

ACTIVIDAD ALELOPÁTICA DE *HENRIETTELLA TRACHYPHYLLA* (MELASTOMATACEAE)

ALLELOPATHIC ACTIVITY OF *HENRIETTELLA TRACHYPHYLLA* (MELASTOMATACEAE)

José Hipólito Isaza¹, Francisco Javier Jiménez¹, Luz Angela Veloza¹, Luz Stella Ramírez¹

Resumen

Se evaluó la actividad alelopática de *Henriettella trachyphylla* en semillas de lechuga (*Lactuca sativa*); se encontró un efecto inhibitor selectivo para hipocótilos, mientras que en epicótilos se determinó una actividad promotora de crecimiento. Los compuestos responsables de esta actividad podrían usarse como herbicida o como fitohormona.

Palabras clave: actividad alelopática, *Henriettella trachyphylla*, *Lactuca sativa*, Melastomataceae.

Abstract

The allelopathic activity of *Henriettella trachyphylla* was evaluated in seeds of lettuce (*Lactuca sativa*); a selective inhibitory effect was found for hypocotil while growth promotor for epicotil was determined in epicotil. Compounds with this activity may be used as phytohormones or growth promoters.

Key words: allelopathic activity, *Henriettella trachyphylla*, *Lactuca sativa*, Melastomataceae.

INTRODUCCIÓN

Henriettella trachyphylla Triana (Melastomataceae) no ha sido estudiada en cuanto a su química y farmacognosia. Solo se tienen reportes de *H. fascicularis* (SW.) Wright, de la cual se aislaron los compuestos 4',5,7-trihidroxi-6,8-dimetiliso flavona, ácido sesterterpenoico, lichexantona, (-)-pinosinol, ácido betulínico, ácido palmítico, b-sitosterol y taxiphyllin (Calderón *et al.*, 2002, 2003). El estudio preliminar de actividad alelopática del extracto etanólico de *H. trachyphylla* evidencia un efecto promisorio inhibitor y promotor de crecimiento en plántulas de lechuga (*Lactuca sativa*). Por esta razón se realizó el fraccionamiento guiado por bioensayo de esta especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. *Henriettella trachyphylla* Triana, fue colectada en la vereda Laguneta, vía Pereira-Armenia (Colombia), e identificada por el Dr. Frank Almeda de la Academia de Ciencias de California, E. U. A. Las hojas se secaron al ambiente durante quince días, y posteriormente, se molieron con un molino de cuchillas (IKA, MF10 Basic). Las semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) (Macías *et al.*, 2000) fueron compradas a Fercon Ltda., las cuales se mantuvieron y trataron en condiciones de laboratorio.

Reactivos. Para la extracción se utilizaron los solventes isopropanol y *n*-hexano. En las separaciones cromatográficas en columna se utilizaron metanol

y acetona grado analítico. Como fase estacionaria para cromatografía en columna se utilizaron ODS (Aldrich) y MCI-GEL CHP20P (Mitsubishi Chemical Corporation). Para el monitoreo por TLC RP-18 se utilizaron cromatofolios de aluminio (Merck, RP-18 F_{254s}), y como eluente buffer (KH₂PO₄/H₃PO₄, 0,01 M, pH: 2,5): acetonitrilo (70:30). En los ensayos de actividad alelopática se utilizaron como control y blanco glifosato comercial 648 g/l (Roundup Spectra, Transorb Technology) y DMSO respectivamente.

Actividad alelopática in vitro. La actividad alelopática fue desarrollada en tres pasos: imbibición, germinación y tratamiento. La imbibición fue realizada agregando 300 semillas de lechuga en solución de sacarosa al 0,02% (100 ml) por tres horas (León et al., 2005). Para la germinación las semillas son lavadas con agua hervida y colocadas en caja de petri (90 x 10 mm) sobre papel filtro cualitativo (90 mm), adicionando 5 ml de agua hervida. A las 24 horas se seleccionaron las semillas germinadas con radícula de 1 mm.

Para cada tratamiento se tomaron 30 semillas germinadas colocando 10 semillas por caja de petri sobre papel filtro en forma radial, marcadas de 1 a 10 y adicionando 5 ml de las soluciones de prueba (extracto o fracción 1 mg/ml), control (glifosato 3,8 x 10⁻³ M) o blanco (DMSO 0,6%). El crecimiento se determina por la longitud en milímetros del hipocótilo y epicótilo de las semillas en crecimiento, en intervalos de 24 horas por siete días. Se utilizó la prueba Q de Dixon para valores anómalos (Miller y Miller, 1993) en cada caja de petri. Los datos aceptados se procesaron en Excel para obtener los porcentajes de actividad alelopática con la siguiente ecuación:

$$\% A. A = \{(l_m - l_b)/(l_b - l_c)\} * 100$$

donde l_b es la longitud del hipocótilo o epicótilo en el blanco; l_m en la muestra; y l_c en el control.

