

Actividad alelopática del extracto en cloroformo de *Henriettella trachyphylla* y en acetato de etilo de *Miconia coronata* (melastomataceae)

Allelopathic activity of chloroform extract from *Henriettella trachyphylla* and ethyl acetate extract from *Miconia coronata* (melastomataceae)

Francisco Javier Jiménez González, Paola Erika Torres
 Grupo Polifenoles, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Colombia
 jjjimenez@utp.edu.co
 pxeirira@utp.edu.co

Resumen— Los extractos en cloroformo de *H. trachyphylla* y en acetato de etilo de *M. coronata* (melastomataceae) con sus respectivas fracciones fueron evaluados por su actividad alelopática frente a semillas de *L. sativa* L., presentando porcentajes de inhibición en hipocótilo -38,8% y -45,8%, respectivamente. Las fracciones F10A1 y F10A2 obtenidas del extracto en cloroformo, y las fracciones Fr1, Fr3, Fr4 y Fr5 exhibieron efecto inhibitor, tanto en hipocótilo como epicótilo. A las fracciones F10A1, F10A2 y Fr5 se les determinaron sus posibles estructuras por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM) y resonancia magnética nuclear de protón (RMN-¹H).

Palabras clave— Actividad alelopática, *Henriettella trachyphylla*, *Lactuca sativa*, melastomataceae, *Miconia coronata*.

Abstract— Chloroform from *H. trachyphylla* and ethyl acetate from *M. coronata* (melastomataceae) extracts and fractions were evaluated by their allelopathic activity against *L. sativa* L. seeds, showing hypocotyl inhibition percentages -38,8% and -45,8%, respectively. Fractions F10A1 and F10A2 obtained chloroform extract, and Fr1, Fr3, Fr4 and Fr5 fractions showed inhibitory effect on hypocotyl and epicotyl. The structural determination possible of F10A1, F10A2 and Fr5, were performed by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS) and proton nuclear magnetic resonance (NMR-¹H) spectroscopy.

Key Word — Allelopathic activity, *Henriettella trachyphylla*, *Lactuca sativa*, melastomataceae, *Miconia coronata*.

I. INTRODUCCIÓN

La eficiencia en la agricultura depende del control de malezas. Lastimosamente, hoy existe un uso indiscriminado de herbicidas sintéticos que día a día promueven la resistencia de malas hierbas al tratamiento con químicos, aunque el uso de estos productos ha aumentado significativamente durante las últimas décadas.

Para disminuir esta tendencia, se han buscado soluciones biológicas para minimizar los impactos peligrosos del uso de herbicidas e insecticidas en la agricultura. Uno de los medios para optimizar el control de plagas y malezas es la alelopatía, que es definida como la capacidad de las planta en inhibir o estimular el crecimiento de otros organismos del medio por la liberación de metabolitos secundarios denominados aleloquímicos. Estos compuestos, son introducidos al medio ambiente por una variedad de mecanismos tales como emisiones volátiles, lixiviación de las hojas o exudación de las raíces. La fitotoxicidad de algunos aleloquímicos se atribuye a su capacidad de cambiar procesos metabólicos en otras plantas, incluyendo la respiración, fotosíntesis, permeabilidad de membrana, la división celular, síntesis de proteína y alteraciones en la actividad enzimática. Por esto, el estudio de la alelopatía y sus aleloquímicos se considera un atractivo método para el control de malezas, debido a su respeto al medio ambiente [1, 2, 3, 4].

Henriettella trachyphylla Triana. (melastomataceae) no ha sido estudiada en cuanto su química y farmacognosia. Solo se tiene reportes de *H. fascicularis* (SW.) de la cual se aislaron los compuestos 4',5,7-trihidroxi-6,8-dimetilsoflavona, ácido sesterpenoico, lichexantona, (-)-pinoresinol, ácido betulínico, ácido palmítico, β -sitosterol y taxiphyllin [5]. Estudios realizados por el grupo Polifenoles sobre el extracto en isopropanol-agua (65:35) de *H. trachyphylla* mostraron actividad alelopática en semillas de lechuga (*Lactuca sativa*), presentando un efecto inhibitor selectivo para hipocótilo, mientras para epicótilo se determinó una actividad promotora de crecimiento [6].

