

EXTRACTOS DE *Calia secundiflora* (Ort.) Yakovlev CON POTENCIAL

ACTIVIDAD FITOTÓXICA

María Rosario García-Mateos, Ana María Castillo, Julia María Zárate-Hernández
y Rosario Melina Barrón Yánez

RESUMEN

La extinción de algunas especies debido a los cambios climáticos significa la pérdida del potencial que representa el conocimiento de sus metabolitos con propiedades fitotóxicas. *Calia secundiflora* (Ortega) Yakovlev (Fabaceae) es considerada como una especie tóxica por su contenido de alcaloides quinolizidínicos. *C. secundiflora* crece en regiones perturbadas y con grandes espacios sin vegetación, lo que en parte se asocia al papel ecológico de los alcaloides. Sin embargo, la actividad fitotóxica de la especie no ha sido suficientemente estudiada. En el presente trabajo se evaluó la actividad fitotóxica del extracto metanólico en la germinación de semillas y el desarrollo de la parte vegetativa de *Lactuca sativa*, *Amaranthus hybridus*, *Lolium perenne*, *Ipomoea purpurea* y *Bidens odorata*. El bioensayo fue realizado *in vitro* y *in suelo* con diferentes concentraciones del

extracto metanólico de hoja y de raíz. Las variables evaluadas fueron número de semillas germinadas (NSG), longitud de raíz, longitud de parte aérea y plantas vivas (%). Las diferentes concentraciones del extracto metanólico del tejido vegetal que se evaluaron resultaron moderadamente fitotóxicas e inhibieron la germinación y el desarrollo de la parte vegetativa. El extracto metanólico de raíz resultó más fitotóxico (germinación de 3,5; 11,4; 92,4 y 2,0%) que el extracto de hoja (germinación de 82,0; 48,0; 98,4 y 82,4%) en *A. hybridus*, *L. perenne*, *I. purpurea* y *B. odorata*, respectivamente. En cada especie existe una respuesta diferencial a la fitotoxicidad de la mezcla de alcaloides quinolizidínicos presentes en los extractos de *C. secundiflora*. Los resultados destacan la fitotoxicidad de la especie.

Introducción

El cambio climático ha producido numerosas modificaciones en la distribución y abundancia de las especies vegetales. Los escenarios futuros predicen algunos riesgos como la posible extinción de algunas plantas (Thomas *et al.*, 2004). Esto puede significar la pérdida del potencial que representa el conocimiento de los principios activos de diversos vegetales como herbicidas e insecticidas naturales, entre otros. Son muchos los beneficios ecológicos del uso de estos metabolitos en el proceso de producción agrícola, ya que son biodegradables, son poco persistentes y, sobre todo, no

son perjudiciales para la salud de los seres humanos.

Desde hace algunos años, la evolución de los sistemas de cultivo ha tendido hacia la implementación de una agricultura sustentable. En este marco se han intensificado los estudios de alelopatía en la búsqueda de herbicidas naturales, porque los efectos negativos de un cultivo sobre otro corren el peligro de expresarse con una agricultura más integrada, y porque los efectos alelopáticos podrían utilizarse en el ámbito de la inhibición frente a algunas arvenses (Chiapusio *et al.*, 2004). Por ello, existe la necesidad de estudiar la actividad fitotóxica en la germinación y/o el crecimiento de

plántulas, ya que estos estados fisiológicos corresponden a fases del desarrollo más sensibles, con la finalidad de identificar plantas con efectos alelopáticos, sobre todo aquellas que no han sido estudiadas desde esta perspectiva.

Chiapusio *et al.* (2004) señalan que casi la totalidad de las sustancias alelopáticas son metabolitos secundarios (alcaloides, compuestos fenólicos y terpenoides, principalmente), cuyos efectos sobre las plantas (reducción del crecimiento, germinación de semillas, etc.) son manifestaciones secundarias de los cambios que se han producido a escala celular. Al respecto, Wink (1983) y Zamora *et al.* (2005) señalan la actividad

fitotóxica de los alcaloides quinolizidínicos en los extractos de *Lupinus albus* y *L. exaltatus*.

En *Calia secundiflora* (Ortega) Yakovlev (Fabaceae) se han identificado por medio de cromatografía de líquidos-espectrometría de masas siete alcaloides quinolizidínicos (citisina, lupinina, anagirina, esparteína, N-metilcitisina, 5,6-dehidrolupanina y lupanina) en la especie silvestre recolectada en dos regiones del estado de Hidalgo de la república mexicana (Zavala-Chávez *et al.*, 2006; García-Mateos *et al.*, 2007).

C. secundiflora se encuentra ampliamente distribuida en México (Rzedowski, 1978; Aguilar y Zolla, 1982). En el

PALABRAS CLAVE / Alelopatía / *Calia secundiflora* / Extracto Metanólico / Fabaceae / Fitotoxicidad / Germinación /

Recibido: 30/09/2010. Modificado: 04/10/2011. Aceptado: 06/10/2011.