Extracción y fraccionamiento. Las hojas secas y molidas de *H. trachyphylla* (160 g) fueron

homogenizadas en isopropanol-agua (65:35) 2 l, cada 24 horas por 4 días. Se filtró y concentró a presión reducida hasta un tercio del volumen. El rendimiento se determinó por sólidos totales (26,8 g). Luego se extrajo líquido-líquido con *n*-hexano para obtener una fase acuosa F-1 (15,4 g) y orgánica F-2 (11,4 g). La fase orgánica F-2 fue separada por fraccionamiento líquido-líquido con *n*-hexano y metanol. A la fracción metanólica F-2A (3,78 g) se le realizó separación líquido-líquido con isopropanol, recogiendo las fracciones acuosa F-2A1 (881,1 mg) y en isopropanol F-2A2 (2,90 g).

La fracción F-2A2 (1,0 g) fue separada por cromatografía en columna empacada con ODS (d. i. 2 cm, 16 cm de largo), gradiente metanol-agua (1:2; 1:1), metanol y acetona 100% (100 ml por etapa), recogiendo 9 fracciones nombradas desde F-2A2A a F-2A2I. Se fraccionaron 200 mg de F-2A2A en columna cromatográfica sobre MCI-GEL (d. i. 2 cm, 16 cm de largo), gradiente isopropanol-agua (5:95; 10:90; 20:80; 30:70; 40:60; 50:50; 70:30; 100:0), finalizando con isopropanol-*n*-hexano (1:1), dando 16 fracciones que fueron nombradas como F-2A2A1 a F-2A2A16. La fracción F-2A2A1 fue la mayoritaria (80,3 mg).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las fracciones F-2A1 y F-2A2 fueron evaluadas para actividad alelopática, mostrando un efecto inhibidor de crecimiento de acción continuada en hipocótilo, que sugiere la presencia de compuestos con acción pesticida (figura 1A). El efecto inhibitorio fue mayor en F-2A1, pero debido a su bajo rendimiento se eligió F-2A2 para su fraccionamiento bioguiado.

Del fraccionamiento en columna de F-2A2 se obtuvieron las fracciones F-2A2A (270,4 mg), F-2A2B (87,2 mg), F-2A2D (57,4 mg) y F-2A2F (112,6 mg). Se evidenció un potente efecto inhibitorio de acción continuada en las fracciones F-2A2A

y F-2A2B, un efecto promotor en la F-2A2D, mientras la F-2A2F mostró un efecto inhibitor que se incrementa con el tiempo, lo cual indica un meca-

nismo prodroga (figura 1B). Por esta razón, y por su alto rendimiento se eligió la fracción F-2A2A para la siguiente etapa de separación cromatográfica.

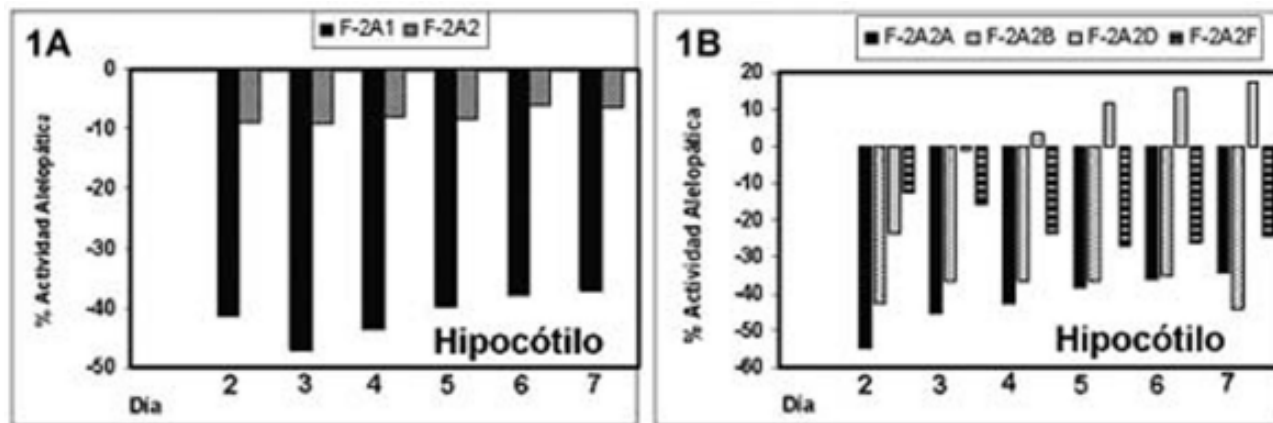


Figura 1. Actividad alelopática de *H. trachyphylla* sobre hipocótalo de lechuga. **1A.** Efecto inhibitor de las fracciones F-2A1 y F-2A2. **1B.** Efectos inhibitor o promotor de las fracciones F-2A2A, F-2A2B, F-2A2D y F-2A2F.