Miconia coronata (Bonpl.) D.C. (melastomataceae) ha presentado actividad antibacterial frente a *Salmonella tiphmatium*, *Salmonella gallinarum*, *Escherichia coli*; actividad alelopática frente a semillas de *Lycopersicum esculentum* L. y actividad ictiotóxica. De esta especie se aislaron ácido elágico, y un flavonoide kaemferol-7-O-4-a, β -ramnósido [7, 8].

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Material vegetal y reactivos

H. trachyphylla [6], fue colectada en la vereda Laguneta, vía Pereira-Armenia (Colombia) por el Grupo Polifenoles, e identificada por el Dr. Frank Almeda de la Academia de Ciencias de California, E.U.A. Las hojas de *M. coronata* [8], fueron colectas en la vereda la Banadera a orillas del Rio Otún cerca de la ciudad de Pereira, Risaralda, Colombia por el Grupo Polifenoles, en junio 18 de 2001, el Dr. Carlos Parra de la Universidad Nacional de Colombia, identificó la planta.

Como especie receptora se utilizaron semillas de lechuga (*L. sativa* L.) variedad Black Seed Simpson, fueron compradas a Fercon Ltda. Para el control se utilizó Glifosato comercial 446 g/L, Roundup Spectra), donado por el Laboratorio de suelos de la Escuela de Química de la UTP. En las separaciones cromatográficas en columna se utilizaron como fase móvil los solventes *n*-hexano, acetato de etilo, acetona e isopropanol grado analítico marca Merck, como fase estacionaria se usó sílica gel 60 F₂₅₄ (Merck) y ODS (Aldrich). Para el monitoreo por TLC se utilizaron cromatoplasmas de sílica gel 60 F₂₅₄ y RP-18 F₂₅₄ s marca Merk.

B. Obtención de extractos y fracciones

Los extractos en cloroformo y en acetato de etilo de *H. trachyphylla* y *M. coronata* respectivamente, fueron obtenidas a partir de las hojas secas y molidas en trabajos anteriores realizados por el grupo Polifenoles.

El extracto en cloroformo de *H. trachyphylla* (250 mg) fue separada por cromatografía en columna empacada con sílica gel 60, gradiente *n*-hexano-acetato de etilo (95:5; 90:10; 80:20; 70:30), *n*-hexano y por último acetona al 100%, recogiendo 10 fracciones HtCHF1 (15.2 mg), HtCHF2 (4.7 mg), HtCHF3 (3.8 mg), HtCHF4 (9.3 mg), HtCHF5 (7.8 mg), HtCHF6 (3.5 mg), HtCHF7 (5.3 mg), HtCHF8 (5.4 mg), HtCHF9 (5.7 mg) y HtCHF10 (83.3 mg), monitoreadas por TLC sobre sílica gel. La fracción HtCHF10 (83.3 mg) fue sometida a cromatografía en columna de cartucho sobre Octadecyl-Functionalized sílica gel (ODS), con isopropanol-agua (95:5), recogiendo 2 fracciones HtCHF10A (70.5 mg) y HtCHF10B (4.3 mg), monitoreadas por TLC sobre RP-18 F₂₅₄s. La fracción HtCHF10A se separó en columna cromatográfica empacada con sílica gel, con gradiente *n*-hexano-acetato de etilo (95:5; 90:10; 80:20; 70:30), recogiendo 4 fracciones F10A1 (24.6 mg), F10A2 (14.1 mg), F10A3 (11.1 mg) y F10A4 (5.9 mg), monitoreadas por TLC sobre sílica gel. Todas las fracciones fueron llevadas a sequedad, almacenadas y determinando su rendimiento. Del fraccionamiento del extracto en acetato de etilo de *M. coronata* por cromatografía en columna empacada con