María Rosario García-Mateos. Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. Maestra en Ciencias Químicas. Universidad Nacional Autónoma de México. Doctora en Ciencias. Colegio de Postgraduados, México. Profesora-Investigadora,

Universidad Autónoma Chapingo (UACH), México. Dirección: Departamentos de Preparatoria Agrícola y de Fitotecnia, UACH. Carr. México-Texcoco km 38.5. Chapingo, Edo. de México. C.P. 56230. México. e-mail: rosgar08@hotmail.com

Ana María Castillo González. Bióloga, Universidad Nacional Autónoma de México. Maestra y Doctora en Ciencias en Fisiología Vegetal, Colegio de Postgraduados (COLPOS), México. Profesora-Investigadora, UACH, México.

Julia María Zárate-Hernández. Estudiante de Ingeniería Agronómica, UACH, México.

Rosario Melina Barrón Yánez. Ingeniera Agrónoma, Maestra en Ciencias en Protección Vegetal y. Estudiante de Doctorado, UACH, México.

EXTRACTS OF *Calia secundiflora* (Ort.) Yakovlev WITH POTENTIAL PHYTOTOXIC ACTIVITY

María Rosario García-Mateos, Ana María Castillo, Julia María Zárate-Hernández and Rosario Melina Barrón Yáñez

SUMMARY

Climate changes have brought about the extinction of some species, thus neglecting the possibility to learn about their metabolites with phytotoxic properties. *Calia secundiflora* (Ortega) Yakovlev (Fabaceae) is considered as a toxic species due to its content of quinolizidine alkaloids. *C. secundiflora* grows in large disturbed regions with no vegetation, a feature associated to the ecological role of alkaloids. The phytotoxic activity of this species has not been studied yet. This study aims at evaluating the phytotoxic activity of methane extracts in the germination and development of the vegetative part of seeds of *Lactuca sativa*, *Amaranthus hybridus*, *Lolium perenne*, *Ipomoea purpurea* and *Bidens odorata*. The bioassay was done in vitro and in soil at different concentrations of methane

leaf and root extracts. The evaluated variables were number of germinated seeds, root length, aboveground aerial length, and percentage of living plants. Different concentrations of the methane extracts in leaves and roots were moderately phytotoxic and inhibited germination and development of the plant. The root methane extract was more phytotoxic (3.5, 11.4, 92.4 and 2.0% of germinated seeds) than the leaf one (82.0, 48.0, 98.4 and 82.4% of germinated seeds) in *A. hybridus*, *L. perenne*, *I. purpurea* and *B. odorata*, respectively. Each host species presents a different response to the presence of quinolizidine alkaloids in *C. secundiflora* extracts. The results emphasize the phytotoxic activity of the species.

EXTRATOS DE *Calia secundiflora* (Ort.) Yakovlev COM POTENTIAL ATIVIDADE FITOTÓXICA

María Rosario García-Mateos, Ana María Castillo, Julia María Zárate-Hernández e Rosario Melina Barrón Yáñez

RESUMO

As mudanças climáticas no planeta causaram a extinção de algumas espécies, obstruindo assim a possibilidade de aprender sobre os seus metabólitos com propriedades fitotóxicas. *Calia secundiflora* (Ortega) Yakovlev (Fabaceae) é considerada uma espécie tóxica pelo teor de alcalóides quinolizidínicos. *C. secundiflora* cresce em grandes regiões alteradas, sem vegetação, uma característica associada ao papel ecológico dos alcalóides. A atividade fitotóxica desta espécie não foi ainda estudada. Esta pesquisa tem por objetivo avaliar a atividade fitotóxica dos extratos metanólicos na germinação e desenvolvimento da parte vegetativa de sementes de *Lactuca sativa*, *Amaranthus hybridus*, *Lolium perenne*, *Ipomoea purpurea* e *Bidens odorata*. O bioteste foi feito in vitro e in solo com diferentes concentrações de

extratos metanólicos da folha e da raiz. As variáveis avaliadas foram germinação (%), comprimento da raiz, comprimento da parte aérea superior e as plantas vivas. Como resultado, diferentes concentrações dos extratos metanólicos de folhas e raízes revelaram-se moderadamente fitotóxicos e inibiram a germinação e o desenvolvimento da planta. O extrato metanólico da raiz foi mais fitotóxico (3,5; 11,4; 92,4 e 2,0% de germinação) do que o da folha (82,0; 48,0; 98,4 e 82,4% de germinação) em *A. hybridus*, *L. perenne*, *I. purpurea* e *B. odorata*, respectivamente. Cada espécie de hospedeiro apresenta uma resposta diferente à fitotoxicidade pela presença de alcalóides quinolizidínicos em extratos de *C. secundiflora*. Os resultados enfatizam a atividade fitotóxica da espécie.

