



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
COORDINACIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIA EN BIOTECNOLOGÍA
AGRÍCOLA

FITOTOXICIDAD Y ACTIVIDAD ALELOPÁTICA DE EXTRACTOS DE NONI (*Morinda citrifolia* L.)

TESIS PROFESIONAL
QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA
AGRÍCOLA**

PRESENTA:

CARLOS GILBERTO HERNÁNDEZ CASTRO

BAJO LA DIRECCIÓN DE:

Dra. MARÍA DEL ROSARIO GARCÍA MATEOS



APROBADA



CHAPINGO, TEXCOCO, MAYO 2024

FITOTOXICIDAD Y ACTIVIDAD ALELOPÁTICA DE EXTRACTOS DE NONI
(*Morinda citrifolia* L.)

Tesis realizada por **CARLOS GILBERTO HERNÁNDEZ CASTRO** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA

DIRECTORA:



Dra. María del Rosario García Mateos

ASESOR:



Dr. J. Jesús Magdaleno Villar

ASESOR:



Dr. Juan Martínez Solís

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
DEDICATORIA	viii
AGRADECIMIENTOS	ix
DATOS BIOGRÁFICOS	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUCCIÓN	13
2. PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA	15
3. JUSTIFICACIÓN	15
4. REVISIÓN DE LITERATURA	16
4.1 Herbicidas sintéticos	16
4.2 Bioherbicidas	17
4.3 Metabolitos secundarios	17
4.4 Fitotoxicidad	18
4.5 Alelopatía	18
4.6 Noni (<i>Morinda citrifolia</i>)	19
4.7 Morfología de la planta	20
4.8 Usos del noni	22
4.9 Compuestos químicos del noni	22
4.10 Extracción por Soxhlet	22
4.11 Efecto del disolvente en la extracción	23
4.12 Identificación de MS por cromatografía en capa fina	23
4.13 Bioensayos de fitotoxicidad	23

5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
5.1 Material vegetal	24
5.2 Obtención de extractos.....	25
5.3 Identificación por cromatografía en capa fina	26
5.3.3 Identificación de volátiles.....	26
5.3.4 Identificación de terpenos.....	26
5.3.1 Identificación de flavonoides	26
5.3.2 Identificación de alcaloides.....	27
5.4 Evaluación de la actividad fitotóxica	27
5.5 Evaluación de la actividad alelopática	28
5.6 Análisis estadístico	28
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
6.1 Identificación por cromatografía en capa fina de metabolitos secundarios	29
6.2 Evaluación de actividad fitotóxica	30
6.3 Evaluación de actividad alelopática	46
7. CONCLUSIONES	49
8. LITERATURA CITADA	49
9. APÉNDICES	59

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Identificación de metabolitos secundarios por cromatografía en capa fina de los extractos de noni con diferentes disolventes y tejidos vegetales.....	29
Cuadro 2. Evaluación alelopática del extracto hexánico del fruto de noni.	47
Cuadro 3. Análisis de varianza de extractos metanólicos en semillas y plántulas de lechuga.	59
Cuadro 4. Análisis de varianza de extractos metanólicos en semillas y plántulas de amaranto.....	59
Cuadro 5. Análisis de varianza de extractos de acetato de etilo en semillas y plántulas de lechuga.....	60
Cuadro 6. Análisis de varianza de extractos de acetato de etilo en semillas y plántulas de amaranto.	60
Cuadro 7. Análisis de varianza de extractos de hexánicos en semillas y plántulas de lechuga.	61
Cuadro 8. Análisis de varianza de extractos hexánicos en semillas y plántulas de amaranto.....	61
Cuadro 9. Rendimiento de extractos por cada 100 g de muestra seca.....	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Planta adulta de noni ubicada en el Municipio de Izúcar de Matamoros, Puebla, México. Fuente: Elaboración propia.	20
Figura 2. Hojas, flores y formación del fruto de noni. Fuente: Elaboración propia.	21
Figura 3. Fruto maduro de noni. Fuente: Elaboración propia.	21
Figura 4. a) Rodajas de frutos de noni liofilizados. b) Muestra molida de semillas de noni.	25
Figura 5. a) Extracción de metabolitos secundarios por Soxhlet. b) Separación del disolvente de un extracto en un rotaevaporador.	25
Figura 6. Efecto de extractos metanólicos de semillas, fruto y hojas de noni en el porcentaje de germinación de semillas de lechuga (a) y amaranto (b).	31
Figura 7. Efecto de extractos de acetato de etilo de fruto y hojas de noni en la germinación de semillas de lechuga (a) y amaranto (b).	32
Figura 8. Efecto de extractos hexánicos de semillas, fruto y hojas de noni en la germinación de semillas de lechuga (a) y amaranto (b).	32
Figura 9. Efecto de extractos metanólicos de semillas, fruto y hojas de noni sobre la longitud de raíz de plántulas de lechuga (a) y amaranto (b). ¡Error! Marcador no definido.	
Figura 10. Efecto de extractos de acetato de etilo sobre la longitud de raíz de plántulas de lechuga (a) y amaranto (b).	35
Figura 11. Efecto de extractos hexánicos de semillas, fruto y hojas de noni sobre la longitud de raíz de plántulas de lechuga (a) y amaranto (b).	36
Figura 12. Semillas germinadas de lechuga con raíz anormal por el extracto hexánico de semilla a una concentración de 3 %.	37
Figura 13. Efecto de extractos metanólicos de semillas, fruto y hojas de noni sobre la longitud del tallo de plántulas de lechuga (a) y amaranto (b).	37