DIAION HP-20 (2.5 cm de diámetro interno x 50 cm de largo) con gradiente agua-metanol (1:9; 2:8; 4:6; 7:3; 10), realizada por el grupo Polifenoles [8], se obtuvieron nueve fracciones Fr1 (0.1279 g), Fr2 (0.0112 g), Fr3 (0.0250 g), Fr4 (0.1970 g), Fr5 (1.9795 g), Fr6 (0.1116 g), Fr7 (0.0201), Fr8 (0.0270) y Fr9 (0.0690 g).

A las fracciones F10A1, F10A2 y Fr5 se les midió la absorbancia desde 200 a 700 nm, en espectrofotómetro UV-vis Shimadzu UV-1700 PharmaSpecy, para luego ser inyectadas en un cromatografo de gases acoplado a espectrómetro de masas GC/MS-QP2010 Shimadzu, equipado con un puerto inyector Split, autoinyector ACO-20i Shimadzu, software CG/MS solution Release 2.5SU1, columna capilar Rtx-5SilMS serial 690776 de 30 m de largo, 0.25 mm de diámetro interno y un espesor de fase estacionaria de 0.25 µm. Las condiciones del análisis cromatográfico fueron las siguientes: temperatura inicial de la columna 50 °C; temperatura de inyector 280 °C; rampa de calentamiento 50 °C por 1 min (durante 2 min); 20 °C/min hasta 300 °C; gas de arrastre Helio a 1 mL/min. Los espectros de masas se obtuvieron por impacto electrónico (IE). La identificación se realizó por comparación de espectros de masas disponibles en la literatura de la base Wiley, 7° edición, 2003, NIST (National Institute of Standards and Technology) y SDBS (Spectral Database for Organic Compound). Los espectros de resonancia magnética nuclear de protón se determinaron en un equipo Bruker 400 MHz (Universidad del Valle, Cali-Colombia). Se utilizó cloroformo deuterado como solvente, y sus desplazamientos químicos están expresados con valores de δ (ppm).

C. Preparación de soluciones de prueba

1. Pretratamiento de agua

Se calienta agua potable hasta ebullición por 5 minutos y se deja enfriar hasta temperatura ambiente.

2. Preparación de soluciones blanco y control

Se utilizó como control glifosato comercial a una concentración de 3.7×10^{-2} M. Como blanco se utilizó la mezcla agua-DMSO (0.33%).

3. Preparación de extractos

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

4. Preparación de fracciones

Las soluciones se prepararon tomando 8 mg de fracción disueltas en 0.1 mL de DMSO, posteriormente se completo a 8 mL con agua pretratada, de esta forma se obtuvo una concentración final de 1 mg/mL.

D. Bioensayo de actividad alelopática

El bioensayo de actividad alelopática se realiza teniendo en cuenta los siguientes pasos: lavado, germinación y tratamiento. Se lavaron las semillas de lechuga con agua pretratada. Para la germinación, las semillas fueron transferidas a cajas petri (90x10 mm) sobre papel filtro cualitativo, adicionando 5 mL de agua pretratada. A las 48 horas se seleccionaron las semillas germinadas con radícula de 1 mm de longitud, para ser evaluadas frente al blanco, control y muestra de prueba. En el tratamiento las semillas seleccionadas se colocaron sobre cajas con papel filtro. Un volumen de 30 mL para blanco en caja (34 cm de largo x 10 cm de ancho), 25 mL de solución de extracto en caja (30 cm de largo x 10 cm de ancho) y 5 mL para el control en caja petri. Para fracciones se utilizó cajas (10 cm de largo x 10 cm de ancho) con papel de filtro y 10 semillas. Los ensayos fueron realizados por triplicado.

