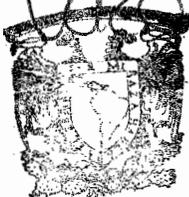


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS

Carlos Lazareo Yanes



BIBLIOTECA
CENTRO DE ECOLOGIA

**ESTUDIO SOBRE EL POTENCIAL ALELOPATICO
DE ALGUNAS PLANTAS SECUNDARIAS DE UNA
ZONA CALIDO-HUMEDA DE MEXICO**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS (Biología)
PRESENTA LA
M. EN C. ANA LUISA ANAYA LANG.**

MEXICO, D. F. 1976.



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.

Quiero expresar mi agradecimiento a las siguientes personas, cuya orientación y colaboración fueron de gran valor para el desarrollo de mi trabajo:

Al Dr. Arturo Gómez-Pompa, mi maestro, asesor de mi trabajo.

Al Dr. Francisco Giral, por sus valiosos consejos.

Al Dr. José Nieto de Pascual, por su interés y asesoría en la parte estadística de la investigación.

A la Dra. Lidia Rodríguez y al Dr. Gabriel Siade, por su intervención en la parte química de este trabajo.

A la M. en C. Silvia del Amo Rodríguez, por su continua y valiosa ayuda.

A la M. en C. Magdalena Rovalo por su entusiasta participación en la búsqueda de alelopáticos.

A todo el personal que labora en la Estación de Biología Tropical "Los Tuxtles", por su ayuda en el trabajo de campo.

A la Mat. Martha Sánchez y al Mat. Juan Antonio Toledo por su trabajo en la computación de los datos.



CONTENIDO

	Pág.
I INTRODUCCION	1
1) Ecología Química y Alelopatía.	1
2) Lixiviación de metabolitos y su importancia en los ciclos biogeoquímicos y en la Alelopatía.	10
3) El suelo y los alelopáticos.	14
4) Los residuos vegetales como fuente de alelopáticos.	17
5) Papel de las interacciones planta-microorganismo en la alelopatía.	20
6) Alelopatía en plantas superiores.	26
7) Papel de la alelopatía en la sucesión secundaria.	44
II OBJETIVOS	50
III MATERIALES Y METODOS	53
1) Localización de la zona de estudio.	53
2) Selección de especies.	53
3) Metodología general:	56
a. Tolerancia a la presión osmótica.	57
b. Pruebas con los extractos acuosos de hojas.	58
c. Pruebas con los extractos acuosos de raíces.	60
d. Pruebas con el agua del lavado de las hojas.	61

	Pág.
e. Pruebas con las soluciones del suelo.	62
f. Pruebas con los extractos orgánicos.	64
g. Pruebas con los aceites esenciales.	66
 IV RESULTADOS Y DISCUSION.	 75
1) Tolerancia a la presión osmótica.	75
2) Extractos acuosos de hojas.	102
3) Extractos acuosos de raíces.	113
4) Agua del lavado de las hojas.	122
5) Soluciones del suelo.	137
6) Extractos orgánicos.	160
a. De las hojas de <u>Piper hispidum</u> y aceite esencial del mismo.	160
b. De las hojas de <u>Piper auritum</u> .	171
c. Germinación simultánea y extractos orgánicos de las semillas de <u>Siparuna nicaraquensis</u> .	174
d. Pruebas de recuperación.	187
e. De las hojas de <u>Croton pyramidalis</u> .	203
f. Fracciones cromatográficas del extracto bencénico de <u>C. pyramidalis</u> , la flavona y el diterpeno del mismo.	213
7) Aceites esenciales:	234
a. Aceite esencial de <u>Siparuna nicaraquensis</u> .	234
b. Aceite esencial de <u>Croton pyramidalis</u> .	239
c. Aceite esencial de <u>Piper auritum</u> .	246
d. Fracciones cromatográficas del aceite esencial de <u>P. auritum</u> .	252
e. Safrol e isómeros.	267
 V CONCLUSIONES	 272
 VI BIBLIOGRAFIA	 282

I INTRODUCCION

I INTRODUCCION

1) Ecología Química y Alelopatía.

El medio ambiente lo incluye todo, desde la luz del sol, la lluvia y el viento, hasta los suelos y los organismos. Como consecuencia, la Ecología, como ninguna otra ciencia, explica una gran variedad de fenómenos a muy diferentes niveles (Pianka, 1974). El componente biótico de la mayoría de los medios ambientes es extraordinariamente complejo y si además, sumamos a esta complejidad biológica el variado y multifacético medio físico, comprenderemos porque Kormondy (1969) afirma que la Ecología es una ciencia casi infinita.

Los seres vivos como parte integrante del medio ambiente son los componentes que le confieren a éste su dinamismo. Existe una corriente continua de intercambio entre los organismos y el medio, determinada por las características inherentes de la vida misma. Este intercambio involucra por lo menos a 16 elementos químicos que son necesarios para el normal u óptimo crecimiento de los seres vivos, pues son los componentes estructurales de la célula, los ácidos nucleicos, las enzimas, los catalíticos y las reservas energéticas, además mantienen el balance osmótico del organismo, tan necesario para el mismo intercambio normal de iones con el medio (Strasburger, 1963). La mayor

parte de estos elementos son proporcionados, en los medios terrestres por el suelo y otros por el aire y el agua, existiendo un continuo movimiento del medio a los organismos y viceversa. La mayoría de las plantas, desde el primer momento de su vida, establecen una relación estricta, principalmente desde el punto de vista físico-químico con el suelo que las soporta, y también establecen relaciones directas o indirectas y en diverso grado benéficas o perjudiciales, con todos los demás organismos del ecosistema. De hecho las relaciones e interacciones de origen químico entre los organismos son tan antiguas como la vida y puesto que ésta implica los mencionados procesos de intercambio con el medio ambiente, necesariamente se van a producir en éste modificaciones de consecuencias biológicas muy significativas.

Las interacciones químicas entre los organismos son objeto de estudio de la Ecología Química cuya importancia ha ido en aumento en los últimos años ya que dentro de ella se encuentran problemas relacionados con la contaminación ambiental, el hallazgo de nuevos antibióticos, herbicidas, hormonas, anticancerígenos, repelentes, atrayentes, etc., temas en estrecha relación con la supervivencia futura de la humanidad. La razón de ello es el redescubrimiento de la riqueza potencial de las plantas como fuente de una gran diversidad de compuestos susceptibles de ser utilizados en beneficio del hombre. La gran mayoría

de estos compuestos, pertenecen a los llamados metabolitos secundarios, que no intervienen directamente en el metabolismo básico de la célula, como lo hacen los compuestos primarios (carbohidratos, lípidos y proteínas) y cuya justificación ecológica, fisiológica y evolutiva no está clara. Los metabolitos secundarios se presentan esporádica e irregularmente en algunas plantas o familias de plantas y muchos de ellos son el origen de distintas relaciones de tipo químico entre las plantas y otros organismos.

Los compuestos secundarios tienen un amplio rango de características químicas y esta gran diversidad de productos naturales deriva de un grupo de materias primas sorprendentemente reducido, entre las que se encuentra el ácido acético y unos cuantos aminoácidos comunes (fenilalanina, tirosina y triptofano), por lo que se supone que los compuestos secundarios tienen de una manera general, un origen similar en toda la materia viva. (Whittaker y Feeny, 1971). Con algunas excepciones, las sustancias secundarias pueden clasificarse sobre bases biosintéticas en cinco grupos principales: fenilpropanos, acetogeninas, terpenoides, esteroides y alcaloides.

El destino de los compuestos secundarios es diverso y como muchos de ellos pueden ser tóxicos para la planta que los produce, ésta debe de neutralizarlos o deshacerse de ellos para

no verse perjudicada. Las diversas formas en que lo hace son las siguientes: 1) los inactiva combinándolos y tornándolos inocuos.

2) los almacena lejos de las zonas donde se efectúan reacciones de importancia metabólica, por ej. los glucósidos tóxicos se encuentran en solución dentro de las vacuolas de la célula separados del resto del protoplasma.

3) se presentan como polímeros (taninos, ligninas, resinas y hule) o como cristales (rafidios de oxalato de calcio o cristolitos de carbonato de calcio).

4) son depositados fuera de las células vivas, en células muertas, en el duramen de la madera, en espacios intercelulares, en conductos especiales, en los pelos glandulares de la superficie de muchas plantas, etc., y finalmente

5) son descargadas al exterior por diversos caminos: lixiviación de la superficie foliar, gutación, exudación de las raíces, volatilización o descomposición.

La copiosa producción de estas sustancias y su liberación al medio, constituyen en las comunidades vegetales verdaderas "lluvias químicas", cuyos efectos son de difícil predicción aunque sean de consecuencias biológicas y ecológicas innegables.

Esto ha determinado que los ecólogos estén en la actualidad muy interesados en el estudio de las relaciones biológicas basadas en esta producción y liberación de compuestos, cuya heterogeneidad determina que las relaciones que de ellos se derivan, aunque todas son químicas, sean de carácter distinto (intra o interespecificamente hablando) y han tenido que surgir, evolucionar, consolidarse o desaparecer, dependiendo de la naturaleza de los compuestos, los efectos que provoquen, el tiempo que actúen y el tipo de organismos involucrados en ellas.

Dependiendo de algunas de estas características, los compuestos que determinan el establecimiento de una relación entre dos organismos, se pueden clasificar desde el punto de vista funcional y adaptativo, de la siguiente manera:

- 1) Los compuestos que intervienen en las relaciones entre organismos de la misma especie, reciben el nombre de, autotoxinas, cuando son tóxicos para la misma especie; autoinhibidores adaptativos, cuando controlan el número de individuos de la población; y feromonas cuando su papel es el de permitir la comunicación por medio de señales químicas entre los organismos de una misma especie (conducta reproductora, defensa, territorialidad, etc.).
- 2) Los compuestos que determinan la relación entre dos organismos de diferente especie se denominan aleloquímicos. Existen

tres tipos de ellos: a) las alomonas, que les dan ventajas al organismo que las produce; b) las kairomonas, que le dan ventajas al organismo que las recibe; y c) los depresores, que sin darle ventaja al organismo productor, perjudican al que las recibe. (Whittaker y Feeny, 1971).

Entre las alomonas encontramos incluidos ciertos compuestos denominados supresores, cuya presencia en el medio ambiente determina la inhibición del crecimiento de organismos competidores. Entre estos supresores están considerados los antibióticos, algunos alelopáticos y sustancias ectocrinas del plancton. Entre los depresores encontramos numerosos compuestos tóxicos que inhiben al organismo receptor pero sin beneficiar u otorgar alguna ventaja adaptativa al organismo productor, como son por ej. las toxinas de las bacterias, algunos alelopáticos y compuestos ectocrinos planctónicos. Es muy importante señalar que gran cantidad de compuestos pueden tener dos o tres papeles distintos como agentes de comunicación química, pues así como existe variedad estructural, existe una sorprendente diversidad funcional entre estos compuestos, lo que necesariamente determina una significación ecológica muy grande.

La alelopatía o sea el fenómeno de supresión del crecimiento de los vegetales provocado por ciertas sustancias elaboradas y liberadas por otras plantas, es un fenómeno que se conoce

ce desde el siglo pasado. De Candolle (1832) y Liebig (1852), ya se preocupaban por el hecho de que el suelo pudiera tener sustancias tóxicas para el crecimiento de las plantas, especialmente de las cultivadas. En el siglo XX han sido numerosos los trabajos que se han hecho sobre sustancias alelopáticas contenidas en el suelo y agua, desde diversos puntos de vista: ecológico, agrícola, fisiológico, microbiológico, etc. y en ellos, los efectos alelopáticos se han puesto fácilmente en evidencia en condiciones experimentales, se han aislado algunos alelopáticos, se han purificado y varios se han podido aplicar en medicina, agricultura, y otras ciencias para beneficio del hombre. Sin embargo, su papel en condiciones naturales no es fácil de comprobar debido a la multitud de factores bióticos y abióticos que interactúan con los alelopáticos, tanto en el espacio como en el tiempo.

La estructura química de los inhibidores naturales del crecimiento es muy diversa. Se han reportado: ácidos orgánicos, aldehidos, alcaloides, terpenos, pigmentos, auxinas, fenoles, aminoácidos, cumarinas, glucósidos, etc. Entre ellos no existe ninguna semejanza estructural, los producen plantas diferentes, órganos distintos, actúan de manera diversa sobre organismos diversos y en una gran heterogeneidad de medios ambientes. No obstante, sus funciones ecológicas parecen coincidir en el punto en que permiten al organismo productor tener generalmente

ciertas ventajas en la lucha competitiva con otros organismos.

Las plantas superiores que han sido reportadas como productoras de alelopáticos pertenecen a diversas familias entre las cuales encontramos las siguientes:

Oxalidaceae (Oxalis)

Labiatae (Salvia, Lepechinia)

Leguminosae (Robinia, Dipteryx, Trifolium, Prosopis,
Mimosa, Psoralea)

Proteaceae (Grevillea)

Pinaceae (Pinus, Cryptomeria, Chamaecyparis)

Lauraceae (Laurus)

Rutaceae (Thamnosma)

Gramineae (Cynodon, Agropyron, Avena, Bromus, Poa,
Agrostis, Secale, Hordeum, Leersia, Lolium,
Digitaria, Sorgum, Triticum, Melinis, Zea)

Rosaceae (Pyrus, Prunus, Malus, Cercocarpus, Adenosto-
ma, Sorbus)

Zygophyllaceae (Larrea)

Thyphaceae (Thypha)

Ericaceae (Arctostaphylos, Arbutus, Rhododendron)

Ranunculaceae (Delphinium, Anemone, Ranunculus)

Umbelliferae (Angelica)

Orchidaceae (Vanilla)

Cupresaceae (Juniperus)
 Chenopodiaceae (Sarcobatus)
 Saxifragaceae (Viguiera, Bergenia)
 Platanaceae (Platanus)
 Fagaceae (Quercus)
 Simarubaceae (Ailanthus)
 Ulmaceae (Celtis, Ulmus)
 Aceraceae (Acer)
 Tiliaceae (Tilia)
 Verbenaceae (Tortula)
 Myrtaceae (Gen. Eucalyptus y Myrtus)
 Euphorbiaceae (Gen. Euphorbia)
 Juglandaceae (Gen. Juglans)
 Anacardiaceae (Gen. Schinus)
 Compositae (Chrysothamnus, Tridax, Aster, Erigeron,
 Antennaria, Helianthus, Franseria, Artemi-
 sia, Ambrosia, Parthenium, Encelia)
 Cruciferae (Matthiola, Camelina)
 Liliaceae (Allium)
 Cucurbitaceae (Cucumis)

En algunas de ellas se ha comprobado la presencia de los inhibidores en el medio que las rodea y sus efectos perjudiciales sobre otras plantas de la comunidad o sobre los microor-

ganismos del suelo, en condiciones naturales.

2) Lixiviación de Metabolitos y su importancia en los Ciclos Biogeoquímicos y en la Alelopatía.

Grandes cantidades de metabolitos orgánicos e inorgánicos pueden ser lavados de una gran diversidad de plantas por la lluvia, la niebla y el rocío. Este hecho que es parte muy importante de los ciclos biogeoquímicos, es esencial para la nutrición de los vegetales puesto que gran cantidad de este material lixiviado es reabsorbido nuevamente por las plantas.

Existen grandes diferencias en la velocidad y grado de lixiviación de las sustancias de una planta a la otra, dependiendo de la especie, tipo de planta, estado fenológico, temperatura y humedad ambiental, etc., es decir que la cantidad y calidad de los lixiviados están afectadas por un gran número de factores tanto externos como internos. Incluso encontramos diferencias en la lixiviación de hojas jóvenes y maduras de una sola planta, las jóvenes son prácticamente inmunes a la lixiviación. (Tukey, 1969 y 1970).

Los lixiviados de las plantas incluyen nutrientes inorgánicos y sustancias orgánicas (azúcares libres, sustancias péc-ticas, ácidos aminados y orgánicos, reguladores del crecimiento, etc.). El potasio, calcio, magnesio y manganeso son los minera-

les generalmente más abundantes en los lixiviados. Los minerales se pierden a distinta velocidad, por ej. los que tienen una salida más rápida son el sodio y el manganeso; los de salida regular son el calcio, magnesio, potasio y estroncio; y los lentos son el fierro, zinc, fósforo y cloro. El lavado de cationes inorgánicos aparentemente involucra reacciones de difusión e intercambio con las soluciones acuosas sobre la superficie de la hoja además de estar determinado en alto grado por la intensidad y volumen de la lluvia. Los metabolitos así lixiviados son redistribuidos a otras plantas o a la misma e influyen decisivamente en la nutrición, adaptación, distribución, competencia, estimulación, supresión y susceptibilidad a las enfermedades. (Tukey, 1966 y 1970).

El efecto del agua de lixiviación que escurre de las hojas y troncos de las plantas es muy importante para las propiedades químicas de los suelos. Gersper y Holowaychuk (1970), encuentran que las variaciones en el potencial de lixiviación y en la concentración de minerales alrededor de la base de Fagus grandifolia se debían al flujo no uniforme de agua de escurrimiento a lo largo del tronco. Durante este estudio, se encontró que los elementos más abundantes en el agua de escurrimiento de los troncos de F. grandifolia, Quercus rubra y Acer saccharum fueron de mayor a menor: carbono»» potasio=calcio > sodio=magnesio=fósforo; y además que las variaciones sistemáticas

en las propiedades de los suelos estudiados se desarrollaron siguiendo un gradiente con simetría radial respecto a los tallos de varios árboles. Generalmente a mayor diferencia en las propiedades químicas de estos suelos con respecto a la distancia del árbol, mayor cantidad de escurrimiento del mismo.

McCull (1970) en un estudio sobre algunos aspectos del proceso de ciclaje de minerales, realiza un análisis de las propiedades químicas del agua de lluvia, del agua colada a través del follaje, del agua de escurrimiento de los troncos, del agua de drenaje y del agua del liter, y encuentra por ejemplo que la cantidad de algunos nutrientes lavados de las hojas por la lluvia, puede exceder la cantidad devuelta al suelo por el liter, que el bicarbonato es el anión más importante en el agua de lluvia que ha pasado a través del follaje mientras que el fósforo y el nitrógeno existen en grandes cantidades en esta agua y en la de escurrimiento del tallo. Las diferencias que se encontraron en la cantidad y calidad de cationes en las distintas aguas fue muy grande.

La metodología en el estudio de los compuestos orgánicos e inorgánicos de los lixiviados vegetales es importante para una correcta valoración del ciclaje de nutrientes y su redistribución en otras plantas y del camino que siguen los alelopáticos u otros compuestos orgánicos con efectos biológicos y eco

lógicos importantes. El uso de isótopos radioactivos ha dado buenos resultados para la cuantificación de diversas sustancias excretadas o secretadas por distintos órganos vegetales (Tukey y Mecklenburg, 1964, Tukey, 1970). Asimismo, otras técnicas metodológicas más sencillas y accesibles pueden aplicarse con éxito para revelar materiales orgánicos específicos en el agua de lixiviación, por ejemplo los fenoles libres que pueden ser muy fácilmente lavados por ésta y también gran cantidad de compuestos polimerizados. (Mosier, Haider y Clark, 1972).

La fertilización de campos de cultivo y áreas forestales que frecuentemente se lleva a cabo sin las medidas adecuadas de control basadas en un conocimiento experimental previo que permita predecir con exactitud las consecuencias de dicha fertilización, puede dar como resultado la producción y excreción anormales de compuestos que dañen a la misma planta o a las demás. Por ejemplo, la elaboración y exudación por gutación, de glutamina en ciertos pastos fertilizados con compuestos amoniacales. (Curtis, 1944). Las interacciones químicas planta-planta que se han reconocido ampliamente, deben formar la base de muchas prácticas agrícolas y utilizarse en la moderna ciencia vegetal para desarrollar sistemas de bioensayo para detectar reguladores de crecimiento en el agua y suelo, valorar cuantitativa y cualitativamente los principios activos susceptibles de ac

tuar naturalmente en la erradicación de enfermedades y evaluar el complejo sistema de ciclaje de nutrientes en las comunidades tanto naturales como cultivadas.

3) El suelo y los alelopáticos.

El suelo, en el medio ambiente terrestre, es en la gran mayoría de los casos el sitio donde se depositan y actúan los alelopáticos. Aún cuando existió controversia en el pasado acerca de la existencia de toxinas orgánicas en el suelo y su efecto sobre el crecimiento vegetal, actualmente es abrumadora la evidencia en el sentido de que, bajo ciertas condiciones, hay compuestos orgánicos en el suelo que ejercen un efecto depresor o estimulante sobre el crecimiento de las plantas. El número de casos en que estos compuestos se han aislado, identificado y se ha demostrado que están relacionados con la inhibición de de terminadas plantas, es aún pequeño. Esto se debe a la complejidad del problema ya que otros factores junto con los inhibidores, están a veces involucrados directa o indirectamente en las consecuencias biológicas, por ejemplo los organismos patógenos del suelo, las deficiencias nutricionales y las propiedades físicas de los suelos. Para poder valorar al máximo la importancia de los alelopáticos en el medio ambiente, es necesario plan tear las siguientes interrogantes: ¿En qué cantidad se encuentran?, ¿qué tiempo persisten inalterables?, ¿son excretados

continuamente, en qué proporción?, ¿son hidrolábiles?, ¿qué tan to resisten la biodegradación?, ¿a cuáles organismos afectan y de qué manera?, ¿qué otros factores están involucrados con su efecto? Las variables que deben manejarse y controlarse para tratar de responder estas preguntas son incontables, de ahí las dificultades que se tienen al estudiar estas sustancias en condi ciones naturales.

Las toxinas del suelo provienen básicamente de las siguientes fuentes:

1. excreciones de la raíz o lixiviados de las hojas y troncos de plantas vivas.
2. residuos acumulados sobre o bajo el suelo.
3. toxinas elaboradas usualmente por los microorganismos como productos de su metabolismo o productos intermedios de su acción sobre 1 y 2.

La incapacidad de algunas plantas cultivadas para crecer satisfactoriamente al ser replantadas, se debe muchas veces a la formación de fitotoxinas y su acumulación en el suelo. Tal es el caso de ciertas variedades de manzano y durazno. El prime ro contiene considerables cantidades de florizina en la corteza de las raíces que al descomponerse origina toxinas como la flo-

retina, ácidos p-hidroxibenzoico y p-hidroxihidrocinámico y floroglucinol. El segundo encierra en los tejidos de la raíz gran cantidad de amígdalina la cual al descomponerse produce benzaldehído y cianuro de hidrógeno. (Moje, 1966).

Frimmel (1961) en un trabajo sobre el papel general que juegan las sustancias activas en el suelo concluye que el efecto de los inhibidores sobre el crecimiento de las plantas depende del tipo de suelo, de ahí que el poder de adsorción de éste es esencial, y que probablemente la participación de los coloides orgánicos en la neutralización de las toxinas es de mayor importancia que la de los coloides inorgánicos.

La acción benéfica que el material del suelo finamente dividido puede tener al contrarrestar las toxinas fue señalada con anterioridad por Truog y Sykora (1917) quienes también reconocen la importancia que tiene en este mismo sentido, la combinación de algunos constituyentes del suelo con las toxinas, mencionando como elementos bufer sobresalientes al carbonato de calcio, la kaolina o arcilla ácida y los silicatos. Livingston (1923) afirmaba que las tasas de toxicidad pueden hacerse decrecer mediante diversas técnicas de manejo de suelos, en especial el incremento del drenaje subterráneo y la aereación que favorezca las bacterias aeróbicas en lugar de las anaeróbicas, con el objeto de limitar la formación de productos parcialmente oxidados de

la respiración anaeróbica. Desde el punto de vista agrícola y forestal, las técnicas de manejo de suelos en los planes integrales de desarrollo deben incluir investigaciones continuas respecto al papel que las fitotoxinas desempeñan en las interacciones vegetales. (DeBell, 1971).

4) Los residuos vegetales como fuente de alelopáticos.

La cantidad de hojas caídas en un bosque húmedo de Mora excelsa en Trinidad es de aproximadamente 7000 K/Ha/año y se descompone a una velocidad aproximada de 0.45% al día siendo esencial en el suministro de nutrientes para el crecimiento subsecuente de los mismos árboles de Mora, puesto que la alimentación de las raíces está restringida a la capa de liter y a los 5 u 8 cm de suelo superficial. En Kade, Ghana, se han reportado entre 8000 K/Ha y 9400 K/Ha de hojas en bosques secundarios de 50 años de edad (Cornforth, 1970).

Esta cantidad tan grande de restos vegetales, sobre todo en las zonas tropicales, da idea de la riqueza y diversidad de los compuestos orgánicos que están siendo liberados al medio continuamente y cuyo nicho ecológico puede ser decisivo en la dinámica de la comunidad.

La acción de los microorganismos sobre los desechos orgánicos puede dar origen a compuestos como los ácidos p-hidrox

benzoico, p-cumárico, vainillico, ferúlico y siringico. La concentración de estos ácidos fenólicos en muchos suelos, es suficiente para suprimir el crecimiento de algunas plantas. Este hecho se ha reportado frecuentemente en la literatura científica, Whitehead en 1964 obtiene cantidades de estos ácidos, que fluctúan entre 0.004 y 0.009 % de la materia orgánica total del suelo y comenta que su influencia puede ser sentida tanto por microbios como por plantas sensibles. Wang, Yang y Chuang (1967) encuentran a estos mismos ácidos en un estudio sobre inhibidores contenidos en el suelo, señalando que otros autores los han obtenido por degradación química del ácido húmico.

Un ejemplo de lo perjudicial que en un momento dado pueden resultar los restos vegetales de algunos cultivos que se dejan sobre el suelo para evitar la erosión de los terrenos, es el caso de los residuos de alfalfa, sorgo y maíz inoculados con Penicillium urticae. La acción de estos microorganismos sobre los residuos produjeron un retraso de crecimiento en las plántulas de trigo cuyas raíces estaban expuestas a los productos de descomposición. Los suelos control inoculados en ausencia de residuos fueron mejores medios de crecimiento para las plántulas de trigo que los suelos control no inoculados. Los residuos más alelopáticos resultaron ser los de alfalfa que causaron reducción y enroscamiento de la raíz. (Behmer y McCalla,

1963).

Con anterioridad, Guenzi y McCalla (1962) habían reportado la toxicidad de los restos orgánicos de trigo, avena, soya, trebol, maíz y sorgo al ser aplicados sobre semillas de trigo, sorgo y maíz. Y posteriormente McCalla junto con Haskins (1964) concluyen que existen gran variedad de compuestos fitotóxicos en los residuos vegetales y en las semillas de muchas plantas y que también los microorganismos del suelo producen sustancias orgánicas que son tóxicas para el crecimiento de muchas plantas. Dependiendo de su naturaleza y concentración, y de la clase de planta sobre la que actúan, las sustancias orgánicas liberadas al medio directamente por las plantas, animales y residuos orgánicos, e indirectamente por la acción de los microorganismos sobre estos residuos, pueden ser inocuas, estimulantes o inhibidoras del crecimiento y ésto debe tenerse en cuenta durante las prácticas agrícolas.

Una prueba más de la acción de los restos orgánicos sobre el crecimiento vegetal, la proporcionan Schlatterer y Tisdale (1969) en un estudio con el liter de Artemisia tridentata, Chrysothamnus viscidiflorus y Tortula sp. que inhibieron el crecimiento y la germinación de Stipa thurberiana, Sitanion hystrix y Agropyron spicatum creciendo en suelo bajo condiciones de invernadero.

Como contraste al ejemplo anterior, el trabajo de Mixon y Curl (1967) demostró el valor benéfico potencial de algunos residuos vegetales en el control biológico de los organismos patógenos del suelo. Sclerotium rolfsii y Trichoderma sp. fueron reducidos en su crecimiento por el residuo de avena, en comparación con los residuos de trébol, cacahuete, frijol y maíz.

5) Papel de las interacciones planta-microorganismo en la Alelopatía.

Los factores químicos que afectan el crecimiento de las plantas y los microorganismos en el sustrato, incluyen no sólo los antibióticos y los alelopáticos sino también las sustancias estimulantes del crecimiento a las cuales se les ha dado poca importancia hasta ahora. La flora microbiana del suelo no puede establecerse si no existen cierto tipo de promotores de su crecimiento en éste y en el caso de que estos promotores sean producidos por otros organismos, las bacterias u hongos dependientes no se establecerán si los organismos productores no existen en el lugar (Lockhead, 1958).

La microflora del suelo y la comunidad planctónica, son comparables desde el punto de vista de que tanto sus cambios cualitativos como cuantitativos dependen de la presencia de compuestos promotores e inhibidores del crecimiento, secretados o liberados.

rados por el metabolismo de los organismos o por descomposición. Las interacciones químicas entre peces, invertebrados, zoo y fitoplanton son bien conocidas y están involucradas en ellas procesos como estimulación de huevos, determinación del sexo por secreciones externas (carotenoides), secreciones radicales y excreción de esteroides de significación biológica. Es probable que durante el curso de la evolución muchos organismos se han adaptado a tolerar o tomar ventaja de los metabolitos externos de sus vecinos, justo como algunos órganos de un individuo han respondido a los productos endócrinos de otros órganos. Los organismos que fracasaron tuvieron que extinguirse o producir mecanismos de anulación. Muchas relaciones ecológicas importantes parecen haber surgido en esta forma: estimulando o inhibiendo (Lucas, 1946. Nigrelli, 1963).

La actividad metabólica de las plantas limita o controla el número de individuos de las poblaciones microbianas saprófitas, simbióticas o patógenas relacionadas con ellas, por ej. algunos pinos, a la vez que producen alelopáticos que eliminan a los vegetales competidores, elaboran inhibidores del crecimiento de bacterias y hongos que les permiten resistir el ataque de algunos patógenos. (Hoff, 1970).

Es obvio que algunos compuestos producidos por las plantas les permitan a éstas protegerse de ciertos organismos pa

tógenos. Por ejemplo, un gran número de semillas contienen y liberan durante la germinación, compuestos capaces de inhibir el crecimiento de ciertos microorganismos (semillas de Fraxinus); los compuestos volátiles de muchas plantas tienen también un claro efecto bactericida y se han utilizado en la medicina popular de todos los países (Ferenczy, 1956, Erdos y Hoyo, 1970).

Por el contrario, los antibióticos producidos por los microorganismos pueden tener un efecto tóxico sobre las plantas. Wright (1951) y Brian (1957) realizaron una serie de experimentos con plantas cultivadas para probar esto. Entre los efectos más importantes mencionan la inhibición del crecimiento de la raíz, la inhibición de la producción de pigmentos y plastidios y los efectos tóxicos de los antagonistas de la metionina en las hojas. Sin embargo, Brian reporta también casos de estimulación que no han sido explicados satisfactoriamente.

Muchas sustancias secundarias se concentran en las raíces de las plantas. Los aceites picantes del ajo, de la cebolla y del rábano son ejemplos familiares de esto y es evidente que la función de muchas de estas sustancias acumuladas en la raíz es principalmente protectora (Woods, 1960). La secreción y descomposición de las raíces, liberan estas sustancias y también liberan alimento para muchos organismos; lo mismo sucede con la descomposición del liter y el agua de lluvia que lava las partes

aéreas de los vegetales. Todo ello se acumula en el suelo y es ahí donde hongos, bacterias y otros microorganismos entablan sus propios combates bioquímicos. Las sustancias secundarias que producen, tienen diversos efectos biológicos sobre nemátodos, artrópodos, algas y plantas superiores. La significación metabólica, evolutiva y ecológica de los antibióticos producidos por los microorganismos del suelo, indudablemente muestra un paralelismo con la de las sustancias secundarias de las plantas. Su efectividad es posible demostrarla fácilmente in vitro y en las enfermedades humanas, pero no es fácil establecer los efectos dentro del complejo edáfico y a concentraciones prácticamente desconocidas. La justificación selectiva más lógica de los antibióticos y alelopáticos es como agentes de competencia entre los organismos (Spencer, 1963. Norman, 1960).

En la rizósfera, las bacterias y hongos del suelo están especialmente concentrados en las superficies de las raíces, pudiendo observarse un gradiente bioquímico y ecológico desde la superficie de las mismas a través de la capa más densamente ocupada por los filamentos micorrizales y las bacterias, hasta las zonas más alejadas de ellas. Las diferentes especies de organismos del suelo: animales, protistas, bacterias, algas y hongos, ocupan diferentes posiciones de acuerdo a las distintas adaptaciones bioquímicas a las raíces de las plantas y otras fuentes de alimento. La complejidad en la Estructura del siste

ma es evidente si se tienen en cuenta las diferencias de las exudaciones de las sustancias secundarias de las raíces, del liter, madera y otros restos orgánicos. Existe un gradiente temporal y espacial durante el proceso de descomposición, pues diferentes especies microbianas ocupan los restos orgánicos a distintos tiempos, ya que utilizan diversos compuestos químicos durante su metabolismo y sus propios metabolitos son utilizados de manera distinta en las relaciones bioquímicas con otros organismos. La diversidad de organismos y de interacciones nos conduce al descubrimiento de gran cantidad de nichos ecológicos en el suelo. Los antibióticos y alelopáticos que inhiben a unas especies, sirven de alimento a otras o de señales para localizarlo. Esta versatilidad de funciones es altamente significativa para las distintas formas biológicas y los aspectos de diferenciación de nichos. (Whittaker y Feeny, 1971).

Se ha observado que la actividad fisiológica de las bacterias de la rizósfera es mayor que las de otras bacterias del suelo y que los papeles que desempeñan dentro de la comunidad son distintos también. Más aún, los microorganismos se comportan de manera distinta en condiciones experimentales que en condiciones naturales. Este hecho tiene especial importancia puesto que la descomposición de los inhibidores depende de la actividad microbiana y tal vez los resultados obtenidos en el

laboratorio no correspondan a la realidad natural en cuanto a la biodegradación de estos compuestos (Bonner, 1946). Starkey (1958) y Rovira (1969) concluyen que las condiciones de la rizósfera son esenciales para la calidad y cantidad de microorganismos existentes en ella. La microflora de una determinada raíz se afecta notablemente por los jugos radicales de otras plantas y no sólo el tipo de planta influye decisivamente sobre la biota microscópica asociada, sino que también su estado de desarrollo es fundamental en este sentido, lo que nos permite apreciar lo estricto de las relaciones planta-microorganismo. Muller, W.H. (1965) encontró durante un estudio con las sustancias volátiles producidas por Salvia leucophylla, que éstas inhibían 32 de las 44 cepas bacterianas aisladas del suelo, estimulaban 5 y no tenían efecto sobre 7.

La mayor densidad de microorganismos en la rizósfera puede ser perjudicial para la planta ya que aumenta la producción potencial de antibióticos que en ocasiones influyen decisivamente en la vida del vegetal (Brian, 1957. Woods, 1960). Las poblaciones de microorganismos de la rizósfera son capaces algunas veces de modificar la cantidad y la naturaleza de los exudados de la raíz. (Rovira, 1969).

La importancia de las interacciones bioquímicas a nivel de la rizósfera hace indispensable la estimulación y el incremento

to de los estudios al respecto para poder comprender y aprovechar los complejos procesos biológicos que en ella se efectúan (Lockhead y Burton, 1953).

6) Alelopatía en plantas superiores.

Cornelius H. Muller es indudablemente uno de los investigadores más destacados en el campo de la alelopatía. A lo largo de casi tres décadas su constancia y aptitudes científicas le permitieron demostrar sin lugar a dudas que la alelopatía es un factor ecológico muy importante en cualquier comunidad, pese a los ataques y dudas de muchos ecólogos. Muller observó durante una gran cantidad de investigaciones que la producción de desperdicios orgánicos y derivados de éstos, muchos de los cuales resultan tóxicos, es una consecuencia normal del proceso biótico. En determinadas circunstancias es de esperarse que estas sustancias, especialmente cuando son producidas por plantas dominantes, se acumulen en el medio ambiente a niveles que tienen efectos inhibitorios significativos sobre otras plantas o sobre las mismas dominantes, y que incluso en muchas plantas estos compuestos las protegen contra los predadores. La valoración de su papel protector contra los animales, puede proveer la razón evolutiva de su presencia en las comunidades actuales, mientras que su efecto sobre otras plantas puede ser secundario. De cualquier forma su liberación al medio constituye

una forma de protección muy eficaz contra la autointoxicación y es capaz de inducir una presión selectiva adecuada que además de explicar la evolución de un sistema vivo que limpia sus tejidos de los desechos, torna insostenible el establecimiento de competidores potenciales, predadores y patógenos.

Sus estudios en el chaparral de California (Muller, 1966), demostraron que los arbustos aromáticos como Salvia leucophylla y Artemisia californica contienen terpenos tóxicos que no permiten el establecimiento de una amplia variedad de plantas a cierta distancia de los arbustos. Adenostoma fasciculata y otros arbustos asociados también producen cierto tipo de toxinas hidrosolubles que restringen las hierbas de las zonas arbustivas (McPherson y Muller, 1969). Bartholomew (1970) demuestra que la zona normalmente carente de vegetación entre estos arbustos y los pastizales en el Chaparral californiano, no debe ser atribuída exclusivamente a los inhibidores volátiles de los arbustos ya que está determinada también por la actividad de forrajeo de roedores, conejos y pájaros que viven en los arbustos. Los inhibidores aislados de las hojas de estos arbustos fueron principalmente α -pineno, B-pineno, canfeno, cineol y alcanfor. Los dos últimos fueron los más tóxicos. El suelo en este caso actúa como reservorio de los terpenos adsorbiéndolos en los coloides secos y reteniéndolos por varios meses. El crecimiento de otras plantas es inhibido cuando estos terpenos se di

suelven en la cutina de las células radiculares de las plántulas en contacto con los coloides del suelo. Los mecanismos de acción intracelular de las toxinas de Salvia leucophylla fueron puestos en evidencia por W. H. Muller (1965) y por éste y otros colaboradores (1969). Su efecto es el de reducir la elongación de las células y la división de las mismas en las radículas e hipocótilos de Cucumis sativus, provocando también una acumulación de glóbulos, probablemente de grasa o aceite, en estas células radiculares. Asimismo, reducen la absorción de oxígeno que efectúan las mitocondrias como consecuencia de un bloqueo en una de las etapas del ciclo de Krebs y una disminución de la permeabilidad de la membrana de la célula. El ciclo del fuego en este Chaparral de California está íntimamente ligado al efecto de los terpenos en el medio natural (Muller, C.H. et al., 1968).

Muller y Muller (1956) habfan demostrado con anterioridad que en el caso de ciertas plantas desérticas que producen abundante cantidad de inhibidores: Franseria dumosa, Thamnosma montana y Encelia farinosa, el efecto de ellos no se observa de manera rotunda más que en condiciones experimentales ya que son neutralizados en el suelo por los microorganismos, la adsorción de los coloides y las condiciones xéricas del medio.

Durante un estudio sobre el modelo de distribución her

bácea en relación con una comunidad de Adenostoma fasciculatum, Tinnin y Muller (1971) explican que varias especies de hierbas anuales asociadas con los arbustos, son excluidas por un mecanismo alelopático ejercido por Avena fatua, una dominante del pastizal adyacente.

Artemisia absinthium es otra especie que ha sido ampliamente estudiada por sus propiedades alelopáticas. Funke (1943) demostró que gran cantidad de plantas, muchas elegidas al azar, sembradas junto a Artemisia hasta una distancia de 1 m., fueron dañadas e incluso muertas por la producción de absintina por Artemisia. Las plántulas de la misma especie no son dañadas y la excreción y efecto de la absintina están influenciadas por las condiciones climáticas.

Parthenium argentatum produce a través de las raíces, sustancias inhibitoras del crecimiento que son tóxicas para la propia especie. Los inhibidores pudieron extraerse de las soluciones nutritivas que pasaron previamente a través de la grava donde crecían las plantas de guayule en un experimento efectuado por Bonner y Galston en 1944. El agua del lavado de las raíces contenía dos inhibidores, uno de ellos el ácido cinámico y el otro un ácido orgánico no identificado. Bonner (1946), al realizar estudios posteriores sobre esta misma especie no pudo demostrar ninguna acumulación de las sustancias tóxicas produci

das por las raíces en los suelos en que crecían estas plantas, ya sea en condiciones de vivero o de campo. Sin embargo, sostiene que la infertilidad de un suelo particular en relación al guayule puede estar determinada en parte por la acumulación de ácido cinámico u otra toxina por causa de la ausencia o ineficacia del sistema de neutralización o destrucción de los alelopáticos.

Gray y Bonner (1948) extrajeron un compuesto cristalino puro tóxico de las hojas de Encelia farinosa, que causó inhibición del crecimiento en un 50 %, a las plántulas de tomate a concentraciones de 115 mg/l, y la muerte de las mismas a concentraciones de 250 mg/l.

Sivori y Wurceldorf-Warden en 1949, descubren en las semillas de Matthiola incana una sustancia con efectos inhibitorios y estimulantes (en menor grado) de otras varias especies. Esta investigación fue sugerida por el hallazgo de un inhibidor en la especie M. bicornis.

Los bioensayos realizados con el propósito de encontrar alelopáticos en diversos órganos vegetales han sido numerosos y muy productivos, y han demostrado sin duda, que existe una gran variedad de compuestos tóxicos y también estimulantes en muchas especies de plantas, los cuales es posible ponerlos en evidencia

mediante un número restringido de métodos de experimentación básicamente semejantes entre sí. Lavollay (1951), Yardeni y Evertari (1952), y Le Tourneau et al (1956, 1957) exponen diversas técnicas para el hallazgo de inhibidores y su valoración apropiada con diversos fines. Los experimentos realizados exclusivamente en condiciones de laboratorio probablemente muestren una imagen incompleta y deformada de la importancia que muchos compuestos secundarios tienen como hormonas ambientales. Sin embargo han sido de enorme utilidad para el descubrimiento de compuestos desconocidos y de útil aplicación en diversos campos de la ciencia. La dormina, un inhibidor del crecimiento vegetal, puede ser obtenida de los carotenoides mediante diversas técnicas de iluminación de estos pigmentos. Taylor y Smith (1967) probaron este hecho al extraer y tratar los carotenoides de Urtica dioica, que resultaron inhibidores de las plántulas de Lepidium sativum. El ácido abscísico fue aislado recientemente de los tejidos vegetales y se ha comprobado que es un raro sesquiterpeno que muestra actividad óptica excepcionalmente alta, promueve la senectud y abscisión de las hojas, induce la latencia en yemas y semillas y antagoniza los efectos de hormonas estimulantes del crecimiento. Su acción se basa probablemente en la inhibición del ácido nucléico y la síntesis de proteínas (Wareing y Ryback, 1970). La delcosina y la ajaconina, dos alcaloides diterpénicos aislados de Delphinium ajacis, "es-

puela de caballero", resultaron ser inhibidores del crecimiento de los vegetales en una prueba basada en la facultad de las auxinas de inducir el crecimiento del cambium. (Waller y Burs-trom, 1969).

La alelopatía ejercida por algunas especies dominantes de zonas templadas, ha sido claramente comprobada y ampliamente estudiada en algunos casos, como por ejemplo, el del género Eucalyptus originario del continente australiano donde abunda y domina en enormes comunidades cuya riqueza y diversidad las convierten en verdaderas selvas, constituye en Norteamérica bosques cuya vegetación acompañante es muy escasa. Este hecho ha llevado a algunos investigadores a tratar de encontrar las causas de la ausencia de los estratos inferiores del bosque, así como de regeneración natural en muchas comunidades de eucalipto. Florence y Crocker (1962) trataron de averiguar la causa y el significado ecológico de la inhibición de las plántulas de Eucalyptus en el suelo del mismo bosque y comprobaron después de estudiar el contenido de nutrientes del suelo, que el problema no puede explicarse exclusivamente a ese nivel. Sin haber efectuado una búsqueda de inhibidores en los restos orgánicos de los árboles, concluyen que parece existir una interacción entre los microorganismos del suelo y las raíces de las plántulas, pues se obtuvo un vigoroso crecimiento de estas en suelos irradiados lo que indica un antagonismo claro debido a un microorganismo especia-

lizado que ayuda a una rápida incorporación de la materia orgánica al humus del suelo y que impide el normal crecimiento de las plántulas. Posteriormente Baker (1966) demostró que los terpenos volátiles producidos por las hojas del eucalipto, principalmente, parecían ser los responsables de la escasez de vegetación acompañante en los bosques de dicho árbol, especialmente el cineol. Dichos terpenos no afectaron sin embargo la germinación y el crecimiento de las propias plántulas de eucalipto. Del Moral y Muller, C.H. (1969) demostraron que los alelopáticos producidos por Eucalyptus globulus son de importancia fundamental para la ausencia de gran número de plantas en las comunidades de este árbol. Además probaron que el acarreo de los alelopáticos se efectuaba por medio de la niebla, tan abundante en estos climas. Colectaron niebla natural bajo los eucaliptos y demostraron en un ensayo con Bromus rigidus, que es inhibidora del crecimiento, sin haber sido concentrada. La cromatografía en papel de la niebla, reveló la presencia de ácidos clorogénico, p-cumarilquinico y gentísico. Los mecanismos alelopáticos adicionales en Eucalyptus involucran a los terpenos adsorbidos a los coloides del suelo y a los ácidos fenólicos lixiviados del liter de las hojas. La importancia de la niebla como agente de transferencia de metabolitos de las hojas al medio, se basa en la capacidad de estos compuestos para influir en la estructura y diversidad de una comunidad vegetal. Posteriormente

(1970) hicieron un estudio semejante en una comunidad de Eucalyptus camaldulensis.

El género Pinus también ha sido estudiado por lo aparente exclusión que ejerce sobre un gran número de especies de los estratos inferiores de los bosques. Se conoce relativamente poco acerca del papel que desempeñan algunos compuestos secundarios de las coníferas por ejemplo las oleorresinas y de las consecuencias biológicas que su liberación al medio acarrea. La información al respecto será muy valiosa para seleccionar las partes resistentes y susceptibles en las interacciones planta-planta y planta-insecto. Brown (1967) demuestra en algunos ensayos realizados en condiciones de laboratorio que la germinación y el crecimiento de Pinus banksiana son estimuladas por Pinus resinosa, Oryzopsis pungens, Amelanchier laevis, Cornus canadensis y Trientalis borealis, mientras que son inhibidos por Prunus punila, Gaultheria procumbens y Solidago juncea. Las pruebas que realizó en el invernadero indicaron que existe una rápida desnaturalización de las sustancias con actividad biológica. Concluye que los compuestos responsables de estimulación e inhibición influyen sobre la sucesión y distribución de las plantas. El potencial alelopático del liter de las hojas de tres coníferas distintas fue estudiado por Ooyama (1954). Las especies consideradas fueron Pinus densiflora, Cryptomeria japo-

nica y Chamaecyparis obtusa y se comprobó que los extractos acuosos del liter foliar inhibían la germinación de las semillas de la misma especie y de otras también y que el crecimiento de las plántulas en la cama de suelo que se mezcló con el liter en polvo fue escaso y pobre.

En las zonas desérticas posiblemente es más fácil comprobar las interacciones alelopáticas planta-planta. Es en estos climas donde las toxinas liberadas al medio pueden permanecer por mucho más tiempo activas (adsorbidas a los coloides del suelo) debido a la escasez de microorganismos capaces de descomponerlas. La degeneración de las poblaciones de pasto que crecen junto a Larrea tridentata es debida en gran parte a los inhibidores de crecimiento que se encuentran en las hojas de esta planta. Se ha comprobado que las raíces no producen toxinas. (Knipe y Herbel, 1966). Prosopis juliflora posee tanto inhibidores como estimulantes del crecimiento. Esta influencia se comprobó sobre Euphorbia caducifolia; el crecimiento de la radícula fue más afectado que el del hipocotilo, los pelos radiculares fueron suprimidos lo que retarda la absorción y el crecimiento posterior. Sin embargo, la presencia de alelopáticos no es el único factor que perjudica la germinación y el crecimiento de las plantas vecinas a Prosopis pues también influyen otros factores como predadores, acarreamiento de hojas por el viento,

etc. (Sen y Chawan, 1970). Moore (1963) encuentra en los aque-
nios de Cercocarpus montanus una sustancia hidrosoluble que in-
hibe la germinación y el crecimiento de las plántulas de varias
especies vegetales. Cercocarpus es un arbusto de la familia de
las rosáceas que se encuentra ampliamente distribuido a través
de las Montañas Rocallosas y frecuentemente se le encuentra co-
mo especie dominante.

El éxito de la cebada como "cultivo asfixiante" ha si-
do generalmente atribuido a la competencia física por nutrientes
y agua. Sin embargo en ausencia de tal competencia, la cebada
inhibe también la germinación y el crecimiento de sus competido-
ras. Overland (1966) demuestra la presencia de alelopáticos en
la cebada, que tienen gran especificidad, sobre todo sobre Stella
ria media, en menor grado sobre Capsella bursa-pastoris y Nico-
tiana tabacum y ningún efecto sobre Triticum aestivum. Overland
indica que existe un efecto de concentración y una posible pro-
ducción periódica del inhibidor. Las plantas vivas fueron más
inhibidoras que las muertas lo que probablemente indica una ac-
tiva secreción metabólica del alelopático. Los primeros inten-
tos de identificación de los compuestos mostraron alcaloides,
en especial la gramina.

Los monocultivos de Grevillea robusta, un árbol con há-
bitos no gregarios del bosque semitropical en Queensland, Aus-

tralia, crecen pobremente. En estas plantaciones no hay regeneración natural, pero Grevillea se regenera libremente en las plantaciones adyacentes de Araucaria cunninghamii y a lo largo de los bordes del bosque. En las plantaciones de Grevillea, las puntas de las hojas de las plántulas de esta especie se ennegrecen en forma característica y las plántulas mueren. Estos síntomas se deben al contacto estrecho de las raíces de las plantas adultas con las de las plántulas y pueden reproducirse en condiciones experimentales. Por lo tanto Grevillea no puede reproducirse naturalmente debido a un compuesto hidrosoluble que en la rizósfera de esta especie, entra en contacto con microorganismos antagónicos, los cuales están involucrados en la inhibición del crecimiento sufrida por las plántulas. La muerte de las plántulas de la misma especie explica en parte el mantenimiento de la diversidad florística en estas selvas. La producción comercial de estas especies sólo será posible en policultivos. (Webb, Tracey y Haydock, 1967).

Otro ejemplo de autoinhibición alelopática es el que encontramos en la especie Typha latifolia. Las plántulas de esta especie son inhibidas totalmente por los extractos acuosos de las hojas de los adultos, así como el agua extraída del suelo donde estos juncos crecen. Las poblaciones de Typha, una vez establecidas, pueden impedir la invasión de genotipos extraños me-

dianete la producción de alelopáticos cuyas propiedades autotóxicas acumuladas en los residuos orgánicos pueden acentuar a la vez, la orientación unidireccional de la sucesión del pantano. (McNaughton, S.J., 1968).

Bajo la sombra de Celtis laevigata, frecuentemente se observan áreas desnudas de vegetación, a excepción de una que otra especie herbácea que puede crecer relativamente bien ahí. Esta escasez no se debe principalmente a factores físicos, deficiencias nutricionales, agua o luz. Lodhi y Rice (1971) comprobaron que las hojas muertas, el lavado de las hojas y el suelo colectado bajo la sombra de Celtis redujeron significativamente la germinación y crecimiento de las plántulas de Andropogon gerardi, A. scoparius, Panicum virgatum y Sorghastrum nutans y que las principales toxinas producidas por las hojas de Celtis fueron: escopolina, escopoletina, ácido ferúlico, cafeico, p-coumárico y gentísico, y concluyen que las áreas desnudas de vegetación se deben principalmente a la alelopatía.

En los sitios donde crece naturalmente Platanus occidentalis, hay zonas definidas donde el crecimiento de las especies asociadas está reducido. Al-Naib y Rice (1971) hicieron un estudio con el fin de indagar las causas del pobre crecimiento del estrato herbáceo bajo el bosque de estos sicomoros y aclarar si se trataba de competencia o de la inhibición química

producida por los árboles. Los estudios iniciales mostraron que la falta de crecimiento de las especies probadas no se debía al bajo contenido de minerales, agua o luz. Por otro lado las hojas caídas, el agua de lixiviación de las hojas y el suelo del bosque, inhibían la germinación y el crecimiento de las semillas y plántulas de muchas de las especies asociadas. Se encontraron ácido clorogénico, escopolina y escopoletina en los extractos de hojas frescas y los mismos compuestos más ácido isoclorogénico, ácido neoclorogénico, ácido 4-cafeoylquinico y o-cumárico en los extractos de frutos maduros. Sólo dos de estos inhibidores se identificaron en el agua lixiviada por las hojas frescas: ácido clorogénico y escopolina.

McPherson (1972) demostró a través de distintos experimentos que las especies Quercus stellata y Quercus marilandica suprimen a la vegetación de los estratos bajos de los bosques donde estas especies dominan. Los factores causantes de esta supresión fueron: 1) el liter, 2) la competencia entre las raíces, 3) los alelopáticos producidos por las raíces y 4) las toxinas producidas por el follaje vivo del encino que se disuelven en el agua de lluvia y así son arrastradas hasta el sustrato.

Algunas especies de Quercus, no sólo inhiben a las plantas de los estratos inferiores de los bosques de encino, si

no que tienen una influencia decisiva sobre el crecimiento de las epífitas. El análisis de la corteza de cinco especies de Quercus en un bosque nublado de Oaxaca, México, indicó que las cortezas de Q. magnoliaefolia, Q. scytophylla y Q. peduncularis contienen sustancias inhibitoras para ciertas especies de orquídeas epífitas, mientras que en las cortezas de Q. castanea y Q. vicentensis no se encontraron toxinas. Es muy probable que la distribución de orquídeas epífitas en ciertos encinos mexicanos esté relacionada con la presencia de inhibidores como el ácido elágico y otros derivados del ácido gálico, taninos leucoantocianicos y otros, en la corteza del árbol. (Frei y Dodson, 1972).

Moral y Cates, (1971) investigaron 40 especies comunes de las comunidades vegetales del oeste del estado de Washington, con el fin de encontrar en ellas alelopáticos capaces de influenciar la distribución de las especies asociadas. Bajo condiciones de laboratorio muchas especies contuvieron compuestos inhibidores volátiles y muchas también, compuestos tóxicos hidrosolubles. Los resultados de los bioensayos realizados se compararon con las descripciones de la distribución de las especies subordinadas bajo condiciones naturales. En algunos casos los altos valores de inhibición obtenidos en los experimentos del laboratorio con Acer circinatum, Arbutus menziessi y Rhododendron albi-

florum, estuvieron asociados con los cambios diversos en la composición de la vegetación de los niveles bajos de las comunidades. Encontraron que la relación entre los valores de inhibición producidos por los inhibidores volátiles e hidrosolubles fue más alta en las especies de las regiones áridas que en las húmedas.

Hay pruebas de que existe una vasta presencia de inhibidores de la germinación, lixiviables, entre las especies dominantes de algunos pantanos de cedro. Estos metabolitos parecen ser capaces de afectar la distribución local de las especies y consecuentemente la zonación en estas comunidades. Las especies difieren una de otra, en la susceptibilidad de los extractos probados y parece ser que los microorganismos del suelo no afectan la actividad de los metabolitos, pero en algunos casos otras propiedades del suelo parece que sí la afectan.

Un ejemplo de alelopatía, comprobado en las zonas tropicales, es el de la influencia de Melinis minutiflora sobre el crecimiento del laurel Cordia alliodora. Los extractos de hojas y raíces de Melinis así como el crecimiento simultáneo de esta especie con el laurel, disminuyeron la altura de las plántulas de éste, el peso seco de las raíces, tallos y hojas y el crecimiento en diámetro del laurel. Mientras que el efecto del crecimiento simultáneo redujo el desarrollo de las raíces secunda-

rias inhibiendo enormemente el sistema radical. (Marinero, 1962). Mimosa pudica, especie secundaria de los climas cálidos-húmedos, al igual que Melinis, produce alelopáticos que excreta a través de las raíces, hacia el medio externo. Esto se comprobó en un experimento realizado con plántulas de tomate creciendo en camas de arena con solución Hoagland. El mecanismo de inhibición se debe al 3-4 dihidroxipiridina. La acción quelatizante del sistema mimosina-3-4-DHP, inhibe enzimas como la catalasa, citocromo-c, fosfatasa alcalina y la decarboxilasa L-dopa; como aminoácido puede bloquear competitivamente la utilización de aminoácidos aromáticos. Su configuración indica que puede haber interferencia con la incorporación de fenil alanina y tirosina en las proteínas (Jonas, 1969), (Smith y Fowden, 1966).

Putnam y Duke (1974) realizan una importante contribución dentro del campo de aprovechamiento de la producción de alelopáticos en la agricultura. Probaron lotes de Cucumis sativus procedentes de 41 naciones y los hicieron crecer con dos especies de malezas indicadoras para observar su habilidad competitiva, que es diferente entre especies cultivadas y malezas. La ventaja competitiva de estas últimas se atribuye al crecimiento rápido y su consecuente ventaja para competir por luz, agua o nutrientes. En los experimentos se demostró que algunos lotes de pepino inhibían francamente a las malezas, por excreción de alelopáticos. Se notó cierta especificidad en la inhibición so-

bre las especies indicadoras que fueron Brassica hirta y Panicum miliaceum. Demostraron así que la alelopatía puede favorecer la habilidad competitiva de los cultivos contra especies importantes de malezas; si este factor es hereditario, puede intentarse incorporarlo como carácter dentro de los cultivos comerciales.

Para valorar la alelopatía, deben reunirse dos requisitos: 1. demostrar que no sólo la planta en cuestión contiene un inhibidor, sino ver cuál es el mecanismo por el cual la fitotoxina se libera, se transporta dentro del medio y se acumula en el habitat de la planta que inhibe y, 2. determinar la importancia relativa de todos los factores físicos pertinentes, para que la competencia por uno de éstos, pruebe no ser la razón de la interferencia. En vista de que existen combinaciones sinérgicas entre los factores físicos y químicos, deberá determinarse el relativo poder limitante de cada uno de ellos. De esta manera se han justificado plenamente ejemplos de inhibición en el medio natural, como los de Agropyron repens, Encelia farinosa, Franseria dumosa, Juglans nigra, Arthemisia absinthium, Camelina alyssum, etc. y deberán comprobarse muchas interacciones a nivel bioquímico entre plantas, microorganismos, parásitos y huéspedes, buscando colateralmente la aplicación de muchos de los metabolitos que se descubran y cuyo papel es esencial en las relaciones botánicas, en agricultura y en ecología. (Muller,

1970, Grummer, 1961, Evenari, 1961).

La alelopatía no constituye una panacea simple para la solución de los problemas ecológicos. Por el contrario, es una materia difícil y exigente de estudio. Sus técnicas son adicionadas a las convencionales de la ecología, más bien que sustituidas por ellas. Las pruebas que hasta el momento tenemos, indican que los productos bioquímicos están universalmente relacionados con las interacciones bióticas y que los efectos alelopáticos pueden, simplemente o en relación con otras condiciones ambientales, ser factores limitantes para la distribución de las especies y los procesos ecológicos, en casi cualquier comunidad agrícola o natural. (Muller, 1969. Rice, 1967, 1974).

7) Papel de la alelopatía en la Sucesión Secundaria.

En los países americanos donde las zonas cálido-húmedas tienen una extensión e importancia considerables, observamos que la vegetación primaria está desapareciendo rápidamente debido a que su energía potencial no ha podido ser aprovechada por el hombre quien la destruye sistemáticamente, buscando en la agricultura y otras formas de explotación, un medio de aprovechamiento más eficaz para su beneficio inmediato. Desgraciadamente, el hombre está destruyendo una riqueza extraordinaria, producto de la evolución biológica a través de millones de años

y que él ni siquiera conoce totalmente, pues la estructura y dinámica de la flora y la fauna en esos lugares está mal estudiada, mal entendida y, en algunos casos es completamente desconocida. El tipo de cultivos que sustituyen a la vegetación original, las prácticas agrícolas y la pobreza de los suelos, no permiten ni un alto rendimiento, ni una explotación continua y prolongada de las áreas utilizadas y éstas al ser abandonadas dan paso a las comunidades secundarias que son tan desconocidas como las primarias.

La sucesión secundaria es resultado de las continuas alteraciones ambientales originadas por la interacción de las sucesivas comunidades que invaden el área. Las especies secundarias, al parecer, tienden a crear condiciones más favorables para otros grupos de organismos y menos favorables para ellas mismas, lo cual determina que nuevas especies se establezcan y otras desaparezcan a causa, entre otras cosas, de la abundancia de materiales nutritivos y la acumulación de sustancias inhibidoras en el suelo.

La sucesión secundaria en las zonas cálido-húmedas, se inicia inmediatamente después de que se perturba un área de selva o se abandona un campo de cultivo. Esto determina que la erosión del suelo, cuando no existe mucha pendiente, sea muy leve o en la mayoría de los casos no se presente. Aunque sí ocur

rran en cambio, otras transformaciones edáficas complejísimas después de la tala y durante las siguientes etapas sucesionales. El patrón general de los cambios ambientales iniciales de la sucesión secundaria, es bien conocido: el aumento considerable en la cantidad de luz, el cambio radical de la calidad de la misma, las grandes fluctuaciones de temperatura y humedad, la exposición del suelo a la acción directa de la lluvia, etc. Pero la información precisa y específica es escasa y no permite hacer más que suposiciones generales respecto a las posibles causas que disparan los continuos cambios sucesionales y a los factores bióticos y abióticos que rigen la dinámica del fenómeno.