suroeste de los EEUU las semillas de *C. secundiflora* eran utilizadas por los grupos étnicos en rituales por sus efectos alucinógenos, aunque ésto no se ha comprobado (Keller, 1975; Murakoshi *et al.*, 1986). Su uso se ha restringido por la presencia de alcaloides quinolizidínicos, sin embargo, son pocos los estudios que se han realizado sobre los efectos fitotóxicos de esta especie.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad fitotóxica de extractos metanólicos de hoja y de raíz de *C. secundiflora*, sobre la germinación y el desarrollo de plántulas de semillas de *Lactuca sativa*, *Amaranthus hybridus*, *Lolium perenne*, *Ipomoea purpurea* y *Bidens odorata*.

Materiales y Métodos

Recolección del material vegetal

La colecta del material de *Calia secundiflora* (Ortega) Yakovlev (Fabaceae) se llevó a cabo aleatoriamente en diversos ejemplares ubicados en el transecto El Cardonal-Santuario, en el Municipio de El Cardonal, estado de Hidalgo, México. El sitio se ubica a 2130msnm, 20°36'N y 99°07'O. Para su certificación se prepararon dos ejemplares de herbario, los cuales fueron identificados por Mario Sousa y depositados en el Herbario Nacional (MEXU) del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de

México, bajo los números de registro 1155623 y 1155624.

Preparación del material biológico

Las hojas de *C. secundiflora* se secaron a temperatura ambiente durante dos semanas, y posteriormente se colocaron en estufa a 45°C por 72h; inmediatamente después se molieron en un molino Thomas-Wiley. La raíz se secó a temperatura ambiente y posteriormente se molió mediante el mismo procedimiento.

Preparación del extracto metanólico

El extracto de hoja se obtuvo por maceración de 1kg de

material vegetal con 2 litros de metanol por 48h, después se filtró y se separó el disolvente por evaporación en un rotavapor Büchi a presión reducida. La maceración se realizó cuatro veces hasta obtener la mayor cantidad de extracto de hoja. Para la preparación de los extractos de raíz (500g) y de suelo (100g) se siguió la misma metodología. De los extractos de raíz y de hoja se prepararon separadamente cuatro concentraciones: 0,5; 1,0; 2,0 y 3,0% (p/v).

Identificación preliminar de alcaloides

Se llevó a cabo un análisis cualitativo para confirmar la presencia de alcaloides en los

extractos de hoja y de raíz de *C. secundiflora*, así como de suelo del lugar de colecta de la planta. La identificación se realizó por medio de cromatografía en capa fina (CCF); como fase estacionaria se usó gel de sílice 60 F₂₅₄ (Merck), como eluyente se utilizó una mezcla metanol:diclorometano (8:2 v/v) y como agente revelador el reactivo de Dragendorff para la identificación de alcaloides (Wagner y Bladt, 1996). Como estándares se utilizaron muestras auténticas de alcaloides quinolizidínicos (García-Mateos *et al.*, 2007).

Germinación in vitro

Las pruebas biológicas se llevaron a cabo en semillas de lechuga (*Lactuca sativa*), recomendada para este tipo de bioensayos debido a su sensibilidad a compuestos inhibitorios (Anónimo, 1976); amaranto (*Amaranthus hybridus*); la especie monocotiledonea *Lolium perenne* (pasto); y dos especies de arvenses, campanilla (*Ipomoea purpurea*) y acitilla (*Bidens odorata*). Las pruebas se realizaron en cajas de Petri (unidad experimental; UE) de 10cm de diámetro con un círculo de papel Wattman N° 1. Se añadió 1,5ml de disolución de cada concentración del extracto metanólico, se dejó secar con el fin de evaporar el disolvente e inmediatamente después se colocaron 50 semillas en cada caja y se agregaron 2,5ml de agua destilada. Como testigo se utilizó agua destilada. Las UE se colocaron en una cámara germinadora a una temperatura promedio de 25°C y humedad relativa de 85%. Las condiciones de temperatura y humedad se mantuvieron bajo un control riguroso, debido a que los factores físicos pueden interactuar sinérgicamente con sustancias con actividad alelopática para producir interacciones más complejas; sin embargo, para este estudio éstas se podrán descartar. El registro de datos se llevó a cabo cada 24h, como lo marcan las reglas internacionales para el análisis de semillas (ISTA, 1978).

