypochondriacus* es inhibido significativamente por la mayoría de las fracciones cromatográficas y sólo algunas afectan simultáneamente la germinación; en particular el precipitado de la fracción 40 (que seguramente contiene la mayor cantidad de piranocumarina (xantiletina)) que inhibe marcadamente ambos procesos. En el caso de *E. crusgalli* se observa que en general ambos procesos son menos afectados; el precipitado de la fracción 42 que corresponde a la amida (pellitorina), es más activo sobre el crecimiento radical. Las fracciones 40 (piranocumarina), 43-48, 49-50, 51-52 y 109-11 son las que más afectan la germinación de esta especie.

Siendo la fracción 40 la más activa, se realizó una curva concentración-crecimiento con el fin de detectar la mínima concentración en la cuál se veía afectado el crecimiento y la germinación de *A. hypochondriacus*. Estos resultados se muestran en la gráfica 1 en la que se puede apreciar que a 50 ppm se ve afectada significativamente el crecimiento y simultáneamente la germinación sin embargo, esta última es afectada desde la concentración de 10 ppm.

Tabla 6: Efecto de las fracciones cromatográficas del extracto CHCl<sub>3</sub>-MeOH (1:1) de *Stauranthus perforatus*, sobre la germinación y el crecimiento radical de *A. hypochondriacus* y *E. crusgalli*.

BIOENSAYO I

FRACCIONES (100 ppm)	<i>A. hypochondriacus</i>		<i>E. crusgalli</i>	
	GERMINACION (%)	CRECIMIENTO (mm)	GERMINACION (%)	CRECIMIENTO (mm)
Control (hexano)	77.5	6.7 ± 0.5	65.0	11.6 ± 2.06
1 - 7	82.5	2.65* ± 0.31	40.0	10.8 ± 1.7
8 - 15				
16 - 20	87.5	5.8* ± 1.02	67.5	13.1 ± 2.1
21 - 24				
25 - 26	82.5	5.4* ± 0.54	77.5	12.8 ± 1.0

BIOENSAYO II

Control (Acoet.)	87.5	7.8 ± 0.61	70.0	15.2 ± 1.8
40 pd (Pc) <sup>&amp;</sup>	5.00	0.87* ± 0.09	40.0	10.6 ± 2.1
42 fr.	25.0	2.7* ± 0.56	47.5	10.5* ± 1.8
53 - 59	67.0	2.3* ± 0.82	55.0	9.9 ± 3.2
65 - 71	72.5	4.8* ± 1.1	60.0	14.8 ± 4.7
79 - 85	90.0	5.7* ± 0.78	65.0	12.7 ± 2.8
95 - 99	87.5	6.6 ± 0.41	65.0	13.9 ± 0.8
102	55.0	3.45* ± 0.64	62.5	14.6 ± 3.03
103 - 104	97.5	5.87* ± 1.4	67.5	11.3 ± 0.85

BIOENSAYO III

Control (Acoet.)	85.0	13.3 ± 1.3	67.5	13.0 ± 2.1
27	95.0	7.05* ± 1.1	57.5	11.75 ± 1.6
27 pd. (Fc.) <sup>+</sup>	90.0	7.5* ± 0.84	52.5	12.2 ± 1.3
28	92.0	7.5* ± 0.6	50.0	11.5 ± 2.9
28 pd. (Fc.) <sup>+</sup>	70.0	2.92* ± 0.5	57.5	14.4 ± 1.97
29 - 30	92.0	6.9* ± 0.6	57.5	12.6 ± 3.8
31 - 36	72.5	3.3* ± 0.33	51.2	13.87 ± 2.9
37 - 38	70.0	5.4* ± 0.8	55.5	9.12 ± 16.3
38 pd. (lignano)	95.0	12.4 ± 1.9	42.5	11.9 ± 0.6
39	85.0	6.4* ± 1.5	45.0	10.4 ± 1.4
39 pd.	82.5	4.8* ± 1.1	52.5	10.7 ± 1.9
40	50.0	3.97* ± 0.12	47.5	9.65 ± 2.3
41	70.0	3.8* ± 0.5	52.5	9.05 ± 1.2
41 pd.	40.0	2.87* ± 0.7	42.5	8.7* ± 1.5
42 pd. (amida)	80.0	2.7* ± 0.7	57.5	7.4* ± 2.2
43 - 48	80.0	3.4* ± 0.16	35.0	8.5* ± 2.3
49 - 50	70.0	3.4* ± 0.5	40.0	8.8 ± 1.7
51 - 52	62.5	3.0* ± 0.16	35.0	8.7* ± 1.5
60 - 64	70.0	3.0* ± 0.14	70.0	11.5 ± 1.3

\* Valores que difieren estadísticamente del control (Duncan,  $\alpha = 0.05$ ). Cada cifra representa el promedio de 4 repeticiones. +) furanocumarina, &) piranocumarina y pd.) precipitado.

**Tabla 6 continuación:** Efecto de las fracciones cromatográficas del extracto CHCl<sub>3</sub>-MeOH (1:1) de *Stauranthus perforatus*, sobre la germinación y el crecimiento radical de *A. hypochondriacus* y *E. crusgalli*.