Las interacciones químicas durante la sucesión secundaria, sólo se han estudiado en zonas templadas, aunque es posible que se pueda emplear la metodología de algunos de estos trabajos y aplicarla en las zonas tropicales. Se ha comprobado que los compuestos dejados en el suelo por las primeras etapas de la sucesión, afectan a las siguientes etapas inhibiendo su crecimiento o retardando la invasión de nuevas especies vegetales e incluso seleccionando esta invasión e influyendo en la composición de la comunidad, puesto que los alelopáticos tienen una acción selectiva y obran de manera diferente, directamente sobre las plantas o indirectamente sobre los microorganismos del suelo, provocando que las condiciones de éste no sean apro-

piadas para el establecimiento de nuevas plantas en la sucesión y convirtiéndose en un factor de selección muy importante en ella.

El trabajo experimental en las zonas templadas ha demostrado que existe una sutileza enorme en las relaciones bióticas durante la sucesión, así como marcadas diferencias entre las especies establecidas en correlación con las diferencias entre ciertos factores ambientales, especialmente del suelo. Teniendo en cuenta las estrechas relaciones que existen entre los vegetales y los microorganismos del suelo, es posible predecir el tipo de microflora que va a establecerse y las repercusiones que tendrá en las distintas etapas sucesionales, siempre y cuando se conozcan a fondo las interacciones de las especies involucradas y el impacto de ellas en el medio ambiente. (Gómez-Pompa et al, 1974).

Rice y Parenti (1967) encontraron que Bromus japonicus, perteneciente a la etapa pionera de malezas de la sucesión de los campos abandonadas de Oklahoma, tiene un bajo requerimiento de nitrógeno y era inhibidora de las bacterias fijadoras de nitrógeno y de las nitrificantes. Se encontraron seis diferentes inhibidores fenólicos, uno de los cuales se identificó como el éster glucosídico del ácido ferúlico. Este hecho retarda el establecimiento de otras plantas competidoras cuyos requerimien-

tos de nitrógeno son mayores. Blum y Rice (1969) encontraron nuevamente en este tipo de sucesión en Oklahoma, que los fenoles producidos por las especies con bajos requerimientos de nitrógeno de las etapas pioneras, inhibían las bacterias nitrificantes y fijadoras de nitrógeno. Entre los principales fenoles se encontraron el ácido gálico y el tánico, ambos muy efectivos en la inhibición de la nodulación y cantidad de leghemoglobina producida en las plantas de frijol, cuando se añadieron en bajas concentraciones en cultivos de arena o suelo. Citan como especies productoras de estos fenoles a Euphorbia supina y Rhus copallina.

Helianthus annuus y Digitaria sanguinalis, especies dominantes de la etapa de malezas de la sucesión secundaria en estos campos de Oklahoma, producen fitotoxinas inhibitorias de su propia especie y otras especies asociadas con excepción de Aristida oligantha y Croton glandulosus. En estos casos se ha encontrado que los inhibidores del crecimiento y de la germinación son también fenoles, aunque puedan existir otro tipo de toxinas. Existe una fuerte correlación entre la reducción experimental del crecimiento y la distribución de las especies en el tiempo y el espacio y es posible que la rápida desaparición de la primera etapa de la sucesión (2 ó 3 años), se deba al hecho de que las especies de esta etapa se eliminan a sí mismas por inhibición química y que Aristida oligantha invada simplemente porque no es

dañada por los mismos inhibidores. (Wilson y Rice, 1968., Parenti y Rice, 1969., Olmsted y Rice, 1970).

Gant y Clebsch (1975) encontraron que la alelopatía parece ser el mecanismo que permite que Sassafras albidum se mantenga en poblaciones relativamente puras a través de muchas etapas de la sucesión de los campos de cultivo abandonados. Dentro y fuera de las comunidades de Sassafras se aislaron las siguientes sustancias: 2-pineno, α -felandreno, eugenol, safrol, citral y d-canfor de las hojas, liter, suelo y raíces. Se encontró una correlación positiva entre la concentración del α -felandreno y la reducción de crecimiento de la radícula de Acer negundo y Ulmus americana. Es indudable que los distintos mecanismos de liberación de fitotoxinas que tiene Sassafras en las diferentes etapas del año, le permiten influir de una manera continua a su alrededor.

II OBJETIVOS

II OBJETIVOS

El papel que las interacciones químicas planta-planta y planta-microorganismo tienen en la sucesión secundaria de las zonas tropicales es casi totalmente desconocido, pero es posible intuirlo debido a la variedad florística existente, la cual involucra una enorme diversidad de compuestos secundarios que son liberados continuamente al medio externo. Aunque los mecanismos que determinan la dinámica de la sucesión en los climas templados, sean básicamente distintos a los de los climas tropicales, es posible que converjan en ciertos aspectos relacionados con las interacciones competitivas o mutualísticas de las especies vegetales.

La invasión inmediata de las etapas pioneras de la sucesión secundaria en los lugares perturbados de las zonas tropicales, muestra en un tiempo relativamente corto (un año) (Rico, 1972) la tendencia general de estas comunidades a disminuir en cuanto a diversidad de especies y a ajustarse a un cierto patrón que las caracteriza: la dominancia de un número reducido de especies.

En muchas zonas tropicales de México, las comunidades secundarias que han sustituido a las selvas, reciben el nombre genérico de acahuales, independientemente de la edad que tengan.

Los acahuales jóvenes, en general, muestran la tendencia a ser muy densos (especialmente cuando dominan las gramíneas), pero el número de especies que los forman es reducido, tanto que es muy frecuente observar masas puras de una sola especie. El efecto asfixiante de estas poblaciones es muy efectivo para impedir la invasión de nuevas plantas, por lo menos durante un cierto período de tiempo, mediante un proceso de competencia muy eficaz por espacio y nutrientes. Sin embargo, esta peculiar estructura de los acahuales, obviamente sugiere otros mecanismos de exclusión competitiva, independientes de los anteriores. La agresividad que muchas especies demuestran al invadir y dominar velozmente una zona, se justifica si pensamos en la necesidad que tienen estas plantas de crecer rápidamente para no ser sombreadas por aquellas de más talla, pero de crecimiento más lento. Es esta misma necesidad la que las ha obligado a producir los mecanismos necesarios para llevar a cabo dicha invasión y que involucran medios anatómicos, fisiológicos, físicos y químicos. Una vez establecidas las especies, estos mismos mecanismos les van a permitir su permanencia en el lugar, durante la contínua lucha que sostienen por la adquisición de espacio, luz, nutrientes, etc. El tiempo que logren mantenerse dependerá de lo eficaz de estos mecanismos y el desplazamiento que sufran deberá verse como una consecuencia de la imposibilidad biológica de las plantas de resistir las presiones de competencia, cambios

ambientales originados por los procesos normales de la sucesión, actividad reproductiva, ciclos de vida, acumulación de materia orgánica y/o sustancias tóxicas en el medio, etc.

La dinámica espacial y temporal de la sucesión secundaria sugiere pues la participación de múltiples y variados factores que deben contemplarse en conjunto para entender el complejo proceso. Desde el punto de vista del interés de este trabajo, lo anterior nos lleva obviamente a reflexionar sobre la importancia de los compuestos alelopáticos, como disparadores o moderadores de los cambios, selección y secuencia de las especies durante la sucesión secundaria.

El Proyecto de Regeneración de las Selvas Húmedas en México, auspiciado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, permitió llevar a cabo esta investigación cuyo fin primordial ha sido valorar la importancia del potencial alelopático de algunas plantas secundarias y su papel dentro de la sucesión, como una contribución al entendimiento de este proceso cada vez más extendido en las zonas tropicales de nuestro país.

III MATERIALES Y METODOS

III MATERIALES Y METODOS

1) Localización de la zona de estudio.

La zona elegida para la investigación está situada en la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, en el estado de Veracruz, perteneciente a la UNAM. La estación está enclavada en la planicie costera del Golfo de México, al sureste de la República Mexicana, dentro de la zona cálido-húmeda del Estado de Veracruz. Dentro de las 700 hectáreas de terreno de esta reserva biológica, se encuentran zonas de vegetación primaria constituidas por la selva alta perennifolia, mezcladas con numerosas comunidades secundarias o acahuales, distintas en edad y estado de desarrollo y resultantes de la perturbación de la selva como consecuencia principalmente, de las prácticas ganaderas y agrícolas llevadas a cabo con anterioridad al establecimiento de la estación biológica en ese sitio y basadas estas últimas, en el sistema roza-tumba y quema.

2) Selección de especies.

Las especies elegidas como probables productoras de alelopáticos, pertenecen a la vegetación secundaria y comparan una característica que fue la principal razón por la que se eligieron: su dominancia o codominancia en algunas etapas sera-

les. Este hecho es un fenómeno frecuente en las etapas iniciales de la sucesión secundaria.

Y es tan conspicuo que en ocasiones la dominancia da la impresión de ser casi absoluta. Esto permitió de una manera relativamente sencilla, la elección de algunas de las especies secundarias cuyo potencial alelopático aparentemente era indudable, debido a la dominancia que ejercen dentro de algunas comunidades. Otro hecho que facilitó la elección fue que algunas de ellas son aromáticas (las señaladas en la lista con un asterisco), y existe el antecedente de que muchos compuestos aromáticos son tóxicos para el crecimiento de las especies vegetales.

Las especies elegidas fueron:

Piper auritum (Piperaceae) *

Piper hispidum (Piperaceae)

Croton pyramidalis (Euphorbiaceae) *

Siparuna nicaraguensis (Monimiaceae) *

Cecropia obtusifolia (Moraceae)

Myriocarpa longipes (Urticaceae)

Urera caracasana (Urticaceae)

De estas especies, las más abundantes y dominantes son probablemente Cecropia obtusifolia, Piper auritum y P. hispidum. Sin embargo, Croton pyramidalis llega a formar bosquecillos

practicamente puros, dentro de los cuales se observa una buena regeneración natural de esta misma especie y casi ninguna otra plántula, herbácea o arbusto; hecho que llamó poderosamente la atención y permitió elegirla rápidamente, además de su carácter fuertemente aromático.

Con el objeto de detectar la presencia de alelopáticos en todas estas especies, era necesario observar los efectos que diversos tipos de extractos de los diferentes órganos de estas plantas, tenían sobre la germinación y el crecimiento de otras especies también secundarias del lugar. Para elegir este segundo grupo de especies era necesario encontrar aquellas que tuvieran ciertas características que facilitarían las pruebas en el laboratorio. De esta manera se buscaron aquellas especies que poseyeran una viabilidad alta y un corto período de germinación.

Las especies seleccionadas fueron:

Mimosa pudica L. (Leguminosae)

Achyranthes aspera L. (Amaranthaceae)

Bidens pilosa L. (Compositae)

Heliocarpus donnell-smithii Rose (Tiliaceae)

Ochroma lagopus Sw (Bombacaceae)

Crusea calocephala DC (Rubiaceae)

Solanum diphyllum L. (Solanaceae)

Cecropia obtusifolia Bert (Moraceae)

Piper auritum HBK (Piperaceae)

Verbesina greenmani Dupl (Compositae)

3) Metodología General:

- a) Tolerancia a la presión osmótica
- b) Pruebas con los extractos acuosos de hojas
- c) Pruebas con los extractos acuosos de raíces
- d) Pruebas con el agua de lavado de las hojas
- e) Pruebas con las soluciones de suelo
- f) Pruebas con los extractos orgánicos, las fracciones cromatográficas de los mismos y los compuestos aislados.
- g) Pruebas con los aceites esenciales, con las fracciones cromatográficas del aceite de Piper auritum y con el Safrol y sus isómeros.

Es importante señalar que en los primeros experimentos realizados con algunos extractos de hojas, el problema de la aparición de hongos y bacterias dentro de las cajas de Petri se trató de resolver mediante la aplicación de fungicidas corrientes utilizados para preservar a las semillas agrícolas del ataque de estos organismos. Se utilizaron dos productos: 1) Captán y 2) una solución saturada de hidroxiquinoleína. Ambas afectaron mucho a todas las especies por lo que se suprimió el tratamiento con ellas. Para evitar el problema se procuró sola

mente que todo el material estuviera lo más estéril posible. Las semillas se sembraron sin lavar, ni esterilizar.

a) Tolerancia a la presión osmótica.

El método aparentemente sencillo de probar el efecto de los extractos de órganos vegetales sobre la germinación y el crecimiento de las plantas tiene el peligro de que en caso de utilizar extractos muy concentrados, el efecto inhibitor está determinado por la presión osmótica del extracto y no por la presencia de un compuesto tóxico en él. Por esta razón hubo la necesidad de determinar primero los límites de tolerancia a la presión osmótica de las 10 especies de semillas utilizadas para los experimentos y después aplicar extractos de presión osmótica conocida que no excedieran dichos límites.

Para la preparación de soluciones de presión osmótica conocida, se utilizó el manitol en concentraciones molares de .02, .04, .06, .08, .1, .2 y .3. Se utilizaron 100 semillas de cada especie por tratamiento, las cuales fueron sembradas en cajas de Petri sobre papel filtro. Las cajas fueron selladas con cinta adhesiva y colocadas cada una dentro de una bolsa de plástico, también sellada, para evitar la evaporación de agua, y en consecuencia alteraciones en la presión osmótica. El período de germinación se llevó a cabo en una cámara de crecimiento cu-

ya temperatura osciló entre 25 y 28°C y con fotoperíodo de 12 horas. El tiempo de germinación varió de acuerdo con la especie como sigue:

<u>Mimosa pudica</u>	72 horas
<u>Achyranthes aspera</u>	144 horas
<u>Bidens pilosa</u>	144 horas
<u>Heliocarpus donnell smithii</u>	120 horas
<u>Ochroma lagopus</u>	144 horas
<u>Crusea calocephala</u>	168 horas
<u>Solanum diphyllum</u>	360 horas
<u>Cecropia obtusifolia</u>	480 horas
<u>Piper auritum</u>	480 horas
<u>Verbesina greenmani</u>	168 horas

Estos tiempos de germinación se mantuvieron iguales para todos los tipos de experimentos realizados posteriormente, procurándose siempre que las condiciones para la germinación de estas especies se acercaran al óptimo necesario según los trabajos de Vázquez Yanes (1974).

Se tomaron en cuenta, los siguientes datos: % de germinación, longitud del tallo y longitud de la raíz.

b) Pruebas con los extractos acuosos de hojas.

Una vez obtenida la curva de tolerancia a la pre-

sión osmótica se probaron sobre estas 10 especies, los extractos acuosos de las hojas de tres de las especies importantes en varias etapas de la sucesión:

Piper auritum

Piper hispidum

Croton pyramidalis

utilizándose cantidades de 1 y 4 gramos de hojas secas, licuadas en 100 ml de agua destilada y filtradas. Estas concentraciones no rebasaban los límites de tolerancia a la presión osmótica de ninguna de las especies utilizadas para los bioensayos de manera que si las soluciones ejercían alguna inhibición sobre las semillas se tendría la seguridad de que existía algún alelopático que las provocaba.

En estos experimentos también se tomaron en cuenta el porcentaje de germinación, la longitud de la raíz y la longitud del tallo.

Posteriormente y en vista de los resultados positivos obtenidos en estos experimentos, se escogieron las seis primeras especies de semillas sobre las cuales se probaron las soluciones (debido a que germinaban más rápidamente y su porcentaje de germinación era muy alto), para probar las especies restantes sospechosas de producir alelopáticos y comparar los efectos

de todas ellas entre sí.

Estas pruebas se efectuaron con extractos acuosos de hojas sin hervir en proporción de un gramo del material seco por 100 ml de agua destilada. En estas pruebas se tomaron en cuenta el porcentaje de inhibición o estimulación del tallo y la raíz y el porcentaje de germinación. Las pruebas realizadas se efectuaron en cajas de Petri sobre agar al 1%, dentro de una germinadora a 27°C con luz de día y fotoperíodo de 12 horas.

c) Pruebas con los extractos acuosos de raíz.

Se trabajó con extractos de las raíces frescas de:

Piper auritum

Piper hispidum

Croton pyramidalis

Siparuna nicaraguensis y

Cecropia obtusifolia

Con el propósito de comparar el efecto de éstos con los de los extractos de hojas y de esta manera ubicar el sitio de producción, almacenamiento o excreción de los inhibidores. Los extractos se hicieron en una proporción de 15 g. en 100 ml de agua. La metodología utilizada para estos experimentos corresponde a la usada con los extractos de hojas. Se tomaron en cuenta los mismos parámetros.

d) Pruebas con el agua del lavado de las hojas.

Se trataron de realizar colectas de agua de lluvia que caía sobre 5 de las especies investigadas:

Piper auritum

Piper hispidum

Cecropia obtusifolia

Croton pyramidalis

Siparuna nicaraguensis

con el objeto de comprobar biológicamente sus efectos sobre la germinación y crecimiento de otras semillas secundarias.

En primer lugar se colocaron recipientes de plástico debajo del follaje de las plantas para coleccionar el agua de escurrecimiento de la mayor cantidad de hojas posible. Sin embargo, a pesar de que las lluvias eran fuertes y prolongadas y de que los recipientes permanecieron bajo el follaje por períodos de 72 horas, no fue posible reunir la cantidad suficiente de agua de lluvia para hacer estas pruebas, debido a que el follaje, muy espeso en todos los casos, actuó a manera de sombrilla. En vista de ello se colocaron nuevamente otros recipientes de plástico más grandes, hacia la periferia del área de cobertura de las plantas, con el objeto de recolectar mayor cantidad de agua, pero aunque efectivamente se logró recolectar más agua, se com-

probó que ésta estaba contaminada con el escurrimiento de otras especies, por lo que no se intentaron las pruebas con esta agua. Finalmente se realizó un lavado artificial con agua destilada, a fracciones del follaje de cada especie, sacudiendo simplemente a éstas dentro de un recipiente con agua destilada. El material así obtenido fue utilizado para realizar las pruebas biológicas haciéndose con él un agar al 1% sobre el cual se germinaron las semillas. Para el testigo se utilizó agua destilada. Se tomaron en cuenta los mismos parámetros citados con anterioridad para las otras pruebas biológicas.

e) Pruebas con las soluciones de suelo.

Con el objeto de buscar los inhibidores producidos por las hojas de las plantas y supuestamente depositados en el suelo donde estas especies investigadas están creciendo, se realizaron tres experimentos sencillos que consistieron en tomar muestras del suelo superficial de cada caso hasta una profundidad de 5 a 10 cm, procurando desechar los restos orgánicos sin descomponer. Se homogeneizaron estas muestras inmediatamente después de que fueron colectadas y se hizo con cada una de ellas, una solución con agua destilada en proporción 2:1 (suelo-agua); se agitaron durante dos minutos y se dejaron reposar durante 24 horas, después de las cuales, se filtraron con tela gruesa de manta y el líquido colado se utilizó para hacer un agar al 1%

sobre el que se germinaron las semillas. El testigo en este caso fue de agar puro también al 1%. El sitio elegido para coleccionar cada muestra estaba situado exactamente bajo un grupo de plantas de la especie en cuestión y sin vegetación acompañante, hasta donde fuera posible, de manera que el suelo colectado estuviera influenciado al máximo por la especie correspondiente. El testigo en este caso se hizo con una muestra de tierra de un deslave que no tenía influencia de ningún tipo de vegetación, siguiéndose con ella el mismo procedimiento que con las demás muestras de suelo.

Los suelos muestreados correspondieron a las siguientes especies:

Piper auritum

Piper hispidum

Croton pyramidalis

Cecropia obtusifolia

Siparuna nicaraguensis

Se hicieron tres colectas de suelo: la primera en el mes de septiembre; la segunda en el mes de marzo y la tercera en el mes de abril. En esta última se muestrearon también otros suelos con el objeto de observar el efecto que ejercían sobre las semillas y compararlo con los resultados de las dos primeras colectas. Los suelos adicionales fueron colectados en las si-

guientes zonas:

- 1) un pastizal o campo abierto, dominado por gramíneas;
- 2) un acahual de aproximadamente 2 años de edad cuyas especies más conspicuas eran Bidens pilosa, Amaranthus hybridus, Sida rhombifolia y Crusea calocephala.
- 3) un acahual de aproximadamente 10 años de edad, dominado por Piper hispidum, Myriocarpa longipes y Urera caracasana.
- 4) una zona de selva alta perennifolia.
- 5) otra zona de selva alta perennifolia.

En estas pruebas se tomaron los siguientes datos: % de germinación, % de inhibición y % de estimulación.

Al obtenerse los primeros resultados positivos de la acción de los extractos acuosos y comprobarse el efecto inhibidor principalmente de las hojas, se utilizaron diferentes técnicas químicas para tratar de aislar los compuestos responsables de la inhibición.

f) Pruebas con los extractos orgánicos.

Se hicieron extractos de hojas, y en el caso de Siparuna nicaraguensis, de las semillas (debido a que nunca se lograron germinar e inhibían la germinación y el crecimiento de otras semillas en pruebas de germinación simultánea), con solventes orgánicos de distinta polaridad: hexano, acetato de eti-

lo, acetona, cloroformo, metanol y benceno; extrayéndose hasta agotamiento por medio de un soxhlet. Estos extractos se evaporaron en un rotavapor y se hizo con cada uno de ellos, una solución acuosa añadiendo a cada extracto, 100 ml de agua destilada y sometiéndolos a baño María durante 10 minutos. Para cada extracto se utilizaron de 20 a 30 g de material vegetal seco.

A cada uno de los extractos, después de filtrados, les fue medida la presión osmótica. En los casos en que ésta era elevada se añadió agua destilada hasta lograr la presión osmótica deseada. Para probar biológicamente los extractos, se hizo con cada uno de ellos un agar al 1%, donde se colocaron las semillas para su germinación. A aquellos extractos con mayor efecto inhibitor, se les realizaron técnicas de cromatografía en placa fina y columna para tratar de aislar los inhibidores en ellos contenidos. Después se probaron biológicamente las distintas fracciones cromatográficas obtenidas para localizar a aquellas que contenían los inhibidores y en el caso de ser posible, aislarlos. Las fracciones cromatográficas se prepararon para las pruebas biológicas pesando 3 mg de cada una de ellas para cada caja de Petri de 10 cm de diámetro, disolviéndolas con cloruro de metileno y vaciando esta solución en papel filtro Whatman del No. 1, de 9 cm de diámetro de manera que la fracción quedara repartida homogéneamente en el papel. Se dejó evaporar el disolvente y se colocó el papel sobre 25 ml de agar al 1% como fuente

de humedad. Cada caja contenía de 40 a 50 semillas, según el caso. Cuando se logró el aislamiento de compuestos puros, éstos también se probaron de la misma manera que las fracciones cromatográficas y en el caso en que se tenía suficiente material se hicieron pruebas de diversas concentraciones.

g) Pruebas con los aceites esenciales.

Se realizaron arrastres por vapor en las hojas de algunas de las especies más inhibidoras con el propósito de utilizar un método de extracción que se acercara en lo posible a uno de los probables mecanismos naturales de liberación de los alelopáticos en el medio ambiente, debido a las condiciones de alta temperatura y humedad elevada.

Estos arrastres por vapor se lavaron con éter en repetidas ocasiones hasta obtener el aceite esencial, después de separar las fases acuosa y etérea en un embudo de separación y evaporar esta última en el rotavapor. Los aceites extraídos corresponden a las siguientes especies:

Piper auritum

Piper hispidum

Croton pyramidalis

Siparuna nicaraguensis

Los aceites esenciales se probaron biológicamente, cuando

do fue posible a varias concentraciones, siguiendo el método empleado para las fracciones cromatográficas de los extractos orgánicos sobre papel y agar.

El aceite esencial de Piper auritum se separó por cromatografía preparativa en capa fina y se obtuvieron 10 fracciones. Cada una de ellas se raspó y se extrajo con éter y cloroformo quedando listas para las pruebas biológicas que se realizaron con ellas.

La identificación de algunos de los compuestos alelopáticos del aceite esencial de P. auritum se realizó purificando las fracciones por medio de cromatografía de gases preparativa y analizando los productos por espectroscopía en el infrarrojo y resonancia magnética nuclear. Posteriormente se realizaron pruebas biológicas en idénticas condiciones a las anteriores.

A continuación se probó el principal componente del aceite esencial, el safrol, junto con varios isómeros de éste: isosafrol, eugenol, isoeugenol, piperonal y vainillina, con el propósito de comparar la actividad biológica de todos entre sí y tratar de determinar a nivel molecular, el sitio de acción de los inhibidores.

Todos los resultados fueron analizados estadísticamente por medio de una prueba de F con ayuda de la computadora

Borroughs, B-6700 del Centro de Investigaciones Matemáticas y
Análisis de Sistemas de la UNAM.

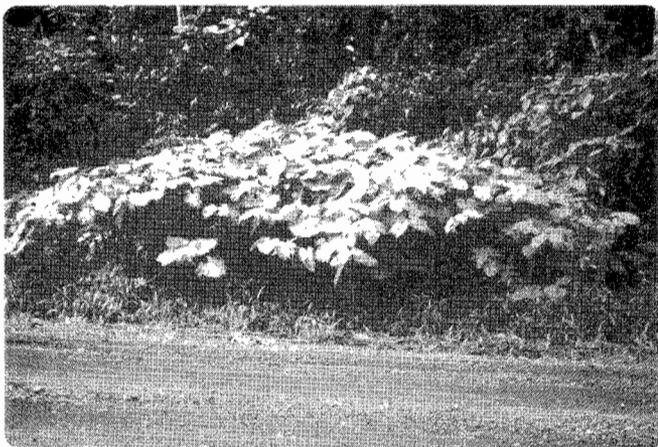


Foto 1. Población de Piper auritum a la orilla del camino de la estación biológica.

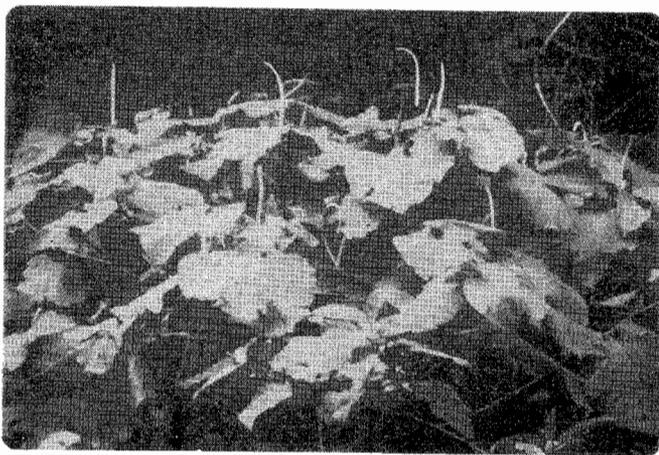


Foto 2. Acercamiento de una población de Piper auritum donde pueden verse las inflorescencias.

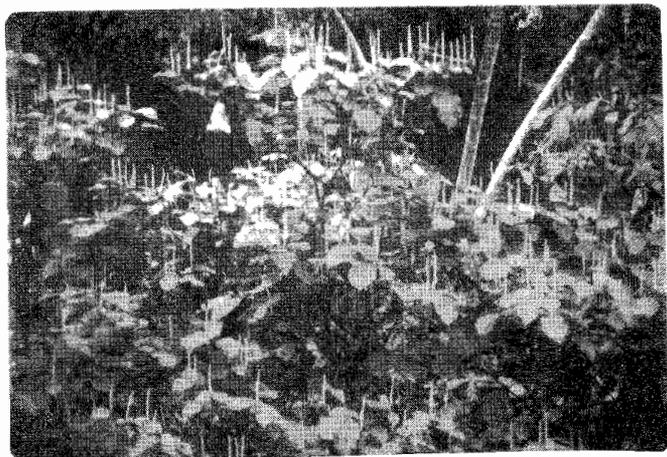


Foto 3. Población de Piper hispidum mostrando numerosas inflorescencias verticales.

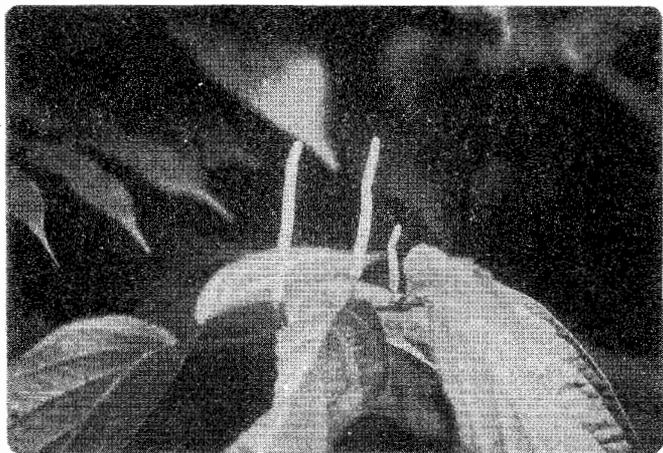


Foto 4. Un acercamiento de la inflorescencia de Piper hispidum.

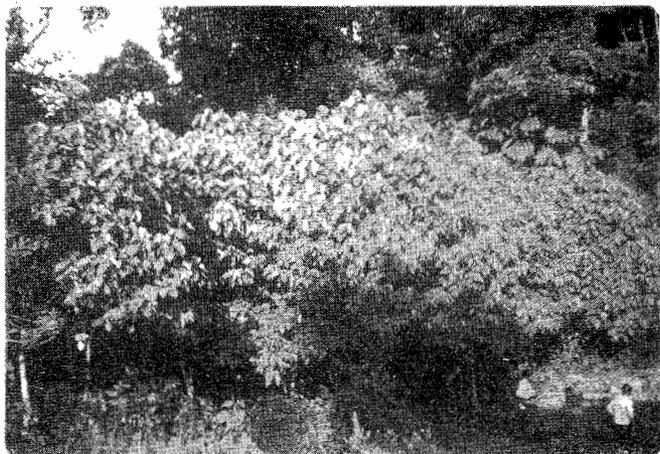


Foto 5. Acahual de Croton pyramidalis, limitado al frente por un pastizal y al fondo por la selva.



Foto 6. Plántulas de Croton pyramidalis en el piso del mismo acahual.



Foto 7. Rama de Siparuna nicaraguensis mostrando numerosos frutos.

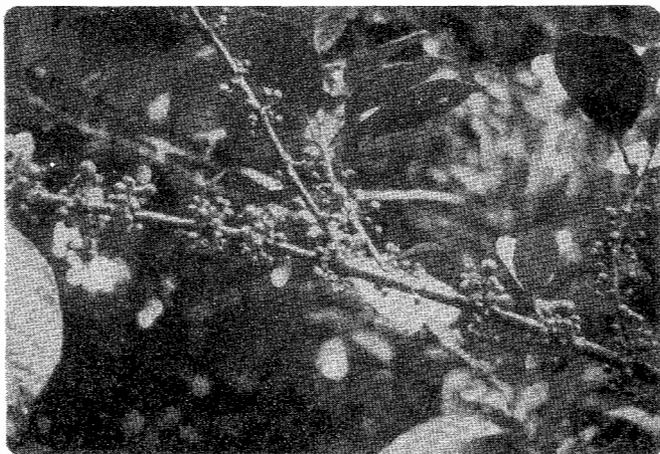


Foto 8. Un acercamiento de los frutos de Siparuna nicaraguensis aun sin abrir.



Foto 9. Acahual de Cecropia obtusifolia. Al fondo la selva.

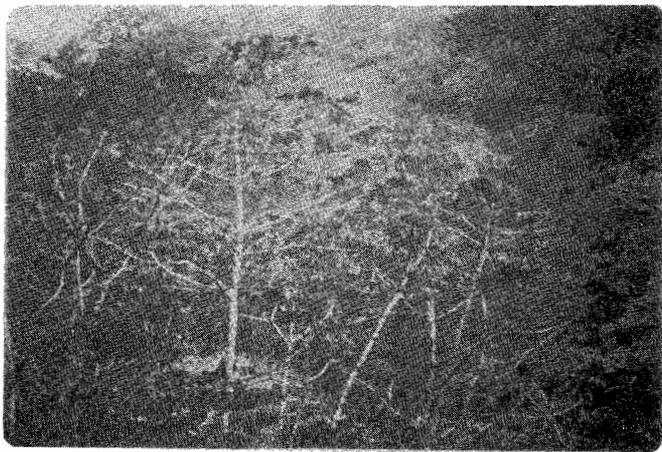


Foto 10. Copas de árboles de Cecropia obtusifolia.



Foto 11. Mimosa pudica mostrando sus características
hojas pinnadas.



Foto 12. Bidens pilosa.

IV RESULTADOS Y DISCUSION

IV RESULTADOS Y DISCUSION

1) Tolerancia a la presión osmótica.

Durante el desarrollo de los experimentos pudimos observar que el comportamiento de las semillas utilizadas era muy distinto de unas especies a otras, por ejemplo: Bidens pilosa, Achyranthes aspera, Solanum dyphyllum, Cecropia obtusifolia y Verbesina greenmani difícilmente germinan si se alteran variables como temperatura y fotoperíodo, si se germinan sobre papel filtro en lugar de agar o si se utiliza agua desionizada para humedecer el medio en vez de agua destilada simple. Otras como Mimosa pudica y Ochroma lagopus requieren un tratamiento especial para germinar; la primera es necesario escarificarla, por la dureza de la testa; la segunda debe someterse a ebullición durante un minuto para que el porcentaje de germinación sea alto. Aún así, Mimosa pudica resultó ser la especie más fácil de manejar en los bioensayos tanto por su alto porcentaje de germinación (95 a 100%), como por su rapidez para germinar (24 horas).

Respecto a la tolerancia a la presión osmótica de las 10 especies, los resultados observados en las tablas 1A a 10A y en las figuras 1a a 10a, indican lo siguiente:

Mimosa pudica. Su porcentaje de germinación es afectado bruscamente como lo indica la caída casi vertical de la curva, alrededor de los 200 m osm/l. Las respuestas de crecimiento de la raíz y del tallo son paralelas, observándose una disminución paulatina y constante a medida que aumenta la osmolaridad. El tallo y la raíz son inhibidos significativamente a partir de los 40 m osm/l, lo que coloca a Mimosa como una especie muy sensible a la presión osmótica, que logra crecer, aunque muy afectada, hasta los 200 m osm/l.

Achyranthes aspera. Su germinación es alta aún a 200 m osm/l, después desciende bruscamente como lo indica la caída vertical de la curva. El tallo y la raíz son inhibidos significativamente desde los 20 m osm/l, aunque existe crecimiento de ambos hasta los 300 mosm/l.

Bidens pilosa. Esta especie muestra una gran resistencia a la presión osmótica e incluso se puede observar, tanto en la gráfica como en la tabla correspondientes, que el crecimiento del tallo es estimulado entre 20 y 100 mosm/l, inhibiéndose después. La raíz de Bidens crece casi sin inhibición hasta los 40 mosm/l decreciendo poco, de 60 a 100 y cayendo bruscamente a partir de 300 mosm/l. El porcentaje de germinación se afecta a partir de 60 mosm/l.

Heliocarpus donnell-smithii. Su raíz y tallo responden similar-

mente y son inhibidos a muy baja osmolaridad, aunque las curvas muestran un ascenso de 60 a 80 mosm/l para descender nuevamente a partir de 100. La germinación permanece inalterable de 0 a 80 mosm/l, desciende poco a 100 y de ahí cae bruscamente.

Solanum diphyllum. Esta especie es inhibida en su crecimiento desde los 20 mosm/l, mostrando las curvas, un ascenso de 40 a 60 para volver a descender a los 80 mosm/l, manteniéndose igual hasta los 100 y precipitándose después. La germinación no parece alterarse hasta los 80 mosm/l, obteniéndose un porcentaje regular hasta los 100. Después, la curva cae verticalmente.

Ochroma lagopus. Probablemente es la especie que responde más irregularmente al aumento de presión osmótica. El crecimiento de la raíz decrece linealmente de 0 a 60 mosm/l, aumenta en forma brusca a 80 y a partir de ahí cae rápidamente hasta 400 mosm/l. El por ciento de germinación no disminuye en forma proporcional al aumento de presión osmótica, sino que muestra aumentos y descensos hasta los 100 mosm/l para después descender verticalmente. El tallo tiene una respuesta diametralmente opuesta a la de la raíz de 0 a 40 mosm/l, después desciende a los 60, ahí se estabiliza hasta 80, para caer bruscamente a partir de 100. Ochroma lagopus parece ser una especie altamente tolerante a la presión osmótica, pues resiste 80 mosm/l sin afectarse notablemente.

Cecropia obtusifolia. Mientras que su raíz es afectada inmediatamente que aumenta la osmolaridad (de 0 a 20 mosm/l), el tallo se estimula de 0 a 40 para descender a partir de ese punto paralelamente con la raíz. La germinación desciende proporcionalmente hasta 60 mosm/l y cae bruscamente a 80. Las tres curvas muestran un ascenso a 100 mosm/l y un colapso total a 200.

Piper auritum. Esta especie es afectada gradual y continuamente desde los 20 msm/l. Las curvas de crecimiento de la raíz y del porcentaje de germinación es afectado significativamente a partir de 200 mosm/l. El crecimiento de las plántulas de Piper auritum demuestra que esta especie es muy sensible a la presión osmótica.

Crusea calocephala. Al igual que otras de las especies anteriores, las curvas de crecimiento de tallo y raíz descienden de 0 a 20 y vuelven a ascender a los 40 mosm/l, para volver a caer más suavemente a partir de los 60. Esta especie logra un crecimiento casi igual desde 100 a 300, lo que indica su resistencia a la presión osmótica. La germinación es muy semejante de 0 a 80 mosm/l y a partir de ahí desciende bruscamente.

Verbesina greenmani. Su germinación es muy baja en general, aun que las semillas parecen soportar bastante bien presiones osmóticas muy altas, pues aún se logra un 6% de germinación a 200

mosm/l. Las curvas de raíz y tallo muestran un ascenso grande a los 100 descendiendo rápidamente a partir de ese punto.

Son interesantes las respuestas de especies como Bidens pilosa, Heliocarpus donnell-smithii, Ochroma lagopus y Verbesina greenmani que muestran un incremento de crecimiento a osmolaridades altas, en comparación con las bajas, lo cual indica probablemente que estas especies requieren una cierta hipertonicidad en el medio ambiente para crecer convenientemente (Heydecker, W. 1973). Ninguna especie resiste más allá de los 400 mosm/l., la mayoría sólo tolera alrededor de 100, aunque el crecimiento y a veces la germinación se empieza a afectar en la mayoría a partir de los 40 mosm/l. Las especies más tolerantes a la presión osmótica son: Achyranthes aspera, Bidens pilosa, Heliocarpus donnell-smithii, Ochroma lagopus, Crusea calocephala y Verbesina greenmani.



BIBLIOTECA
CENTRO DE ECOLOGIA

TABLA 1 A. Germinación y Crecimiento de Mimosa pudica
(13 Tratamientos)

TRATAMIENTO	% de Germ.	Longitud raíz mm.	% Long. raíz	Longitud tallo mm.	% Long. tallo
TESTIGO	95	21.63	100	11.40	100
MANITOL.02M.	95	21.31	98.5	11.02	97.0
MANITOL.04M.	95	20.92**	96.5	6.37**	47.0
MANITOL.06M.	95	18.71**	86.5	6.67**	58.5
MANITOL.08M.	95	12.98**	60.0	3.46**	30.5
MANITOL.10M.	96	13.25**	61.0	4.31**	37.5
MANITOL.2M.	25	10.81**	50.0	2.63**	23.0
MANITOL.3M.	0	0	0.0	0	0.0
1/100 P. hisp.	71	9.57**	44.5	5.96**	52.5
4/100 P. hisp.	57	2.81**	13.0	2.72**	23.5
1/100 Croton	69	7.14**	33.0	8.71**	76.4
4/100 Croton	64	3.64**	16.8	6.64**	58.2
1/100 P. aur.	74	8.82**	40.7	6.14**	53.8
4/100 P. aur.	64	2.92**	13.4	2.76**	24.2

** Significativo al 1%

TABLA 2 A. Germinación y Crecimiento de Achyranthes aspera
(14 Tratamientos)

TRATAMIENTO	% de Germ.	Longitud raíz mm.	% Long. raíz	Longitud tallo mm.	% Long. tallo
TESTIGO	93	13.86	100	6.78	100
MANITOL.02M.	95	9.01**	70.0	4.68**	69.0
MANITOL.04M.	94	11.40**	88.5	5.10**	75.0
MANITOL.06M.	85	11.61**	90.5	4.90**	72.0
MANITOL.08M.	91	8.16**	63.5	4.28**	63.0
MANITOL.10M.	96	5.55**	43.5	4.01**	59.0
MANITOL.2M.	95	5.29**	41.0	4.03**	59.0
MANITOL.3M.	3	4.00**	31.0	3.66**	54.0
MANITOL.4M.	0	0	0.0	0	0.0
1/100 P. hisp.	23	2.78**	21.5	2.04**	30.5
4/100 P. hisp.	0	0	0.0	0	0.0
1/100 Croton	70	7.12**	51.3	4.68**	69.0
4/100 Croton	15	1.73**	12.4	0.20**	.02
1/100 P. aur.	77	8.05**	58.0	4.28**	63.1
4/100 P. aur.	31	2.90**	20.9	3.32**	48.9

** Significativo al 1%

TABLA 3 A. Germinación y Crecimiento de Bidens pilosa
(13 Tratamientos)

TRATAMIENTO	% de Germ.	Longitud raíz mm.	% Long. raíz	Longitud tallo mm.	% Long. tallo
TESTIGO	77	23.67	100	18.51	100
MANITOL.02M.	91	19.41*	82.0	26.68**	144.0
MANITOL.04M.	88	21.98	92.5	23.27**	126.0
MANITOL.06M.	72	18.68*	79.0	22.09*	119.5
MANITOL.08M.	51	20.03	86.0	23.84**	129.0
MANITOL.10M.	46	17.34**	73.5	20.08	113.0
MANITOL.2M.	4	3.75**	15.8	2.50**	13.5
MANITOL.3M.	0	0	0.0	0	0.0
1/100 P. hisp.	44	5.27**	22.5	9.81**	53.0
4/100 P. hisp.	0	0	0.0	0	0.0
1/100 Croton	91	10.48**	44.2	18.32	98.9
4/100 Croton	0	0	0	0	0
1/100 P. aur.	81	7.65**	32.3	22.19**	119.0
4/100 P. aur.	0	0	0	0	0

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

TABLA 4 A. Germinación y Crecimiento de Heliocharpus donnell-smithii
(13 Tratamientos)

TRATAMIENTO	% de Germ.	Longitud raíz mm.	% Long. raíz	Longitud tallo mm.	% Long. tallo
TESTIGO	78	10.88	100	10.91	100
MANITOL.02M.	68	7.50**	69.0	6.92**	63.5
MANITOL.04M.	72	6.93**	63.5	5.90**	54.0
MANITOL.06M.	70	6.78**	62.0	6.55**	60.0
MANITOL.08M.	74	7.28**	66.5	7.63**	70.0
MANITOL.10M.	65	6.55**	60.0	5.38**	49.5
MANITOL .2M.	40	3.55**	32.5	0.97**	0.9
MANITOL.3M.	0	0	0.0	0	0.0
1/100 P. hisp.	23	2.04**	18.5	0.08**	0.07
4/100 P. hisp.	0	0	0.0	0	0.0
1/100 Croton	62	3.7**	34.0	3.08**	28.2
4/100 Croton	0	0	0	0	0
1/100 P. aur.	60	5.75**	52.8	2.90**	26.5
4/100 P. aur.	4	2.25**	20.6	0**	0

** Significativo al 1%

TABLA 5 A. Germinación y Crecimiento de Solanum diphylum
(12 Tratamientos)

TRATAMIENTO	% de Germ.	Longitud raíz mm.	% Long. raíz	Longitud tallo mm.	% Long. tallo
TESTIGO	77	8.10	100	5.83	100
MANITOL.02M.	69	4.43**	60.0	3.91**	67.0
MANITOL.04M.	62	2.20**	30.0	2.38**	40.5
MANITOL.06M.	70	4.30**	53.0	3.31**	56.5
MANITOL.08M.	54	2.16**	26.5	1.48**	25.5
MANITOL.10M.	58	2.62**	32.0	1.79**	30.5
MANITOL.2M.	0	0	0.0	0	0.0
1/100 P. hisp.	23	1.21**	15.0	1.08**	18.5
4/100 P. hisp.	0	0	0.0	0	0.0
1/100 Croton	57	1.57**	19.3	3.42**	58.6
4/100 Croton	0	0	0	0	0
1/100 P. aur.	73	4.53**	55.9	6.41	109.7
4/100 P. aur.	0	0	0	0	0

** Significativo al 1%

TABLA 6 A. Germinación y Crecimiento de Ochroma lagopus
(12 Tratamientos)

TRATAMIENTO	% de Germ.	Longitud raíz mm.	% Long. raíz	Longitud tallo mm.	% Long. tallo
TESTIGO	45	10.99	100	5.99	100
MANITOL.02M.	57.5	10.22	92.99	7.01	117.02
MANITOL.04M.	42.5	9.12**	82.98	8.24 ^o	137.56
MANITOL.06M.	62.5	8.64**	78.61	5.95	99.33
MANITOL.08M.	40.0	11.00	100.09	6.06	101.16
MANITOL.10M.	52.5	6.28**	57.14	2.39**	39.89
MANITOL.2M.	2.5	1.0**	9.09	.5**	8.34
1/100 P. hisp.	64	8.40**	76.4	7.23 ^o	120.7
4/100 P. hisp.	61	3.61**	32.8	1.34**	22.5
1/100 Croton	39	4.88**	44.4	4.07**	68.0
4/100 Croton	4	2.52**	22.9	2.49**	41.7
1/100 P. aur.	49	9.77*	88.9	5.75	96.1
4/100 P. aur.	42	5.28**	48.0	3.09**	51.5

** Significativo al 1% (inhibición). ^o Significativo al 1% (estimulación)

* Significativo al 5% ^o Significativo al 5%

TABLA 7 A. Germinación y Crecimiento de Cecropia obtusifolia
(12 Tratamientos)

TRATAMIENTO	% de Germ.	Longitud raíz mm.	% Long. raíz	Longitud tallo mm.	% Long. tallo
TESTIGO	79	10.56	100	5.56	100
MANITOL.02M.	70	7.57**	71.6	7.11 ^{oo}	127.8
MANITOL.04M.	63	8.33**	78.8	6.47	116.3
MANITOL.06M.	60	5.30**	50.0	3.68**	66.1
MANITOL.08M.	28	4.21**	39.8	2.35**	42.2
MANITOL.10M.	33	5.03**	47.6	3.24**	58.2
MANITOL.2M.	0	0	0	0	0
1/100 P. hisp.	48	2.14**	20.2	2.41**	43.3
4/100 P. hisp.	0	0	0	0	0
1/100 Croton	48	2.14**	20.2	3.29**	59.1
4/100 Croton	0	0	0	0	0
1/100 P. aur.	60	8.28**	78.4	5.85	105.2
4/100 P. aur.	0	0	0	0	0

** Significativo al 1% (inhibición)

^{oo} Significativo al 1% (estimulación)

TABLA 8 A. Germinación y Crecimiento de Piper auritum
(13 Tratamientos)

TRATAMIENTO	% de Germ.	Longitud raíz mm.	% Long. raíz	Longitud tallo mm.	% Long. tallo
TESTIGO	92.5	9.52	100	5.89	100
MANITOL.02M.	97.5	7.65**	80.35	4.92*	83.53
MANITOL.04M.	97.5	6.80**	71.42	4.63**	78.60
MANITOL.06M.	87.5	5.88**	61.76	4.93*	83.70
MANITOL.08M.	92.5	5.67**	59.55	3.61**	61.29
MANITOL.10M.	87.5	4.16**	43.69	3.63**	61.62
MANITOL. 2M.	70.0	1.21**	12.71	1.81**	30.73
MANITOL.3M.	52.5	1.0 **	10.50	.51**	8.65
1/100 P. hisp.	0	-	-	-	-
4/100 P. hisp.	0	-	-	-	-
1/100 Croton	64	1.47**	15.5	3.92**	66.6
4/100 Croton	0	-	-	-	-
1/100 P. aur.	0	-	-	-	-
4/100 P. aur.	0	-	-	-	-

** Significativo al 1%

* Significativo al 5%

TABLA 9 A. Germinación y Crecimiento de Crusea calocephala
(14 Tratamientos)

TRATAMIENTO	% de Germ.	Longitud raíz mm.	% Long. raíz	Longitud tallo mm.	% Long. tallo
TESTIGO	51	18.58	100	10.82	100
MANITOL.02M.	63	14.92**	80.3	7.33**	67.7
MANITOL.04M.	57	14.87**	80.0	8.89	82.1
MANITOL.06M.	47	14.10**	75.8	7.70**	71.1
MANITOL.08M.	46	11.15**	60.0	6.04**	55.8
MANITOL.10M.	2	9.00	48.4	3.50	32.3
MANITOL.2M.	12	6.41**	34.6	2.25**	20.7
MANITOL.3M.	1	7.0	37.6	2	18.4
MANITOL.4M.	0	0	0	0	0
1/100 P. hisp.	0	0	0	0	0
4/100 P. hisp.	0	0	0	0	0
1/100 Croton	68	13.83**	74.4	9.14	84.4
4/100 Croton	0	0	0	0	0
1/100 P. aur.	43	12.13**	65.2	5.62**	51.9
4/100 P. aur.	3	4.66**	25.0	2.00	18.4

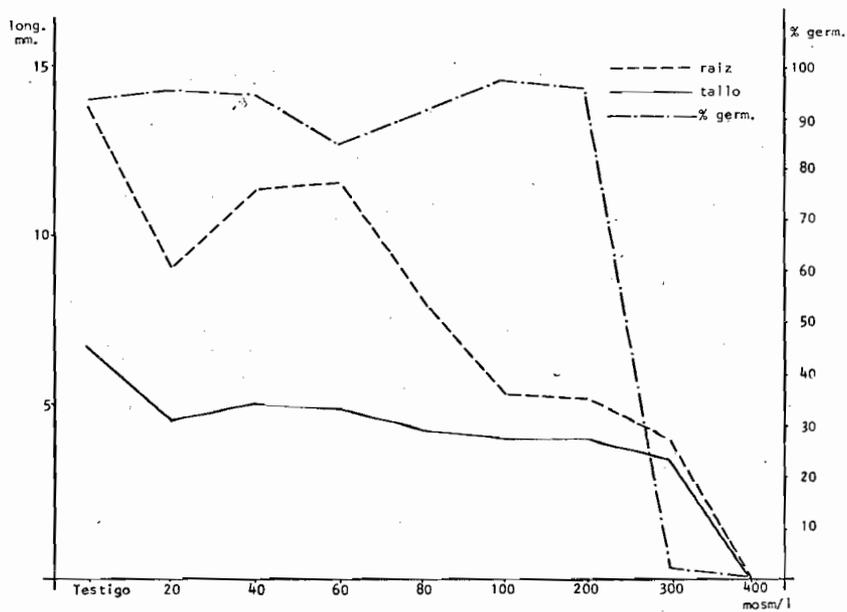
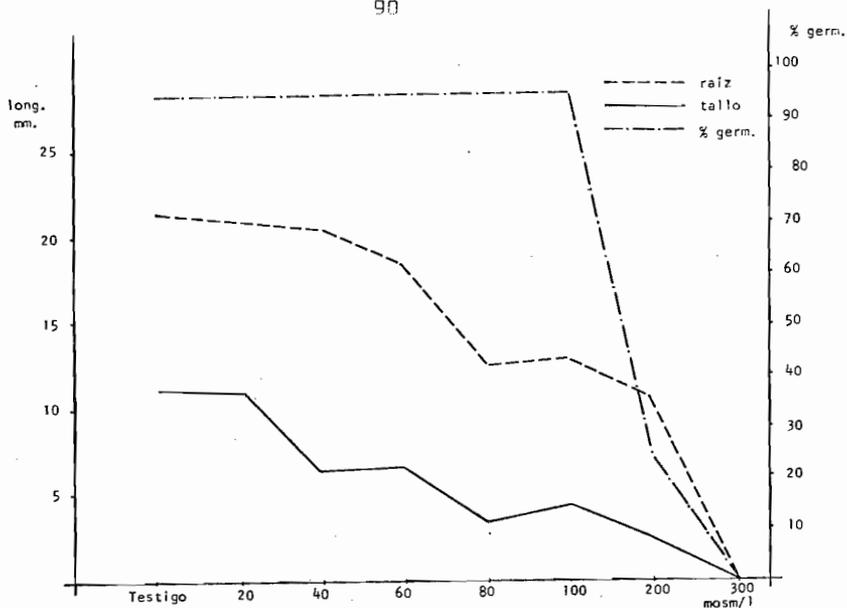
** Significativo al 1%

TABLA 10 A. Germinación y Crecimiento de Verbesina greenmani
(12 Tratamientos)

TRATAMIENTO	% de Germ.	Longitud raíz mm.	% Long. raíz	Longitud tallo mm.	% Long. tallo
TESTIGO	37	6.48	100	4.81	100
MANITOL.02M.	37	5.97	92.1	3.67*	76.2
MANITOL.04M.	22	5.68	87.6	3.45*	71.7
MANITOL.06M.	24	4.83	74.5	2.95**	61.3
MANITOL.08M.	24	4.08*	62.9	2.54**	52.8
MANITOL.10M.	17	6.29	97.0	4.29	89.1
MANITOL. 2M.	6	3.33	51.3	1.50**	31.1
1/100 P. hisp.	0	-	-	-	-
4/100 P. hisp.	0	-	-	-	-
1/100 Croton	0	-	-	-	-
4/100 Croton	0	-	-	-	-
1/100 P. aur.	6	2.66**	41.0	3.33	69.2
4/100 P. aur.	0	-	-	-	-

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%



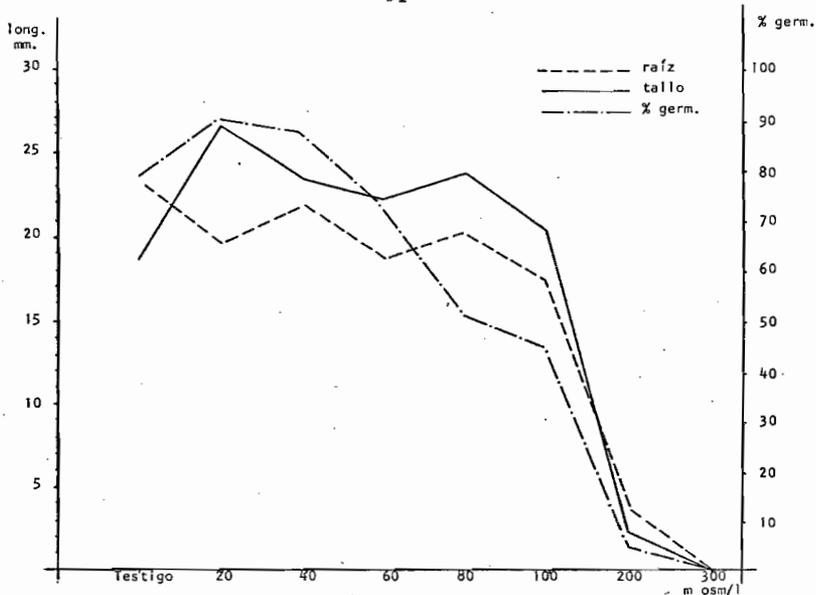


Fig. 3a. *Bidens pilosa*. Tolerancia a la presión osmótica. 144 h. de germinación.

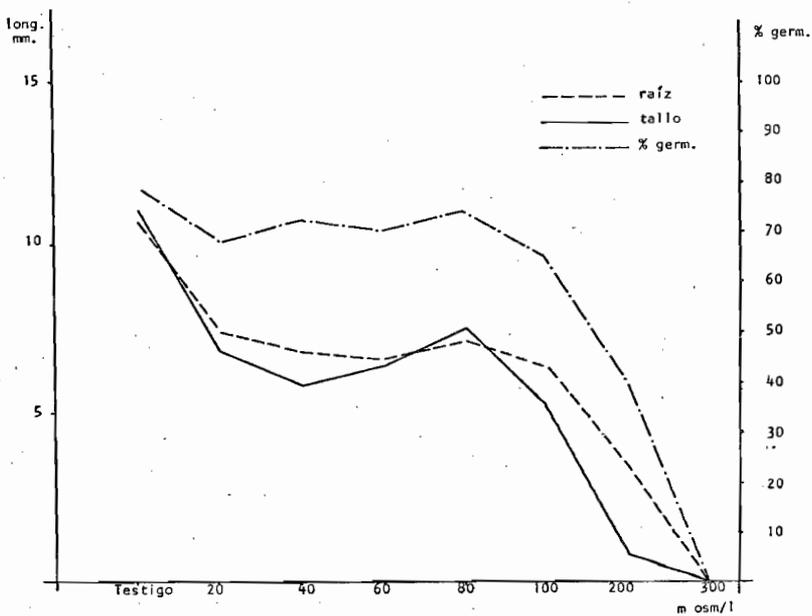


Fig. 4a. *Heliocarpus donnell-smithii*. Tolerancia a la presión osmótica. 120 h. de germ.

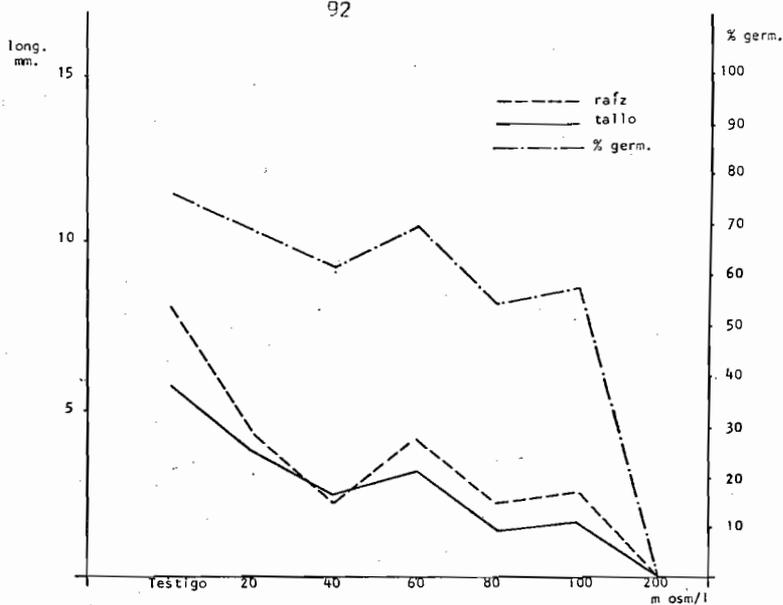


Fig. 5a. *Solanum diphyllum*. Tolerancia a la presión osmótica, 360 h. de germ.

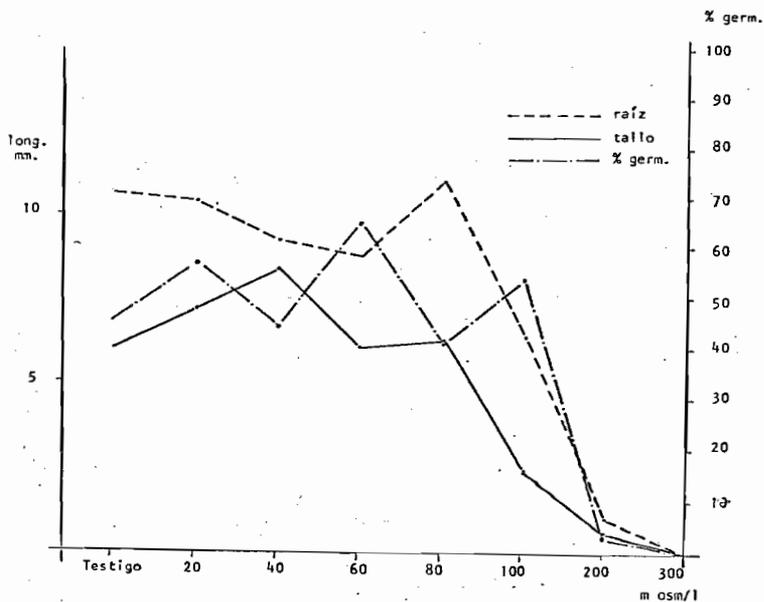


Fig. 6a. *Ochroma lagopus*. Tolerancia a la presión osmótica, 144 h. de germinación.

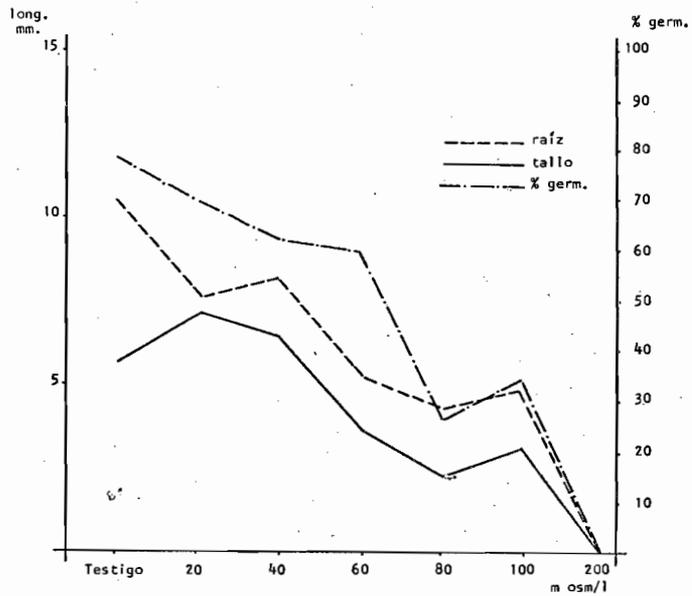


Fig. 7a. *Cecropia obtusifolia*. Tolerancia a la presión osmótica. 480 h. de germinación.

