

Evaluación *in vitro* del efecto alelopático de un extracto de *Curcuma longa* L. en la germinación de semillas de *Lactuca sativa* L., *Raphanus sativus* L., y de las malezas *Verbena officinalis* L. y *Plantago major* L.

Pinto Valdiviezo, Eliza Abigail

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología

Naranjo Puente, Blanca Fabiola Ms.C.

8 de agosto del 2022



# CopyLeaks.docx

Scanned on: 3:35 August 8, 2022 UTC







Overall Similarity Score

Results Found

Total Words in Text

Identical W ords	4
Words with Minor Changes	0
Paraphrased W ords	61
Omitted Words	318



Naranjo Puente Blanca Naranjo, Ph. D.

C.C.: 0602201410



Website | Education | Businesses



# Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

# Carrera de Ingeniería en Biotecnología

#### Certificación

Certifico que el trabajo de titulación: "Evaluación *in vitro* del efecto alelopático de un extracto de *Curcuma longa* L. en la germinación de semillas de *Lactuca sativa* L., *Raphanus sativus* L., y de las malezas *Verbena officinalis* L. y *Plantago major* L." fue realizado por la señorita **Pinto Valdiviezo Eliza Abigail**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 08 de agosto del 2022

BLANCA FABIOLA
NARANJO PUENTE

Naranjo Puente Blanca Fabiola

C. C: 0602201410



# Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

# Carrera de Ingeniería en Biotecnología

## Responsabilidad de Autoría

Yo, Pinto Valdiviezo Eliza Abigail, con cédula de ciudadanía Nro. 1723292957 declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: "Evaluación in vitro del efecto alelopático de un extracto de Curcuma longa L. en la germinación de semillas de Lactuca sativa L., Raphanus sativus L., y de las malezas Verbena officinalis L. y Plantago major L." es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 08 de agosto del 2022

Pinto Valdiviezo Eliza Abigail

1 bigal Pinto V.

C.C: 1723292957



# Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

# Carrera de Ingeniería en Biotecnología

### Autorización de Publicación

Yo, Pinto Valdiviezo Eliza Abigail con cédula de ciudadanía Nro. 1723292957, ID: L00039217 autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: "Evaluación in vitro del efecto alelopático de un extracto de Curcuma longa L. en la germinación de semillas de Lactuca sativa L., Raphanus sativus L., y de las malezas Verbena officinalis L. y Plantago major L." el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 08 de agosto del 2022

Pinto Valdiviezo Eliza Abigail

(bigail Pinto V.

C.C: 1723292957

# Dedicatoria

A mis padres, Eliza Valdiviezo y Freddy Pinto, y a mis hermanos Doménica y Omar, quienes fueron y son las personas que siempre han estado apoyándome y nunca han declinado en su andar junto a mí.

Eliza Abigail Pinto Valdiviezo

## Agradecimientos

Quiero agradecer a Dios, por permitirme llegar a este momento de mi vida junto con las personas que quiero, y por ayudarme a continuar alcanzando mis objetivos.

Agradezco a mis padres, Eliza y Freddy, por ser los principales guías en mi vida y quienes han estado presentes en cada paso que he dado, apoyándome incondicionalmente a pesar de mis errores.

A mis hermanos, Omar y Doménica, quienes me han dado fuerzas cuando pensaba que no podía lograr mis objetivos.

A mis amigos, Gaby, Oscar, Alejandro, Diego, Fernando, Joseph, Wendy y

Pamela, quienes se convirtieron en cómplices en esta aventura, y con los cuales aprendí

que el mundo está lleno de personas maravillosas que llegan en el momento perfecto. En

especial a Jennifer, quien supo apoyarme y brindarme las palabras exactas cuando más

lo necesité.

Gracias quiero dar a la Dra. María Emilia Medina, quien me permitió trabajar en el Laboratorio de Microbiología de Suelos del CENCINAT, con la libertad de aprender de mis experiencias, a la vez de siempre brindarme sus concejos que fueron de gran ayuda para mejorar como estudiante y persona.

A la Dra. Blanquita Naranjo que, como directora de trabajo de titulación y persona, es una de las personas en las que pude encontrar apoyo en los momentos difíciles.

Además de compartirme su conocimiento con generosidad.

Eliza Abigail Pinto Valdiviezo

# **Índice General**

Resultados CopyLeaks	2
Certificado del Director	3
Responsabilidad de Autoría	4
Autorización de Publicación	5
Dedicatoria	6
Agradecimientos	7
Índice de Tablas	11
Índice de Figuras	12
Resumen	13
Abstract	14
Capítulo I: Introducción	15
Formulación del Problema	15
Justificación o Importancia del Problema por Resolver	17
Objetivos	18
Objetivo General del Proyecto	18
Objetivos Específicos	18
Capítulo II: Marco Referencial	19
Germinación	19
Metabolismo Secundario	20
Terpenos	21

Fenoles	23
Alcaloides	24
Rol de los Principios Activos: Alelopatía	26
Alelopatía	26
Importancia de los Cultivos Alimenticios	27
Curcuma longa L. (cúrcuma)	28
Métodos de Extracción de Principios Activos: Maceración	30
Capítulo III: Metodología	33
Adquisición de Material Vegetal	33
Tratamiento de la Muestra	33
Desinfección de semillas	33
Obtención del Extracto y preparación de diluciones	33
Evaluación del efecto alelopático	35
Inhibición de la germinación y longitud de la raíz	35
Inhibición del crecimiento de tallo	36
Prueba de viabilidad de semillas con Índigo-Camín	36
Análisis Estadístico	36
Capítulo IV: Resultados	37
Obtención del extracto etanólico de Cúrcuma longa L. medi	ante maceración fría.
	37

Efecto alelopático del extracto de cúrcuma sobre la germinación de ser	nillas de
Lactuca sativa L. (lechuga), Raphanus sativus L. (rábano), Verbena offi	cinalis L.
(verbena común) y <i>Plantago major</i> L. (llantén)	37
Análisis de viabilidad de semillas de Verbena officinalis L. (verbena d	omún) y
Plantago major (llantén).	42
Efecto alelopático del extracto de cúrcuma sobre la elongación de las r	aíces de
Lactuca sativa L. (lechuga), Raphanus sativus L. (rábano) y Plantago m	ajor L.
(Ilantén).	43
Efecto alelopático del extracto de cúrcuma sobre la elongación del tallo	de
semillas de <i>Lactuca sativa</i> L. (lechuga), <i>Raphanus sativus</i> L. (rábano) y	Plantago
major L. (Ilantén)	47
Capítulo V: Discusión	51
Extracto etanólico de <i>C. longa</i>	51
Efecto alelopático en la germinación	52
Efecto alelopático en la elongación de plántulas	54
Capítulo VI: Conclusiones y Recomendaciones	56
Capítulo VII: Referencias	58
Capítulo VIII: Apéndices	68

# Índice de Tablas

Tabla 1 Clasificación y ejemplos de los terpenos	22
Tabla 3 Clasificación de los compuestos fenólicos	24
Tabla 4 Contenido nutricional de Lactuca sativa L. y Raphanus sativus L	28
Tabla 5 Taxonomía de Curcuma longa L	29
Tabla 6 Solventes utilizados para la extracción de principios activos	31
Tabla 7 Porcentaies de inhibición de la germinación	38

# Índice de Figuras

Figura 1 Proceso de captación de agua y etapas de la germinación1
Figura 2 Rutas biosintéticas de los terpenos en la célula vegetal
Figura 3 Metabolitos secundarios de C. longa. a) Curcumina, b) Turmerona3
Figura 4 Obtención del extracto de cúrcuma3
Figura 5 Diluciones preparadas a partir del extracto de cúrcuma3
Figura 6 Extracto de cúrcuma concentrado, obtención de oleorresina de C. longa3
Figura 7 Curvas de porcentajes de germinación de semillas de lechuga3
Figura 8 Efecto alelopático sobre el crecimiento de la raíz de semillas de lechuga3
Figura 9 Curvas de porcentajes de germinación de semillas de rábano4
Figura 10 Efecto alelopático sobre el crecimiento de la raíz de semillas de rábano4
Figura 11 Curvas de porcentajes de germinación de semillas de llantén4
Figura 12 Efecto alelopático sobre el crecimiento de la raíz de semillas de llantén4
Figura 13 Tinción de embriones de verbena y llantén con índigo carmín 0.15%43
Figura 14 Alelopatía del extracto de cúrcuma sobre el crecimiento de raíces de lechuga.4-
Figura 17 Alelopatía del extracto de cúrcuma sobre el crecimiento de raíces de rábano4
Figura 18 Alelopatía del extracto de cúrcuma sobre la longitud de raíces de rábano4
Figura 19 Plántulas de lechuga. a) 0.10 mg/mL, b) 0.05 mg/mL4
Figura 20 Alelopatía del extracto de cúrcuma sobre la longitud del tallo de lechuga4
Figura 21 Alelopatía del extracto de cúrcuma sobre la longitud del tallo de rábano4
Figura 22 Plántulas de rábano. a) luego de 3 días y b) luego de 7 días de establecer el
ensayo4

#### Resumen

Las malezas son especies invasoras que provocan pérdidas de los cultivos, debido a que su capacidad de adaptación las convierte en fuertes competidoras por los nutrientes del suelo. Esta problemática junto con las desventajas del uso excesivo de herbicidas que contaminan el ambiente, ha impulsado el estudio de extractos naturales que sustituyan el uso de estos compuestos químicos y que ofrezcan un buen control de las malezas. *Curcuma longa* (cúrcuma) es una especie cuyos metabolitos secundarios han sido estudiados para el control de malezas y otros tipos de plagas, debido a que estos productos naturales han demostrado tener efectos antifúngicos, antibacterianos, herbicidas entre otros.

Este estudio analizó el efecto alelopático de un extracto etanólico de *C. longa*, que mostró un efecto estimulante sobre la germinación de *Lactuca sativa* L. (97%) y *Raphanus sativus* L. (100%), a los 3 y 4 días de aplicar el extracto a las concentraciones de 0.10, 0.20 y 0.30 mg/mL, mientras que a la concentración de 0.10 mg/mL, se observó una inhibición de la germinación de *Plantago major* L. (maleza). Además de que, el crecimiento de raíces y tallos de *Lactuca* sativa L. y *Raphanus sativus* L., fue mayor a la concentración de 0.10 mg/mL del extracto.

Palabras clave: cúrcuma, alelopatía, etanol, malezas, cultivos

Abstract

Weeds are invasive species that cause crop losses because their adaptability makes them

strong competitors for soil nutrients. This problem, together with the disadvantages of the

excessive use of herbicides that contaminate the environment, has prompted the study of

natural extracts that replace the use of these chemical compounds and offer good weed

control. Curcuma longa (turmeric) is a species whose secondary metabolites have been

studied for the control of weeds and other types of pests, because these natural products

have shown antifungal, antibacterial, herbicidal and other effects.

This study analyzed the allelopathic effect of an ethanolic extract of C. longa, which

showed a stimulating effect on the germination of Lactuca sativa L. (97%) and Raphanus

sativus L. (100%), 3 and 4 days after applying the extract at concentrations of 0.10, 0.20

and 0.30 mg/mL, while at the concentration of 0.10 mg/mL, an inhibition of the germination

of Plantago major L. (weed) was observed. In addition, the growth of roots and stems of

Lactuca sativa L. and Raphanus sativus L. was greater at the concentration of 0.10 mg/mL

of the extract.