E. Análisis estadístico

Los valores tomados (en mm) de las medidas de hipocótilo y epicótilo de las plántulas de lechuga, en intervalos de 24 horas por los siete días de ensayo son introducidos en una tabla de hoja electrónica (Microsoft Office Excel 2007) para análisis estadístico. De esta forma, se halló el promedio y desviación estándar para cada día. Los datos obtenidos son evaluados por medio de la prueba Q de Dixon [9]. El porcentaje de actividad alelopática se determino según los valores de muestra y blanco representado en la siguiente ecuación [10]:

$$\%A.A.=[(v. muestra-v. control)/(v. blanco-v. control)] (1)$$

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los porcentajes de actividad alelopática con respecto al hipocótilo, de los extractos en cloroformo de *H. trachyphylla* (*H.t*) y en acetato de etilo de *M. coronata* (*M.c*) se muestran en la tabla 1.

Especie	%A.A. por día					
	1	2	4	5	6	7
<i>H.t</i>	0,0	-38.8	-20.9	-12.1	-5.9	-7.5
<i>M.c</i>	0.0	-21.5	-45.8	-40.9	-38.8	-40.1

Tabla 1. Porcentaje de actividad alelopática en hipocótilo.

El extracto en acetato de etilo de *M. coronata*, presentó mayor efecto inhibitor de crecimiento (Fig. 1) en las plántulas de lechuga comparado con el extracto en cloroformo de *H. trachyphylla*.

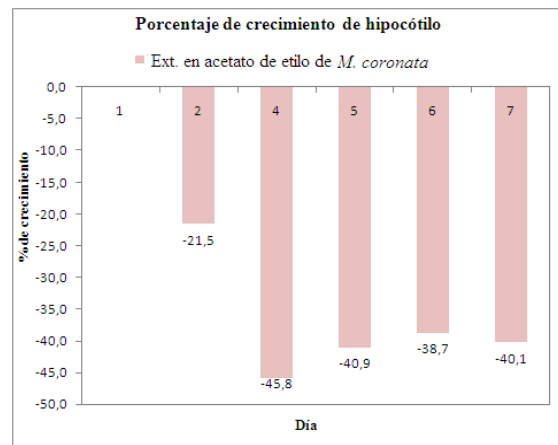


Figura 1. Efecto inhibitor sobre hipocótilo del extracto en acetato de etilo de *M. coronata*.

En epicótilo la actividad alelopática de los extractos evaluados, presentaron una acción variable como lo muestra en la tabla 2.

Especie	%A.A. por día					
	1	2	4	5	6	7
<i>H.t</i>	0,0	6.8	-3.2	-1.6	-5.4	-1.9
<i>M.c</i>	0.0	2.2	-15.4	-16.6	-21.6	-21.7

Tabla 2. Porcentaje de actividad alelopática en epicótilo.

Los extractos en cloroformo de *H. trachyphylla* y en acetato de etilo de *M. coronata* (Fig. 2) mostraron un efecto promotor leve en el crecimiento, sin embargo, este efecto cambia a inhibir el crecimiento de la plántula a los siguientes días del bioensayo.

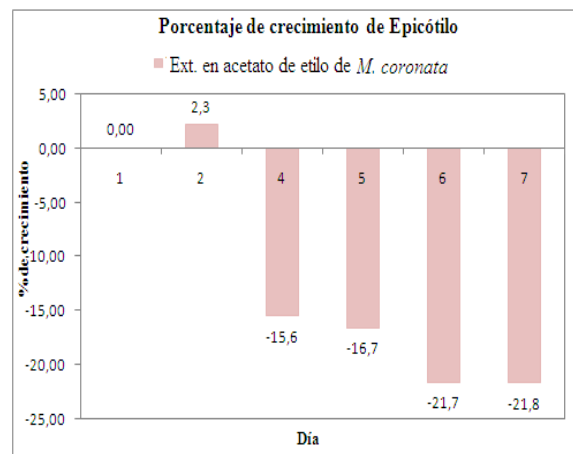


Figura 2. Efecto inhibitor sobre epicótilo del extracto en acetato de etilo de *M. coronata*.