BIOENSAYO IV

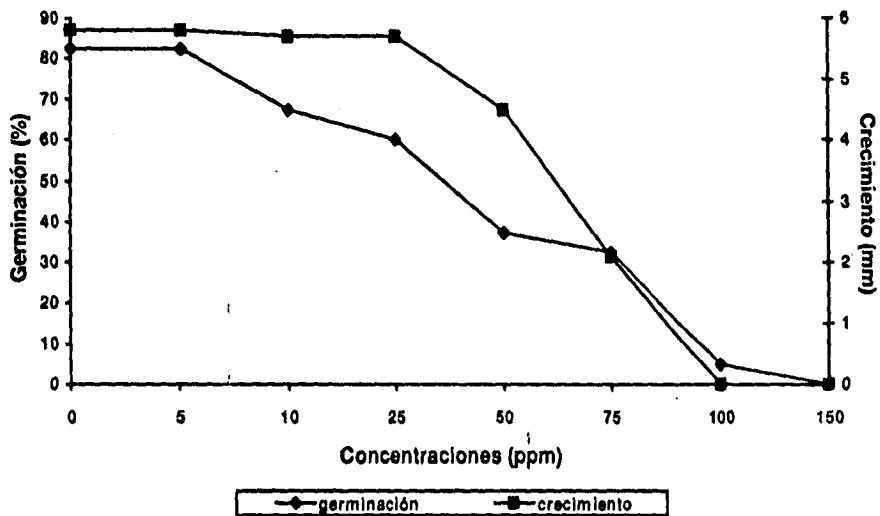
*A. hypochondriacus*

*E. crusgalli*

FRACCIONES (100 ppm)	GERMINACION (%)	CRECIMIENTO (mm)	GERMINACION (%)	CRECIMIENTO (mm)
Control (Acoet.)	87.5	9.6 ± 0.6	90	43.1 ± 2.7
72 - 74	85	8.8 ± 0.8	82.5	38.1 ± 3.1
75 - 78	85	10.4 ± 0.85	72.5	35.4 ± 3.5
94	87.5	11.3 ± 0.6	85.4	39.8 ± 4.7
100 - 101	80	7.17* ± 0.4	70	38.1 ± 2.2

BIOENSAYO V

Control (MeOH.)	92.5	6.25 ± 0.8	57.5	13.82 ± 2.1
105 - 106	92.5	5.67 ± 1.06	57.5	12.9 ± 1.92
107 - 108	92.5	5.4 ± 0.5	57.5	12.7 ± 1.04
109 - 111	82.5	5.8 ± 0.8	37.5	10.7 ± 2.9
112 - 115	85	7.25 ± 0.6	72.5	14.3 ± 2.3



Concentraciones (ppm)	0	5	10	25	50	75	100	150
Germinación (%)	82.5	82.5	67.5	60	37.5	32.5	5	0
Crecimiento (mm)	5.81	5.81	5.7	5.7	4.5	2.1 *	0 *	0 *

\* Valores que difieren significativamente del control (Duncan,  $\alpha = 0.05$ )

Grafica 1. Efecto de la concentración de la fracción 40 (xantiletina) de *Stauranthus perforatus*, sobre el crecimiento y la germinación de *A. hypochondriacus*.

### **V.2.2. Pruebas con las fracciones cromatográficas, sobre semillas pregerminadas de *A. hypochondriacus*.**

Cuando se realizan bioensayos para probar el efecto de lixiviados, extractos orgánicos, fracciones cromatográficas y compuestos puros diversos sobre la germinación y el crecimiento radical de diferentes plantas de prueba, el procedimiento general utilizado consiste en sembrar las semillas sin germinar, directamente sobre los tratamientos (como se ha descrito en los incisos a y b de materiales y métodos). Al terminar el bioensayo, los parámetros medidos son el porcentaje de germinación y el crecimiento radical en mm. Este tipo de bioensayo tiene como ventaja que se evalúan estos dos procesos a la vez, sin embargo, es importante reconocer que existe la posibilidad de que cuando la germinación se ve afectada por algún tratamiento, el efecto sobre el crecimiento puede verse enmascarado, y el resultado que estamos observando en realidad corresponde más al efecto sobre la germinación de las semillas que al efecto sobre el crecimiento en sí. Por este motivo, con el fin de depurar los resultados del efecto de las fracciones que resultaron activas sobre el crecimiento radical de las especies de prueba, se realizaron los bioensayos con semillas pre germinadas, los cuales nos permitieron observar el efecto de las fracciones exclusivamente sobre el crecimiento radical, sin que la germinación participara.

Los resultados de éstos los bioensayos se pueden observar en la tabla 7, donde se demuestra que la piranocumarina (xantiletina) es un compuesto que tiene efecto principalmente sobre la germinación, pues en las pruebas sobre semillas sin germinar (tabla 6, bioensayo II), inhibe un 95% la germinación de *A. hypochondriacus* y un 89% su crecimiento radical. Al desaparecer la interferencia de la germinación, provoca una inhibición menor sobre el crecimiento de la raíz (23, 28 y 18% de inhibición, a 50, 100 y 200 ppm respectivamente. Tabla 7). Esto quiere decir que en el primer bioensayo, la

Inhibición del crecimiento radical causada por la xantiletina está determinada en alto grado por la inhibición de la germinación. La fracción 42 también tiene un mayor efecto sobre el crecimiento cuando actúa primero sobre la germinación (tabla 6) en cambio, cuando actúa sobre las semillas pre germinadas, la inhibición sobre el crecimiento de la raíz disminuye un 30% aproximadamente, aunque es muy significativa todavía (tabla 7). El efecto de las fracciones 40, 53-59 y 102 también se apega en general a este mismo patrón. La única fracción que mantiene el mismo efecto sobre el crecimiento radical, inhibiéndolo entre un 64 aun 77%, interviniendo o no la germinación, es la 51-52, la cual tiene un efecto moderado sobre la germinación de *A. hypochondriacus*.

Tabla 7. Efecto de las fracciones cromatográficas de *S. perforatus* sobre el crecimiento radical de *A. hypochondriacus*.