Key words: turmeric, allelopathy, ethanol, weeds, crops

# Capítulo I: Introducción

#### Formulación del Problema

La agricultura es una actividad antropogénica que busca la producción a gran escala de especies vegetales específicas a las cuales se denominan cultivos (Moreno, 2021). Estos cultivos requieren de diferentes componentes nutricionales y ambientales para crecer y producir de forma óptima, pero en ocasiones pueden verse afectados por otras especies vegetales diferentes y que surgen de manera espontánea compitiendo por nutrientes, espacio o siendo huéspedes de patógenos y parásitos (Muppala & Guruviah, 2020). A estas especies ajenas al cultivo se las conoce como malezas, y son plantas no deseadas a las cuales se pretende eliminar o mitigar en su crecimiento (Guzmán & Martínez, 2019).

A nivel mundial las malezas pueden llegar a provocar pérdidas dependiendo su agresividad entre un 30% y 80% siendo los cultivos de trigo, arroz, maíz, soja y cebada los más afectados (Moreno, 2021; The International Herbicide-Resistant Weed Database, 2022). En el Ecuador las pérdidas económicas por la presencia de malezas, oscilan entre el 5% al 10% (Muppala & Guruviah, 2020; Suquilanda, 2017). El cacao, banano, maíz y cítricos son algunos de los cultivos que se ven afectados por la presencia de malezas, principalmente aquellas de la familia *Poaceae* como lo es *Cynodon dactylon* L. (Pers.) (Worm et al., 2018) .

Ante esta problemática existen medidas de control que pueden ir desde una forma de deshierbe manual, hasta el uso de herbicidas (Suquilanda, 2017). Esta última, es la forma más común de control y a pesar de ser eficiente tiene como consecuencia la aparición de una "resistencia" por parte de las malezas, provocando que la utilidad de estos compuestos se vea limitada con el tiempo (Peterson et al., 2018).

Similar a lo que sucede con la resistencia de los microorganismos y los medicamentos, en los campos, la resistencia a herbicidas se da como una respuesta adaptativa de las malezas para sobrevivir ante la aplicación de un determinado compuesto químico a una dosis determinada (Peterson et al., 2018). Si bien, el incremento de la dosis o el uso de un herbicida nuevo pueden mejorar o mantener el control de las malezas, al mismo tiempo estimulan el desarrollo de diferentes genotipos que a largo plazo expresarán una nueva resistencia o multiresistencia a estos químicos (Soumoulou, 2021).

Por otra parte, el abuso y mal uso de herbicidas (en Ecuador) ha provocado afecciones en la salud humana, como las intoxicaciones agudas que se deben principalmente a la inhalación de herbicidas como el glifosato y paraquat, que son reconocidos por la OMS como químicos de peligrosidad grado III (poco peligroso) y II (moderadamente peligroso) respectivamente (Andino, 2021; Organización Mundial de la Salud, 2020).

Además, se conoce que la mayoría de los herbicidas, están constituidos por sustancias sintéticas que contaminan el ambiente, principalmente el suelo, el cual puede perder sus propiedades fisicoquímicas, así como los microorganismos benéficos que alberga, razones por las que se afecta directamente a la cantidad y calidad de las cosechas, repercutiendo a su vez en los intereses tanto de productores como consumidores (Suquilanda, 2017).

## Justificación o Importancia del Problema por Resolver

La necesidad de conservar el ambiente, la salud y la economía de los agricultores, ha impulsado la búsqueda de nuevas prácticas agrícolas, que se han orientado al estudio de las interacciones naturales entre los organismos que habitan un mismo espacio para poder mantener el control de malezas o plagas que puedan afectar a los cultivos (Guzmán & Martínez, 2019). Entre estas interacciones se encuentra el efecto alelopático de distintos tipos de metabolitos secundarios, producidos por plantas o microorganismos que pueden interferir en el desarrollo normal de diferentes plagas y malezas, sin causar daño en el entorno (Moreno, 2021).

El estudio de los metabolitos secundarios de *Curcuma longa* L. ha demostrado resultados favorables no solo en el control de plagas, sino también en la inhibición del crecimiento de malezas como una forma de control biológico. Los productos naturales de *C. longa* han sido efectivos en la inhibición del crecimiento de malezas como *Portulaca oleracea* L., *Bidens pilosa, Lolium multiflorum* Lam. y *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv, presentando mínimas afectaciones a los cultivos que se están produciendo (Dolores Ibáñez & Blázquez, 2019).

El creciente interés en el aprovechamiento de metabolitos secundarios, forma parte de una agricultura climática inteligente (CSA), que tiene como finalidad sustituir a los plaguicidas sintéticos por principios activos obtenidos de plantas existentes en nuestro medio (GS, 2018). De esta manera, se busca que los posibles sustitutos sean biodegradables y menos tóxicos al entrar en contacto con el ser humano y animales, reduciendo así su probabilidad de bioacumulación y biomagnificación en el ambiente (Hassaan & El Nemr, 2020).

# Objetivos

# **Objetivo General del Proyecto**

Evaluar *in vitro* el efecto alelopático de un extracto de *Curcuma longa* L. en la germinación de semillas de *Lactuca sativa* L., *Raphanus sativus* L., y de las malezas *Verbena officinalis* L. y *Plantago major* L.

# **Objetivos Específicos**

- 1. Obtener un extracto de Curcuma longa L. mediante maceración fría con etanol.
- 2. Evaluar el efecto alelopático con cuatro diluciones preparadas del extracto de cúrcuma en la germinación de las semillas de las especies alimenticias *Lactuca sativa* L. (lechuga) y *Raphanus sativus* L. (rábano) y de las malezas *Verbena officinalis* L. (verbena común) y *Plantago major* L. (llantén).
- Evaluar la elongación de las plántulas de las especies alimenticias Lactuca sativa
   L. (lechuga) y Raphanus sativus L. (rábano) y de las malezas Verbena officinalis L.
   (verbena común) y Plantago major L. (llantén) con dos diluciones de cúrcuma.

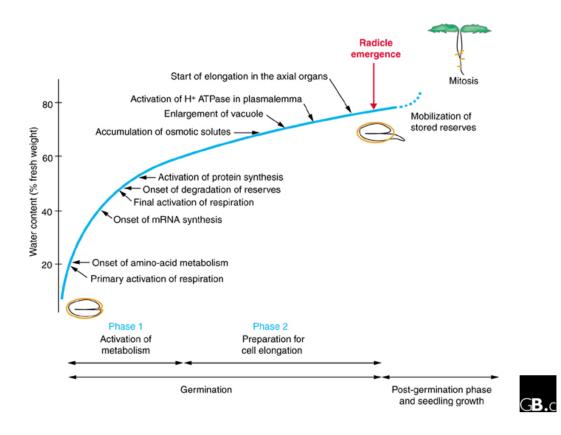
# Capítulo II: Marco Referencial

# Germinación

La germinación es un proceso determinante para el inicio del ciclo de vida de las plantas superiores y es considerada como la primera respuesta adaptativa de las semillas para desarrollarse como plantas nuevas. Para esto, las semillas atraviesan por cambios metabólicos y morfogénicos que culminan con la penetración de la raíz a través de las membranas que la recubren (germinación visible), cuando encuentran las condiciones ambientales adecuadas (Castañares, 2017; Tuan et al., 2018; Yao et al., 2020).

Figura 1

Proceso de captación de agua y etapas de la germinación



Nota: Tomado de Bove et al. (2002).

Para iniciar el proceso de germinación, se requiere de varios factores que trabajan en conjunto. La temperatura es considerada como el factor más influyente sobre la germinación y dormancia de las semillas, siendo las temperaturas bajas las que inducen la dormancia y por el contrario las temperaturas cálidas las que estimulan la germinación (Tan et al., 2013). La humedad es otro requisito, puesto que la captación de agua (proceso conocido como imbibición) es la primera etapa de la germinación. En esta fase se reactiva el metabolismo de la semilla, dando paso a la síntesis de proteínas y posterior expansión del embrión (Tuan et al., 2018). De igual manera, la luz trabaja en conjunto con los factores anteriormente mencionados regulando los niveles de giberelinas y ácido abscísico, que son los reguladores de crecimiento relacionados a la germinación y dormancia de las semillas respectivamente (Yan & Chen, 2020).

#### **Metabolismo Secundario**

Ante cualquier amenaza, los seres vivos manifiestan algún tipo de respuesta defensiva para mantener su integridad. Los mecanismos de defensa difieren entre plantas, animales y humanos. Centrándonos en las plantas, podemos encontrar una extensa variedad de sustancias con diferentes principios activos. A diferencia de los animales y humanos, las plantas además de su metabolismo primario, indispensable para la continuidad de sus funciones vitales, posee un segundo metabolismo encargado de la síntesis de sustancias que promoverán la supervivencia de estas ante cualquier tipo de estrés (Mushtaq et al., 2020).

Es el conjunto de reacciones químicas que emplean carbono asimilado y energía para generar una variedad de moléculas, denominados como metabolitos secundarios. Estas moléculas también conocidas como productos secundarios o productos naturales son sustancias que se producen en cantidades pequeñas, se encuentran restringidas a

determinados géneros o especies vegetales y no son esenciales en las funciones vitales de las plantas (Pérez-Urria Carril & Ávalos García, 2009; Vijayakumar & Raja, 2018).

Su síntesis puede ser estimulada por factores bióticos (virus, hongos, bacterias, depredadores) o abióticos (temperatura, radiación UV, humedad, disponibilidad de agua, etc.) y su cantidad puede variar dependiendo la fase de desarrollo de la planta. Estos metabolitos se sintetizan por diferentes rutas metabólicas y usualmente su lugar de síntesis es distinto a su lugar de almacenamiento (Suárez-Medina & Coy-Barrera, 2016).

Los productos secundarios pueden clasificarse en tres grandes grupos:

# **Terpenos**

Son hidrocarburos producidos naturalmente por plantas superiores, coníferas e incluso algunos animales. Su síntesis se da a partir de la ruta del ácido mevalónico (MVA) o de la ruta del metileritritol fosfato (MEP), que tienen lugar en el citoplasma celular y en los cloroplastos respectivamente. Los terpenos tienen como bloques estructurales al isopentenil difosfato (IPP) y su isómero dimetilalil difosfato (DMAPP), que son unidades de 5 carbonos (5C) (A. Lal et al., 2018; Zhou & Pichersky, 2020). Estos compuestos al condensarse, generan estructuras complejas que son clasificadas dependiendo del número de unidades estructurales en monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos y politerpenos (Pérez-Urria Carril & Ávalos García, 2009). Sin embargo, cuando un terpeno sufre una modificación estructural como es la adición de algún grupo funcional (hidroxilo, carboxilo, cetona, etc.) se lo conoce con el nombre de "terpenoide" (A. Lal et al., 2018).