TABLA I
EFECTO DE EXTRACTO METANÓLICO DE HOJA Y DE RAÍZ DE *C. secundiflora* EN EL NÚMERO DE SEMILLAS GERMINADAS (NSG) Y EN EL PORCENTAJE DE PLÁNTULAS VIVAS (% PV) DE CINCO ESPECIES DE SEMILLAS

Conc. (%)	Extracto metanólico de hoja									
	<i>L. sativa</i>		<i>A. hybridus</i>		<i>L. perenne</i>		<i>I. purpurea</i>		<i>B. odorata</i>	
	NSG	%PV	NSG	%PV	NSG	%PV	NSG	%PV	NSG	%PV
0,0	50,0	100,0 a	50,0	100,0 a	50,0	81,0 a	50,0	100,0 a	50,0	95,4 a
0,5	47,0	96,8 ab	47,2	100,0 a	39,7	86,9 ab	49,0	99,3 a	46,5	90,7 ab
1,0	45,0	84,4 bc	47,7	94,7 ab	33,7	79,2 bc	48,2	99,5 a	41,2	94,6 abc
2,0	38,7	81,9 c	48,0	88,9 bc	30,5	68,8 c	49,5	98,3 a	40,0	93,7 bc
3,0	14,5	72,4 d	41,0	97,5 c	24,0	85,4 c	49,2	89,8 a	41,2	82,5 c
C.V.	6,193	12,93	4,46	5,50	6,82	12,40	1,85	6,68	8,49	5,08
Conc. (%)	Extracto metanólico de raíz									
	<i>L. sativa</i>		<i>A. hybridus</i>		<i>L. perenne</i>		<i>I. purpurea</i>		<i>B. odorata</i>	
	NSG	%PV	NSG	%PV	NSG	%PV	NSG	%PV	NSG	%PV
0,0	50,0	97,0 a	50,0	100,0 a	50,0	84,4 a	50,0	100,0 a	50,0	94,0 a
0,5	41,5	97,5 ab	23,2	82,7 b	33,5	91,0 a	48,5	100,0 a	34,5	81,1 b
1,0	42,2	85,7 c	2,00	100,0 c	16,2	61,7 b	48,7	95,8 bc	13,5	61,1 c
2,0	43,5	94,2 bc	1,75	11,4 c	8,7	77,0 b	49,2	97,5 a	7,0	89,2 c
3,0	30,2	78,4 d	1,75	0,0 c	5,7	87,7 b	46,0	95,0 c	1,0	100,0 c
C.V.	9,628	8,50	25,30	21,15	9,40	24,05	3,12	2,79	20,45	22,97

NSG: número de semillas germinadas, %PV: porcentaje de plántulas vivas, Conc.: concentración. C.V.: coeficiente de variación. Letras iguales en sentido vertical no son significativamente diferentes (p=0,05).

Germinación en suelo

Se evaluó la germinación de las semillas de las diferentes especies en el suelo colectado en el lugar en el que habita *C. secundiflora*, con el fin de detectar la presencia de alcaloides retenidos en partículas de suelo como producto de la lixiviación de éstos. Para este bioensayo se colocaron 100g de suelo en cajas de polipropileno (UE) de 12×12×16cm, se les adicionó agua destilada a capacidad de campo, y se sembraron 50 semillas de cada una de las especies. Se preparó un testigo con suelo colectado a 15cm de profundidad en el campo experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, libre de alcaloides mediante el mismo procedimiento. Las cajas se colocaron en la cámara germinadora a 25°C y 85% de humedad. La toma de datos se realizó como en el bioensayo de germinación *in vitro*.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cuatro repeticiones por

tratamiento. Las variables evaluadas en cada prueba biológica fueron número de semillas germinadas (NSG), porcentaje de plántulas vivas (%PV), longitud de parte aérea (LPA) y longitud de raíz (LR). El análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de comparación de medias (Tukey, p ≤ 0,05) se realizaron mediante el programa *Statistical Analysis System* (SAS) Ver. 8.0 (2002).

Resultados y Discusión

De la preparación de los extractos metanólicos de hoja y de raíz se logró obtener 19,4g y 14,8g por 100g de peso seco de hoja y de raíz, respectivamente. La CCF permitió confirmar la presencia de alcaloides en los extractos metanólicos de hoja y raíz; sin embargo, en los extractos de suelo no se detectaron alcaloides, debido posiblemente a que el lugar de colecta se encuentra situado en ladera y los alcaloides lixiviados de las hojas fueron lavados por efecto de las lluvias (Rice, 1984; Besnier, 1989) o fueron degradados por microorganismos del suelo.

Germinación in vitro

Número de semillas germinadas (NSG) y porcentaje de plántulas vivas (%PV). En la mayoría de las especies se observó que las semillas que lograron germinar se desarrollaron hasta llegar a plántulas, independiente del extracto probado. El extracto metanólico de hoja mostró efectos inhibitorios en la germinación (NSG y %PV) de cuatro de las especies estudiadas (*Lactuca sativa*, *Amaranthus hybridus*, *Lolium perenne* y *Bidens odorata*), mientras que en *Ipomoea purpurea* no se observaron diferencias significativas en el %PV con respecto al testigo al aumentar la concentración del extracto (Tabla I). Las especies menos afectadas por el extracto de hoja fueron *I. purpurea* (89,8% de plántulas vivas) y *A. hybridus* (97,5% de plántulas vivas) a la concentración 3,0%, respectivamente, lo cual representa un porcentaje alto con respecto al número de semillas germinadas.