De la separación cromatográfica de F-2A2A (200 mg) se obtuvieron fracciones desde F-2A2A1 a F-2A2A16. La fracción F-2A2A1 se sometió a evaluación para actividad alelopática. Un leve efecto inhibitor sobre hipocótalo (figura 2A) fue evidenciado al segundo día (-4,8%), finalizando con un importante efecto constante de inhibición entre los días 6 y 7 (-16,1%). Esto sugiere la presencia de

compuestos que pueden ser usados como prodrogas. En epicótalo, se evidencia un efecto promotor de crecimiento de F-2A2A1 con un máximo al cuarto día (39%), con acción continuada hasta el día 7 (figura 2B). Esto sugiere que los compuestos en esta fracción son potenciadores de crecimiento, y sus productos de degradación actúan como fitohormonas.

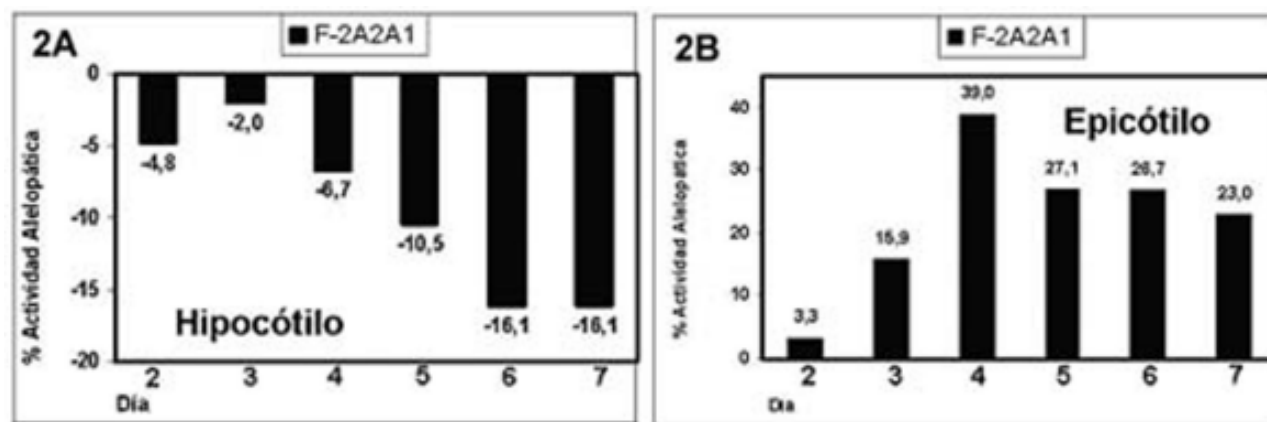


Figura 2. Actividad alelopática de *H. trachyphylla* sobre hipocótalo y epicótalo de lechuga. **2A.** Efecto inhibitor de la fracción F-2A2A1. **2B.** Efecto promotor de crecimiento de la fracción F-2A2A1.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Tecnológica de Pereira (Risaralda), Colombia y su oficina de investigaciones por el

financiamiento de este proyecto, a COLCIENCIAS por financiación parcial del proyecto 1110-07-12544, CENIVAM contrato (COLCIENCIAS) RC-432, 2004.

REFERENCIAS

- Calderón AI, Terreaux C, Pattison P, Burdette JE, John P, Gupta MP, Hostettemann K, Schenk KJ.** 2002. Isolation and structure elucidation of an isoflavone and sesterterpenoic acid from *Henriettella fascicularis*. *Journal of the Natural Products*, 65:1749-1753.
- Calderón AI, Terreaux C, Pattison P, Burdette JE, John P, Gupta MP, Hostettemann K, Schenk KJ.** 2003. Taxiphyllin from *Henriettella fascicularis*. *Acta Crystallographica - Crystal Structure Communications*, C59:174-176.
- Macias FA, Castellano D, Molinillo JMG.** 2000. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 48(6):2512-2521.
- León AG, Zamarripa J, Facio ME, Benavides A.** 2005. *El tratamiento de semillas de tomate y lechuga con sacarosa/FeSO₄ modificada la germinación y morfogénesis de plántulas.* Herbário [www.herbario.com.br]. www.herbario.com.br/data/herb%20_rev_disc_univ_2_4/morfogenesetomate.htm Fecha de consulta: Octubre 2005.
- Miller JN, Miller JC.** 1993. *Estadística para Química Analítica.* Segunda Edición. Addison-Wesley Iberoamérica.