Del fraccionamiento en columna del extracto en cloroformo de *H. trachyphylla*, se tomaron las fracciones F10A1 y F10A2, para su evaluación de actividad alelopática sobre hipocótilo (tabla 3) y epicótilo (tabla 4).

Día	%A.A. por fracción	
	F10A1	F10A2
1	0,0	0.0
2	-37,3	-53.8
3	-10,0	-40.7
4	-19,1	-45.0
5	-32,7	-50.7
6	-36,9	-55.6
7	-45,7	-58.1

Tabla 3. Porcentaje de actividad alelopática sobre hipocótilo de fracciones de *H. trachyphylla*.

La actividad alelopática de la fracción F10A1, presentó porcentaje inhibitorio de crecimiento del hipocótilo de la plántula de lechuga al segundo día del -37.3%, al siguiente día este efecto disminuye (-10%), sin embargo, a partir del cuarto día aumentó el porcentaje de inhibición (-19.1%) hasta el séptimo día (-45.7%), lo que sugiere que los metabolitos secundarios que inicialmente inhiben el crecimiento, son degradados mostrando inhibición menor, la secuencia de degradación forma compuestos con mayor efecto inhibitorio. Mientras que para la fracción F10A2, presentó porcentaje de inhibición en hipocótilo, como mínimo de -40.7% para el tercer día y un máximo de -58.1 % para el séptimo día durante el bioensayo, esto sugiere que los compuestos alelopáticos ejercen un efecto inhibitorio continuo.

Día	%A.A. por fracción	
	F10A1	F10A2
1	0.0	0.0
2	-64.6	-32,1
3	-0.9	-37.1
4	-3.5	-26.9
5	-2.3	-23.3
6	-15.8	-30.7
7	-23.2	-31.9

Tabla 4. Porcentaje de actividad alelopática sobre epicótilo de fracciones de *H. trachyphylla*.

La actividad alelopática en epicótilo de la fracción F10A1, evidenció un potente efecto inhibitorio al segundo día (-64.6%), que disminuye considerablemente a los siguientes días hasta el final del bioensayo, lo que sugiere la presencia de un compuesto alelopático que se degrada con el tiempo. Para la fracción F10A2, la acción inhibitoria es constante para los siete días del bioensayo con un mínimo de -23.3% para el quinto día y como máximo -37.1% para el tercer día.

A partir de las fracciones F10A1 y F10A2, se identificaron posibles compuestos por análisis CG/EM y RMN-¹H mediante comparación de sus EM con el reportado en las bases de datos NIST, SDBS y WILEY7N2.

El análisis por CG/EM de F10A1 presentó un t_R 11.300 min, EM-IE, m/z (% Intensidad relativa): 338 (2) [M⁺], 113 (12) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₃CH₂⁺], 99 (15) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₄CH₂⁺], 85 (40) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₅CH₂⁺], 71 (64) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₆CH₂⁺], 57 (100) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₇CH₂⁺], 43 (44) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₈CH₂⁺]. RMN-¹H (400 MHz; CDCl₃) δ 1.258 (s), 0.883 (t). Compuesto tetracosano.

A partir de F10A2 el análisis por CG/EM, presentó un t_R de 15.792 min. EM-IE, m/z (% Intensidad relativa): 380 (12) [M⁺], 141 (5) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₄CH₂⁺], 113 (15) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₆CH₂⁺], 99 (22) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₇CH₂⁺], 85 (55) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₈CH₂⁺], 71 (70) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₉CH₂⁺], 57 (100) [M-CH₃CH₂(CH₂)₂₀CH₂⁺], 43 (87) [M-CH₃CH₂(CH₂)₂₁CH₂⁺]. RMN-¹H (400 MHz; CDCl₃) δ 1.257 (s), 0.882 (t). Compuesto heptacosano.

Del extracto en acetato de etilo de *M. coronata*, se tomaron las fracciones Fr1, Fr3, Fr4 y Fr5, para evaluar su actividad alelopática, ya que presentaron altos rendimientos y potente actividad ictiotóxica en estudios previos [8].