Figura 14. Efecto de extractos de acetato de etilo de fruto y hojas de noni sobre la longitud del tallo de plántulas de lechuga (a) y amaranto (b).....	38
Figura 15. Efecto de extractos hexánicos de semillas, fruto y hojas de noni sobre la longitud del tallo de plántulas de lechuga (a) y amaranto (b).....	39
Figura 16. Efecto de extractos metanólicos de semillas, fruto y hojas de noni en la producción de plántulas anormales de lechuga (a) y amaranto (b).....	40
Figura 17. Efecto de extractos de acetato de etilo de fruto y hojas de noni en la producción de plántulas anormales de lechuga (a) y amaranto (b).	41
Figura 18. Efecto de extractos hexánicos de semillas, fruto y hojas de noni en la producción de plántulas anormales de lechuga (a) y amaranto (b).	42
Figura 19. Plántulas anormales de lechuga por el extracto metanólico de semillas a 2 %.....	43

DEDICATORIA

A mis padres, Gabino Hernández Ramírez y Minerva Castro Mejía por ser mi soporte en la vida, dando lo mejor de ellos para mí, por todos sus consejos y apoyo incondicional y por estar siempre para mí a pesar de la distancia. Por su amor incondicional.

A mis hermanos, Ángel Daniel Hernández Castro, Maritza Adelaida Hernández Castro y German Esteban Hernández Castro, por ser un gran apoyo para mí en cualquier momento ante todas las dificultades, por escuchar todas las cosas que no le expreso a nadie más y por darme buenos consejos para seguir adelante.

A mis primos, Agustín Ponce Hernández y Lizbeth Vargas por estar siempre conmigo aún en la distancia, por darme consejos para seguir adelante.

A mi tío, Joaquín Castro por apoyarme siempre de manera incondicional.

A Gina Kelly Méndez Castillo, por pasar el tiempo de la maestría conmigo y ayudarme a tomar buenas decisiones con sus consejos, fue un gran pilar para seguir adelante, por ayudarme en todas las situaciones y en cualquier momento.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la vida, la inteligencia y salud para poder seguir adelante ante cualquier situación, por protegerme en todo momento y por darme a todas las personas que me rodean y aportan algo a mi vida.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnología (CONAHCyT), por haber financiado mis estudios para la maestría.

A la Universidad Autónoma Chapingo, por darme la oportunidad de realizar mis estudios dentro de sus instalaciones.

Al Departamento de Fitotecnia, por darme todos los conocimientos necesarios a través de los profesores para realizar mi investigación de manera adecuada.

A la Dra. María del Rosario García Mateos, por aceptarme como uno de sus tesisistas y compartirme el conocimiento necesario en el área, por todo el apoyo que me dio durante el tiempo de la maestría para realizar mi investigación en el tiempo correspondiente, así como a resolver los problemas que se presentaron, por su gran apoyo, comprensión y paciencia conmigo a lo largo de la maestría.

Al Dr. J. Jesús Magdaleno Villar, gracias por su tiempo brindado y por su ayuda ante las dudas que tenía en la investigación, por apoyarme para poder conseguir el material para poder realizar mi trabajo.