En la Tabla I se puede apreciar que *L. sativa* fue la especie más afectada; del 14,5% de las semillas que

germinaron (NSG) se obtuvo el menor número de plantas vivas (72,4%). Cabe señalar que estas variables solo proporcionaron una idea del desarrollo de las semillas que lograron germinar, pero no la calidad de las plántulas para poder establecerse en un medio de competencia a campo abierto.

Respecto al extracto metanólico de raíz, éste afectó drásticamente el número de semillas germinadas y el número de plántulas vivas en todas las especies. Zárate *et al.* (2006) en un estudio preliminar encontraron un efecto opuesto al evaluar el extracto acuoso de *C. secundiflora*, ya que el extracto obtenido de la hoja mostró mayor inhibición de la germinación en comparación con el extracto acuoso de raíz en las mismas especies de semillas. Así mismo, *Ipomea purpurea* y *Bidens odorata* fueron las especies menos afectadas en el número de plántulas vivas.

Las especies que mostraron un efecto mayor en el NSG fueron: *A. hybridus*, *L. perenne* y *B. odorata* (Tabla 1), siendo *I. purpurea* la especie menos afectada con 92% de semillas germinadas. Sin embargo, en *L. sativa* se presentó menor efecto fitotóxico (60,4 y 78,4% de germinación y de plántulas vivas, respectivamente) en comparación con el extracto metanólico de hoja (29,0 y 72,4% de germinación y de plántulas vivas, respectivamente). Las marcadas diferencias observadas en el comportamiento de las cinco especies para cada extracto (hoja y raíz) permitieron inferir que existe de cada especie receptora una respuesta diferencial a la fitotoxicidad. Chou y Yang (1982) señalan que al medir crecimiento radicular y germinación encontraron no solo diferencias entre variedades, sino también entre especies.

Por lo tanto, los extractos afectaron selectivamente las especies debido posiblemente a 1) la concentración de los componentes de la mezcla, 2) la capacidad de penetración

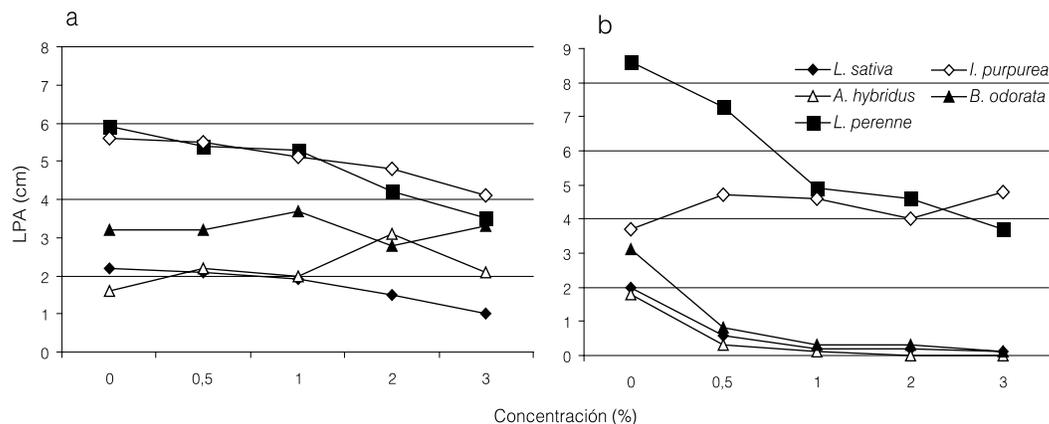


Figura 1. Efecto de extractos metanólicos de hoja (a) y de raíz (b) de *C. secundiflora* en el desarrollo de la longitud de parte aérea (LPA) de cinco especies vegetales.

en la semilla y tejido, 3) la dispersión y acumulación en los compartimentos intracelulares, 4) el gradiente de solubilidad en agua de ambos extractos, o 5) la composición química de la testa de las semillas de la especie receptora.

Es de destacar que en algunas especies se observó el efecto opuesto al de reducción en %PV conforme aumentó la concentración del extracto. En *I. purpurea*, el 95% de un mínimo de 46 semillas que lograron germinar se desarrollaron, pero a la concentración de 2,0% se presentó estimulación del desarrollo con 97,5% de plantas de 49,2%. Este efecto se observó en las restantes especies a la misma concentración, con excepción de *A. hybridus*, donde se manifiesta desde una concentración menor (1,0%). Taiz y Zeiger (2002) mencionan que las concentraciones de algunos alcaloides en plantas pueden influir inhibiendo o estimulando el crecimiento en plantas, como reguladores de crecimiento.