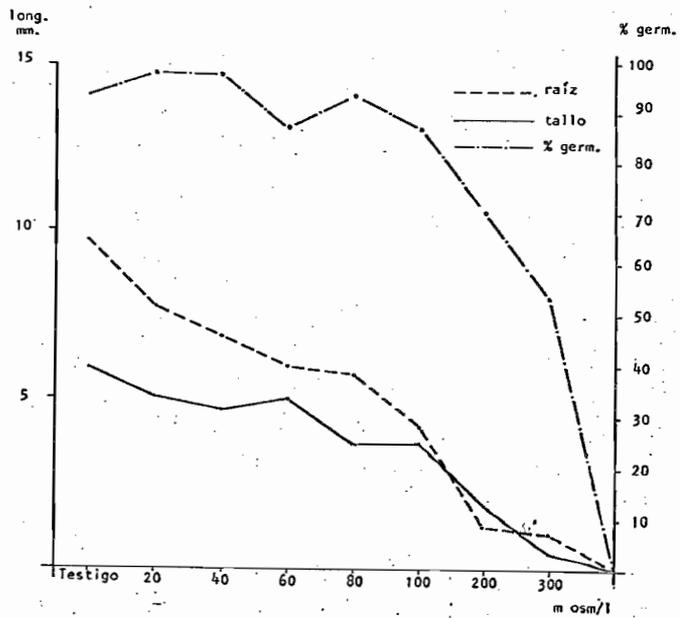


Fig. 8a. *Piper auritum*. Tolerancia a la presión osmótica. 480 h. de germ.

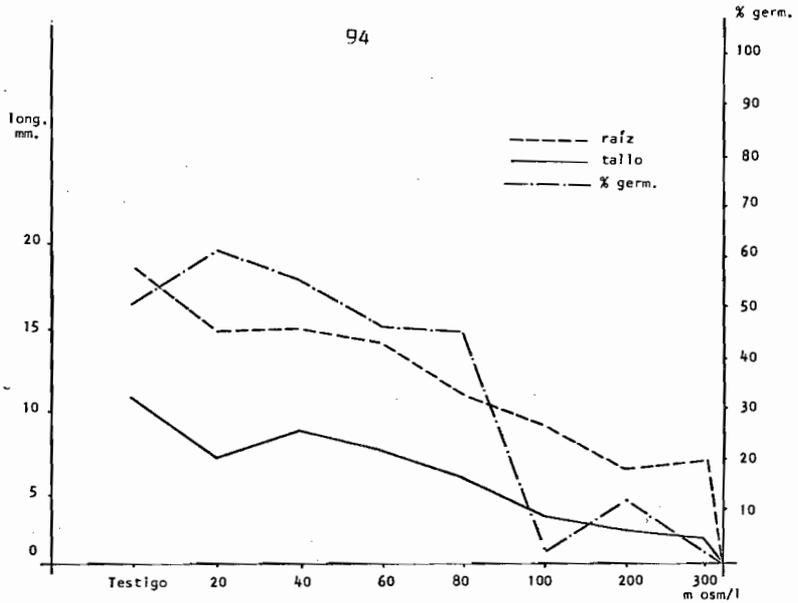


Fig. 9a. *Crusea calocephala*. Tolerancia a la presión osmótica. 120 h. de germinación.

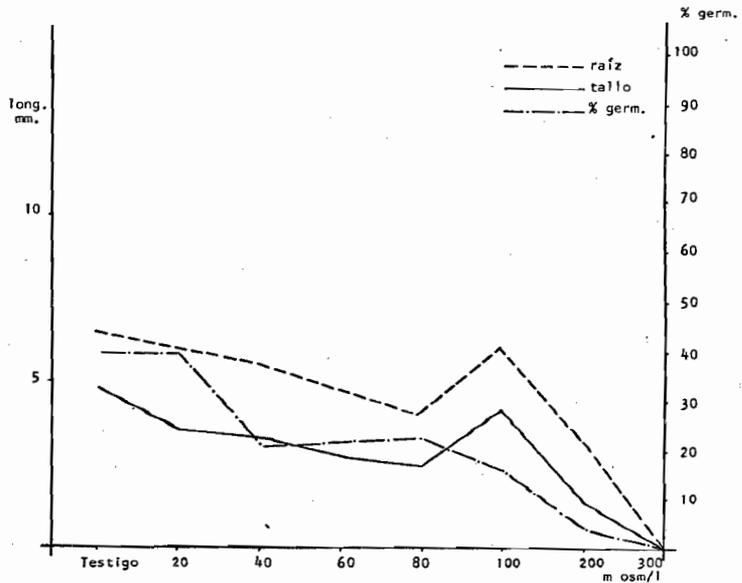


Fig. 10a. *Verbesina greenmani*. Tolerancia a la presión osmótica. 144 h. de germ.

Los resultados de las curvas de tolerancia a la presión osmótica nos permitieron diseñar un experimento con los extractos acuosos de las hojas de Piper auritum, P. hispidum y Croton pyramidalis, utilizando una concentración baja de 1 g de hojas secas en 100 ml de agua y una más alta, 4 g en 100 ml.

La diversa constitución y estructura de las hojas de cada especie dieron como resultado soluciones de distinta concentración y por lo tanto de distinta presión osmótica. Las presiones osmóticas registradas para las tres especies fueron:

	Concentración	
	1/100	4/100
<u>Piper auritum</u>	17 mosm/l	68 mosm/l
<u>Piper hispidum</u>	20 "	46 "
<u>Croton pyramidalis</u>	7 "	30 "

En caso de que durante los experimentos los extractos provocaran inhibición, se esperaba que ésta fuera mucho mayor en los más concentrados, dado que ahí debían sumarse los efectos de la presión osmótica del extracto y los de los inhibidores contenidos en él; lo cual también quería decir que la inhibición producida por la solución de manitol, cuya osmolaridad fuera igual a la de los extractos de hoja, debía ser menor y en efecto así fue. Los resultados comparativos de las pruebas de tolerancia a la presión osmótica con los de los extractos acuo-

sos de hojas, a dos concentraciones, se graficaron y pueden observarse en las figuras 1b a 10b. En ellas es posible apreciar que las tres especies inhiben claramente la germinación y el crecimiento de las otras 10 especies utilizadas para los bioensayos. Los extractos más concentrados producen lógicamente una mayor inhibición, que en la mayoría de los casos resultó absoluta: Biden pilosa, Heliocarpus donell-smithii, Solanum diphyllum, Cecropia obtusifolia, Piper auritum, Crusea calocephala, Verbesina greenmani.

Las respuestas de crecimiento del tallo y de la raíz no son semejantes aún frente a un mismo extracto. En algunas especies encontramos que la raíz es más afectada que el tallo: Mimosa pudica, Achyranthes aspera, Bidens pilosa, Solanum diphyllum, Ochroma lagopus, Cecropia obtusifolia, Piper auritum y Verbesina greenmani. En las otras es el tallo el que mostró mayor inhibición: Heliocarpus donell-smithii y Crusea calocephala.

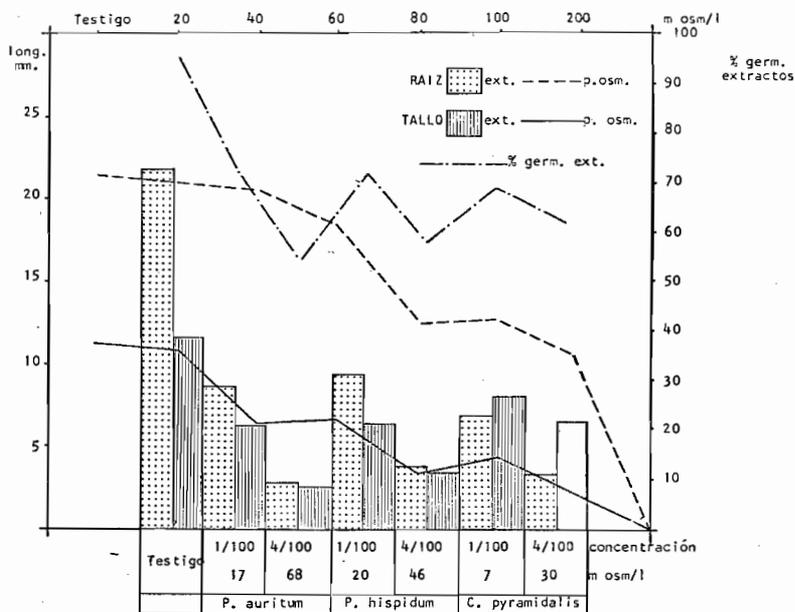


Fig. 1b. *Mimosa pudica*. Respuesta a dos concentraciones de los extractos acuosos comparada con el efecto de la presión osmótica. 72 h. de germinación.

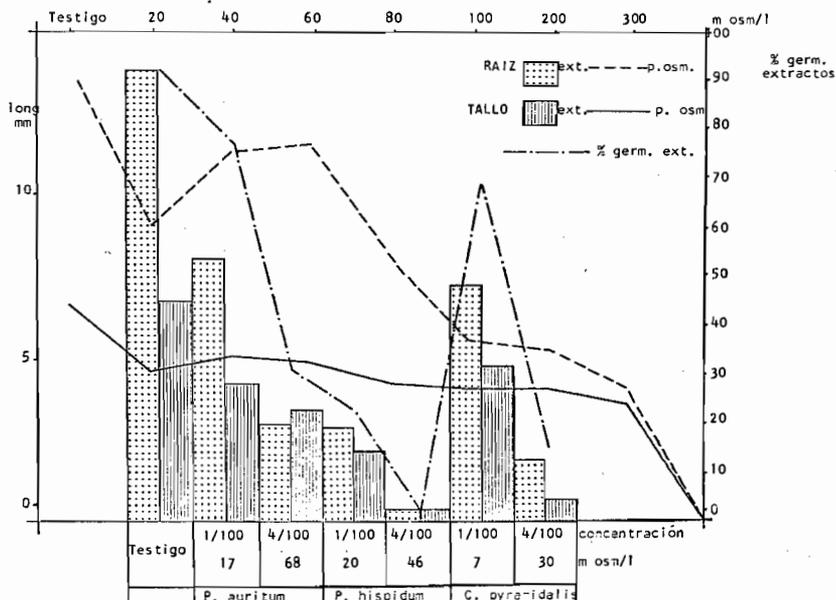


Fig. 2b. *Achyrantes aspera*. Respuesta a dos concentraciones de los extractos acuosos comparada con el efecto de la presión osmótica. 144h. de germinación.

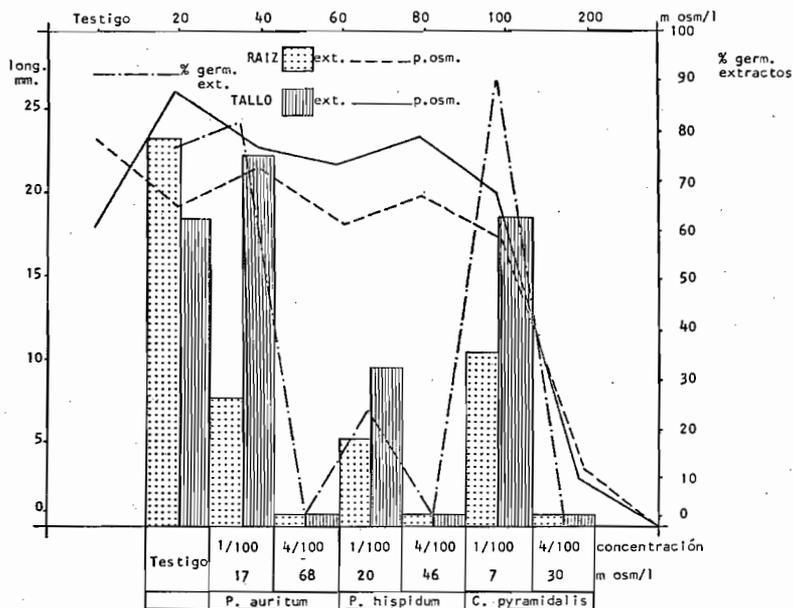


Fig. 3b. *Bidens pilosa*. Respuesta a dos concentraciones de los extractos acuósos comparada con el efecto de la presión osmótica. 144 h. de germinación.

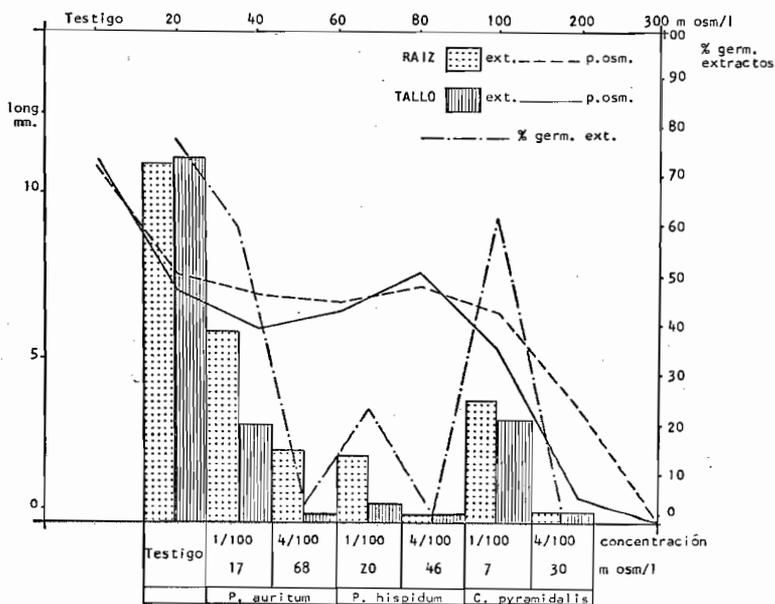


Fig. 4b. *Helicarpus donnell-smithii*. Respuesta a dos concentraciones de los extractos acuósos comparada con el efecto de la presión osmótica. 120 h. de germinación.

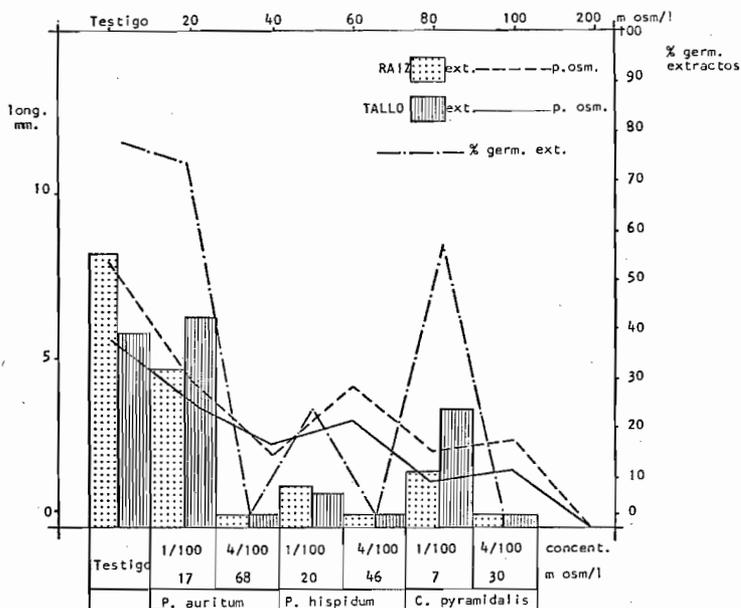


Fig. 5b. *Solanum diphyllum*. Respuesta a dos concentraciones de los extractos acuosos comparada con el efecto de la presión osmótica. 360 h. de germinación.

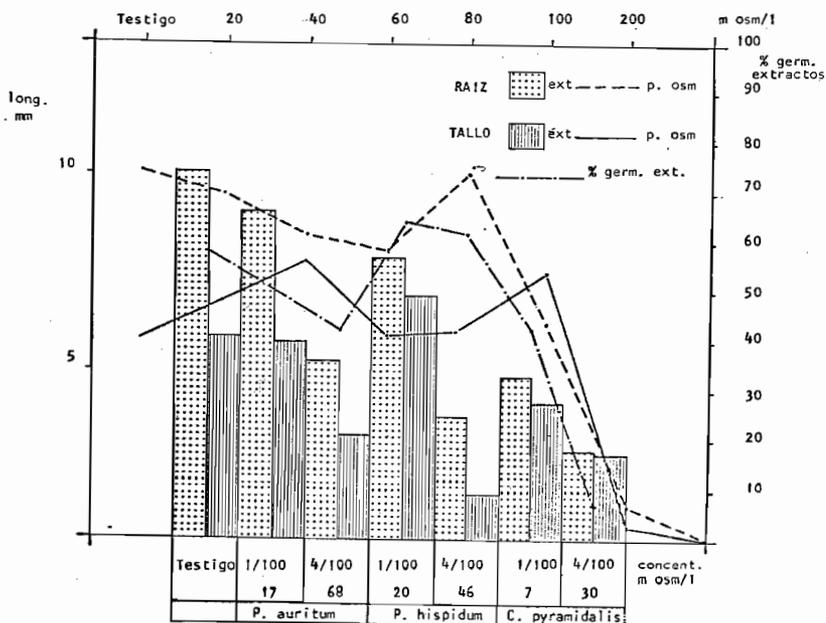


Fig. 6b. *Ochroma lagopus*. Respuesta a dos concentraciones de los extractos acuosos comparada con el efecto de la presión osmótica. 144 h. de germinación.

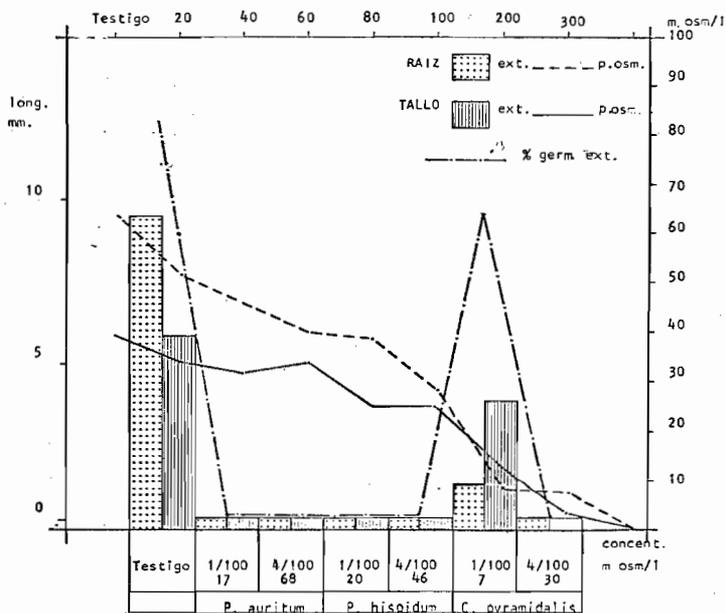
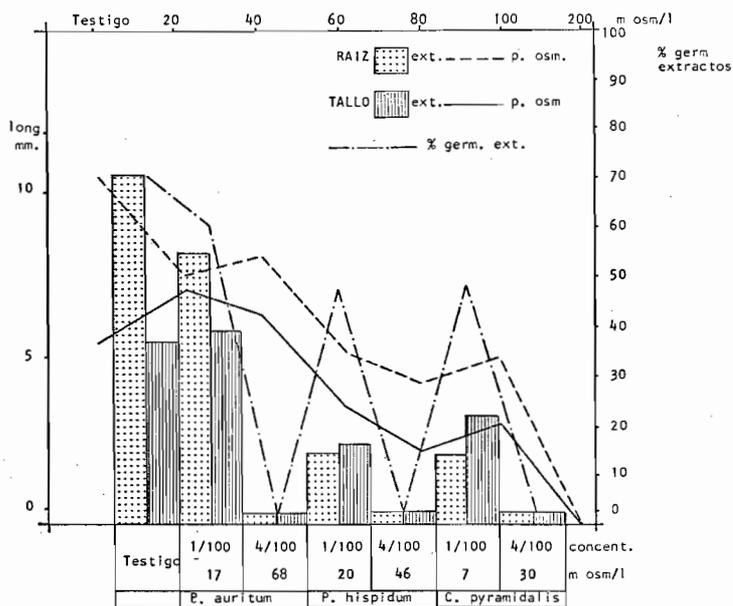


Fig. 8b. *Piper auritum*. Respuesta a dos concentraciones de los extractos acuosos comparada con el efecto de la presión osmótica. 480 h. de germinación.

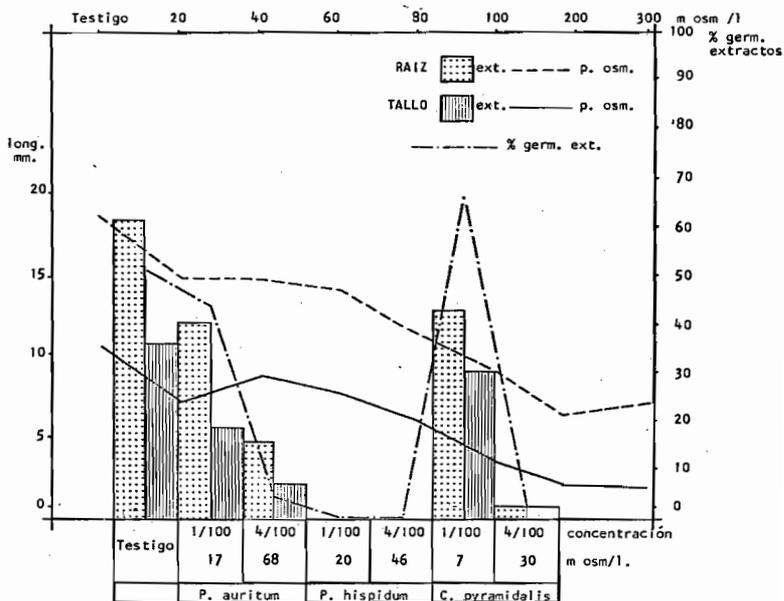


Fig. 9b. *Crusea calcephala*. Respuesta a dos concentraciones de los extractos acuosos comparada con el efecto de la presión osmótica, 120 h. de germinación.

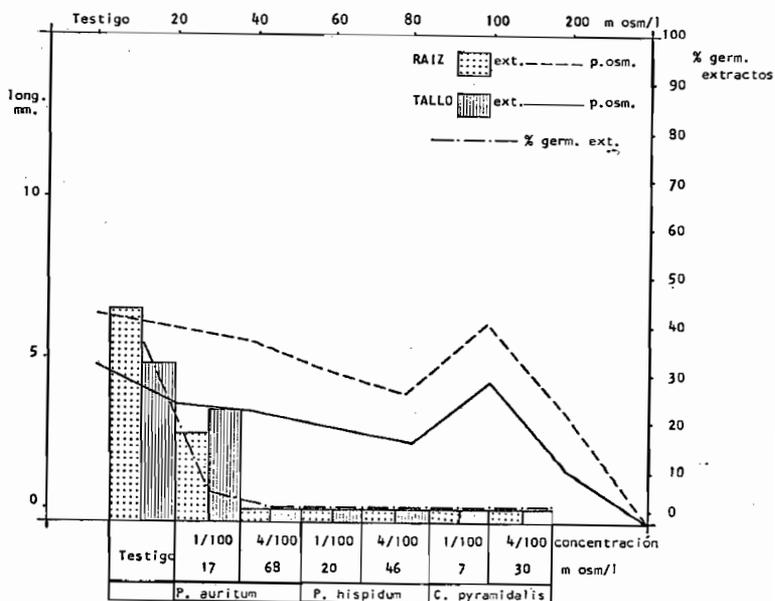


Fig. 10 b. *Verbesina grehmannii*. Respuesta a dos concentraciones de los extractos acuosos comparada con el efecto de la presión osmótica, 144 h. de germinación.

2) Pruebas con los extractos acuosos de hojas.

Estos resultados se observan en las tablas 1B y en las figuras 1c a 6c.

Es necesario considerar el efecto de los extractos crudos, tomando en cuenta las respuestas, por separado, de la raíz y del tallo, debido a que en muchas ocasiones, éstos no mostraron un paralelismo claro sino que al contrario, se dispararon hacia los extremos.

En la figura 1c, Mimosa pudica muestra su comportamiento frente a los extractos acuosos y podemos notar que el crecimiento de la raíz fue inhibido significativamente en todos los casos, no sucediendo lo mismo con el tallo que en general no se vió afectado significativamente, excepto por los tratamientos con Piper auritum, Piper hispidum y Croton pyramidalis. En cuanto a la germinación, también estas tres especies son las que la afectan, pudiéndose observar en los casos de mayor inhibición, que son los producidos precisamente por estas tres especies, que las plántulas presentaron diversos grados de albinismo, lo que indica un bloqueo en las reacciones de síntesis de la clorofila, debido a los compuestos tóxicos de los extractos.

Achyranthes aspera (figura 2c), mostró ser una especie muy sensible a los tratamientos, sobre todo en lo que se refiere a porcen

taje de germinación, el cual fue abatido significativamente en todos los casos. El crecimiento de la raíz estuvo afectado especialmente por tres de las especies: P. hispidum, Myriocarpa longipes y Solanum sp., aunque también fue inhibido por las demás especies, en la mayoría de los casos en un 50%. Respecto al tallo, el crecimiento de éste se ve reducido significativamente en 4 de los tratamientos: 1, 2, 3 y 6, pero en el caso de Cecropia obtusifolia y Urera caracasana (4 y 7), el comportamiento de las plantas fue de "compensar" con un mayor crecimiento del tallo, la severa inhibición sufrida por la raíz. Achyranthes aspera presentó además, bajo el efecto de los extractos de P. auritum y P. hispidum, un albinismo absoluto en algunos casos y una inversión del tropismo de la raíz en otros, lo que sugiere la posibilidad de un efecto antiauxínico y un bloqueo de enzimas y coenzimas que catalizan las reacciones de síntesis de pigmentos.

Bidens pilosa (figura 3c), mostró inconstancia en cuanto a su forma de reaccionar frente a los tratamientos, tanto en la germinación como en el crecimiento. La primera se estimuló significativamente con el tratamiento No. 3 (Croton pyramidalis), pero se vió abatida por los demás tratamientos, excepto por los números 1 y 8 (P. auritum y Solanum sp.). El crecimiento de la raíz fue inhibido severamente por P. auritum, P. hispidum, Croton pyramidalis, Siparuna nicaraguensis y Solanum sp. y no se

afectó con los tratamientos 4 y 7 (Cecropia obtusifolia y Urera caracasana). El tallo se afectó sólo en los tratamientos 2, 6 y 7 mostrando un crecimiento normal en los demás tratamientos e incluso mayor, en el caso de P. auritum.

Ochroma lagopus (figura 5c), una de las dos especies arbóreas con las que se trabajó, requirió para germinar un tratamiento especial consistente en la ebullición en agua durante un minuto, hecho que explica en parte el éxito que esta especie tiene al colonizar las áreas recién quemadas (Vázquez Yáñez, 1974). Pero además, su respuesta frente a los tratamientos difiere notablemente de las otras semillas utilizadas, pues el crecimiento de su raíz sólo se inhibió significativamente bajo los tratamientos con Croton pyramidalis y Cecropia obtusifolia (esta especie sobre todo no es de las más inhibidoras) y en menor grado por P. hispidum; en cambio se estimuló extraordinariamente bajo el efecto de los extractos de Myriocarpa longipes y Solanum sp. que inhibieron significativamente a otras especies. Los demás tratamientos no afectaron a la raíz. En el caso del tallo, no se observa paralelismo con la raíz más que en los tratamientos 3 y 4 y sólo parcialmente. El tallo es estimulado significativamente por los tratamientos 2, 6 y 8 e inhibido por el 3, 4 y 5. La germinación de Ochroma lagopus disminuyó notablemente con el tratamiento No. 4 (Cecropia obtusifolia).

Heliocarpus donell-smithii (figura 4), la otra especie arborea utilizada para los bioensayos, exhibió una respuesta más uniforme del tallo y la raíz. El primero está muy inhibido en todos los casos. La segunda estuvo afectada en la mayoría de los tratamientos, excepto en el caso de Cecropia obtusifolia en que tuvo un crecimiento ligeramente mayor de lo normal. La germinación de Heliocarpus fue muy variable aunque en general se vió muy disminuída.

La germinación y el crecimiento de la raíz y el tallo de Crusea calocephala (figura 6c), se vieron totalmente afectados por el extracto de P. hispidum. Ni siquiera el efecto de P. auritum, que fue la segunda especie que más inhibió a Crusea, es comparable con el colapso total que provocó P. hispidum. En los otros tratamientos, se nota una resistencia bastante grande de parte de Crusea a la acción inhibitoria de los extractos, con excepción del 1, 3 y 8. El % de germinación se vió afectado sobre todo en los tratamientos 1, 4, 5, 6 y 7.

Tabla 1B

Germinación y crecimiento de diversas especies con los extractos acuosos de varias hojas

I. Mimosa pudica

Tratamiento	% de germ	long rafz mm	% long rafz	long tallo mm	% de long tallo	% de inhibic rafz	% de inhibic tallo
Testigo	100	19.70	100	9.40	100	0	0
<i>P. auritum</i>	74	8.03	40.76	5.06	53.82	59.24	46.17
<i>P. hispídum</i>	71	8.71	44.21	4.91	52.23	55.79	47.77
Croton	69	6.50	32.99	7.18	76.38	67.01	23.62
Cecropia	95	12.42**	63.04	10.36	110.21	36.96	-10.21
Siparuna	95	9.00**	45.68	9.94	105.74	54.32	- 5.74
Myriocarpa	90	10.77**	54.67	8.77	93.29	45.33	6.71
Urera	100	10.80**	54.82	9.70	103.19	45.18	- 3.19
Solanum	95	9.36**	47.51	8.73	92.87	52.49	7.13

II. Achyranthes aspera

Testigo	80	11.81	100	5.31	100	0	0
<i>P. auritum</i>	77	6.85	57.80	3.35	63.08	42.20	36.92
<i>P. hispídum</i>	23	2.36	19.98	1.59	29.94	80.02	70.06
Croton	70	6.06	51.31	3.66	68.92	48.69	31.08
Cecropia	40	5.75**	48.68	8.25**	155.36	51.32	-55.35
Siparuna	75	5.73**	48.51	4.93	92.84	51.49	7.16
Myriocarpa	65	2.84**	24.04	4.07*	76.64	75.96	23.36
Urera	60	6.08**	51.48	6.50*	122.41	48.52	-22.41
Solanum	75	3.60**	30.48	4.93	92.84	69.52	7.16

III. Bidens pilosa

Testigo	85	18.47	100	24.23	100	0	0
<i>P. auritum</i>	81	5.96	32.26	29.04	119.85	67.74	-19.85
<i>P. hispídum</i>	44	4.11	22.25	12.84	52.99	77.75	47.01
Croton	91	8.17	44.23	23.98	98.96	55.77	1.04
Cecropia	55	19.0	102.86	25.27	104.29	- 2.86	- 4.29
Siparuna	50	6.60**	35.73	21.40	88.32	64.27	11.68
Myriocarpa	50	7.7 **	41.68	15.20**	62.73	58.32	37.27
Urera	60	17.41	94.26	12.41**	51.21	5.74	48.79
Solanum	75	5.66**	30.64	22.73	93.60	69.36	6.20

Tratamiento	% de germ	long rafz mm	% long rafz	long tallo mm	% de long tallo	% de inhibic rafz	% de inhibic tallo
<u>IV. Helicarpus donnell-smithii</u>							
Testigo	80	8.37	100	4.50	100	0	0
P. auritum	60	4.42	52.80	1.19	26.44	47.20	73.56
P. hispidum	23	1.56	18.63	0.33	7.33	81.37	92.67
Croton	62	2.84	33.93	1.27	28.22	66.07	71.78
Cecropia	30	9.00	107.52	2.00**	44.44	-7.52	55.56
Siparuna	50	4.20**	50.17	2.20**	48.88	51.12	51.12
Myriocarpa	30	6.66*	79.56	3.66	81.33	20.44	18.67
Urera	70	6.85*	81.83	3.14*	69.77	18.17	30.23
Solanum	30	3.00**	35.84	2.66**	59.11	64.16	40.89
<u>V. Ochroma lagopus</u>							
Testigo	60	12.60	100	8.40	100	0	0
P. auritum	49	11.20	88.88	8.06	95.95	11.12	4.05
P. hispidum	64	9.63	76.42	10.13	120.59	23.58	-20.59
Croton	39	5.59	44.36	5.70	67.85	55.64	32.15
Cecropia	10	7.5**	59.52	3.00**	35.71	40.48	64.29
Siparuna	60	13.00	103.17	7.0	83.33	-3.17	16.67
Myriocarpa	45	22.55**	178.96	11.66**	138.80	-78.96	-38.80
Urera	50	18.30**	145.23	8.40	100	-45.23	0
Solanum	50	18.50**	146.82	12.00**	142.85	-46.82	-42.85
<u>VI. Crusea calocephala</u>							
Testigo	100	18.55	100	12.05	100	0	0
P. auritum	84	12.13	65.39	6.25	51.86	34.61	48.14
P. hispidum	0	0	0	0	0	100	100
Croton	100	13.83	74.55	10.17	84.39	25.45	15.61
Cecropia	75	20.53	110.67	11.00	91.28	-10.67	8.72
Siparuna	80	17.75	95.68	9.50	78.83	4.32	21.17
Myriocarpa	80	14.00*	75.47	12.75	105.80	24.53	-5.80
Urera	75	16.00	86.25	11.93	99.00	13.75	1.00
Solanum	95	11.84**	63.82	8.21*	68.13	36.18	31.87

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

Fig. 1c

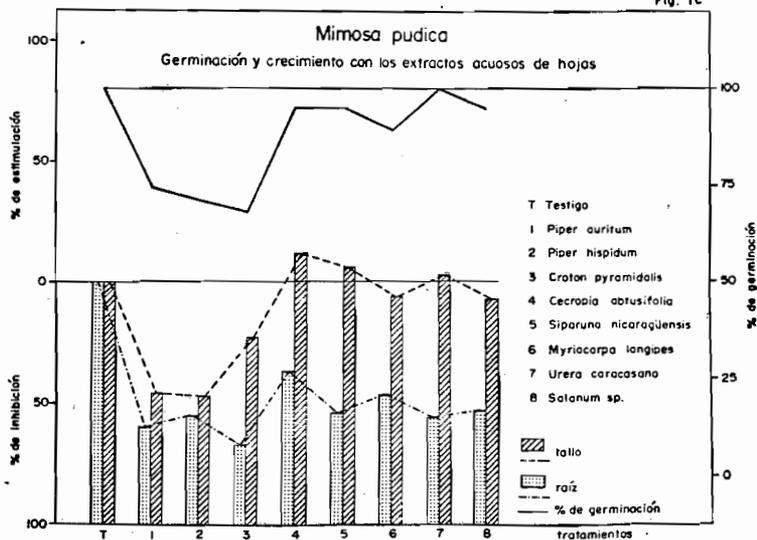


Fig. 2c

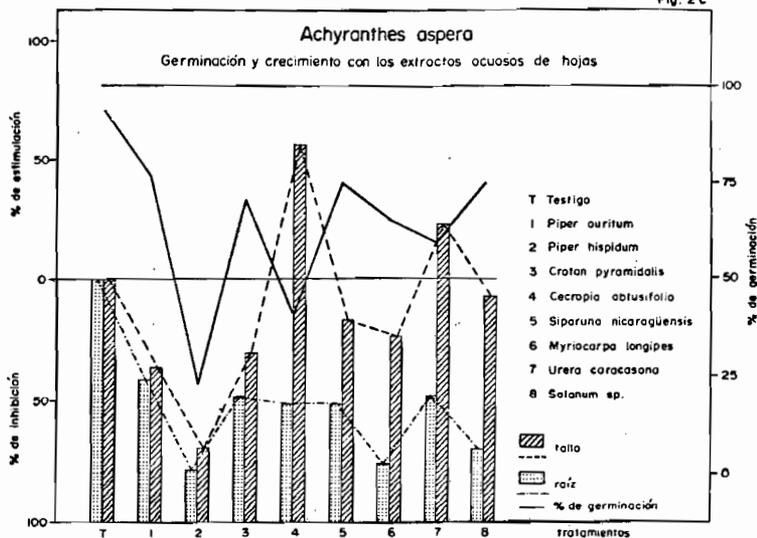


Fig. 3c

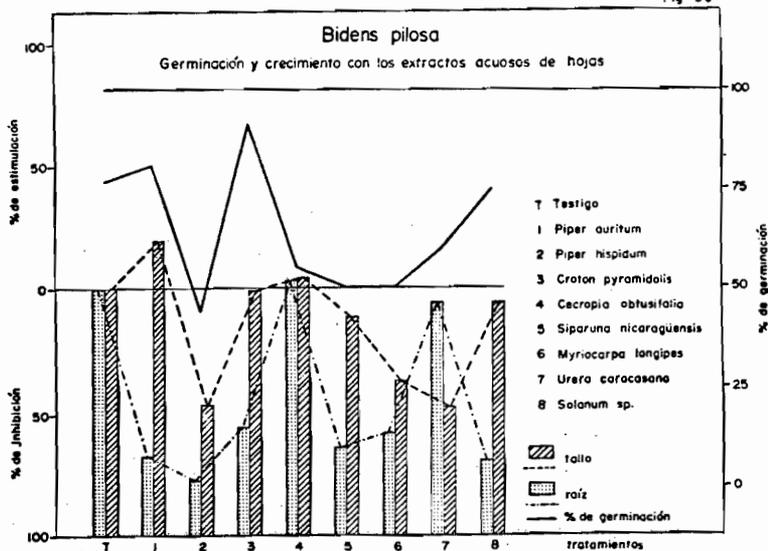


Fig. 4c

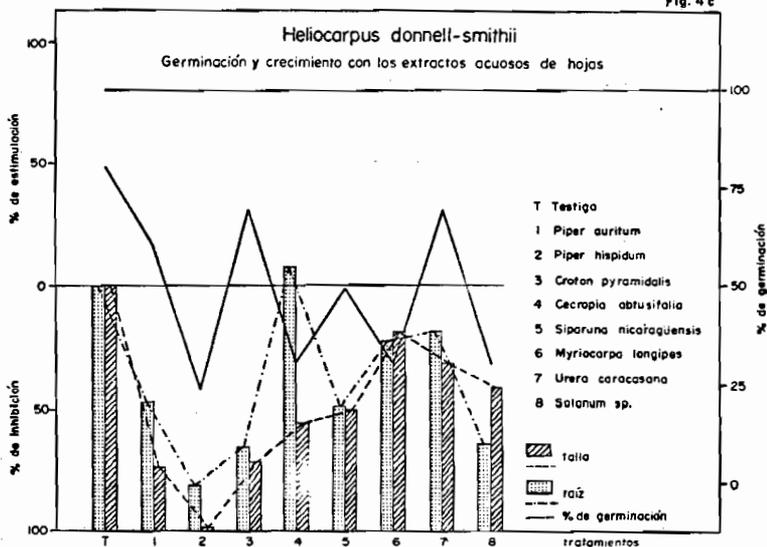


Fig. 5c

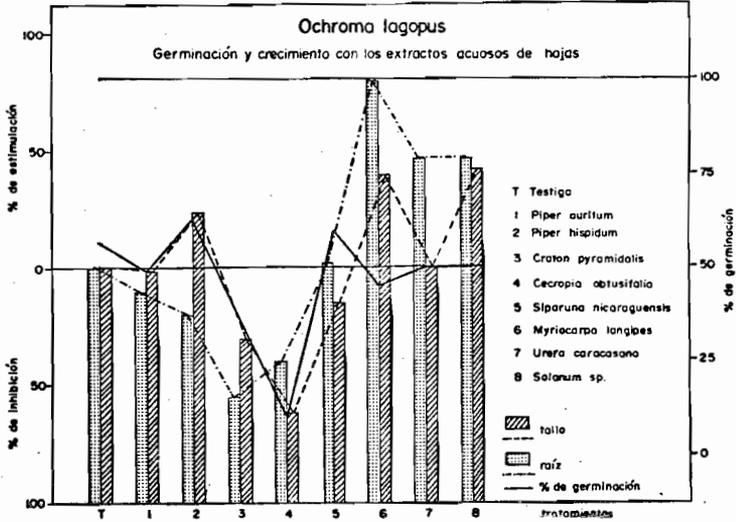
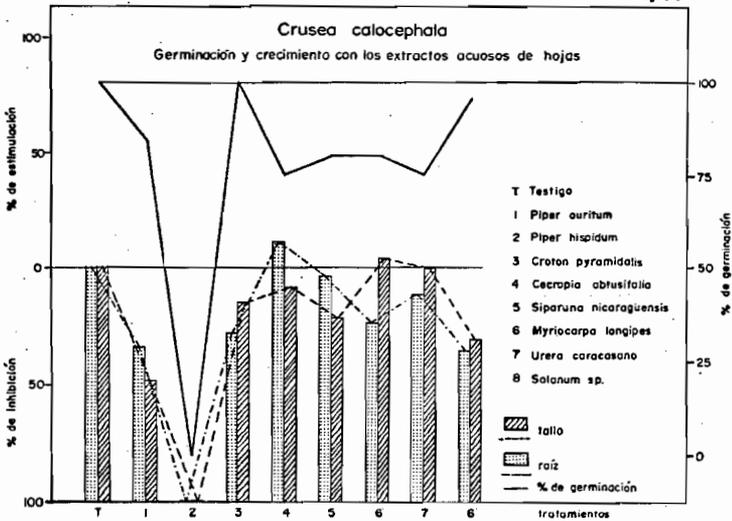


Fig. 6c



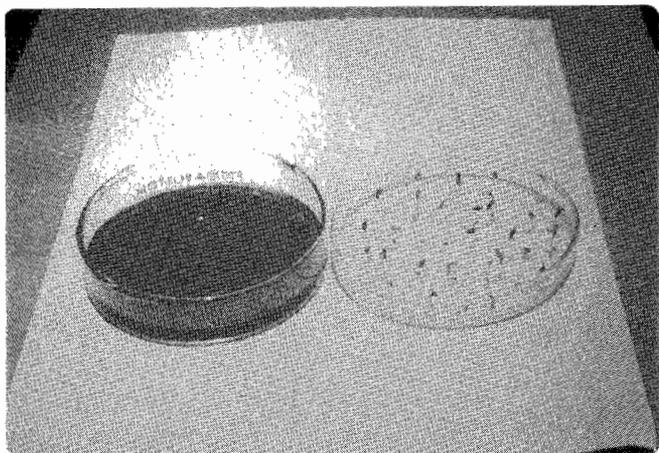


Foto 13. Achyranthes aspera. Diferencia de germinación y crecimiento entre un lote testigo y otro tratado con extracto acuoso de hoja de Piper auritum.

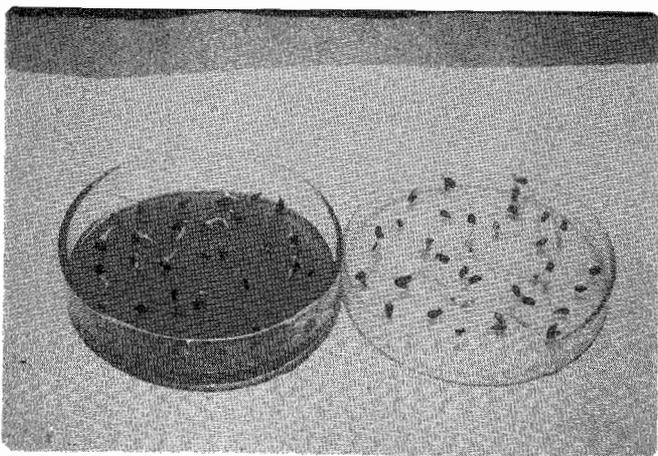


Foto 14. Ochroma lagopus. Diferencia de germinación y crecimiento entre un lote testigo y otro tratado con extracto acuoso de hoja de Croton pyramidalis.

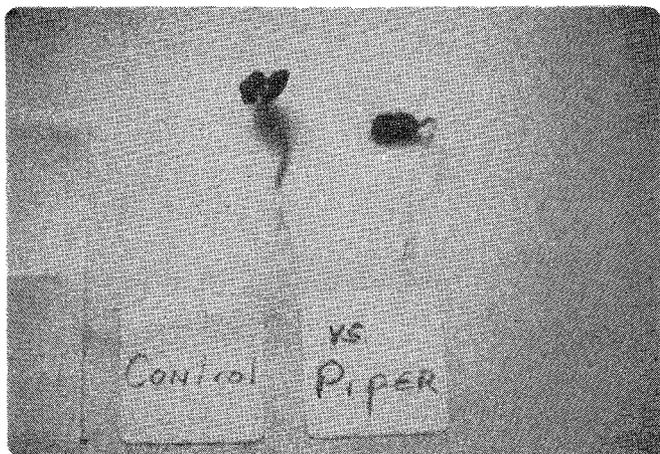


Foto 15. Mimosa pudica. Diferencia entre una plántula del testigo y una tratada con extracto acuoso de hoja de Piper auritum.

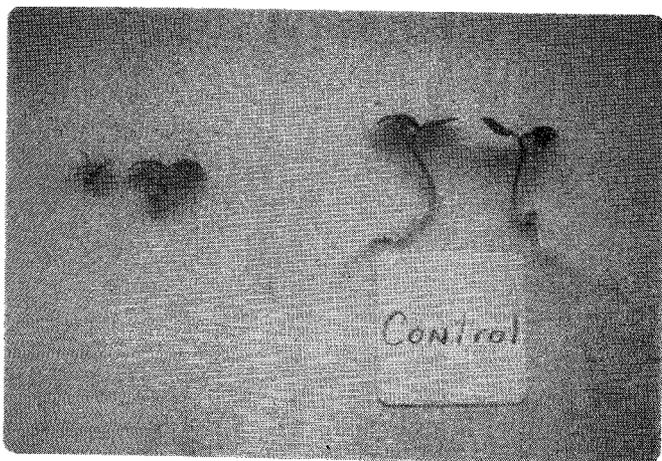


Foto 16. Achyranthes aspera. Diferencia entre una plántula del testigo y una tratada con extracto acuoso de hoja de Piper auritum.

3) Pruebas con los extractos acuosos de raíces.

En la tabla 1C y las figuras 1d a 5d se muestran los resultados obtenidos en los bioensayos efectuados con los extractos acuosos de raíces

Mimosa pudica muestra un crecimiento del tallo estimulado significativamente en los tratamientos con Cecropia y Siparuna mientras que la raíz, está inhibida en el caso de P. auritum, P. hispidum y Croton y estimulada con Cecropia. El tanto por ciento de germinación no se afectó en ningún caso.

El crecimiento de la raíz de Achyranthes fue estimulado significativamente por todos los tratamientos, excepto el de Siparuna. El tallo fue estimulado, sin excepción en todos los casos. Las respuestas de tallo y raíz mostraron un claro paralelismo en el caso de los tratamientos con P. auritum y P. hispidum y fue precisamente esta última especie quien más estimuló su crecimiento. El tanto por ciento de germinación de Achyranthes es variable y se mostró incrementado por el extracto de P. hispidum e inhibido por el de P. auritum.

En Bidens pilosa podemos observar tres casos de inhibición significativa en el crecimiento de la raíz con los extractos de P. auritum, Croton y Siparuna; por el contrario, el tallo fue estimulado en la mayoría de los casos (con excepción

del extracto de P. auritum que no lo afectó), especialmente por Siparuna nicaraquensis. El tanto por ciento de germinación fue incrementado por P. auritum, Cecropia y Siparuna y mostró, al igual que el de Achyranthes, mucha variación.

Los resultados obtenidos con Ochroma lagopus demostraron nuevamente que las respuestas de esta especie no coinciden ni en lo general, ni en lo particular, con las demás especies utilizadas en los bioensayos. La estimulación observada en las otras especies por algunos de los extractos radicales, no se obtuvo con Ochroma. Ni Cecropia, ni Siparuna afectaron significativamente el crecimiento tanto del tallo como de la raíz. En cambio Croton inhibe significativamente a ambos y también lo hacen las dos especies de Piper. Las respuestas de tallo y raíz son semejantes. Por otro lado, podemos observar que el tanto por ciento de germinación fue estimulado en todos los casos, a pesar de la inhibición del crecimiento, lo que habla claramente de una multiplicidad de efectos determinada seguramente por la cantidad y calidad de los metabolitos contenidos en las raíces.

La raíz de Crusea calocephala se estimuló significativamente con los tratamientos con P. auritum, P. hispidum y Croton y no se afecta con los demás. El tallo, en cambio fue estimulado significativamente, especialmente por Siparuna y también por P. hispidum, Croton y Cecropia y en menor grado por P. auritum. Crusea demuestra también una curiosa disminución en el

tanto por ciento de germinación en todos los tratamientos, especialmente en 1, 2 y 3.

La especie menos afectada en términos generales, por los extractos de raíces fue Mimosa pudica y la más inhibida fue Ochroma lagopus. La estimulación más notable la presentaron Crusea y Achyranthes.

En comparación con los efectos ejercidos por los extractos de hojas, los de las raíces fueron mucho más moderados en cuanto a inhibición y mucho más fuertes en estimulación, lo que permitió concentrar las investigaciones en las cualidades, sobre todo inhibitorias, de las hojas, sin que por ello se desdeñe el papel que las secreciones radicales desempeñan en las relaciones comunitarias con macro y microorganismos en estas especies.

Los extractos de hoja de P. auritum reducen claramente el crecimiento de la mayoría de las especies probadas, con excepción de Ochroma lagopus. Esto pudiera ser lógico si se toma en cuenta que todas las especies inhibidas pertenecen a las etapas sucesionales anteriores a la de P. auritum y que Ochroma es de una etapa posterior. En el caso de Heliocarpus, que pertenece también a etapas posteriores y es muy inhibida por las hojas de Piper auritum, podemos pensar que la presencia de Piper puede constituir un obstáculo para el establecimiento de Heliocarpus

en la comunidad o un factor selectivo importante para Heliocarpus cuando éste se encuentra en estado de plántula.

La acción inhibitoria de las raíces de Piper auritum no es tan manifiesta sobre las especies antecesoras a ella durante la sucesión, solamente Mimosa y Bidens se vieron afectadas, mientras que Achyranthes y Crusea son estimuladas notablemente. La inhibición de estas dos últimas tendría que estar de terminada exclusivamente por la acción de las hojas en caso de presentarse una acción alelopática natural. Ochroma lagopus es sólo inhibida por los extractos de raíz, lo cual reduciría el efecto químico de Piper auritum, a este órgano exclusivamente.

La acción mostrada por los extractos de hoja y de raíz de P. hispidum es semejante a la de P. auritum. Son las hojas de esta especie las que contienen las sustancias capaces de disminuir el crecimiento de las especies que preceden a P. hispidum en la sucesión y también inhibir totalmente a Heliocarpus que pertenece a etapas posteriores. En cambio, las raíces estimulan en general a todas las especies probadas, a excepción de Mimosa y Ochroma. Esta última especie pudiera ser afectada por la raíz de Piper hispidum en mayor grado que por las hojas.

El efecto de Croton pyramidalis es claro sobre las especies ruderales, las cuales se ven inhibidas, especialmente

por las hojas de esta especie, ya que la raíz resulta estimulante para la mayoría de ellas. Es poco probable la convivencia entre Croton y las especies ruderales de la sucesión ya que las etapas a las que pertenecen no son contiguas, así que un posible desplazamiento de las ruderales por efectos alelopáticos de Croton sería hasta cierto punto fortuito. En el caso de Ochroma la convivencia entre ésta y Croton sería mucho más factible y la competencia durante sus ciclos de vida mucho más intensa y prolongada por tratarse ambas, de especies arbóreas. Las pruebas con los extractos acuosos de las hojas y raíces de Croton demuestran un claro efecto alelopático sobre Ochroma que no es tan afectada por las otras plantas.

Ninguno de los extractos radicales de Cecropia inhibe a las especies ruderales o arbóreas utilizadas. En la mayoría de los casos se observó una estimulación. Por otro lado, el efecto de las hojas de Cecropia fue de estimular la raíz o el tallo o inhibir también alguno de los dos en forma alterna. Es decir, si estimulaba al tallo inhibía a la raíz y viceversa. Sólo en el caso de Ochroma se observó una fuerte y clara inhibición del extracto de hoja de Cecropia sobre esa especie. En este caso también es posible encontrar a Cecropia y Ochroma compitiendo de una manera natural en el medio ambiente. En este caso los mecanismos alelopáticos de Cecropia pudieran proporcio-

narle a ésta, una ventaja sobre Ochroma que se mostró muy sensible a los extractos foliares.

Los extractos radicales de Siparuna no inhibieron en forma manifiesta, sino por lo contrario produjeron en términos generales, una fuerte estimulación. Las hojas en cambio, sí produjeron una fuerte reducción en la mayoría de las especies tratadas, con la excepción de Ochroma y Crusea. Es interesante mencionar que Heliocarpus se mostró especialmente sensible a los extractos de hoja de Siparuna y que además ambas son especies arbóreas con posibilidades de coexistir en un momento dado.

Una vez detectados los alelopáticos, principalmente en las hojas de las plantas investigadas, se trató de averiguar cuál era el camino a través del cual se liberaban al exterior. Si los alelopáticos son sustancias volátiles el mecanismo de salida obviamente será a través de los estomas, directamente al aire y después al suelo donde se depositan y actúan. Si son hidrosolubles el camino será la lixiviación por la lluvia que es abundante en estos climas y que ya fue señalada como un factor muy importante de transporte, la cual arrastraría los alelopáticos secretados por los estomas, o por procesos de gutación, hasta el sustrato donde actúan. La experimentación con el agua del lavado de las hojas era pues muy importante para valorar el arrastre de la lluvia como uno de los tantos mecanismos de libe

Tabla 1C

Germinación y crecimiento de varias especies con los extractos acuosos de las raíces

I. <u>Mimosa pudica</u>							
Tratamiento	% de germ	long raíz mm	% long raíz	long tallo mm	% de long tallo	% de inhibic raíz	% de inhibic tallo
Testigo	95	19.96	100	15.14	100	0	0
Rafz P. auritum	100	14.69**	73.52	16.06	106.07	26.48	-6.07
Rafz P. hispídum	100	16.57**	82.93	15.72	103.83	17.07	-3.83
Rafz Croton	100	15.77**	78.92	16.07	106.14	21.08	-6.14
Rafz Cecropia	95	22.52**	112.71	19.28**	127.34	-12.71	-27.34
Rafz Siparuna	97.5	18.39	92.04	18.40**	121.53	7.96	-21.53
II. <u>Achyranthes aspera</u>							
Testigo	72.5	8.19	100	6.19	100	0	0
Rafz P. auritum	60	11.80**	144.07	8.97**	144.91	-44.07	-44.91
Rafz P. hispídum	82.5	13.70**	167.27	10.46**	168.98	-67.27	-68.98
Rafz Croton	67.5	9.98*	121.85	8.40**	137.93	-21.85	-37.93
Rafz Cecropia	75	10.54*	128.69	9.16**	150.41	-28.69	-50.41
Rafz Siparuna	72.5	8.74	106.71	9.67**	156.78	-6.71	-56.78
III. <u>Bidens pilosa</u>							
Testigo	70	13.91	100	20.28	100	0	0
Rafz P. auritum	80	10.00**	71.69	19.40	95.66	28.11	4.34
Rafz P. hispídum	62.5	15.41*	110.78	23.62*	116.46	-10.78	-16.46
Rafz Croton	62.5	11.88*	85.40	23.65*	116.61	14.60	-16.61
Rafz Cecropia	80	13.97	100.43	25.98**	128.10	- .43	-28.10
Rafz Siparuna	82.5	12.33*	88.64	29.69**	146.40	11.36	-46.40
IV. <u>Chromola lycopodium</u>							
Testigo	37.5	10.19	100	5.44	100	0	0
Rafz P. auritum	55	8.04*	78.90	4.49*	82.53	21.10	17.47
Rafz P. hispídum	47.5	8.34*	81.84	5.00	91.91	18.16	8.09
Rafz Croton	60	7.02**	68.89	3.12**	57.35	31.11	42.65
Rafz Cecropia	62.5	10.23	100.39	5.86	107.72	- .39	- 7.72
Rafz Siparuna	65	9.36	91.85	5.02	92.27	8.15	7.73
V. <u>Crusea calcephala</u>							
Testigo	87.5	13.32	100	5.67	100	0	0
Rafz P. auritum	40	23.25**	174.54	6.87*	121.16	-74.54	-21.16
Rafz P. hispídum	80	18.93**	142.11	8.74**	154.14	-42.11	-54.14
Rafz Croton	72.5	19.85**	149.02	8.30**	146.38	-49.02	-46.38
Rafz Cecropia	82.5	12.64	94.89	7.48**	131.92	5.11	-31.92
Rafz Siparuna	82.5	14.58	109.45	9.73**	171.80	- 9.45	-71.80

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%



BIBLIOTECA
CENTRO DE ECOLOGIA

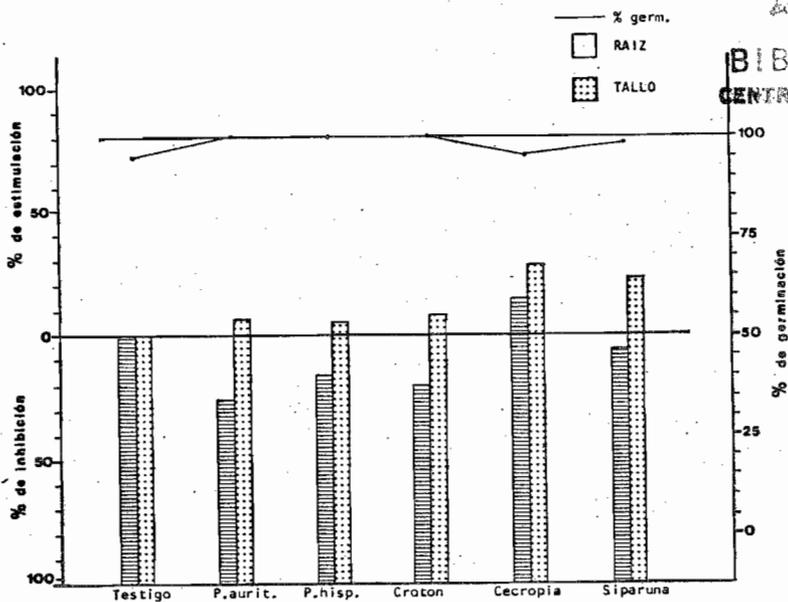


Fig. 1d. MIMOSA PUDICA. Germinación y crecimiento con los extractos acuosos de raíces.

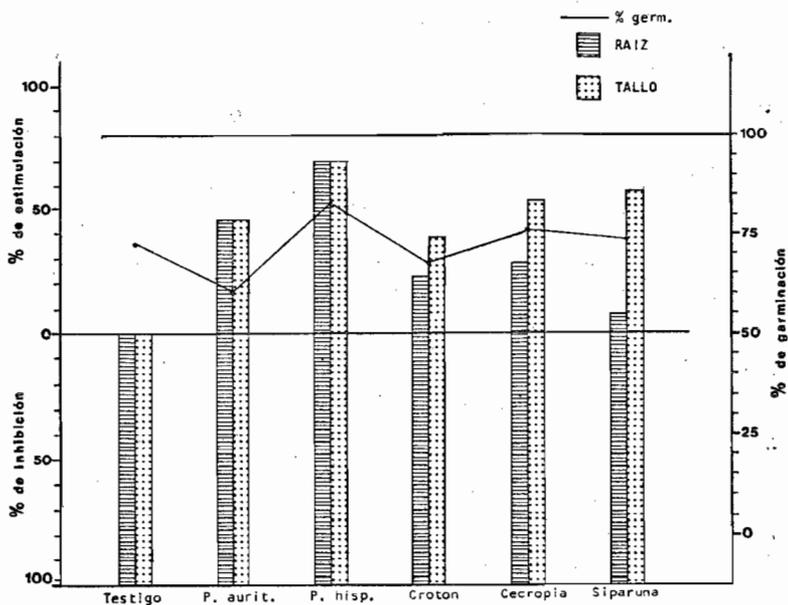


Fig. 2d. ACHYRANTHES ASPERA. Germinación y crecimiento con los extractos acuosos de raíces.