Tabla 1

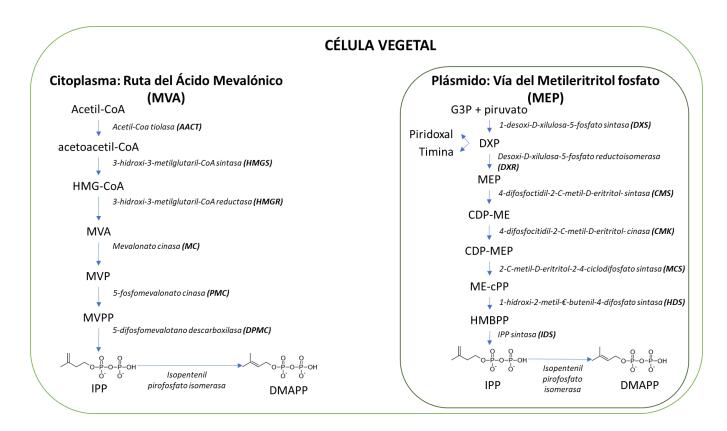
Clasificación y ejemplos de los terpenos.

N° de unidades estructurales	N° de carbonos	Terpenoide	Ejemplos
2	10	Monoterpenos	$\alpha$ - y β-pineno, limoleno, δ-3-careno, $\alpha$ -felandreno, mirceno.
3	15	Sesquiterpenos	(E)-β-cariofileno, ácido abscísico.
4	20	Diterpenos	Giberelinas, Gossypol.
6	30	Triterpenos	Gingenósidos, Friedelina, aplotaxeno, amirinas.
8	40	Tetraterpenos	Carotenos (licopeno, xantofilas).
>8	>40	Politerpenos	Caucho, gutapercha (Resina).

Nota: Tomado de Bhatla y Lal (2018), y CIATEJ (2016).

Rutas biosintéticas de los terpenos en la célula vegetal.

Figura 2



Nota: Tomado de Cancino (2008).

Este amplio grupo de metabolitos secundarios tiene importancia por las funciones fisiológicas como la formación de reguladores de crecimiento (giberelinas), formando estructuras de membrana como los esteroles o constituyendo aceites esenciales con funciones atrayentes o repelentes de polinizadores y herbívoros respectivamente (Almeyda Cen, 2017; Pérez-Urria Carril & Ávalos García, 2009). Tienen importancia para diferentes industrias puesto que son compuestos con gran aplicación para la formulación de fragancias, sabores, farmacéuticos e incluso biocombustibles (Eiben et al., 2019).

**Tabla 2**Actividad biológica o función de algunos terpenos.

Fuente Terpenoide		Función o Actividad biológica	
Menta	Mentol, linalol	Bloquea el transporte de iones, Interfiere con la neurotransmisión, Anestésico.	
Digitalis sp.	Digitoxina, dioxina, gitoxina.	Estimula la contracción cardiaca. Altera el transporte de iones.	
Gossypium sp.	Gossypol	Bloquea la fosforilación. Toxina.	
Betulina Ácido betunílico	Betula alba	Antibacterial, antifúngico, anticancerígeno, actividad anti VIH.	
Arabidopsis thaliana	inalool/nerolidol	Anti áfidos. Reducción de herbívoría.	
Z. mays	Indol, (E)-β-farneseno, (E)- nerolidol.	Interacción tritrófica (atraen parasitoides o depredadores de los herbívoros)	
Agelastica alni	ß-ocimeno	Comunicación planta-planta, Disminución de herbivoría.	

Nota: Tomado de Bhatla y Lal (2018), y Marín y Céspedes (2007).

## Fenoles

Los compuestos fenólicos son un grupo de metabolitos ampliamente distribuidos en las plantas. Su estructura base refleja un anillo aromático con al menos un grupo hidroxilo (OH), siendo el fenol el compuesto más sencillo (Shoker, 2020). Debido a su diversidad existen diferentes formas de clasificarlos, sin embargo la forma más usual es

en base al número de anillos aromáticos y la longitud del esqueleto carbonado como se muestra en la "Tabla 3" (Kołton et al., 2022).

Tabla 3

Clasificación de los compuestos fenólicos.

Número de anillos	Esqueleto carbonado	Compuesto fenólico
	C6	Fenoles simples, Benzoquinonas
	C6-C1	Ácidos y aldehídos fenólicos.
1	C6-C2	Acetofenonas, Ácido fenilacético.
1	CC C2	Ácido hidroxicinámico, cumarinas
	C6-C3	fenil propenos, cromones.
	C6-C4	Naftoquinonas,
	C6-C1-C6	Xantonas
2	C6-C2-C6	Estilbenos, Antraquinonas
2	C6-C3-C6	Flavonoides, Isoflavonoides, otros
	(C6-C3)2	Lignanos, Neolignanos
	(C6)n	Melaninas de catecol
3 o más	(C6-C3)n	Ligninas
	(C6-C3-C6)2	Biflavonoides
	(C6-C3-C6)n	Taninos condensados

Nota: Tomado de Kolton et al. (2022).

Los compuestos fenólicos son otro mecanismo que poseen las plantas para protegerse ante amenazas externas e internas. Se sintetizan a partir de la ruta del ácido shikímico que a su vez se deriva de la glicólisis y la ruta de las pentosas fosfato (Kołton et al., 2022). Tras su síntesis se acumulan en las vacuolas de células epidérmicas o subepidérmicas y presentan funciones antioxidantes, quelantes, reguladoras de crecimiento entre otros (Tak & Kumar, 2020). A nivel industrial tienen aplicación como saborizantes, pigmentos y suplementos dietéticos (Kołton et al., 2022).

#### **Alcaloides**

Los alcaloides son compuestos caracterizados por tener un átomo de nitrógeno derivado de un aminoácido, con estado de oxidación negativo y que forma parte de un anillo heterocíclico (Bribi, 2018; Waterman, 2016). Estos metabolitos secundarios son

producidos en su mayoría por plantas con flores y sintetizados en cantidades pequeñas en los órganos de las plantas que son más susceptibles a ser atacados por algún herbívoro o plaga (Roy, 2017).

Existen varias maneras de clasificar a los alcaloides, una de ellas es la clasificación de acuerdo a una estructura básica común, es así que se los clasifica en alcaloides de pirrolidina, piperidina, purina, tropano, imidazol, piridina, quinoleína, isoquinolina, indol, quinazolina, esteroide, diterpenoide entre otros (Bribi, 2018; Roy, 2017). Otra forma de clasificarlos es acorde a su origen como:

- Alcaloides Verdaderos: aquellos derivados de un aminoácido cuyo átomo de nitrógeno es parte de un heterociclo.
- Proto-Alcaloides: son derivados de un aminoácido, pero el nitrógeno no forma un anillo.
- Pseudo-Alcaloides: su origen no se deriva de un aminoácido.

(Roy, 2017)

Al igual que los grupos de metabolitos mencionados anteriormente, los alcaloides tienen funciones ecológicas para la protección de la planta. Los alcaloides son sustancias toxicas empleadas en la producción de fármacos, aunque también se los ha utilizado como aromatizantes o venenos (Abdelrahman & Jogaiah, 2020).

Todos estos metabolitos poseen un rol diferente en la supervivencia de las plantas o presentan actividad biológica, y debido a estas características son de interés para diferentes industrias como la cosmética, alimenticia, de la salud y farmacéutica principalmente.

## Rol de los Principios Activos: Alelopatía

Los metabolitos secundarios cumplen diferentes roles ecológicos con el objetivo de asegurar la supervivencia de las plantas. Los productos naturales proveen a las plantas de colores, aromas, sabores y otras características, que facilitan procesos como la dispersión de semillas al atraer polinizadores, protegen de la radiación UV y del ataque de plagas y herbívoros (A. Lal et al., 2018). También son empleados como moléculas de señalización entre plantas y microorganismos e incluso como señales para mantener un balance en el contenido de agua. Este proceso de señalización se conoce como alelopatía y es un mecanismo mediado por metabolitos secundarios denominados como aleloquímicos (Vilela et al., 2011).

## Alelopatía

Se conoce como alelopatía a las interacciones positivas o negativas que produce un aleloquímico proveniente de una planta y/o microorganismo hacia otro, de manera directa o indirecta. Lo que genera una red de comunicación entre un amplio rango de factores ecológicos y procesos fisiológicos entre individuos de diferentes especies (A. Lal et al., 2018; Mushtaq et al., 2020). Las interacciones positivas son señal de mutualismo que puede ser o no obligatorio. Sin embargo, las interacciones negativas son las más usuales y pueden manifestarse como competencia por agua, nutrientes, espacio o luz; o a través de señales que inhiben alguna función fisiológica (Mushtaq et al., 2020).

Los metabolitos secundarios pueden alterar diferentes funciones como la germinación, fotosíntesis, captación de agua y nutrientes, respiración, actividad enzimática, alteración de estructuras celulares e incluso del material genético (Santin Steckling, 2021). Por ejemplo, algunos alcaloides y compuestos fenólicos pueden inhibir la germinación, el crecimiento radicular o la elongación de plántulas (Abdelrahman & Jogaiah, 2020; Tak & Kumar, 2020). Otras sustancias como las fitoalexinas (compuestos

fenólicos) tienen la capacidad de matar ciertos microorganismos, y algunos terpenos tienen propiedades insecticidas y antibióticas (Abdelrahman & Jogaiah, 2020; Almeyda Cen, 2017).

En la agricultura los efectos alelopáticos se han investigado y aplicado en distintas técnicas como los cultivos de cobertura que evitan la erosión del suelo y mejoran su estructura y fertilidad; los cultivos intercalados que mejoran el rendimiento de cultivos de importancia económica; y la aplicación intencional de residuos de diferentes especies vegetales para suprimir el crecimiento de malezas (Mushtaq et al., 2020).

# Importancia de los Cultivos Alimenticios

Productos como la lechuga y el rábano son alimentos de alto valor nutricional por su contenido de vitaminas, proteínas, fibra, compuestos antioxidantes entre otros como se lo puede ver en la "Tabla 4". Estos vegetales tienen un elevado consumo como alimento fresco o en productos industrializados como conservas. En el Ecuador estos alimentos son consumidos con frecuencia, un ejemplo es la lechuga la cual se cultiva principalmente en las provincias de Pichincha y Chimborazo para cubrir una demanda superior a los 4 kilogramos por año por persona (Acurio Vásconez et al., 2020; Romero-Estévez et al., 2020).

Tabla 4

Contenido nutricional de Lactuca sativa L. y Raphanus sativus L.

Lactuca sativa L. (mg/100g)	Raphanus sativus L. raíz (mg/100g)
1128.33	570
188	70
2586.66	3030
900 - 2100	320
270 - 440	380.1
20 - 40	147.8
5 - 30	104.9
4.06	38.8
15	293.21
	(mg/100g)  1128.33 188 2586.66 900 - 2100 270 - 440 20 - 40 5 - 30 4.06

Nota: Tomado de Gamba et al. (2021), Kim et al. (2016) y Mou (2012).

El interés por el consumo de estos vegetales en la dieta diaria se debe a sus beneficios en la salud. El contenido intermedio de grasas, carbohidratos y su buen aporte proteico hace del rábano un alimento adecuado para personas con enfermedades cardio metabólicas y con problemas de sobrepeso, además de que su contenido en minerales lo convierte en un alimento ideal para deportistas (Gamba et al., 2021). Por su parte la lechuga también presenta varios beneficios al poseer propiedades antiinflamatorias, mejorar el metabolismo de la glucosa e incluso disminuir el riesgo de enfermedades cardiovasculares y el cáncer cuando se realiza un consumo diario (Kim et al., 2016; Mou, 2012).

