

## ACTIVIDAD ALELOPÁTICA DE ALGUNAS ESPECIES DE LOS GÉNEROS *MICONIA*, *TIBOUCHINA*, *HENRIETTELLA*, *TOCOCA*, *ACIOTIS* Y *BELLUCIA* (MELASTOMATACEAE)

### RESUMEN

Catorce extractos polares de especies de *Miconia*, *Tibouchina*, *Henriettella*, *Tococa*, *Aciotis* y *Bellucia* (melastomataceae) fueron evaluados por su actividad alelopática frente a semillas de *Lycopersicum esculentum* L. Extractos en AcEtO de *M. coronata* y *n*-BuOH de *M. aeruginosa* fueron promisorios en rendimiento y porcentaje de inhibición sobre hipocótilo -24,92% y -91.16%, respectivamente.

Las fracciones de *M. coronata* y *M. aeruginosa* presentaron mayor inhibición sobre hipocótilo 80 a 90% y 50 a 80%. La fracción BF-8D de *M. aeruginosa* presentó inhibición sobre hipocótilo entre el 50 y 55%, se aisló un compuesto siendo aislado determinada su estructura.

**PALABRAS CLAVES:** Actividad alelopática, melastomataceae, *Lycopersicum esculentum* L.

### ABSTRACT

Fourteen polars extracts of species of *Miconia*, *Tibouchina*, *Henriettella*, *Tococa*, *Aciotis* and *Bellucia* (melastomataceae) were evaluated by their allelopathic activity against *Lycopersicum esculentum* L seeds. *M. coronata* of EtOAc and *M. aeruginosa* of BuOH extracts were the most promisorious by their yield and hypocotyl inhibition percentages -24,92% and -91.16%, respectively.

*M. coronata* and *M. aeruginosa* fractions presented inhibition major on hypocotyl 80 a 90% and 50 a 80%. BF-8D fraction presented on hypocotyl inhibition between 50 and 55%, a compound was isolated being their determinated structure.

**KEYWORDS:** Allelopathic activity, melastomataceae, *Lycopersicum esculentum* L.

### 1. INTRODUCCIÓN

La actividad alelopática [1] ha sido definida por la Sociedad Internacional de Alelopatía (AIS) como las relaciones de inhibición o estimulación del crecimiento entre plantas, involucrado bacterias, hongos y algas [2].

En las últimas décadas, esta actividad ha sido promovida en semillas germinadas, plántulas en desarrollo o en campo, como los estudios sobre flores de girasol donde se sugieren chalconas y flavonoides como agentes alelopáticos. Entre estos se encuentran kulkulkanin B (fig. 1.a) que afecta germinación y tambulin (fig. 1.b) que afecta principalmente crecimiento en plántulas [3].

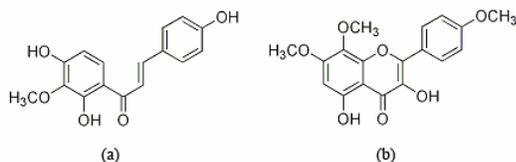


Figura 1. Flavonoides y chalconas en flores de girasol, a. Kulkulkanin B b. Tambulin

### JOSÉ H. ISAZA M. Ph.D

Profesor Titular,  
Grupo Polifenoles UTP-CENIVAM  
Universidad Tecnológica de Pereira  
jhim@utp.edu.co

### FRANCISCO J. JIMÉNEZ G. QI

Profesor Catedrático Auxiliar,  
Grupo Polifenoles UTP-CENIVAM  
Universidad Tecnológica de Pereira  
jjimenez@utp.edu.co

### JOSÉ LUIS GALVÁN USMA

Estudiante Tecnología Química  
njeo886@hotmail.com

### JUAN CARLOS RESTREPO

Estudiante Tecnología Química  
juanrestrepo@hotmail.com  
Grupo Polifenoles UTP-CENIVAM  
Universidad Tecnológica de Pereira

Estudios realizados por el Grupo Polifenoles UTP sobre plantas melastomatáceas [4,5], han mostrado alguna actividad biológica como antifúngica, antibacterial, ictiotóxica, captadora de radicales o antioxidante. Entre los compuestos responsables de estas actividades se han encontrado flavonoides del tipo flavonol y flavona [6].