Al Dr. Juan Martínez Solís, gracias por su tiempo que compartió para ayudarme a realizar mi investigación, así como compartirme los conocimientos necesarios dentro de su área y poder realizar un mejor trabajo.

Al técnico de laboratorio Sr. Mateo Barrientos Reyes, gracias por brindarme toda la atención dentro de las instalaciones para establecer mi experimento, por darme los consejos necesarios para poder hacer un mejor trabajo y por brindarme su amistad.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre: Carlos Gilberto Hernández Castro

Fecha de nacimiento: 4 de enero de 1997

Profesión: Ingeniero en Agrobiotecnología

Cédula profesional: 12650073



Desarrollo académico

Bachillerato: Colegio de Bachilleres del Estado de Puebla COBAEP P-12 (2012-2015).

Licenciatura: Ingeniería en Agrobiotecnología. Universidad Tecnológica de Izúcar de Matamoros (2016-2020).

Maestría en Ciencias en Biotecnología Agrícola. Orientación: Ingeniería Genética. Universidad Autónoma Chapingo (2022-2023).

RESUMEN

FITOTOXICIDAD Y ACTIVIDAD ALELOPÁTICA DE EXTRACTOS DE NONI (*Morinda citrifolia* L.)

El uso indiscriminado de herbicidas sintéticos ha generado problemas de contaminación en suelo, atmósfera y agua. Como una alternativa sostenible, se ha considerado el uso de bioherbicidas, constituidos principalmente por sustancias naturales que se pueden obtener a partir de extractos vegetales que contienen sustancias fitotóxicas, con actividad alelopática, y podrían ofrecer una solución más amigable con el medio ambiente. La presente investigación consistió en evaluar extractos de semilla, fruto y hoja de la planta de noni (*Morinda citrifolia* L.) sobre la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) y amaranto (*Amaranthus* spp.). Aunque el noni se ha utilizado ampliamente por sus propiedades medicinales e industriales, se carece de información de su actividad fitotóxica y alelopática, por lo que se obtuvieron extractos que se identificaron de manera cualitativa por cromatografía en capa fina, tales como flavonoides, alcaloides, compuestos volátiles y terpenos. Los extractos que ocasionaron mayor inhibición de la germinación en las semillas de lechuga fueron los de acetato de etilo (2 y 3 %) y hexano (1, 2 y 3 %) ambos generados del fruto. El mismo efecto fitotóxico se presentó en las semillas de amaranto con los extractos de acetato de etilo y hexánico desde las concentraciones menores (0.5, 1, 2 y 3 %). Las semillas de lechuga y amaranto que lograron germinar con el extracto metanólico, desarrollaron radícula y tallos anormales. En la evaluación de la actividad alelopática, el extracto hexánico de fruto ocasionó 27 y 25 % de germinación en las semillas de lechuga y de amaranto, respectivamente, con afectaciones en el desarrollo de raíz y tallo. Estos resultados sugieren que los extractos de noni podrían ofrecer un potencial importante como componentes de bioherbicidas.

Palabras clave: Bioherbicidas, inhibición, plantas anormales, metabolitos secundarios, terpenos.

Tesis de Maestría en Ciencias en Biotecnología Agrícola

Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Carlos Gilberto Hernández Castro

Directora de Tesis: Dra. María del Rosario García Mateos

ABSTRACT

PHYTOTOXICITY AND ALLELOPATHIC ACTIVITY OF NONI EXTRACTS (*Morinda citrifolia* L.)

The arbitrary use of synthetic herbicides has generated contamination problems in soil, atmosphere, and water. The use of bioherbicides has been considered as an ecological alternative, since consisting mainly of natural substances which can be obtained from plant extracts that contain phytotoxic substances, with allopathic activity, and could offer a more environmentally friendly solution. The present research consisted of evaluating the effect of seed, fruit, and leaf extracts obtained by noni plant (*Morinda citrifolia* L.) on lettuce (*Lactuca sativa* L.) and amaranth (*Amaranthus* spp.) seed germination. Although noni has been widely used for its medicinal and industrial properties, there is a lack of information related to its phytotoxic and allelopathic activity. In these extracts were founded the presence of flavonoids, alkaloids, volatile compounds, and terpenes which were qualitatively identified by thin layer chromatography. The extracts that caused the greatest inhibition of germination in lettuce seeds were ethyl acetate (2 and 3%) and hexane (1, 2 and 3%), both obtained from the fruit. The same phytotoxic effect was present in amaranth seeds with ethyl acetate and hexane extracts even with the lowest concentrations (0.5, 1, 2 and 3 %). The lettuce and amaranth seeds that germinated under the methanolic extract developed abnormal seedlings (radicle and stems). In the evaluation of allelopathic activity, hexanic fruit extract caused 27 and 25 % germination in lettuce and amaranth seeds, respectively, affecting root and stem development. These results suggest that noni extracts could offer significant potential as components of bioherbicides.