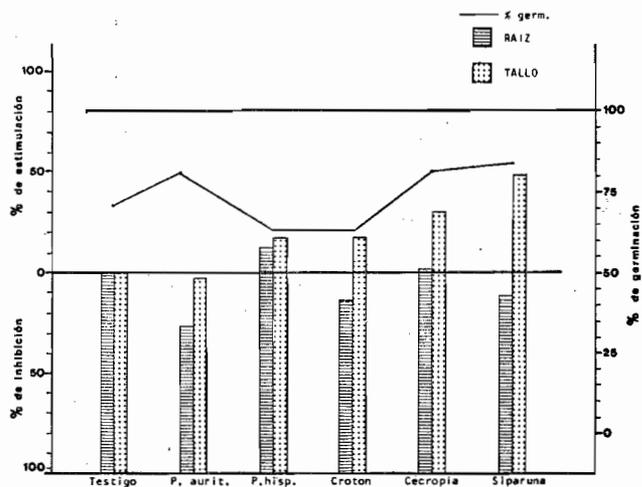


Fig. 3d. *BIDENS PILOSA*. Germinación y crecimiento con los extractos acuosos de raíces.

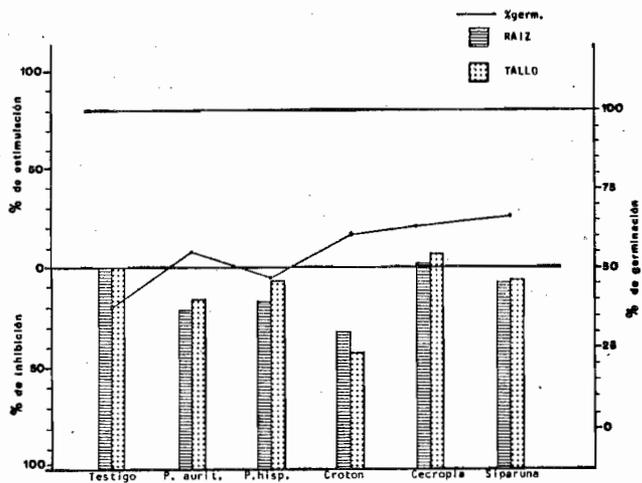


Fig. 4d. *OCHROMA LAGOPUS*. Germinación y crecimiento con los extractos acuosos de raíces.

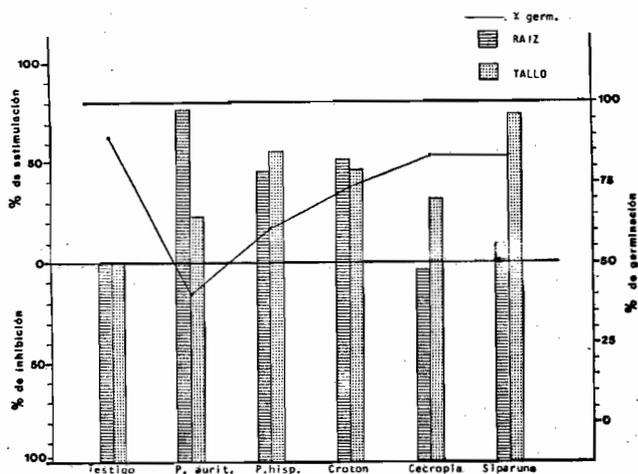


Fig. 5d. CRUSEÁ CALOCEPHALA. Germinación y crecimiento con los extractos acuosos de raíces.

ración de los alelopáticos.

4) Pruebas con el agua del lavado de las hojas.

En la tabla 1D y las figuras 1Ea a 6Eb se pueden observar los resultados obtenidos con las dos colectas del agua de lavado de las hojas que se hicieron mediante el método artificial mencionado anteriormente y con un mes de diferencia.

Los resultados en ambos experimentos fueron distintos y se discuten a continuación:

Mimosa pudica, la. colecta: El crecimiento de su raíz fue inhibido significativamente por el agua de P. hispidum y Croton, mientras que el del tallo fue estimulado significativamente por el agua de Cecropia, ningún otro tratamiento afectó en una for-

ma u otra a Mimosa en su crecimiento. El tanto por ciento de germinación no se alteró en ningún caso.

2a. colecta: Como en la primera colecta, el tanto por ciento de germinación permaneció inalterable, en cambio el crecimiento del tallo y de la raíz (especialmente el de ésta) fue muy estimulado por la mayor parte de los tratamientos con una sola excepción: el agua de Cecropia, que no afectó ni a la raíz, ni al tallo.

Achyranthes aspera, la. colecta. El crecimiento de la raíz es estimulado por el tratamiento con Siparuna y no se afectó significativamente por los demás. El tallo fue inhibido significativamente sólo por el agua de P. hispidum y Cecropia. La poca alteración del crecimiento de Achyranthes durante esta colecta, contrasta con el incremento en el tanto por ciento de germinación, que se logra en la mayoría de los tratamientos (excepto el de Croton).

2a. colecta: El efecto de la mayor parte de los tratamientos fue estimular el crecimiento de la raíz (excepto el agua de P. hispidum), mientras que el tallo sólo se estimula significativamente con el agua de P. auritum, los demás tratamientos no lo afectan. En el tanto por ciento de germinación se observa un ligero aumento con los tratamientos con Cecropia, Croton y Siparuna.

Bidens pilosa, la. colecta: El agua de P. hispidum y Croton in hiben significativamente el crecimiento de la raíz de Bidens y el del tallo es inhibido por estas dos especies y por Siparuna también. El tanto por ciento de germinación fue disminuído por P. hispidum y Cecropia.

2a. colecta: Durante este experimento no se nota la diferencia tan notable en los resultados obtenidos con Mimosa y Achyranthes, pues sólo se obtuvo estimulación significativa de la raíz con los tratamientos 2, 3 y 4. El tallo no fue afectado y la germinación se incrementó con el agua de P. auritum.

Ochroma lagopus. No se hicieron los ensayos con la primera colecta por falta de semillas.

2a. colecta: Las respuestas de crecimiento de raíz y tallo se disparan hacia los extremos, ya que mientras la raíz es muy estimulada por todos los tratamientos, excepto Cecropia, el tallo no se afecta más que con P. hispidum que lo inhibe significativamente. Ochroma tiende a mostrar variación en el tanto por ciento de germinación y se incrementa ligeramente con los tratamientos con P. auritum, P. hispidum, Croton y Siparuna.

Heliocarpus donnell-smithii, la. colecta: En términos generales, los resultados de ambas colectas, en comparación con los de las otras especies, se invierten con Heliocarpus. Durante

la primera colecta el crecimiento de la raíz es estimulado significativamente por todos los tratamientos y el del tallo, por el contrario, es muy inhibido por Croton y Siparuna, obteniéndose un considerable aumento en el tanto por ciento de la germinación con los tratamientos con P. auritum, Croton, Cecropia y Siparuna.

2a. colecta: Los resultados durante este experimento muestran que la raíz se inhibió con P. auritum y Cecropia y se estimuló con Croton, mientras el tallo se inhibió con P. auritum, Siparuna y Cecropia y se estimuló también con Croton, al igual que la raíz. El tanto por ciento de germinación fue incrementado por P. auritum, P. hispidum y Siparuna y muy disminuído por Cecropia.

Crusea calocephala. Existe bastante similitud en los resultados con ambas colectas, siendo Crusea la especie que presentó mayor uniformidad en sus respuestas en ambos experimentos.

1a. colecta: El crecimiento de la raíz se inhibe con P. auritum y se incrementa con P. hispidum y Croton. El tallo es estimulado por todos los tratamientos. El porcentaje de germinación no se afectó.

2a. colecta: Al igual que en la colecta anterior, la raíz es estimulada por Croton, aunque inhibida por P. hispidum y el ta-

llo es estimulado por todos los tratamientos, excepto P. hispidum que fue el único que inhibió a la raíz, dando otro claro ejemplo de antagonismo en las respuestas de ambos órganos. La germinación es favorecida por P. auritum, P. hispidum y Siparuna.

Los resultados obtenidos durante estos experimentos permiten apreciar algunos fenómenos claros:

Primero, es fácil comprobar la pérdida de iones por efecto del agua, la mayoría de los cuales le confiere a ésta propiedades altamente nutritivas, manifestadas en el efecto estimulante producido en algunos casos.

Segundo, la salida de otros compuestos, seguramente de origen orgánico, que manifestaron su acción inhibitoria en algunos de los experimentos.

Tercero, las diferencias notables que se presentaron en los resultados de la primera y segunda colecta, fueron debidas probablemente a las siguientes razones:

a) Variabilidad en la técnica de obtención del agua de lixiviación por la cantidad de follaje usado, el tiempo durante el cual se sometió al lavado y la fuerza mecánica con la que se agitó el follaje dentro del agua.

- b) Edad de las hojas utilizadas, ya que dependiendo de ella, las hojas son más o menos susceptibles a la pérdida de sustancias por la acción del agua.
- c) Estado fenológico de las plantas muestreadas que influye en la cantidad y calidad de los metabolitos lixiviados.
- d) Hora del día en que se hizo la colecta del agua, que influye de la misma manera que en el punto anterior.

Podría añadirse un mayor número de factores que a través del tiempo pudieran influir constantemente o alternadamente en la liberación de metabolitos a través de las hojas, como son: la temperatura, el fotoperíodo, la frecuencia e intensidad de la lluvia, las condiciones de salud de la planta, su posición en los estratos de la población y comunidad, etc., todos ellos de gran importancia para el equilibrio iónico de la misma y el mantenimiento de las relaciones químico-biológicas dentro de la comunidad.

Si el efecto alelopático de estas plantas estudiadas es tuviera exclusivamente confinado a la acción del agua de lixivia ción de la parte aérea de la planta, entonces su mayor influencia en este caso se haría sentir durante la época de lluvias y por la cantidad de alelopáticos liberados sobre las plantas herbáceas o las plántulas de árboles y arbustos.

T a b l a 1 D

Germinación y crecimiento de varias especies con las dos colectas de agua del lavado de las hojas.

Mimosa pudica

1a. colecta

Tratamiento	% de germ	long rafz	% long rafz	long tallo	% de long tallo	% de inhíbic rafz	% de inhíbic tallo
Testigo	100	22.08	100.	9.24	100	0	0
1. Agua Piper auritum	96	22.58 **	102.26	9.41	101.83	-2.26	-1.83
2. Agua Piper hispidum	100	19.72 **	89.31	9.20	99.56	10.69	.44
3. Agua Croton pyramidalis	100	19.96 **	90.39	8.84	95.67	9.61	4.33
4. Agua Cecropia obtusifolia	100	21.84	98.91	10.00 *	108.22	1.09	-8.22
5. Agua Siparunicaraguensis	92	22.43	101.58	9.39	101.62	-1.58	-1.62

2a. colecta

Testigo	90	10.86 **	100	11.39	100	0	0
1. Agua Piper auritum	92.5	16.79 **	154.60	12.25 *	107.55	-54.60	-7.55
2. Agua Piper hispidum	95	24.60 **	226.51	14.10 *	123.79	-126.56	-23.79
3. Agua Croton pyramidalis	100	21.55 **	198.43	14.4 *	126.42	-98.43	-26.42
4. Agua Cecropia obtusifolia	97.5	10.78 **	99.26	11.97 **	105.09	.74	-5.09
5. Agua Siparunicaraguensis	97.5	23.91 **	220.16	15.27 **	134.06	-120.16	-34.06

Achyranthes aspera

1a. colecta

Testigo	68	8.00	100	5.70	100	0	0
1. Agua Piper auritum	72	8.72	109	6.22	109.12	-9	-9.12
2. Agua Piper hispidum	72	7.55	94.37	4.94 **	96.66	5.63	13.34
3. Agua Croton pyramidalis	64	9.12	114	5.37 **	94.21	-14	5.79
4. Agua Cecropia obtusifolia	80	7.65	95.62	4.70 **	82.45	4.38	17.55
5. Agua Siparunicaraguensis	80	9.80 **	122.50	5.20 **	91.22	-22.5	8.78

2a. colecta

Testigo	55	6.41	100	5.34	100	0	0
1. Agua Piper auritum	52.5	9.50 **	148.20	6.93 *	129.77	-48.20	-29.77
2. Agua Piper hispidum	50	6.26 **	97.65	4.95 **	92.69	2.35	7.31
3. Agua Croton pyramidalis	62.5	10.67 **	166.45	5.36 **	100.37	-66.45	-37
4. Agua Cecropia obtusifolia	65	8.47 **	132.13	5.55 **	103.93	-32.13	-3.93
5. Agua Siparunicaraguensis	55	8.50 **	132.60	5.74 **	107.49	-32.60	-7.49

Bidens pilosa

Tabla 1 D - hoja 2.

1a. colecta

Tratamiento	% de germ	long rafz	% long rafz	long tallo	% de long tallo	% de inhibic rafz	% de inhibic tallo
Testigo	96	13.66	100	14.70	100	0	0
1. Agua Piper auritum	100	13.44	96.38	13.76	93.60	1.62	6.40
2. Agua Piper hispidum	88	11.18 ^{**}	81.84	11.50 ^{**}	78.23	18.16	21.77
3. Agua Croton pyramidalis	92	11.65 ^{**}	85.28	12.08 ^{**}	82.17	14.72	17.83
4. Agua Cecropia obtusifolia	72	14.72	107.75	16.11	109.59	-7.75	-9.59
5. Agua Siparuna nicaraguensis	84	12.38	90.62	13.00	88.43	9.38	11.57

2a. colecta

Testigo	62.5	12.27	100	20.64	100	0	0
1. Agua Piper auritum	75	12.95	105.54	19.28	93.41	-5.54	6.59
2. Agua Piper hispidum	65	15.66 [*]	127.62	21.65	104.89	-27.62	-4.89
3. Agua Croton pyramidalis	67.5	15.32 [*]	124.85	19.69	95.39	-24.85	4.61
4. Agua Cecropia obtusifolia	57.5	14.85	121.02	19.36	93.79	-21.02	6.21
5. Agua Siparuna nicaraguensis	57.5	10.86 [*]	88.50	19.63	95.10	11.50	4.90

Hellocarpus donnell-smithii

1a. colecta

Testigo	64	6.87	100	4.37	100	0	0
1. Agua Piper auritum	84	8.20 [*]	129.54	4.14	94.73	-29.54	5.27
2. Agua Piper hispidum	60	10.93 [*]	159.09	4.33	99.08	-59.09	.92
3. Agua Croton pyramidalis	92	7.78	113.24	2.91 ^{**}	66.59	-13.24	33.41
4. Agua Cecropia obtusifolia	100	11.64 ^{**}	169.43	4.92	112.58	-69.43	-12.56
5. Agua Siparuna nicaraguensis	80	9.75 [*]	141.92	3.30 [*]	75.51	-41.92	24.49

2a. colecta

Testigo	60	9.87	100	6.33	100	0	0
1. Agua Piper auritum	87.5	8.65 [*]	87.63	5.94	84.36	12.37	15.64
2. Agua Piper hispidum	77.5	9.71	98.37	6.80	107.42	1.63	-7.42
3. Agua Croton pyramidalis	60	12.02	121.78	7.70	121.64	-21.78	-21.64
4. Agua Cecropia obtusifolia	37.5	8.41 [*]	85.20	4.80	75.82	14.80	24.18
5. Agua Siparuna nicaraguensis	70	9.61	97.36	5.00	78.98	2.64	21.02

Ochroma lagopus

2a. colecta

Testigo	45.0	9.88	100	9.08	100	0	0
1. Agua Piper auritum	57.50	14.14 ^{**}	143.11	8.25	91.05	-43.11	8.95
2. Agua Piper hispidum	55.00	13.67 [*]	138.36	7.61	83.99	-38.36	16.01
3. Agua Croton pyramidalis	52.50	13.72 ^{**}	138.86	10.22	112.80	-38.86	-12.80
4. Agua Cecropia obtusifolia	45.0	10.86	109.91	8.81	97.24	-9.91	2.76
5. Agua Siparuna nicaraguensis	50.0	13.23 ^{**}	133.90	8.94	98.67	-33.90	1.33

1a. colecta

Tratamiento	% de germ	long rafz	% long rafz	long tallo	% de long tallo	% de inhibic rafz	% de inhibic tallo
Testigo	88	11.45	100	2.31	100	0	0
1. Agua Piper auritum	96	9.50*	82.96	2.58	111.68	17.04	-11.68
2. Agua Piper hispidum	88	13.45*	117.46	<u>3.90</u> *	168.83	-17.46	-68.83
3. Agua Croton pyramidalis	92	13.21*	115.37	<u>3.47</u> *	150.21	-15.37	-50.21
4. Agua Cecropia obtusifolia	92	11.13	97.20	3.00*	129.87	2.8	-29.87
5. Agua Siparuna nicaraguensis	92	12.08	105.50	<u>4.21</u> **	182.25	- 5.5	-82.25
110							
2a. colecta							
Testigo	70	17.66	100	6.51	100	0	0
1. Agua Piper auritum	82.5	18.1	102.49	8.89**	136.55	- 2.49	-36.55
2. Agua Piper hispidum	77.5	15.79*	89.41	6.82	104.76	10.59	- 4.76
3. Agua Croton pyramidalis	67.5	20.51*	116.13	8.85**	135.94	-16.13	-35.94
4. Agua Cecropia obtusifolia	65	16.99	96.20	8.03*	123.34	3.80	-23.34
5. Agua Siparuna nicaraguensis	75	18.19	103.0	9.65**	148.23	- 3.0	-48.23

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

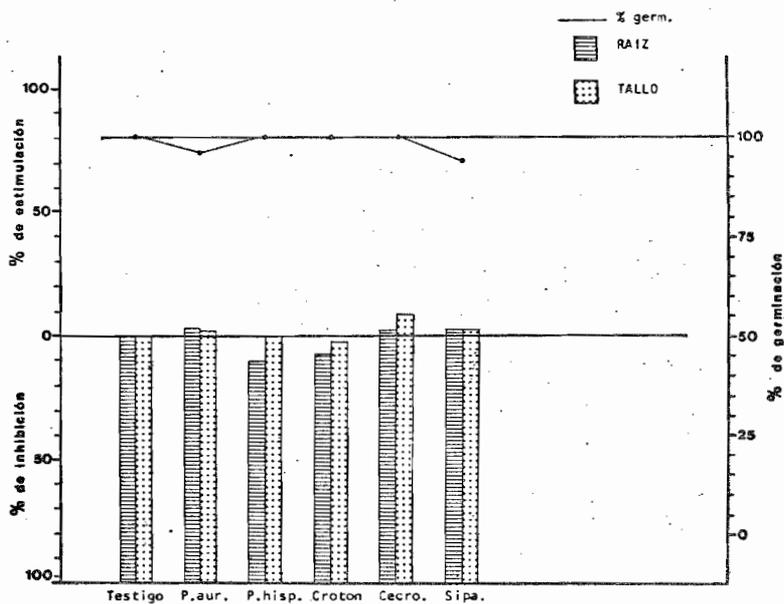


Fig. 1Ea. MIMOSA PUDICA. Germinación y crecimiento con el agua de lavado de las hojas. (1a. repetición)

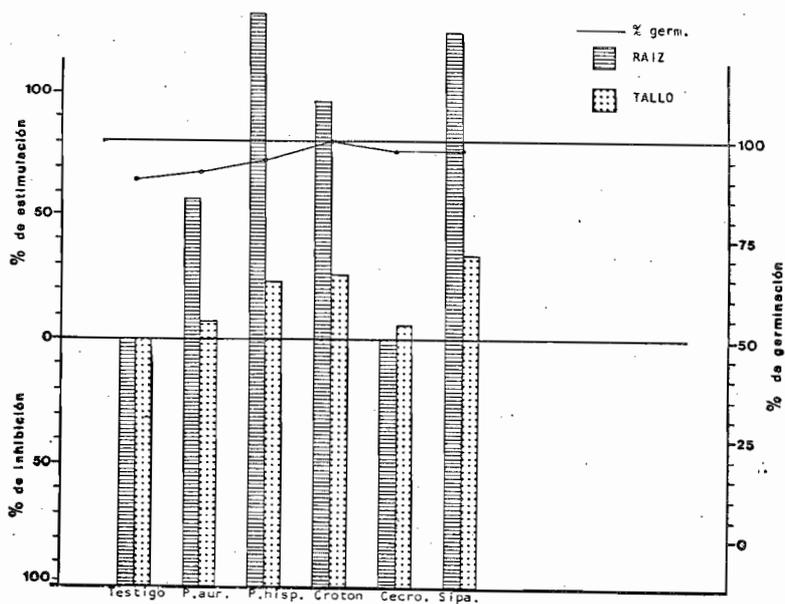


Fig. 1Eb. MIMOSA PUDICA. Germinación y crecimiento con el agua del lavado de las hojas. (2a. repetición)

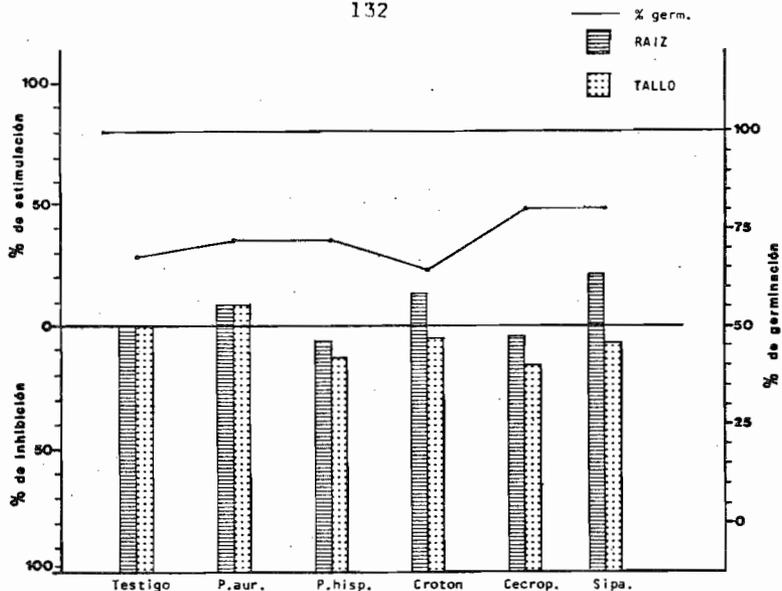


Fig. 2Ea. ACHYRANTHES ASPERA. Germinación y crecimiento con el agua del lavado de las hojas. (1a. repetición)

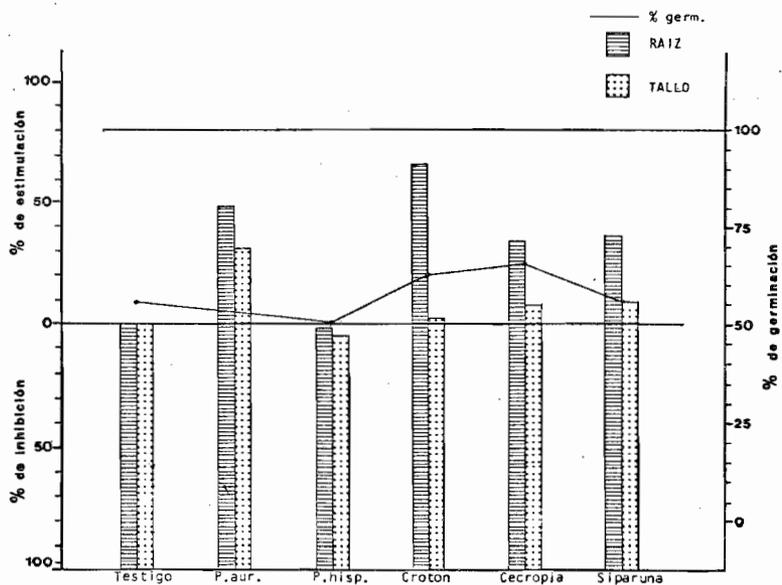


Fig. 2Eb. ACHYRANTHES ASPERA. Germinación y crecimiento con el agua del lavado de las hojas. (2a. repetición)

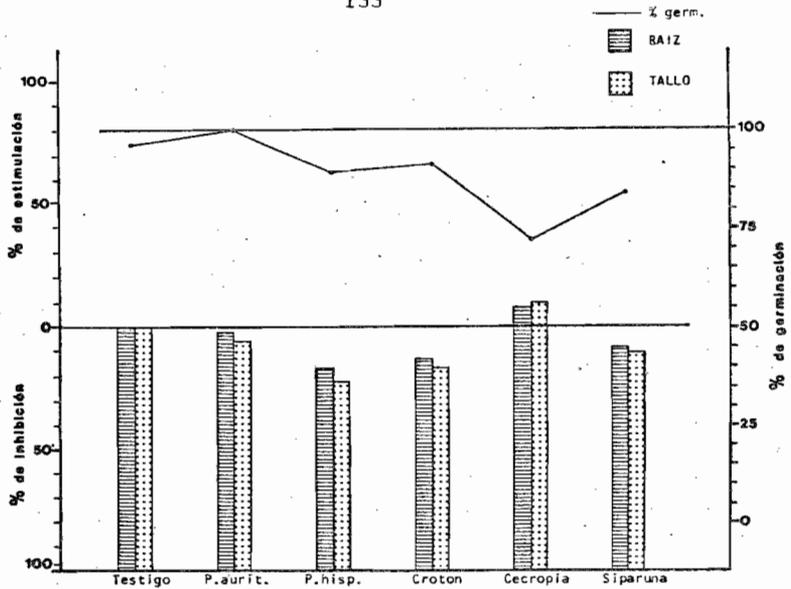


Fig. 3Ea. BIDENS PILOSA. Germinación y crecimiento con el agua del lavado de las hojas. (1a. repetición)

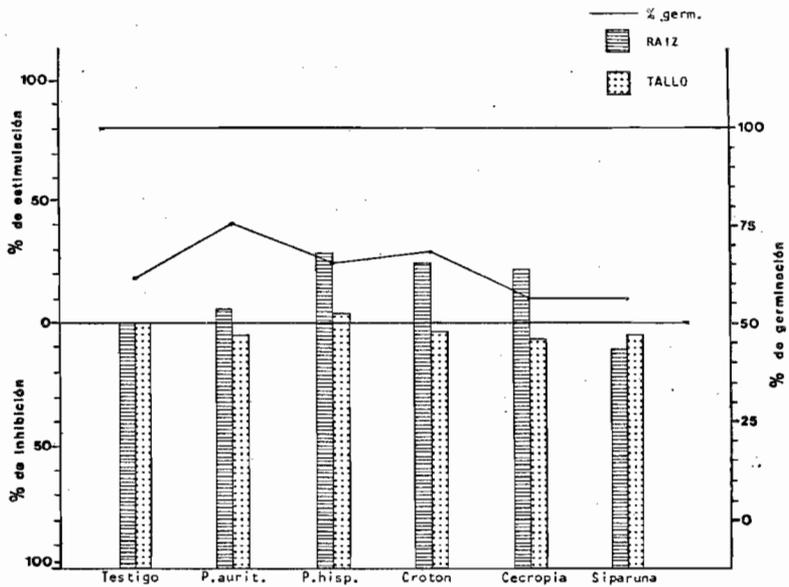


Fig. 3Eb. BIDENS PILOSA. Germinación y crecimiento con el agua del lavado de las hojas. (2a. repetición)

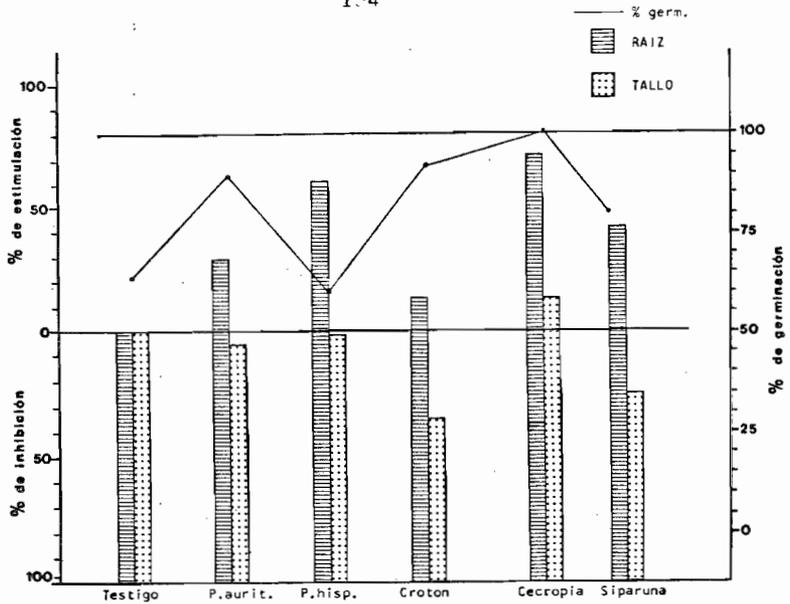


Fig. 4Ea. HELIOCARPUS DONNELL-SMITHII. Germinación y crecimiento con el agua del lavado de las hojas. (1a. repetición)

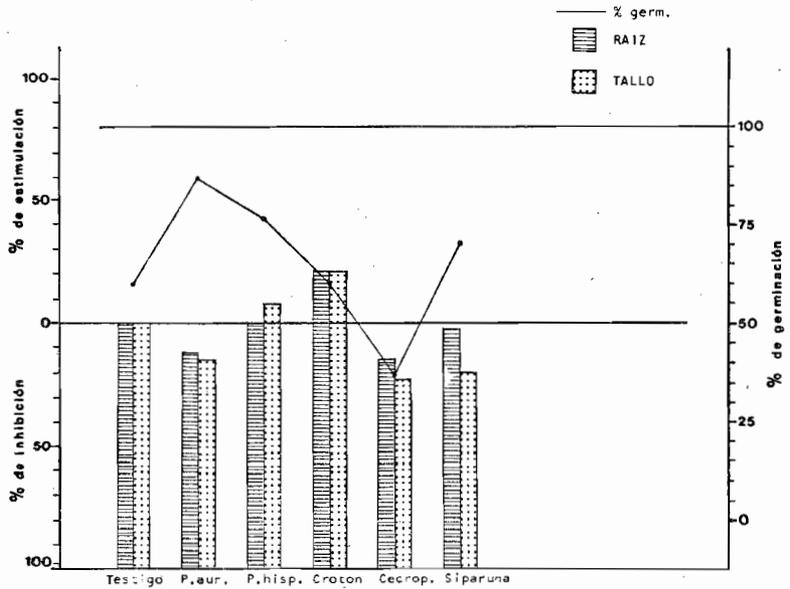


Fig. 4Eb. HELIOCARPUS DONNELL-SMITHII. Germinación y crecimiento con el agua del lavado de las hojas. (2a. repetición)

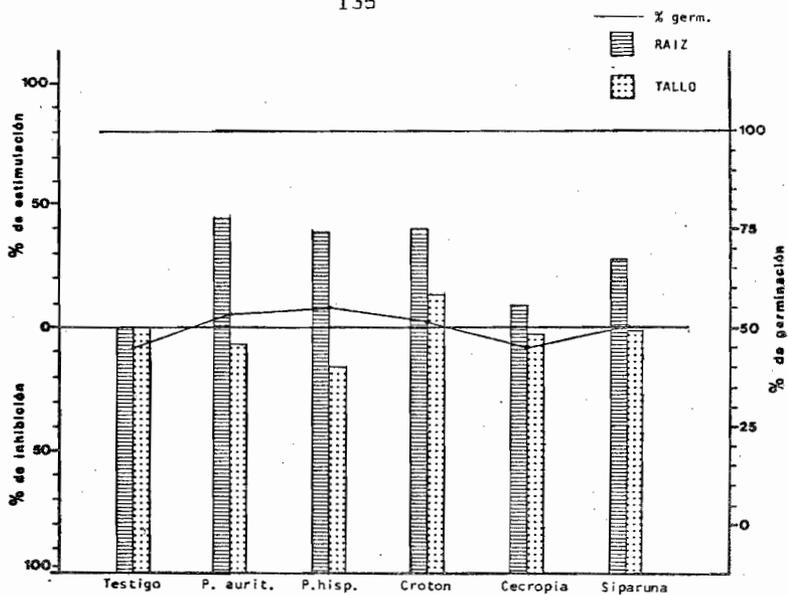


Fig. 5Eb. OCHROMA LAGOPUS. Germinación y crecimiento con el agua del lavado de las hojas. (2a. repetición y única)

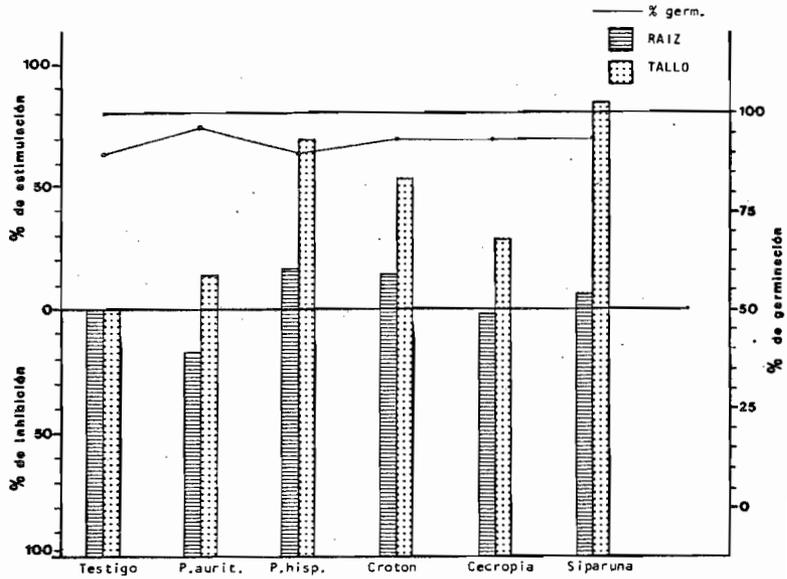


Fig. 6Ea. CRUSEA CALOCEPHALA. Germinación y crecimiento con el agua del lavado de las hojas. (1a. repetición)

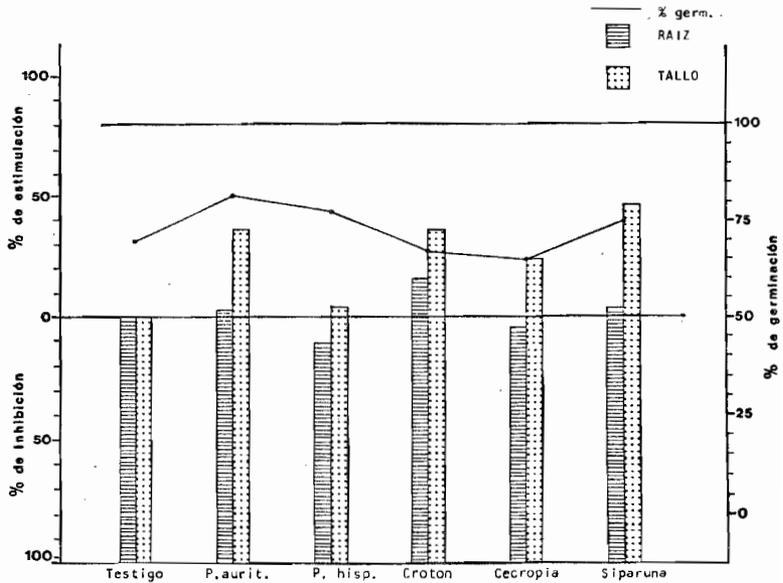


Fig. 6Eb. CRUSEA CALOCEPHALA. Germinación y crecimiento con el agua del lavado de las hojas. (2a. repetición)

5) Pruebas con las soluciones de suelo.

Fueron tres experimentos con diferencia aproximada de un mes, tanto en la colecta de los suelos, como en la realización de los bioensayos. Se procuró siempre repetir lo más exactamente posible, las condiciones de éstos y sobre todo, la metodología en la búsqueda del sitio adecuado y la forma de recoger las muestras de suelo. En la tercera y última repetición se colectaron también otros suelos, cuyos efectos resultaron muy interesantes. Todos los resultados se muestran en las tablas 1E a 6E y en las figuras 1Fa a 6Fc.

Mimosa pudica, la. colecta: La germinación no se afecta en ningún caso y es, como en la mayoría de los bioensayos, muy alta. La raíz se inhibe significativamente con el suelo de P. auritum y Croton, no siendo afectada por las otras especies. El tallo se afecta, mostrando incremento en su crecimiento, con la solución de suelo de Siparuna e inhibiéndose con P. auritum, P. hispidum y Croton.

2a. colecta: En este experimento, la germinación disminuye ligeramente con el suelo de Croton, el mismo que también inhibe el crecimiento de la raíz, junto con Cecropia y Siparuna. El tallo en cambio, se estimula con P. auritum y no se ve afectado por los otros tratamientos.

3a. colecta: Seguramente la calidad fuertemente arenosa del testigo, desvirtuó los resultados de este experimento, tanto en Mimosa, como en las demás especies utilizadas para las pruebas biológicas. La solución suelo-agua del testigo tenía una densidad muy baja, lo que demuestra el menor contenido de solutos en ella, en comparación con las diez restantes soluciones; probablemente por ello se observó una aparente estimulación en el crecimiento de la raíz y del tallo en la mayoría de los tratamientos. En Mimosa hubo varios casos en que el crecimiento no fue afectado, lo cual probablemente quiere decir que fue inhibido.

Achyranthes aspera, la. colecta: Nuevamente la solución de suelo de Croton es la que inhibe a la raíz; también la inhibe el suelo de Siparuna, aunque en menor grado y es precisamente Siparuna la única especie que afecta al tallo, pero no inhibiéndolo, sino estimulándolo, lo cual demuestra el fenómeno antagónico de las respuesta entre raíz y tallo. El porcentaje de germinación disminuye con el suelo de P. auritum, P. hispidum, Siparuna y sobre todo, con Croton.

2. colecta. La solución de Croton estimula significativamente el crecimiento de la raíz en este experimento, también lo hace P. auritum, no así P. hispidum, quien lo inhibe significativamente. El tallo es estimulado significativamente por Croton, Siparuna y P. hispidum, no afectándose ni con Cecropia, ni con P. auritum. El porcentaje de germinación es incrementado por Cecro-

pia, P. auritum, Croton y Siparuna.

3a. colecta: En este experimento puede observarse claramente el pobre crecimiento del testigo y la aparente estimulación del crecimiento ejercida por la mayor parte de los tratamientos.

Bidens pilosa, la. colecta: La solución de suelo de Croton nuevamente ejerce una clara inhibición en el crecimiento de la raíz de esta especie. También lo hacen Cecropia y Siparuna, pero en menor grado. El tallo es inhibido por Cecropia y en este experimento no hay estimulación significativa. La germinación disminuye únicamente con el suelo de Croton.

2a. colecta: P. hispidum, Croton y Siparuna inhiben significativamente el crecimiento de la raíz de Bidens, en orden decreciente. El tallo no se ve afectado en ningún momento y la germinación varía poco.

3a. colecta: A pesar de las razones ya expuestas sobre el testigo en este experimento, hay dos casos de inhibición significativa que deben mencionarse, los ejercidos por los suelos de Croton y Cecropia, que permiten distinguir, sin lugar a dudas, que en el caso del suelo de Croton existe un claro ejemplo de alelopatía para la mayor parte de las especies ensayadas, en la mayoría de las repeticiones.

Ochroma lagopus. No se contó con semillas de esta especie para el experimento con la primera colecta de suelos.

2a. colecta: Inhiben a la raíz las soluciones de suelo de P. hispidum y Cecropia y al tallo, las dos especies de Piper. Es interesante hacer notar que P. auritum además de inhibir el crecimiento del tallo de Ochroma causó pudrición en muchas de las plántulas. La germinación es baja y poco variable.

3a. colecta: Ochroma es la especie más afectada por la solución testigo, cuyos efectos poco favorables pueden verse claramente en este experimento.

Heliocarpus donnell-smithii, 1a. colecta: Esta especie es afectada perjudicialmente por todos los tratamientos, pudiéndose observar una inhibición significativa de raíz y tallo en todos ellos y una disminución del porcentaje de germinación, especialmente con la solución de P. auritum.

2a. colecta: La inhibición de la raíz de Heliocarpus en esta segunda colecta vuelve a repetirse con todos los tratamientos, pero en este caso el tallo no muestra el paralelismo claro que se observa en el primer experimento, pues es inhibido significativamente sólo por P. auritum y Croton y en cambio es estimulado por el suelo de P. hispidum y Siparuna. Las dos especies de Piper, y Cecropia aumentaron la germinación de Heliocarpus.

3a. colecta: No se tenían semillas de esta especie para este tercer experimento.

Crusea calocephala, la. colecta: Se observó en el experimento, una gran diversidad de respuestas en raíz y tallo. La primera es inhibida significativamente por el suelo de P. hispidum y Cecropia y estimulada por P. auritum y Siparuna; Croton no la afecta en el crecimiento, pero sí disminuye su germinación al igual que P. hispidum y Siparuna.

2a. colecta: No se presentó ningún caso de estimulación en esta repetición y la raíz es inhibida significativamente por todos los suelos, mientras que el tallo, sólo por dos de ellos: P. hispidum y Siparuna. El suelo de Croton además de disminuir el crecimiento de esta especie disminuye su germinación.

3a. colecta: En comparación con los testigos de las dos repeticiones anteriores, el de este tercer bioensayo muestra un pobre crecimiento y en los tratamientos se observan muchos casos que probablemente sean de inhibición.

Los resultados de los bioensayos con estas soluciones de suelos demostraron, sin lugar a dudas, que éstos contienen una reserva química rica y variada de compuestos inorgánicos y orgánicos que ejerce una influencia decisiva en muchos de los procesos biológicos de todos aquellos organismos cuya dependen-

cia y contacto con el suelo, son muy íntimos (Rico, Aguilera, Anaya, 1972). También es indudable que la parte orgánica de esta reserva química proviene del componente biológico del medio y principalmente de las plantas superiores. La riqueza florística de los ecosistemas en estas regiones cálido-húmedas determina que la excreción de metabolitos a través de las raíces, la lixiviación de las partes aéreas, la descomposición de los restos vegetales y también animales y los productos metabólicos de la biota del suelo les confieran, además de una riqueza química cualitativa y cuantitativa, un dinamismo extraordinario a estos ecosistemas. Los efectos tanto inhibitorios, como estimulantes de los extractos acuosos de suelo sobre las plántulas durante las pruebas, muestran claramente lo afirmado anteriormente. En términos generales, el suelo colectado dentro del acahual de Croton, tuvo un mayor efecto inhibitorio sobre las plántulas, lo que parece coincidir con el hecho de que en esta comunidad, la dominancia de Croton era prácticamente total y en el suelo sólo se observaban plántulas del mismo Croton y de ninguna otra especie más. Este hecho facilitó enormemente la toma de muestras, pues había dentro de este bosquecillo casi puro, muchos lugares donde podía muestrearse sin dudar sobre la posible interferencia de otras especies.

Como en el caso del agua de lixiviación de las hojas,

en los bioensayos con las soluciones de suelo encontramos gran variación entre las tres colectas que se hicieron, pero en este caso, los posibles factores que las determinaron son mucho más numerosos y prácticamente incontrolables. Sin embargo, es muy importante señalar que las pruebas de la presencia de inhibidores en el suelo, fueron muy claras en algunos experimentos y que ésto indica una incuestionable y estrecha relación química entre las semillas o plántulas y el contenido orgánico de los suelos. Los resultados muestran la urgencia de profundizar en los estudios respecto a la procedencia de los alelopáticos: si son volátiles, solubles en agua, si provienen de la lixiviación de las hojas o de excreciones radicales y/o de la descomposición de la materia orgánica, cómo se transportan, etc.; si su efecto es directo o indirecto; cuál es el papel de los microorganismos del suelo sobre los alelopáticos y su acción ecológica; qué papel desempeña el tipo de suelo, la humedad, la temperatura, etc., en la persistencia y efecto de los alelopáticos; con qué periodi cidad los encontramos en el medio ambiente y en qué cantidad; cuál es su naturaleza química y cuáles sus efectos biológicos y ecológicos. Preguntas que en conjunto constituyen un campo vastísimo e ilimitado de investigación y que nos llevan a plantear la necesidad de tener en cuenta a los alelopáticos o sustancias estimulantes de origen biológico, en cualquier estudio ecológico donde se valoren relaciones biológicas especialmente de competen cia y simbiosis.

Tabla 1E

Mimosa pudica, Germinación y crecimiento con las soluciones de las tres colectas de suelo

1a. colecta

Tratamiento	% de germ	long rafz mm	% long rafz	long tallo mm	% de long tallo	% de inhibic rafz	% de inhibic tallo
Testigo	92	28.00	100	11.65	100	0	0
Suelo P. auritum	96	24.54*	87.64	10.29*	88.32	12.36	11.68
Suelo P. hispidum	96	30.12	107.57	9.66**	82.91	- 7.57	17.09
Suelo Croton	100	24.96*	89.14	9.96**	85.49	10.86	14.51
Suelo Cecropia	96	28.08	100.28	10.75*	92.27	- .28	7.73
Suelo Siparuna	96	30.00	107.14	9.58**	121.60	- 7.14	-21.60

2a. colecta

Testigo	100	26.77	100	13.77	100	0	0
Suelo P. auritum	100	26.92	100.56	16.57*	120.33	- .56	-20.33
Suelo P. hispidum	95	25.02	93.46	14.39	104.50	6.54	- 4.50
Suelo Croton	92.3	23.71*	88.56	15.04	109.22	11.44	- 9.22
Suelo Cecropia	95	23.0*	85.91	13.59*	98.69	14.09	1.31
Suelo Siparuna	100	22.32*	83.37	13.95	101.30	16.63	- 1.30

3a. colecta

Testigo	97.5	17.85	100	9.49	100	0	0
Tierra P. auritum	95	20.97*	117.47	10.42	109.79	-17.47	- 9.79
Tierra P. hispidum	100	20.79*	116.47	10.72*	112.96	-16.47	-12.96
Tierra Croton	97.5	22.31**	124.98	10.42*	109.79	-24.98	- 9.79
Tierra Cecropia	100	20.92*	117.19	10.52*	110.85	-17.19	-10.85
Tierra Siparuna	93	22.73**	127.33	10.20*	107.48	-27.33	- 7.48
Tierra acahual 2 años	100	18.07	101.23	10.22*	107.69	- 1.23	- 7.69
Tierra acahual 10 años	95	17.54	98.26	10.55*	111.16	1.74	-11.16
Tierra campo abierto	97.5	20.86*	116.86	9.62	101.36	-16.86	- 1.36
Tierra selva 1	100	22.47**	125.88	9.62	101.36	-25.88	- 1.36
Tierra selva 2	92.5	22.32**	125.04	9.73	102.52	-25.04	- 2.52

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

Tabla 2E

Achyranthes aspera. Germinación y crecimiento con las soluciones de las tres colectas de suelo

1a. colecta

Tratamiento	% de germ	long rafz mm	% long rafz	long tallo mm	% de long tallo	% de inhibic rafz	% de inhibic tallo
Testigo	96	13.20	100	6.20	100	0	0
Suelo P. auritum	80	14.00	106.06	6.75	108.87	- 6.06	- 8.87
Suelo P. hispidum	76	12.36	93.63	6.05	97.58	6.37	2.42
Suelo Croton	56	8.64**	65.45	6.50	104.83	34.55	- 4.83
Suelo Cecropia	92	13.69	103.71	6.60	106.45	- 3.71	- 5.45
Suelo Siparuna	72	11.33**	85.83	7.22**	116.45	14.17	-16.45

2a. colecta

Testigo	62.5	9.04	100	7.76	100	0	0
Suelo P. auritum	77.5	10.89*	120.46	8.47	109.14	-20.46	- 9.14
Suelo P. hispidum	67.5	6.85**	75.77	8.94*	115.20	24.23	-15.20
Suelo Croton	80	10.50*	116.15	12.05**	155.28	-16.15	-55.28
Suelo Cecropia	77.5	8.66	95.79	8.05	103.73	4.21	- 3.73
Suelo Siparuna	75	8.14	90.04	9.51**	122.55	9.96	-22.55

3a. colecta

Testigo	50	10.21	100	6.09	100	0	0
Suelo P. auritum	62.5	13.75**	134.67	9.12**	149.75	-34.67	-49.75
Suelo P. hispidum	55	14.23**	139.37	10.19**	167.32	-39.37	-67.32
Suelo Croton	60	13.20*	129.28	11.20**	183.90	-29.28	-83.90
Suelo Cecropia	50	11.16	109.30	9.10**	149.42	- 9.30	-49.42
Suelo Siparuna	52.5	10.25	100.39	8.85**	145.32	- .39	-45.32
Suelo acahual 2 años	42.5	11.23	109.99	7.60*	124.79	- 9.99	-24.79
Suelo acahual 10 años	55	10.16	99.51	11.31**	185.71	.49	-85.71
Suelo campo abierto	42.5	13.86**	135.74	11.38**	186.86	-35.74	-86.86
Suelo selva 1	77.5	10.03	98.23	8.04**	132.01	1.77	-32.01
Suelo selva 2	60	9.71	95.10	7.66*	125.77	4.90	-25.77

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

Tabla 3E

Bidens pilosa. Germinación y crecimiento con las soluciones de las tres colectas de suelo

1a. colecta

Tratamiento	% de germ	long raíz mm	% long raíz	long tallo mm	% de long tallo	% de inhibic raíz	% de inhibic tallo
Testigo	96	18.20	100.00	13.91	100	0	0
Suelo P. auritum	96	16.50	90.65	13.37	96.11	9.35	3.89
Suelo P. hispidum	96	17.52	96.26	15.36	110.42	3.74	-10.42
Suelo Croton	84	13.00**	71.42	13.00	93.45	28.58	6.55
Suelo Cecropia	92	13.82**	75.93	11.78**	84.68	24.07	15.32
Suelo Siparuna	96	16.25*	89.28	14.91	107.18	10.72	- 7.18

2a. colecta

Testigo	70	19.29	100	31.51	100	0	0
Suelo P. auritum	67.5	19.14	99.22	30.80	97.74	.78	2.26
Suelo P. hispidum	77.5	15.15**	78.53	29.74	94.38	21.47	5.62
Suelo Croton	80	15.81*	81.95	30.41	96.50	18.05	3.50
Suelo Cecropia	75	19.74	102.33	33.26	105.55	- 2.33	- 5.55
Suelo Siparuna	70	16.48*	85.43	30.16	95.71	14.57	4.29

3a. colecta

Testigo	75	13.67	100	21.13	100	0	0
Suelo P. auritum	72.5	13.75	100.58	19.63	92.90	- .58	7.10
Suelo P. hispidum	85	19.61**	143.45	30.93**	146.37	-43.45	-46.37
Suelo Croton	62.5	11.40**	83.39	19.66	93.04	16.61	6.96
Suelo Cecropia	72.5	11.68**	85.44	20.12	95.22	14.56	4.78
Suelo Siparuna	60	16.35**	119.60	30.05**	142.21	-19.60	-42.21
Suelo acahual 2 años	75	16.33**	119.45	25.29*	119.68	-19.45	-19.68
Suelo acahual 10 años	87.5	15.88**	116.16	29.48**	139.51	-16.16	-39.51
Suelo campo abierto	77.5	16.06**	117.48	29.11**	137.76	-17.48	-37.76
Suelo selva 1	80	13.90	101.68	23.84*	112.82	- 1.68	-12.82
Suelo selva 2	80	13.42	98.17	27.69**	131.04	1.83	-31.04

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

Tabla 4E

Heliocarpus donnell-smithii. Germinación y crecimiento con las soluciones
de dos colectas de suelo

1a. colecta

Tratamiento	% de germ	long raíz mm	% long raíz	long tallo mm	% de long tallo	% de inhibic raíz	% de inhibic tallo
Testigo	92	16.91	100	6.21	100	0	0
Suelo <i>P. auritum</i>	72	14.72*	87.04	5.22*	84.05	12.96	15.95
Suelo <i>P. hispidum</i>	84	14.28*	84.44	5.23*	84.21	15.56	15.79
Suelo Croton	84	11.00**	65.05	4.42**	71.17	34.95	28.83
Suelo Cecropia	88	14.54*	85.98	5.40*	86.95	14.02	13.05
Suelo Siparuna	88	12.77*	75.51	5.22*	84.05	24.49	15.95

2a. colecta

Testigo	57.5	18.00	100	13.07	100	0	0
Suelo <i>P. auritum</i>	72.5	14.44*	80.22	11.61*	88.82	19.78	11.18
Suelo <i>P. hispidum</i>	67.5	13.69**	76.05	16.61*	127.08	23.95	-27.08
Suelo Croton	57.5	11.87**	65.94	9.56*	73.14	34.06	26.86
Suelo Cecropia	65	14.64*	81.33	13.51	103.36	18.67	- 3.36
Suelo Siparuna	55	12.12**	67.33	17.44**	133.43	32.67	-33.43

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

Tabla 5E

Ochroma lagopus. Germinación y crecimiento con las soluciones de dos colectas de suelo

2a. colecta

Tratamiento	% de germ	long raíz mm	% long raíz	long tallo mm	% de long tallo	% de inhibic raíz	% de inhibic tallo
Testigo	50	15.66	100	12.5	100	0	0
Suelo P. auritum	47.5	15.98	102.04	10.55*	84.40	2.04	15.60
Suelo P. hispidum	40	14.02*	89.52	10.76*	86.08	10.48	13.92
Suelo Croton	47.5	14.71	93.93	11.52	92.16	6.07	7.84
Suelo Cecropia	55	13.77*	87.93	11.45	91.60	12.07	8.40
Suelo Siparuna	52.5	16.10	102.80	11.28	90.24	- 2.80	9.76
3a. colecta							
Testigo	35	5.16	100	3.45	100	0	0
Suelo P. auritum	75	8.86**	171.70	4.06	117.68	- 71.70	-17.68
Suelo P. hispidum	40	12.62**	244.57	6.00**	173.91	-144.57	-73.91
Suelo Croton	40	7.81**	151.35	3.55	102.89	- 51.35	- 2.89
Suelo Cecropia	57.5	9.97**	193.21	4.73**	137.10	- 93.21	-37.10
Suelo Siparuna	47.5	9.83**	190.50	4.41*	127.82	- 90.50	-27.82
Suelo acahual 2 años	55	8.41**	162.98	5.15**	149.27	- 62.98	-49.27
Suelo acahual 10 años	52.5	12.30**	238.37	6.30**	182.60	-138.37	-82.60
Suelo campo abierto	30	11.33**	219.57	5.5**	159.42	-119.57	-59.42
Suelo selva 1	55	11.36**	220.15	4.81**	139.42	-120.15	-39.42
Suelo selva 2	45	9.55**	185.07	4.22*	122.31	- 85.07	-22.31

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

Tabla 6E

Crusea calocephala, Germinación y crecimiento con las soluciones de las tres colectas de suelo

1a. colecta

Tratamiento	% de germ	long raíz mm	% long raíz	long tallo mm	% de long tallo	% de inhibic raíz	% de inhibic tallo
Testigo	88	21.11	100.0	5.18	100	0	0
Suelo P. auritum	92	24.60*	115.92	5.52	106.56	-15.92	- 6.56
Suelo P. hispidum	80	14.65**	69.03	3.75*	72.39	30.97	27.61
Suelo Croton	84	21.76	102.54	5.04	97.29	- 2.54	2.71
Suelo Cecropia	92	18.69*	88.07	3.95*	76.25	11.93	23.75
Suelo Siparuna	80	28.35*	133.60	6.15*	118.72	-33.60	-18.72

2a. colecta

Testigo	82.5	36.61	100	19.44	100	0	0
Suelo P. auritum	90	29.58*	80.79	17.88	91.97	19.21	8.03
Suelo P. hispidum	85	27.36**	74.73	16.55**	85.13	25.27	14.87
Suelo Croton	77.5	29.99**	81.91	19.38	99.69	18.09	.31
Suelo Cecropia	90	32.83*	89.67	17.77	91.40	10.33	8.60
Suelo Siparuna	90	26.46**	72.27	15.06*	77.46	27.73	22.54

3a. colecta

Testigo	90	16.27	100	9.86	100	0	0
Suelo P. auritum	85	21.11**	129.74	8.17	82.86	-29.74	17.14
Suelo P. hispidum	90	17.77	109.21	7.88*	79.91	- 9.21	20.09
Suelo Croton	90	19.45*	119.54	7.71*	78.19	-19.54	21.81
Suelo Cecropia	90	22.47**	138.10	10.65	108.01	-38.10	- 8.01
Suelo Siparuna	95	21.26**	130.66	9.58	97.16	-30.66	2.84
Suelo acahual 2 años	77.5	22.05**	135.52	11.31	114.70	-35.52	-14.70
Suelo acahual 10 años	82.5	24.11**	148.18	12.23*	124.03	-48.18	-24.03
Suelo campo abierto	65	22.30**	137.06	13.38**	135.69	-37.06	-35.69
Suelo selva 1	90	27.05**	166.25	10.55	106.99	-66.25	- 6.99
Suelo selva 2	70	19.42*	119.36	7.28	73.83	-19.36	26.17

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

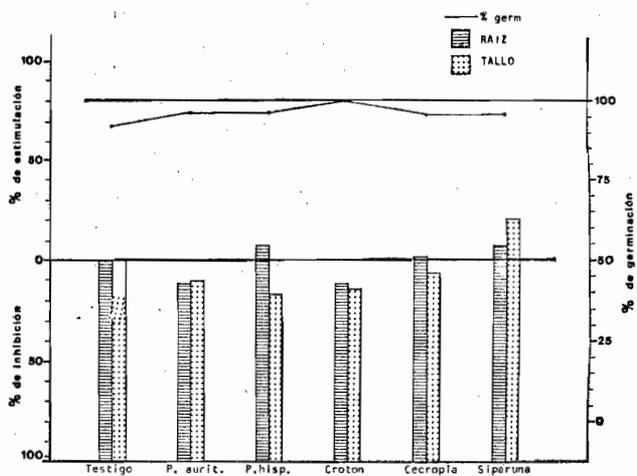


Fig. 1Fa. MIMOSA PUDICA. Germinación y crecimiento con las soluciones de suelo. 1a. colecta.

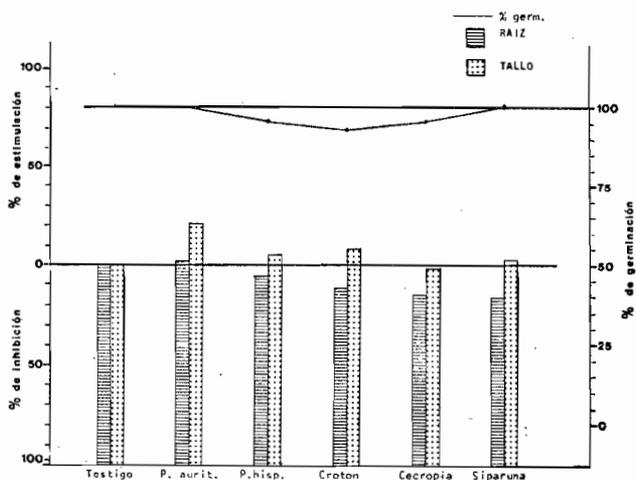


Fig. 1Fb. MIMOSA PUDICA. Germinación y crecimiento con las soluciones de suelo. 2a. colecta.

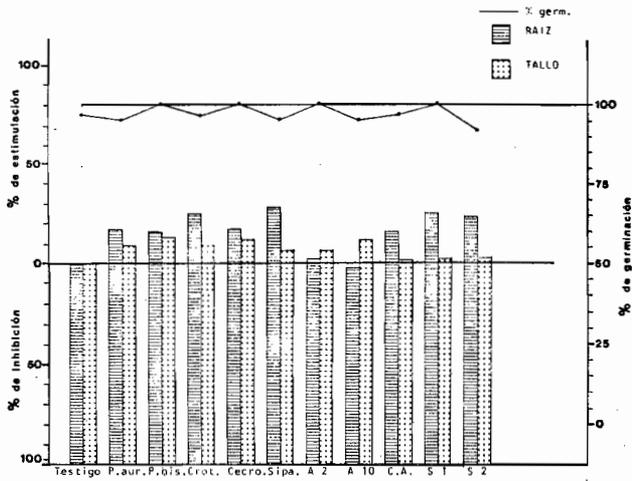


Fig. 1Fc. MIMOSA PUDICA. Germinación y crecimiento con las soluciones de suelo. Ja. colecta.

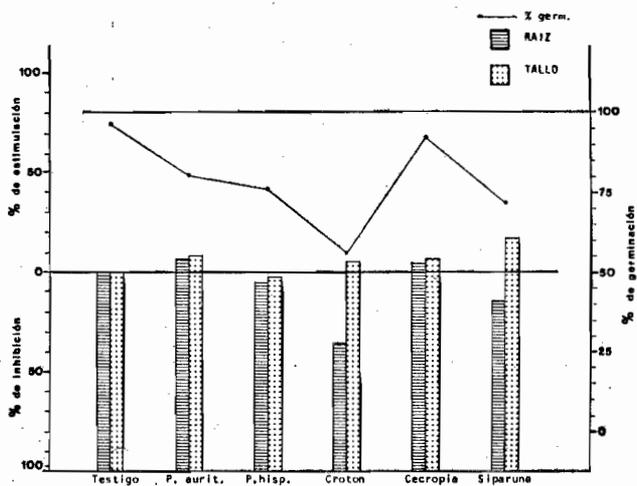


Fig. 2Fa. ACHYRANTHES ASPERA. Germinación y crecimiento con las soluciones de suelo. 1a. colecta.

