

Alteraciones producidas por el eudesmanolido-1b-hidroxi-*alantolactona* aislado de *Dinoseris salicifolia* Griseb. en la germinación y en plántulas de saetilla (*Bidens pilosa* L.)¹

Alterations produced by the eudesmanolide-1b-hydroxi-*alantolactone* isolated of *Dinoseris salicifolia* Griseb. on the germination and seedlings of saetilla (*Bidens pilosa* L.)

A. Pastoriza^{2,3}, S. Gianfrancisco³, E. Riscalá³.

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto del eudesmanólido-1b-hidroxi-*alantolactona* (ivasperín) sobre el proceso germinativo y el crecimiento de plántulas de saetilla (*Bidens pilosa* L., Asteraceae). Para ello se determinó el porcentaje de germinación, longitud de radícula e hipocótilo, conductividad del eflujo celular de radículas e índice mitótico en meristemas radiculares. Semillas de saetilla se pusieron a germinar con diferentes concentraciones del ivasperín (300, 600 y 1000 ppm) usando agua destilada y cloroformo como testigos. Los resultados muestran una marcada influencia del ivasperín en el crecimiento de radícula e hipocótilo, con diferencias significativas entre el testigo agua y todos los tratamientos con ivasperín y entre 300 ppm y 1000 ppm. Las mediciones de conductividad del eflujo celular arrojaron una disminución a medida que aumenta la concentración del ivasperín, con diferencias significativas entre 300 y 1000 ppm y entre agua y 1000 ppm. También se presentó una disminución en el índice mitótico con significación estadística entre agua y 600 ppm y entre agua y 1000 ppm. Se concluye que el eudesmanólido-1b-hidroxi-*alantolactona* aislado de *D. salicifolia* ensayado en *B. pilosa* produce una inhibición en el crecimiento de radícula, hipocótilo y en la división celular con alteraciones en la morfología de la radícula y en la permeabilidad de la membrana medida como conductividad del eflujo

Recibido el 15-12-1999●Aceptado el 16-11-2000

1. Trabajo de Investigación Subvencionado por el Consejo de Investigaciones de la Universidad Nacional de Tucumán, Argentina. Resultados parciales se presentaron en la 1ra. Reunión de Producción Vegetal del NOA y en las XVI Jornadas Científicas de la Sociedad de Biología de Tucumán, Argentina.

2. Autor para correspondencia.

3. Facultad de Agronomía y Zootecnia, Universidad Nacional de Tucumán, Av. Roca 1900. CP 4000, San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina. E-mail: adripa@manant.unt.edu.ar

celular.

Palabras clave: Alelopatía, conductividad, germinación, índice mitótico, ivasperín.

Abstract

The objective of this work was to determine the effect of the ivasperin (eudesmanolide-1b-hydroxialantolactone) isolated of *Dinoseris salicifolia* Griseb (*Asteraceae*) on the germinative process and seedling growth of Hairy Beggarticks (*Bidens pilosa* L., *Asteraceae*). It was determined germination percentage, radicle and hipocotyl length, conductivity of cellular eflux of radicle and mitotic index. Seeds began to germinate with different concentrations of the ivasperin (300, 600 and 1000 ppm) using water and chloroform as control. Results show a marked influence of the ivasperin in radicle and hipocotyl growth, with significative differences among the control of all treatments. A decrease in the conductivity of cellular eflux of radicle as concentration of ivasperin increases was noted, with significant differences between 300 and 1000 ppm and between water and 1000 ppm. In addition, it was observed a decrease in mitotic index with statistic signification between control and 600 and 1000 ppm. So, the ivasperin affects the normal growth of radicles with a modification in the membrane permeability and in the rhythm of cellular division.

Key words: allelopathy, conductivity, germination, ivasperin, mitotic index.