Keywords: Bioherbicides, inhibition, secondary metabolites, abnormal seedlings, terpenes

Thesis in Agricultural Biotechnology Sciences, Universidad Autónoma Chapingo

Author: Carlos Gilberto Hernández Castro

Advisor: Dra. María del Rosario García Mateos

1. INTRODUCCIÓN

El aumento de la población a nivel mundial ha traído grandes retos para la agricultura debido a la alta demanda de alimentos, donde además los sistemas de producción agrícola tradicionales presentan una gran problemática ante diferentes factores como plagas, enfermedades, cambios climáticos, entre otros (Thrall et al., 2011).

Entre 1940 y 1970, la revolución verde tuvo un mejor control sobre estos factores a través del uso de maquinaria, innovación en sistemas de riego, fertilizantes químicos, pesticidas y herbicidas sintéticos (Thrall et al., 2011; McCullough et al., 2016). Estos últimos se utilizan para eliminar las malezas o hierbas no deseadas, las cuales limitan la producción agrícola, ya que compiten con los cultivos por espacio, luz, agua y nutrientes e incluso pueden ser hospederos tanto de plagas como enfermedades (Menalled, 2010; Nichols et al., 2015).

En algunos casos, las pérdidas en la producción agrícola a causa de la presencia de las malezas pueden ser de 15 %, pero en condiciones desfavorables o si no se toman medidas adecuadas para su control, las pérdidas pueden llegar a alcanzar más de 76 % (Gharde et al., 2018). Los herbicidas sintéticos son eficaces y accesibles a todo el mundo, ya que suelen ser baratos, eliminan las malezas en corto tiempo y reducen los costos de mano de obra (Singh et al., 2020). Sin embargo, al existir algunos cultivos como el maíz y la soya resistentes a herbicidas como el glifosato, provocan la dependencia de estos productos aumentando el uso y las dosis de aplicación sin tomar en cuenta las consecuencias que podrían traer (Landrigan et al., 2015).

Varios estudios epidemiológicos han sugerido una posible asociación entre los efectos de los herbicidas con la salud humana en el desarrollo de enfermedades como hepatitis, discapacidad mental, daño en órganos, varios tipos de cáncer, incluso se ha detectado la presencia de ingredientes activos de los herbicidas en la orina, sangre y leche materna (Guzmán-Plazola et al., 2016; Peillex et al., 2020), por lo que se ha buscado disminuir su uso con estrategias alternativas como la

rotación de cultivos, uso de coberturas, labranza competitiva, agentes de control biológico y bioherbicidas (Hasan et al., 2021).

En la actualidad, se busca encontrar compuestos amigables con el medio ambiente para la producción de alimentos en la agricultura, principalmente para el control de malezas, por lo tanto, la producción de bioherbicidas a partir de la extracción de aleloquímicos de materiales vegetales podría ser útil (Scavo et al., 2020). Las sustancias aleloquímicas son producidas a partir del metabolismo secundario y reciben el nombre de productos naturales o metabolitos secundarios (MS), compuestos producidos en pequeñas cantidades y en lugares específicos de cada planta. Una de las principales funciones que se les atribuye a estos compuestos es la defensa contra plagas, enfermedades e incluso contra otras especies vegetales (Kaab et al., 2020). La separación e identificación de los extractos de estos MS se puede realizar mediante cromatografía en capa fina, al ser una técnica analítica, rápida y sencilla, que consiste en la separación de los componentes de una muestra debido a su migración diferencial a través de una capa delgada de adsorbente, sostenido por una superficie plana e inerte (Coşkun, 2016; Vallejo-Rosero et al., 2021).