## Curcuma longa L. (cúrcuma)

La cúrcuma es una planta herbácea, monocotiledónea, rizomatosa y perenne, originaria de países orientales como India, Camboya, China, Filipinas, Indonesia, Madagascar, Nepal, Vietnam y Malasia (Janick, 2019). Puede alcanzar dos metros de altura, sus hojas son pecioladas, lanceoladas y largas. Las raíces son tubérculos ovoides y arrugados, de color marrón por fuera y naranja intenso por dentro. Su inflorescencia es

de color rosa y se reproduce vegetativamente a través de sus rizomas (Saiza de Cos, 2014).

Tabla 5

Taxonomía de Curcuma longa L.

Nivel	Descripción
Dominio:	Eucaria
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Zingiberales
Familia:	Zingiberaceae
Género:	Curcuma L.
Especie:	longa
Nombre común:	cúrcuma

Nota: Tomado de Schoch et al. (2020).

La cúrcuma es una de las especias más utilizadas en el mundo por su sabor, aroma y color. Debido a sus propiedades antiinflamatorias y cicatrizantes es utilizada en la medicina tradicional India para el tratamiento de enfermedades como tos, heridas diabéticas, reumatismo entre otros. Sus propiedades medicinales se atribuyen principalmente a la curcumina, un compuesto fenólico (Saiza de Cos, 2014; Yadav & Tarun, 2017).

Además de los curcuminoides, que son los principios activos mayoritarios y cuyo representante es la curcumina, los metabolitos secundarios como los sesquiterpenos y terpencurcuminoides también presentan actividad biológica como antiinflamatorios, antiproliferativos y citotóxicos (Shang et al., 2019). Los productos naturales del aceite esencial de cúrcuma como la ar-turmerona, poseen actividad antifúngica y antimicrobiana, convirtiéndose en sustancias con potencial aplicación, para evitar la contaminación de semillas durante su almacenamiento (Omosa et al., 2017; Pandey et al., 2021). Adicionalmente, estos metabolitos secundarios han mostrado actividad biológica como inhibidores de la germinación y crecimiento de malezas, y potencial insecticida.

Comercialmente se utiliza a la cúrcuma como aditivo alimentario, en la producción de fármacos, cosméticos y pigmentos (Abbasi & Shah, 2015; Saiza de Cos, 2014; Yadav & Tarun, 2017).

Figura 3

Metabolitos secundarios de C. longa. a) Curcumina, b) Turmerona.

Nota: Tomado de Kalirajan et al. (2020).

## Métodos de Extracción de Principios Activos: Maceración

Para la extracción de principios activos se emplean diferentes técnicas que tienen como objetivo la obtención selectiva de compuestos bioactivos de mezclas complejas, lo que eleva la sensibilidad de los ensayos al disminuir las variaciones en los resultados por la presencia de impurezas. A estos métodos de extracción se los puede clasificar en técnicas convencionales y no convencionales (Azmir et al., 2013).

Entre las técnicas convencionales se encuentran la hidrodestilación, extracción mecánica, decocción entre otras, y como ejemplos de técnicas no convencionales se encuentran la extracción con fluidos supercríticos, extracción con microondas asistida o la extracción con líquidos presurizados (Amaguaña Rojas & Churuchumbi Rojas, 2018;

Azmir et al., 2013). Las técnicas no convencionales ofrecen una obtención de extractos de mejor calidad, mayor rendimiento y en menor tiempo, sin embargo, son poco usuales debido al costo elevado de su aplicación. Por esta razón las técnicas convencionales siguen empleándose para fines investigativos (Azmir et al., 2013).

## Maceración

Es una técnica convencional de extracción sólido-líquido, consiste en colocar un tejido vegetal pulverizado en contacto con un solvente en un recipiente cerrado con agitación ocasional. La extracción de los principios activos se da por el principio de difusión, donde el solvente atraviesa la pared celular para solubilizar los productos naturales afines a él. Este proceso requiere de tiempos prolongados que pueden variar desde días a semanas generando una desventaja para su aplicación, además de que se requiere de una variedad de solventes dependiendo de los principios activos que se quieran obtener (Rasul, 2018). La "Tabla 6" presenta ejemplos de solventes y los productos secundarios que se pueden extraer.

Tabla 6
Solventes utilizados para la extracción de principios activos.

Agua	Etanol	Metanol	Cloroformo	Éter	Diclorometano	Acetona
Taninos Antocianinas Terpenoides Saponinas Polipéptidos lectinas	Taninos Terpenoides Polifenoles Poliacetilenos Flavonoides Alcaloides Esteroles	Taninos Terpenoides Polifenoles Saponinas Antocianinas Lactonas Fenoles Flavonas Polifenoles	Flavonoides Terpenoides	Alcaloides Terpenoides Cumarinas Ácidos grasos	Terpenoides	Flavonoides Fenoles

Nota: Adaptado de Pandey y Tripathi (2014), y Rasul (2018).

A pesar de sus desventajas, se considera a la maceración como una técnica simple, ideal para extraer sustancias termolábiles, no requiere de un conocimiento técnico especializado por parte de los operarios ni de los equipos, esto reduce costos en la práctica permitiendo su continua aplicación (Rasul, 2018).

## Capítulo III: Metodología

## Adquisición de Material Vegetal

Tanto las raíces de cúrcuma como las semillas de *Verbena officinalis* L. (verbena común), *Plantago major* L. (llantén), *Lactuca sativa* L. (lechuga) y *Raphanus sativus* L. (rábano) fueron adquiridas en tiendas herbolarias o supermercados.

#### Tratamiento de la Muestra

Los rizomas de cúrcuma se lavaron con agua potable 5 veces y se retiró la piel. A continuación, las raíces peladas fueron laminadas y colocadas en bandejas cubiertas con papel aluminio y se secó a condiciones ambientales durante 5 días bajo cubierta para proteger de la luz ultravioleta.

Una vez seca la muestra se pulverizó usando un molino hasta obtener un polvo fino, y se conservó en una funda ziplock en un lugar seco a condiciones ambientales hasta su uso.

#### Desinfección de semillas

Las semillas se desinfectaron sumergiéndolas en etanol al 70% durante un minuto, posteriormente se enjuagaron con agua destilada 3 veces y se dejaron secar sobre papel filtro. Las semillas desinfectadas y secas se almacenaron en cajas Petri, evitando el ingreso de oxígeno con Parafilm.

# Obtención del Extracto y preparación de diluciones.

El extracto se obtuvo tomando como referencia la metodología de Akter et al. (2018). Se colocaron 151 gramos de polvo de cúrcuma en un frasco color ámbar y se adicionaron 250 mL de etanol absoluto dejando en maceración durante 2 meses, con agitación manual diaria a temperatura ambiente y presión atmosférica.

Cumplido el tiempo de maceración, se filtró y el filtrado se concentró utilizando un Rotavapor R-215 marca BUCHI con bomba de vacío. El filtrado se vertió en un balón de vidrio y se colocó en el baño María del rotavapor a 41°C, 130 rpm y 104 milibar de presión. Se concentró hasta que el concentrado adquirió una apariencia viscosa de color naranja rojizo, y se retiró del rotavapor. Se almacenó en refrigeración protegido de la luz.

Figura 4

Obtención del extracto de cúrcuma.

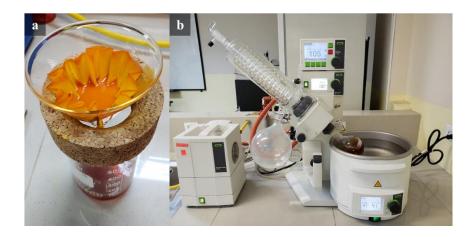


Foto tomada por: Pinto Abigail (2022).

Nota: La figura muestra en a) Filtración del macerado de cúrcuma y b) Concentración del filtrado en Rotavapor.

Con el concentrado obtenido se preparó una solución madre de una concentración de 2 g/L utilizando agua, Tween 20 y DMSO en una proporción 1:7:0.001 respectivamente. A partir de esta solución se prepararon 4 diluciones de 0,02 mg/mL, 0,10 mg/mL, 0,20 mg/mL y 0,30 mg/mL. El control consistió en una solución de agua con las mismas proporciones de Tween 20 y DMSO utilizadas para la solución madre.

Figura 5

Diluciones preparadas a partir del extracto de cúrcuma.



Foto tomada por: Pinto Abigail (2022).

# Evaluación del efecto alelopático

# Inhibición de la germinación y longitud de la raíz

Se utilizaron cajas Petri que contenían dos discos de papel filtro humedecidos con 5 mL de etanol absoluto, que se dejó evaporar. Una vez evaporado el solvente, los discos se humedecieron con 5 mL de las diferentes diluciones del extracto y en cada caja se colocaron 10 semillas de rábano, lechuga, llantén o verbena. Finalmente, las cajas se cerraron con Parafilm y se mantuvieron a condiciones ambientales y en oscuridad. Cada ensayo se realizó por triplicado y tanto el conteo del número de semillas germinadas como la medición de la longitud de la raíz se realizaron a los 3, 5 y 7 días de haber iniciado el ensayo. El porcentaje de inhibición de la germinación se determinó con la ecuación propuesta por Akter et al. (2018).

% inhibición = 
$$\frac{C-S}{C} * 100$$

Donde C= semillas germinadas en el control y S= semillas germinadas en cada tratamiento.

## Inhibición del crecimiento de tallo

Se sembraron las semillas de cada especie en cajas Petri sobre dos discos de papel filtro humedecidos con 5 mL de extracto a las concentraciones de 0.05 mg/mL y de 0.10 mg/mL. Las cajas Petri se cerraron y se mantuvieron por 9 días a condiciones ambientales. Cada ensayo se realizó por triplicado y las medidas del crecimiento del tallo se registraron a los 3, 5, 7 y 9 días de haber iniciado el ensayo.

# Prueba de viabilidad de semillas con Índigo-Camín

Se dejaron las semillas en remojo con agua destilada por 48 horas (para su imbibición). Se retiraron las cápsulas de las semillas y se obtuvieron los embriones, que se pusieron en contacto con una solución al 0.15% con pH 6.5 de índigo carmín por 3 horas como lo indica Benito et al. (2004). Cumplido el tiempo de tinción se observaron los embriones bajo estereomicroscopio (marca Leica).

## Análisis Estadístico

Los datos obtenidos se analizaron utilizando el software estadístico InfoStat®, se realizaron comparaciones entre los tratamientos a un nivel de significancia de 0.05 y los gráficos se realizaron en el software GraphPAD Prism 8.

## Capítulo IV: Resultados

Obtención del extracto etanólico de Cúrcuma longa L. mediante maceración fría.

El extracto etanólico de cúrcuma se filtró y concentró a 41°C y 104 milibar en rotavapor, obteniendo una oleorresina de color naranja rojizo de consistencia viscosa, con un aroma fuerte característico de la cúrcuma.

Extracto de cúrcuma concentrado, obtención de oleorresina de C. longa.

Figura 6



Foto tomada por: Pinto Abigail (2022).

Efecto alelopático del extracto de cúrcuma sobre la germinación de semillas de Lactuca sativa L. (lechuga), Raphanus sativus L. (rábano), Verbena officinalis L. (verbena común) y Plantago major L. (llantén).