En este estudio se tomaron catorce extractos polares de las hojas de especies de los géneros *Miconia*, *Tibouchina*, *Henriettella*, *Tococa*, *Aciotis* y *Bellucia* los cuales fueron evaluados por su actividad alelopática.

### 2. SECCIÓN EXPERIMENTAL

#### 2.1 Materiales y métodos

##### 2.1.1 Material vegetal

*M. coronata* (Bonpl.) DC. y *M. aeruginosa* Naud. se colectaron en la vereda la bananera (Pereira, Risaralda-Colombia), e identificadas por el Dr. Carlos Parra, con vouchers 462519-462534 y 471814-471815. *T. multiflora* (Gardn.) Cogn., *M. prasina* (Sw.) DC., *M. dolichorryncha* Naud., *M. minutiflora* (Bonpl.) DC., *M.*

*trinervia* (Sw.) D. Don ex Loud., se colectaron y determinaron por la Dra. Luz Mila Quiñones. *T. ciliaris* (Vent.) Cong. y *H. trachyphylla* Triana se colectaron en la vereda Laguneta vía Pereira-Armenia, Colombia, e identificadas por el Dr. Frank Almeda. *B. pentamera* Naudin, *B. grossularioides* (L.) Triana, *T. guianensis* Aubl., *A. purpurascens* (Aubl.) Triana. fueron colectadas en la vereda Babaria vía Cumaral, Villavicencio, e identificadas por Dra. Luz M. Quiñones.

Las hojas de estas plantas fueron secadas y molidas en molino de cuchillas (Lab. de suelos y Calidad de Productos Naturales, UTP).

### 2.1.2 Especies receptoras

Semillas de cebolla (*Allium cepa* L.) variedad Red Creole, lechuga (*Lactuca sativa* L.) variedad Black Seeded Simpson, tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) variedades Marglober, Angela Gigante, Río grande, Manalucie y Chonto Santa Cruz fueron compradas a Fercon Ltda.

### 2.1.3 Diseño de cajas para bioensayo

Se diseñaron cajas de vidrio para facilitar las medidas de las plántulas. En estas no se modifica la concentración. La caja de extractos aloja 3 hileras (30 semillas por caja). Para evaluar fracciones se utilizaron 10 semillas por caja.

### 2.2 Obtención de extractos y fracciones

Para la obtención de extractos se tomaron cada una de las plantas secas y molidas, se homogenizaron en la mezcla *i*-PrOH-agua (65:35). Al homogenizado obtenido se realizaron extracciones sucesivas con *n*-hexano, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, *n*-BuOH, AcEtO y acetona acuosa al 70%.

La Tabla 1. muestra los extractos evaluados y las etapas de fraccionamiento de especies *M. coronata*, *M. aeruginosa* y *H. trachyphylla*. Los fraccionamientos fueron realizados en columna cromatográfica sobre DIAION HP-20, Toyopearl HW 40C (TOSOH TSK gel), ODS y MCI GEL. Todas las fracciones fueron llevadas a sequedad, almacenadas y determinado su rendimiento.

Especie	Extracto Evaluado	P.F.	S.F.	T.F.
<i>Tibouchina multiflora</i>	<i>i</i> -PrOH-agua			
<i>Tibouchina ciliaris</i>	acetona 70 %			
<i>Miconia coronata</i>	acetato de etilo	CC3-1 CC3-2	CC3-1-D	CC3-1-D-3 CC3-1-E-4
<i>Miconia dolichorhyncha</i>	acetona 70 %			
<i>Miconia minutiflora</i>	acetona 70 %			
<i>Miconia trinervia</i>	acetona 70 %			
<i>Miconia prassinia</i>	acetona 70 %			
<i>Miconia aeruginosa</i>	acuoso <i>n</i> -Butanol	BF-8	BF-8-C BF-8-D BF-8-E	
<i>Belucia grossularioides</i>	<i>i</i> -PrOH-agua			
<i>Belucia pentamera</i>	<i>i</i> -PrOH-agua			
<i>Acidosis purpurascens</i>	<i>i</i> -PrOH-agua			
<i>Tococa guianensis</i>	<i>i</i> -PrOH-agua			
<i>Hemriettella trachyphylla</i>	<i>i</i> -PrOH-agua		F-1E12	

Tabla 1. Extractos y fracciones evaluadas. P.F: Primer Fraccionamiento, SF: Segundo Fraccionamiento, TF: Tercer Fraccionamiento.