FRACCIONES	% GERMINACION <sup>a</sup>	CRECIMIENTO (mm)		
		50 ppm	100 ppm	200 ppm
Control	89.75	20.4 ± 1.8	20.4* ± 1.8	20.4 ± 1.8
53-59	67.0	12.3* ± 0.9	10.3* ± 0.5	10.4* ± 1.1
51-52	62.5	7.3* ± 0.3	6.7* ± 0.6	5.8* ± 0.75
102	55.0	14.3* ± 0.6	14.1* ± 0.9	14.5* ± 0.6
40	50.0	14.8* ± 1.3	14.7* ± 2.2	15.1* ± 1.06
42	25.0	11.6* ± 1.2	10.5* ± 1.16	10.0* ± 1.1
Xantiletina	5.0	15.7* ± 2.9	14.7* ± 2.8	16.8* ± 1.4

\* Valores que difieren significativamente del control (Duncan,  $\alpha = 0.05$ ). Cada cifra representa el promedio de 4 repeticiones. <sup>a</sup> % germinación de los bioensayos anteriores

El efecto de la xantiletina sobre la germinación, coincide con los resultados obtenidos por Macías y colaboradores (1993) en un estudio que realizaron con compuestos (entre ellos la xantiletina) extraídos de las hojas de *Pilocarpus goudotianus* y probados sobre semillas de lechuga (*Lactuca sativa*). Además, existen otros reportes semejantes del efecto de la xantiletina (Amaro et al, 1990) y otras pirano cumarinas (Van sumere et al, 1974; Feuer, 1974;

Gerasimenco, et al, 1963. Citados por Gray, 1978) sobre el crecimiento y la germinación de semillas.

Por otro lado, de los compuestos identificados, la pellitorina (amida) inhibió fundamentalmente el crecimiento de las especies de prueba. Se creó que es la primera vez que se reporta a la pellitorina como inhibidora del crecimiento de plántulas pues anteriormente solo se había reportado como un insecticida (Casida, 1987; Matolesy et al, 1988; Cremllyn, 1991). Estos resultados son prueba del potencial alelopático de esta especie lo cuál, puede ser muy útil si se tiene en cuenta la importancia de la alelopaña en la gricultura tradicional.

### **V.2.3. Pruebas con las fracciones cromatográficas, sobre hongos fitopatógenos**

Los resultados de los bioensayos sobre *Alternaria sp.* y *Fusarium oxysporum*, se realizaron inicialmente a 100 ppm debido a que se ha reportado actividad de otros compuestos sobre hongos, a partir de esta concentración (Calera et al, en prensa); sin embargo, aunque se ha visto que algunas cumarinas tienen actividad antifúngica (Jurd et al, 1971 a,b), ninguna fracción ni compuesto de *S. perforatus* tuvo actividad sobre estas especies de prueba; por esta razón, estos resultados no se muestran. Posteriormente, se realizaron pruebas a concentraciones más altas, aunque sólo con algunas fracciones debido a la poca cantidad obtenida de la mayoría de ellas; esta limitante es frecuente en muchos estudios fitoquímicos. Los resultados de los bioensayos con las diversas concentraciones sobre los hongos, se muestran en la tabla 8.

Las fracciones 25 y 60-64 (300 ppm) muestran una inhibición significativa sobre las dos especies de prueba pero la fracción 105-106 sólo afecta el

crecimiento de *Alternaria sp.* A 500 ppm. La fracción 53-59 muestra una inhibición sobre *Alternaria sp.* mientras que *F. oxysporum* se ve afectado por la fracción 31-36.

Estos resultados indican que hay compuestos con actividad antifúngica en las fracciones probadas, y que no son precisamente las cumarinas, aunque éstas, la Xantiletina (pirano-cumarina) y la furano-cumarina aisladas, es posible que tengan actividad antifúngica sólo que en el presente trabajo no pudieron probarse por la poca cantidad que se obtuvo de ellas. Además, esto confirma aún más el potencial alelopático de *S. perforatus* la cuál, posiblemente utilice éstos compuestos para defenderse de un ataque fúngico sin embargo, es conveniente realizar investigaciones más completas para confirmar esto y, de ser posible, poder determinar si estos compuestos pueden tener alguna aplicación en la agricultura.



Tabla 8: Efecto de las fracciones de *Stauranthus perforatus* sobre el crecimiento radial (cm) de *Alternaria sp.* y *Fusarium oxysporum*.

	<i>Alternaria spp.</i>		<i>F. oxysporum.</i>	
<b>FRACCIONES</b>	<b>1ª LECTURA</b>	<b>2ª LECTURA</b>	<b>1ª LECTURA</b>	<b>2ª LECTURA</b>
<b>(300 ppm)</b>	<b>(3 días)</b>	<b>(8 días)</b>	<b>(3 días)</b>	<b>(8 días)</b>
Control	5.11 ± 0.4	6.81 ± 0.5	4.48 ± 0.8	6.3 ± 0.7
16 - 20	3.98* ± 0.91	5.6 ± 0.96	4.75 ± 0.13	6.6 ± 0.93
25	3.65* ± 0.61	4.7* ± 0.75	3.11* ± 0.07	4.3* ± 0.06
60 - 64	3.61* ± 0.32	5.0* ± 0.27	3.6* ± 0.15	4.9* ± 0.1
Control	4.11 ± 1.8	5.83 ± 3.1	5.83 ± 0.78	7.7 ± 2.2
105 - 106	1.76* ± 0.25	1.9* ± 0.22	6.25 ± 0.66	9.0 ± 0.0
107 - 108	3.3 ± 1.23	4.4 ± 3.17	6.16 ± 0.46	8.8 ± 0.14
109 - 111	3.87 ± 1.4	4.4 ± 1.9	5.05 ± 0.41	9.0 ± 0.0
<b>FRACCIONES</b>	<b>1ª LECTURA</b>	<b>2ª LECTURA</b>	<b>1ª LECTURA</b>	<b>2ª LECTURA</b>
<b>(500 ppm)</b>	<b>(3 días)</b>	<b>(8 días)</b>	<b>(3 días)</b>	<b>(8 días)</b>
Control	5.11 ± 0.4	6.8 ± 0.5	4.5 ± 0.8	6.3 ± 0.7
31 - 36	5.1 ± 0.45	6.6 ± 0.49	3.3* ± 0.53	5.1* ± 0.85
53 - 59	3.2* ± 0.25	4.5* ± 0.17	3.9 ± 0.4	5.0* ± 0.30
102	4.7 ± 0.07	6.2 ± 0.30	4.1 ± 0.43	5.6 ± 0.58

\* Valores que difieren estadísticamente del control (T > 0.1). Cada cifra representa el promedio de 3 repeticiones.