Introducción

En un agroecosistema, las interacciones cultivo-maleza varían de acuerdo con las especies involucradas, las prácticas de manejo y los factores ambientales (3). Como consecuencia de ello, las evaluaciones en las pérdidas de rendimiento, ocasionadas por malezas, han llevado a los productores hacia el monocultivo, usando herbicidas de alto costo. Esta reducción en el rendimiento se debe a que, además de competir por el mismo nicho ecológico del cultivo, las malezas poseen mecanismos de ajuste que les permiten sobrevivir en condiciones adversas para el cultivo. Por otro lado, existen interacciones bioquímicas entre las plantas, siendo la alelopatía uno de los mecanismos más importantes mediante el cual una planta

puede afectar el crecimiento de otra.

Bajo condiciones ambientales adecuadas, algunos metabolitos presentes en las plantas son liberados al ambiente, generalmente a la rizósfera, en cantidades tales que pueden afectar el crecimiento de plantas vecinas (15). Al respecto, existen numerosos trabajos que avalan el comportamiento como herbicidas naturales de metabolitos producidos por algunas plantas (7, 8, 12, 13); en particular se cita el efecto alelopático de la familia *Asteraceae* sobre diferentes plantas cultivadas y malezas, afectando la germinación, el crecimiento de las plántulas y la síntesis de ADN, entre otras alteraciones (8, 11).

Para este trabajo se estudiaron las propiedades fitotóxicas de *Dinoseris salicifolia* Griseb., arbusto perteneciente a la familia de las *Asteraceae*, de 1.5 a 5 m de altura, que se encuentra en el Sur de Bolivia y noroeste de la Argentina, desde Tucumán a Jujuy (5), no encontrándose en la bibliografía información sobre sus usos o propiedades.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto del eudesmanólido-1-

b-hidroxi-antolactona (ivasperín) aislado de flores de *D. salicifolia* sobre el proceso germi-nativo y el desarrollo normal de plántulas de *Bidens pilosa* L. (*Asteraceae*), maleza de amplia distribución en el noroeste argentino. Para ello se determinó el porcentaje de germinación, longitud de radícula e hipocótilo, conductividad del eflujo celular de radículas e índice mitótico en meristemas radiculares.

Materiales y métodos

El material utilizado de *D. salicifolia* Griseb. fue recolectado camino a La Merced, Catamarca por Slanis y Riscala SN (LIL601271), en Septiembre de 1996 y el de *Bidens pilosa* L. (Pastoriza N°5, LIL 602414), fue cosechado en el Campo Experimental Finca El Manantial, Tucumán; en Mayo de 1997.

Extracción y purificación del ivasperín. Plantas de *D. salicifolia* se secaron a temperatura ambiente y a la sombra; se separaron las flores y sobre éstas se realizaron dos extracciones con cloroformo a temperatura ambiente. Se obtuvo un Sub Extracto Clorofórmico (SEC) que fue procesado mediante cromatografía en columna, recolectándose 215 fracciones. Para este trabajo se seleccionó la fracción 54 que por IR mostró un pico importante a 1770 cm^{-1} que se asigna a carbonilo de lactona. Posteriormente fue purificada por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con metanol-agua en una proporción 4:3. Su estructura fue elucidada como ivasperín (eudesmanólido-1-b-hidroxi-antolactona) empleando

métodos espectroscópicos, particularmente resonancia magnética protónica y de carbono trece (figura 1).

Para la determinación de las alteraciones en la germinación y desarrollo de las plántulas, se incubaron las semillas de *B. pilosa* durante 96 hs., con luz continua y a 25°C , en cajas de Petri con papeles de filtro Watman N°1 imbibidos en concentraciones crecientes del ivasperín (300, 600 y 1000 ppm) y utilizando agua destilada y cloroformo como testigos. Se empleó el método de Kato *et al.* (10) para estimar la germinación de las semillas y se midió la longitud de radícula e hipocótilo.

Para evaluar la conductividad del eflujo celular, se cortaron las radículas a las 96 h de germinadas y se colocaron en 5 mL de agua bides-tilada durante 15 hs. a 25°C . Se realizaron las mediciones y posteriormente se determinó el peso seco del material vegetal (1). En las determinaciones citadas se utilizaron 4 repeticiones con 50 semillas cada uno.