### 2.3 Selección de la especie receptora

La figura 2. muestra el porcentaje y tiempo de germinación de cada especie. Se seleccionó la variedad de tomate Río Grande con porcentaje de germinación del 54.0%, para posterior evaluación frente a extractos polares de las plantas objeto de estudio.

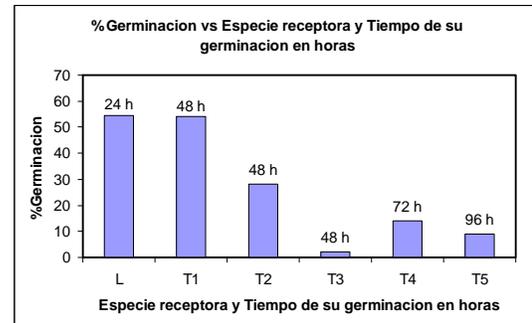


Figura 2. % de germinación vs especies receptoras y tiempo de germinación. (L: lechuga, T1: Tomate RG, T2: Tomate CSC, T3: Tomate Manal., T4: Tomate AG, T5: Tomate Margl.)

### 2.4 Preparación de soluciones de prueba

#### 2.4.1 Pretratamiento del agua

Se calienta agua potable hasta ebullición, enfriando hasta temperatura ambiente.

#### 2.4.2 Preparación de soluciones blanco y control

Se utilizó como control glifosato ( $3.8 \times 10^{-2}$  M). Como blanco se utilizó la mezcla de agua-DMSO (0.33%).

#### 2.4.3 Preparación de extractos

Las soluciones se prepararon tomando 25 mg del extracto disueltas en 0.1 mL de DMSO, posteriormente se completó a 25 mL con agua pretratada, de esta forma se utiliza un mínimo de muestra a una concentración de 1 mg/mL.

#### 2.4.4 Preparación de fracciones

Las soluciones se prepararon tomando 8 mg de fracción disueltas en 0.1 mL de DMSO, posteriormente se completó a 8 mL con agua pretratada, de esta forma se utiliza un mínimo de fracción para obtener una concentración final de 1 mg/mL.

### 2.5 Bioensayo de actividad alelopática

El bioensayo de actividad alelopática se realiza teniendo en cuenta tres pasos a seguir:

#### 2.5.1 Imbibición

Las semillas son sumergidas en vaso de precipitados con solución de sacarosa al 0.02% por 3 horas [7].

#### 2.5.2 Germinación

Las semillas son transferidas a cajas de petri sobre papel filtro y agua pretratada para su germinación durante 48 horas. Luego, se seleccionan las semillas germinadas con radícula de 1 mm de longitud, para ser evaluadas frente al blanco, control y muestra de prueba.

### 2.5.3 Tratamiento

Las semillas seleccionadas se colocan sobre papel filtro (fig. 3.). Un volumen de 30 mL para blanco (Fig. 3a), 25 mL de solución de extracto (Fig. 3c) y 5 mL para el control (Fig. 3b). Para fracciones se utilizan cajas con papel de filtro y 10 semillas (Fig. 3d). Los ensayos son realizados por triplicado.

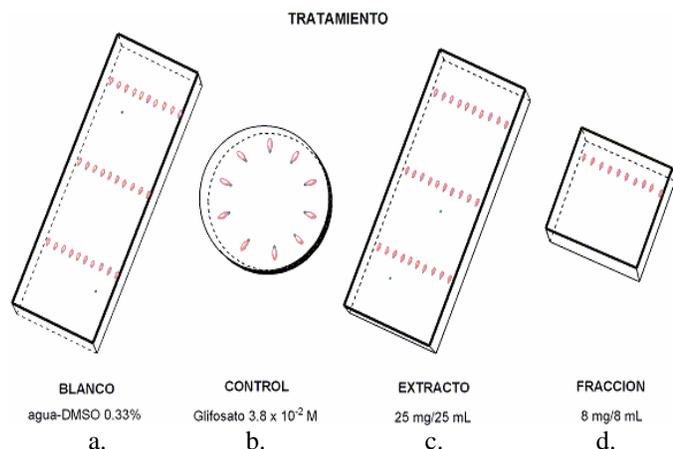


Figura 3. Cajas para evaluación de actividad alelopática.