La fracción Fr3 evidenció un potente efecto inhibitorio en hipocótilo de acción continua como lo demuestra la tabla 5.

	%A.A. por día						
	1	2	3	4	5	6	7
Fr1	0.0	-11.3	-9.7	-7.4	-19.4	-14.7	-18.7
Fr3	0.0	-82.9	-82.6	-83.4	-87.1	-76.7	-76.3
Fr4	0.0	-64.5	-53.5	-52.1	-55.2	-56.6	-55.9
Fr5	0.0	-44.7	-52.8	-50.7	-46.1	-41.7	-41.7

Tabla 5. Porcentaje de actividad alelopática sobre hipocótilo de fracciones de *M. coronata*.

La fracción Fr1 mostró un porcentaje de inhibición sobre hipocótilo de -19.5%, al quinto día que se mantiene constante hasta el final. Para las fracciones Fr3, Fr4 y Fr5 presentaron porcentajes inhibitorios en hipocótilo mayores a -41.7%.

Sobre epicótilo (tabla 6), estas fracciones mostraron un efecto promotor de crecimiento al segundo día; sin embargo, este efecto cambia al inhibir el crecimiento a los siguientes días del bioensayo, debido a que inicialmente los productos que potencializaban el crecimiento son degradados hasta un efecto inhibitorio que aumenta hasta el cuarto día y disminuye en los siguientes días de ensayo.

	%A.A. por día						
	1	2	3	4	5	6	7
Fr1	0.0	0.0	-20.3	-14.0	-7.9	-12.2	-12.2
Fr3	0.0	29.1	-33.3	-56.7	-44.0	-33.3	-32.7
Fr4	0.0	16.6	-47.8	-40.0	-39.8	-46.8	-40.3
Fr5	0.0	15.3	-43.5	-43.1	-24.6	-30.4	-21.8

Tabla 6. Porcentaje de actividad alelopática sobre epicótilo de fracciones de *M. coronata*.

A partir de la fracción "Fr5", del extracto en acetato de etilo de *M. coronata*, se obtuvieron tres posibles compuestos.

Compuesto 1: Mediante análisis CG/EM, presentó un tiempo de retención de 25.700 min. El espectro de masas indicó que el compuesto posee una fórmula molecular $C_7H_8O_2$; Iones (m/z) 124 [M+], 109 (100) [M-CH₃⁺], se identificó posiblemente como guaiacol.

Compuesto 2: Mediante análisis CG/EM, presentó un tiempo de retención de 27.033 min. El espectro de masas indicó que el compuesto posee una fórmula molecular $C_{29}H_{60}$; Iones (m/z) 113 (16) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₈CH₂⁺], 99 (26) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₉CH₂⁺], 85 (57) [M-CH₃CH₂(CH₂)₂₀CH₂⁺], 71 (81) [M-CH₃CH₂(CH₂)₂₁CH₂⁺], 57 (100) [M-CH₃CH₂(CH₂)₂₂CH₂⁺], 43 (61) [M-CH₃CH₂(CH₂)₂₃CH₂⁺]. Se identificó posiblemente como nonacosano.

Compuesto 3: Mediante análisis CG/EM, presentó un tiempo de retención de 28.533 min. El espectro de masas indicó que el compuesto posee una fórmula molecular $C_{26}H_{54}$; Iones (m/z) 366 [M+], 141 (5) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₃CH₂⁺], 127 (7) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₄CH₂⁺], 113 (18) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₅CH₂⁺], 99 (29) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₆CH₂⁺], 85 (62) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₇CH₂⁺], 71 (83) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₈CH₂⁺], 57 (100) [M-CH₃CH₂(CH₂)₁₉CH₂⁺], 43 (63) [M-CH₃CH₂(CH₂)₂₀CH₂⁺]. Se identificó posiblemente como hexacosano.