### V.3.- EXPERIMENTO EN INVERNADERO

#### **Efecto de la descomposición de la raíz y las hojas de *Stauranthus perforatus* incorporadas al suelo de macetas, sobre el potencial florístico.**

La finalidad de este experimento fué determinar si el potencial alelopático de *S. perforatus* se manifiesta cuando la planta es incorporada al suelo, influyendo sobre la germinación y el crecimiento de las especies que constituyen el potencial florístico del mismo. Los resultados obtenidos se muestran en las graficas 1 y 2.

La gráfica 2 muestra los resultados del experimento con los tratamientos a dosis baja (1%). A todo lo largo del experimento, la tendencia general muestra que las hojas de *S. perforatus* resultaron ser el tratamiento que más inhibió el crecimiento de malezas. El efecto del herbicida es muy semejante al de las hojas, sin embargo, el análisis de varianza indica que la inhibición de las malezas, causada por las hojas, es significativa a partir de la quinta semana y, en el caso del herbicida, hasta la sexta semana. También es posible apreciar que el efecto de la raíz, a partir de la tercera semana, es ligeramente estimulador sobre el número de malezas en comparación con el control.

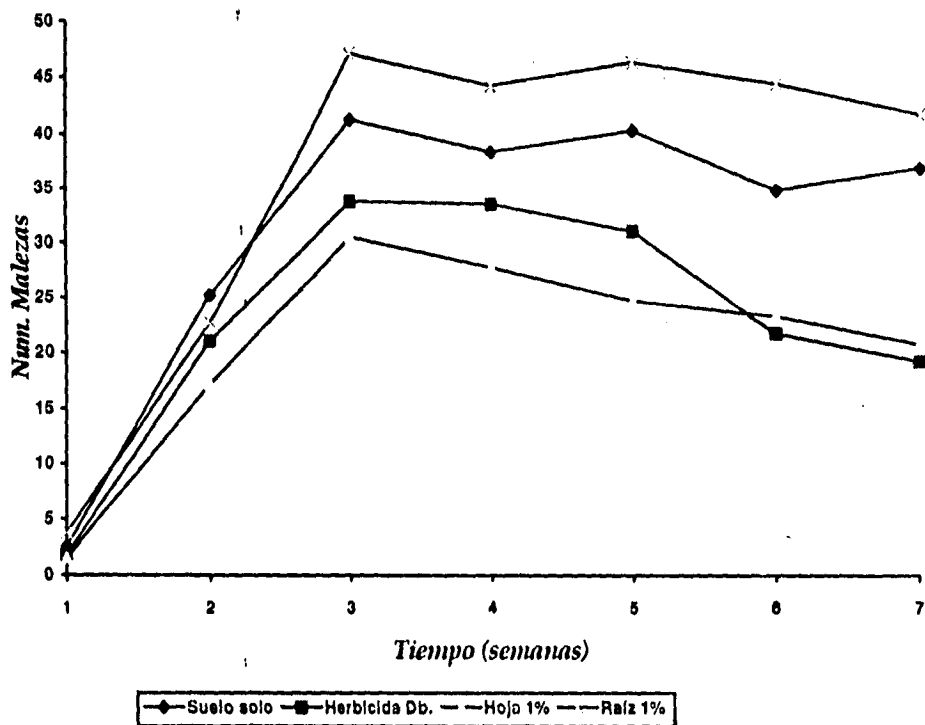
En la gráfica 3, se muestran los efectos de los tratamientos al 2%. En este caso, de la tercera a la quinta semana, se puede distinguir claramente que dos tratamientos afectan más el número de malezas: las hojas y el herbicida; los cuáles ejercen una inhibición significativa de las mismas a partir de la cuarta y quinta semana respectivamente, y los del control y la raíz de *S. perforatus*, no difieren entre sí. Sin embargo, a partir de la sexta semana, la raíz empieza también a afectar el número de malezas. Lo que probablemente sucede es que a esta proporción (2%), la descomposición de la raíz parece liberar y acumular

en el suelo diversos compuestos capaces de inhibir el desarrollo de las plantas, aunque su efecto se manifiesta de manera retardada, porque la raíz tarda mucho más que las hojas en descomponerse debido a su alto contenido en compuestos como la lignina. Sin embargo, no podemos afirmar que los principios activos sean los mismos en los dos órganos.

Estos resultados nos permiten sugerir que las hojas de *S. perforatus* incorporadas al suelo, pudieran ser utilizadas como un método alternativo para el control de malezas, durante los primeros dos meses de cultivo, y que la raíz probablemente pudiera utilizarse en el mismo sentido, con efectos retardados. Pero antes que esto pueda ponerse en práctica, es necesario realizar diversos experimentos *in vitro* y en macetas con suelo, semejantes a los realizados en el presente estudio, con el fin de evaluar el efecto de las hojas y la raíz de esta rutacea sobre el desarrollo de diversas especies cultivadas; de esta manera aseguraríamos que los cultivos no se afectaran por los lixiviados ó por la descomposición de la materia orgánica proveniente de la planta.

A bajas concentraciones, algunas cumarinas estimulan el crecimiento de diversas plantas, mientras que a concentraciones altas producen un efecto inhibitorio sobre las mismas. Es muy probable que las cumarinas también estén presentes en las hojas de esta planta (ya sean las mismas u otras) dado que se ha observado que la distribución de estas en las rutaceas es muy grande, encontrándose desde las hojas hasta las raíces, la corteza y los frutos (Gray et al., 1978). Sin embargo, con los datos obtenidos y a pesar de las evidencias, no es posible afirmar que las cumarinas sean las responsables de la inhibición del potencial florístico observado en el experimento en el invernadero. Para poder afirmar esto, debemos primero rastrear la presencia de estos compuestos durante el proceso de descomposición, pues los responsables de la inhibición, bien pudieran ser compuestos de naturaleza química diferente.