### 2.6 Análisis estadístico

Los valores tomados fueron analizados por sus promedios, desviación estándar y prueba Q de Dixon. El porcentaje de actividad alelopática se determinó según los valores de muestra, control y blanco representados en la siguiente ecuación:

$$\%A.A = [(V. muestra - V. control) / (V. blanco - V. control)]$$

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los porcentajes de actividad alelopática con respecto al hipocótilo, de los catorce extractos polares de especies de los géneros *Miconia*, *Tibouchina*, *Henriettella*, *Tococa*, *Aciotis* y *Bellucia* se muestran en la tabla 2.

Especie	Día						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>M. aeruginosa (n-but)</i>	0	-24,92	-62,64	-65,64	-67,25	-68,34	-68,66
<i>M. aeruginosa (ac)</i>	0	-22,43	-58,76	-63,82	-58,65	-53,6	-53,92
<i>M. coronata</i>	0	-91,16	-77,98	-72,66	-65,77	-62,59	-60,68
<i>H. trachyphylla</i>	0	-52,63	-45,3	-36,93	-33,41	-33,34	-32,36
<i>M. prasina</i>	0	-77,47	-65,99	-60,14	-56,23	-51,49	-48,07
<i>T. multiflora</i>	0	-60	-44,12	-29,97	-17,61	-13,23	-12,65
<i>T. ciliaris</i>	0	-40,14	-21,91	-24,2	-17,1	-17,11	-15,28
<i>M. dolichorrhyncha</i>	0	-49,46	-50,7	-48,92	-44,86	-44,48	-44,79
<i>M. trinervia</i>	0	-60,55	-46,56	-37,61	-32,24	-28,69	-27,42
<i>M. minutiflora</i>	0	-60,55	-58	-60,79	-62,83	-59,49	-60,17
<i>A. purpuraceae</i>	0	-42,75	-43,24	-34,26	-28,77	-18,99	-16,75
<i>T. guianensis</i>	0	-53,05	-60,63	-62,14	-58,52	-50,84	-48,56
<i>B. grossularioides</i>	0	-51,39	-39,34	-27,22	-21,22	-19,65	-19,9
<i>B. pentamera</i>	0	-69,62	-60,76	-48,16	-38,12	-30,73	-30,88

Tabla 2. Porcentajes de actividad alelopática en hipocótilo

Los extractos evaluados presentan mayor efecto inhibitorio sobre hipocótilo que sobre epicótilo (tabla 3.), donde se muestra un comportamiento de inhibición en algunos casos y en otros de promoción de crecimiento. Según esto las especies más promisorias fueron *M. coronata*, *M. aeruginosa* y *M. prasina*.

Especie	Día						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>M. aeruginosa (n-but)</i>	0	-12,68	-32,29	-31,34	-25,5	-19,93	-17,69
<i>M. aeruginosa (ac)</i>	0	-18,31	-3,5	-7,78	-7,18	15,51	17,73
<i>M. coronata</i>	0	-68,2	-66,33	-64,4	-58,56	-52,62	-44,6
<i>H. trachyphylla</i>	0	-50,77	-53,12	-27,82	-25,12	-17,24	-16,59
<i>M. prasina</i>	0	-62,5	-34,09	-37,28	-35,49	-26,71	-30,36
<i>T. multiflora</i>	0	-27,08	-43,92	-25,44	-19,52	-9,02	-10,77
<i>T. ciliaris</i>	0	32,2	-25,62	-12,21	1,77	11,67	17,6
<i>M. dolichorrhyncha</i>	0	30,51	-48,12	-52,77	-44,94	-27,01	-27,71
<i>M. trinervia</i>	0	19,48	-23,82	-22,93	-16,21	-6,67	-5
<i>M. minutiflora</i>	0	33,77	-23,2	-16,57	-16,69	-8,85	-10,01
<i>A. purpuraceae</i>	0	31,43	-26,32	-2,77	7,55	12,67	18,33
<i>T. guianensis</i>	0	48,57	-35,34	-16,04	-9,24	2,53	1,78
<i>B. grossularioides</i>	0	-62,06	-36,58	-24,2	-14,31	-8,17	-6,14
<i>B. pentamera</i>	0	-56,9	-44,72	-36,52	-20,85	-11,58	-11,29

Tabla 3. Porcentajes de actividad alelopática en epicótilo

El extracto en acetona acuosa 70% de *M. prasina* exhibe un máximo de inhibición en hipocótilo (-77,47%) al segundo día. Esta inhibición disminuye durante los días siguientes, hasta llegar a un mínimo (-48,07%) al último día de ensayo. Sobre epicótilo se presenta mayor inhibición al segundo día (-62,50%), con tendencia a disminuir entre el sexto y séptimo día.