Al respecto, el análisis por cromatografía de líquidos-espectrometría de masas (CL-EM) del extracto metanólico de varios tejidos (semilla, raíz y hoja) de *C. secundiflora* realizados por García-Mateos *et al.* (2007) describen el mismo perfil de alcaloides en ambos extractos, pero una concentración de alcaloides mayor en la fracción de alcaloides del extracto de raíz

(1,326g por 100g de peso seco) en comparación al de hoja (0,04g por 100g de peso seco). De las siete estructuras que los autores identificaron en el extracto de raíz, hoja y semilla de *C. secundiflora*, las más abundantes fueron N-metilcitisina y citisina.

Con base en la composición semejante de ambos extractos, se confirma una concentración de los metabolitos diferente para cada extracto. Éstos permiten observar un efecto sinérgico en la actividad fitotóxica. Wink (2004) encontraron 100% de inhibición de la germinación en *L. sativa* cuando aplicaron el extracto de *L. albus* (mezcla de esparteína, lupanina y citisina) en comparación a la aplicación solamente de un alcaloide (citisina), en donde no se inhibió la germinación en más de 50%.

Longitud de parte aérea (LPA) y longitud de raíz (LR). Las Figuras 1a y 1b muestran los efectos de los extractos metanólicos de hoja y de raíz en el desarrollo de la longitud de la parte aérea, es decir, la longitud de hipocótilo para dicotiledóneas (*A. hybridus*, *L. sativa*, *B. odorata* e *I. purpurea*) o longitud de coleoptilo para monocotiledóneas (*L. perenne*). El extracto de hoja afectó el desarrollo de la parte aérea principalmente de *L. sativa* y de *A. hybridus*. La misma tendencia se encontró para el extracto de raíz, y en

este caso también se vio afectada la especie *B. odorata*. Sin embargo, para *I. purpurea* el extracto metanólico de raíz provocó estimulación del crecimiento a las concentraciones de 0,5 y 3,0% debido a la presencia de alcaloides en el extracto. Como antes se señaló, este tipo de metabolitos en plantas pueden influir positivamente en el desarrollo de plantas (Aniszewski, 2007).

Un comportamiento similar del desarrollo de la parte aérea por el extracto de hoja se detectó para el desarrollo de la raíz (Figura 2a). *I. purpurea* fue la única especie que no presentó diferencias estadísticas entre concentraciones respecto al testigo, pero a la concentración de 2% se encontró un efecto positivo. En las dicotiledóneas *L. sativa* y *A. hybridus* se observó una disminución gradual del desarrollo de la raíz a partir de la concentración 0,5%. En estas especies también se observó menor desarrollo en comparación a las restantes.

En la Figura 2b se aprecia el marcado efecto del extracto de raíz en comparación al de hoja. En este sentido, *L. sativa*, *A. hybridus* y *B. odorata* fueron las especies más afectadas en el desarrollo de la radícula. En las tres se observó una disminución gradual del desarrollo a partir de la concentración mas baja; la excepción fueron *L. perenne* e *I. purpurea*. En contraste, *I. purpurea* mostró una disminu-

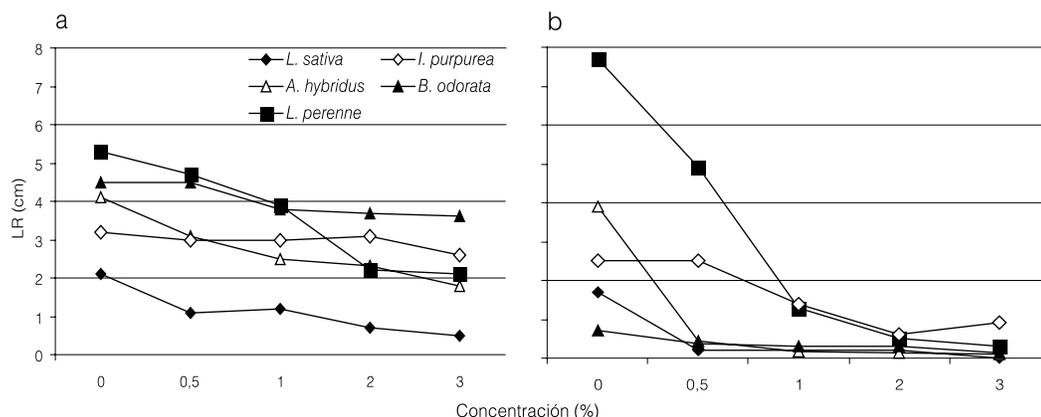


Figura 2. Efecto de extractos metanólicos de hoja (a) y de raíz (b) de *C. secundiflora* en el desarrollo de la longitud de raíz (LR) de cinco especies vegetales.

ción drástica a partir de la concentración mas baja.