Los resultados ponen en evidencia el potencial alelopático de *Stauranthus perforatus*. El fenómeno de la alelopatía puede ser importante en el control de malezas que afectan a un sinnúmero de cultivos, que constituyen la base de la alimentación humana, entre otras cosas. Conociendo y utilizando de manera racional el potencial alelopático de muchas plantas como *S. perforatus*, puede evitarse el uso excesivo de los herbicidas, que afectan la economía del campesino y que producen efectos tóxicos sobre los animales y el hombre.



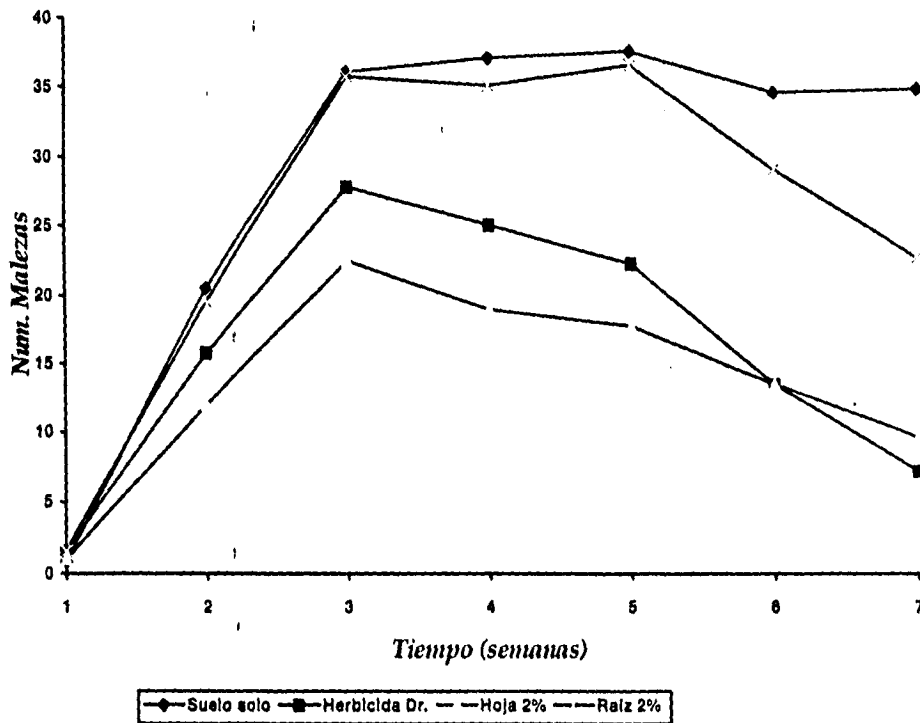
s e m a n a s

	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>
Suelo solo	2.5 ± 1.7	25.2 ± 9.1	41.2 ± 15	38.2 ± 15	40.2 ± 15	34.7 ± 17	36.7 ± 19
Herbicida D.b <sup>a</sup>	1.75 ± 0.9	21 ± 5.1	33.7 ± 9.4	33.5 ± 9.9	31.0 ± 9.2	21.7 ± 8	19.2 ± 7*
Hojas 1%	1.5 ± 1	17 ± 5	30.5 ± 6	27.7 ± 4.3	24.7 ± 7*	23.2 ± 5.6	20.7 ± 4*
Raíz 1%	3.7 ± 2.2	22.7 ± 8.9	47 ± 8.9	44.2 ± 6.8	46.2 ± 9	44.2 ± 10	41.5 ± 9

\* Valores que difieren estadísticamente del control (Duncan,  $\alpha = 0.05$ ).

<sup>a</sup> Dosis baja..

**Gráfica 2: Efecto de la raíz y las hojas (al 1%) de *Stauranthus perforatus*, incorporadas al suelo, sobre el número de malezas.**



	s e m a n a s						
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>
Suelo solo	0.75 ± 0.7	20.5 ± 5.9	36 ± 5	37 ± 8	37.5 ± 7.1	34.5 ± 9.8	34.7 ± 4.6
Herbicida D.r <sup>o</sup>	1.5 ± 1.7	15.7 ± 8.8	27.7 ± 13	25 ± 10.7	22.2 ± 9.1*	13.5 ± 5.1*	7.25 ± 3.4*
Hojas 2%	1 ± 0.6	12 ± 4.2	22.5 ± 5.8	19 ± 5.3*	17.7 ± 5.1*	13.5 ± 4*	9.75 ± 3.1*
Raiz 2%	1.5 ± 0.6	19.5 ± 6.1	35.7 ± 6.7	35 ± 5.3	36.5 ± 6.4	29 ± 4.7	22.7 ± 3.3

\* Valores que difieren estadísticamente del control (Duncan,  $\alpha = 0.05$ ). ° Dosis recomendada.

**Gráfica 3: Efecto de la raíz y las hojas (2%) de *Stauranthus perforatus*, incorporadas al suelo, sobre el número de malezas.**

#### V.4.- PRUEBAS SOBRE *Sitophylus zeamais*

Los resultados obtenidos en esta prueba se muestran en la tabla 9. El efecto mortal de la raíz sobre el gorgojo es muy claro, desde la dosis más baja, y se manifiesta totalmente al 3%.

Estos resultados pueden ser atribuidos a la presencia de dos de los compuestos que se aislaron en esta planta. Uno de ellos es la Sesamina (lignano), la cual ha sido reportada como un insecticida sinérgico es decir, que aumenta la actividad de otros compuestos insecticidas al actuar junto con ellos (William, 1962; Frear, et al, 1948). La sesamina fué el primer compuesto de tipo sinérgico de las piretrinas que se utilizó comercialmente (Holman, 1940); fué descrito por Cohen en 1938 y aislado por Haller y colaboradores en 1942. El otro compuesto es la Pellitorina (amida) que también se ha reportado como insecticida (Casida, 1987; Matolesy et al, 1988; Cremllyn, 1991).