El extracto butanólico de *M. aeruginosa* muestra inhibición al segundo día (-24,92%) sobre hipocótilo, con efecto continuado entre los días 5 y 7 con porcentajes de inhibición -67.25 y -68.66%, respectivamente, sugiriendo que los productos de degradación presentan mayor efecto inhibitorio (Fig. 4.).

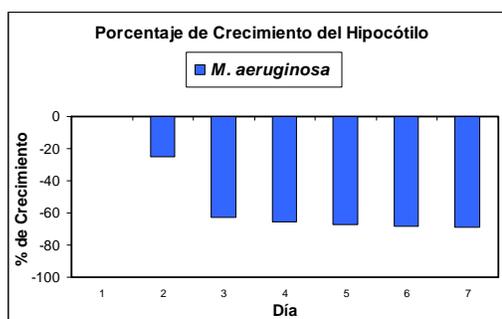


Figura 4. Efecto inhibitorio sobre hipocótilo del extracto butanólico de *M. aeruginosa*.

En hipocótilo, el extracto en AcEtO de *M. coronata*, exhibió mayor inhibición al segundo día (-91.16%), esto muestra la influencia de compuestos de carácter herbicida. Sin embargo, este efecto disminuye desde el cuarto al séptimo día (Figura 5.).

El extracto en AcEtO de *M. coronata* muestra la mayor actividad inhibitoria sobre epicótilo, este presenta su máximo de inhibición al segundo día (-68,20%). Posteriormente presenta disminución de inhibición entre los días 4 al 7.

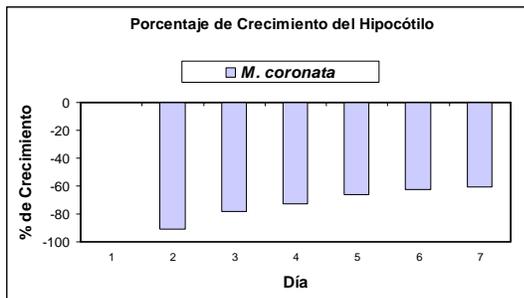


Figura 5. Efecto inhibitorio sobre hipocótilo del extracto en AcEtO de *M. coronata*.

Teniendo en cuenta los resultados mostrados, se tomaron los extractos en AcEtO de *M. coronata* y butanólico de *M. aeruginosa* para ser fraccionados. Las fracciones CC3-2, CC3-1, CC3-1-D, CC3-1-D-3 y CC3-1-E-4 de *M. coronata* presentaron mayor inhibición sobre hipocótilo, a los siete días. Este efecto inhibitorio aumentó a partir del tercer día, sugiriendo compuestos de degradación como los responsables de dicha actividad (tabla 4).

Día	CC3-2 ó C1	CC3-1 ó E	CC3-1-D	CC3-1-D-3	CC3-1-E-4
1	0	0	0	0	0
2	-64,37	-81,61	-75,86	-52,87	-51,72
3	-78,93	-83,71	-88,20	-76,69	-69,94
4	-83,56	-85,56	-89,21	-78,58	-77,42
5	-85,44	-86,04	-89,98	-81,03	-83,65
6	<b>-86,99</b>	-86,69	<b>-90,62</b>	<b>-79,43</b>	-86,39
7	-86,85	<b>-86,75</b>	-89,99	-79,00	<b>-86,95</b>

Tabla 4. %AA sobre hipocótilo de fracciones provenientes del extracto en AcEtO de *M. coronata*

La actividad sobre epicótilo mostró un valor mínimo a -30%, sugiriendo que estas fracciones ejercen efecto inhibitor en hipocótilo y epicótilo.