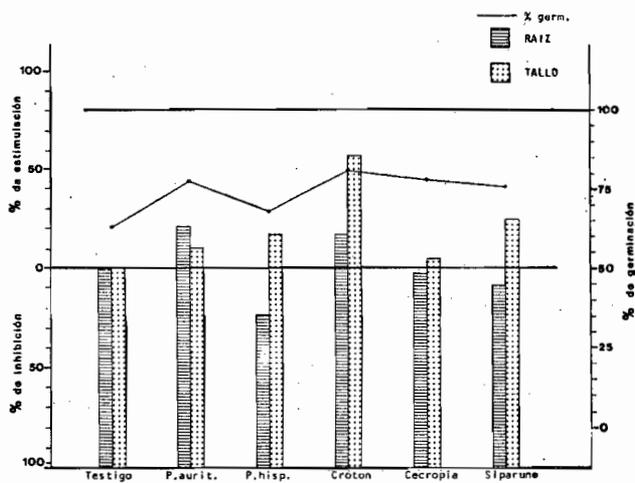


Fig. 2Fb. ACHYRANTHES ASPERA. Germinación y crecimiento con las soluciones de suelo. 2a. colecta.

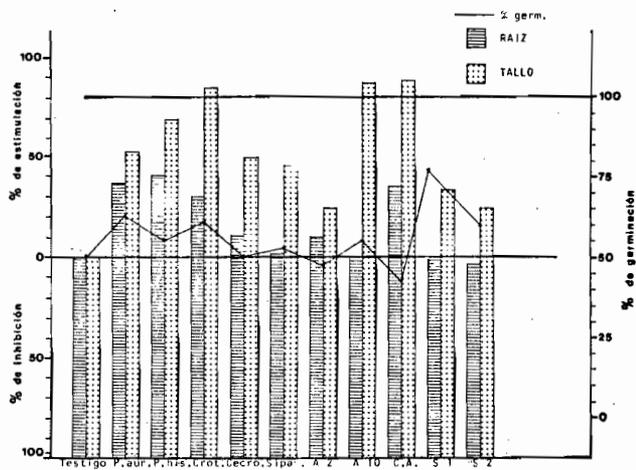


Fig. 2Fc. ACHYRANTHES ASPERA. Germinación y crecimiento con las soluciones de suelo. 3a. colecta.

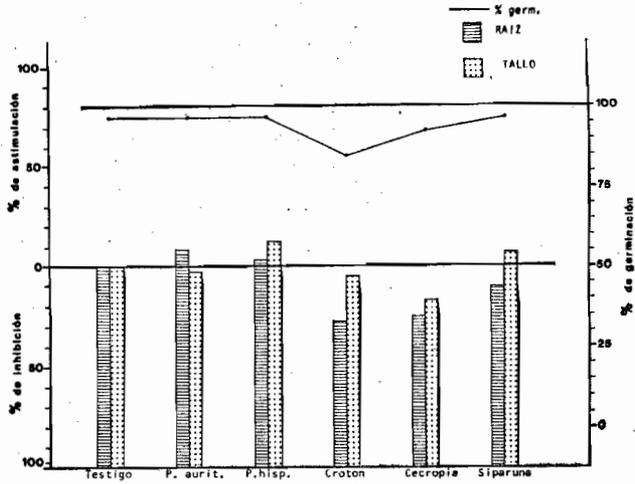


Fig. 3Fa. BIDENS PILOSA. Germinación y crecimiento con las soluciones de suelo. 1a. colecta.

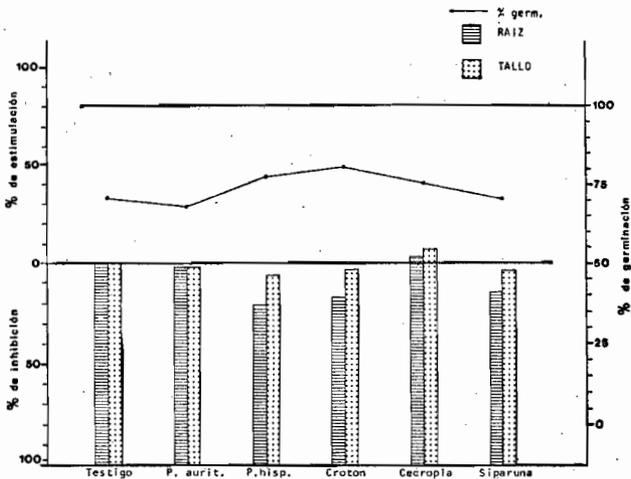


Fig. 3Fb. BIDENS PILOSA. Germinación y crecimiento con las soluciones de suelo. 2a. colecta.

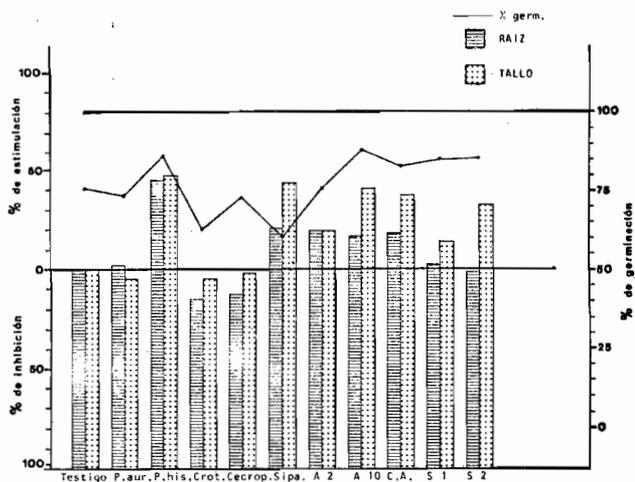


Fig. 3Fc: BIDENS PILLOSA. Germinación y crecimiento con las soluciones de suelo. 3a. colecta.

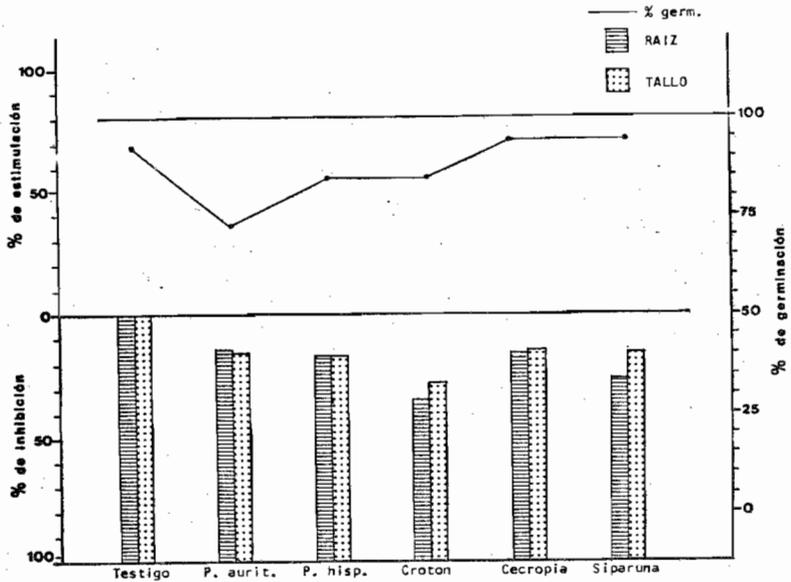


Fig. 4Fa. HELIOPARUS DONNELL-SMITHII. Germinación y crecimiento con las soluciones de suelo. 1a. colecta.

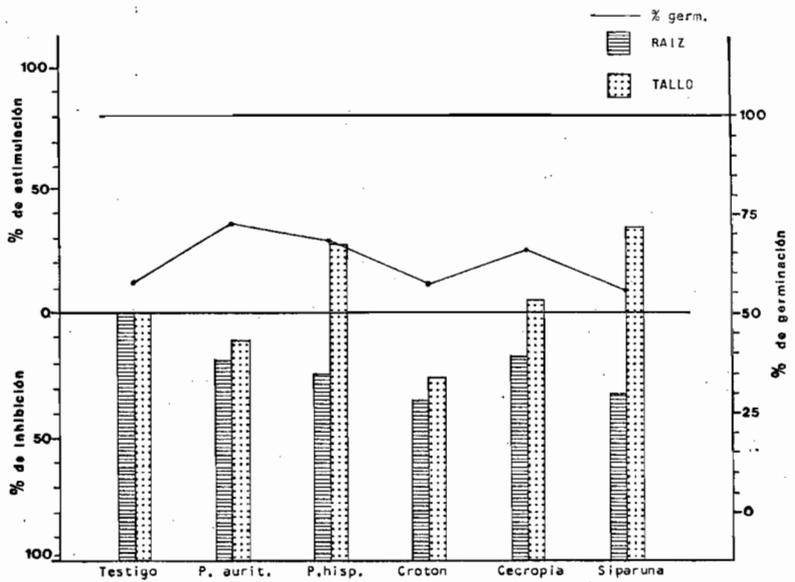


Fig. 4Fb. HELIOPARUS DONNELL-SMITHII. Germinación y crecimiento con las soluciones de suelo. 2a. colecta.

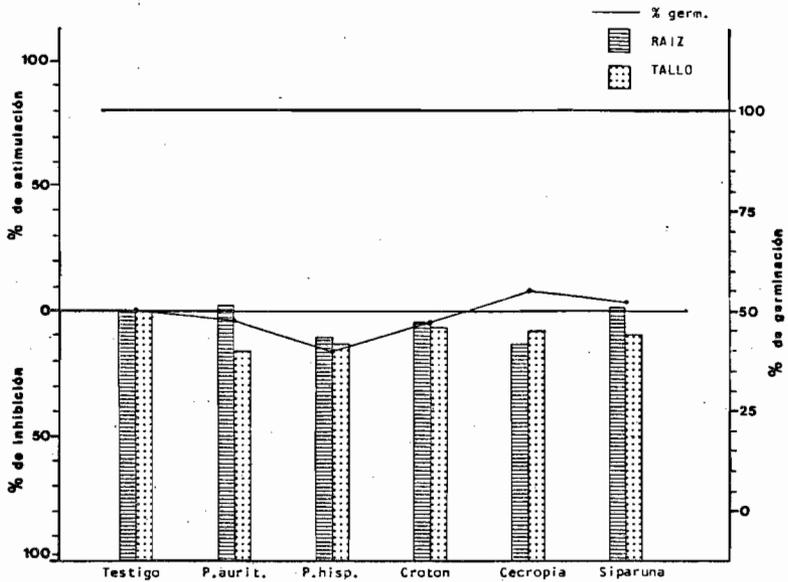


Fig.5Fa. OCHROMA LAGOPUS. Germinación y crecimiento con las soluciones de suelo. 2a. colecta.

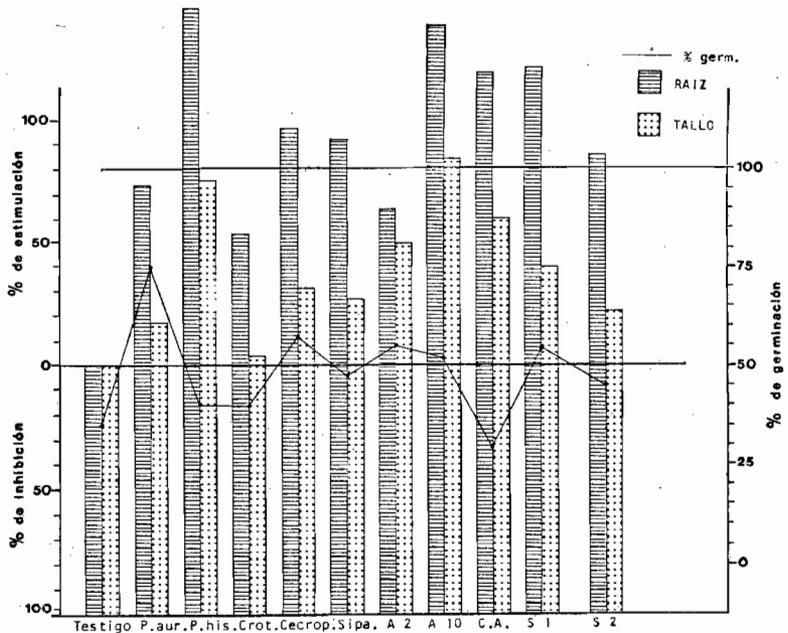


Fig. 5Fb. OCHROMA LAGOPUS. Germinación y crecimiento con las soluciones de suelo. 3a. colecta.

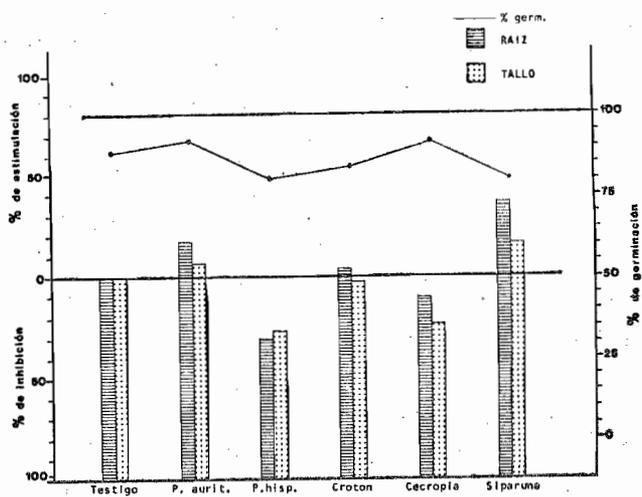


Fig. 6Fa. CRUSEA CALOCEPHALA. Germinación y crecimiento con las soluciones de suelo. 1a. colecta.

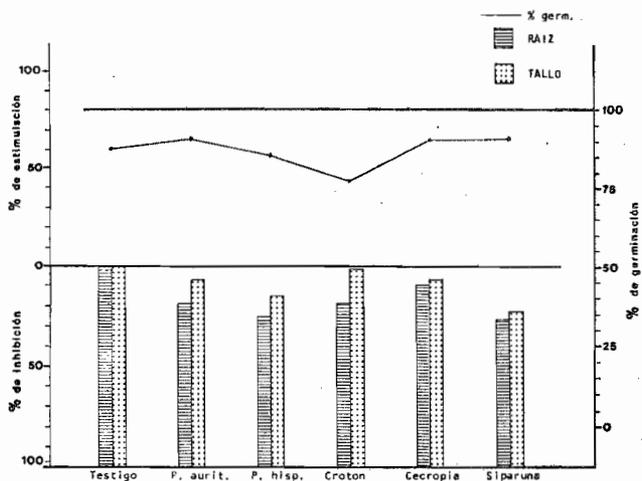


Fig. 6Fb. CRUSEA CALOCEPHALA. Germinación y crecimiento con las soluciones de suelo. 2a. colecta.

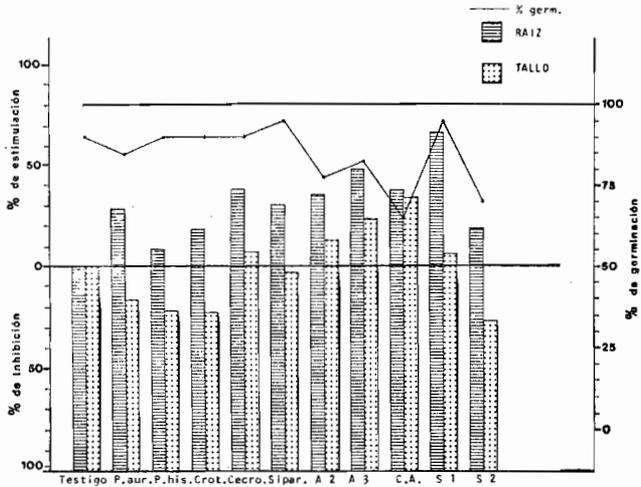


Fig. 6Fc. CRUSEA CALOCEPHALA. Germinación y crecimiento con las soluciones de suelo. 3a. colecta.

6) Pruebas con los extractos orgánicos.

a) Extractos orgánicos de las hojas de Piper hispidum y aceite esencial.

La tabla 1F y las figuras 1G a 5G muestran los resultados obtenidos en los bioensayos realizados con los extractos orgánicos de las hojas de esta especie sobre cinco de las especies secundarias utilizadas en estas pruebas. (Rovalo, 1973)

La clave de las letras usadas para denominar los extractos orgánicos es la siguiente:

EAH - Solución acuosa del extracto hexánico.

EAA - Solución acuosa del extracto acetánico.

EARHA - Solución del extracto acuoso de la serie de extracción hexano-acetona-agua.

EAAE - Solución acuosa del extracto de acetato de etilo.

EAM - Solución acuosa del extracto metanólico.

EAEAEM - Solución del extracto acuoso de la serie de extracción acetato de etilo-metanol-agua.

Las pruebas con el residuo del arrastre por vapor de las hojas de P. hispidum, después de haberle extraído el aceite

esencial, se hicieron solamente con la especie Mimosa pudica y con objeto de detectar si además del aceite esencial, el procedimiento del arrastre por vapor extraía a otro tipo de inhibidor. Todas las soluciones se utilizaron en concentraciones de presión osmótica muy baja para evitar el posible daño que ésta pudiera causar a semillas y plántulas. Los resultados se discuten a continuación.

Solanum dyphyllum. Mostró ser extraordinariamente sensible a los inhibidores extraídos por los solventes orgánicos y por el arrastre por vapor. El hexano, la acetona, el acetato de etilo y el aceite esencial provocaron una inhibición total. El extracto acuoso de la serie hexano-acetona-agua y el extracto metanólico, la inhiben tanto en germinación, como en crecimiento; y el extracto acuoso de la serie acetato de etilo-metanol-agua, inhibe a la raíz, pero al tallo lo estimula. La respuesta en la germinación es paralela al crecimiento.

Achyranthes aspera es mucho más inhibida tanto en germinación, como en crecimiento por la serie de extracción hexano-acetona-agua, siendo la acetona la menos perjudicial de los tres extractos. El acetato de etilo y el metanol la inhiben menos que la primera serie y el extracto acuoso de la segunda serie estimula significativamente la germinación y el crecimiento de raíz y tallo. El aceite esencial los inhibe totalmente.

Mimosa pudica. Resultó ser la especie más resistente a los extractos y aceite esencial de P. hispidum, aunque todos inhiben significativamente el crecimiento de su raíz y tallo, especialmente la solución acuosa del extracto hexánico, el aceite esencial al 1% y el residuo del arrastre por vapor al 33.33%. El tanto por ciento de germinación es disminuído por el extracto acetónico, el de acetato de etilo, el aceite esencial y el residuo del arrastre por vapor. El extracto metanólico y el extracto acuoso de la segunda serie de extracción son los que menos afectan, tanto a la germinación como el crecimiento de Mimosa. Sin embargo, este extracto acuoso no provoca en Mimosa la estimulación tan acentuada que ejerció sobre las otras especies usadas en esta serie de bioensayos (a excepción de Heliocarpus), sino que inhibe significativamente su crecimiento, especialmente el de la raíz, sin afectar la germinación.

Heliocarpus es también más afectado por los tres extractos de la primera serie que por los de la segunda serie. El extracto acuoso del residuo de la segunda serie como en el caso de Mimosa, tampoco causa una estimulación en Heliocarpus como sucede con Bidens, Achyranthes y Solanum, ni afecta tampoco la germinación, que sí se ve muy disminuída por todos los restantes tratamientos. El tallo de Heliocarpus se vió más afectado que la raíz en los tratamientos en que hubo cierto crecimiento. El

aceite esencial inhibe totalmente a Heliocarpus.

Bidens pilosa fue totalmente inhibida por el extracto hexánico, acetónico, del acetato de etilo y por el aceite esencial. Es inhibida en menor proporción por el extracto acuoso de la serie 1; más por el extracto metanólico, e inhibida en el crecimiento de la raíz por el extracto acuoso del residuo de la segunda serie, que en contraste a este efecto provoca una estimulación del orden de 60% en el crecimiento del tallo. (La mayor obtenida en estas pruebas).

En la tabla 1F y en las figuras 1H y 2H se muestran los resultados obtenidos en los bioensayos efectuados con el aceite esencial de esta especie.

Aunque el aceite esencial de Piper hispidum mostró ser muy inhibidor en todos los bioensayos, se comprobó que el residuo del arrastre por vapor también tiene una acción tóxica muy elevada, al igual que ciertos extractos orgánicos, por lo que se hace necesaria una técnica de extracción mucho más elaborada, que tienda a aislar con más precisión a los responsables de la inhibición.

Las evidencias experimentales demostraron, sin duda, la presencia de alelopáticos muy activos en las hojas de Piper hispidum. Todos los extractos orgánicos, el aceite esencial y el

residuo acuoso de éste, ejercieron en mayor o menor grado un efecto inhibitor sobre la germinación y el crecimiento de diversas semillas y plántulas usadas en las pruebas.

Aparentemente el principio activo más importante no es muy soluble en agua puesto que en términos generales fue extraído preferentemente por los solventes menos polares. Aunque conviene señalar que el agua del residuo del arrastre fue altamente inhibitora lo que indica que tenía alguna sustancia hidrosoluble capaz de ejercer tal efecto.

No sería remoto pensar que algunos terpenos o fenoles tan abundantes en los aceites esenciales de las plantas fueran parcialmente los responsables de la inhibición y que quizás su-men sus efectos produciendo los colapsos totales obtenidos en algunas de las pruebas.

Tabla 1 F

Germinación y crecimiento de varias especies con los extractos orgánicos y el aceite esencial de las hojas de Piper hispidum.

I. Mimosa pudica (extractos orgánicos, aceite esencial a 2 concentraciones y residuo del arrastre por vapor a 3 concentraciones)

Tratamiento	% de germ	long rafz	% long rafz	long tallo	% de long tallo	% de inhibic rafz	% de inhibic tallo
Testigo	95	21.63	100	11.40	100	0	0
EAH	97	1.33 ^{**}	7.2	2.97 ^{**}	26.00	92.80	74.00
EAA	73	4.45 ^{**}	20.5	4.10 ^{**}	36.00	79.5	64.00
EARHA	98	4.60 ^{**}	21.5	3.78 ^{**}	33.00	78.5	67.00
EAAE	81	4.27 ^{**}	19.5	2.82 ^{**}	24.5	80.5	75.50
EAM	96	13.87 ^{**}	64.0	6.63 ^{**}	58.5	36.0	41.50
EARAEM	98	12.01 ^{**}	55.5	8.22 ^{**}	72.0	44.5	28.00
1% Aceite esencial	61	2.08 ^{**}	9.7	0	0	90.3	100
5% Aceite esencial	88	2.2 ^{**}	10.32	1.66 ^{**}	14.5	89.68	85.5
Solución del residuo del arrastre por vapor 5.26%	100	6.68 ^{**}	30.88	3.92 ^{**}	34.38	69.12	65.62
Solución 11.11% residuo arrastre	84	3.42 ^{**}	15.81	1.85 ^{**}	16.22	84.19	83.78
Solución 33.33% residuo arrastre	0	0	0	0	0	100	100

II. Achyranthes aspera

Testigo	93	13.86	100	6.78	100	0	0
EAH	0	0	0	0	0	100	100
EAA	17	1.82 ^{**}	14.0	0	0	86.0	100
EARHA	0	0	0	0	0	100	100
EAAE	5	2.40 ^{**}	18.8	1.20 ^{**}	17.5	81.2	82.5
EAM	68	4.95 ^{**}	38.5	2.25 ^{**}	33.0	61.5	67.0
EARAEM	98	19.57 ^{**}	152.0	8.96 ^{**}	132.0	-52.0	-32.0
1% Aceite esencial	0	0	0	0	0	100	100

III. Bidens pilosa

Testigo	77	23.67	100	18.51	100	0	0
EAH	0	0	0	0	0	100	100
EAA	0	0	0	0	0	100	100
EARHA	6.00	7.00 ^{**}	29.5	5.83 ^{**}	31.5	70.5	68.5
EAAE	0	0	0	0	0	100	100
EAM	46	8.54 ^{**}	36.0	13.67 ^{**}	74.0	64.00	26.0
EARAEM	94	15.54 ^{**}	65.0	29.57 ^{**}	160.0	35.00	-60.0
Aceite esencial 1%	0	0	0	0	0	100	100

IV. Hellocarpus donnell-smithii

Tratamiento	% de germ	long rafz	% long rafz	long tallo	% de long tallo	% de inhibic rafz	% de inhibic tallo
Testigo	78	10,88	100	10,91	100	0	0
EAH	0	0	0	0	0	100	100
EAA	0	0	0	0	0	100	100
EARHA	13	2,38 ^{**}	22,0	0,30 ^{**}	0,3	78,0	99,7
EAAE	0	0	0	0	0	100	100
EAM	35	3,85 ^{**}	35,5	1,17 ^{**}	1,1	64,5	98,9
EARAEM	82	8,79 ^{**}	80,5	5,37 ^{**}	49,0	19,5	51,0
Acete esencial 1%	0	0	0	0	0	100	100

V. Solanum diphyllum

Testigo	77	8,10	100	5,83	100	0	0
EAH	0	0	0	0	0	100	100
EAA	0	0	0	0	0	100	100
EARHA	45	1,97 ^{**}	24,5	1,97 ^{**}	34,00	75,5	66,0
EAAE	0	0	0	0	0	100	100
EAM	54	3,35 ^{**}	45,5	1,55 ^{**}	26,5	54,5	73,5
EARAEM	79	6,45 ^{**}	79,5	7,27 ^{**}	124,0	20,5	- 24,0
Acete esencial 1%	0	0	0	0	0	100	100

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

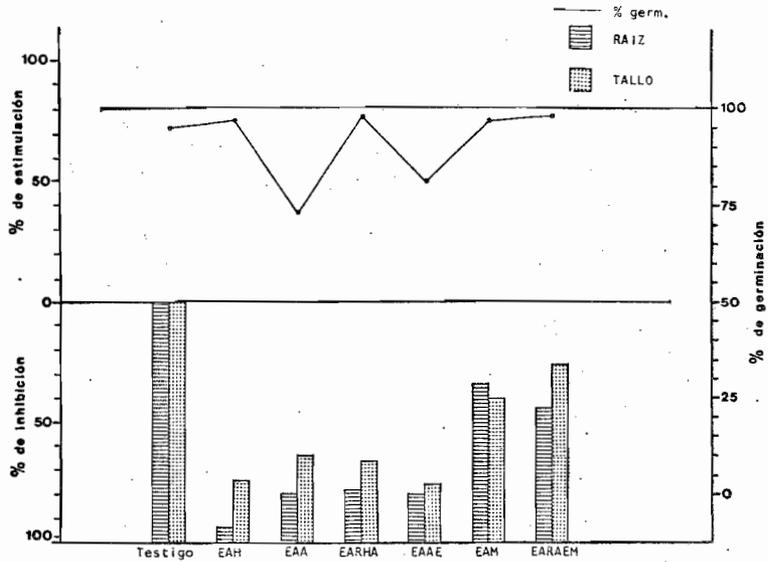


Fig. 1G. MIMOSA PUBICA. Germinación y crecimiento con los extractos orgánicos de las hojas de *Piper hispidum*.

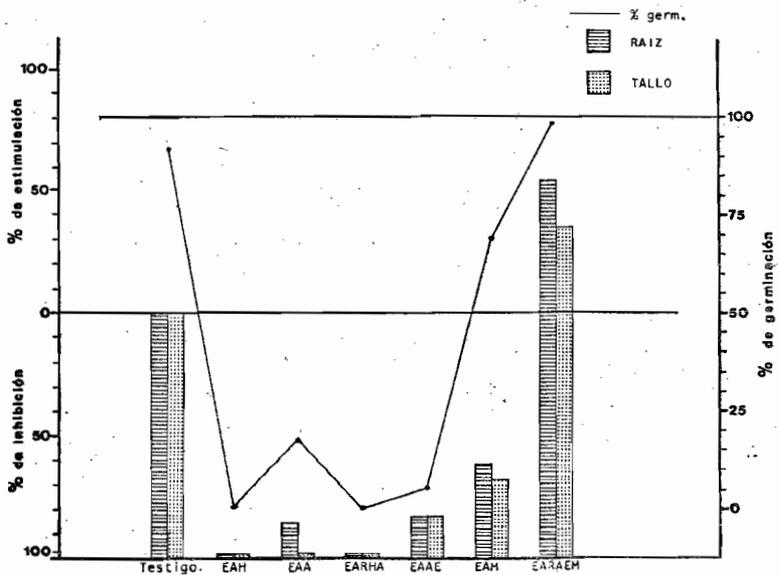


Fig. 2G. ACHYRANTHES ASPERA. Germinación y crecimiento con los extractos orgánicos de las hojas de *Piper hispidum*.

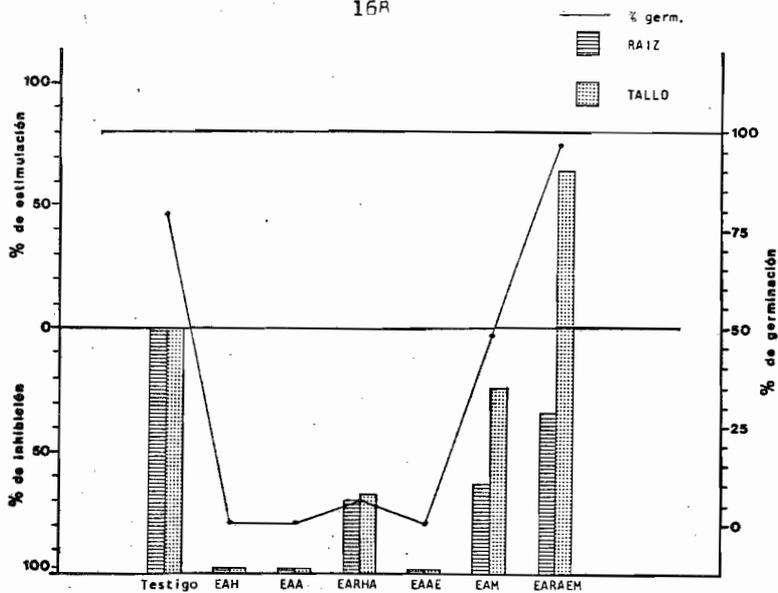


Fig. 3G. BIDENS PILOSA. Germinación y crecimiento con los extractos orgánicos de las hojas de *Piper hispidum*.

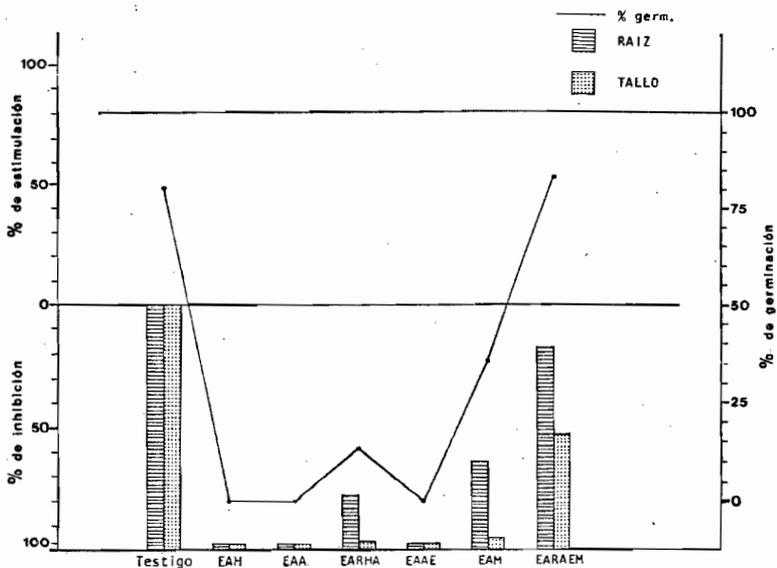


Fig. 4G. HELIOPARUS DONNEL-SMITHII. Germinación y crecimiento con los extractos orgánicos de las hojas de *Piper hispidum*.

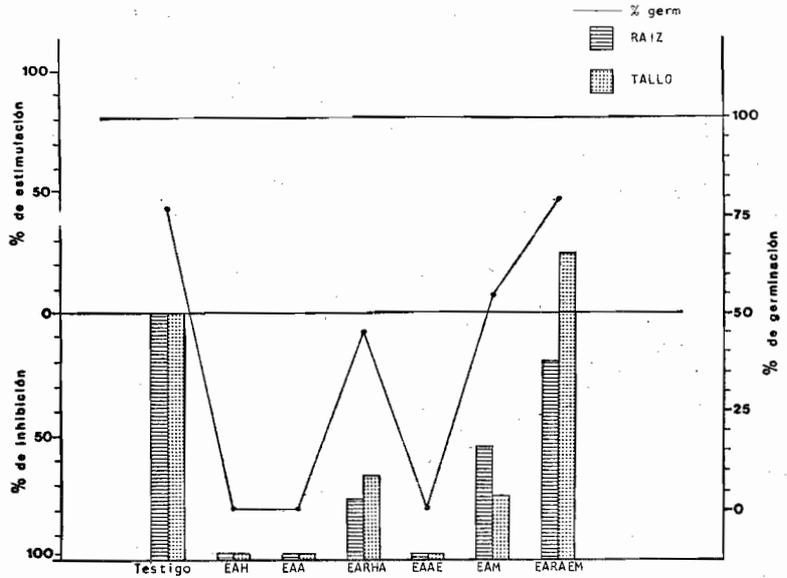


Fig. 5G. SOLANUM DIPHYLLUM. Germinación y crecimiento con los extractos orgánicos de las hojas de *Piper hispidum*.

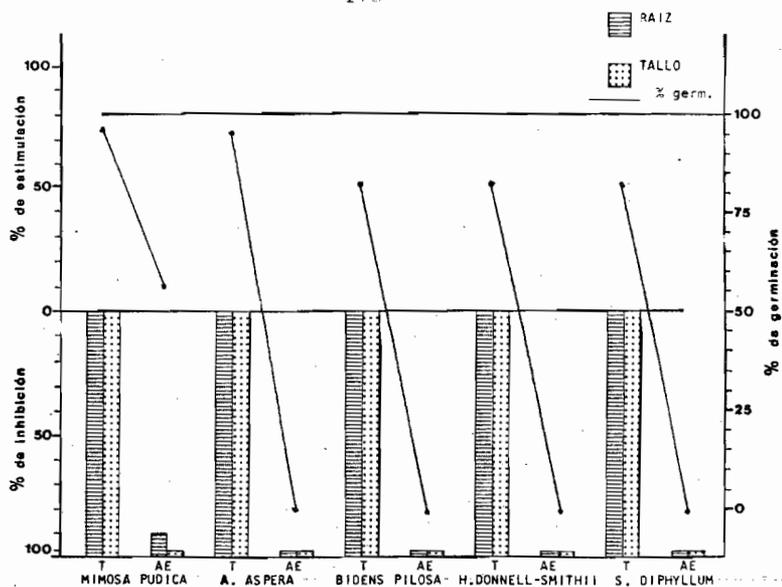


Fig. 1H. Germinación y crecimiento de varias especies con el aceite esencial de *Piper hispidum*.

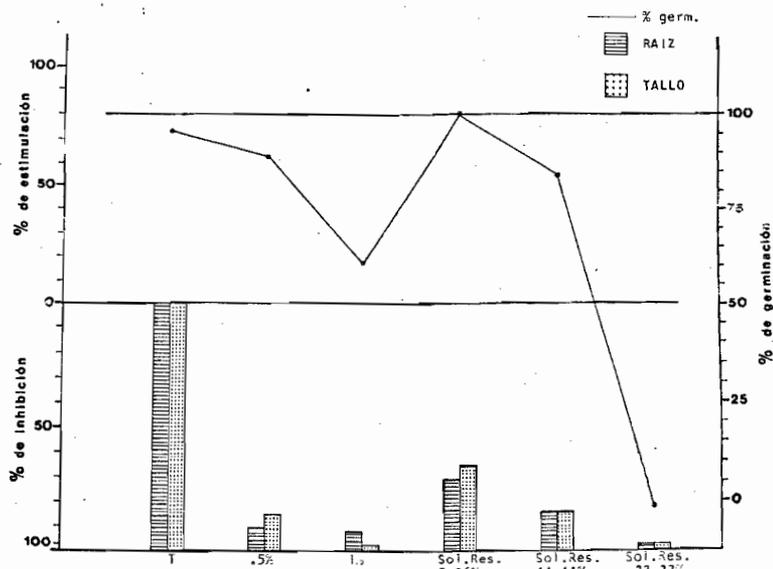


Fig. 2H. *MIMOSA PUDICA*. Germinación y crecimiento con el aceite esencial de *Piper hispidum* y el residuo acuoso de este.

b) Extractos orgánicos de las hojas de Piper auritum.

La Tabla 1Fa, muestra los resultados obtenidos en las pruebas realizadas con los extractos orgánicos de las hojas de esta especie, sobre cuatro de las especies secundarias utilizadas para los bioensayos.

La clave para denominar los extractos orgánicos es la siguiente:

EAH - Solución acuosa del extracto hexánico.

EAA - Solución acuosa del extracto acetónico.

EAM - Solución acuosa del extracto metanólico.

De los resultados obtenidos podemos comentar lo siguiente:

Mimosa pudica. El crecimiento de su raíz y tallo es estimulado significativamente por el extracto hexánico principalmente y por el extracto acetónico y en cambio es inhibido, también significativamente por el metanólico que afectó más al tallo que a la raíz.

Achyranthes aspera. Esta especie se muestra muy sensible a los extractos orgánicos de P. auritum y puede verse claramente por los resultados de la tabla que la sensibilidad aumenta proporcionalmente a la polaridad de los extractos.

T a b l a 1 F a

Porcentaje de inhibición del tallo y la raíz de cuatro especies con los extractos orgánicos de Piper auritum.

	Mimosa pudica		Achyranthes aspera		Bidens pilosa		Ochroma lagopus	
	raíz	tallo	raíz	tallo	raíz	tallo	raíz	tallo
EAH <i>P. auritum</i>	-53.33	-22.07	3.23	11.43	-20.98	-17.64	17.10	- 1.26
EAA "	-14.16	-15.58	57.90	45.72	-19.01	33.83	21.28	3.80
EAM "	17.77	54.68	90.72	97.68	66.67	77.95	-14.28	18.0

El extracto hexánico inhibe sólo al tallo; el extracto acetónico en cambio inhibe a raíz y tallo, pero especialmente a la raíz; y el metanólico provoca una intensa inhibición en ambos.

Bidens pilosa. Al igual que Mimosa, la raíz y el tallo de Bidens son estimulados significativamente por el extracto hexánico.

El acetónico provoca una respuesta disparada de ambos órganos, pues mientras estimula significativamente a la raíz, inhibe en mayor grado el crecimiento del tallo y finalmente el extracto metanólico inhibe significativamente el crecimiento de raíz y tallo de Bidens, siendo el extracto que mayor inhibición provoca en ésta y las dos especies anteriores.

Ochroma lagopus. En general podemos apreciar que sus respuestas de crecimiento frente a los 3 extractos son muy irregulares. El extracto hexánico afecta sólo a la raíz, inhibiéndola significativamente sin afectar al tallo. De la misma manera el extracto acetónico inhibe sólo a la raíz sin afectar al tallo. Mientras que el extracto metanólico afecta a ambos órganos, pero de una forma contraria, es decir, que estimula significativamente a la raíz e inhibe al tallo.

Estos resultados permiten apreciar con claridad la diversidad de respuestas obtenidas entre las plántulas de las cu

tro especies. Mientras que el extracto hexánico y el acetónico de Piper provocan una fuerte estimulación en Mimosa y Bidens, Achyranthes y Ochroma (sobre todo en la primera) la reacción es totalmente contraria. Versatilidad que no aparece en el extracto metanólico que es el que produce una inhibición más fuerte y homogénea en todas las especies. Será indispensable el aislamiento y purificación de los compuestos contenidos en los extractos para comprender claramente tanto la diversidad de respuestas como el tipo de las mismas.

- c) Pruebas de Germinación Simultánea y extractos orgánicos de las semillas de Siparuna nicaraquensis.

Germinación Simultánea.

Las semillas contienen y liberan al exterior diversos compuestos que pueden incluir cierto tipo de inhibidores de la germinación que sólo después de disolverse permiten que la semilla germine. Al quedar en libertad en el medio, estos inhibidores pueden tener un efecto biológico sobre otras semillas, incluyendo desde luego una acción inhibitoria. (Mc Calla y Haskins, 1964).

Con el objeto de encontrar una posible interacción entre las semillas de las especies utilizadas en las pruebas biológicas, se montó un sencillo experimento que consistió en la

siembra de estas especies, en combinaciones de dos en dos, dentro de una misma caja de Petri, sobre agar al 1%, de manera que germinaran simultáneamente en condiciones de máxima interacción en el espacio. Los resultados de estos experimentos demostraron que Siparuna nicaraguensis fue la única especie que produjo en las demás un efecto inhibitorio con la sola presencia de las semillas en el agar. Mimosa pudica que se ha reportado como productora del alelopático Mimosina, no tuvo ningún efecto perjudicial sobre la germinación o el crecimiento de las otras especies en estas pruebas de germinación simultánea, a pesar de que las semillas de Mimosa germinaron siempre antes que las otras y por lo tanto, pudieron permanecer en estado de plántula por más tiempo junto a las otras semillas sin germinar.

La única especie que no se inhibió junto a Siparuna fue Ochroma lagopus (ver tabla 1Ga), que incluso se estimuló durante la prueba, mostrando nuevamente su distinta forma de reaccionar frente a un tratamiento, en comparación con las otras especies. La tabla 1Ga contiene también los resultados obtenidos durante los bioensayos realizados con el extracto acuoso de estas semillas de Siparuna. En términos generales, las semillas solas, resultaron más tóxicas que el extracto, que se hizo hirviendo éstas en agua destilada. Seguramente el inhibidor es termolábil y su efecto disminuyó con la ebulli-

T a b l a 1 G a

Porcentaje de inhibición de la raíz y el tallo de seis especies con los 2 tratamientos de semillas de:

Siparuna nicaraguensis.

Tratamiento	Especie	Mimosa pudica		Achyranthes aspera		Bidens pilosa		Ochroma lagopus		Hellocarpus donnell-smithii		Crusea calcephala	
		raíz	tallo	raíz	tallo	raíz	tallo	raíz	tallo	raíz	tallo	raíz	tallo
Germinación Simultánea		69.55 ^{**}	22.77 [*]	100	100	78.35 ^{**}	58.73 ^{**}	-19.04 [*]	30.84 ^{**}	60.22 ^{**}	55.58 [*]	6.10	56.77 ^{**}
Extracto de las Semillas Hervidas		41.12 ^{**}	17.58 [*]	47.08 ^{**}	62.34 ^{**}	85.60 ^{**}	62.53 ^{**}	-31.90 ^{**}	-17.50 [*]	82.08 ^{**}	100	20.22 [*]	65.98 ^{**}

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

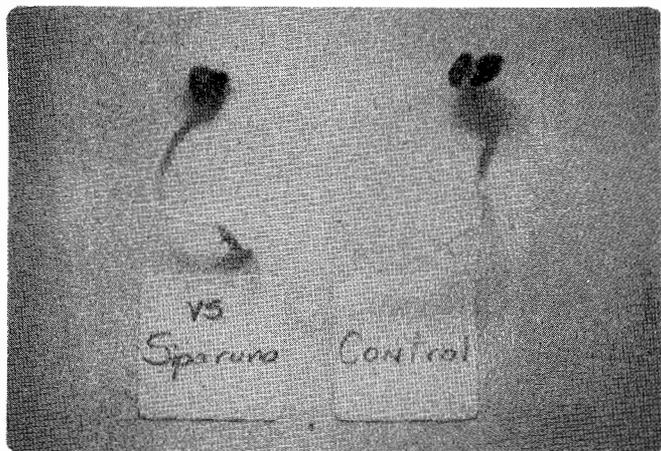


Foto 17. Mimosa pudica. Efecto de la germinación simultánea con S. nicaraquënsis sobre el crecimiento de la raíz, la cual se nota pigmentada y engrosada.

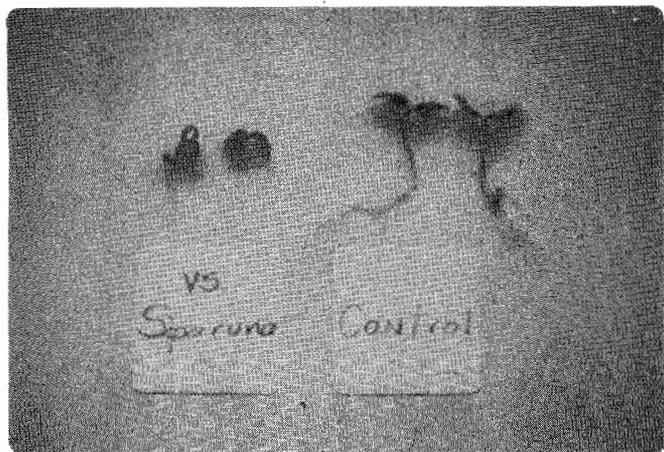


Foto 18. Achyranthes aspera. Severa inhibición del crecimiento provocada por la germinación simultánea con S. nicaraquënsis.

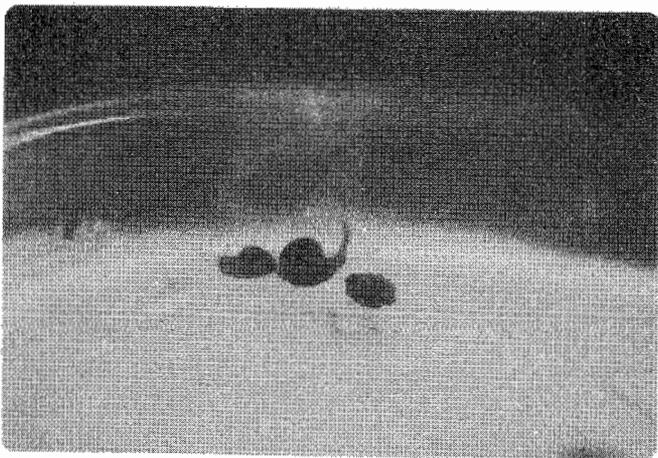


Foto 19. Achyranthes aspera. Efecto en el crecimiento y el tropismo de la raíz provocado por la germinación simultánea con S. nicaraquensis cuya semilla se observa a la derecha de la plántula.

ción en agua.

Además de la inhibición del crecimiento provocada por los alélopáticos contenidos en las semillas de Siparuna, se observó especialmente en Achyranthes aspera una inversión del tropismo de la raíz que se manifestó en numerosas plantas.

Es importante señalar que durante estos ensayos de germinación simultánea y también en pruebas posteriores, las semillas de Siparuna nunca germinaron, ni aún sometiénolas a diversos tratamientos conducentes a romper la latencia que poseen.

Los resultados de las pruebas de germinación simultánea con Siparuna condujeron a efectuar una serie de extracción con solventes de distinta polaridad, sobre las semillas secas de esta especie, con objeto de aislar el principio activo responsable de la inhibición.

En las fotos 17, 18 y 19 pueden observarse algunos de los efectos que las semillas de Siparuna provocaron sobre las plántulas en esta serie de bioensayos.

Extractos orgánicos de las semillas de Sipanura nica-
raguensis.

Los extractos orgánicos obtenidos de esta serie de extracción con hexano-acetato de etilo-metanol y agua fueron pro-

bados sobre 6 especies en una serie de bioensayos que llegó incluso a la obtención de 4 fracciones cromatográficas del extracto de acetato de etilo que también se probaron, pero sólo sobre Mimosa, debido a la escasa cantidad obtenida de ellas. Los resultados se pueden ver en la tabla 1Gb y gráficas 11a a 6I.

El significado de las iniciales utilizadas en cada tratamiento, es el que sigue:

EAH - Solución acuosa del extracto hexánico.

EAAE - Solución acuosa del extracto de acetato de etilo.

EAM - Solución acuosa del extracto metanólico.

EARO - Solución del extracto acuoso de la serie hexano-acetato de etilo-metanol-agua.

Mimosa pudica fue inhibida en el crecimiento de raíz y tallo en mayor proporción por el extracto de acetato de etilo, luego por el metanólico, el hexánico y por último por el extracto acuoso que sólo inhibe a la raíz sin alterar al tallo. Su germinación no fue afectada por ninguno de los tratamientos, ni se observó estimulación en ningún caso.

Las fracciones de la cromatografía en columna del extracto de acetato de etilo tampoco tuvieron efecto sobre el porcentaje de germinación de Mimosa, pero todas inhibieron significativamente el crecimiento de la raíz y del tallo, en especial

Germinación y crecimiento de varias especies con los extractos orgánicos de las semillas de Siparuna nicaraguensis

I. Mimosa pudica (extractos orgánicos y fracciones cromatográficas del extracto de acetato de etilo)

Tratamiento	% de germ	long raíz mm	% long raíz	long tallo mm	% de long tallo	% de inhibic raíz	% de inhibic tallo
Testigo	100	19.0	100	13.4	100	0	0
EAH	100	14.5*	76.31	11.1*	82.83	23.69	17.17
EAAE	95	9.73**	51.21	9.05**	67.53	48.79	32.47
EAM	100	12.05**	63.42	9.9*	73.88	36.58	26.12
EARO	100	15.05*	79.21	12.65	94.40	20.79	5.60
Fracción 1	96	12.16**	58.23	8.04**	60.72	41.77	39.28
Fracción 2	100	9.96**	47.70	7.24**	54.68	52.30	45.32
Fracción 3	100	13.66**	65.42	11.00*	83.08	34.58	16.92
Fracción 4	100	15.2*	72.79	8.88**	67.06	27.21	32.94

II. Achyranthes aspera

Testigo	70	9.5	100	6.35	100	0	0
EAH	30	6.0**	63.15	4.0**	82.99	36.85	37.01
EAAE	5	1**	10.52	1**	15.74	89.48	84.26
EAM	10	4.0**	42.10	3.5**	55.11	57.90	44.89
EARO	75	4.33**	45.57	5.6*	88.18	54.43	11.82

III. Bidens pilosa

Testigo	75	12.26	100	28.06	100	0	0
EAH	45	9.22	75.20	10.55	37.59	24.80	62.41
EAAE	5	4.0**	32.82	3.0	10.69	67.38	89.31
EAM	40	2.87**	23.40	8.62	30.71	76.60	69.29
EARO	70	9.71	79.20	30.35	108.16	20.80	- 8.16

IV. Helicarpus donnell-smithii

Testigo	55	14.81	100	8.18	100	0	0
EAH	45	8.88**	59.95	2.44**	29.82	40.05	70.18
EAAE	30	2.0**	13.50	0.66**	8.06	86.50	91.94
EAM	70	5.71**	38.55	3.14**	38.38	61.45	61.62
EARO	25	9.40**	63.47	7.0*	85.57	36.53	14.43

V. Ochroma lagopus

Testigo	55	8.54	100	12.63	100	0	0
EAH	55	14.18**	166.04	10.18*	80.60	-66.04	19.40
EAAE	45	6.22*	72.83	7.66**	80.64	27.17	39.36
EAM	55	9.54*	111.70	8.0**	63.34	-11.70	36.66
EARO	35	10.0*	117.09	15.57*	123.27	-17.09	-23.27

VI. Crusea calocephala

Testigo	95	21.52	100	15.68	100	0	0
EAH	70	19.71	91.58	9.28**	59.18	8.42	40.82
EAAE	45	10.77**	50.04	3.77**	24.04	49.96	75.96
EAM	50	3.7**	17.19	2.2**	14.03	82.81	85.97
EARO	65	12.3**	57.15	9.15**	58.35	42.85	41.65

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

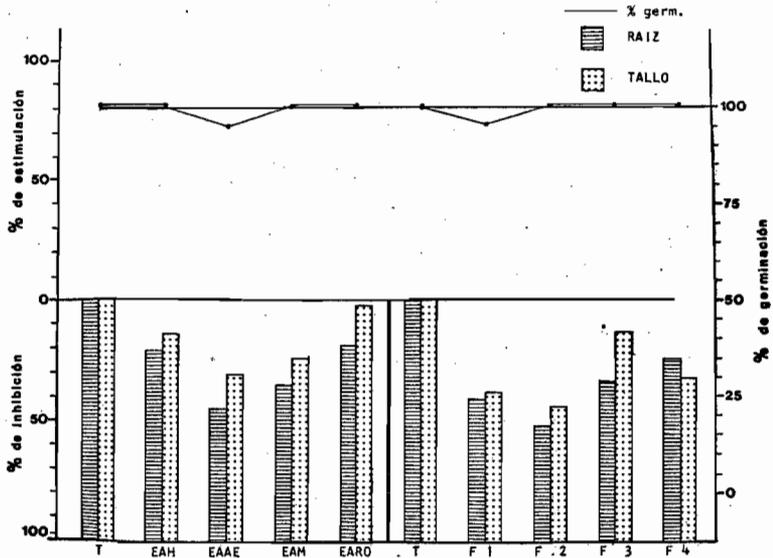


Fig. 11a. MIMOSA PUDICA. Germinación y crecimiento con los extractos orgánicos de los frutos de *Siparuna nicaraguensis*.

Fig. 11b. MIMOSA PUDICA. Germinación y crecimiento con las fracciones cromatográficas del EAE de los frutos de *S. nicaraguensis*.

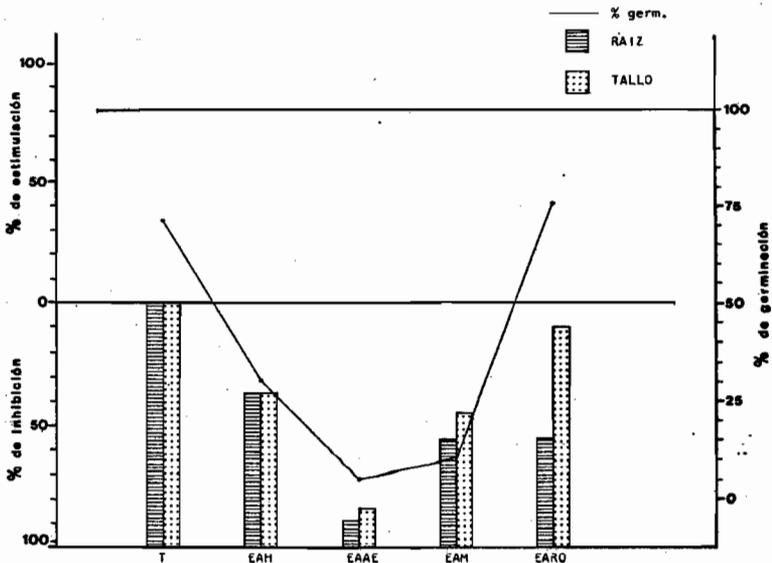


Fig. 21. ACHYRANTHES ASPERA. Germinación y crecimiento con los extractos orgánicos de los frutos de *Siparuna nicaraguensis*.

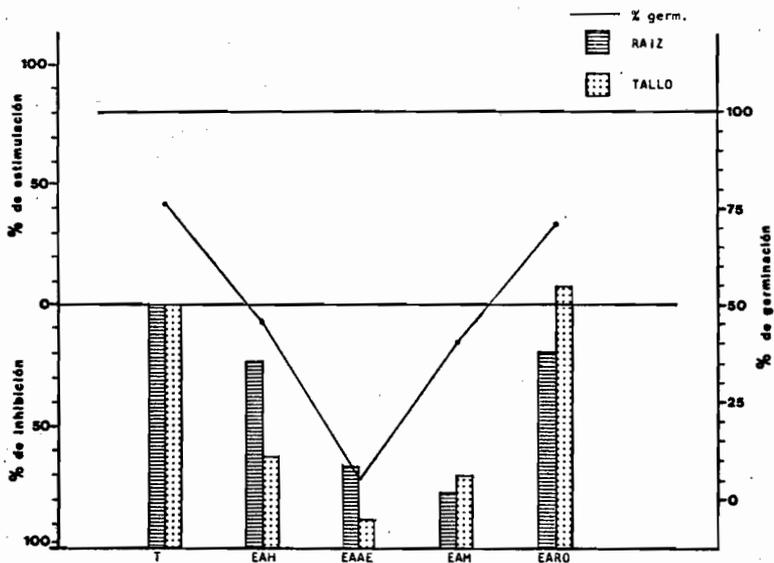


Fig. 31. BIDENS PILOSA. Germinación y crecimiento con los extractos orgánicos de los frutos de *Siparuna nicaraguensis*.

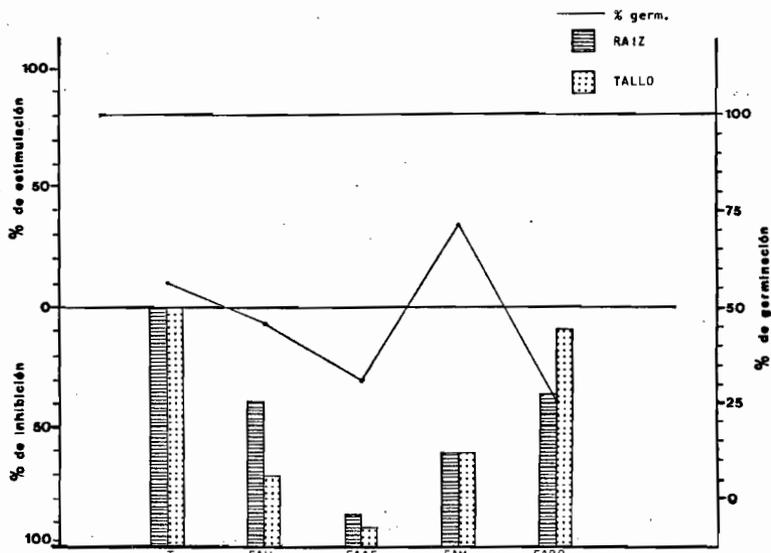


Fig. 41. HELIOPARPUS DONNELL-SMITHII. Germinación y crecimiento con los extractos orgánicos de los frutos de *Siparuna nicaraguensis*.

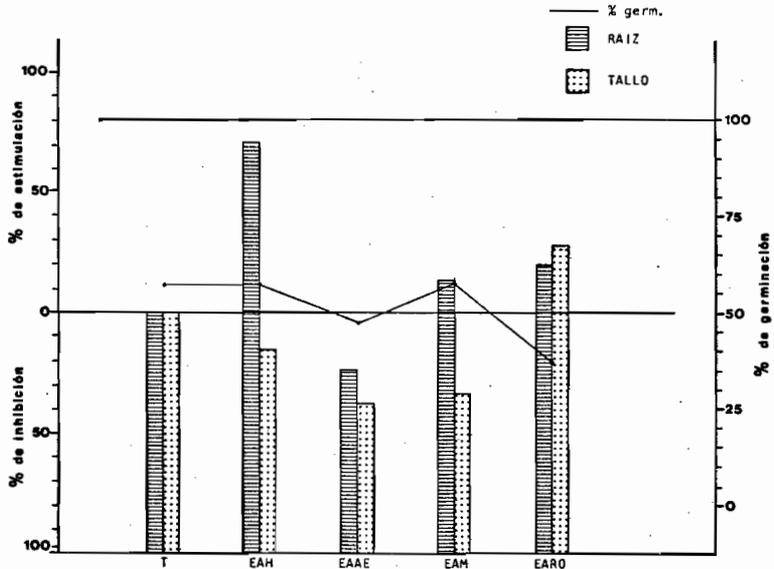


Fig. 5I. OCHROMA LAGOPUS. Germinación y crecimiento con los extractos orgánicos de los frutos de *Siparuna nicaraquensis*.

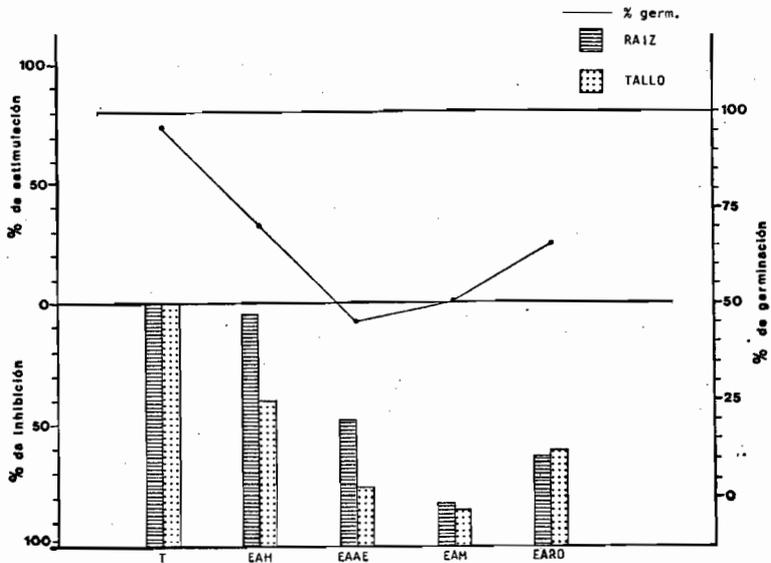


Fig. 6I. CRUSEA CALOCEPHALA. Germinación y crecimiento con los extractos orgánicos de los frutos de *Siparuna nicaraquensis*.

las fracciones 1 y 2. No ha podido aislarse todavía ningún compuesto puro.

Achyranthes aspera fue muy inhibida por el extracto de acetato de etilo, que afectó su germinación y su crecimiento, y después por el extracto metanólico, el hexánico y el acuoso. La raíz fue más afectada, en general, que el tallo. El extracto acuoso no afectó su germinación.

Lo mismo que en Achyranthes, la germinación y el crecimiento de Bidens fueron muy inhibidos por el extracto de acetato de etilo y el metanólico, después el hexánico y finalmente el acuoso que no afectó ni germinación, ni crecimiento del tallo.