Durante 8 días de ensayo se observó que el extracto de cúrcuma tuvo un efecto alelopático positivo en la mayoría de las concentraciones ensayadas, siendo la concentración de 0.10 mg/mL la concentración que mayor estimulación presentó sobre la germinación de las semillas de lechuga y rábano respecto al control. Este efecto estimulador se apoya en los valores negativos de los porcentajes de inhibición presentados en la "Tabla 7". En el caso del llantén se observó un efecto del alelopático negativo, debido a que los porcentajes de inhibición fueron los más altos, dependiendo la

concentración del extracto, siendo la concentración de 0.10 mg/mL la que mayor inhibición de la germinación produjo con un valor de 46%.

Tabla 7

Porcentajes de inhibición de la germinación.

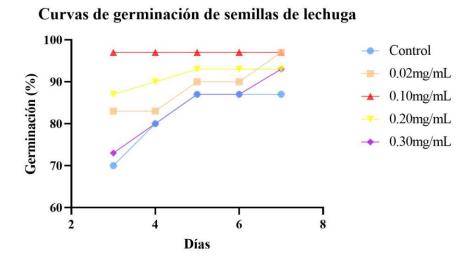
Porcentaje de Inhibición (%)			
Tratamiento	Lechuga	Rábano	Llantén
0.02 mg/mL	-11.54	0.00	23.08
0.10 mg/mL	-11.54	-7.14	46.15
0.20 mg/mL	-7.69	0.00	15.38
0.30 mg/mL	-7.69	-7.14	0.00

Nota: Los valores negativos indican estimulación de la germinación.

En las curvas de germinación de la "Figura 7 y 9", se puede observar cómo el extracto de cúrcuma favorece la germinación de las semillas de lechuga y rábano, y por el contrario no tiene ningún efecto significativo en la germinación de las semillas de llantén, al comparar con los grupos control, lo que concuerda con los porcentajes de inhibición de la "Tabla 7".

Figura 7

Curvas de porcentajes de germinación de semillas de lechuga.



Nota: La figura muestra el porcentaje de germinación de las semillas frente al tiempo.

Figura 8

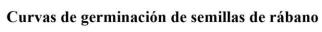
Efecto alelopático sobre el crecimiento de la raíz de semillas de lechuga

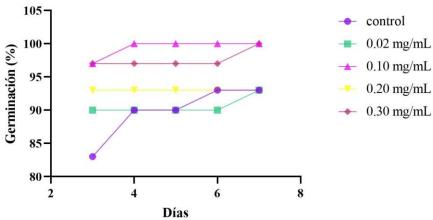


Foto tomada por: Pinto Abigail (2022).

Figura 9

Curvas de porcentajes de germinación de semillas de rábano.





Nota: La figura muestra el porcentaje de germinación de las semillas frente al tiempo.

Figura 10

Efecto alelopático sobre el crecimiento de la raíz de semillas de rábano

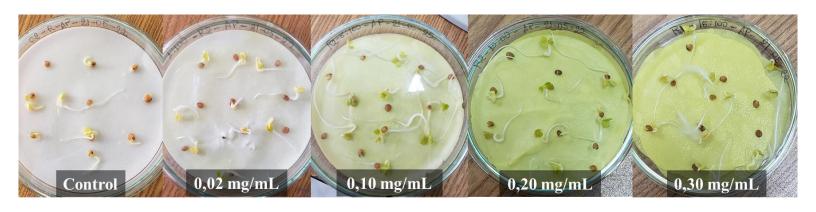
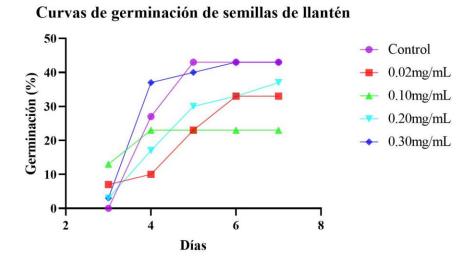


Foto tomada por: Pinto Abigail (2022).

Figura 11

Curvas de porcentajes de germinación de semillas de llantén.



Nota: La figura muestra el porcentaje de germinación de las semillas frente al tiempo.

Figura 12

Efecto alelopático sobre el crecimiento de la raíz de semillas de llantén.

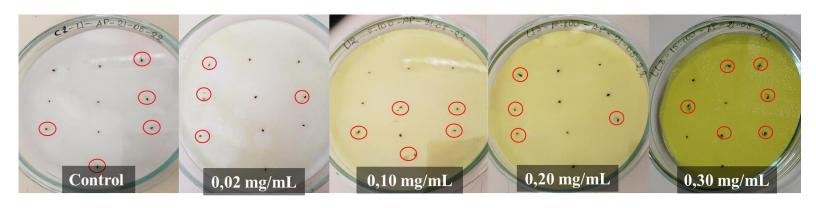


Foto tomada por: Pinto Abigail (2022).

El análisis estadístico para determinar si existen diferencias entre el efecto alelopático del extracto de cúrcuma a las diferentes concentraciones de los tratamientos, revelo que, a los 3 días de haber iniciado el ensayo, la germinación de la lechuga y el

rábano fue favorecida a la concentración de 0.10 mg/mL, la que presentó una mayor cantidad de semillas germinadas que el control (valor-p = 0.0243), confirmando los resultados de los porcentajes de inhibición negativa.

Respecto al llantén, no hubo diferencias en los tratamientos aplicados (valor-p = 0.2565), siendo menor la cantidad de semillas germinadas en relación al rábano y a la lechuga (valor-p < 0.0001). No obstante, se observó un incremento de la cantidad de semillas en etapa de imbibición (hinchamiento) respecto al control, verificando un mayor efecto inhibitorio a medida que la concentración del extracto era mayor.

Al finalizar los ocho días del ensayo, en el caso de las semillas de lechuga y rábano, no se observaron diferencias significativas entre la cantidad de semillas germinadas, en los diferentes tratamientos para cada semilla estudiada (valor-p =0.1652). En cuanto a la cantidad de semillas de llantén, se mantuvo por debajo de la cantidad de semillas germinadas en todos los ensayos (valor-p < 0.0001).

Análisis de viabilidad de semillas de Verbena officinalis L. (verbena común) y Plantago major (llantén).

Las semillas de *Verbena officinalis* L. y <u>Plantago major</u> L. fueron evaluadas con el método de coloración con Índigo-Carmín, para determinar su viabilidad (debido a que estas no fueron adquiridas de una marca comercial). Los resultados del análisis de 100 semillas de llantén mostraron un 49% de viabilidad, el 30% viabilidad limitada y el 21% fueron no viables.

Figura 13

Tinción de embriones de verbena y llantén con índigo carmín 0.15%.

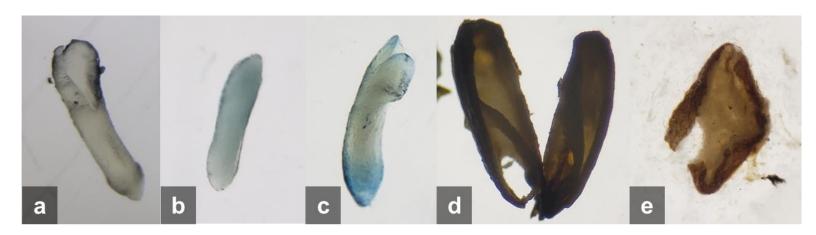


Foto tomada por: Pinto Abigail (2022).

Nota: La figura muestra en a) Embrión con radícula sin tinción (blanca), Viable. b) Embrión con cotiledones teñidos de azul, Viabilidad limitada. c) Embrión con radícula teñida de azul, No Viable. d) Semilla de verbena vacía, sin embrión, No Viable. e) Semilla de llantén vacía, sin embrión, No viable.

Los resultados para la verbena revelaron que de 100 semillas evaluadas el 69% no fueron viables, el 8% presentan viabilidad limitada y el 23% fueron viables.

Efecto alelopático del extracto de cúrcuma sobre la elongación de las raíces de Lactuca sativa L. (lechuga), Raphanus sativus L. (rábano) y Plantago major L. (llantén).

Las medidas de la longitud de las raíces fueron tomadas en tres días diferentes (3, 5 y 7). A simple vista se apreció que a concentraciones de 0.02 y 0.10 mg/mL, las raíces de lechuga y llantén tuvieron un color blanco uniforme, sin indicios de necrosis. Pero, a 0.20 y 0.30 mg/mL se observaron varias semillas germinadas con crecimiento radicular, y

las raicillas presentaron pigmentación marrón y un extremo apical delgado en función al tiempo de exposición.

Figura 14

Alelopatía del extracto de cúrcuma sobre el crecimiento de raíces de lechuga.

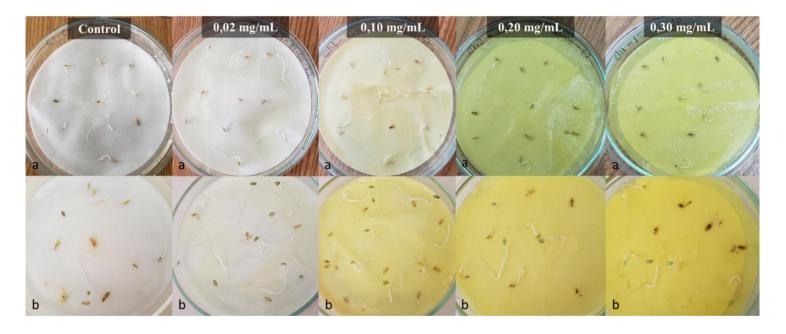


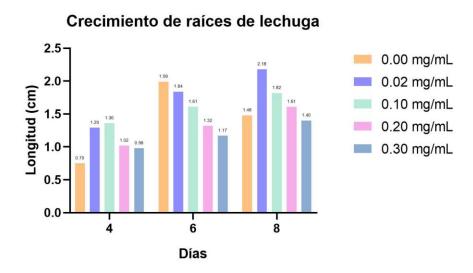
Foto tomada por: Pinto Abigail (2022).

Nota: Fila superior (a) plántulas de lechuga al cuarto día de germinación y en la fila inferior (b) plántulas al octavo día del ensayo.

El análisis estadístico indicó que, las longitudes de las raíces de lechuga y llantén fueron similares en todos los tratamientos, pero diferentes entre las especies de plántulas estudiadas (valor-p < 0.0001). Con respecto a la lechuga, se observó que la media de la longitud de las raíces es mayor respecto al control, a las concentraciones de 0.02 y 0.10 mg/mL, y un crecimiento menor cuando la concentración del extracto fue de 0.20 y 0.30 mg/mL como se puede ver en la "Figura 15", sugiriendo un efecto estimulante, aunque estadísticamente no es significativo.

Figura 15

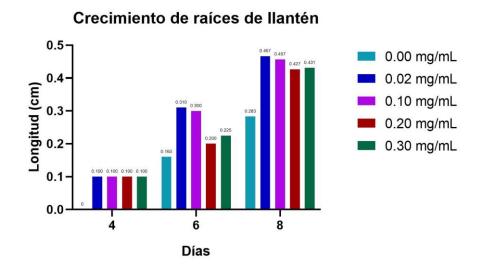
Alelopatía del extracto de cúrcuma sobre la longitud de raíces de lechuga.