El índice mitótico, medido como porcentaje de células en división sobre el

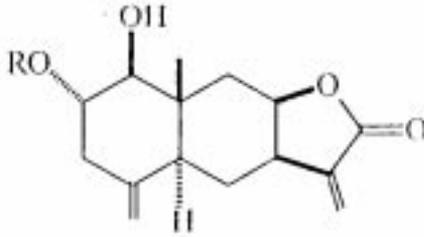


Figura 1. Estructura del ivasperín.

total observado, se realizó fijando los meristemas radiculares en alcohol etílico: ácido acético glacial (3:1) durante 24 h. Se hidrolizó en ácido clorhídrico N a 58°C durante 3 minutos y se coloreó con hematoxilina acética al 2% usando citrato férrico como mordiente (2 y 4). Se

contaron un total de 1250 – 1300 células para cada tratamiento.

Los datos se procesaron estadísticamente, realizándose el Análisis de la Varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey para confrontación de medias.

Resultados y discusión

En todos los parámetros determinados, los testigos agua y cloroformo no presentaron diferencias significativas entre ellos, por lo que solamente se utilizó el agua como referencia.

El número de semillas germinadas, expresada en porcentaje, muestra una marcada disminución en las concentraciones más elevadas del ivasperín con respecto al agua. A pesar de ello, el análisis estadístico no dio diferencias significativas (figura 2).

En cuanto a la longitud de radícula e hipocótilo se observó una marcada influencia del ivasperín en el crecimiento de los mismos, con diferencias significativas ($P < 0,05$) entre el testigo agua y todos los tratamientos con ivasperín; también entre el tratamiento 300 ppm respecto a 600 ppm (figuras 3 y 4). Esto significa una disminución en la longitud de la radícula del 37%, 63% y 56% para 300, 600 y 1000 ppm

respectivamente. La reducción en la longitud del hipocótilo fue del orden del 32%, 56% y 53% para 300, 600 y 1000 ppm respectivamente. Se deduce que hay una concentración óptima del metabolito en la que ocurre la mayor disminución de la longitud de radícula e hipocótilo, que corresponde a 600 ppm; a mayor concentración se observa un efecto menor (1000 ppm). Resultados similares han sido citados para lactonas aisladas de *Centaurea tweediei* (Asteraceae) y de *Hyaloseris andrade-limae* (Asteraceae), las cuales han ejercido un efecto represor en el crecimiento de plántulas de especies forrajeras (6, 14).

En cuanto a la conductividad del eflujo celular de radículas, los resultados obtenidos muestran una disminución a medida que aumenta la concentración del ivasperín, con diferencias significativas entre el testigo

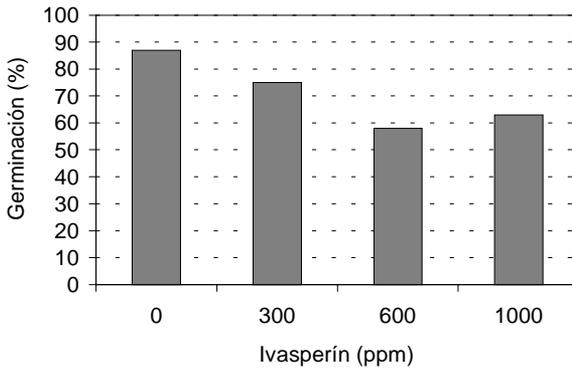


Figura 2. Efecto de las diferentes concentraciones del ivasperin (eudesmanólido-1b-hidroxi-*alantolactona*) aislado de flores de *D. salicifolia* sobre el porcentaje de germinación de saetilla (*B. pilosa*).