Ochroma responde totalmente distinto a las anteriores especies. El extracto hexánico, el metanólico y el acuoso (sobre todo el hexánico) estimulan significativamente el crecimiento de la raíz. El acuoso también estimula al tallo. El extracto hexánico y metanólico, por el contrario, inhiben al tallo. El único extracto que inhibe ambos crecimientos es el de acetato de etilo. La germinación en cambio, sólo es disminuída por el extracto acuoso.

Heliocarpus es afectado de la siguiente manera: tanto la germinación, como el crecimiento son especialmente inhibidos por el acetato de etilo y luego por el hexánico; el extracto metanóli-

co inhibe por igual a la raíz y al tallo, pero no estimula la germinación; finalmente, el extracto acuoso es el que más afecta a la germinación, pero el que menos inhibe el crecimiento sobre todo del tallo.

La mayor inhibición del crecimiento de la raíz y el tallo de Crusea, lo provocó el extracto metanólico y la mayor inhibición de la germinación el extracto de acetato de etilo, que inhibe significativamente, pero en menor proporción que el metanólico, tanto a la raíz, como al tallo (especialmente a éste). El extracto acuoso también causa severa inhibición sobre todo del crecimiento y finalmente, el extracto hexánico disminuye la germinación y el crecimiento del tallo, sin inhibir a la raíz.

Las respuestas de Crusea y Ochroma, responden a un patrón de conducta distinto al de la mayor parte de las especies y son, asimismo, distintas entre sí.

Los resultados de estas pruebas con extractos orgánicos de las semillas de Siparuna, confirmaron que el inhibidor que contienen en abundancia, fue extraído especialmente por el acetato de etilo y el metanol y está contenido seguramente, aunque en menor cantidad, en los demás extractos. La cromatografía en columna no logró separar el compuesto y todas las fracciones exhibieron una acción alelopática marcada.

Las fracciones 1 y 2 que tuvieron mayor toxicidad sobre el creci

miento de las plántulas de Mimosa, produjeron además en ellas una fuerte clorosis que indica un bloqueo en la síntesis de pigmentos.

d) Pruebas de recuperación.

Durante los experimentos con los extractos orgánicos de las hojas de Piper auritum y la germinación simultánea con las semillas de Siparuna nicaraguensis se continuaron las pruebas con el objeto de ver si las semillas y plántulas dañadas especialmente por algunos tratamientos, podían recuperarse si se cambiaban de tratamiento o si se dejaban en el mismo en el que germinaron, comparando el incremento de crecimiento que presentarían durante su recuperación con el de otras semillas y plántulas conservadas en el testigo.

Las especies elegidas para las pruebas de recuperación fueron: Mimosa pudica, Achyranthes aspera, Bidens pilosa y Ochro-
ma lagopus. Se escogieron 5 plántulas de cada una de ellas de los siguientes tratamientos: testigo, extracto acuoso del acético de Piper auritum y germinación simultánea con Siparuna ni-
caraguensis. Las 4 especies mencionadas se habían sometido a dichos tratamientos y una vez terminado el experimento se procedió a escoger al azar 5 plántulas de cada tratamiento, incluyendo al testigo, se les midió la longitud de la radícula y del ta

llo (1a. etapa) y se colocaron de la siguiente forma:

Cinco plántulas del testigo nuevamente a otro testigo.
(Testigo a testigo).

Cinco plántulas del testigo a una caja con extracto ace
tónico de P. auritum. (Testigo a EAA).

Cinco plántulas del testigo a una caja con semillas de
S. nicaraguensis. (Testigo a GSS).

Cinco plántulas del tratamiento con el extracto acetó-
nico de P. auritum a una caja con el mismo extracto. (EAA a
EAA).

Cinco plántulas del tratamiento con el extracto acetó-
nico de P. auritum a una caja testigo. (EAA a Testigo).

Cinco plántulas germinadas simultáneamente con Siparu-
na nicaraguensis a una caja conteniendo nuevamente semillas de
S. nicaraguensis. (GSS a GSS).

Cinco plántulas germinadas simultáneamente con Siparu-
na nicaraguensis a una caja testigo. (GSS a Testigo).

Después de seis días se volvió a medir la longitud de
la radícula y la del tallo de las plántulas con el objeto de
calcular el incremento de crecimiento presentado durante el cam
bio de tratamiento o la continuación en el mismo (2a. etapa).
Los incrementos se calcularon en base al de las plántulas testi
go que permanecieron como testigo.

Los resultados obtenidos durante esta prueba (Tabla 1Gc), indican lo siguiente:

Mimosa pudica. El incremento de crecimiento que presentaron las plántulas testigo que permanecieron nuevamente en el mismo, se manifestó especialmente en la raíz, mientras que el tallo creció muy poco (.04 mm). Con las plántulas testigo que fueron cambiadas al extracto acetónico de P. auritum sucedió lo contrario, la raíz tuvo un incremento de sólo 57% mientras que el tallo se incrementó en un 325%. Con las plántulas testigo que fueron puestas a crecer junto a las semillas de Siparuna notamos que el incremento de la raíz es muy bajo, mientras que el del tallo fue de 100%. En estos tres ejemplos es claro que todas las plántulas testigo que se cambiaron al extracto acetónico de Piper o a la caja con semillas de Siparuna disminuyen el crecimiento de su raíz, mientras que el tallo o no se afecta (GSS), o se estimula (EAA). Las plántulas del Extracto acetónico de Piper dejadas en el mismo tratamiento (EAA a EAA), incrementan su raíz un 94% y su tallo un 375%, dicho extracto las estimuló significativamente en la primera etapa del experimento, lo cual indica por un lado que la raíz de Mimosa con el EAA de P. auritum se afecta poco, aún continuando en el mismo tratamiento, mientras que el tallo durante la segunda etapa crece notablemente más que el de las plántulas testigo, o sea que la estimulación ejercida por el EAA se sigue manifestando en la segun

da etapa sobre el tallo, pero no sobre la raíz.

Las plántulas cambiadas de EAA al testigo muestran en su raíz un incremento de sólo 43%, mientras que el tallo se incrementa desmesuradamente un 1000%.

Por lo tanto, en términos generales, las plántulas que continúan en el extracto de Piper crecen mejor que las del testigo, sobre todo por el incremento que presenta el tallo, mientras que las que son cambiadas al testigo muestran un crecimiento mucho más lento de la raíz y un sorprendente incremento en el tallo, como si este cambio favoreciera por alguna razón desconocida el incremento del tallo, perjudicando a la vez a la raíz.

Las plántulas obtenidas durante la germinación simultánea con Siparuna que permanecen en el mismo tratamiento, muestran en comparación con las testigo un pobre crecimiento de raíz y un incremento muy grande del tallo. Es fácil observar que los alelopáticos de las semillas de Siparuna inhiben fuertemente a la raíz de Mimosa, cuyo tallo entonces crece mucho más en una aparente compensación de la inhibición radical. La respuesta radicalmente opuesta la encontramos en las plántulas de Mimosa obtenidas en la germinación con Siparuna que se cambian al testigo; éstas muestran un aumento en el crecimiento de la raíz y un decremento de 100% en el tallo.

Es necesario tener en cuenta que Mimosa pudica resultó en la primera etapa de la prueba, estimulada por el EAA de Piper e inhibida por la germinación simultánea con Siparuna. Este primer contacto con los tratamientos durante la germinación pudiera ser decisivo para la respuesta de la plántula al ser cambiada de medio.

En las fotos 20 y 21 se pueden apreciar algunos de los efectos colaterales de los tratamientos, sobre las plántulas de Mimosa, especialmente el engrosamiento y acortamiento de la raíz, la proliferación de raicillas secundarias y la destrucción de clorofila manifestada por la clorosis de las hojas.

Achyranthes aspera. Por ser una especie muy afectada en la primera etapa por los tratamientos elegidos para esta prueba de recuperación (especialmente por las semillas de Siparuna) es probable que la respuesta de recuperación de la raíz de Achyranthes al ser cambiadas las plántulas de EAA y GSS al testigo, no pudiera alcanzar los niveles vigorosos de crecimiento que muestran las plántulas testigo. Sin embargo, estos dos cambios (EAA a Testigo y GSS a Testigo) son los que mostraron el mayor incremento de la raíz, después de las plántulas testigo, lo que pudiera indicar que los alelopáticos que las afectan no provocan daños irreversibles en los tejidos radicales. El tallo durante estos dos mismos cambios, se estimula especialmente en las plántulas

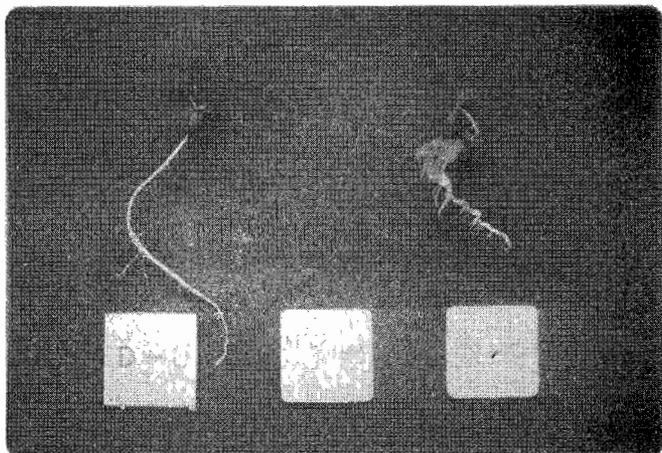


Foto 20. Mimosa pudica. Diferencia entre una plántula testigo conservada en el mismo y otra plántula testigo cambiada a una caja con semillas de S. nicaraquensis. Se notan especialmente la clorosis de las hojas y la abundancia de raicillas secundarias.

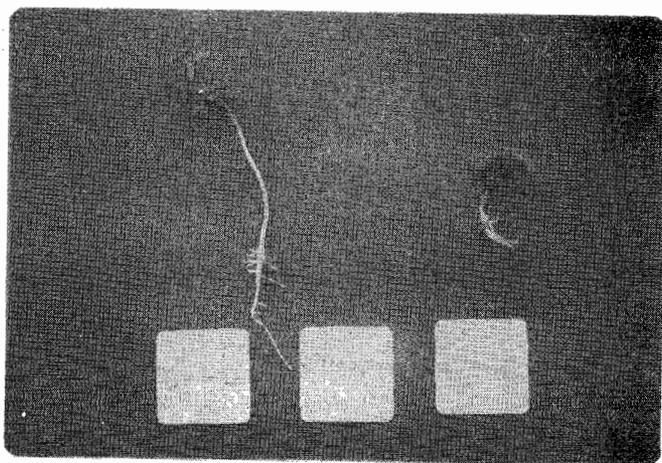


Foto 21. Mimosa pudica. Recuperación del crecimiento de una plantula germinada con S. nicaraquensis y pasada al testigo en comparación con otra germinada con S. nicaraquensis y conservada en el mismo tratamiento.

de EAA a Testigo que seguramente son las menos dañadas y por lo tanto las que están en posibilidades de una mayor recuperación; las plántulas de GSS a Testigo, incrementan su tallo ligeramente más que las del testigo. Las plántulas testigo cambiadas a EAA y GSS decrecen notablemente el crecimiento, tanto de la raíz como del tallo, lo que resulta bastante lógico por los resultados de la primera etapa. Las plántulas que permanecen en sus respectivos tratamientos (EAA a EAA y GSS a GSS) muestran en el incremento, especialmente de su raíz, los efectos dañinos que ocasionan ambos tratamientos sobre el crecimiento de esta especie, especialmente el ejercido por Siparuna.

En las fotos 22, 23 y 24 pueden verse los efectos ejercidos por algunos de los tratamientos y cambios de los mismos sobre el crecimiento de las plántulas de Achyranthes.

Bidens pilosa. La raíz de esta especie muestra una pronunciada reacción de recuperación durante los cambios de EAA y GSS al testigo. Aunque esta recuperación en muchos casos estuvo representada por el crecimiento de las raíces secundarias más que por la de la raíz principal que en ocasiones se quedó atrofiada. Sin embargo, el tallo sólo se ve incrementado en el cambio de EAA al testigo (390%), mientras que en el GSS al Testigo, muestra un pobre incremento (60%). Por el contrario, los cambios de las plántulas testigo a EAA y GSS resultan, en general muy perjudiciales

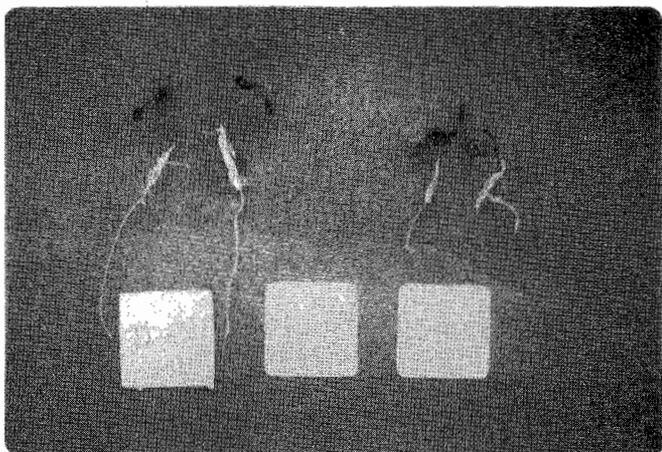


Foto 22. Achyranthes aspera. Diferencia de crecimiento entre dos plántulas testigo conservadas en el mismo y otras testigo cambiadas a una caja con semillas de S. nicaraquensis.

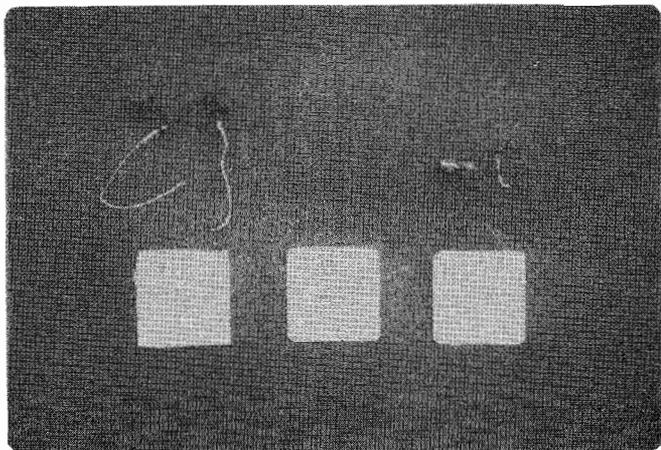


Foto 23. Achyranthes aspera. Recuperación del crecimiento de dos plántulas germinadas en extracto acetónico de P. auritum y cambiadas al testigo en comparación con las que se dejaron en el mismo tratamiento las cuales se ven cloróticas e inhibidas.

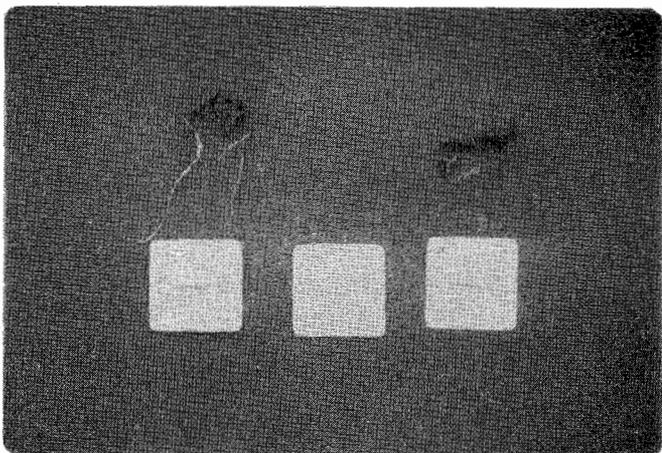


Foto 24. Achyranthes aspera. Recuperación del crecimiento de dos plántulas germinadas con S. nicaragüensis y cambiadas al testigo en comparación con dos germinadas con S. nicaragüensis y dejadas en el mismo tratamiento.

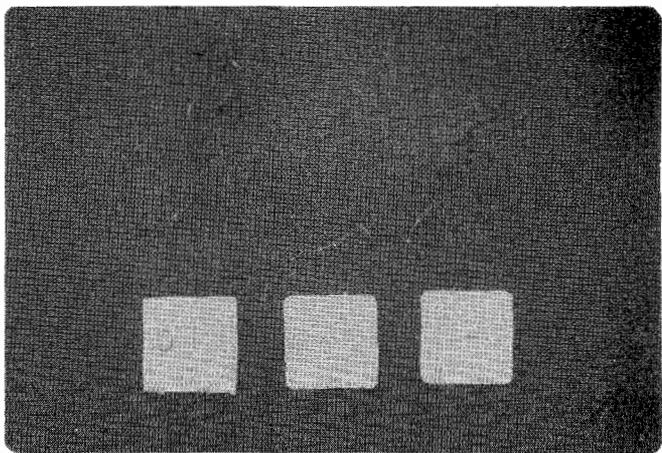


Foto 25. Bidens pilosa. Comparación del crecimiento entre una plántula testigo conservada en el mismo con otra testigo cambiada a una caja con semillas de S. nicaragüensis.

para Bidens lo que puede notarse en los reducidos incrementos que presentan las plántulas en estos tratamientos, a excepción del tallo en el cambio Testigo a GSS, que se ve muy estimulado. Recuérdese que esta especie también es muy afectada en la primera etapa por los dos tratamientos elegidos para la prueba de recuperación. Las plántulas de Bidens que permanecen en los tratamientos EAA y GSS muestran un incremento de la raíz bastante menor que el del testigo y un incremento del tallo mucho mayor. Esta respuesta disparada de ambos órganos, se ha mencionado frecuentemente a lo largo de los experimentos como "compensación" del crecimiento de alguno de los órganos por la inhibición sufrida por el otro, pero no se ha podido explicar la razón de la misma.

En las fotos 25 y 26 se pueden ver claramente los efectos de los tratamientos y los cambios, especialmente sobre el crecimiento de Bidens pilosa.

Ochroma lagopus. Los incrementos presentados por las plántulas de los tratamientos EAA a testigo y GSS al testigo parecen demostrar que Ochroma es capaz de un muy vigoroso crecimiento después del tratamiento con el EAA de Piper y el GSS de Siparuna. Sin embargo, es importante señalar que la raíz de Ochroma se ve especialmente afectada por Siparuna que provoca una irreversible detención del crecimiento de la raíz principal, la cual se

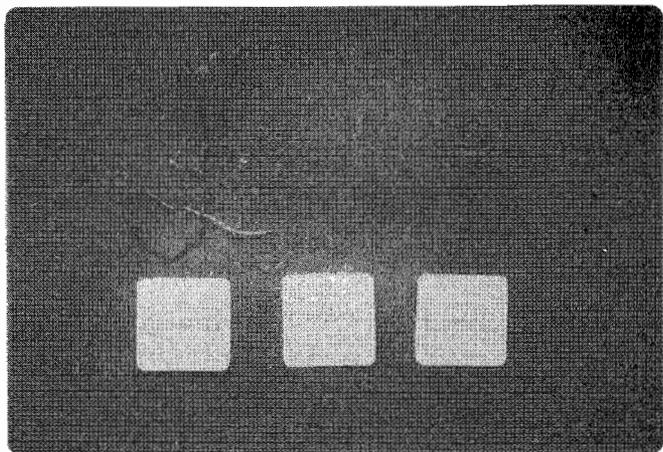


Foto 26. Bidens pilosa. Recuperación del crecimiento de una plántula germinada con semillas de S. nicara-guënsis y cambiada al testigo, en comparación con otra germinada con S. nicara-guënsis y dejada en el mismo tratamiento.

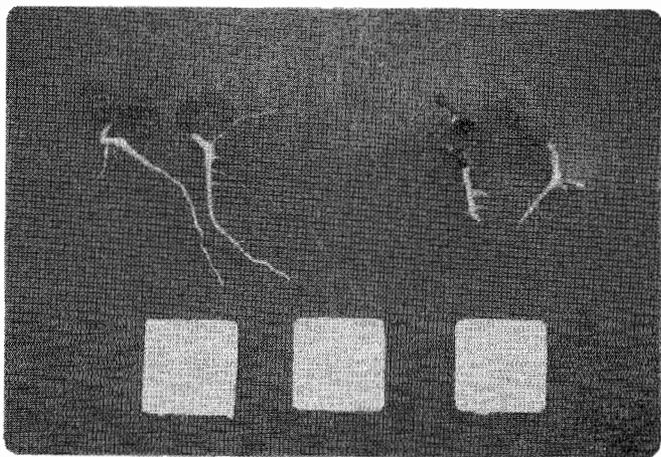


Foto 27. Ochroma lagopus. Diferencia de crecimiento entre dos plántulas testigo conservadas en el mismo y dos plántulas testigo cambiadas al extracto acetónico de hojas de P. auritum.

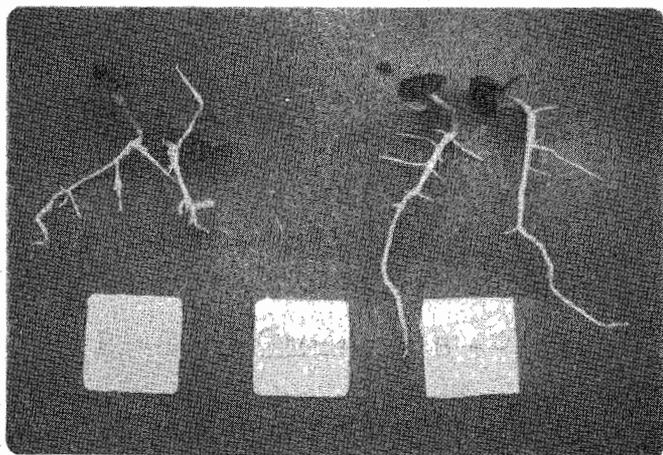


Foto 28. Ochroma lagopus. A la izquierda dos plántulas germinadas en extracto acetónico de P. auritum y conservadas en el mismo tratamiento. A la derecha dos plántulas germinadas en extracto acetónico de P. auritum y cambiadas al testigo.

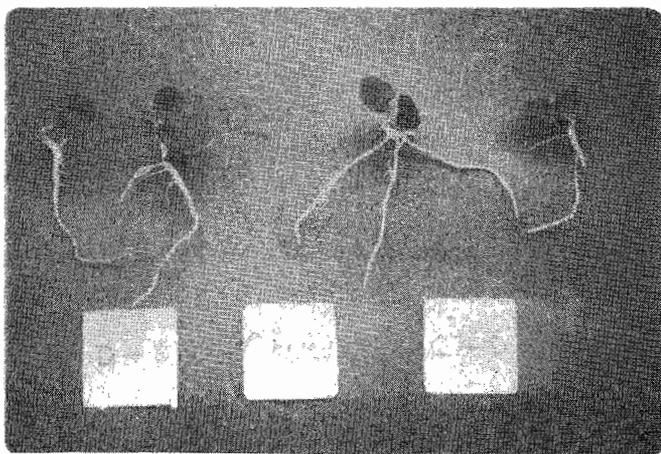


Foto 29. Ochroma lagopus. A la izquierda dos plántulas testigo conservadas en el mismo. A la derecha dos plántulas germinadas con semillas de S. nicaraquensis y cambiadas al testigo; notése que la raíz de estas últimas se queda atrofiada creciendo solamente las secundarias.

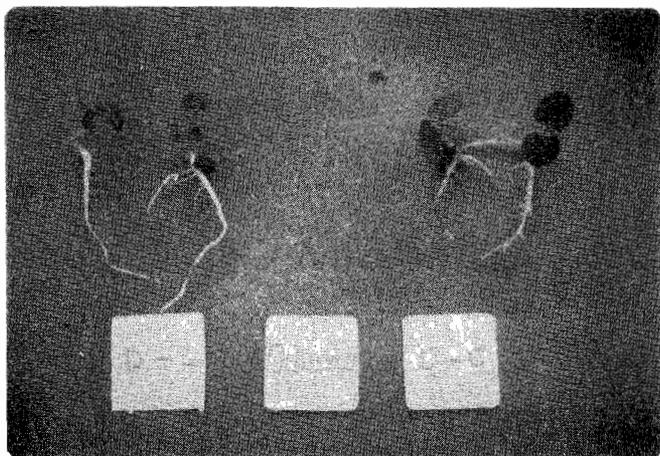


Foto 30. Ochroma lagopus. A la izquierda dos plántulas testigo conservadas en el mismo. A la derecha dos plántulas testigo cambiadas a una caja con semillas de S. nicaragüensis; notense el acortamiento de la raíz y el mayor número de cortas raicillas secundarias.

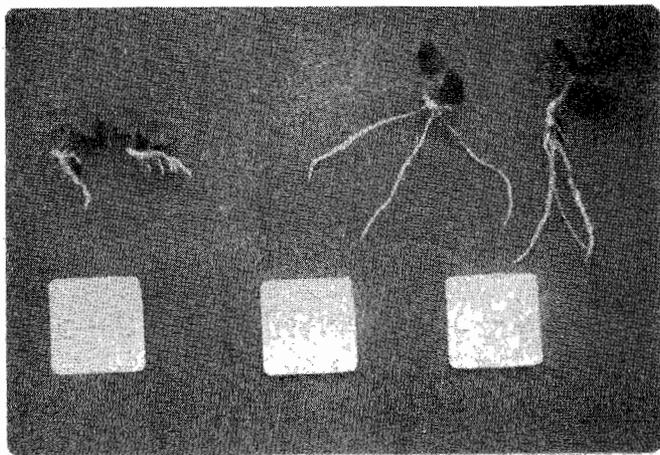


Foto 31. Ochroma lagopus. A la izquierda dos plántulas germinadas con semillas de S. nicaragüensis con raíces y raicillas cortas. A la derecha dos plántulas germinadas con S. nicaragüensis y cambiadas al testigo cuyas raíces principales se atrofiaron creciendo entonces las secundarias.

ve compensada por la aparición de raíces secundarias que la sustituyen, en el caso de las plántulas obtenidas por germinación simultánea con Siparuna y cambiadas al testigo; por lo tanto el incremento de crecimiento de la raíz está representado por las raíces secundarias y no por la principal que se queda atrofiada.

Todas las plántulas testigo cambiadas a EAA y GSS decrecen su crecimiento de tallo y raíz, lo que nos lleva a la conclusión de que Ochroma no se ve favorecida por estos dos tratamientos una vez que ha germinado en un medio inerte y es cambiada a EAA y GSS.

Las plántulas obtenidas en estos dos tratamientos y que permanecen en los mismos (EAA a EAA y GSS a GSS) muestran un incremento mayor que las testigo cambiadas a EAA y GSS. Esto comprueba que el tipo de medio en el cual las semillas germinan y el efecto del mismo sobre las recién nacidas plántulas es fundamental para las subsecuentes respuestas de las mismas a los cambios, en este caso químicos, del sustrato.

Las fotos 27 a 31 muestran los efectos sobre el crecimiento y la morfología, especialmente radicular de los tratamientos y los cambios en las plántulas de Ochroma lagopus.

Tabla 1Gc.

Incremento y porcentaje de incremento de la raíz y el tallo de cuatro especies durante la prueba de recuperación.

Tratamiento	Incremento en mm		% de Incremento	
	Raíz	Tallo	Raíz	Tallo
I <u>Mimosa pudica</u>				
Testigo a Testigo	.92	.04	100	100
Testigo a EAA	.53	.13	57.60	325.0
Testigo a GSS	.30	.04	32.60	100
EAA a EAA	.87	.15	94.56	375.0
EAA a Testigo	.40	.40	43.47	1000.0
GSS a GSS	.13	.28	14.13	700.0
GSS a Testigo	1.22	-.04	132.60	-100.0
II <u>Achyranthes aspera</u>				
Testigo a Testigo	1.98	.28	100	100
Testigo a EAA	.73	.10	36.86	35.71
Testigo a GSS	.38	.16	19.19	57.14
EAA a EAA	.50	.28	25.25	100
EAA a Testigo	1.15	.66	58.08	235.71
GSS a GSS	.20	.20	10.10	71.42
GSS a Testigo	1.32	.30	66.66	107.14

Tratamiento	Incremento en mm		% de Incremento	
	Rafz	Tallo	Rafz	Tallo
<u>III Bidens pilosa</u>				
Testigo a Testigo	2.60	.20	100	100
Testigo a EAA	.95	.03	36.53	15.0
Testigo a GSS	1.12	.40	43.07	200
EAA a EAA	1.62	.25	62.30	125
EAA a Testigo	2.93	.78	112.69	390
GSS a GSS	1.38	.30	53.07	150
GSS a Testigo	3.54	.12	136.15	60
<u>IV Ochroma lagopus</u>				
Testigo a Testigo	1.34	.12	100	100
Testigo a EAA	.50	.080	37.31	66.66
Testigo a GSS	.61	.060	45.52	50.00
EAA a EAA	1.28	.05	95.52	41.66
EAA a Testigo	2.96	.24	220.89	200
GSS a GSS	1.10	.08	82.08	66.66
GSS a Testigo	2.42	.22	180.59	183.33

e) Extractos orgánicos de las hojas de Croton
pyramidalis.

La tabla 1Ha y las figuras 1J a 6J muestran los resultados de las pruebas efectuadas con diversos extractos orgánicos de las hojas de Croton pyramidalis. Para los bioensayos, se utilizaron las soluciones acuosas de estos extractos con un estricto control de su presión osmótica. Las claves de las abreviaturas utilizadas para denominar los tratamientos son las siguientes:

EAH - Solución acuosa del extracto hexánico.

EAM - Solución acuosa del extracto metanólico.

EAA - Solución acuosa del extracto acetónico.

EACl - Solución acuosa del extracto clorofórmico.

EARCl - Solución acuosa del residuo del extracto cloro
fórmico.

EABz - Solución acuosa del extracto bencénico.

Mimosa pudica con el extracto hexánico, disminuye su porcentaje de germinación, pero no su crecimiento. Con el extracto metanólico disminuye su crecimiento, pero su germinación casi no se afecta. Con el extracto acetónico se afecta un poco la germinación y el crecimiento de la raíz, pero el tallo no se afecta. El extracto clorofórmico y el residuo de éste, parecen no influir

en la germinación, pero sí inhiben significativamente el crecimiento de raíz y tallo (en mayor proporción el extracto clorofórmico, que el residuo). El extracto bencénico es el que ejerce una inhibición mucho más acentuada que todos los demás tratamientos, tanto en germinación, como en crecimiento.

Achyranthes aspera es inhibida en forma semejante por los extractos hexánico y acetónico y en menor proporción por el extracto clorofórmico, el residuo de éste y por el extracto metanólico, respectivamente. El extracto bencénico inhibe totalmente a esta especie. La germinación de Achyranthes está muy disminuída por el extracto clorofórmico, su residuo y por el bencénico.

Bidens pilosa resulta completamente inhibida en crecimiento y germinación por el extracto bencénico, el clorofórmico y el metanólico. Les siguen en inhibición, el residuo del extracto clorofórmico, el extracto acetónico y finalmente, el hexánico.

En Crusea calocephala nuevamente el extracto bencénico es el que ejerce mayor inhibición, tanto en el crecimiento de la raíz y el tallo, como en el porcentaje de germinación. Lo sigue muy de cerca el extracto clorofórmico y luego el residuo de éste y el extracto hexánico.

Heliocarpus muestra una respuesta totalmente distinta con cada uno de los tratamientos: el extracto hexánico estimula su germi

nación y el crecimiento de la raíz, pero inhibe mucho al tallo. El clorofórmico inhibe tanto la germinación, como el crecimiento de tallo y raíz. El residuo del extracto clorofórmico inhibe mucho más el crecimiento de la raíz que el del tallo y el extracto bencénico inhibe totalmente a Heliocarpus.

Ochroma vuelve a comportarse como especie "sui generis" respecto a las respuestas de las otras especies. La germinación de Ochroma es afectada claramente, sólo por el extracto bencénico que además inhibe totalmente el crecimiento del tallo, causando notable disminución a la raíz. Ochroma es inhibida en mucho menor grado por el extracto clorofórmico. El residuo de éste inhibe sólo a la raíz sin afectar al tallo. El extracto metanólico inhibe significativamente a la raíz, pero estimula al tallo, y los extractos acetónico y hexánico estimulan ambos crecimientos significativamente. El extracto acetónico también aumenta el porcentaje de germinación.

Una breve consideración sobre estos resultados nos lleva a la conclusión general de que las hojas de Croton pyramidalis contienen alelopáticos muy activos, afines a los solventes orgánicos de menos polaridad, especialmente al benceno que extrajo la mayor cantidad de estos alelopáticos o por lo menos, a los más activos.

Tabla 1 Ha

Germinación y crecimiento de varias especies con los extractos orgánicos de las hojas de Croton pyramidalis

I. Mimosa pudica

Tratamiento	% de germ	long rafz	% long rafz	long tallo	% de long tallo	% de Inhibic rafz	% de inhibic tallo
Testigo	94.66	21.63	100	11.40	100	0	0
EAH	85.33	21.73	100.46	12.09	106.05	- .46	- 6.05
EAM	90.66	6.16**	28.47	9.07**	79.56	71.53	20.44
EAA	88	18.30	84.60	11.10	97.36	15.40	2.64
Testigo	100	19.0	100	13.40	100	0	0
EACl	95	7.0**	36.84	5.52**	41.19	63.16	58.81
EARCl	95	11.10**	58.42	10.57**	78.88	44.58	21.12
Testigo	100	19.70	100	9.40	100	0	0
EABz	60	2.16**	10.96	1.08**	11.48	89.04	88.52

II. Achyranthes aspera

Testigo	93	13.86	100	6.78	100	0	0
EAH	90	5.07**	36.58	2.65**	39.08	63.42	60.92
EAM	96	7.55**	54.47	5.48**	80.82	45.53	19.18
EAA	82	4.89**	35.28	2.70**	39.82	64.72	60.18
Testigo	70	9.50	100	6.35	100	0	0
EACl	15	3.66**	38.52	4.0**	62.99	61.48	37.01
EARO	60	4.25**	44.75	6.0	94.48	55.27	5.52
Testigo	80	11.81	100	5.31	100	0	0
EABz	0	0	0	0	0	100	100

III. Bidens pilosa

Tratamiento	% de germ	long rafz	% long rafz	long tallo	% de long tallo	% de inhibic rafz	% de inhibic tallo
Testigo	77	23.67	100	18.51	100	0	0
EAH	55	11.90 ^{**}	50.27	10.60 ^{**}	57.26	49.73	42.74
EAM	0	0	0	0	0	100	100
EAA	74	10.21 ^{**}	43.13	11.78 ^{**}	63.64	56.87	36.36
Testigo	75	12.26	100	28.06	100	0	0
EACI	0	0	0	0	0	100	100
EARCI	80	3.75 ^{**}	30.58	18.0 ^{**}	64.14	69.42	35.86
Testigo	85	18.47	100	24.23	100	0	0
EABz	0	0	0	0	0	100	100

IV. Helicarpus donnell-smithii

Testigo	78	10.88	100	10.91	100	0	0
EAH	85	12.45 ^{**}	114.43	5.89 ^{**}	53.98	-14.43	46.02
Testigo	55	14.81	100	8.18	100	0	0
EACI	60	2.75 ^{**}	18.56	1.5 ^{**}	18.33	81.44	81.67
EARCI	65	5.76 ^{**}	38.89	6.69 ^{**}	81.78	61.11	18.22
Testigo	40	8.37	100	4.5	100	0	0
EABz	0	0	0	0	0	100	100

V. Ochroma lagopus

Testigo	57	7.61	100	7.19	100	0	0
EAH	58	11.36 ^{**}	149.27	10.75 ^{**}	149.51	-49.27	-49.51
EAM	60	4.63 ^{**}	60.84	8.20 [*]	114.04	39.16	-14.04
EAA	68	10.79 ^{**}	141.78	10.23 ^{**}	142.28	-41.78	-42.28
Testigo	55	8.54	100	12.63	100	0	0
EACI	60	6.75 [*]	79.03	10.33 [*]	81.78	20.97	18.22
EARCI	55	6.63 [*]	77.63	13.72	108.63	22.37	-8.63
Testigo	50	12.60	100	8.40	100	0	0
EABz	35	2.57 ^{**}	20.39	0 [*]	0	79.61	100

VI. Crusea calocephala

Tabla 1 Ha, hoja 3

Tratamiento	% de germ	long raíz	% long raíz	long tallo	% de long tallo	% de inhibic raíz	% de inhibic tallo
Testigo	51	18.58	100	10.82	100	0	0
EAH	54	10.96**	58.98	7.14**	65.98	41.92	34.02
Testigo	95	21.52	100	15.68	100	0	0
EACI	20	2.25**	10.45	1.25**	7.97	89.55	92.03
EARC	75	3.33**	15.47	7.86**	50.12	84.53	49.88
Testigo	100	18.55	100	12.05	100	0	0
EABz	5	2.00	10.78	0	0	89.22	100

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

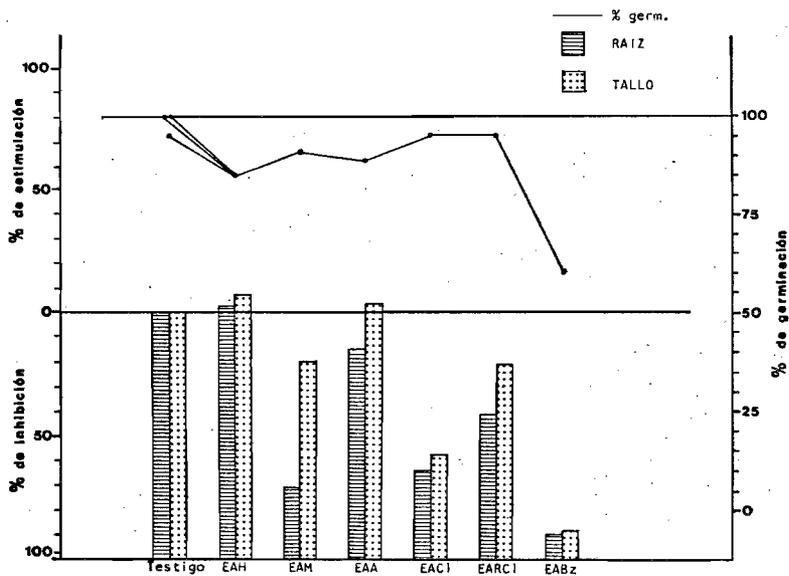


Fig. 1J. MIMOSA PUOICA. Germinación y crecimiento con los extractos orgánicos de las hojas de *Croton pyramidalis*.

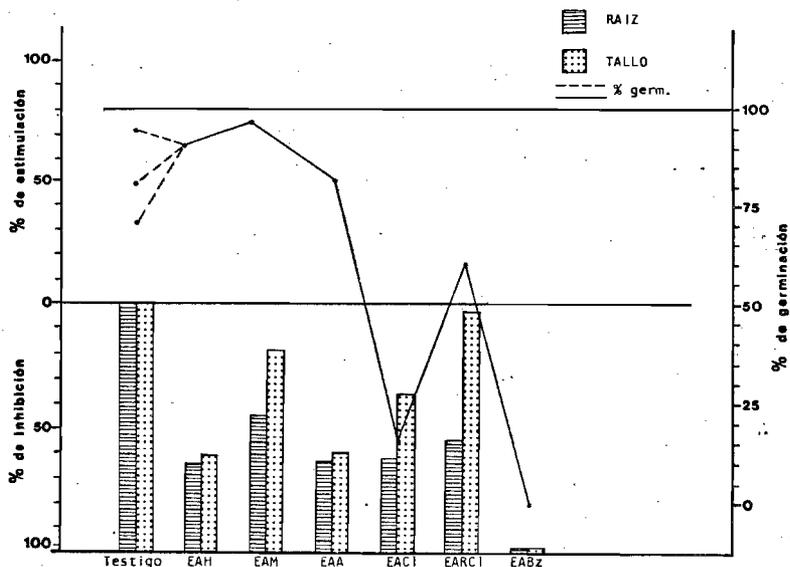


Fig. 2J. ACHYRANTHES ASPERA. Germinación y crecimiento con los extractos orgánicos de las hojas de *Croton pyramidalis*.

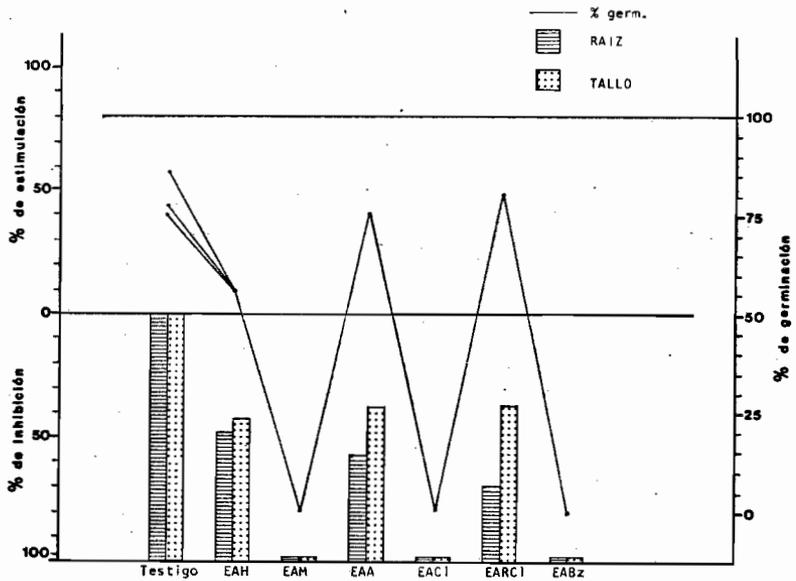


Fig. 3 J. BIDENS PILOSA. Germinación y crecimiento con los extractos orgánicos de las hojas de *Croton pyramidalis*.

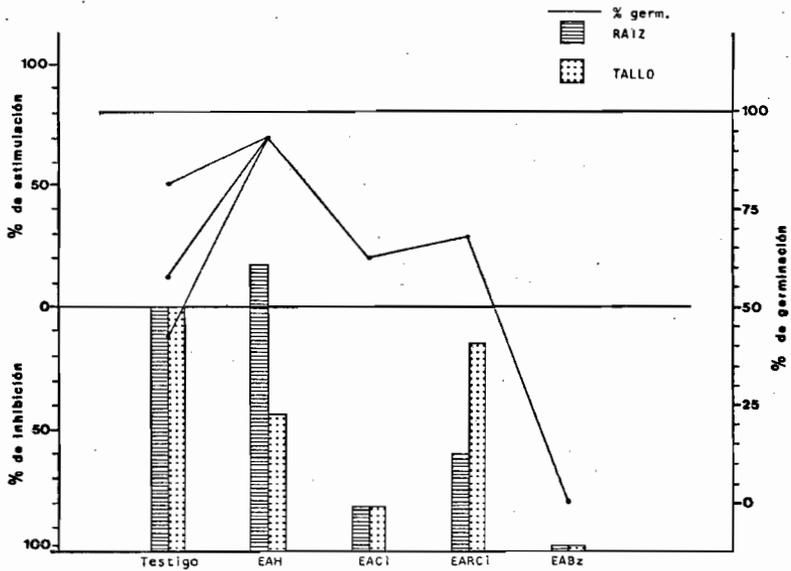


Fig. 4 J. HELIOPARPUS DONNELL-SMITHII. Germinación y crecimiento con los extractos orgánicos de las hojas de *Croton pyramidalis*.

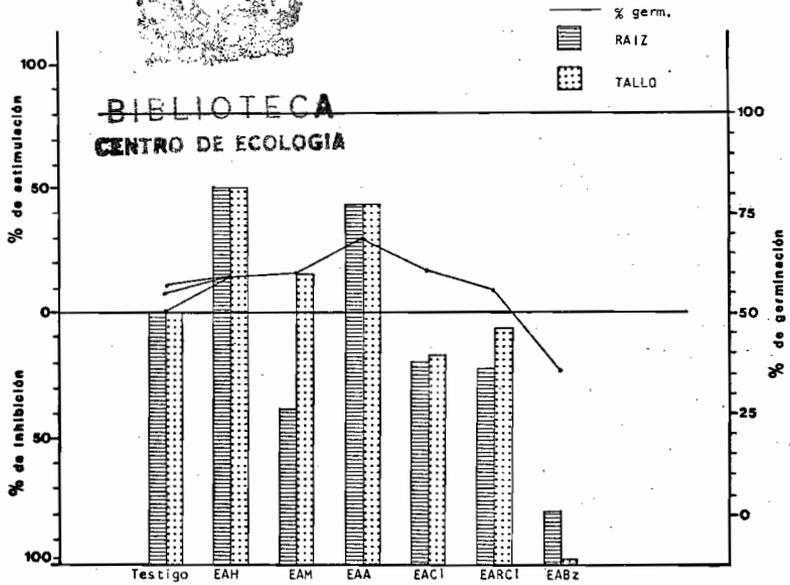


Fig. 5J. OCHROMA LAGOPUS. Germinación y crecimiento con los extractos orgánicos de las hojas de *Croton pyramidalis*.

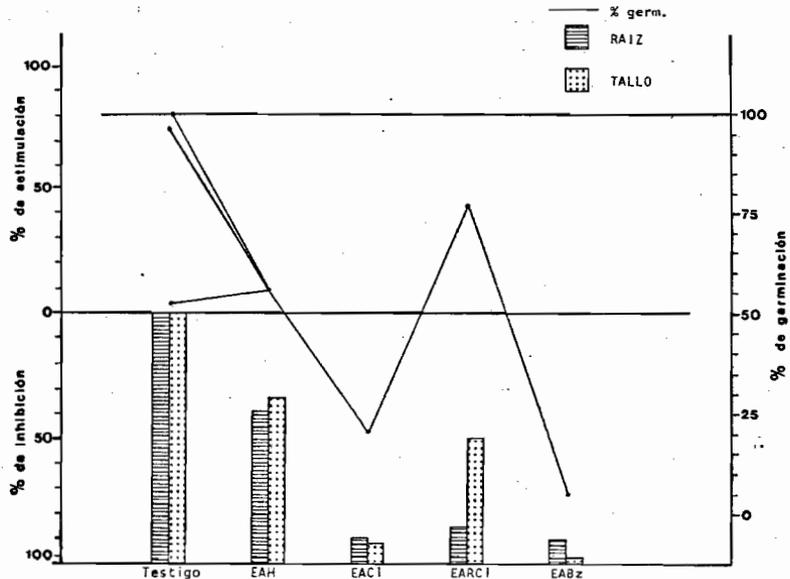
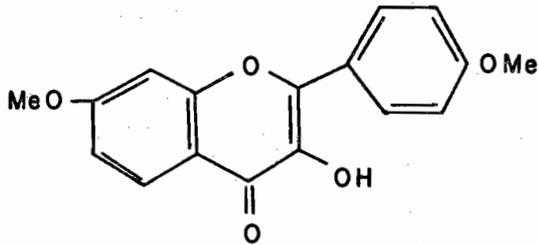
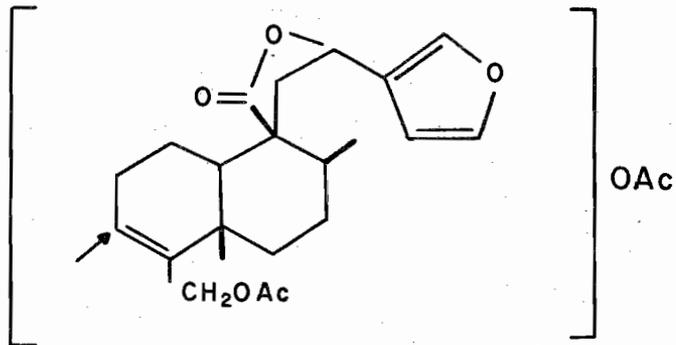


Fig. 6J. CRUSEA CALOCEPHALA. Germinación y crecimiento con los extractos orgánicos de las hojas de *Croton pyramidalis*.

FIGURA 7J



Flavona aislada del extracto bencénico de Croton pyramidalis.
(Punto de fusión 252-255 °C.)



Diterpeno del tipo Clerodano, aislado del extracto bencénico
de Croton pyramidalis. (Punto de fusión 143-145 °C.)

- f) Fracciones cromatográficas del extracto bencénico de las hojas de Croton pyramidalis, la flavona y el diterpeno del mismo.

En vista de que los resultados con los extractos orgánicos demostraron que el extracto bencénico había tenido una acción inhibitoria fuerte y homogénea sobre todas las especies, se procedió a realizar un estudio cromatográfico del mismo y a probar los efectos biológicos de las fracciones, con intención de separar y purificar el o los compuestos alelopáticos que contenía.

La cromatografía en columna produjo 8 fracciones cuyas soluciones acuosas se utilizaron para los bioensayos. Se logró hacer una segunda repetición con las tres fracciones más inhibitorias. Se aisló de este extracto bencénico una flavona (Figura 7J) que en estado puro se logró probar a cinco concentraciones distintas. Posteriormente se probó, sólo sobre la especie Mimosa pudica, el extracto bencénico sin la flavona y más tarde un diterpeno nuevo, extraído también del extracto bencénico (Figura 7J) (*) que se probó a tres concentraciones. Los resultados se observan en las tablas 1Hb a 6Hb y las figuras 1K/a 6K y 1La a 6L.

(*) Trabajo realizado por la Dra. Lidia Rodríguez del Instituto de Química de la UNAM.

Es fácil observar que no hubo efecto alguno de las fracciones cromatográficas del extracto bencénico sobre la germinación de Mimosa pudica. Las fracciones 1 a 5 (sobre todo es ta última) inhibieron significativamente el crecimiento de raíz y tallo. Las fracciones 6 a 8 inhibieron significativamente a la raíz, pero estimularon al tallo (en especial 6 y 7). En la repetición con las fracciones 3, 4 y 5 se volvió a obtener inhi bición significativa sobre el tallo con las tres fracciones y sobre la raíz sólo con la 4 y 5. La germinación tampoco fue al terada.

Las pruebas con la flavona en Mimosa resultaron casi iguales a 1 y 3 mg de concentración, donde se estimuló signifi cativamente a la raíz; a 5 mg no se afectó la raíz; a 1, 3 y 5 mg no se afectó el tallo, a 7 mg se estimuló sólo la raíz y a 10 mg se inhibieron significativamente ambos, mientras que el porcentaje de germinación no se altera casi en ningún caso (a 7 mg se eleva ligeramente). La prueba con el extracto bencénico sin la flavona dió como resultado una inhibición significativa de raíz y tallo y una disminución en el porcentaje de germina ción. Los efectos de este extracto bencénico sin flavona, en comparación con el extracto entero fueron ligeramente menos tó xicos sobre Mimosa pudica, lo que indica claramente que la sus tancia responsable de la inhibición no es de ninguna manera la

flavona que sólo tuvo efectos tóxicos a la concentración más alta, pues en las bajas, no sólo no afectó, sino que estimuló el crecimiento de Mimosa.

El diterpeno aislado de este extracto bencénico ejerció sobre Mimosa pudica un efecto inhibitorio más pronunciado que la flavona, el cual aumentó proporcionalmente a la concentración. La germinación no se alteró con esta sustancia que probablemente contribuya en cierto grado a la acción alelopática del extracto bencénico, aunque los causantes principales de ella no han podido aislarse todavía.

Achyranthes aspera, se muestra mucho más sensible que Mimosa en los bioensayos con las fracciones cromatográficas del extracto bencénico. La fracción 3 la inhibió totalmente y casi totalmente la 6. Las fracciones 4 y 5 inhiben significativamente el crecimiento y la germinación. La fracción 1 inhibe al tallo, pero estimula a la raíz. La fracción 2 sólo afecta perjudicialmente a la raíz. La 7, estimula a ambos y la 8 sólo inhibe al tallo. El porcentaje de germinación es inhibido severamente por las fracciones 2, 3, 6 y 7. En la repetición del experimento con las fracciones 3, 4 y 5, el porcentaje de germinación de Achyranthes es notablemente inhibido por la No. 3, mientras que el crecimiento, tanto de la raíz, como del tallo, se inhibe significativamente en los tres casos. A diferencia de Mimosa,

Achyranthes responde frente a la flavona con un decremento de crecimiento, sobre todo a las concentraciones medias utilizadas y en ningún caso encontramos estimulación. El por ciento de germinación casi no se afecta con la flavona (aumenta un poco a 3 mg).

Bidens pilosa es totalmente inhibida por las fracciones 4 y 5. La 1, 2, 3, 6, 7 y 8 inhiben al tallo. La 2, 3 y 6 sólo a la raíz. Las fracciones 1, 2, 3, 4, 5 y 7 provocan un descenso brusco en el porcentaje de germinación. La repetición de las fracciones 3, 4 y 5 produce inhibición, tanto en crecimiento como en germinación. La flavona produce un efecto en Bidens semejante al provocado en Achyranthes. A mayor concentración, mayor grado de inhibición, tanto en la raíz, como en el tallo. La germinación sólo disminuye a muy alta concentración.

En Ochroma observamos resultados totalmente opuestos en los bioensayos realizados con las fracciones cromatográficas y aquellos efectuados con la flavona. Mientras que la mayoría de las fracciones inhiben significativamente el crecimiento de raíz y tallo (excepto la fracción 2, que no afecta el crecimiento del tallo), la flavona, de 1 a 7 mg (sobre todo a esta última concentración) estimula significativamente ambos crecimientos (excepto a la concentración de 10 mg en que ambos son inhibidos). La germinación se presenta como sucede regularmente en esta especie, muy varia-

ble y es disminuída por las fracciones cromatográficas 1 y 4 y aumentada por todas las concentraciones de flavona.

En los resultados con Heliocarpus, la inhibición del crecimiento de la raíz y el tallo es significativa en todos los tratamientos con las fracciones, excepto en dos: la fracción 2 no afecta al tallo, ni la 1 a la raíz. En cuanto a la germinación podemos observar una disminución en las fracciones 2 y 4. La inhibición significativa de la raíz y del tallo, se vuelve a lograr en la repetición con las fracciones 3, 4 y 5 y un descenso en el porcentaje de germinación con la fracción 3. La flavona a la concentración de 1 mg estimula el crecimiento del tallo sin afectar a la raíz, pero en las siguientes concentraciones inhibe ambos crecimientos significativamente. La germinación se eleva ligeramente a 1 mg y en mayor grado a 3 y 5 mg.

Crusea calocephala es inhibida por todas las fracciones cromatográficas, incluso en la repetición de las mismas, siendo más inhibida por las fracciones 3, 4, 5 y 7. La germinación disminuye en mayor grado con las fracciones 3, 4 y 5. La flavona, a 1 y 3 mg estimula el crecimiento de la raíz; a 1 mg inhibe al tallo; a 5 y 7 mg inhibe a ambos y sorprendentemente no los afecta a la concentración más alta. La germinación aumenta a 1 y 3 mg y en menor grado a 10 mg.

Frente a las fracciones cromatográficas encontramos una

variedad bastante alta en el tipo de respuestas de las 6 especies utilizadas. En términos generales Bidens, Ochroma, Helio-
carpus y Crusea son las especies más afectadas por estas frac-
ciones, mientras que Mimosa y Achyranthes se estimularon con al-
gunas de ellas.

Las fracciones más tóxicas resultaron generalmente la 3, 4 y 5, tanto en la primera, como en la segunda prueba. La flavona inhibió más a Achyranthes, Bidens y Helio-
carpus, en menor grado a Crusea y Mimosa y estimuló notablemente a Ochroma.

El diterpeno aislado también de este extracto bencénico sólo se probó sobre Mimosa, lo cual reduce la posibilidad de discusión respecto a él, aunque su efecto inhibitorio no es grande sobre esta especie.

El extracto bencénico sin la flavona continuó inhibien-
do a Mimosa pudica, tanto como el extracto entero, lo que nos
permite afirmar que contiene inhibidores muy potentes, mezclados
tal vez en las fracciones cromatográficas medias, pues éstas
ejercieron un efecto muy tóxico a diluciones muy bajas (como lo
demostró la presión osmótica que tenían estas soluciones y que
no sobrepasó nunca los 7 m/osm/l).

Es necesario recalcar que durante los experimentos con
las soluciones acuosas de los suelos, el efecto inhibitor más

constante en general, lo ejerció el suelo de Croton pyramidalis. Los ensayos con las fracciones orgánicas indicaron claramente el contenido de un potente inhibidor de la germinación y el crecimiento de semillas y plántulas, en el extracto bencénico, el cual no pierde su potencia, ni aún después de habersele extraído la flavona y el diterpeno. Cabe ahora tratar de relacionar ambos hechos para dilucidar si el alelopático del extracto bencénico corresponde, aunque sea parcialmente, al existente en la solución de suelo, lo que cerraría el círculo "sitio de producción del inhibidor-sitio de acción", junto con un mayor número de pruebas diversas con suelo y desechos orgánicos. Una vez lo grada la identificación de los compuestos inhibidores, también sería necesario un análisis cuantitativo y cualitativo de los mismos a lo largo de un año entero, en el suelo de la comunidad donde esta especie domina, para saber si existe alguna variación de ellos ecológicamente significativa, lo que sería muy importante para el establecimiento de otras especies invasoras; y al mismo tiempo registrar la aparición de plántulas de diversas especies dentro de la comunidad y realizar pruebas biológicas sobre el efecto de soluciones de suelo sobre el crecimiento de estas especies.

No se ha probado aún el efecto de los alelopáticos producidos por Croton pyramidalis, sobre la germinación y el creci-

miento de su propia especie, pero una vez que se haya hecho, se tendrá una clara prueba de la aparente inmunidad de las plántulas de Croton, observadas dentro de la comunidad estudiada, a los efectos de los alelopáticos producidos por esta especie.

Mimosa pudica

Germinación y crecimiento con las fracciones cromatográficas del extracto bencénico, la flavona del mismo, el extracto bencénico sin la flavona y el diterpeno del extracto bencénico de Croton pyramidalis.

Tratamiento	% de germ	long rafz	% long rafz	long tallo	% de long tallo	% de inhibic rafz	% de inhibic tallo
Testigo	100	25.45	100	7.25	100	0	0
Fracción 1	100	15.0 ^{**}	58.93	5.65 ^{**}	77.93	41.07	22.07
Fracción 2	100	17.05 ^{**}	66.99	6.20 [*]	85.51	33.01	14.49
Fracción 3	95	16.78 ^{**}	65.93	4.94 ^{**}	68.13	34.07	31.87
1a. repetición							
Fracción 4	100	13.15 ^{**}	51.66	5.80 [*]	80.00	48.34	20.00
Fracción 5	95	8.42 ^{**}	33.08	5.05 ^{**}	69.65	66.92	30.35
Fracción 6	100	15.75 ^{**}	61.88	9.35 ^{**}	137.24	38.12	-37.24
Fracción 7	95	15.26 ^{**}	59.96	10.36 ^{**}	142.89	40.04	-42.89
Fracción 8	100	19.45 [*]	76.42	8.55 ^{**}	117.93	23.58	-17.93
Testigo	100	19.05	100	16.55	100	0	0
Fracción 3	100	18.45	96.85	14.1 [*]	85.19	3.15	14.81
2a. repetición							
Fracción 4	100	9.3 ^{**}	48.81	11.45 [*]	69.18	51.19	30.82
Fracción 5	100	5.75 ^{**}	30.18	9.5 ^{**}	57.40	69.82	42.60
Testigo	95	17.87	100	8.98	100	0	0
Flavona 1 mg	90	20.22 [*]	113.15	5.72	97.10	-13.15	2.9
Flavona 3 mg	90	20.55 [*]	114.99	8.50	94.65	-14.99	5.35
Flavona 5 mg	95	16.10	90.09	8.26	91.98	9.91	8.02
Flavona 7 mg	100	22.20 [*]	124.23	9.35	104.12	-24.23	-4.12
Flavona 10 mg	90	4.40 ^{**}	24.62	2.47 ^{**}	27.50	75.38	72.5
EABz sin flavona	72	4.36 ^{**}	24.39	1.35 ^{**}	15.03	75.61	84.97
Testigo	96	19.22	100	3.37	100	0	0
Diterpeno del extracto bencénico 1 mg	96	15.43 [*]	80.28	3.75	111.27	19.72	-11.27
3 mg	100	15.22 [*]	79.18	2.82 [*]	83.67	20.82	16.33
6 mg	98	13.36 [*]	69.51	2.73 [*]	81.0	30.49	19.0

Tabla 2 Hb

Achyranthes aspera

Germinación y crecimiento con las fracciones cromatográficas del extracto bencénico de Croton pyramidalis y la flavona del mismo.

Tratamiento	% de germ	long raíz	% long raíz	long tallo	% de long tallo	% de inhibic raíz	% de inhibic tallo
Testigo	55	5.09	100	4.90	100	0	0
Fracción 1	40	6.75 [*]	132.61	2.25 ^{**}	45.91	-32.61	54.09
Fracción 2	5	2.0 ^{**}	39.29	5.0	102.04	60.71	- 2.04
Fracción 3	0	0	0	0	0	100	100
1a. repetición							
Fracción 4	30	3.5 [*]	68.76	2.5 [*]	51.02	31.24	48.98
Fracción 5	30	2.33 ^{**}	45.77	2.83 ^{**}	57.75	54.23	42.25
Fracción 6	5	1.0 ^{**}	19.64	0	0	80.36	100
Fracción 7	15	6.33 [*]	124.36	6.33 [*]	129.18	-24.36	-29.18
Fracción 8	35	5.0	98.23	3.28 [*]	66.93	1.77	33.07
Testigo	60	22.33	100	16.99	100	0	0
Fracción 3	5	5.0 ^{**}	22.39	4.0 ^{**}	23.54	77.61	76.46
2a. repetición							
Fracción 4	25	2.2 [*]	9.85	3.5 [*]	20.60	90.15	79.40
Fracción 5	30	4.33 ^{**}	19.39	2.49 ^{**}	14.65	80.61	85.35
Testigo	50	10.27	100	6.1	100	0	0
Flavona 1 mg	50	9.20	89.58	4.30 [*]	70.49	10.42	29.51
Flavona 3 mg	65	10.76	104.77	5.0 [*]	81.96	- 4.77	18.04
Flavona 5 mg	45	7.77 [*]	75.65	4.55 [*]	74.59	24.35	25.41
Flavona 7 mg	50	7.50 [*]	73.02	3.70 ^{**}	60.65	26.96 [*]	39.35
Flavona 10 mg	50	8.27 [*]	80.52	3.85 ^{**}	63.11	19.48	36.89

T a b l a 3 H b

Bidens pilosa

Germinación y crecimiento con las fracciones cromatográficas del extracto
bencénico de Croton pyramidalis y la flavona del mismo.