En relación con el efecto insecticida de las amidas, Todd (1971, citado por Gray, 1978.) afirma que algunas de ellas con configuración *cis* en sus dobles enlaces, son más activas contra los insectos que las que tienen configuración *trans*. La pellitorina tiene una configuración *trans* en sus dobles enlaces, sin embargo, esto no le resta la posibilidad de ser uno de los responsables en la actividad observada sobre los insectos. Pudiera ser que la pellitorina fuera sumamente activa, pero también es posible que el efecto insecticida de la raíz en el experimento, se deba a un sinergismo ó una sumatoria de efectos entre los abundantes metabolitos bioactivos que *S. perforatus* contiene.

Debe aclararse que el sinergismo de la sesamina no es general, es decir, puede aumentar la actividad de algunos insecticidas pero no de todos. En este sentido se ha reportado que la sesamina es un fuerte sinergista de las piretrinas (Metcalf et al, 1955; Frear et al, 1948), y por otro lado, se ha reportado que la pellitorina es un insecticida parecido a las piretrinas (Cremlyn, 1991) aunque con una actividad limitada debido a su inestabilidad química (Cremlyn, 1991; Casida, 1977; Matolesy, 1988). De este modo convendría realizar pruebas de estructura-actividad con estos compuestos ya que posiblemente la sesamina, de alguna forma parece conferir estabilidad a la pellitorina.

Con base en estos antecedentes y los resultados obtenidos, se puede suponer que probablemente los dos compuestos, la sesamina y la pellitorina, son los responsables de esta actividad insecticida.

Tabla 9: Efecto de la raíz de *Stauranthus perforatus* sobre el índice de sobrevivencia de *Sitophilus zeamais*

TRATAMIENTOS	INDICE DE SOBREVIVENCIA*
Control	100
Raíz al 1%	9
Raíz al 2%	4.5
Raíz al 3%	0.0
Raíz al 4%	0.0

\* Valores promedio de 4 repeticiones



## V.5.- PRUEBAS PRELIMINARES DE TOXICIDAD EN RATONES

Una planta que presente un potencial insecticida como el caso de *Stauranthus perforatus*, puede ser utilizada para controlar plagas de granos almacenados, pero antes, es necesario determinar si no es tóxica para mamíferos; por ello, se realizó una prueba preliminar de toxicidad de la raíz en ratones de bioterio.

Los parámetros tomados en esta prueba fueron el peso inicial y final de los ratones, y la determinación de efectos dérmicos en los ojos y en las vías respiratorias.

Tabla 10 Peso, inicial y final de los ratones alimentados con maíz cacahuazintle impregnado con raíz molida de *Stauranthus perforatus*.

TRATAMIENTOS	PESO INICIAL (PI) *	PESO FINAL (Pf) *	PI - Pf
Control	20.38 ± 1.26	23.06 ± 1.02	1.68
Maíz solo1	23.46 ± 2.52	23.24 ± 2.49	-0.22
Maíz lavado	20.38 ± 1.05	17.5 ± 0.99	-2.88
Maíz impregnado.	19.52 ± 1.03	19.88 ± 0.31	0.36

\* Valores que difieren estadísticamente del control (Duncan,  $\alpha = 0.05$ ). Cada cifra es el promedio de 5 ratones.

En la tabla 10, sólo se muestran los resultados sobre el peso ya que no se observó ningún otro efecto. Los ratones en el control mostraron un ligero incremento de peso (1.68g) y los que fueron alimentados con el maíz solo, prácticamente mantuvieron su peso inicial. Es posible que los granos de maíz sean menos nutritivos que la dieta especial del control. Aunque los ratones que comieron el maíz impregnado y lavado, parecen sufrir un decremento en el peso, sin embargo, éste no es estadísticamente significativo. Los ratones que comieron el maíz impregnado no cambian su peso, pero a diferencia de los anteriores, estos ratones no consumieron completamente el maíz, lo que indica

que la raíz de esta planta tiene efectos antialimentarios en los ratones, los que además, pudieron haber disminuido su actividad metabólica, lo que les permitió, de alguna manera, conservar su peso.

Estos resultados son preliminares; es necesario realizar pruebas más completas en este sentido, para poder determinar los efectos de esta planta sobre los animales; hasta el momento, no se ha reportado nada sobre el efecto de esta especie sobre algún organismo, de hecho, este trabajo es el primer estudio fitoquímico y biológico de *S. perforatus*.

## VI.- CONCLUSIONES

- 1) De acuerdo con los resultados del presente trabajo, se confirmó que *Stauranthus perforatus* contiene compuestos fitotóxicos que afectan el crecimiento y la germinación de *Amaranthus hypochondriacus* y *Echinochloa crusgalli*.
- 2) Los constituyentes bioactivos que se aislaron e identificaron de la raíz de esta especie (Sánchez, en preparación) fueron: la pellitorina, la sesamina, la xantiletina y una furano cumarina.
- 3) Se comprobó que la xantiletina (piranocumarina) y la furanocumarina tienen un fuerte efecto fitotóxico sobre *A. hypochondriacus*.
- 4) También se confirmó que *Stauranthus perforatus* tiene un efecto insecticida muy pronunciado, el cual puede ser resultado de la presencia de la sesamina y la pellitorina, constituyentes de la planta.
- 5) La bioactividad de *S. perforatus* se manifestó también a través del efecto inhibitorio de algunas fracciones cromatográficas sobre hongos fitopatógenos.
- 6) Con los resultados obtenidos en el experimento en invernadero, se confirmó que esta especie posee un potencial alelopático, especialmente en las hojas, que actúa a través de la descomposición de su materia orgánica en el suelo.

## VII.- RECOMENDACIONES

1. Hacer un estudio fitoquímico con las hojas de *Stauranthus perforatus*.
2. Realizar estudios más profundos sobre la toxicidad de esta planta en humanos, para poder recomendar su uso como controladora de plagas de almacén.
3. Continuar con la separación y caracterización de los compuestos presentes en el extracto de la raíz, sobre todo de las fracciones que presentaron actividad antifúngica.
4. Realizar estudios del suelo en el cual crece esta planta, para detectar la presencia de fitotoxinas en él y poder determinar si esta especie (*Stauranthus perforatus*), puede ser utilizada como cultivo de cobertura para el control de malezas.