El uso de extractos ha ganado importancia en los últimos tiempos debido a sus características más sostenibles y amigables con el medio ambiente. Algunos de los efectos que causan los MS como sustancias fitotóxicas es el retraso del desarrollo fisiológico, deformación en algunos órganos, clorosis y necrosis en plántulas, mientras que en semillas inhiben la germinación (Aung et al., 2019). Estas características pueden deberse a la presencia de diversos grupos de MS como los esteroides, compuestos fenólicos, flavonoides, cumarinas, quinonas, taninos, terpenos y alcaloides (Aung et al., 2019). Al identificar plantas con propiedades herbicidas, es posible que se logre un control más específico sobre ciertas especies de malezas sin afectar negativamente a los cultivos deseados o al medio ambiente circundante. Se han estudiado las propiedades fitotóxicas y alelopáticas de diversas especies vegetales (Alonso-Sánchez et al., 2020; García-Mateos et al., 2013; Amira et al., 2020) estudios en los que no se ha incluido el noni.

El noni (*Morinda citrifolia* L.) es una planta utilizada dentro de la farmacología, industria y agronomía por sus propiedades antifúngicas (Susilawati et al., 2023), antibacterianas (Royani et al., 2023) e insecticidas (Dias et al., 2023). Se han identificado y aislado al menos 200 tipos de MS de la raíz, tallo, hojas, frutos, así como del jugo de fruto (Abou-Assi et al., 2017). Sin embargo, al existir poca información sobre su actividad fitotóxica o alelopática, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar los efectos fitotóxicos y alelopáticos de extractos de diferente polaridad de semillas, de fruto y de las hojas en semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) y de amaranto (*Amaranthus* spp.).

2. PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA

El uso indiscriminado de herbicidas sintéticos puede llegar a ser tóxico para una amplia gama de organismos, incluidos insectos, aves, mamíferos y animales acuáticos, debido a que, la exposición directa o indirecta a estos productos puede resultar en la muerte de especies no objetivo y en la reducción de la biodiversidad en los ecosistemas agrícolas y su entorno (Alza-Camacho et al., 2016). Además, esto pueden generar resistencia, es decir, se vuelven menos susceptibles a los herbicidas sintéticos, lo que puede resultar en la necesidad de utilizar dosis más altas o productos químicos más potentes, lo que agrava aún más los problemas ambientales y crear un ciclo de dependencia continua a los herbicidas (Menalled, 2010).

Por ello, es necesario valorar el efecto de extractos de plantas que puedan contribuir significativamente a la promoción de prácticas agrícolas más sostenibles y al manejo integrado de plagas como es el caso de malezas, que permitan disminuir la dependencia de los herbicidas sintéticos y sus impactos negativos asociados en el medio ambiente y la salud humana.

3. JUSTIFICACIÓN

La fitotoxicidad y la actividad alelopática de extractos de plantas son aspectos importantes para considerar al evaluar su potencial como bioherbicidas. Algunos compuestos bioactivos aislados de plantas como potenciales bioherbicidas incluyen

a los alcaloides, terpenos, compuestos fenólicos y ácidos orgánicos. Estos metabolitos pueden tener una diversidad de mecanismos de acción herbicida y ser utilizados como alternativas sostenibles a los herbicidas sintéticos en la agricultura, los cuales pueden persistir en los alimentos y ser consumidos por las personas, lo que ha planteado preocupaciones sobre la exposición a largo plazo y los posibles efectos en la salud humana.

Sin embargo, es importante llevar a cabo investigaciones adicionales para evaluar su eficacia, seguridad y viabilidad en diferentes sistemas agrícolas. Además, es esencial identificar y caracterizar los metabolitos responsables de la actividad fitotóxica y alelopática de estos extractos, ya que esto puede proporcionar información sobre los mecanismos de acción y ayudar en la optimización de las formulaciones de bioherbicidas.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Herbicidas sintéticos

Los herbicidas son productos químicos creados para controlar las malezas en los cultivos agrícolas y otras áreas. Han sido una herramienta importante en la agricultura moderna para controlar las malezas de manera rápida y eficiente, en comparación con métodos mecánicos como la labranza, que puede ser más costoso en términos de tiempo, mano de obra y equipos necesarios (Rani et al., 2020). Estos productos se pueden agrupar por la época de aplicación, sustancia química, familia, modo de acción o tipo de vegetación controlada, lo que facilita la selección y el uso adecuado de estos en diferentes contextos agrícolas, de jardinería e industriales (Das et al., 2014; Torrens et al., 2014).