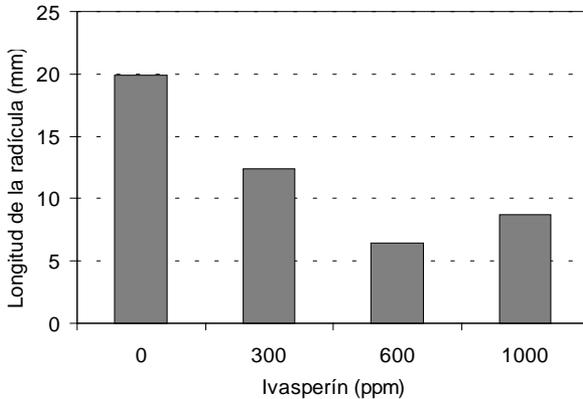


Figura 3. Efecto de las diferentes concentraciones del ivasperin (eudesmanólido-1b-hidroxi-*alantolactona*) aislado de flores de *D. salicifolia* sobre la longitud radicular de *B. pilosa*.

agua y 1000 ppm. (figura 5). Al respecto, Gianfrancisco *et. al*(9) informaron que el ivasperin produce un efecto depresor en la conductividad del eflujo celular de radículas de achicoria, aunque sin diferencias significativas con el testigo agua.

Con respecto al índice mitótico de meristemas radiculares, también se encontró una disminución en los valores del mismo con significación

estadística entre agua y 600 y 1000 ppm (figura 6). Estos datos son concordantes con los obtenidos al evaluar la longitud radicular, particularmente a 600 y 1000 ppm.

Por lo expuesto anteriormente se puede concluir que el eudesmanólido-1b-hidroxi-*alantolactona* aislado de flores de *D. salicifolia* ensayado en *B. pilosa* produce una disminución del crecimiento de radícula

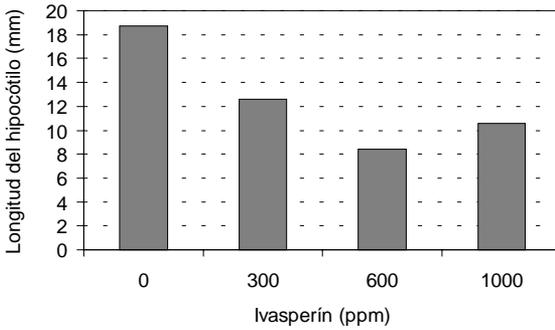


Figura 4. Efecto de las diferentes concentraciones del ivasperin (eudesmanólido-1b-hidroxiialantolactona) aislado de flores de *D. salicifolia* sobre la longitud de hipocótilo en *B. pilosa*.

e hipocótilo y del ritmo de la división celular, y modificaciones en la permeabilidad de la membrana medida como conductividad del eflujo celular. Por ello, resultaría interesante tener en

cuenta en futuros estudios sobre alelopatía, el potencial como herbicida natural demostrado por *D. salicifolia* en saetilla.

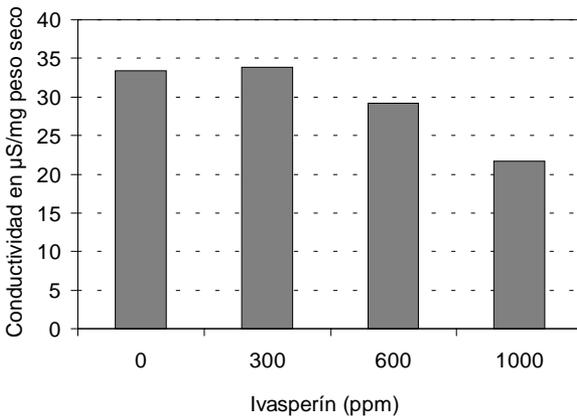


Figura 5. Efecto de las diferentes concentraciones del ivasperin (eudesmanólido-1b-hidroxiialantolactona) aislado de flores de *D. salicifolia* sobre la conductividad del eflujo celular en radículas de *B. pilosa*.