Tratamiento	% de germ.	long rafz	% long rafz	long tallo	% de long tallo	% de inhibic rafz	% de inhibic tallo
Testigo	60	9.75	100	23.00	100	0	0
Fracción 1	25	9.00	92.30	18.40	80	7.70	20
Fracción 2	15	4.66**	47.79	2.00**	8.69	52.21	91.31
Fracción 3	5	7.0*	71.79	3.0*	13.04	28.21	86.96
1a. repetición							
Fracción 4	0	0	0	0	0	100	100
Fracción 5	0	0	0	0	0	100	100
Fracción 6	45	5.88**	60.30	7.33**	31.86	39.70	68.14
Fracción 7	15	9.33	95.69	12.66**	55.04	4.31	44.96
Fracción 8	60	9.16	93.94	17.25*	75	6.06	25
Testigo	50	17.05	100	32.87	100	0	0
2a. repetición							
Fracción 3	15	16.75	98.24	23.0*	69.97	1.76	30.03
Fracción 4	15	4.5**	26.39	8.0**	24.33	73.61	75.67
Fracción 5	35	2.7	15.83	9.4	28.59	84.17	71.41
Testigo	70	20.21	100	24.96	100	0	0
Flavona 1 mg	40	20.87	103.26	21.12*	84.61	- 3.26	15.39
Flavona 3 mg	60	18.83	93.17	18.66*	74.75	6.83	25.25
Flavona 5 mg	45	12.44**	61.55	11.55**	46.27	38.45	53.73
Flavona 7 mg	45	12.77**	63.18	10.66**	42.70	36.82	57.30
Flavona 10 mg	20	11.40**	56.40	13.83**	55.40	43.60	44.60

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

Tabla 4Hb

Helicarpus donnell-smithii, Germinación y crecimiento con las fracciones cromatográficas del extracto Bencénico de Croton pyramidalis y la Flavona del mismo

	Tratamiento	% de germ	long raíz mm	% long raíz	long tallo mm	% de long tallo	% de inhibic raíz	% de inhibic tallo
	Testigo	70	10.21	100	5.07	100	0	0
	Fracción 1	70	9.21	90.20	2.42**	47.73	9.80	52.27
	Fracción 2	60	8.33*	81.58	5.50	108.48	18.42	- 8.48
	Fracción 3	50	6.3**	61.70	1.9**	37.47	38.30	62.53
1a. repetición	Fracción 4	65	4.84**	47.40	1.3**	25.64	52.60	74.36
	Fracción 5	65	4.69**	45.93	1.07**	21.10	54.07	78.90
	Fracción 6	75	8.26*	80.90	4.06*	80.07	19.10	19.93
	Fracción 7	80	3.44**	33.69	1.11**	21.89	66.31	78.11
	Fracción 8	75	8.86*	86.77	2.73**	53.84	13.23	46.16
	Testigo	60	14.55	100	13.27	100	0	0
2a. repetición	Fracción 3	45	4.85**	33.33	1.4**	10.55	66.67	89.45
	Fracción 4	55	4.79**	32.92	3.5**	26.37	67.08	73.63
	Fracción 5	60	2.82**	19.38	3.75**	28.25	80.62	71.75
	Testigo	42.5	12.79	100	7.30	100	0	0
	Flavona 1 mg.	50	13.4	104.76	9.0*	123.28	- 4.76	-23.28
	Flavona 3 mg.	60	10.91*	85.30	5.41*	73.0	14.70	27.0
	Flavona 5 mg.	65	9.46*	73.96	6.15*	84.24	26.04	15.76
	Flavona 7 mg.	40	7.50**	58.63	3.50**	47.94	41.37	52.06
	Flavona 10 mg.	30	8.34*	65.20	1.91**	26.16	34.80	73.84

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

Tabla 5Hb

Ochroma lagopus. Germinación y crecimiento con las fracciones cromatográficas del extracto Bencénico de Croton pyramidalis y la Flavona del mismo

	Tratamiento	% de germ	long raíz mm	% long raíz	long tallo mm	% de long tallo	% de inhibic raíz	% de inhibic tallo
	Testigo	70	16.85	100	11.5	100	0	0
	Fracción 1	40	13.0*	77.15	9.12*	79.30	22.85	20.70
	Fracción 2	55	8.54**	50.68	11.0	95.65	49.32	4.35
	Fracción 3	55	13.0*	77.15	9.27*	80.60	22.85	19.40
1a. repetición	Fracción 4	35	10.71**	63.56	8.85*	76.95	36.44	23.05
	Fracción 5	65	9.61**	57.03	9.38*	81.56	42.97	18.44
	Fracción 6	65	11.92*	70.74	7.53*	65.47	29.26	34.53
	Fracción 7	55	7.63**	45.28	7.90*	68.69	54.72	31.31
	Fracción 8	55	12.54*	74.42	8.00*	69.56	25.58	30.44
	Testigo	50	16.33	100	15.41	100	0	0
2a. repetición	Fracción 3	60	9.66**	59.15	9.99**	64.82	40.85	35.18
	Fracción 4	55	5.93**	36.31	11.1*	72.03	63.39	27.97
	Fracción 5	65	5.16**	31.59	8.41**	54.57	68.41	45.43
	Testigo	30	9.25	100	5.00	100	0	0
	Flavona 1 mg.	55	11.18**	120.86	6.27*	125.4	-20.86	-25.4
	Flavona 3 mg.	50	13.60**	147.02	6.30*	126	-47.02	-26
	Flavona 5 mg.	50	11.0*	118.91	5.70*	114	-18.91	-14
	Flavona 7 mg.	40	16.25**	175.67	8.37**	167.4	-75.67	-67.4
	Flavona 10 mg.	45	5.36**	57.94	2.31**	46.20	42.06	53.80

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

Tabla 6Hb

Crusea calocephala. Germinación y crecimiento con las fracciones cromatográficas del extracto Bencénico de Croton pyramidalis y la Flavona del mismo

	Tratamiento	% de germ	long rafz mm	% long rafz	long tallo mm	% de long tallo	% de inhibic rafz	% de inhibic tallo
1a. repetición	Testigo	80	24.5	100	10.44	100	0	0
	Fracción 1	90.	19.05*	77.75	5.94**	56.89	22.25	43.11
	Fracción 2	85	12.82**	52.32	4.05**	38.79	47.68	61.21
	Fracción 3	50	7.1**	28.97	1.4**	13.40	71.03	86.60
	Fracción 4	60	3.41**	13.91	1.33**	12.73	88.09	87.27
	Fracción 5	30	3.16**	12.89	1.50**	14.36	87.11	85.64
	Fracción 6	80	7.68**	31.34	2.37**	22.70	68.66	77.30
	Fracción 7	70	4.71**	19.22	1.42**	13.60	80.78	86.40
2a. repetición	Fracción 8	70	13.85**	56.53	4.71**	45.11	43.47	54.89
	Testigo	85.0	25.80	100	15.96	100	0	0
	Fracción 3	55.0	7.5**	29.06	2.61**	16.35	70.94	83.65
	Fracción 4	30.0	5.83**	22.59	2.49**	15.60	77.41	84.40
	Fracción 5	35.00	6.20**	24.03	2.91**	18.23	75.97	81.77
	Testigo	37.5	23.99	100	9.58	100	0	0
	Flavona 1 mg.	70	31.57*	131.59	8.0*	83.50	-31.59	16.50
	Flavona 3 mg.	70	29.28*	122.05	9.14	95.40	-22.05	4.60
	Flavona 5 mg.	50	17.0*	70.86	5.70**	59.49	29.14	40.51
	Flavona 7 mg.	40	19.37*	80.74	7.50*	78.28	19.26	21.72
	Flavona 10 mg.	55	21.89	91.24	9.00	93.94	8.76	6.06

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

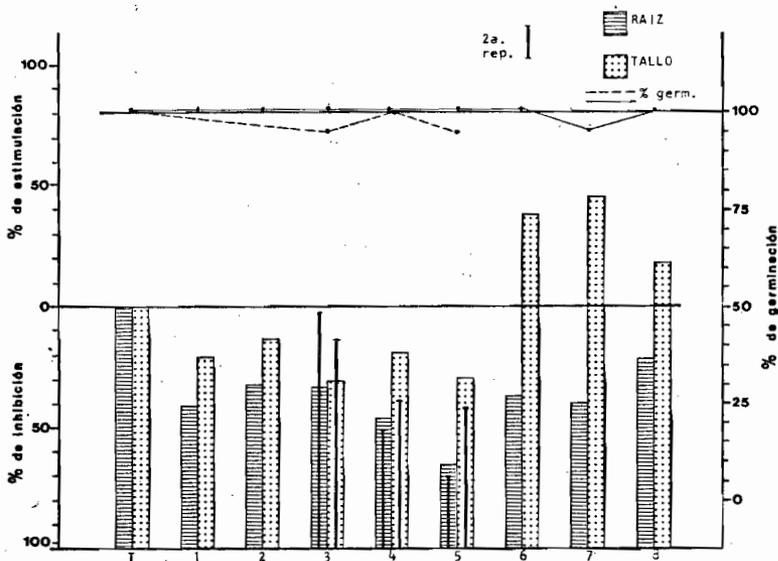


Fig. 1K. MIMOSA PUDICA. Germinación y crecimiento con las fracciones cromatográficas del extracto benzénico de *Croton pyramidalis*.

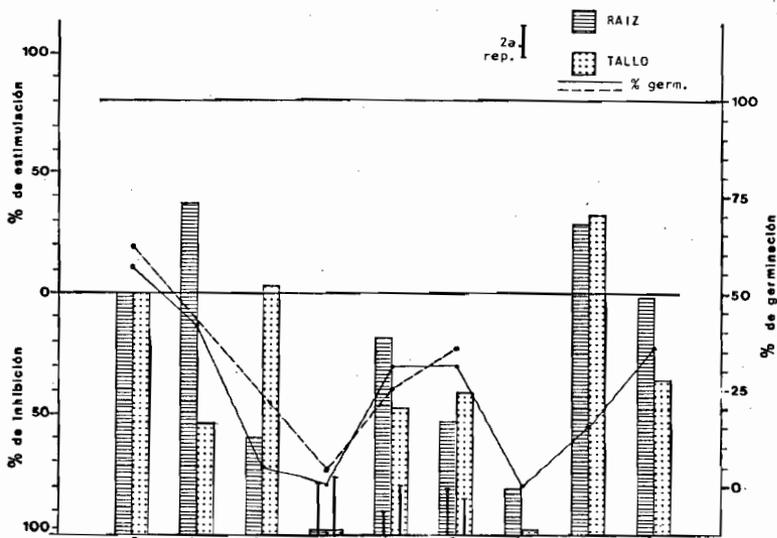


Fig. 2K. ACHYRANTHES ASPERA. Germinación y crecimiento con las fracciones cromatográficas del extracto benzénico de *Croton pyramidalis*.

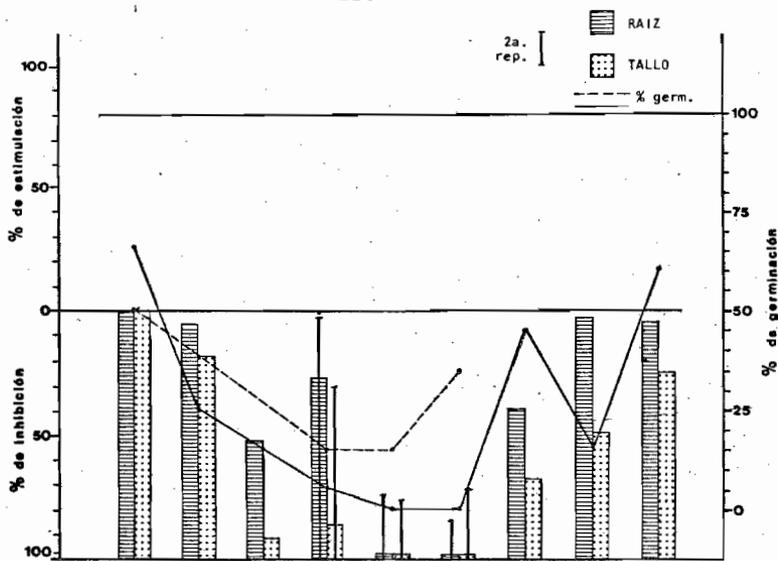


Fig. 3K. BIDENS PILOSA. Germinación y crecimiento con las fracciones cromatográficas del extracto benzenico de *Croton pyramidalis*.

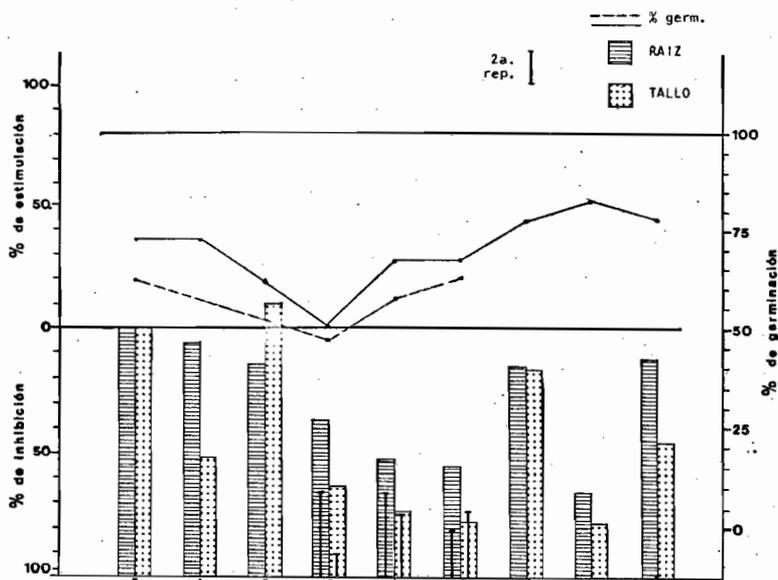


Fig. 4K. HELIOPARPUS DONNELL-SMITHII. Germinación y crecimiento con las fracciones cromatográficas del extracto benzenico de *Croton pyramidalis*.

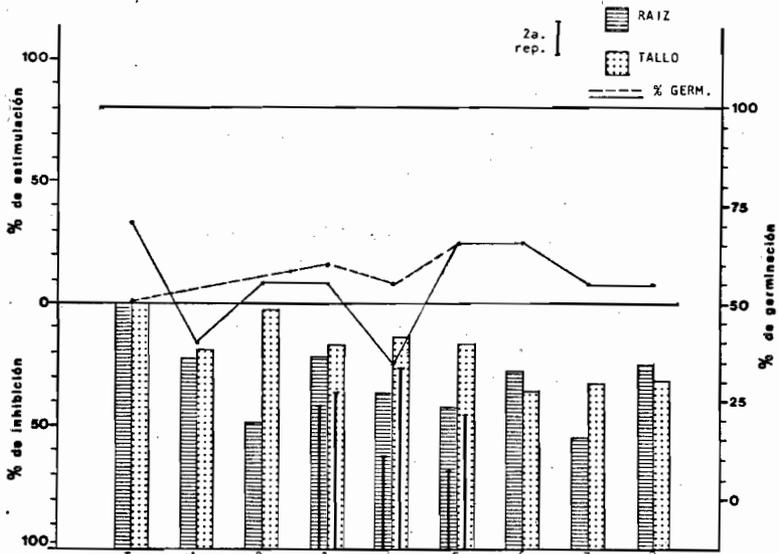


Fig. 5. OCHROMA LAGOPUS. Germinación y crecimiento con las fracciones cromatográficas del extracto benzenico de *Croton pyramidalis*.

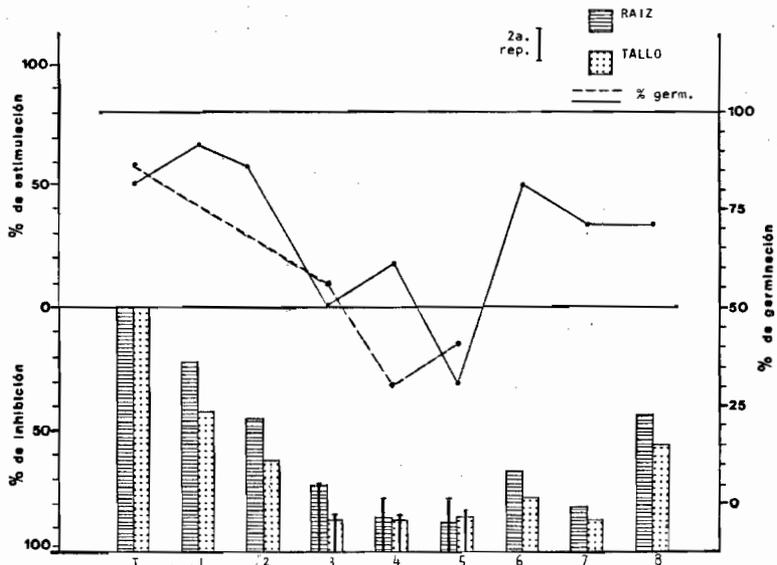


Fig. 6. CRUSEA CALOCEPHALA. Germinación y crecimiento con las fracciones cromatográficas del extracto benzenico de *Croton pyramidalis*.

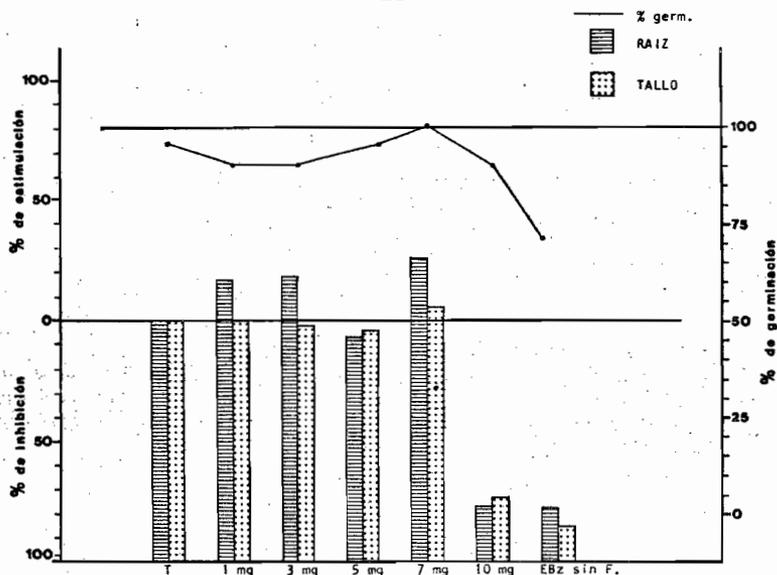


Fig. 1La. MIMOSA PUDICA. Germinación y crecimiento con la flavona del extracto benzenico de *C. pyramidalis* y con el mismo extracto sin la flavona.

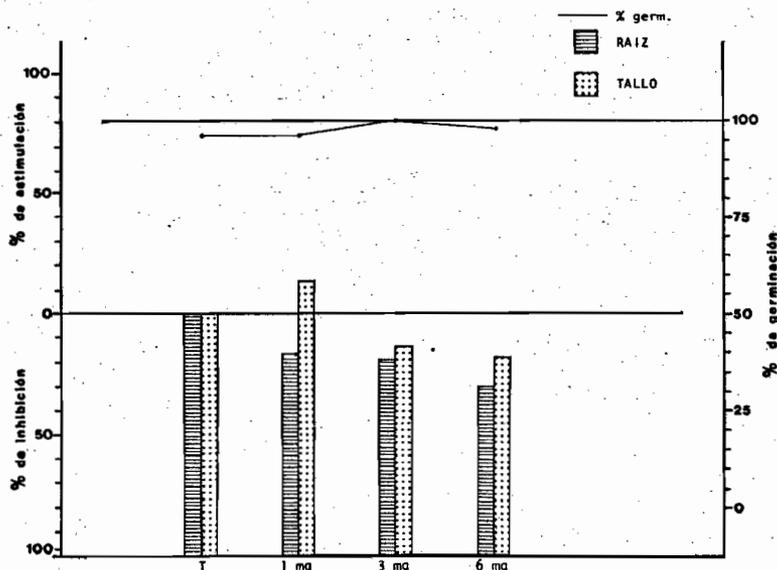


Fig. 1Lb. MIMOSA PUDICA. Germinación y crecimiento con el diterpene del extracto benzenico de *C. pyramidalis*.

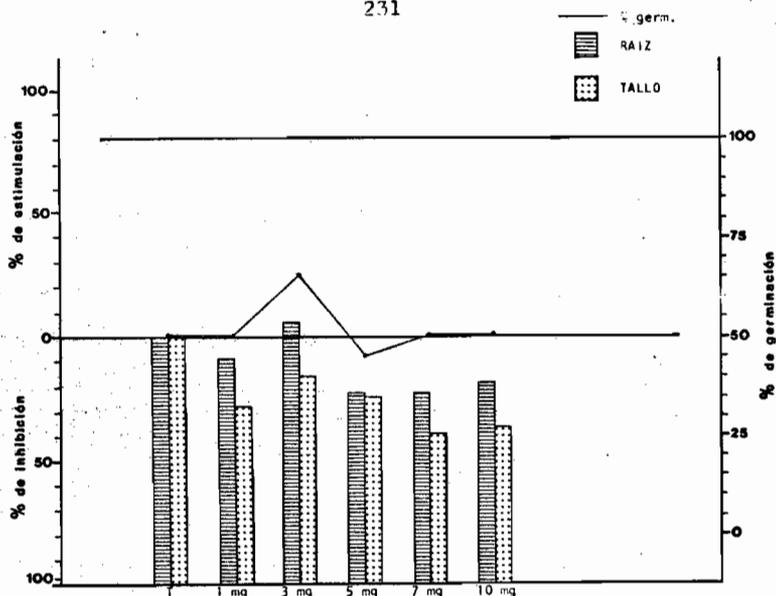


Fig. 2L. ACHYRANTHES ASPERA. Germinación y crecimiento con la flavona del extracto benzenico de *Croton pyramidalis*.

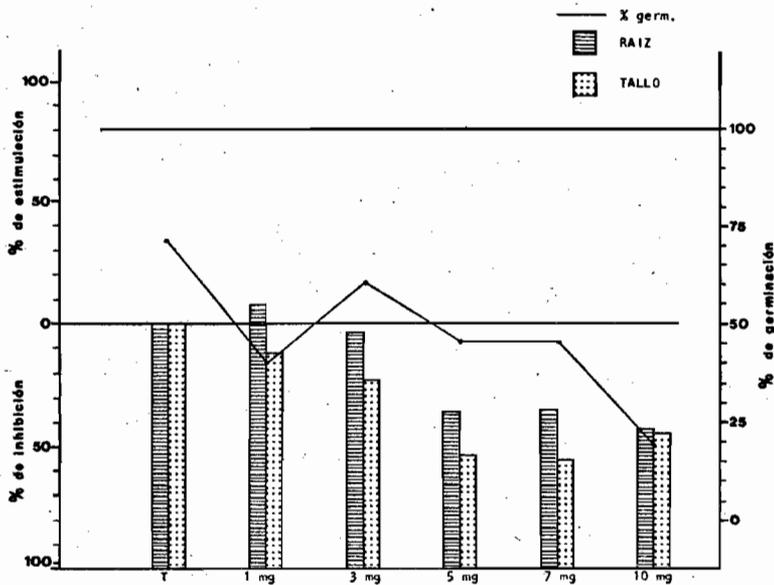


Fig. 3L. BIDENS PILOSA. Germinación y crecimiento con la flavona del extracto benzenico de *Croton pyramidalis*.

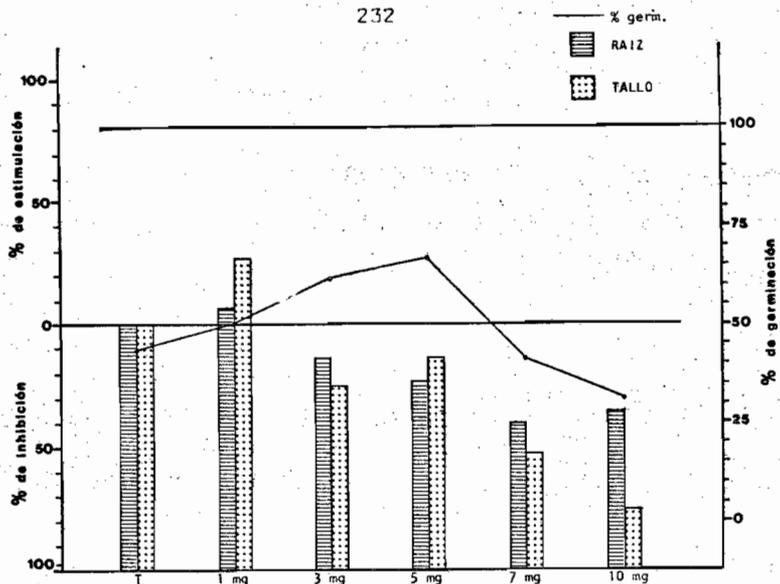


Fig. 4 L. *HELIOCARPUS DONNELL-SMITHII*. Germinación y crecimiento con la flavona del extracto bencénico de *Croton pyramidalis*.

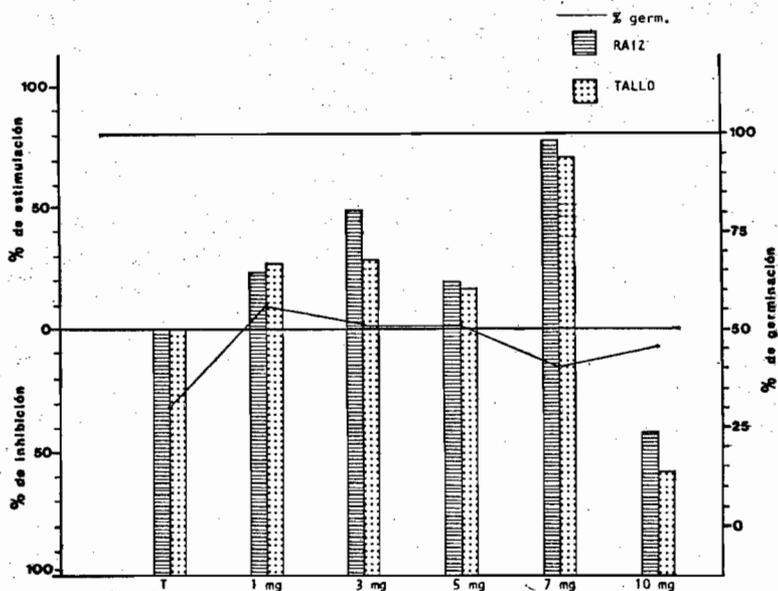


Fig. 5 L. *OCHROMA LAGOPUS*. Germinación y crecimiento con la flavona del extracto bencénico de *Croton pyramidalis*.

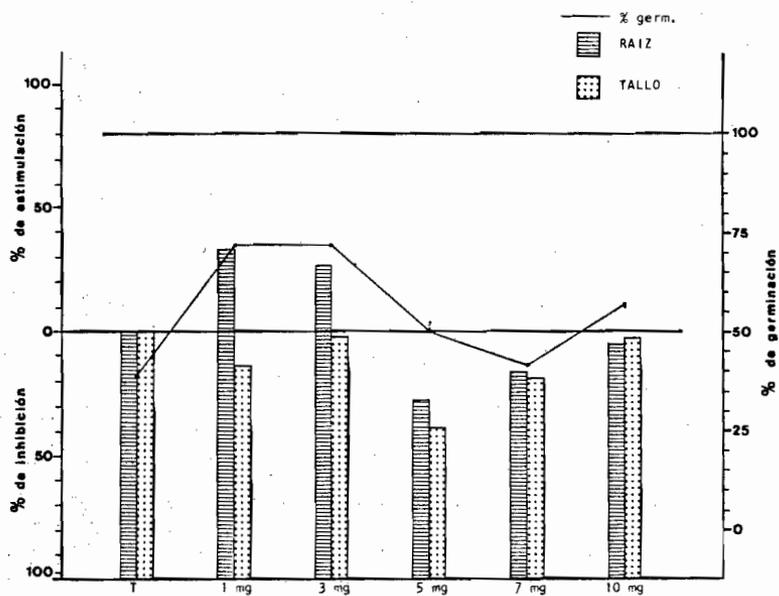


Fig. 6L. CRUSEA CALOCEPHALA. Germinación y crecimiento con la flavona del extracto bencénico de *Croton pyramidalis*.

7) Aceites Esenciales.

- a) Aceite esencial de las hojas de *Siparuna nicaraguensis*.

El aceite esencial de las hojas a 10 y 20% de concentración, fue probado sobre 6 de las especies secundarias elegidas para los bioensayos. Los resultados se reportan en la tabla II y figuras LM a 6M.

Mimosa y Ochroma fueron las especies más resistentes al aceite en ambas concentraciones (sobre todo Ochroma) sin disminuir mucho su germinación, especialmente Mimosa, aunque el crecimiento de ambas es inhibido significativamente sin gran diferencia entre las dos concentraciones usadas.

Achyranthes aspera se mostró muy sensible a ambas concentraciones del aceite. Su germinación se ve muy disminuida a 10% y totalmente a 20%. La raíz logra un crecimiento de 39% a 10 mg, pero el tallo a esa misma concentración es inhibido 100%.

Bidens pilosa es bastante resistente a la primera concentración del aceite, ya que su crecimiento es inhibido sólo en el orden de un 33 a 37%, aunque su germinación disminuye considerablemente. Pero a 20%, Bidens es totalmente inhibida.

Heliocarpus fue más inhibida por la concentración más baja del

aceite de S. nicaraguensis, que por la más alta, tanto en germinación como en crecimiento. El tallo fue más inhibido que la raíz, en todas las repeticiones, y lo mismo podemos observar en las demás especies, a excepción de Mimosa pudica en la cual, el crecimiento de la raíz se ve más afectado que el del tallo.

Crusea calocephala no alteró su porcentaje de germinación a 10% pero su crecimiento, sobre todo el del tallo, es inhibido significativamente. A 20% la germinación disminuye bastante y el crecimiento del tallo y la raíz son inhibidos en igual proporción.

Comparativamente con los aceites de Piper auritum y P. hispidum, el aceite de Siparuna no mostró propiedades tan tóxicas. La razón de ello con seguridad, está determinada por la calidad de los compuestos que lo forman, los cuales aún no se han identificado. Por esto mismo no es posible establecer una correlación entre los inhibidores tan activos presentes en los frutos y semillas de Siparuna y los contenidos en el aceite esencial de esta planta; ni tampoco con aquéllos que manifestaron su acción en las soluciones de suelo, los cuales al parecer no provienen directamente del agua de lixiviación de las hojas, con la salvedad de que la lixiviación artificial efectuada durante los bioensayos no incluyó a los frutos y semillas que fueron los que demostraron tener un alto contenido de alelopáticos que pudieran ser arrastrados por la lluvia en los períodos de fructificación exclusivamente.

Tabla 11

Germinación y crecimiento de varias especies con el aceite esencial de las hojas de Siparuna nicaraguensis a dos concentraciones

I. Mimosa pudica

Tratamiento	% de germ	long rafz mm	% long rafz	long tallo mm	% de long tallo	% de inhibic rafz	% de inhibic tallo
Testigo	100	25.45	100	7.25	100	0	0
Aceite esencial 10 mg/100 ml.	100	11.5**	45.18	3.70**	51.03	54.82	48.97
Aceite esencial 20 mg/100 ml.	90	9.22**	36.22	3.55**	48.96	63.78	51.04

II. Achyranthes aspera

Testigo	55	5.09	100	4.90	100	0	0
Aceite esencial 10 mg/100 ml.	5	2**	39.29	0	0	60.71	100
Aceite esencial 20 mg/100 ml.	0	0	0	0	0	100	100

III. Bidens pilosa

Testigo	60	9.75	100	23.0	100	0	0
Aceite esencial 10 mg/100 ml.	10	6.50*	66.66	14.50	63.04	33.34	36.96
Aceite esencial 20 mg/100 ml.	0	0	0	0	0	100	100

IV. Hellicarpus donnell-smithii

Testigo	70	10.21	100	5.07	100	0	0
Aceite esencial 10 mg/100 ml.	15	3.66**	35.84	0	0	64.16	100
Aceite esencial 20 mg/100 ml.	35	4.0**	39.17	1.28**	25.24	60.83	74.76

V. Ochroma lagopus

Testigo	70	16.85	100	11.5	100	0	0
Aceite esencial 10 mg/100 ml.	45	11.0**	65.28	6.44**	56.0	34.72	44.0
Aceite esencial 20 mg/100 ml.	60	10.08**	59.82	6.16**	53.56	40.18	46.44

VI. Crusea calocephala

Testigo	80	24.5	100	10.44	100	0	0
Aceite esencial 10 mg/100 ml.	80	17.25	70.40	3.06**	29.31	29.60	70.69
Aceite esencial 20 mg/100 ml.	60	5.66**	23.10	2.58**	24.71	76.90	75.29

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

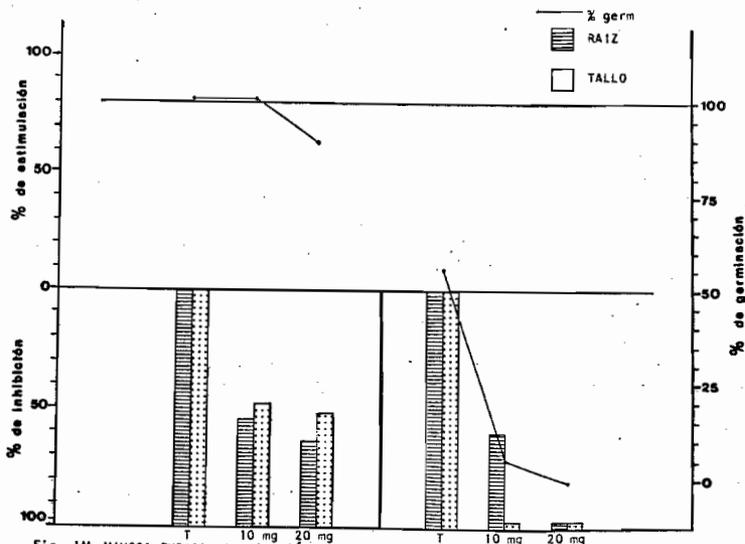


Fig. 1M. MIMOSA PUDICA. Germinación y crecimiento con el aceite esencial de *S. nicaraquensis*.

Fig. 2M. ACHYRANTHES ASPERA. Germinación y crecimiento con el aceite esencial de *S. nicaraquensis*.

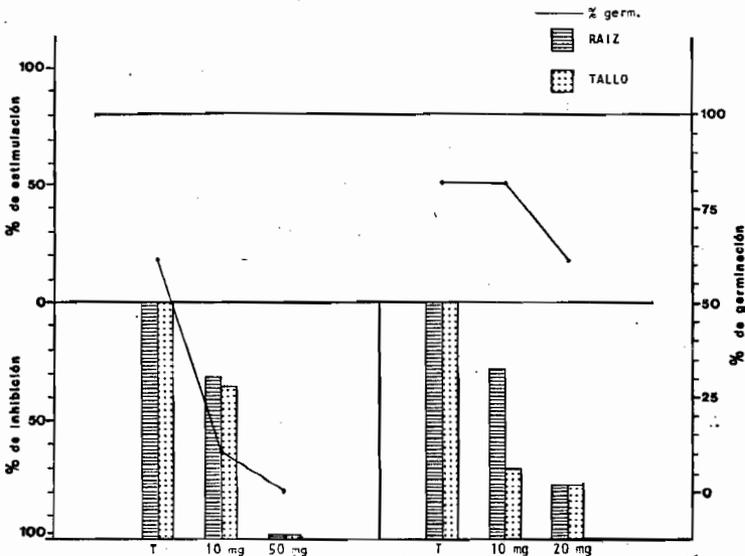


Fig. 3N. BIDENS PILOSA. Germinación y crecimiento con el aceite esencial de *S. nicaraquensis*.

Fig. 4M. CRUSEA CALOCEPHALA. Germinación y crecimiento con el aceite esencial de *S. nicaraquensis*.

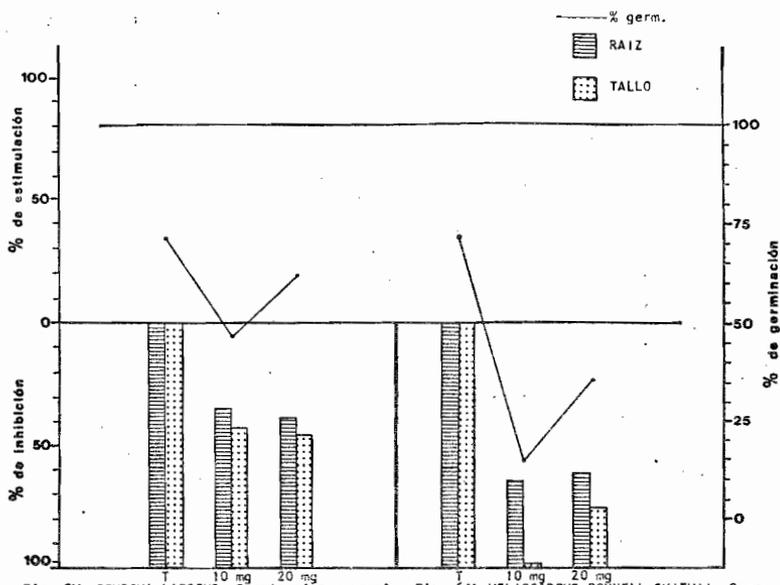


Fig. 5M. OCHROMA LAGOPUS. Germinación y crecimiento con el aceite esencial de *S. nicaraquensis*.

Fig. 6M. HELLOCARPUS DONNELL-SMITHII. Germinación y crecimiento con el aceite esencial de *S. nicaraquensis*.

b) Aceite esencial de las hojas de Croton pyramidalis.

La tabla 1J y gráficas 1N a 6N muestran las respuestas de crecimiento de las 6 especies empleadas, con el aceite esencial de Croton pyramidalis, utilizado a 3 concentraciones: 10, 25 y 50 mg en 100 ml de agar al 1%.

Mimosa pudica resiste la concentración mayor del aceite, casi sin variar su germinación, aunque el crecimiento de su raíz y tallo están inhibidos significativamente. La concentración menor inhibe a la raíz, pero estimula notablemente al tallo. La concentración al 25% sólo inhibe a la raíz, sin afectar al tallo.

Achyranthes aspera se mostró muy sensible ante el aceite de Croton. Tanto el porcentaje de germinación, como el crecimiento de raíz y tallo son disminuídos significativamente desde la concentración más baja, sobre todo la raíz que es mucho más inhibida que el tallo. A 50% no se presentó germinación.

Bidens pilosa muestra un descenso paulatino en el porcentaje de germinación y en el crecimiento a medida que aumenta la concentración del aceite. El crecimiento de la raíz es prácticamente igual a 10 y 25%. El del tallo se inhibe paulatinamente a mayor concentración y ambos son totalmente detenidos a 50%, igual que la germinación.

Contrastando con Achyranthes y Bidens, Ochroma lagopus es estimulada significativamente en crecimiento y germinación a 10%, a 25% se estimula la germinación, pero no el crecimiento y a 50% se inhibe significativamente el crecimiento de raíz y tallo, pero no el porcentaje de germinación.

Contrariamente a lo que se esperaba, Heliocarpus muestra una estimulación sorprendente del crecimiento de la raíz a 10 y 25%. El tallo es inhibido al 10%, pero no a 25%. Esta última concentración estimula a Heliocarpus más que la de 10%. A 50% raíz y tallo son inhibidos significativamente. El porcentaje de germinación decrece a medida que aumenta la concentración, pero se nota en él un ligero incremento a 50%.

Crusea resulta medianamente resistente al tratamiento con el aceite, a 10% no se ve afectada en crecimiento, pero su germinación disminuye ya notablemente. A 25 y 50% la germinación y el crecimiento se ven afectados, pudiéndose notar que el tallo es mucho más afectado que la raíz.

En comparación con los aceites de P. auritum y P. hispidum, el de Croton no posee notables propiedades inhibitorias y en algunos casos provocó un efecto estimulante muy significativo.

Debe recordarse que los resultados obtenidos en los bioensayos con los extractos orgánicos demuestran que el inhibi

dor o inhibidores principales de Croton no se encuentran en el aceite esencial y que se manifestaron de preferencia en los ex tractos de hojas y en las soluciones acuosas de suelos.

Tabla 1 J

Germinación y crecimiento de varias especies con el aceite esencial de las hojas de Croton pyramidalis a 3 concentraciones.

I. Mimosa pudica

Tratamiento	% de germ	long rafz	% long rafz	long tallo	% de long tallo	% de inhibic rafz	% de inhibic tallo
Testigo	100	12.24	100	3.04	100	0	0
10 mg/100 ml	100	10.00 [*]	81.69	4.70 ^{**}	154.60	18.51	-54.60
25 mg/100 ml	100	7.70 ^{**}	62.90	2.70	88.81	37.10	11.19
50 mg/100 ml	90	5.38 ^{**}	43.95	2.05 ^{**}	67.43	56.05	32.57

II. Achyranthes aspera

Testigo	80	11.81	100	5.31	100	0	0
10 mg/100 ml	10	2.0 ^{**}	16.93	3.5 [*]	65.91	83.07	34.09
25 mg/100 ml	5	1.0 ^{**}	8.46	4.0 [*]	75.32	91.54	24.68
50 mg/100 ml	0	0	0	0	0	100	100

III. Bidens pilosa

Testigo	85	18.47	100	24.23	100	0	0
10 mg/100 ml	35	9.42 ^{**}	51.00	17.7 [*]	73.04	49.00	25.96
25 mg/100 ml	15	9.33 ^{**}	50.51	12.33 ^{**}	50.88	49.49	49.12
50 mg/100 ml	0	0	0	0	0	0	0

IV. Heliocarpus donnell-smithii

Testigo	40	8.37	100	4.5	100	0	0
10 mg/100 ml	25	10.20 ^{**}	121.86	3.8 [*]	84.44	-21.86	15.56
25 mg/100 ml	15	11.33 ^{**}	135.36	4.0 [*]	88.88	-35.36	11.12
50 mg/100 ml	20	6.25 [*]	74.67	0.75 ^{**}	16.66	25.33	83.34

V. Ochroma lagopus

Testigo	50	12.60	100	8.40	100	0	0
10 mg/100 ml	65	15.92 [*]	126.34	11.98 ^{**}	135.47	-26.34	-35.47
25 mg/100 ml	70	10.14	80.47	9.07	107.97	19.53	-7.97
50 mg/100 ml	45	5.55 ^{**}	44.04	7.11 [*]	84.64	55.96	15.36

VI. Crusea calcephala

Tabla 1 J, hoja 2.

Tratamiento	% de germ	long rafz	% long rafz	long tallo	% de long tallo	% de inhibic rafz	% de inhibic tallo
Testigo	100	18.55	100	12.05	100	0	0
10 mg/100 ml	64.0	19.50	105.12	10.18	84.48	- 5.12	15.52
25 mg/100 ml	68.0	11.35**	61.18	2.88**	23.90	38.82	76.10
50 mg/100 ml	32.0	10.50**	56.60	3.12**	25.89	43.40	74.11

247

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

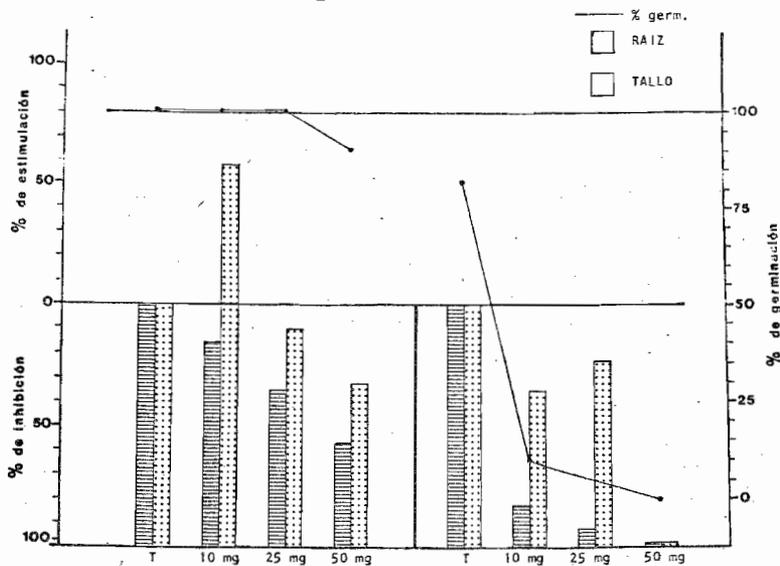


Fig. 1N. MIMOSA PUOICA. Germinación y crecimiento con el aceite esencial de *C. pyramidalis*. Fig. 2N. ACHYRANTHES ASPERA. Germinación y crecimiento con el aceite esencial de *C. pyramidalis*.

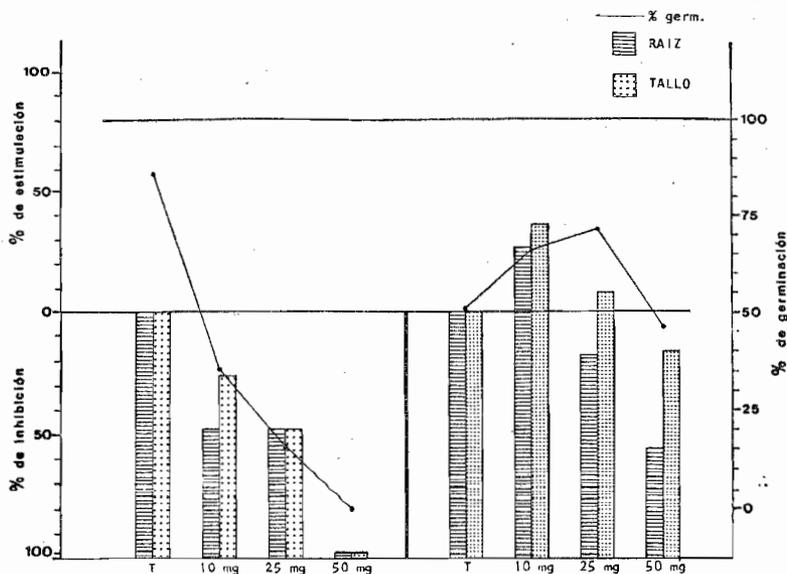


Fig. 3N. BIDENS PILOSA. Germinación y crecimiento con el aceite esencial de *C. pyramidalis*. Fig. 4N. OCHROMA LAGOPUS. Germinación y crecimiento con el aceite esencial de *C. pyramidalis*.

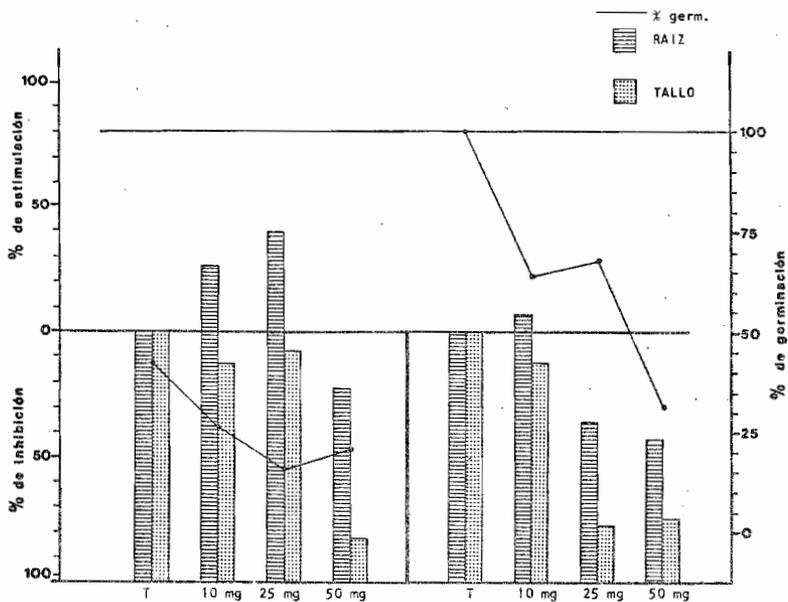


Fig. 5N. HELIOCARPUS DONNELL-SMITHII. Germinación y crecimiento con el aceite esencial de *C. pyramidalis*.

Fig. 6R. CRUSEA CALOCEPHALA. Germinación y crecimiento con el aceite esencial de *C. pyramidalis*.

c) Aceite esencial de las hojas de Piper auritum.

Este aceite fue probado sobre once especies a concentraciones de .3% y 1%.

Los resultados que se observan en la tabla 1K y la figura 1Ñ, no indican diferencia de efectos entre ambas concentraciones, a pesar de que son muy distintas. Las dos produjeron una severísima inhibición de la germinación y el crecimiento de todas las especies, comparable a la que produjo el aceite de Piper hispidum.

A la concentración de .3% encontramos que Mimosa y Cecropia son las especies más resistentes al efecto altamente tóxico del aceite esencial. En lo que se refiere a germinación podemos apreciar que Mimosa sufrió un decremento de 43% y Cecropia de 47%. Mientras que en lo referente al crecimiento, podemos apreciar que Cecropia es inhibida un poco menos que Mimosa, en especial el crecimiento de su tallo. Heliocarpus es inhibida totalmente en el crecimiento de su tallo, mientras que su raíz logra crecer sólo un poco. Las otras especies sometidas a esta concentración fueron totalmente inhibidas en germinación y crecimiento.

A la concentración de 1%, la especie que menos se afectó, tanto en germinación como en crecimiento, fue Ochroma lagoo-

pus y después Achyranthes aspera. Bidens y Verbesina no germinaron a esta concentración.

Al tenerse la facilidad de estudiar químicamente el aceite esencial de P. auritum y ante la evidencia de sus notables efectos alelopáticos, se procedió a efectuar una cromatografía en placa del mismo y a probar biológicamente cada fracción, con objeto de aislar los principios activos responsables de la toxicidad del aceite. Posteriormente se efectuó una cromatografía de gases que se observa en la figura 1Na. Dicha cromatografía fue efectuada por el Ingeniero Luis Haro de la Unión Nacional de Productores de Aceite de Limón (1975). En esta figura se observan claramente algunos de los compuestos plenamente identificados del aceite, como por ejemplo el Safrol, p-cimeno, γ -terpineno α -terpineno y mirceno y también algunos un tanto cuantos dudosos como el sabineno, el canfeno y el α -pineno.

Es necesario detenerse a hacer una consideración de carácter fitoquímico y quimiotaxonómico respecto a la presencia de tan grandes cantidades de Safrol en el aceite esencial de P. auritum. Hasta el año de 1969 Hegnauer reportaba como componentes de los aceites esenciales de Piperáceas a los siguientes:

Chavicol	Elemicina
Metil chavicol	Miristicina
Alil brencatequina	Apiol

Chavibetol	Dillapiol
Eugenol	Anetol
Metileugenol	Asaron

En esta lista destaca la ausencia de Safrol que, desde 1956 fue reportado por Collera Zúñiga precisamente como componente del aceite esencial de P. auritum y posteriormente por Langhammer en 1971. Alencar et al (1971) reportan un 69% de Safrol en P. cavalcantei. Es bien sabido que el Safrol es un compuesto frecuente en algunos géneros de la familia Lauraceae (Nectandra, Ocotea y Sassafras) y también en la familia Monimiaceae (género Laurelia) ambas cercanas filogenéticamente. En cambio P. auritum pertenece a las piperáceas que son consideradas por Hallier, Bessey y Hutchinson, como una rama independiente y terminal de los ancestros directos de las ranales. Laurales y Monimiáceas pertenecen en cambio al orden Laurales. El parentesco así visto parece demasiado lejano como para considerar la presencia de Safrol como indicio de cercanía filogenética de los taxa mencionados. Como dato complementario cabe mencionar que el Safrol ha sido reportado en numerosos trabajos como: antihelmíntico, antibacteriano, acaricida, dermatocógeno, fungicida, insecticida, para controlar termitas y como alelopático y altamente tóxico para los tejidos vivos.

T a b l a 1 K

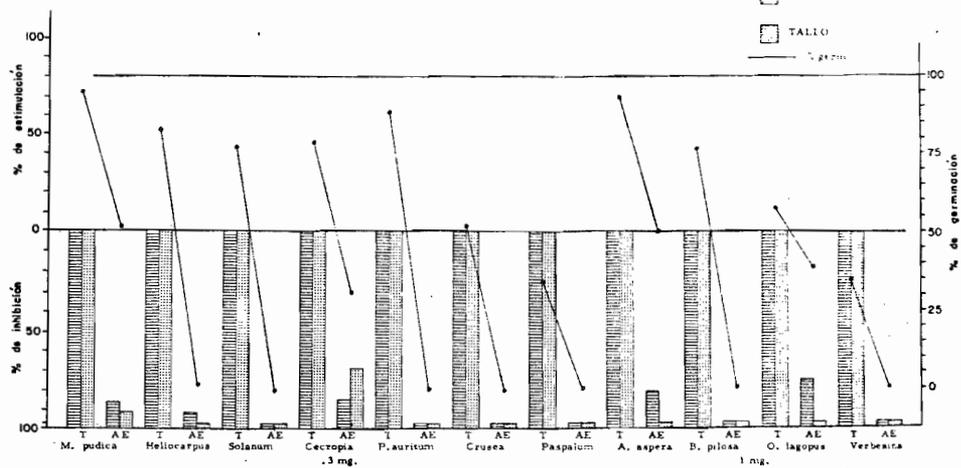
Germinación y crecimiento de varias especies con el
Aceite Esencial Piper auritum

Especie	Tratamiento	% de germ	long raíz mm	% long raíz	long tallo mm	% de long tallo	% de inhibic raíz	% de inhibic tallo
Mimosa	Testigo	95	21.63	100	11.40	100	0	0
	3%	52	2.92**	13.49	.97**	8.59	86.51	91.41
Heliolepis	Testigo	78	10.88	100	10.91	100	0	0
	3%	1	1.0**	9.19	0	0	90.81	100
Solamin	Testigo	77	8.10	100	5.83	100	0	0
	3%	0	0	0	0	0	100	100
Cecropia	Testigo	79	10.56	100	5.56	100	0	0
	3%	32	1.50**	14.20	1.71**	30.75	85.80	69.25
Piper auri	Testigo	84	6.70	100	3.30	100	0	0
	3%	0	0	0	0	0	100	100
Crusea	Testigo	51	18.58	100	10.82	100	0	0
	3%	0	0	0	0	0	100	100
Paspalum	Testigo	35	8.11	100	4.74	100	0	0
	3%	0	0	0	0	0	100	100
Achyranthes	Testigo	93	13.86	100	6.87	100	0	0
	1%	50	2.58**	18.61	0	0	81.39	100
Bidens	Testigo	77	23.67	100	18.61	100	0	0
	1%	0	0	0	0	0	100	100
Ochroma	Testigo	57	7.61	100	7.19	100	0	0
	1%	38	1.97**	25.88	0	0	74.12	100
Verbesina	Testigo	37	6.48	100	4.81	100	0	0
	1%	0	0	0	0	0	100	100

* Significativo al 5%

** - Significativo al 1%

Fig. 1 S. Germinación y crecimiento de varias especies de plantas en presencia de extractos de algas marinas.



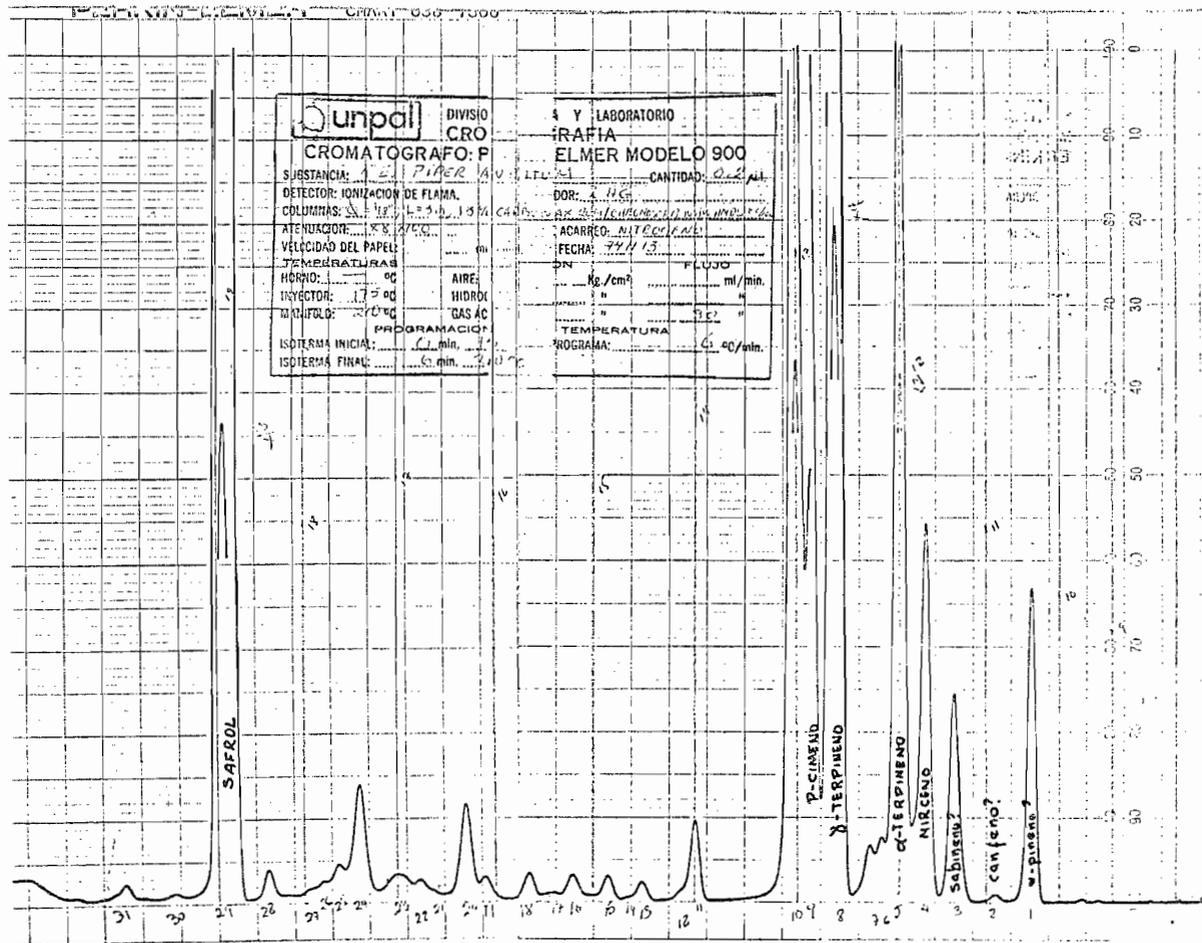


Figura 1 Na.- Cromatografía de gases del aceite esencial de Piper auritum.

- d) Pruebas con las fracciones cromatográficas del aceite esencial de Piper auritum.

Las tablas 1L a 6L y las gráficas 10 a 60 muestran los resultados obtenidos en las pruebas biológicas que se efectuaron con las fracciones de dos placas cromatográficas del aceite esencial, para tratar de aislar el ó los compuestos responsables de la inhibición. Es importante señalar que ninguna de las fracciones cromatográficas estaba formada por un solo compuesto, sino que eran una mezcla de sustancias afines entre sí, pudiéndose dar el caso de que se contaminaran unas con otras debido a la semejanza de los componentes. Por estas razones es posible explicar la variabilidad de las respuestas de las semillas aún dentro de la misma especie y algunas veces frente a la misma fracción.

En base al análisis estadístico, todas las fracciones resultaron en uno u otro caso con actividad alelopática, lo que indica que este aceite contiene un gran número de compuestos inhibidores. También es posible advertir en los resultados, que las especies en general se ven más afectadas por las fracciones de mayor polaridad (6, 7, 8, 9 y 10), sobre todo por las fracciones (6, 7 y 8) y que no todas las especies responden de igual forma.

En lo que respecta a germinación se observa claramente que Mimosa y Crusea casi no varían su porcentaje en todos los tratamientos. En cambio Bidens y Achyranthes reducen notablemente su germinación con las fracciones más polares. Ochroma y Heliocarpus muestran una variabilidad muy grande en el porcentaje de germinación probablemente debido a factores intrínsecos.

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

El crecimiento de la raíz y del tallo de Mimosa pudica es inhibido por todas las fracciones especialmente la 4, 6, 7, 8 y 9.