De los herbicidas aplicados al suelo se encuentran los de incorporación pre-planta, que se aplican al suelo antes de la siembra y de manera mecánica; los herbicidas pre-emergentes se incorporan al suelo antes de que emerja el cultivo, y fueron diseñados para evitar la germinación o el crecimiento temprano de las semillas de malezas, lo que permite un control efectivo en las etapas iniciales de crecimiento al ser absorbidos por las raíces o hipocótilos de las malezas emergentes; finalmente,

los herbicidas post-emergentes se aplican una vez que el cultivo ha emergido y de manera directa sobre las malezas o al suelo, para posteriormente ser absorbidos por las hojas (Das et al., 2014). Por otra parte, los herbicidas de contacto actúan al destruir únicamente el tejido vegetal en contacto directo con el producto, por lo que son efectivos para el control de malezas de crecimiento rápido, mientras que los herbicidas sistémicos se trasladan a través de la planta, ya sea desde la aplicación foliar hasta las raíces, o desde la aplicación al suelo hasta las hojas, lo que les permite controlar eficazmente las malezas perennes y pueden tener una acción más lenta, pero más completa que los herbicidas de contacto (Das et al., 2014).

4.2 Bioherbicidas

Los bioherbicidas son productos que eliminan las malezas sin causar daños sobre el medio ambiente por medio de productos naturales (metabolitos secundarios) que generan seres vivos (bacterias, hongos, virus, nematodos y plantas) durante su desarrollo (Soltys et al., 2013).

La ventaja principal de los bioherbicidas es que tienen un impacto ambiental menor al de los herbicidas sintéticos, debido a que se diseñan con ingredientes naturales y no tóxicos; además, éstos pueden ser parte de un enfoque de manejo integrado de malezas, que combina diferentes métodos para lograr un control efectivo y sostenible debido al funcionamiento que tienen. Se les considera como un tipo de control biológico inundativo (Hasan et al., 2021) y se utilizan del mismo modo que los sintéticos y es decir en diferentes formas según el producto, a través de la pulverización foliar, aplicación al suelo o en forma de gránulos (Bailey, 2014).

4.3 Metabolitos secundarios

El metabolismo es un proceso fundamental en los seres vivos que implica reacciones químicas que ocurren dentro de las células para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples o para degradarlas (Ávalos-García et al., 2009).

Este se divide en metabolismo primario y secundario; el primero abarca una serie de procesos bioquímicos cruciales que sustentan la vida celular y el desarrollo

vegetal que son fundamentales para la producción de energía, el mantenimiento del equilibrio interno de las plantas y la síntesis de compuestos esenciales conocidos como metabolitos primarios (Taiz et al., 2006; Ávalos-García et al., 2009). Por otra parte el metabolismo secundario es responsable de la producción de una amplia variedad de moléculas orgánicas especializadas, como alcaloides, terpenos, compuestos fenólicos, glucosinolatos, entre otros, y se les denominan metabolitos secundarios porque sus precursores son algunos metabolitos primarios; dentro de sus funciones en la planta está la defensa contra herbívoros y patógenos, la atracción de polinizadores, la protección contra el estrés ambiental, así como la regulación del crecimiento y el desarrollo (Taiz et al., 2006; Ávalos-García et al., 2009; López-Valdez et al., 2021).

4.4 Fitotoxicidad

Algunos metabolitos secundarios producidos por las plantas tienen propiedades fitotóxicas que inhiben el crecimiento y desarrollo de otras especies vegetales (Ronco-Campaña, 2018). Es importante destacar que la presencia de metabolitos secundarios fitotóxicos en el ambiente puede influir en la composición y la diversidad de la vegetación, así como en la dinámica de las comunidades de plantas en diferentes hábitats, además, pueden tener potencial como bioherbicidas y ser objeto de investigación para el desarrollo de herbicidas más seguros y respetuosos con el medio ambiente (López-Valdez et al., 2021).

4.5 Alelopatía

La alelopatía es un fenómeno biológico en el cual un organismo produce y libera a través de diversas partes de la planta, uno o más metabolitos llamados aleloquímicos que afectan el crecimiento, la supervivencia y/o la reproducción de otros organismos (Chaïb et al., 2021).