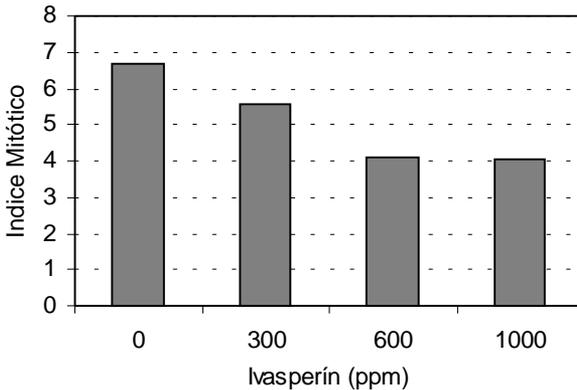


Figura 6. Variaciones en el índice mitótico de meristemas radiculares de *B. pilosa* producidas por el ivasperín (eudesmanólido-1b-hidroxiactalantolactona) aislado de flores *D. salicifolia*

Literaturacitada

- Amado, M. E. y J. A. Rodríguez Rey. 1984. Evaluación del aclimatamiento y daño tisular en tres variedades de caña de azúcar. Miscelánea N°85. FAZ – UNT.
- Andrada, A. B., A. J., Boggiatto, L. G., Auad, y Collado M. (1975). Estudios citogenéticos en el híbrido intergenérico *Euchlaena perennis* Hitch. por *Zea mays* L. I. Análisis mitótico en plantas de dos generaciones. R.A.N.A. . Argentina. 12 (3-4): 323-330.
- Altieri. M. A. 1997. Agroecología: "Bases científicas para una agricultura sustentable". CLADES. Lima, Perú. 512 p.
- Boggiatto, A. J., A. B. Andrada, y A.M.-Zamudio 1979. *Euchlaena perennis* Hitch por *Zea mays* L. Interpretación citogenética de su fertilidad. Rvta. Agron. N.O. Argent., 16 (1-4): 75-88.
- Cabrera, A. L. 1993. Flora de la Provincia de Jujuy. Parte IX. Colección científica del INTA. p. 47-52.
- Fortuna, A. M., S., Turbay, J., Trimarco, M., Krautman, E., Riscala, 1999. Actividad biológica de *Centaurea tweediei* en especies forrajeras. Resúmenes XVI Jornadas Científicas de la Sociedad de Biología de Tucumán. Tucumán, Argentina. p. 10.
- Gianfrancisco, S., A., Pastoriza, y E., Riscala, 1997. Influencia de un extracto de *Raphanus sativus* L. en el proceso de germinación de achicoria y malezas. Resúmenes XIV Jornadas de la Sociedad de Biología de Tucumán. Tucumán, Argentina. p. 125.
- Gianfrancisco, S., A., Pastoriza, y E., Riscala, 1998. Influencia de un extracto de *Raphanus sativus* L. sobre la germinación y el crecimiento de plántulas de achicoria. Rev. Fac. Agron. (LUZ). Vol. 15: 414-421.
- Gianfrancisco, S., A., Pastoriza, y E., Riscala, 1999. Efecto de un metabolito aislado de *Dinosersis salicifolia* Griseb. sobre radiculas de achicoria. XXII Congreso Argentino de Horticultura. Tucumán, Argentina. Sección Sanidad. Trabajo 120:1-4.

10. Kato, T.; M., Tsunakawa, N., Sasaki, H., Aizawa, K., Fujita, Kitahara, y N. Takashi. (1977). Growth y Germination Inhibitors in Rice Husks. *Phytochemistry*, 15 (1): 45.
11. Koitabashi, R., T. Suzuki, A. Sakai, H. Kuroiwa y T. Kuroiwa. 1997. 1,8 cinole inhibits roots growth y DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* L.. *Journal of Plant Research*. 110:1-6.
12. Krautman, M., A., Marchese, A., Pastoriza, y E., Riscala, 1997. Efectos de *Psilostachyna* sobre la germinación de *Lactuca sativa*. Actas del XIII Congreso Latinoamericano de Malezas (ALAM). p. 232-240.
13. Moyer, J.R. y H. C. Huang. 1997. Effect of aqueous extracts of crop residues on germination y seedling growth of ten weed species. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*. 38 (2): 131-139.
14. Trimarco, M., M., Krautman, A., Fortuna, E., Riscala, 1999. Influencia de una maleza en la germinación de mono y dicotiledóneas. Resúmenes XVI Jornadas Científicas de la Sociedad de Biología de Tucumán. p. 163.
15. Weston, L. A. 1996. Utilization of allelopathy for weed management in Agroecosystems. *Agron. J.* 88:860-866.