### VIII.- LITERATURA CITADA

Amaro-Luis, J.M., Massanet G.M., Pando E., Rodríguez-Luis, F. and Zubia E. 1990. New Coumarins from *Pilocarpus goudotianus*. *Planta Med.* 56:304-306.

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, pp. 69-99.

Baskin, J.M., Ludlow, C.J., Harris, T.M. and Wolf, F.T. 1967. Psorallen, and inhibitor in the seeds of *Psoralea subcaulis* (Leguminosae). *Phytochemistry*. 6:1209-1213.

Berembaum, M. R. and Zangerl, A.R. 1988. Stalemates in the coevolutionary Arms Race: Synthesis, synergisms and sundry other sins. In Spencer, K.C.(Ed.). *Chemical Mediation of coevolution*. San Diego, Academic Press. pp. 113-132

Calera, M.R.; Soto, F.; Sanchez, P.; Bye, R.; Hernandez; B.B.; Anaya, A.L.; Lotina-Hennsen, B. and Mata, R. Cytotoxic, antifungal and growth-inhibitory sesquiterpene lactones from *Ratibida mexicana*, and the inhibition of photosynthetic electron transport by Isoalloalantolactone. *Phytochemistry*, (en prensa).

Casida, J. E.; 1987. Insecticides acting as GABA receptor antagonists. In Greenhalgh, R. and Roberts T.R (Eds.). *Pesticide Science and Technology*. Blackwell, Oxford. pp.387 -392.

Cheng, H. H. 1995. Characterization of the mechanisms of allelopathy. In: Inderjit, K.M. Dakshini, and Frank A. Einhelling (Eds.). *Allelopathy: Organisms, Processes, and Applications*. American Chemical Society. Washington, DC. pp. 132-141.

Cohen W.D.; 1938. Studies on sesamine II. Rec. Trav. Chim. Pays-Bas. 57:653-658.

Cremlyn, R.J. 1991. Agrochemicals. Preparation and Mode of Action. Wiley and Sons. New York. 376 pp.

Einghellig, F. A. 1986. Mechanisms and Modes of Action of Allelochemicals. In: Putnam A. R., Ch.-Sh. Tang (Eds.) The Science of Allelopathy. Wiley-Interscience. New York. pp. 171-190.

Frear E.H.; P.H.D. 1948. Chemistry of Insecticides, Fungicides and Herbicides. Van Nostrand Company. London. 417 pp.

Gonzales, A. G.; H. L. Dorta; J. R. Luis y F. R. Luis. 1982. Componentes de Umbelliferas. XXII. Otros derivados cumarínicos del *Seseli tortuosum*. L.B.S. Eur. Anales de Química. 78C. 184.

Gray, A. I. and Peter G. Waterman. 1978. Coumarins in the Rutaceae. Phytochemistry, 17: 485-864.

Gray's. 1950. Manual of Botany ed. 8th. American Book Company. New York. 1632 pp.

Haller H.L.; LaForge F.B. and Sullivan W.N. 1942. Some compounds related to sesamin: their structures and their synergistic effect with pyrethrum insecticides. J. Org. Chem. 7:185-188.

Harborne, J. B. and Baxter H. 1993. Phytochemical Dictionary. A Handbook of Bioactive Compounds from Plants. Taylor and Francis (Eds.) 791 pp.

Harborne, J. B. 1989. Introduction to Ecological Biochemistry. Academic press. 356 pp.

Holman, H., 1940. A Survey of Insecticidal Materials of Vegetable Origin. Imperial Institute, London.

Jurd L., King A.D. and Mihara K. 1971a. Antimicrobial properties of natural phenols III. Antimicrobial properties of umbelliferone derivatives. *Phytochemistry* 10:2965-2970.

Jurd L., Corse J., King A.D., Jr. Bayne, H. and Mihara K. 1971b. Antimicrobial properties of natural phenols IV. Antimicrobial properties of 6,7-dihydroxy-, 7,8-dihydroxy-, 6-hydroxy- and 8-hydroxycoumarins. *Phytochemistry* 10:2971-2974.

Lehmann, R. G. and Cheng, H. H. 1988. Reactivity acids in soils and formation of oxidation products. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 52: 1304-9.

Macías, F.A.; Galindo. J.C.G, Massanet, G.M., Rodriguez-Luis,, F. and Zubia Eva. 1993. Allelochemicals from *Pilocarpus goudotianus* Leaves. *J. Chem. Ecol.* 19 (7): 1371-1379.

Mann, J. 1987. *Secondary Metabolism*. Clarendon Press. Oxford. 374pp.

Matolesy, Gy; Nádasy, M and Andriská V. 1988. *Pesticide Chemistry*. Elsevier, Amsterdam. 324 PP.

Metcalf R. L. 1955. *Organic Insecticides: Their Chemistry and Mode of Action*. Interscience Publishers. New York. 391 pp.

Mitchell, J. C. and Rook. A. 1979. *Botanical dermatology*, Vancouver: Greenglass.

Price, J. R. 1963. Distribution of alkaloids in Rutaceae. In Swain T. (Ed.). *Chemical Plant Taxonomy*. Academic Press. London, pp. 429-452.

Putnam, A. R.; Ch.-Sh. Tang. 1986. Allelopathy: State of the Science. In: Putnam A. R. and Ch.-sh. Tang (Eds.), The Science of Allelopathy. New York. pp. 1-19.

Rice, E. L. 1979. Allelopathy. Academic Press, New York. 353 pp.

Rice, E. L. 1984. Allelopathy. Academic Press, New York. 422 pp.

Thompson, A.C. (Ed.) 1985. The Chemistry of Allelopathy, ACS Symp. Ser. 268, Amer. Chem. Soc., Washington, DC.

Towers, G.H.N. 1980. Photosensitisers from plants and their photodynamic action. Progress in Phytochemistry, 6: 183-202.