Estos aleloquímicos pueden tener efectos tanto beneficiosos como perjudiciales sobre los organismos receptores, dependiendo de las circunstancias y las concentraciones en las que se encuentren; el término "alelopatía" fue introducido por el científico checoaustríaco Hans Molisch en 1937, mientras investigaba cómo

una planta afecta a otra. Alelopatía proviene del griego "allellos" que significa "mutuo" y "pathos" que significa "sufrimiento" o "afectado", esto refleja la naturaleza del fenómeno, donde un organismo afecta a otro mediante la liberación de compuestos químicos (Chaïb et al., 2021).

4.6 Noni (*Morinda citrifolia*)

El noni de la familia Rubiaceae está posicionada en la cuarta familia de plantas que poseen flor. Comprende alrededor de 650 géneros y *Morinda* incluye 80 especies. A continuación, se muestra la clasificación taxonómica del noni de acuerdo con Neyra (2006):

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Gentianales

Familia: Rubiaceae

Género: *Morinda*

Especie: *M. citrifolia* L.

Nombre común: Noni

El noni (*Morinda citrifolia* L.) tiene su origen en el sureste de Asia y se extiende hasta Australia; sin embargo, su distribución se ha expandido rápidamente a otras regiones del mundo, incluyendo Polinesia, India, Caribe, América Central, América del Sur y México (Ulloa et al., 2012). El noni se adapta a una variedad de hábitats principalmente en los bosques con cambios climáticos, zonas cercanas a la costa y pastizales (Nelson, 2006).



Figura 1. Planta adulta de noni ubicada en el Municipio de Izúcar de Matamoros, Puebla, México. Fuente: Elaboración propia.

4.7 Morfología de la planta

El noni se caracteriza por raíz pivotante con raíces secundarias, el tallo está compuesto por uno principal con ramas secundarias y puede alcanzar de 3 a 10 m de altura (Nelson, 2006). Presenta hojas grandes, entre 12 a 28 cm de largo y de 7 a 16 cm de ancho, tienen forma cuneiforme de color verde oscuro, con un peciolo alado de 12 a 20 mm de largo y 2 mm de diámetro, lo que les confiere cierta movilidad (Acosta, 2003). Las flores son blancas de forma tubular, cada flor presenta cinco lóbulos, que contiene de 4 a 6 estambres (Acosta, 2003).



Figura 2. Hojas, flores y formación del fruto de noni. Fuente: Elaboración propia.

Los frutos son de forma ovoide y en algunos casos deforme, con pequeños círculos en la parte exterior de la cáscara, el peso de estos puede variar entre 50 y 300 g, contiene aproximadamente 90 % de agua (Ulloa et al., 2012).



Figura 3. Fruto maduro de noni. Fuente: Elaboración propia.

El color de los frutos cuando están inmaduros es verde y luego se tornan a amarillo traslúcido a medida que maduran, además, el olor también vuelve más penetrante,

característico, a menudo se describe como fuerte y algo desagradable por algunas personas, las semillas tienen forma ovalada y un diámetro que oscila entre 0.4 y 0.8 cm (Acosta, 2003).

4.8 Usos del noni

El noni ha sido objeto de numerosas investigaciones debido a su potencial para proporcionar una amplia gama de beneficios para la salud, así como su utilidad en la industria y la agricultura. En el área de la salud tiene actividad inmunomoduladora, antitumoral, antidiabética, antimicrobiana, antiinflamatoria, antioxidante, neuroprotectora, analgésica y antinociceptiva, además promueve la cicatrización de heridas y lesiones cutáneas (Anantharaj et al., 2017; Barbosa et al., 2017).

Se han reportado propiedades insecticidas y larvicidas (Morales et al., 2010) por tener acción tóxica de su aceite esencial sobre larvas del mosquito *Aedes aegypti*, vector principal del dengue.

4.9 Compuestos químicos del noni

Los principales componentes del fruto incluyen sólidos solubles, fibras dietéticas y proteínas, así como metabolitos en frutos, raíces y hojas, tales como flavonoides, glucósidos, polisacáridos, iridoides, alcaloides, lignanos, triterpenoides, trisacáridos, ácidos grasos (ácido octanoico), antraquinonas, escopoletina, morindina, además de compuestos derivados de la benzofenona (moritrinfolinas A y B) (Anantharaj et al., 2017; Barbosa et al., 2017; Valencia et al., 2017).