El crecimiento de las raíces de llantén, también mostró un promedio de longitud mayor al control, como se ve en la "Figura 16", pero esta diferencia no es significativa.

Figura 16

Alelopatía del extracto de cúrcuma sobre la longitud de raíces de llantén.



Para las raíces de rábano, se obtuvo un promedio de longitud mayor a las concentraciones de 0.10, 0.20 y 0.30 mg/mL en relación a las plantas control, pero no se observaron diferencias entre la longitud a estas concentraciones (valor-p < 0.0001). También se observó marchitez en la punta de las raíces y necrosis en los brotes a medida que la concentración del extracto y el tiempo fueron mayores. Además, en todos los tratamientos presentaron más raíces secundarias, en comparación al control como se observa en la "Figura 17". Terminado el tiempo del ensayo, la longitud promedio de las raíces incrementó, pero este crecimiento no llegó a ser significativamente diferente respecto al control (valor-p = 0.5867) como se presenta en la "Figura 18".

Figura 17

Alelopatía del extracto de cúrcuma sobre el crecimiento de raíces de rábano.

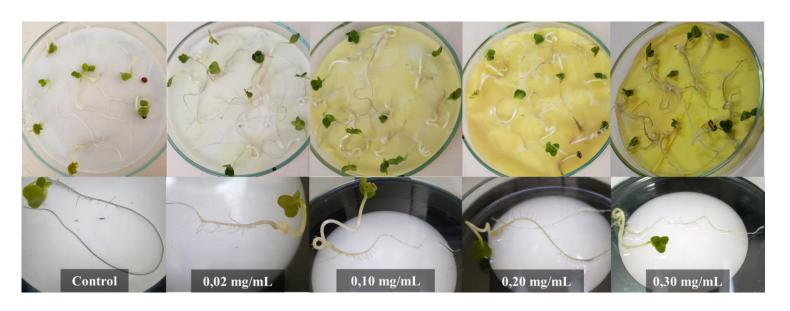
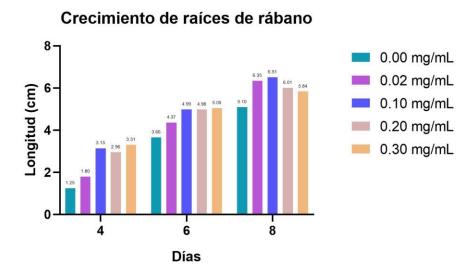


Foto tomada por: Pinto Abigail (2022).

Figura 18

Alelopatía del extracto de cúrcuma sobre la longitud de raíces de rábano.



Efecto alelopático del extracto de cúrcuma sobre la elongación del tallo de semillas de *Lactuca sativa* L. (lechuga), *Raphanus sativus* L. (rábano) y *Plantago major* L. (llantén).

Posterior a la evaluación de la elongación de las raíces, se analizó el efecto del extracto sobre la elongación del tallo. Las concentraciones probadas fueron 0.05 y 0.10 mg/mL y las mediciones se tomaron a los 3, 5, 7 y 9 días.

La longitud del tallo para la lechuga a la concentración de 0.10 mg/mL presentó un mayor crecimiento que a 0.05 mg/mL (p-valor = 0.0009) como lo muestra la "Figura 19", confirmando que a concentración de 0.10 mg/mL del extracto de cúrcuma, las semillas de lechuga tienen una mejor germinación y crecimiento tanto de raíz como de tallo. Además, se observó un efecto antibacteriano y antifúngico que el extracto de cúrcuma a 0,10 mg/mL ejerce sobre estas semillas, ya que en el control y a concentración de 0.05 mg/mL de

extracto, se observó el crecimiento de microorganismos que impidieron el crecimiento de las plántulas.

Figura 19

Plántulas de lechuga. a) 0.10 mg/mL, b) 0.05 mg/mL.

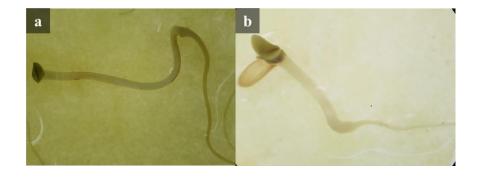
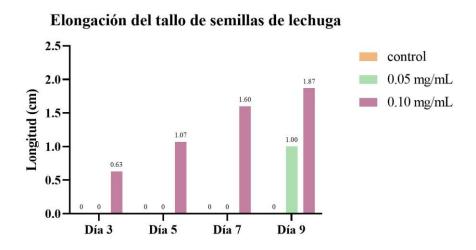


Foto tomada por: Pinto Abigail (2022).

Figura 20

Alelopatía del extracto de cúrcuma sobre la longitud del tallo de lechuga.



La longitud del tallo para el rábano no presentó diferencias entre los tratamientos, pero la media de la longitud del tallo fue mayor en las plántulas tratadas con 0.10 mg/mL del extracto, como lo muestra la "Figura 21". También se distinguió que las raíces de las

plántulas empezaron a enredarse, los tallos tuvieron tendencia a deformarse (a manera de espiral) y presentaron manchas negras al entrar en contacto con las raíces de las otras plantas, esto se evidencia en la "Figura 22".

Figura 21

Alelopatía del extracto de cúrcuma sobre la longitud del tallo de rábano.

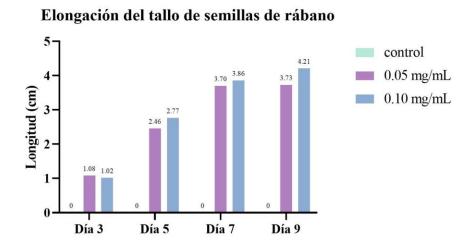


Figura 22

Plántulas de rábano. a) luego de 3 días y b) luego de 7 días de establecer el ensayo.

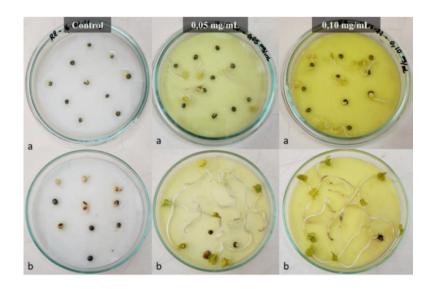


Foto tomada por: Pinto Abigail (2022).

Finalmente, la variación de la longitud del tallo en semillas de llantén no se obtuvo debido a que en ninguno de los tratamientos se registraron plántulas con tallo y raíz diferenciados, como lo muestra la "Figura 23".

Figura 23

Efecto alelopático sobre el crecimiento de tallo de semillas de llantén.

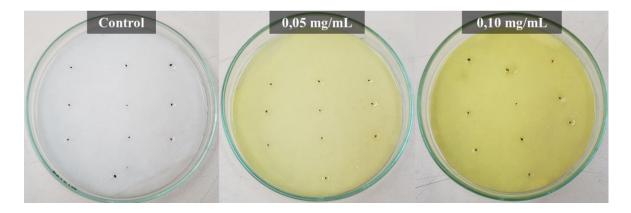


Foto tomada por: Pinto Abigail (2022).

Nota: La figura muestra semillas de llantén sin germinar al noveno día del ensayo.

### Capítulo V: Discusión

Los cultivos de especies alimenticias son frecuentemente afectados por diversos tipos de plagas y malezas, que provocan un bajo rendimiento en la producción de estos. Las malezas compiten con las especies de producción por los nutrientes disponibles en su medio, y ante esta problemática el uso de herbicidas es la forma más usual de control (Muppala & Guruviah, 2020). Sin embargo, la aplicación de estos compuestos conlleva a la contaminación del medio ambiente con compuestos recalcitrantes (Moreno, 2021).

Una de las alternativas al uso de plaguicidas comerciales es la aplicación de principios activos de diversas especies vegetales, que han mostrado resultados favorables para el control de malezas al inhibir sus procesos de germinación o crecimiento (Santin Steckling, 2021). *C. longa* es considerada la "especie de oro", debido a que sus principios activos tienen una amplia aplicación en varios campos de la industria y la salud (Saiza de Cos, 2014).

### Extracto etanólico de C. longa

El estudio de extractos de *C. longa* se ha realizado a través de diversas técnicas extractivas, así como de varios tipos de solventes. El solvente es uno de los factores que causa variabilidad en la composición de un extracto y consecuentemente en el efecto alelopático que este pueda ejercer, dependiendo de los principios activos presentes en *C. longa*. El uso de solventes alcohólicos, específicamente etanol puro, es capaz de extraer principios activos de tipo terpenoides, fenoles, lactonas, alcaloides, taninos entre otros, (Pandey & Tripathi, 2014; Rasul, 2018). De acuerdo con Nair (2019) la extracción de metabolitos secundarios de cúrcuma con etanol obtiene una oleorresina de color naranja rojizo, constituida por un 30% a 45% de curcuminoides (responsables del color), donde la curcumina, que es el curcuminoide mayoritario, se encuentra presente entre un 5% y 15%.

Compuestos volátiles o terpenoides constituyen el segundo grupo más abundante de metabolitos secundarios en el extracto etanólico, representando entre el 15 % y 20% de los principios activos extraídos. De este porcentaje el 60% lo representan las turmeronas (sesquiterpenos) responsables del aroma característico a cúrcuma (Nair, 2019; Omosa et al., 2017).

El extracto obtenido posee el característico color naranja rojizo expuesto por Nair (2019) como se puede ver en la "Figura 6". El estudio realizado por Silva et al. (2005), informó la presencia del sesquiterpeno ar-turmerona aislado de un extracto etanólico, considerado como uno de los responsables del aroma del extracto. Adicionalmente, de acuerdo con Jiang et al. (2021) la curcumina puede encontrarse hasta concentraciones de 0.26 mg/10g cuando las extracciones se realizan con etanol, considerandolo como el solvente de preferencia para la obtención de este principio activo.

De acuerdo a las características de color, aroma y consistencia del concentrado obtenido experimentalmente, se infiere que los compuestos mencionados anteriormente pueden estar presentes en el extracto obtenido. Aun así, se requiere de pruebas de un screening fitoquímico para determinar los componentes mayoritarios del extracto, debido a que las condiciones ambientales, geográficas y la edad de la planta, influyen en el contenido de principios activos del material vegetal analizado (Dolores Ibáñez & Blázquez, 2019).

#### Efecto alelopático en la germinación

Los resultados de la actividad alelopática sobre el proceso de germinación mostraron que, el extracto de cúrcuma tiene un efecto alelopático positivo para las semillas de lechuga y rábano, y una ligera inhibición sobre las semillas de llantén (maleza), al no observarse diferencias significativas en comparación con el control.

Vinothini y Bhavyasree (2019) informaron que varios extractos vegetales mejoraron la germinación de *Arachis hypogaea* L. (cacahuate). Uno de los extractos analizados fue de los rizomas de cúrcuma (5%), que incrementó la germinación de *Arachis hypogaea* L. en un 85%. Igualmente, Kanp y Bhattacherjee (2017) al experimentar con un extracto compuesto por albahaca y cúrcuma (1:50), observaron que el tiempo de germinación del 50% de semillas de girasol fue menor en comparación con el grupo control. Además, la viabilidad de estás semillas fue más prolongada, atribuyendo este efecto a los componentes de la cúrcuma. Estos reportes concuerdan con los resultados obtenidos en el presente ensayo, presentados en las "Figuras 7 y 9", donde se observa que el porcentaje de germinación para la lechuga fue de un 97%, y para el rábano de 100%. Estos resultados indican que existió una mejor germinación frente al control (lechuga 70% y rábano 83%) y en un menor tiempo.