IV. CONCLUSIONES

Los metabolitos secundarios, presentan actividad alelopática inhibitoria en hipocótilo, lo que indica que las plántulas de lechuga son más sensibles en esta zona, al estar en contacto con el extracto en cloroformo de *H. trachyphylla*, mientras que las fracciones F10A1 y F10A2 mostraron efecto inhibitorio en hipocótilo y epicótilo.

El extracto en acetato de etilo de *M. coronata*, posee compuestos que inhibe principalmente el crecimiento de hipocótilo de las plántulas de lechuga, lo que puede actuar como regulador de crecimiento, sin embargo, las fracciones Fr1, Fr3, Fr4 y Fr5, tuvieron efecto inhibitorio tanto para hipocótilo como para epicótilo de las plántulas de lechuga.

AGRADECIMIENTO

A la Vicerrectoría de Investigación, Innovación y Extensión de la Universidad Tecnológica de Pereira, por la financiación de esta investigación (Cod. CIE E9-11-6)

REFERENCIAS

- [1] F. Tesio, F. Vidotto, A. Ferrero, "Allelopathic persistence of *Helianthus tuberosus* L. residues in the soil," *Scientia Horticulturae*, vol. 135, pp. 98-105, Feb. 2012.
- [2] M. Scognamiglio, V. Fiumano B. D'Abrosca, S. Pacifico, A. Messere, A. Esposito, A. Fiorentino, "Allelopathic potential of alkylphenols from *Dactylis glomerata* subsp. *hispanica* (Roth) Nyman," *Phytochemistry Letters*, vol. 5 (1), pp. 206-210, Mar. 2012.
- [3] T. de Gouveia, A. C. Candido, L.A. Wessjohann, R. Machado, N. Kato, "Phytochemical and allelopathic studies of *Terminalia catappa* L. (Combrataceae)," *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 41, pp. 119-125, Apr. 2012.
- [4] X. Yang, S. Deng, R. De Philippis, C. Hu, W. Zhang, "Chemical composition of volatile oil from *Artemisia ordosica* and its allelopathic effects on desert soil microalgae, *Palmellococcus miniatus*," *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 51, pp. 153-158, Feb. 2012.
- [5] A. I. Calderon, C. Terreaux, M. P. Gupta, K. Hostettemann, "Occurrence of taxiphyllin and 3',3'-di-O-methylellagic acid 4'-β-D-glucoside in *Henriettella fascicularis*," *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 31 (7), pp. 789-791, Jul. 2003.
- [6] J. H. Isaza, F. J. Jiménez, L. A. Veloza, L. S. Ramírez, "Actividad alelopática de *Henriettella trachyphylla* (melastomataceae)," *Actualidades biológicas*, vol. 27(1), pp. 17-20, 2005.
- [7] J. H. Isaza, J. Tapias, J. López, D. Marín, L. M. Orozco, D. A. Rivera, L. A. Veloza, L. S. Ramírez, "Nuevo flavonoide glicosilado de *Miconia coronata* (Bonpl.) y actividad antibacterial," *Scientia et Technica*, vol. 33, pp. 311, May. 2007.
- [8] J. H. Isaza, L. A. Veloza, L. S. Ramírez, L. M. Calle, F. J. Jiménez, J. Ramírez, L. C. Gómez, "Actividad ictiotóxica de *Miconia coronata* (Bonpl.) D.C. (melastomataceae)," *Scientia et Technica*, vol. 28, pp. 197-201, Oct. 2005.
- [9] W. Dixon, F. Massey, *Introduction to Statistical Analysis*, 4th ed., New York: McGraw-Hill, 1987, p. 377.
- [10] J. H. Isaza, F. J. Jiménez, J. L. Galván, J. C. Restrepo. "Actividad alelopática de algas especies de los géneros *Miconia*, *Tibouchina*, *Henriettella*, *Tococa*, *Aciotis* y *Bellucia* (melastomataceae)," *Scientia et Technica*, vol. 33, pp. 409-413, May. 2007.