Día	CC3-2 ó C1	CC3-1 ó E	CC3-1-D	CC3-1-D-3	CC3-1-E-4
1	0	0	0	0	0
2	-37,04	-77,78	<b>-85,19</b>	-33,33	-59,26
3	-48,18	<b>-81,82</b>	-82,73	-38,18	-56,36
4	-47,26	-75,12	-74,63	-38,81	-55,72
5	-57,10	-80,66	-68,58	<b>-47,13</b>	-60,42
6	<b>-57,36</b>	-75,81	-64,84	-44,39	-58,35
7	-56,49	-74,94	-62,87	-42,60	<b>-60,82</b>

Tabla 5. %AA sobre epicótilo de fracciones de *M. coronata*

Las fracciones BF-8, BF-8-C, BF-8-D y BF-8-E de *M. aeruginosa* presentaron porcentajes inhibitorios mayores a -44.16% (Tabla 6.). Las fracciones mostraron un

aumento de efecto inhibitorio sobre hipocótilo entre el sexto y séptimo día. La fracción BF-8-D, de la cual se aisló un compuesto puro presenta inhibición promisoría superior a -50%, esto sugiere que el compuesto responsable de dicha actividad actúa como bloqueador de procesos metabólicos en la planta.

Día	BF-8	BF-8-C	BF-8-D	BF-8-E
1	0	0	0	0
2	-57,14	-44,16	-50,65	-55,84
3	-65,51	-53,66	<b>-55,05</b>	-52,96
4	-68,65	-57,62	-53,77	-56,57
5	-73,50	-58,98	-53,63	-58,98
6	<b>-76,53</b>	<b>-59,53</b>	-52,85	-61,25
7	-76,27	-58,01	-54,46	<b>-62,58</b>

Tabla 6. %AA sobre hipocótilo de fracciones *M. aeruginosa*

Sobre epicótilo (tabla 7.) estas fracciones mostraron un máximo de inhibición al segundo día, con tendencia a la baja desde tercer al sexto día. Al séptimo día se presentó incremento repentino en inhibición siendo importante un efecto residual por parte del compuesto producto de degradación.

Día	BF-8	BF-8-C	BF-8-D	BF-8-E
1	0	0	0	0
2	-21,43	<b>-57,14</b>	-28,57	-7,14
3	-55,00	<b>-57,00</b>	<b>-52,00</b>	<b>-50,00</b>
4	-50,70	-46,01	-43,19	-42,72
5	-55,33	-45,02	-49,14	-42,27
6	-58,75	-48,50	-49,25	-48,50
7	<b>-58,61</b>	-49,58	<b>-52,10</b>	<b>-53,99</b>

Tabla 7. %AA sobre epicótilo de fracciones *M. aeruginosa*

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue llevada a cabo por el Centro de investigaciones - CENIVAM, con el apoyo de COLCIENCIAS, contrato RC 432 de 2004.

#### 5. BIBLIOGRAFÍA

[1] Xuan TD, Tsuzuki E, Terao H, Matsuo M, Khanh TD. 2003. Correlation Between Growth Inhibitory Exhibition and Suspected Allelochemicals (Phenolic compounds) in the Extract of Alfalfa (*Medicago sativa* L.). Plant Production Science, Vol. 6: 165-171.

[2] Macias FA, Castellano D, Molinillo JMG. 2000. Search for a Standard Phytotoxic Bioassay for Allelochemicals. Selection of Standard Target Species. J. of Agriculture Food Chem., Vol. 48, No. 6: 2512-2521.

[3] Vyvyan, JR. 2002. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. *Tetrahedron* 58: 1631-46.

[4] Quiñones M, LM. Diversidad de la Familia Melastomataceae en la Orinoquía Colombiana. Facultad de Ciencias, UN. Bogota DC. 2001. p-7.

[5] Peralta, P. 2002. Las especies del género *Tibouchina* (melastomataceae) en Argentina. *Darviniana*, Vol. 40 (1-4): 107-120.

[6] Isaza JH, Veloza LA, Ramírez LS, Calle LM, Jiménez FJ. 2002. Actividad Ictiotóxica de *Miconia coronata* (Bonpl.) D.C. (Melastomataceae)

[7] León AG, Zamarrita J, Facio ME, Benavides A. 2006. El tratamiento de semillas de tomate y lechuga con Sacarosa/FeSO<sub>4</sub>, modificada la germinación y morfogénesis de plántulas. Disponible en Internet: <http://www.herbario.com.br>.