El estudio de Abbasi y Shah (2015), reporta un efecto inhibidor de la germinación en semillas de rábano, cuando son expuestas a concentraciones de 7500 ppm (7.5 mg/mL) y 1000 ppm (1 mg/mL), indicando en sus resultados que la inhibición fue menor a la concentración más baja. Por su parte Akter et al. (2018) también reportaron que, el extracto metanólico de las variedades de *C. longa*, Ryudai gold y Okinawa, a las concentraciones de 0.5, 1.0 y 2.0 mg/mL inhiben la germinación en forma dependiente de la concentración, para las semillas de lechuga, rábano, berro y de la maleza *B. pilosa*.

Las concentraciones utilizadas en nuestros ensayos de 0.02, 0.10, 0.20 y 0.30 mg/mL, son menores que las utilizadas por Abbasi y Shah (2015) de 1.0 y 10 mg/mL de un extracto acuoso, y que las ensayadas por Akter et al. (2018) de 0.5, 1.0 y 2.0 mg/mL de un extracto metanólico. A las concentraciones utilizadas en nuestros ensayos, los resultados muestran un efecto estimulante, en la germinación de rábano y lechuga, y una

leve inhibición sobre llantén, sugiriendo que, incluso a bajas concentraciones del extracto de cúrcuma se observa un efecto alelopático positivo y negativo sobre la germinación.

### Efecto alelopático en la elongación de plántulas.

Los resultados de longitud de las plántulas estudiadas fueron diversos. En el caso de la lechuga las concentraciones de 0.02 y 0.10 mg/mL estimularon el crecimiento de la raíz (sin ser significativamente diferentes al control) y las concentraciones de 0.05 y 0.10 mg/mL favorecieron el crecimiento del tallo. En el caso del ensayo sobre rábano todas las concentraciones del extracto, en los dos ensayos, favorecieron la velocidad de crecimiento de las plántulas. Pero en los ensayos sobre llantén, no se observó un crecimiento de las plántulas respecto al control y tampoco un efecto inhibidor significativo.

Los resultados de Vinothini y Bhavyasree (2019) muestran un efecto estimulante del crecimiento de tallo y raíz, al ensayar un extracto acuoso de rizomas de cúrcuma al 5%. En cambio Abbasi y Shah (2015) indicaron efectos inhibitorios del crecimiento de la raíz, al evaluar un extracto acuoso de cúrcuma al 0.1% y 1%. Estos resultados indican que, dependiendo del solvente utilizado en la obtención del extracto, la concentración y tipo de principios activos varían e influyen de diferente manera en la elongación del tallo y raíz. Este análisis, indica que a concentraciones de 0.02, 0.05, 0.10, 0.20 y 0.30 mg/mL de un extracto etanólico de cúrcuma, son favorables para el crecimiento de lechuga y rábano e inadecuado para el crecimiento de llantén.

Además, en el ensayo de elongación de tallo, se observó el crecimiento de hifas de esporas, desde el centro de las semillas de lechuga hacia el medio, y en el caso de las semillas de rábano hubo contaminación total, a pocos días de iniciar el proceso de germinación, pese a que la semillas fueron desinfectadas antes de su uso; y para verificar si las semillas de llantén y verbena se encontraban viables, se realizaron pruebas de

viabilidad con índico carmín que manifestaron que el 49% y 23 % de semillas fueron no viables respectivamente.

Sin embargo, se destaca que, las semillas sometidas a la concentración de 0.10 mg/mL, tuvieron mejor crecimiento en comparación con el control (donde no se observó crecimiento), indicativo de que el extracto de cúrcuma además de estimular el crecimiento de las plántulas, también protege a las semillas de patógenos oportunistas, permitiendo su crecimiento.

### Capítulo VI: Conclusiones y Recomendaciones

#### Conclusiones

- Se obtuvo un extracto etanólico de rizomas de cúrcuma de consistencia viscosa y de color naranja-rojizo intenso característico.
- El extracto etanólico de cúrcuma a una concentración de 0.10 mg/mL favoreció la germinación de las semillas de *Lactuca sativa* L. (lechuga) y *Raphanus sativus* L. (rábano) incrementando su desarrollo en un 97% y 100% respectivamente.
- La concentración de 0.10 mg/mL del extracto de cúrcuma, estimuló el crecimiento de las plántulas de *Lactuca sativa* L., mientras que todas las concentraciones del extracto estudiadas favorecieron el crecimiento de *Raphanus sativus* L.
- Las semillas de *Plantago major* L. (llantén) fueron inhibidas a la concentración de 10 mg/mL en su germinación.
- Los resultados de la prueba Ímdigo Carmín mostraron que las semillas de Verbena
   officinalis L. (verbena) no pudieron desarrollarse, debido a que el 69% de las
   semillas fueron no viables.

#### Recomendaciones

- Se sugiere realizar la caracterización del extracto etanólico para conocer los constituyentes del mismo y tener una visión más amplia de los metabolitos que puedan estar ejerciendo un efecto alelopático.
- Considerar contenedores más amplios que las cajas Petri para permitir una mejor evaluación del crecimiento las plántulas.
- Se recomienda estudiar el efecto del extracto sobre Plantago major (llantén) por un período más prolongado.

 Aplicar un protocolo de desinfección de las semillas diferente, para evitar la presencia de microorganismos patógenos que puedan interferir con los resultados.

### Capítulo VII: Referencias

- A. Lal, M., Kathpalia, R., Sisodia, R., & Shakya, R. (2018). Biotic Stress. In *Plant Physiology, Development and Metabolism* (1st ed., pp. 1029–1095). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-2023-1\_32
- Abbasi, K., & Shah, A. A. (2015). *Biological evaluation of Turmeric ( Curcuma longa ).*4(11), 236–249.
- Abdelrahman, M., & Jogaiah, S. (2020). Bioactive Molecules in Plant Defense. In *Bioactive Molecules in Plant Defense*. https://doi.org/10.1007/978-3-030-61149-1
- Acurio Vásconez, R. D., Mamarandi Mossot, J. E., Ojeda Shagñay, A. G., Tenorio, E. M., Chiluisa Utreras, V. P., & Vaca Suquillo, I. D. los Á. (2020). Evaluación de Bacillus spp. como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) en brócoli (Brassica oleracea var. italica) y lechuga (Lactuca sativa). *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 21(3), 1–16. https://doi.org/10.21930/rcta.vol21\_num3\_art:1465
- Akter, J., Islam, M. Z., Takara, K., Hossain, M. A., Gima, S., & Hou, D. X. (2018). Plant growth inhibitors in turmeric (Curcuma longa) and their effects on Bidens pilosa.

  Weed Biology and Management, 18(3), 136–145. https://doi.org/10.1111/wbm.12157
- Almeyda Cen, I. A. (2017). *Mérida, Yucatán Mayo de 2017* [Centro de Investigación científica de Yucatán A.C.].

  http://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1003/429
- Amaguaña Rojas, F. J., & Churuchumbi Rojas, E. F. (2018). *Estandarización Fitoquímica del Extracto de Caléndula (Calendula officinalis)* [Universidad Politécnica Salesiana]. http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf
- Andino, D. (2021). Intoxicaciones ocupacionales agudas por herbicidas en Ecuador

- durante lel perioso 2016 2020 [Universidad Internacional SEK]. http://repositorio.uisek.edu.ec/handle/123456789/4382
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F.,
  Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2013).
  Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review.
  Journal of Food Engineering, 117(4), 426–436.
  https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014
- Benito, L., Herrero, N., Jimenez, I., & Peñuelas, J. (2004). Aplicación de métodos colorimétricos para la determinación de la viabilidad en semillas de pinus pinea : test de tetrazolio e índigo carmín. *Physiology*, *28*(17), 23–28. https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2978417
- Bove, J., Jullien, M., & Grappin, P. (2002). Functional genomics in the study of seed germination. *Genome Biology*, *3*(1), 1–6. https://doi.org/10.1186/gb-2001-3-1-reviews1002
- Bribi, N. (2018). Pharmacological activity of aporphinoid alkaloids. A review. *Asian Journal of Botany*, 1, 6. https://doi.org/10.63019/ajb.v1i2.467
- CABI. (2021, November 17). Verbena officinalis (vervain).

  https://www.cabi.org/isc/datasheet/56184#ef2ed616-8bd4-476c-bd0d-9ab0a8e7aa00
- Cancino, Á. (2008). La síntesis de isoprenoides en plantas a través de la vía del 2c-metil-D-eritritol-4- fosfato (MEP). *Ciencia Forestal En México*, *33*(104), 139–153. http://cienciasforestales.inifap.gob.mx/index.php/forestales/article/view/732
- Castañares, J. (2017). El priming de semillas de melón (Cucumis melo L.) en condiciones supóptimas de germinación [Universidad del Litoral].

- https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/bitstream/handle/11185/963/Tesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- CIATEJ. (2016). Editores: H. Espinosa Andrews. E. García Marquez E. Gastélum

  Martínez.

  https://www.researchgate.net/publication/328262044\_2016\_Gonzalez\_et\_al\_terpeno

s

- Dolores Ibáñez, M., & Blázquez, M. A. (2019). Ginger and turmeric essential oils for weed control and food crop protection. *Plants*, *8*(3). https://doi.org/10.3390/plants8030059
- Eiben, C. B., De Rond, T., Bloszies, C., Gin, J., Chiniquy, J., Baidoo, E. E. K., Petzold, C. J., Hillson, N. J., Fiehn, O., & Keasling, J. D. (2019). Mevalonate Pathway

  Promiscuity Enables Noncanonical Terpene Production. *ACS Synthetic Biology*,

  8(10), 2238–2247. https://doi.org/10.1021/acssynbio.9b00230
- Gamba, M., Asllanaj, E., Raguindin, P. F., Glisic, M., Franco, O. H., Minder, B., Bussler,
  W., Metzger, B., Kern, H., & Muka, T. (2021). Nutritional and phytochemical
  characterization of radish (Raphanus sativus): A systematic review. *Trends in Food Science and Technology*, 113, 205–218. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.045
- GS, C. (2018). Climate–smart agriculture vs. agroecology to mitigate GHG emissions in Argentinean Agriculture: a false dichotomy. *MOJ Ecology & Environmental Sciences*, 3(4), 237–238. https://doi.org/10.15406/mojes.2018.03.00093
- Guzmán, M., & Martínez, M. (2019). Las malezas, plantas incomprendidas. *Ciencia, Tecnologí-a y Salud*, *6*(1), 68–76. https://doi.org/10.36829/63cts.v6i1.485
- Hassaan, M. A., & El Nemr, A. (2020). Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques. *Egyptian Journal of Aquatic Research*,