Al respecto, Wink (1983), encontró que el desarrollo de la radícula de *L. sativa* también se vio afectado negativamente al aplicar extractos de alcaloides quinolizidínicos de *L. aulbus*, principalmente por la mayor concentración de lupanina en los extractos. Cabe mencionar que este alcaloide también es un componente del extracto de hoja y de raíz de *C. secundiflora*.

Los resultados mostraron menor desarrollo de la radícula en la mayoría de las especies en contraste con la parte aérea, lo que permitió asumir que la raíz es la parte más sensible a estos inhibidores en comparación con los hipocótilos o coleóptilos. Los daños en la longitud de raíz y en la parte aérea provocaron el desarrollo de plántulas anormales, que en condiciones de campo no podrían sobrevivir. Para los fines de este trabajo, una plántula anormal (ISTA, 1978) es aquella que no presenta capacidad para desarrollarse a pesar de crecer con condiciones favorables y que tiene alguna de sus partes esenciales defectuosas. Estos daños se caracterizan por raíces primarias con hendiduras raquílicas o ausentes, atrofiadas o ahiladas; hipocótilos o coleóptilos cortos, gruesos o deformados.

Asimismo, Taiz y Zeiger (2002) señalan que la elongación de la radícula se presenta

después de que inicia la síntesis de proteínas. Por lo tanto, se puede inferir que fisiológicamente los compuestos secundarios presentes en *C. secundiflora* afectaron la fisiología del desarrollo de las plántulas. Existe poca información sobre los mecanismos que explican las propiedades fitotóxicas de varios tipos de alcaloides. Sin embargo, los alcaloides son compuestos con una amplia gama de actividades, entre las que se encuentra la inhibición de ADN, ARN, algunas enzimas y la biosíntesis de proteínas, y afectan también la permeabilidad de las membranas perturbando su estabilidad (Aniszewski, 2007).

El número de plantas germinadas, el porcentaje de plántulas vivas, longitud de parte aérea y longitud de raíz permitió analizar la cantidad de semillas que lograron desarrollarse después de la aplicación de los extractos de *C. secundiflora* con la finalidad de tener mayor precisión del efecto fitotóxico y significado de los procesos fisiológicos para una interpretación global de la germinación (Chiapusio *et al.*, 1997).

Germinación en suelo

De acuerdo al análisis estadístico, en la prueba de germinación en suelo no se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de germinación en todas las especies,

posiblemente porque no se detectaron alcaloides en el análisis por cromatografía en capa fina. La presencia de sustancias alelopáticas en el suelo puede verse afectada por numerosos factores; entre ellos, la descomposición del material vegetal de desecho, la lluvia, las relaciones carbono/nitrógeno, la temperatura, la presencia de ciertos microorganismos, el pH y el tipo de suelo, lo cual puede alterar la presencia de sustancias alelopáticas. Así mismo, los metabolitos pueden sufrir transformaciones estructurales, degradaciones o cambios en su concentración, en grado suficiente para afectar la germinación y desarrollo radicular de otras plantas receptoras (Jefferson y Pennacchio, 2003). Por lo tanto, se puede entender que algunos de estos factores son los que explican la falta de actividad observada en este estudio.

Estos metabolitos afectan a un amplio espectro de organismos, pero no se descarta su interacción en los mismos sitios de las células vegetales. Wink *et al.* (1999) consideran que los alcaloides deben ocasionar otros efectos en las plantas. Para entender los efectos fitotóxicos, los autores consideran que el papel de los alcaloides en las interacciones planta-planta pueden ser una parte de la principal función como compuestos de defensa en las interacciones planta-animal.

El estudio de extractos orgánicos permite identificar sustancias o metabolitos, en algunos casos con mayor potencial fitotóxico, pueden servir de modelo para la síntesis de nuevos herbicidas naturales.

Conclusiones

Los extractos metanólicos de hoja y de raíz de *Calia secundiflora* causaron efectos fitotóxicos en las especies *Lactuca sativa*, *Amaranthus hybridus*, *Lolium perenne*, *Ipomoea purpurea* y *Bidens odorata*. El extracto metanólico de raíz afectó significativamente el número de semillas germinadas, el porcentaje de plántulas vivas, la longitud de raíz y parte aérea en todas las especies de semillas. *L. sativa* fue la especie más afectada por el extracto metanólico de hoja. En contraste, el extracto metanólico de raíz afectó a las especies *A. hybridus*, *L. perenne* y *B. odorata*. Existe una respuesta diferencial de cada especie receptora a la fitotoxicidad de la mezcla de alcaloides quinolizidínicos. De los presentes hallazgos se puede concluir que *C. secundiflora* presenta actividad fitotóxica moderada.