Waterman, P. G. 1993. Phytochemical diversity in the order Rutales. In: Downum R. S. (Ed.), Phytochemical Potential of Tropical Plants. Plenum Press. New York. 27: 203-233.

Waterman, P. G. and Ground, M.F. (Ed.) 1985. Chemistry and Chemical Taxonomy of the Rutales. Academic Press. London.

Whittaker, R. H. and P. P. Feeny. 1971. Allelochemicals: Chemical Interactions between Species. Science. 171 (3973): 757-770.

William, J. A.; Beroza, M. and Edwin D. Becker. 1962. Isolation and structure of sesangolin, a constituent of *Sesamum angolensis*. J. Org. Chem. 27: 3232-3235.



## IX.- LITERATURA CONSULTADA

Aerts R. J., Andries Storker, M. Beishuizen, I. Jaarasma, M. Van de Heuvel, Dddy Van der Meijden, and R. Verpoorte. 1992. Detrimental effects of *Cinchona* Leaf Alkaloids on Larvae of the Polyphagous Insect *Spodoptera exigua*. *Journal of Chemical Ecology*. 18 (11): 1955-1980.

Anaya, A. L.; R. C. Ortega and V. Nava Rodríguez. 1992. Impact of Allelopathy in the Traditional Management of Agroecosystems in Mexico. In: S. J. H. Rizvi and V. Rizvi. (Eds.) *Allelopathy: Basic and Applied Aspects*. Chapman and Hall. pp. 271-301.

Bautista M. N., Vejar C. G., y Carrillo S. J. L. 1994. Técnicas para la cría de insectos. Colegio de Postgraduados de Chapingo. Instituto de Fitosanidad.

Blum Udo. 1995. The value of model plant-microbe-soil systems for understanding processes associated with allelopathic interaction. In Inderjit, K. M. M. Dakshini, and Frank A. Einhellig (Eds.). *Allelopathy, Organisms, Processes, and Applications*. American Chemical Society. Washington DC. pp. 127-131.

Brown, S.A. 1981. Coumarins. In Coon, E.E. (Ed.). *The Biochemistry of Plants*. Vol. 7. Academic Press. New York. pp. 269-298.

Chang-Hung Chou and Georges R. Waller (Eds.). 1983. *Allelochemicals and Pheromones*. Inst. Botany. Acad. Sinica, Monograph series No. 5. Taiwan. 314 pp.

Cheng H. H. 1992. A conceptual framework for assessing allelochemicals in the soil environment. In: Rizvi S. J. H. and V. Rizvi (Eds.). *Allelopathy: Basic and Applied Aspects*. Chapman and Hall. pp. 21-29.

CICOPLAFEST. 1992. *Catálogo oficial de plaguicidas* Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos, SECOFI. México, D.F.

Dey P. M. and Harborne J. B. 1993. Methods in Plant Biochemistry. vol.8. Waterman P.G. (Ed.). Academic Press. London. 605 pp.

Domínguez, X. A., 1973. Métodos de Investigación Fitoquímica. Ed: Limusa. México. 273pp.

Einhellig, F. A. 1995. Mechanism of Action of Allelochemicals in Allelopathy. In: Inderjit; Dakshin K. M. M. and Einhellig F. A. (eds.). Allelopathy, Organisms, Processes, and Applications. American Chemical Society, Washington, DC. pp. 96-116.

Hadacek, F.; Müller, C.; Werner A.; Greger, H. and Proksch, P. 1994. Analysis, isolation and insecticidal activity of linear furanocoumarins and other coumarin derivatives from *Peucedanum* (Apiaceae: Apioideae). J. Chem. Ecol. 20 (8): 2035-2054.

Harborne, J. B. 1985. Introducción a la Bioquímica Ecológica. Ed: Alhambra. México. 355 pp.

Kaastra, R. C. 1982. A monograph of the Pilocarpinae (Rutaceae) En: Flora Neotrópica: monograph no.33. New York. pp. 1-25.

Kumar V., Harshani N. K. Bulumulla, W.R. Wimalasiri and Reisch J. 1994. Coumarins and Indole Alkaloid from *Pamburus missionis*. Phytochemistry. 36 (4): 879-881.

Lagunes, T. A. y Vázquez N. M. 1994. El Bioensayo en el Manejo de Insecticidas y Acaricidas. Colegio de Postgraduados, México. 159 pp.

Luna Romero María Elena. 1988. Toxicidad de extractos vegetales contra larvas de conchuela de frijol (*Epilachna varivestis* MULSANT) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) en condiciones de laboratorio. Tesis de Licenciatura. Universidad Veracruzana.

Luckner Martin. 1984. Secondary Metabolism in Microorganisms, Plants, and Animals. Springer-Verlag. 576 pp.

Mandava, N. B. 1985. Chemistry and Biology of Allelopathic Agents. In: Thompson, A.C. (Ed.). The Chemistry of Allelopathy Washington DC. pp. 33-54.

Muller, C. H. 1966. The role of chemical inhibition (Allelopathy) in vegetational composition. Bull. Torrey Bot. Club. 93 (5) 332-351.

Palomera Martínez S. 1983. Búsqueda de plantas medicinales con propiedades insecticidas contra el gusano cogollero del maíz. *Spodoptera frugiperda*. (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Tesis de licenciatura. Chapingo, México.

Rizvi, S. J.; H. Haque, V. K. Singh and V. Rizvi. 1992. A Discipline Called Allelopathy. In: Rizvi S. J. and V. Rizvi (Eds.). Allelopathy Basic and Applied Aspects. Chapman and Hall. London. pp. 1- 19.

Sarker S. D., Gray A. I., Waterman P. G., and Armstrong J. A. 1994. Coumarins from *Asterolasia trymalioides*. J. Nat. prod. 57 (11): 1549-1551.

Swain, T. 1965. Chemical Plant Taxonomy. Academic Press. London. 543 pp.

Swain, T. 1966. Comparative Phytochemistry. Academic Press. London. 360 pp.

Trease, G. E. y W. Ch. Evans. 1976. Farmacognosia. Ed: Continental. México. 910 pp.