- 46(3), 207–220. https://doi.org/10.1016/j.ejar.2020.08.007
- Jacobs, A. (2012). Oilseed Radish. 1–5.
- Janick, J. (2019). *Horticultural Reviews* (1st ed.). John Wiley & Sons, Inc. All. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781119107781
- Jiang, T., Ghosh, R., & Charcosset, C. (2021). Extraction, purification and applications of curcumin from plant materials-A comprehensive review. *Trends in Food Science and Technology*, 112(April), 419–430. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.015
- Kalirajan, R., Varakumar, P., Baliwada, A., & Gowramma, B. (2020). Activity of
  Phytochemical Constituents of Curcuma longa (Turmeric) Against SARS-CoV-2 Main
  Protease (Covid19): Anin-Silico Approach. *International Journal of Pharmacy*, 6(104),
  1–10.
  - http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true%5C&profile=ehost%5C&scope=s ite%5C&authtype=crawler%5C&jrnl=09767126%5C&AN=144984858%5C&h=QAqQv HezAEUEL9ZvD%2FuFS5sVr4iOQ9vhMlAZZq0ecmvKVKBlHtW3QFaTZ3Fypkg2Sdi uWwdD1s6lbIQE26WrJg%3D%3D%5C&crl=c
- Kanp, U. K., & Bhattacherjee, A. (2017). Plant extract-induced viability extension of sunflow. Proceedings of Role of Microbes for Sustainable Agriculture and Environment, 47. https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/58826463/PROCEEDINGS\_NSAE-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1658120395&Signature=AZr7zLLe-Kt9Gst7htD1ROj8pKOiTERR38Od9yPLk0xUvMq6o8pBhmN0slU8hG7l~RwFX9KO~w5ncVRLOHItWmSVzaJlnW9Xs1AUFPalGBsrQl1tnhTx4yXU6Bk0lt~BMWiR9AX0ET
- Kim, M. J., Moon, Y., Tou, J. C., Mou, B., & Waterland, N. L. (2016). Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (Lactuca sativa L.). *Journal of*

- Food Composition and Analysis, 49, 19–34. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.03.004
- Kołton, A., Długosz-Grochowska, O., Wojciechowska, R., & Czaja, M. (2022). Biosynthesis Regulation of Folates and Phenols in Plants. *Scientia Horticulturae*, 291(May 2021). https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110561
- Marín, C., & Céspedes, C. (2007). Compuestos volátiles de plantas: origen, emisión, efectos, análisis y aplicaciones al agro. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *30*(4), 327–351. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61030401%0ACómo
- Moreno, E. (2021). *Manejo de poblaciones de malezas resistentes a herbicidas*.

  Universidad Técnica de Babahoyo.
- Mou, B. (2012). Nutritional Quality of Lettuce. *Current Nutrition & Food Science*, *8*(3), 177–187. https://doi.org/10.2174/157340112802651121
- Muppala, C., & Guruviah, V. (2020). Machine vision detection of pests, diseases and weeds: A review. *Journal of Phytology*, 12, 9–19. https://doi.org/10.25081/jp.2020.v12.6145
- Mushtaq, W., Siddiqui, M. B., & Hakeem, K. R. (2020). *Allelopathy Potential for Green Agriculture*. Springer International Publishing.

  https://books.google.com.ec/books?id=Bc7SDwAAQBAJ
- Nair, K. (2019). The Chemistry of Turmeric. In *Turmeric (Curcuma longa L.) and Ginger (Zingiber officinale Rosc.) World's Invaluable Medicinal Spices* (pp. 53–66).

  Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-29189-1\_4
- Omosa, L. K., Midiwo, J. O., & Kuete, V. (2017). Curcuma longa. In *Medicinal Spices and Vegetables from Africa: Therapeutic Potential Against Metabolic, Inflammatory, Infectious and Systemic Diseases*. Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-

- Organización Mundial de la Salud. (2020). Clasificación recomendada por la OMS de los plaguicidas por el peligro que presentan y directrices para la clasificación 2019. In Organización Mundial de la Salud (Vol. 1). http://apps.who.int/bookorders.
- Pandey, A., Sanches, A., Varshney, R., Chávez-González, M., & Singh, P. (2021).
  Curcuma-based botanicals as crop protectors: From knowledge to application in food crops. Current Research in Biotechnology, 3(July), 235–248.
  https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2021.07.004
- Pandey, A., & Tripathi, S. (2014). Extraction of Pharmaceutical Drugs. 2014. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5), 115–119. https://www.phytojournal.com/archives?year=2014&vol=2&issue=5&ArticleId=255
- Pérez-Urria Carril, E., & Ávalos García, A. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca*, 2(3), 119–145.
- Peterson, M., Collavo, A., Ovejero, R., Shivrain, V., & Walsh, M. (2018). The challenge of herbicide resistance around the world: a current summary. *Pest Management Science*, *74*(10), 2246–2259. https://doi.org/10.1002/ps.4821
- PFAF. (2010). Verbena officinalis Vervain, Herb of the cross, Prostrate verbena PFAF

  Plant Database. https://pfaf.org/User/Plant.aspx?LatinName=Verbena+officinalis
- Rasul, M. (2018). Conventional Extraction Methods Use in Medicinal Plants, their

  Advantages and Disadvantages. *International Journal of Basic Sciences and Applied Computing*, 2(6), 10–14. https://www.ijbsac.org/wp-content/uploads/papers/v2i6/F0082122618.pdf
- Romero-Estévez, D., Yánez-Jácome, G. S., Simbaña-Farinango, K., Vélez-Terreros, P. Y.,

- & Navarrete, H. (2020). Determination of cadmium and lead in tomato (Solanum lycopersicum) and lettuce (Lactuca sativa) consumed in Quito, Ecuador. *Toxicology Reports*, 7(July), 893–899. https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.07.008
- Roy, A. (2017). A review on the alkaloids an important therapeutic compound from plants

  Antibacterial studies of medicinal plant View project. *International Journal of Plant Biotechnology*, 3(2), 1–9. www.journalspub.com
- Saiza de Cos, P. (2014). Cúrcuma I (Curcuma longa L.). *REDUCA (Biología)*, 7(2), 84–99. http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/1738
- Santin Steckling, E. A. (2021). *ALELOPATIA: Levantamento da Produção Acadêmica*.

  Universidade Federal da Fronteira Sul-UFFS.
- Schoch, C. L., Ciufo, S., Domrachev, M., Hotton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., McVeigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Turner, S., & Karsch-Mizrachi, I. (2020). *NCBI Taxonomy: A* comprehensive update on curation, resources and tools. Database; Oxford University Press. https://doi.org/10.1093/DATABASE/BAAA062
- Shang, Z. P., Xu, L. L., Lu, Y. Y., Guan, M., Li, D. Y., Le, Z. Y., Bai, Z. L., Qiao, X., & Ye, M. (2019). Advances in chemical constituents and quality control of turmeric. World Journal of Traditional Chinese Medicine, 5(2), 116–121.
  https://doi.org/10.4103/wjtcm.wjtcm\_12\_19
- Shoker, R. M. H. (2020). A Review Article: The Importance of the Major groups of Plants Secondary Metabolism Phenols, Alkaloids, and Terpenes. *International Journal For Research in Applied Sciences and Biotechnology*, 7(5), 354–358. https://doi.org/10.31033/ijrasb.7.5.47

- Silva, C., Mesquita, G., Petacci, F., Freitas, S., C. Moreno, M., Cardoso, E., & Morais, L. (2005). Ar -turmerona, sesquiterpeno responsável pela atividade alelopática de Curcuma longa. Sociedade Brasileira de Química (SBQ), 76, 254–257. http://sec.sbq.org.br/cdrom/32ra/resumos/T0971-2.pdf
- Soumoulou, M. (2021). Estudios preliminares sobre el efecto alelopático de cultivares de Avena y Centeno sobre el establecimiento inicial de malezas anuales [Universidad Nacional Del Sur]. https://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/123456789/5574
- Suárez-Medina, K., & Coy-Barrera, E. (2016). Diversidad de los compuestos orgánicos bioactivos de origen natural: una singularidad manifestada por la plasticidad en el metabolismo secundario. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, *12*(2), 252–269. https://doi.org/10.18359/rfcb.2031
- Suquilanda, M. (2017). *Manejo agroecológico de plagas* (1st ed.). Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca.

  https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjJw6T\_ysT3AhWvnWoFHWxjCCIQFnoECAUQAQ&url=https%3A%2F%2Fbalcon.mag.gob.ec%2Fmag01%2Fmagapaldia%2Flibro%2FManejo%2520agroecolo%25CC%2581gico%2520de%2520plagas%2520MSV.p
- Tak, Y., & Kumar, M. (2020). Phenolics: A Key Defence Secondary Metabolite to Counter Biotic Stress. In R. Lone, R. Shuab, & A. N. Kamili (Eds.), *Phenolics in Sustainable* Agriculture (1st ed., Vol. 1, pp. 309–327). Springer, Cham. https://link.springer.com/book/10.1007/978-981-15-4890-1#about
- Tan, L., Chen, S., Wang, T., & Dai, S. (2013). Proteomic insights into seed germination in response to environmental factors. *Proteomics*, 13(12–13), 1850–1870. https://doi.org/10.1002/pmic.201200394

- Tuan, P. A., Sun, M., Nguyen, T. N., Park, S., & Ayele, B. T. (2018). Molecular mechanisms of seed germination. In *Sprouted Grains: Nutritional Value, Production, and Applications*. Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811525-1.00001-4
- Vijayakumar, R., & Raja, S. S. S. (2018). Secondary Metabolites: Sources and Applications. In Secondary Metabolites Sources and Applications (ilustrada). IntechOpen. https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.71955
- Vilela, A. E., González-Paleo, L., & Ravetta, D. A. (2011). Metabolismo secundario de plantas leñosas de zonas áridas: Mecanismos de producción, funciones y posibilidades de aprovechamiento. *Ecologia Austral*, *21*(3), 317–327.
- Vinothini, N., & Bhavyasree, R. K. (2019). Orgopriming to Enhance Seed Germination in Groundnut (Arachis hypogaea L.). *Research Journal of Agricultural Sciences*, *February*, 14–17.

  https://www.researchgate.net/publication/331088586\_Orgopriming\_to\_Enhance\_See d\_Germination\_in\_Groundnut\_Arachis\_hypogaea\_L
- Waterman, P. G. (2016). Chemical Taxonomy of Alkaloids. In M. F. Roberts (Ed.), *Alkaloids* (1st ed., Issue July, pp. 87–106). Springer.

  https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2905-4
- Worm, A., Santos, M., Morán, I., Vargas, P., Comboza, W., & Lara, E. (2018). Vista de Malezas Presentes en Cultivos del Cantón Naranjal, Provincia Guayas, Ecuador. *Investigatio*, 11, 1–16. https://revistas.uees.edu.ec/index.php/IRR/article/view/186/165
- Yadav, R. P., & Tarun, G. (2017). Versatility of turmeric: A review the golden spice of life,

  Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(1), 41–46.

https://www.phytojournal.com/archives/2017/vol6issue1/PartA/6-1-17-211.pdf

- Yan, A., & Chen, Z. (2020). The Control of Seed Dormancy and Germination by Temperature, Light and Nitrate. *Botanical Review*, *86*(1), 39–75. https://doi.org/10.1007/s12229-020-09220-4
- Yao, Y., Xin, M., Ni, Z., & Sun, Q. (2020). Importance of small RNA in plant seed germination. In *Plant Small RNA*. Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817112-7.00006-7
- Zhou, F., & Pichersky, E. (2020). More is better: the diversity of terpene metabolism in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, *55*, 1–10. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2020.01.005

# Capítulo VIII: Apéndices