REFERENCIAS

- Aguilar CA, Zolla C (1982) *Plantas Tóxicas de México*. Instituto Mexicano del Seguro Social. México. 271 pp.
- Aniszewski T (2007) Biological significance of alkaloids. En Aniszewski T (Ed.) *Alkaloids: Secrets of Life. Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role*. Elsevier. Oxford, RU. pp. 141-180.
- Anónimo (1976) *Reglas Internacionales para Ensayos de Semillas*. Dirección General de Producción Agraria, Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero. Ministerio de Agricultura. Madrid, España. 432 pp.
- Besnier RF (1989) *Semillas, Biología y Tecnología*. Mundi-Prensa. Madrid, España. 637 pp.
- Chiapusio G, Sánchez AM, Reigosa MJ (1997) Do germination indices adequately reflect allelochemical effects on the germination process? *J. Chem. Ecol.* 23: 2445-2453.

- Chiapusio G, Gallet C, Dobremez JF, Pellissier F (2004) Compuestos alelopáticos: ¿Herbicidas del futuro? En Regnault-Roger C, Philogène BJR, Vincent Ch (Eds.) *Biopesticidas de Origen Vegetal*. Mundi-Prensa. Madrid, España. pp. 153-171.
- Chou CH, Yang CM (1982) Allelopathic research of subtropical vegetation in Taiwan. *J. Chem. Ecol.* 8: 1489-1507.
- García-Mateos R, Soto-Hernández M, Zavala-Chávez F, Kite G (2007) Quinolizidine alkaloids in *Calia secundiflora* (Leguminosae). *Agrociencia* 41: 161-167.
- ISTA (1978) *Manual para Evaluación de Plántulas en Análisis de Germinación*. Asociación Internacional para el Ensayo de Semillas. Madrid, España. 130 pp.
- Jefferson LV, Pennacchio M (2003) Allelopathic effects of foliage extracts from four Chenopodiaceae species on seed germination. *J. Arid Environ.* 55: 275-285.
- Keller WJ (1975) Alkaloids from *Sophora secundiflora*. *Phytochemistry* 14: 2305-2306.
- Murakoshi I, Kubo H, Ikram M, Israr M, Shafi N, Ohmiya S, Otomasu H (1986) (+)-11-oxocytisine, a lupin alkaloid from leaves of *Sophora secundiflora*. *Phytochemistry* 25: 200-202.
- Rice EL (1984) *Allelopathy*. 2ª ed. Academic Press. Orlando, FL, EEUU. 359 pp.
- Rzedowski J (1978) *Vegetación de México*. Limusa. México. pp. 432.
- Taiz L, Zeiger E (2002) Secondary metabolites and plant defense. En Taiz L, Zeiger E (Eds.) *Plant Physiology*. Sinauer. Sunderland, MA, EEUU. pp. 283-308.
- Thomas CD, Cameron A, Green RE, Bakkenes M, Beaumont LJ, Collingham YC, Erasmus BFN, Ferreira de Siqueira M, Grainger A, Hannah L, Hughes L, Huntley B, van Jaarsveld AS, Midgley GF, Miles LM, Ortega-Huerta MA, Peterson AT, Phillips OL, Williams SE (2004) Extinction risk from climate change. *Nature* 427: 145-148.
- Wagner H, Bladt S (1996) *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas*. Springer. Berlin, Alemania. 383 pp.
- Wink M (1983) Inhibition of seed germination by quinolizidine alkaloids. *Planta* 158: 365-368.
- Wink M (2004) Allelochemical properties of quinolizidine alkaloids. En Macías FA, Galindo JCG, Molinillo JMG, Cutler H (Eds.) *Allelopathy Chemistry and Mode of Action of Allelochemicals*. CRC Press. Boca Raton, FL, USA. pp.183-204.
- Wink M, Lutz-Bruning B, Schmelzer T (1999) Biochemical effects of allelopathic alkaloids. En Inderjit, Dakshimi KMM, Foy ChL (Eds.) *Plant Ecology. Allelochemical interactions*. CRC-Press. Washington, DC, EEUU. 417 pp.
- Zamora-Natera JF, Bernal-Alcocer A, Ruiz-López M, Soto-Hernández M, Escalante-Estrada A, Vibrans-Linderman H (2005) Perfil de alcaloides de semillas de *Lupinus exaltatus* Zucc. (Fabaceae) y la evaluación antifúngica del extracto alcaloideo y lupanina contra fitopatógenos. *Rev. Mex. Fitopat.* 23: 124-129.
- Zárate-Hernández J, García-Mateos R, Zavala-Chávez F, Pérez-Leal R, Soto-Hernández M (2006) Phytotoxicity of *Calia secundiflora* (Ort.) Yakovlev. *Rev. Chapingo Ser. Hort.* 12: 197-202.
- Zavala CF, García MR, Soto HM, Kite G (2006) Phytochemical differences between *Calia secundiflora* (Leguminosae) growing at two sites in Mexico. *Z. Naturforsch.* 61C: 155-159.