La raíz de Achyranthes se afecta más con los tratamientos 6, 7, 8, 9 y 10 pero el tallo muestra una estimulación de más del 100% en su crecimiento con las fracciones 2 en el primer experimento y muy ligera con la fracción 3 en el segundo experimento, siendo muy afectado con las fracciones 6, 7, 8, 9 y 10.

Bidens pilosa al igual que Achyranthes se afecta notablemente con las fracciones más polares, pero el tallo fue estimulado por las fracciones 1, 2 y 3 y la raíz por las fracciones

1, 3 y 5.

Ochroma responde en el primer experimento de manera in constante en cuanto al crecimiento de raíz y tallo. En el segundo experimento podemos notar que al igual que las demás especies, Ochroma es más inhibida por las fracciones más polares.

Lo mismo observamos con Heliocarpus y con Crusea, cuyas respuestas se disparan hacia los extremos aún bajo el efecto de una misma fracción.

Numerosas semillas de las seis especies utilizadas en los bioensayos, se vieron afectadas no sólo en la germinación y el crecimiento, sino también en la síntesis de pigmentos y en las respuestas geotrópicas. El grado de albinismo varió según la especie y la fracción cromatográfica, pero en muchos casos fue total. El geotropismo estaba invertido en numerosas plántulas. Esto permite suponer que los inhibidores contenidos en el aceite esencial de Piper auritum tienen en ocasiones efectos antigibberlínicos y antiauxínicos ya que parecen bloquear algunas de las reacciones relacionadas con estas respuestas.

Estos resultados nos permitieron darnos cuenta que los componentes con mayor poder alelopático se encuentran en las fracciones 6, 7, 8, 9 y 10, pero aún no ha sido posible la identificación de los constituyentes de cada una de estas fracciones

por ser mínima la cantidad de producto obtenida. Esta identifi
cación se está realizando actualmente.

La fracción No. 2 se encontró en una proporción mucho mayor que el resto, llegando a constituir entre el 50 a 70% del total de compuestos del aceite esencial. Esto facilitó la iden
tificación del principal componente de ella, la cual se realizó purificando dicha fracción por medio de cromatografía de gases preparativa, obteniéndose un producto puro al cual se le realizaron análisis espectroscópicos en el infrarrojo y de resonancia magnética nuclear, figuras 1P y 2P, lo cual fue suficiente para concluir que la estructura del compuesto principal de esta fracción No. 2 corresponde al Safrol (4-alil-dioximetilen-benceno).

Tabla 1L

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

Tratamiento	% de germ.		long raíz mm		% long raíz		long tallo mm		% de long tallo		% de inhibic raíz		% de inhibic tallo	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Testigos	100	100	27.0	25.45	100	100	9.56	7.25	100	100	0	0	0	0
Fracción 1	96	100	20.95*	24.1	77.59	94.69	8.04	7.25	84.10	100	22.41	5.31	15.90	0
Fracción 2	100	100	22.44	24.55	83.11	96.46	4.80**	4.05**	50.20	55.86	16.89	3.54	49.80	44.14
Fracción 3	96	100	19.41	17.25	71.88	67.77	6.37*	5.25*	66.63	72.41	28.12	32.23	33.37	27.59
Fracción 4	92	95	10.21**	9.63**	37.81	37.83	4.0**	3.73**	41.84	51.44	62.19	62.17	58.16	48.56
Fracción 5	92	95	14.73**	21.26	54.55	63.53	3.17	5.63	33.15	77.65	45.45	16.47	66.85	22.35
Fracción 6	92	90	17.47*	10.5**	64.70	41.25	3.52**	3.16**	36.82	43.58	35.30	58.75	63.18	56.42
Fracción 7	100	100	14.84**	11.3**	54.96	44.40	3.56**	3.8**	37.23	52.41	45.04	55.60	62.77	47.59
Fracción 8	100	100	15.92**	13.25**	58.96	52.06	3.16**	3.5**	33.05	48.27	41.04	47.94	66.95	51.73
Fracción 9	96	90	15.00**	11.00*	55.55	43.22	3.33**	2.22**	34.83	30.62	44.45	56.78	65.17	69.38
Fracción 10	-	100	-	15.0	-	58.93	-	4.60**	-	63.44	-	41.07	-	36.56

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

Tabla 2L

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

Tratamiento	% de germ.		long raíz mm		% long raíz		long tallo mm		% de long tallo		% de inhibic raíz		% de inhibic tallo	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Testigos	72	55	10.38	5.09	100	100	5.72	4.90	100	100	0	0	0	0
Fracción 1	48	80	5.66**	6.43	54.52	126.32	4.83	6.31*	84.44	128.77	45.48	-26.32	15.56	-28.77
Fracción 2	76	70	6.68**	11.78*	64.35	231.43	6.21	5.78	108.56	117.95	35.65	-131.43	-8.56	-17.95
Fracción 3	68	70	10.76	5.78	103.76	113.55	5.70	3.71	99.65	75.71	-3.76	-13.55	0.35	24.29
Fracción 4	68	50	2.88**	5.10	27.74	100.19	3.41**	4.1	59.61	83.67	72.26	-0.19	40.39	16.33
Fracción 5	72	30	7.61*	5.16	73.31	101.37	4.55	2.5**	79.54	51.02	26.69	-1.37	20.46	48.98
Fracción 6	12	0	8.66	0	83.42	0	4.33	0	75.69	0	16.58	100	24.31	100
Fracción 7	28	25	2.28**	1.40**	21.96	27.50	1.85**	0.6**	32.34	12.24	78.04	72.5	67.66	87.76
Fracción 8	12	5	4.66**	1.0**	44.89	19.64	2.66**	0	46.50	0	55.11	80.36	53.50	100
Fracción 9	12	30	1.0**	1.66**	9.63	32.61	1.33**	1.0**	23.25	20.40	90.37	67.39	76.75	79.60
Fracción 10	-	20	-	2.75**	-	54.02	-	2.0**	-	40.81	-	45.96	-	59.19

• Significativo al 5%
 ** Significativo al 1%

Tabla 3L

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

Tratamiento	% de germ		long raíz mm		% long raíz		long tallo mm		% de long tallo		% de inhibic raíz		% de inhibic tallo	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Testigos	72	60	7.72	9.75	100	100	28.55	23.0	100	100	0	0	0	0
Fracción 1	64	45	10.50**	7.33	136.01	75.17	18.18**	29.0*	63.67	126.08	-36.01	24.83	36.33	-26.08
Fracción 2	64	50	7.68	11.20	99.48	114.87	19.06**	24.8	66.76	107.82	0.52	-14.87	33.24	- 7.82
Fracción 3	52	50	10.53**	13.3**	136.39	136.41	17.46**	25.7	61.15	111.73	-36.39	-36.41	38.85	-11.73
Fracción 4	20	60	4.80**	7.75*	62.17	79.48	5.0**	9.91**	17.51	43.08	37.83	20.52	82.49	56.92
Fracción 5	48	60	9.50*	7.16*	123.05	73.43	17.25**	12.91**	60.42	56.13	-23.05	26.57	39.58	43.87
Fracción 6	52	15	6.53	4.33**	84.58	44.41	11.53**	3.33**	40.38	17.47	15.42	55.59	59.62	85.53
Fracción 7	8	10	6.5	6.00**	84.19	61.53	5.0**	5.00**	17.51	21.73	15.81	38.47	82.49	78.27
Fracción 8	24	5	3.5**	5.0**	45.33	51.28	6.00**	3.0**	21.01	13.04	54.67	48.72	78.99	86.96
Fracción 9	24	15	4.33**	10.66	56.08	109.33	4.16**	9.86**	14.57	42.0	43.92	- 9.33	85.43	58.0
Fracción 10	-	5	-	3.0**	-	30.76	-	3.0**	-	13.04	-	69.24	-	86.96

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

Tabla 4L

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

Tratamiento	% de germ.		long raíz mm		% long raíz		long tallo mm		% de long tallo		% de inhibic raíz		% de inhibic tallo	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Testigo	60	70	17.06	10.21	100	100	21.66	5.07	100	100	0	0	0	0
Fracción 1	52	85	19.38	10.88	113.59	106.56	11.0**	6.35*	50.78	125.24	-13.59	-6.56	49.22	-25.24
Fracción 2	32	85	15.87	10.52	93.02	103.03	12.37**	3.94*	57.10	77.71	6.98	-3.03	42.90	22.29
Fracción 3	52	80	17.23	12.18	100.99	119.29	11.92**	6.93**	55.03	136.68	-0.99	-19.29	44.97	-36.68
Fracción 4	52	80	12.53**	5.87**	73.44	57.49	6.07**	1.43**	28.02	28.20	26.56	42.51	71.98	71.80
Fracción 5	84	95	16.66	9.15	97.65	89.81	9.85**	2.57**	45.47	50.69	2.35	10.39	54.53	49.31
Fracción 6	12	45	6.33**	7.66**	37.10	75.02	1.66**	2.77**	7.66	54.63	62.90	24.98	92.34	45.37
Fracción 7	48	85	10.91**	5.58**	63.95	54.65	5.0**	1.17**	23.08	23.07	36.05	45.35	76.92	76.93
Fracción 8	52	50	13.23**	5.6**	77.54	54.84	5.38**	1.0**	24.83	19.72	22.46	45.16	75.17	80.28
Fracción 9	84	75	9.76**	8.06*	57.20	78.94	1.71**	1.33**	7.89	26.23	42.80	21.06	92.11	73.77
Fracción 10	-	80	-	5.68**	-	55.63	-	0.93**	-	18.34	-	44.37	-	81.66

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

UN

Tabla 5L

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

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

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

Tabla 6L

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

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

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

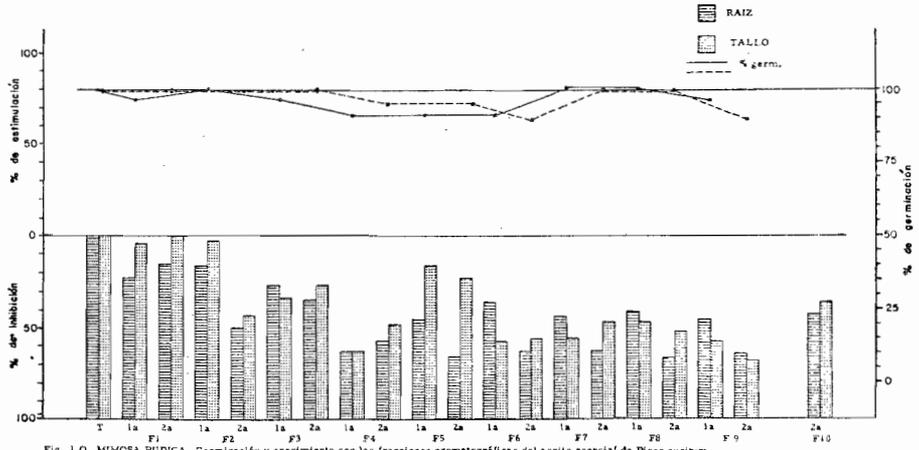


Fig. 1 O. MIMOSA PUDICA. Germinación y crecimiento con las fracciones cromatográficas del aceite esencial de *Piper auritum*.

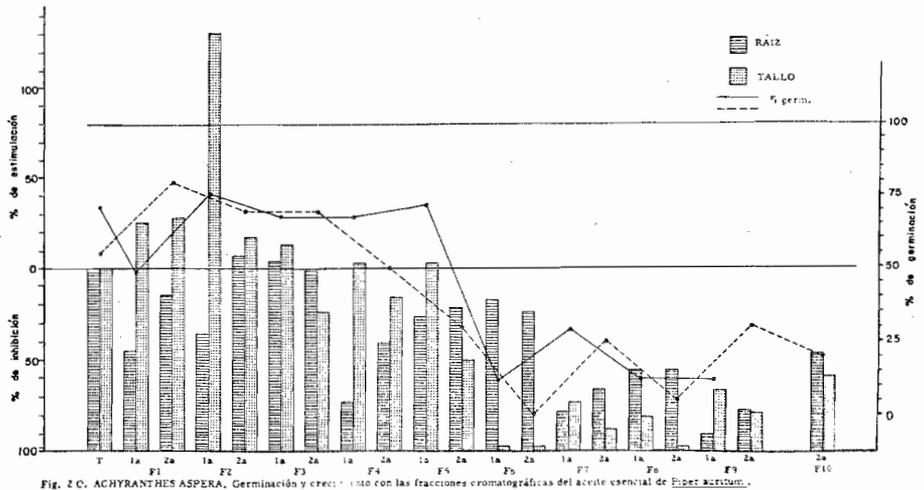


Fig. 2 C. ACHYRANTHES ASPERA. Germinación y crecimiento con las fracciones cromatográficas del aceite esencial de *Piper acrosum*.

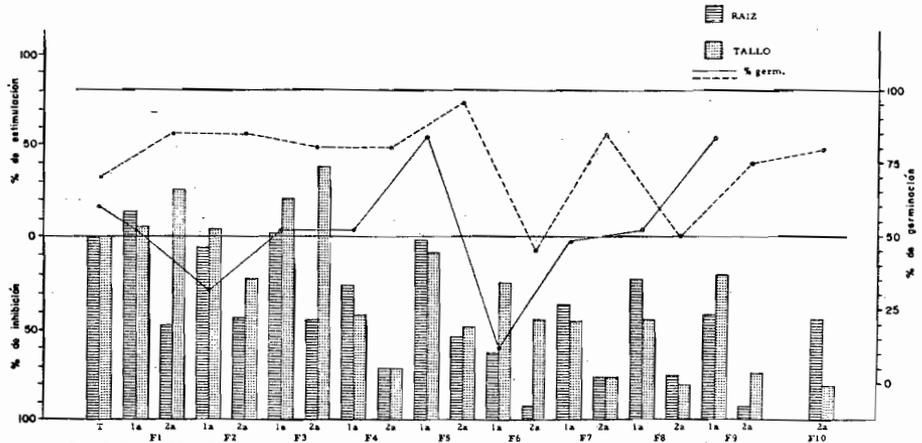


Fig. 5 O. HELIOPUS DONNELL-SMITHII. Germinación y crecimiento con las fracciones cromatográficas del aceite esencial de *Piper auritum*.

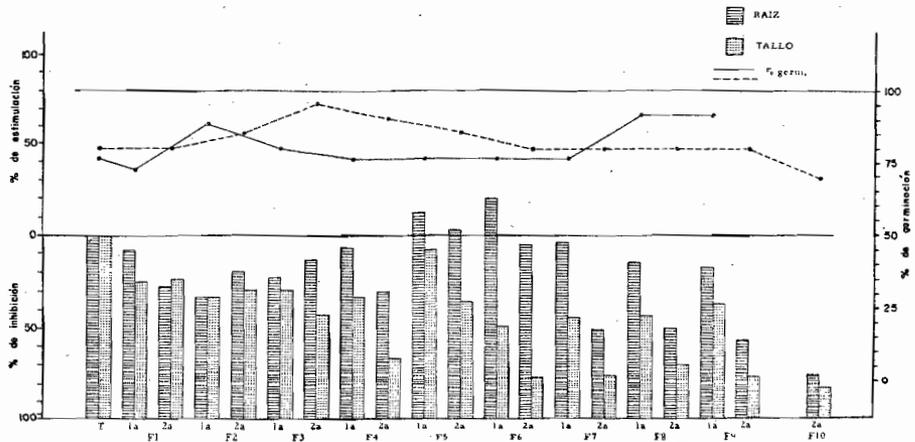


Fig. 4 O. CRUSEA CALOCEPHALA. Germinación y crecimiento con las fracciones cromatográficas del aceite esencial de *Piper auritum*.

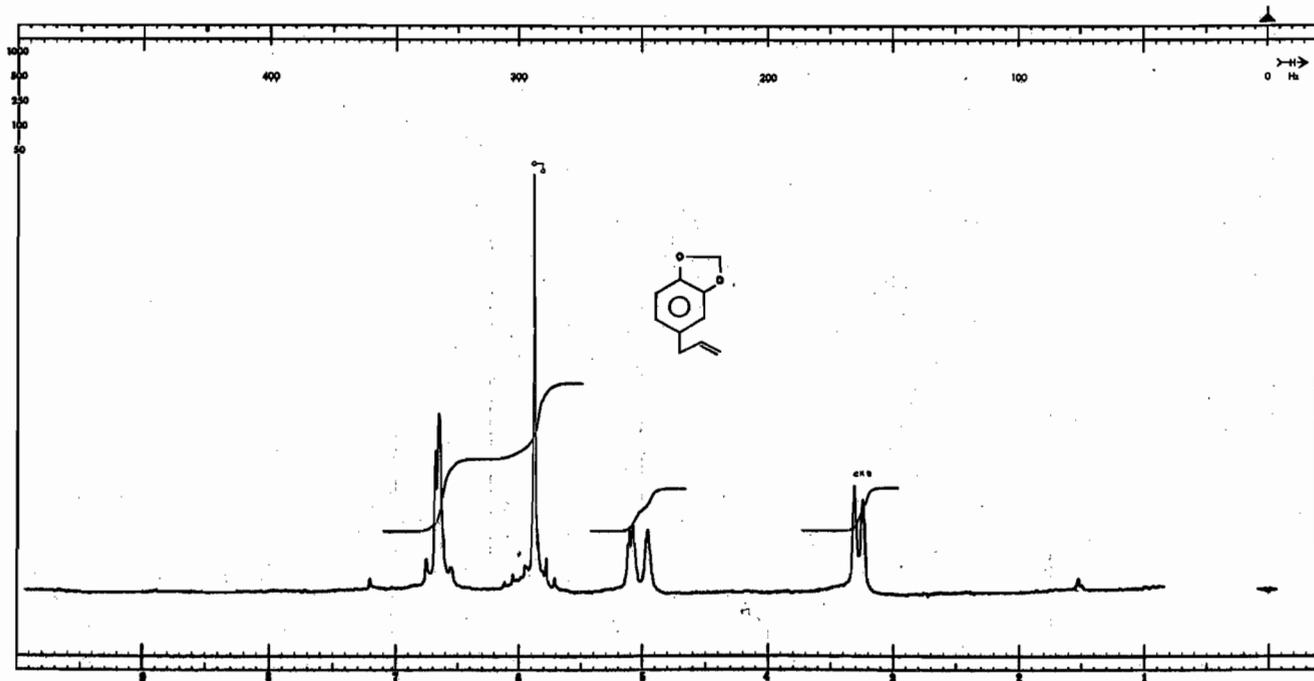


Figura 1P.- Espectro de Resonancia Magnética Nuclear del principal componente de la fracción No. 2. de la cromatografía en placa fina del aceite esencial de Piper auritum.

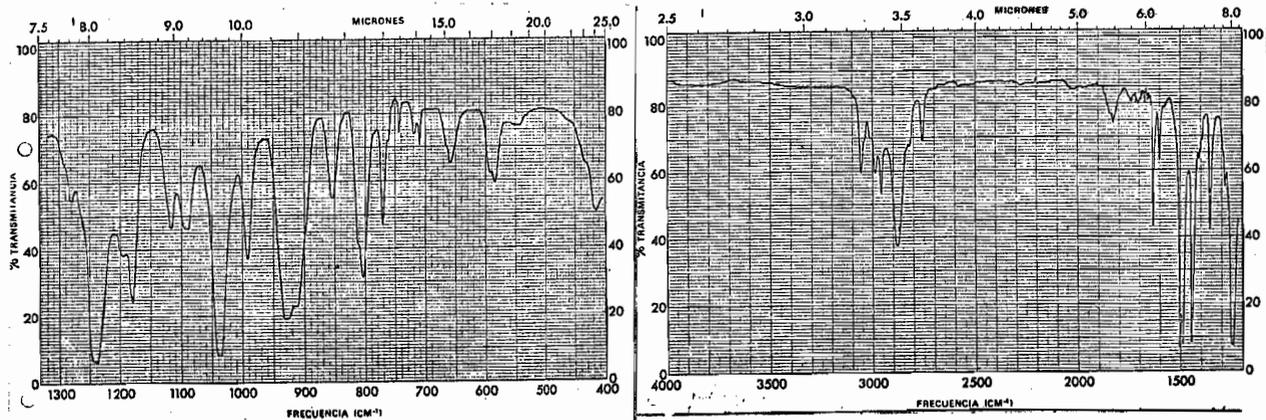


Figura 2P.-Espectro en el Infrarrojo del principal componente de la fracción No. 2 de la cromatografía en placa fina del aceite esencial de Piper auritum.

f) Pruebas con el Safrol e isómeros.

Siendo el Safrol el componente más abundante en el aceite esencial de P. auritum y habiéndose obtenido una cantidad apreciable del mismo, se pensó en realizar con él algunas pruebas biológicas, en base a los antecedentes que se tienen sobre su toxicidad sobre los tejidos vivos. Junto con el Safrol se probaron algunas sustancias análogas con objeto de determinar a nivel molecular, el sitio de acción de estos compuestos. Las sustancias probadas fueron: Safrol, Isosafrol, Eugenol, Isoeugenol, Piperonal y Vainillina y los resultados de las pruebas biológicas se muestran en la tabla 1M y las figuras 1Q y 2Q. En ellas es posible apreciar en términos generales, que el Isosafrol es más tóxico que el Safrol, aunque el primero estimuló significativamente el crecimiento de la raíz de Bidens pilosa. El Eugenol e Isoeugenol producen efectos inhibitorios semejantes, pero son más tóxicos que el Safrol e Isosafrol y ninguno de los dos primeros produce estimulación. El Piperonal, inhibe en mayor proporción que la Vainillina el crecimiento de todas las especies. La Vainillina en cambio, estimuló a 1 mg de concentración, la raíz de Mimosa y Ochroma y el tallo de Heliocarpus. Además todas las especies resistieron, aunque muy inhibidas, la concentración más alta de Vainillina.

Tabla 1M

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

Especie Tratamiento	Mimosa pudica		Achyranthes aspera		Bidens pilosa		Ochroma lagopus		Heliocarpus donnell-smithii		Crusea calocephala	
	Raíz	Tallo	Raíz	Tallo	Raíz	Tallo	Raíz	Tallo	Raíz	Tallo	Raíz	Tallo
Safrol 3 mg.	16.89*	49.80**	35.65**	-8.56*	0.52	33.24**	27.66**	11.60*	6.98	42.90**	31.19**	20.00*
Isosafrol 3 mg.	47.80**	31.18**	53.47**	10.67*	-30.44**	46.66**	39.27**	33.97**	8.56	51.71**	28.95**	35.94**
Eugenol 3 mg.	22.30**	66.35**	68.69**	47.56**	48.19**	86.41**	33.41**	59.24**	33.36**	77.52**	75.64**	85.34**
Isoeugenol 3 mg.	36.90**	64.86**	63.88**	33.40**	55.70**	86.52**	30.43**	52.84**	27.73**	72.72**	78.04**	86.14**
Piperonal 1 mg.	29.61**	24.73*	28.24**	16.07*	43.10**	49.92**	13.52*	-20.0	39.25**	43.70**	39.56**	33.09**
Piperonal 3 mg.	49.64**	55.46**	70.79**	61.81**	100**	100**	100**	100**	86.32**	93.16**	57.15**	59.82**
Piperonal 5 mg.	100**	100**	100**	100**	100**	100**	100**	100**	100**	100**	100**	100**
Vainillina 1 mg.	-42.60**	-6.68	34.23**	26.23*	21.18*	11.06*	-32.75**	91.72**	4.77	-38.21**	22.72*	-5.32
Vainillina 3 mg.	32.01**	47.00**	59.11**	47.55**	53.00**	55.93**	35.14**	10.00	70.29**	79.46**	72.91**	100**
Vainillina 5 mg.	66.93**	82.41**	45.28**	60.82**	72.00**	82.66**	24.33*	16.8*	61.54**	62.88**	84.75**	65.25**

* Significativo al 5%

** Significativo al 1%

Fig. 10. Porcentaje de inhibición de la raíz de seis especies con el Safrol y compuestos análogos.

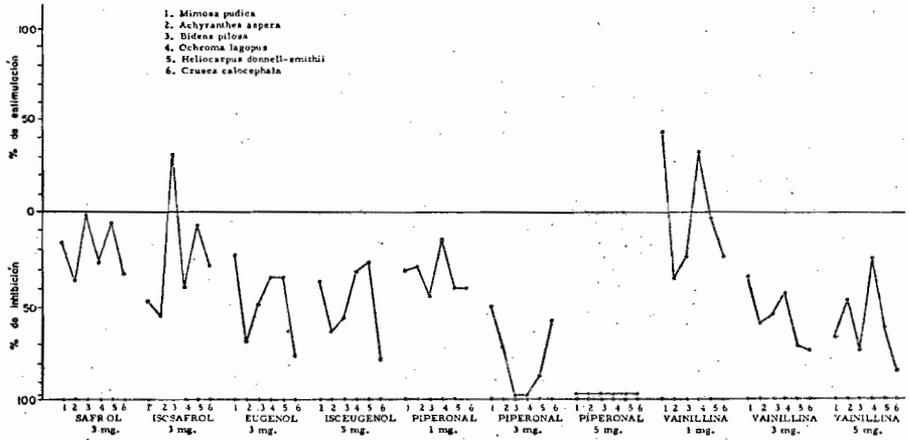


Fig. 20. Porcentaje de inhibición del tallo de seis especies con el Safrol y compuestos análogos.

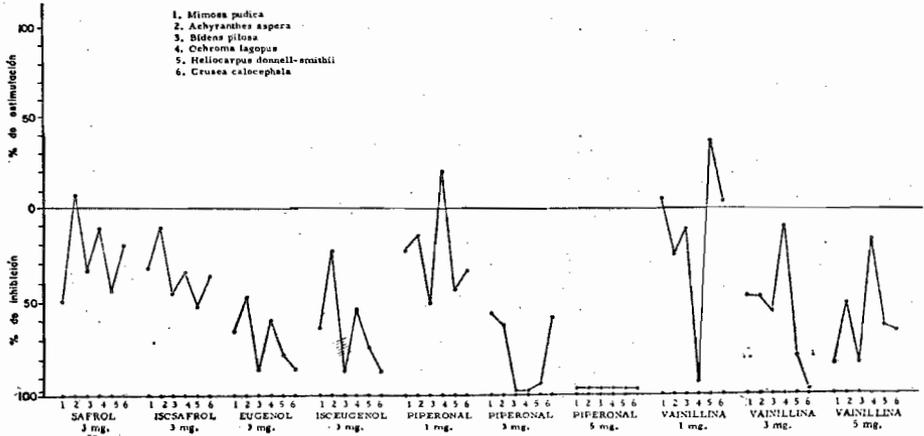
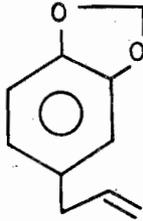
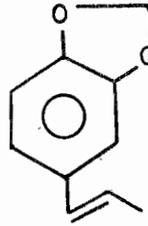


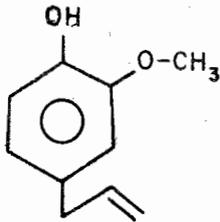
Figura. 1 R . Estructuras del Safrol y los isómeros utilizados.



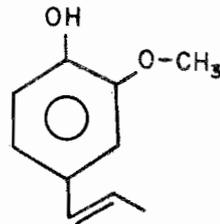
Safrol



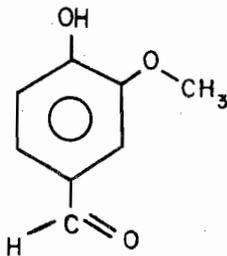
Isosafrol



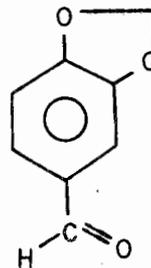
Eugenol



Isoeugenol



Vainillina



Piperonal

Cuadro general de los efectos relativos de los tratamientos utilizados en los bioensayos.

ESPECIES	Extractos acuosos de hojas		Extractos acuosos de raíces		Agua del lavado de las hojas		Soluciones de suelo		Aceite esencial	
	Inhibic.	Estimul.	Inhibic.	Estimul.	Inhibic.	Estimul.	Inhibic.	Estimul.	Inhibic.	Estimul.
<i>Piper auritum</i>	□□□□	★	□□	★★	□	★★	□□	★	□□□□	○
<i>Piper hispidum</i>	□□□□	★	□	★★	□□	★	□□	★	□□□□	○
<i>Croton pyramidalis</i>	□□□	○	□□	★★	□□	★★	□□□	★	□□	★★
<i>Cecropia obtusifolia</i>	□□	★★	○	★★★★	□	★	□□	○	—	—
<i>Siparuna nicaraguensis</i>	□□□	○	○	★★	□	★	□□	★	□□□	○

○ sin efecto

□ poco inhibidor
 □□ regularmente inhibidor
 □□□ muy inhibidor
 □□□□ altamente inhibidor

★ poco estimulante
 ★★ regularmente estimulante
 ★★★ muy estimulante
 ★★★★ altamente estimulante

Especies Solventes	Hexano		Benceno		Acetato de Etilo		Cloroformo		Acetona		Metanol		Agua	
	Inhib.	Estim.	Inhib.	Estim.	Inhib.	Estim.	Inhib.	Estim.	Inhib.	Estim.	Inhib.	Estim.	Inhib.	Estim.
<i>Piper hispidum</i>	□□□□	○	—	—	□□□□	○	—	—	□□□□	○	□□	○	□□	★
<i>Croton pyramidalis</i>	□□	★★	□□□□	○	—	—	□□□	○	□□	★	□□	★	□□□	○
<i>S. nicaraguensis</i>	□□	★	—	—	□□□□	○	—	—	—	—	□□□	★	□□	★
<i>Piper auritum</i>	□	★★	—	—	—	—	—	—	□□	★	□□□	★	—	—

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

El análisis general de los resultados obtenidos indica lo siguiente:

1. Se manifestó una gran variabilidad genética de semillas y plántulas, intra e interespecíficamente hablando, en las respuestas y reacciones de éstas a lo largo de todos los experimentos efectuados. Las grandes variaciones en el tiempo de germinación, porcentaje y duración de la viabilidad de los lotes de semillas, susceptibilidad a diversos factores, desde el uso de agua desionizada, fungicidas, tipo de sustrato, hasta métodos de escarificación, etc., sugirieron posibilidades prácticamente inagotables de adaptación biológica en todas las especies experimentales, a los diversos cambios del medio, independientemente de su índole. Estos cambios (biológicos, químicos y físicos) son presiones de selección que ponen a prueba la plasticidad de las especies en un continuo gradiente espacial y temporal. Obviamente esta plasticidad no se presentó a nivel individual.

2. Durante los bioensayos efectuados con los extractos acuosos de las hojas de todas las especies probadas:

Piper auritum

Piper hispidum

Croton pyramidalis

Siparuna nicaraquensis

Cecropia obtusifolia

Myriocarpa longipes

Urera caracasana

se obtuvieron pruebas irrefutables de la presencia en dichos órganos de compuestos inhibidores del crecimiento; y también fue posible apreciar el efecto estimulante de algunos de estos extractos, ya sea sobre el crecimiento de la raíz, del tallo o el porcentaje de germinación. Sin embargo, comparativamente hablando, los efectos inhibitorios superaron notablemente a los estimulantes y en algunos casos fueron contundentes, lo que habla claramente de la existencia de alelopáticos sumamente efectivos. Ninguna de las especies estudiadas había sido reportada como productora de alelopáticos.

3. Los extractos acuosos de raíces tuvieron ciertos efectos inhibitorios, pero de ningún modo comparables a los de las hojas. En cambio, fueron más estimulantes que éstas. Como consecuencia de estos resultados podría pensarse que el papel de las raíces de estas especies en las interacciones planta-planta, no incide básicamente en un efecto alelopático, sino que desempeña en la lucha competitiva, una función distinta, como por ejemplo el establecimiento de una mayor superficie de absorción de

iones o un especial control sobre aquellas poblaciones microbianas de importancia en los ciclos biogeoquímicos de algunos elementos clave durante la sucesión. Esto no elimina la posibilidad de que durante el proceso de descomposición de las raíces muertas, se produzcan compuestos alelopáticos (Amo y Anaya, 1975).

4. Los resultados obtenidos en los bioensayos con el agua del lavado de las hojas, demostró sin duda alguna lo siguiente:

- a) que efectivamente el agua es un medio común de transporte, arrastre o solución de todos aquellos compuestos liberados por el follaje de las plantas vivas hacia el medio ambiente.
- b) que estos compuestos lixiviados a través de las hojas, son de naturaleza diversa, seguramente orgánicos e inorgánicos, y que como consecuencia de ello produjeron efectos distintos en las plántulas de los experimentos.
- c) que en todos los casos en que se obtuvo una disminución en el crecimiento o la germinación, ésto se debió a la presencia de alelopáticos en el agua.

d) que seguramente el estado fenológico de la planta, la edad de las hojas, la hora del día, la temperatura y la humedad del medio, entre otras causas, influyen decisivamente en la cantidad y calidad de los metabolitos lixiviados. Al no haber control sobre estas variables, se obtuvieron respuestas distintas en ambas colectas.

5. Los resultados con las soluciones de suelo fueron extraordinariamente reveladores. Sin lugar a dudas algunos de los suelos contenían ciertos principios tóxicos que se lograron extraer parcialmente mediante un simple lavado con agua destilada. La inhibición repetida que ejerció, por ejemplo el suelo de Croton pyramidalis, no deja dudas al respecto. Algunos de los metabolitos liberados ya sea a través de una excreción activa o de la descomposición de la materia orgánica muerta pueden desempeñar un doble papel como hormonas ambientales, o sea inhibiendo y estimulando a la vez a diversos organismos. Más aún, es posible considerar dentro del complejo edáfico de las comunidades secundarias, toda la gama de interacciones entre los organismos de una misma especie y de diferentes especies, determinada por la existencia de autotoxinas, feromonas, alomonas, kairomonas, depresores, etc., amén de gran variabilidad de sales inorgánicas, todas ellas evidenciables en las variadas respues-

tas que provocaron en las semillas y plántulas, las soluciones de los distintos suelos muestreados.

6. En términos generales fue posible apreciar que hubo un mayor efecto alelopático sobre la mayoría de las plantas de tres de las especies que coinciden también en ser comúnmente dominantes en algunas etapas serales: Piper hispidum, P. auritum y Croton pyramidalis. Es importante señalar esta coincidencia, que necesariamente nos lleva a considerar el papel de los alelopáticos existentes en las hojas de estas tres especies, durante la competencia por el establecimiento, permanencia y dominancia dentro de las comunidades secundarias, sean iniciales o avanzadas. El caso contrario de esta coincidencia, entre la producción de alelopáticos y la dominancia, es el de Cecropia obtusifolia que abunda notablemente en la zona y es dominante o codominante en numerosas comunidades. Sin embargo Cecropia no tuvo efectos alelopáticos significativos más que sobre una sola especie: Ochroma lagopus. Algunos de los resultados obtenidos con la solución de hojas, raíces, agua del lavado de las hojas y soluciones de suelo, hablan claramente de una interacción alelopática manifestada por la inhibición de la germinación y el crecimiento de Ochroma con los diversos tratamientos de Cecropia.

7. Los alelopáticos detectados durante los bioensayos y aquellos que pudieron aislarse parcial o totalmente, demues-

tran una estructura química diferente, palpable no sólo en la configuración, sino en la multiplicidad de efectos producidos. Algunos de estos efectos parecen estar relacionados con la acción de las auxinas en los tropismos, con la síntesis de clorofila, con la inhibición del ácido nucléico y la síntesis de proteínas. Algunos alelopáticos exhibieron influencia perjudicial sobre la germinación o sobre el crecimiento ya sea de raíz o tallo, invirtieron el tropismo normal de las plántulas, provocaron albinismo o cambios en la coloración (sobre todo de la raíz), produjeron pudrición, especialmente de la raíz, fragilidad de los tejidos e imposibilidad de recuperación de la raíz principal (manifestada por la aparición de raíces secundarias), entre otros síntomas. En este sentido cabe mencionar especialmente a los aceites esenciales de P. auritum y P. hispidum y a algunos extractos orgánicos como el bencénico de C. pyramidalis. Si extrapoláramos estos efectos experimentales al medio natural, veríamos que las plantas sometidas a ellos serían extraordinariamente lábiles a cualquier cambio e incapaces de sobrevivir por mucho tiempo. Y en efecto, no sólo las plantas, sino todos los organismos deben enfrentarse a este tipo de presiones que han de seleccionar tarde o temprano a las especies capaces de adaptarse. Sin embargo, extrapolar llanamente los resultados, sería además de arriesgado, absurdo, pues las concentraciones utilizadas decrecen notablemente a la vez que aumenta considerablemente la va

riabilidad de los metabolitos en el medio, si tomamos en cuenta además, todos los que son producidos por los microorganismos del suelo y otros organismos no considerados. Cabe de todas maneras, tenerlos presentes como un factor más en el estudio de las relaciones bióticas existentes en toda comunidad, máxime si esta se encuentra en proceso de cambio continuo, es decir en una sucesión secundaria.

8. Se observó con frecuencia una franca especificidad y selectividad en la acción de los alelopáticos detectados, sobre las distintas especies utilizadas en los experimentos. Es posible que este hecho permita a las especies resistentes a una determinada toxina, convivir con la productora de la misma o su cederla en el proceso de sucesión secundaria, aún en los momentos en que el nivel de alelopáticos fuera alto y significativo para la supresión de las especies sensibles y al contrario, la presencia de un compuesto tóxico específico determinaría la desa parición o escasez de aquellas especies sensibles a él.

9. En el caso de aquellos tratamientos que inhibieron a todas las especies experimentales, fue posible apreciar que unas resultaron más resistentes que otras a dicha acción. Mimo-sa, Bidens y Ochroma son ejemplo de resistencia a los diversos tratamientos, mientras que Achyranthes, Heliocarpus y Crusea, en tre otras, lo son de susceptibilidad.

10. El extracto bencénico de Croton pyramidalis contiene básicamente, el o los agentes alelopáticos principales de esta especie, que permanecieron en él aún después de haberse extraído la flavona y el diterpeno, sólo que las cantidades disponibles del extracto no permitieron técnicas más depuradas de aislamiento y éste aún no se realiza.

11. El aceite de P. auritum, que logró estudiarse con más detalle, puede ser el mecanismo alelopático principal de esta especie, aunque no el único. Dentro de los compuestos principales que lo forman, la toxicidad de el p-cimeno, terpineno y mirceno se puso de manifiesto en las pruebas con las fracciones cromatográficas del aceite, pues fueron precisamente las fracciones de menor polaridad las más inhibitorias, a pesar de que el Safrol constituye la mayor parte del aceite esencial. Las pruebas con los isómeros del Safrol, no permitieron establecer a nivel molecular el sitio de acción inhibitoria. Una consideración muy importante al valorar estas sustancias responsables de la alta toxicidad de los aceites esenciales que las contienen, es que debido a que muchas de ellas son volátiles, su liberación al medio ambiente puede ser independiente de la lixiviación por el agua de lluvia y estar controlada sobre todo por la temperatura y por la humedad relativa. Tal mecanismo de liberación y transporte, implicaría mayores concentraciones de estos compuestos en un sitio y en un momento determinado, por lo que estarían en posibilidad

dad de penetrar fácilmente las membranas celulósicas jóvenes, aún no lignificadas, de las raicillas y hojas, debido a su naturaleza liposoluble y afectar de esa manera a los tejidos vivos.

12. Respecto a los inhibidores contenidos en frutos y semillas de Siparuna nicaraguensis, puede decirse que son los mismos que al mismo tiempo que ejercieron un efecto inhibitor sobre otras especies, constituyen el obstáculo principal para que las propias semillas de Siparuna germinen, aún bajo rigurosos tratamientos conducentes a romper la latencia, lo que seguramente influye en la escasa regeneración natural observada de esta especie.

13. El destino de los inhibidores detectados después de abandonar a la planta o al material orgánico de donde provienen, es aún incierto. Es probable que algunos logren permanecer por largo tiempo en el suelo y otros ser sumamente lábiles a la descomposición microbiana. En ambos casos la efectividad puede no radicar en ese hecho, sino en otros distintos, tales como su continúa liberación al medio o su transformación en compuestos intermedios aún más tóxicos. Pero solamente el estudio minucioso y detallado de cada alelopático en particular desde su fuente de origen hasta el sustrato donde actúa, así como de los mecanismos de acción celulares de los mismos, permitirán entender el verdadero significado de estas sustancias en condicio

nes naturales.

14. Los datos obtenidos hasta este momento, permiten darse cuenta que la alelopatía como un fenómeno ecológico es extraordinariamente complejo, debido al sinnúmero de factores bióticos y abióticos que interactúan con los alelopáticos en el tiempo y en el espacio. También permiten comprobar que la alelopatía es un fenómeno muy importante dentro de cualquier comunidad y que debe tomarse en consideración si es que se quiere hacer un análisis completo de los principales factores que determinan la dinámica de poblaciones y comunidades. La alelopatía, dependiendo de las condiciones climáticas, edáficas y biológicas, se presenta y actúa como proceso ecológico cuando todos los requisitos necesarios para ello están presentes, por lo que no puede esperarse que sea un fenómeno constante y homogéneo, sino que se presenta en forma limitada y escalonada en el tiempo y en el espacio, y sobre todo selectiva, actuando de manera directa o indirecta del productor al receptor.

Es necesario también valorar la posible aplicación resultante de toda búsqueda de inhibidores o estimulantes del crecimiento, sobre todo en las plantas, que como las tropicales ofrecen una riqueza potencial de metabolitos secundarios extraordinaria y casi totalmente desconocida. Esto permitirá sin duda el descubrimiento de nuevos usos y nuevos productos en beneficio de la humanidad.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- ALENCAR, R. de, ALVES DE LIMA, R., CAMPOS CORREA, R. G., GATTLIEB, O. R., MARX, M. C., LEAD DA SILVA, M., SOARES MAIA, J. G., TAVEIRA MAGALHAES, M., VIEGAS ASSUMPACAO, R. M. 1971.
Oleos essenciais de plantas brasileiras.
Acta Amazonica 1(2):41-43
- AL-NAIB, F. A. G. y E. L. RICE. 1971.
Allelopathic effects of Platanus occidentalis.
Bull. Torrey Bot. Club 98:75-82.
- AMO, S. del y A. L. ANAYA. 1975.
Estudios de alelopatía en Ambrosia: papel de las lactonas sesquiterpénicas en las interacciones competitivas entre las especies ruderales.
Resúmenes del VI Congreso Mexicano de Botánica, Jalapa, Ver. México.
- BAKER, H. G. 1966.
Volatile growth inhibitors produced by Eucalyptus globulus.
Madroño 18:207-210.
- BARTHOLOMEW, B. 1970.
Bare zone between California shrub and grassland communities: The role of animals.
Science 170(3963):1210-1212.
- BASKIN, J. M., C. J. LUDLOW, T. M. HARRIS y F. T. WOLF. 1967.
Psoralen, an inhibitor in the seeds of Pssoralea subacaulis (Leguminosae).
Phytochemistry 6:1209-1213.

- BEHEMER, D. E. y T. M. McCALLA. 1963.
The inhibition of seedling growth by crop residues in soil inoculated with Penicillium urticae Bainer.
Plant and Soil(2):199-206.
- BLUM, U. y E. L. RICE. 1969.
Inhibition of symbiotic nitrogen fixation by gallic and tannic acid, and possible roles in old field succession.
Bull. Torrey Bot. Club 96(5):531-544.
- BONNER, J. y A. W. GALSTON. 1944.
Toxic substances from the culture media of guayule which may inhibit growth.
Bot. Gazette 106:185-198.
- BONNER, J. 1946.
Further investigations of toxic substances which arise from guayule plants: relation of toxic substances to the growth of guayule in soil.
Bot. Gazette 107:343-351.
- BRIAN, P. W. 1957.
Effects of antibiotics on plants.
Ann. Rev. Plant Physiol 8:413-426.
- BROWN, P. T. 1967.
Influence of naturally occurring compounds on germination and growth of Jack pine.
Ecology 48(4):542-546.
- CANDOLLE, A. P. de. 1832.
Physiologie vegetale 3:1474.
- COLLERA ZUÑIGA, O. 1956.
Estudio del aceite esencial de Piper auritum.
Tesis: Fac. Cien. Quím. UNAM.

- CORNFORTH, I. S. 1970.
Leaf fall in a tropical rain forest.
J. Appl. Ecology 7(3):603-608.
- CURTIS, L. C. 1944.
The exudation of glutamine from lawn grass.
Plant Physiol 19(1):1-5.
- DE BELL, D. S. 1971.
Phytotoxic effects of cherry bark oak.
Forest Sci 17(2):180-185.
- ERDOS, J. y L. HOYO. 1970.
Observación de la acción bactericida de las
emanaciones de algunos vegetales.
Medicina Tomo L. Año LI 1087:323-327. México.
- EVENARI, M. 1961.
Chemical influences of other plants (Allelopathy).
Handbuch der Pflanzenphysiologie 16:691-736.
- FERENCZY, L. 1956.
Antibacterial substances in Seeds.
Nature 178(4534):639-640.
- FLORENCE, R. G. y R. L. CROCKER. 1962.
Analysis of Blackbutt (Eucalyptus pilularis SM)
seedling growth in a Blackbutt forest soil.
Ecology 43(4):670-679.
- FREI, SISTER J. K., OP y C. H. DODSON. 1972.
The chemical effect of certain bark substrates
on the germination and early growth of epiphytic
orchids.
Bull. Torrey Bot. Club 99(6):301-307.
- FRIMMEL, VON G. 1961.
Importance of germination inhibition of
substances in soils.
Bodenkultur 12:116-122.

FUNKE, G.L. 1943.

The influence of Artemisia absinthium on
neighbouring plants.
Blumea 5(2):281-422.

GANT, R. E. y E. E. C. CLEBSCH. 1975.

The allelopathic influences of Sassafras
albidum in old field succession in Tennessee.
Ecology 56:604-615.

GARB, S. 1961.

Differential growth inhibitors produced by plants.
Bot. Rev 27:422-443.

GARRARD, A. 1956.

The effect of fruit sap on the germination of
four species of tropical plants.
Gardens Bull. S. 15:276-284.

GERSPER, P. L. y N. HOLOWAYCHUK. 1970.

Some effects of stem flow from forest canopy
trees on chemical properties of soils.
Ecology 52(2):691-702.

GOMEZ-POMPA, A., A. L. ANAYA, F. GOLLEY, G. HARTSHORN,
D. JANZEN, M. KELLMAN, L. NEVLING, J. PEÑALOSA, P.
RICHARDS, C. VAZQUEZ y P. ZINKE. 1974.

Recovery of tropical ecosystems. In: Farnworth,
E. G. y Golley, F.B. (Ed.) Fragile Ecosystems.
Springer-Verlag, New York, Heidelberg, Berlin.

GONNET, M. 1968.

Propriétés phytoinhibitrices de quelques
substances extraites de la colonie d'abeilles
(Apis mellifica L.) I Action sur la croissance
de Lactuca sativa.
Ann. Abeille 11(1):41-47

- GRAY, R. y J. BONNER. 1948.
An inhibitor of plant growth from the leaves of
Encelia farinosa.
Amer. J. Bot 35:52-57.
- GRUMMER, G. 1961.
The role of toxic substances in the interrelation-
ships between higher plants
Symp. Soc. Exp. Biol. XV. Mechanisms in Biological
Competition. Cambridge Univ. Press. 219-228pp.
- GUENZI, W. D. y T. M. McCALLA. 1962.
Inhibition of germination and seeding development
by crop residues.
Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 26:456-458.
- HARO GUZMAN, L. y Y. SILVA DE ESQUIVEL.
El aceite esencial de Hoja Santa (Piper auritum).
Perfumería Moderna 72:37-40.
- HEGNAUER, R. 1969.
Chemotaxonomie Der Pflanzen.
Birkhauser Verlag. Basel und Stuttgart.
- JONAS, H. 1969.
Growth retardation by excretion from the roots
of Mimosa pudica L.
Z. Pflanzphysiol. Bd 60:228-231.
- KAR, A. y S. R. JAIN. 1971.
Antibacterial evaluation of some indigenous
medicinal volatile oils.
Qual. Plant Mater Veg 20(3):231-237.
- KNIPE, D. y C. H. HERBEL. 1966.
Germination and growth of some semidesert grassland
species treated with aqueous extract from Creosotebush.
Ecology 47(3):775-781.

- KORMONDY, E. J. 1969.
Concepts of Ecology.
Prentice Hall, Englewood Cliffs, N.J.
- LANGHAMMER, L. 1971.
Piper auritum - an anatomical-histochemical
study. Use of Piperaceae in popular medicine.
Plants Med 19(1):63-70.
- LAVOLLAY, J. 1951.
Une methode sensible et précise pour l'etude des
inhibiteurs ou des activateurs de la germination.
Mem. Soc. Bot. France:163-173.
- LE TOURNEAU, D. L., G. D. FAILLES y H. G. HEGGENESS.
1956.
The effect of aqueous extracts of plant tissue
on germination of seeds and growth of seedlings.
Weeds 4:363-368.
- LE TOURNEAU, D. L. y H. G. HEGGENESS. 1957.
Germination and growth inhibitors in leafy
spurge foliage and quackgrass rhizomes.
Weeds 5:12-19.
- LIEBIG, J. VON. 1852.
Complete works on chemistry.
- LIVINGSTON, B. E. 1923.
Some physiological aspects of soil toxicity.
J. Amer. Soc. Agron 15(8):313-323.
- LOCKHEAD, A. G. 1958.
Soil bacteria and growth promoting substances.
Bact. Rev 22:145-53.
- LOCKHEAD, A. G. y M. O. BURTON. 1953.
An essential bacterial growth factor produced
by microbial synthesis.
Canad. J. Bot. 31:7-22.

- LODHI, M. A. K. y E. L. RICE. 1971.
Allelopathic effects of Celtis laevigata.
Bull. Torrey Bot. Club 98(2):83-89.
- LUCAS, C. E. 1961.
The ecological effect of external metabolites.
Symp. Soc. Exp. Biol 15:190-206.
- MARINERO, R. M. 1962.
Influencia de Melinis minutiflora Beauv. en el
crecimiento de Cordia alliodora (R y P) Cham.
Tesis de maestría, Inst. Cs. Agr. Turrialba,
Costa Rica.
- MCCALLA, T. M. y F. A. HASKINS. 1964.
Phytotoxic substances from soil microorganisms
and crop residues.
Bact. Rev 28(2):181-207.
- MCCOLL, J. G. 1970.
Properties of some natural waters in a tropical
wet forest of Costa Rica.
BioScience 20(20):1096-1100.
- MCNAUGHTON, S. J. 1968.
Autotoxic feedback in relation to germination
and seedling growth in Typha latifolia.
Ecology 49(2):367-369.
- MCPHERSON, J. K. 1972.
Competitive and allelopathic suppression of
understory by Oklahoma oak forests.
Bull. Torrey Bot. Club 99(6):293-300.
- MCPHERSON, J. K. y C. H. MULLER. 1969.
Allelopathic effects of Adenostoma fasciculatum,
"Chamise", in the California Chaparral.
Ecol. Monogr 39(2):177-198.

- MIXON, A. C. y E. A. CURL. 1967.
Influence of plant residues on Sclerotium rolfsii
and inhibitory soil microorganisms.
Crop Sc 7:641-644.
- MOJE, W. 1966.
Organic soil toxins. In: Diagnostic criteria for
plants and soils. H. D. Chapman (Ed.).
Univ. California. Div. Agric. Sc.
- MOORE, T. C. 1963.
A germination inhibitor in achenes of Cercocarpus
montanus.
Ecology 44(2):406-409.
- MORAL, R. del y C. H. MULLER. 1969.
Fog drip: a mechanism of toxin transport from
Eucalyptus globulus.
Bull. Torrey Bot. Club 96(4):467-475.
- MORAL, R. del y C. H. MULLER. 1970.
The allelopathic effects of Eucalyptus camaldu-
lensis.
Amer. Midl. Nat 83(1):254-282.
- MORAL, R. del y R. G. CATES. 1971.
Allelopathic potential of the dominant vegetation
of Western Washington.
Ecology 52(6):1030-1037.
- MOSTER, A. R., K. HAIDER y F. E. CLARK. 1972.
Water soluble organic substances leachable from
feedlot manure.
J. Environ. Qual 1:320-323.
- MULLER, C. H. 1966.
The role of chemical inhibition (Allelopathy) in
vegetational composition.
Bull. Torrey Bot. Club 93(5):332-351.

- MULLER, C. H. 1969.
Allelopathy as a factor in ecological process.
Vegetatio Haag 18:348-357.
- MULLER, C. H. 1970.
Phytotoxins as plant habitat variables.
Recent Advances in Phytochemistry 3:105-127.
- MULLER, C. H. y R. del MORAL. 1966.
Soil toxicity induced by terpenes from Salvia leucophylla.
Bull. Torrey Bot. Club 93:130-137.
- MULLER, C. H., R. B. HANAWALT y J. K. McPHERSON. 1968.
Allelopathic control of herb growth in the fire cycle of California Chaparral.
Bull. Torrey Bot. Club 95(3):225-231.
- MULLER, W. H. 1965.
Volatile material produced by Salvia leucophylla: effects on seedling growth and soil bacteria.
Bot. Gaz 126(3):195-200.
- MULLER, W. H., P. LORBER, B. HALEY y K. JOHNSON. 1969.
Volatile growth inhibitors produced by Salvia leucophylla: effect on oxygen uptake by mitochondrial suspensions.
Bull. Torrey Bot. Club 96(1):89-95.
- MULLER, W. H. y C. H. MULLER. 1956.
Association patterns involving desert plants that contain toxic products.
Amer. J. Bot 43(5):354-361.
- NIGRELLI, F. R. 1963.
Antibiotics in sea water. In: Aufferberg, W. (Ed.). Metabolites of the Sea. D. C. Heath and Co. Boston. pp. 21-25. (BSCS Pamphlets 17).

- NORMAN, A. G. 1960.
The action of Duramycin on plant roots.
Soil Sc. Soc. Amer. Proc 24(2):109-111.
- OLMSTED, CH. E. y E. L. RICE. 1970.
Relative effects of known plant inhibitors
on species from first two stages of old field
succession.
Southwest Nat 15(2):165-173.
- OOYAMA, N. 1954.
The growth inhibiting substances contained in
the leaf litter of the trees. The inhibiting
effect on germination of the coniferous seeds.
J. Japan. Forest 36:38-41.
- OVERLAND, L. 1966.
The role of allelopathic substances in the
"smother crop" barley.
Amer. J. Bot. 53(5):423-432.
- PARENTI, R. L. y E. L. RICE. 1969.
Inhibitional effects of Digitaria sanguinalis
and possible role in old-field succession.
Bull. Torrey Bot. Club 96:70-78.
- PIANKA, E. R. 1974.
Evolutionary ecology.
Harper and Row, Publ., New York, Evanston,
San Francisco, London.
- POLJAKOFF-MAYBER, A., A. M. MAYER y S. ZACKS. 1957.
The interaction of Thiourea and Coumarin in
germination and growth of Lettuce.
Bull. Res. Council. Israel 6:118-124.
- PUTNAM, A. R. y W. B. DUKE. 1974.
Biological suppression of weeds: evidence for
allelopathy in accessions of cucumber.
Science 185:370-372.

- QUARTERMAN, E. 1973.
Allelopathy in Cedar Glade plant communities.
J. Tennessee Ac. Sc. 48:(4):147-150.
- REED, H. S. y F. F. HALMA. 1919.
The evidence for a growth inhibiting substance
in the pear tree.
The Plant World 22(8):239-247.
- REED, H. S. y F. F. HALMA. 1919.
On the existence of growth inhibiting substances
in the chinese lemon.
Univ. Calif. Publ. Agric. Sci 4(3):99-112.
- RICE, E. L. 1967.
Chemical warfare between plants.
Bios 38:67-74.
- RICE, E. L. 1974.
Allelopathy.
Acad. Press, New York, San Francisco, London.
- RICE, E. K. y R. L. PARENTI. 1967.
Inhibition of nitrogen fixing and nitrifying
bacteria by seed plants. V. Inhibitors produced
by Bromus japonicus Thunb.
Southwest Nat 12(1):97-103.
- RICO, B. M. 1972.
Estudio de la sucesión secundaria en la Estación
de Biología Tropical de los Tuxtlas, Veracruz.
Tesis Prof. Fac. Cien. UNAM, México.
- RICO, M., N. AGUILERA y A. L. ANAYA. 1972.
Extracción de las resinas de los suelos de comu-
nidades primarias y secundarias y efectos de las
resinas sobre especies secundarias de una zona
tropical de México.
Resúmenes del I Congreso Latinoamericano y V
Mexicano de Botánica: 83.

- ROVALO, M. 1973.
Detección de inhibidores de la germinación y del crecimiento en las hojas de Piper hispidum.
Tesis Lic. Fac. Cien. UNAM, México.
- ROVIRA, A. D. 1969.
Plant root exudates.
Bot. Rev 35(1):35-57.
- SCHLATTERER, E. F. y E. W. TISDALE. 1969.
Effects of litter of Artemisia, Chrysothamnus, and Tortula on germination and growth of three perennial grasses.
Ecology 50(5):870-873.
- SEN, D. N. y D. D. CHAWAN. 1970.
Ecology of desert plants and observations on their seedlings. The influence of aqueous extracts of Prosopis juliflora DC. on Euphorbia caducifolia Haines.
Vegetatio 21(4-6):277-298.
- SIVORI, E. M. y J. E. WURCELDORF-WARDEN. 1949.
Un inhibidor en Matthiola incana.
Lilloa 19:49-70.
- SMITH, I. K. y L. FOWDEN. 1966.
A study of mimosine toxicity in plants.
J. Exp. Bot 17:750-761.
- SPENCER, D. M. 1963.
Antibiotics in seeds and seedling plants.
Proc. Easter. Sch. Agr. Sci. Univ. Nottingham 9:125-146.
- STARKEY, R. L. 1958.
Interrelations between microorganisms and plant roots in the rhizosphere.
Bact. Rev 22:154-172.

- STRASBURGER, E. 1963.
Tratado de Botánica.
Edit. Marin, S. A.
- TAYLOR, H. F. y T. A. SMITH. 1967.
Production of plant growth inhibitors from
xanthophylls: a possible source of Dormin.
Nature 215:1513-1514.
- TINNIN, R. O. y C. H. MULLER. 1971.
The allelopathic potential of Avena fatua:
influence on herb distribution.
Bull. Torrey Bot. Club 98:243-250.
- TRUOG, E. y J. SYKORA. 1917.
Soil constituents which inhibit the action of
plant toxins.
Soil Sciences 3.
- TUKEY, H. B. Jr. 1966.
Leaching of metabolites from above-ground plant
parts and its implications.
Bull. Torrey Bot. Club 93(6):385-401.
- TUKEY, H. B. Jr. 1969.
Implications of allelopathy in agricultural
plant science.
Bot. Rev 35(1):1-16.
- TUKEY, H. B. Jr. 1970.
Leaching of metabolites from foliage and its
implication in the tropical rain forest. In:
Odum, H. T. (Ed.). A Tropical Rain Forest.
Div. Techn. Inform. U. S. Atomic Energy Commission,
Washington, D. C.
- TUKEY, H. B. Jr. 1970.
The leaching of substances from plants.
Ann. Rev. Plant Physiol. 21:305-324.

- TUKEY, H. B. Jr. 1964.
Leaching of metabolites from foliage and subsequent reabsorption and redistribution of the leachate in plants.
Amer. J. Bot 51(7):737-742.
- VAZQUEZ-YAÑEZ, C. 1974.
Estudios sobre ecofisiología de la germinación en una zona cálido-húmeda de México.
Tesis Doctoral Fac. Cienc. UNAM, México.
- WALLER, G. R. y H. BURSTROM. 1969.
Diterpenoid alkaloids as plant growth inhibitors.
Nature 222:576-578.
- WANG, T. S. C., T. K. YANG y T. T. CHUANG. 1967.
Soil phenolic acids as plant growth inhibitors.
Soil Sci 103(4):239-246.
- WAREING, P. F. y G. RYBACK. 1970.
Abscisic acid: a newly discovered growth regulating substance in plants.
Endeavour 29(107):84-88.
- WEBB, L. J., J. G. TRACEY, y K. P. HAYDOCK. 1967.
A factor toxic to seedlings of the same species associated with living roots of the non-gregarious subtropical rain forest tree Grevillea robusta.
J. Appl. Ecol. 4:13-25.
- WHITEHEAD, D. C. 1964.
Identification of p-hydroxybenzoic, vanillic, p-coumaric and ferulic acids in soils.
Nature 202(4930):417-418.
- WHITTAKER, R. H. y P. P. FEENY. 1971.
Allelochemicals: Chemical interactions between species.
Science 171:757-770.

WILSON, R. E. y E. L. RICE. 1968.
Allelopathy as expressed by Helianthus annuus
and its role in old field succession.
Bull. Torrey Bot. Club 95:432-448.

WOODS, F. W. 1960.
Biological antagonisms due to phytotoxic root
exudates.
Bot. Rev 26:546-569.

WRIGHT, J. M. 1951.
Phytotoxic effects of some antibiotics.
Ann. Bot, N. S. 15(60):493-499.

YARDENI, D. y M. EVENARI. 1952.
The germination inhibiting, growth inhibiting
and phytocidal effects of certain leaves and
leaf extracts.
Phyton 2:11-16.