4.10 Extracción por Soxhlet

El método de extracción sólido-líquido a través de equipos Soxhlet, es una técnica ampliamente utilizada para extraer o aislar compuestos de una muestra mediante disolventes, que permite una extracción eficiente y completa principalmente de los componentes lipídicos de la muestra, lo que minimiza su degradación y asegura una alta pureza del extracto final (López-Bastón et al., 2020).

El equipo Soxhlet consiste en un matraz, un condensador y un extractor; la muestra sólida se coloca en un cartucho de papel de filtro y se introduce en el matraz, el

disolvente se calienta y cuando llega a punto de ebullición, los vapores pasan a través de la muestra sólida, estos vapores se condensan y luego gotean de nuevo en el matraz, lo que permite una extracción continua del componente deseado, este ciclo se repite hasta que se ha extraído la cantidad deseada. (López-Bastón et al., 2020).

4.11 Efecto del disolvente en la extracción

El efecto del disolvente es un aspecto crucial en la extracción de metabolitos secundarios, ya que la selección de éste depende de varios factores, como la polaridad de los compuestos deseados, la naturaleza de la matriz de la muestra, de las propiedades físicas y químicas (polaridad) de los disolventes empleados, lo que afecta tanto al rendimiento cuantitativo como al cualitativo del proceso, así como del perfil químico de los componentes del extracto (Soto-García et al., 2016).

Algunos metabolitos secundarios son solubles en disolventes polares, como agua, alcoholes o acetona, mientras que otros son más solubles en disolventes no polares, como el hexano, tolueno o cloroformo, por ello, es importante seleccionar un disolvente que sea compatible con los metabolitos que se desean extraer (Azmir et al., 2013).

4.12 Identificación de MS por cromatografía en capa fina

El análisis de los extractos de metabolitos secundarios mediante cromatografía en capa fina es utilizada por su simplicidad y rapidez, la cual permite la separación y la identificación de los diferentes componentes, brindando información sobre su composición química y su potencial aplicativo en múltiples áreas de la industria y campos de investigación (Coşkun, 2016; Vallejo-Rosero et al., 2021), lo que ha permitido la identificación principalmente cualitativa metabolitos en plantas, como flavonoides, terpenos, alcaloides y entre otros.

4.13 Bioensayos de fitotoxicidad

Un bioensayo de toxicidad es una técnica utilizada para evaluar los efectos de una sustancia en organismos vivos, los fitotóxicos específicamente en plantas, son

importantes para determinar la toxicidad de sustancias químicas en el medio ambiente y en la agricultura, los cuales pueden ayudar a identificar compuestos fitotóxicos y genotóxicos (Florez-Jalixto et al., 2020).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Material vegetal

El material vegetal (semillas, fruto y hojas) se obtuvo de tres plantas adultas de noni (*Morinda citrifolia* L.) distribuidas aleatoriamente en el municipio de Izúcar de Matamoros, Puebla, México (18°32'51.4" N, 98°27'23.18" W, altitud de 1346 m, en el mes de febrero de 2023; la temperatura media anual es de 22.7 °C y el promedio de lluvia anual es de 891.3 mm con un clima cálido subhúmedo (INEGI, 2021).

El noni presenta cinco etapas de maduración (Pérez-López et al., 2020) que se caracterizan por la evolución del color y la firmeza; la Etapa 3 presenta un color externo amarillo pálido y muy firme, la Etapa 4 los frutos tienen la misma coloración, pero comienzan a perder un poco de firmeza y en la Etapa 5 la coloración es grisácea translúcida y la pulpa muy blanda. Para el presente estudio, se cosecharon aleatoriamente frutos en la Etapa 5 para utilizar únicamente las semillas, los frutos se recolectaron en la Etapa 2 con una coloración aún verde libres de plagas y enfermedades. El material se trasladó al Laboratorio de Fitoquímica del Departamento de Fitotecnia en la Universidad Autónoma Chapingo en un equipo de refrigeración portátil. Las hojas también libres de plagas y enfermedades aproximadamente del mismo tamaño se secaron a temperatura ambiente, previamente limpias y libres de impurezas y polvo.

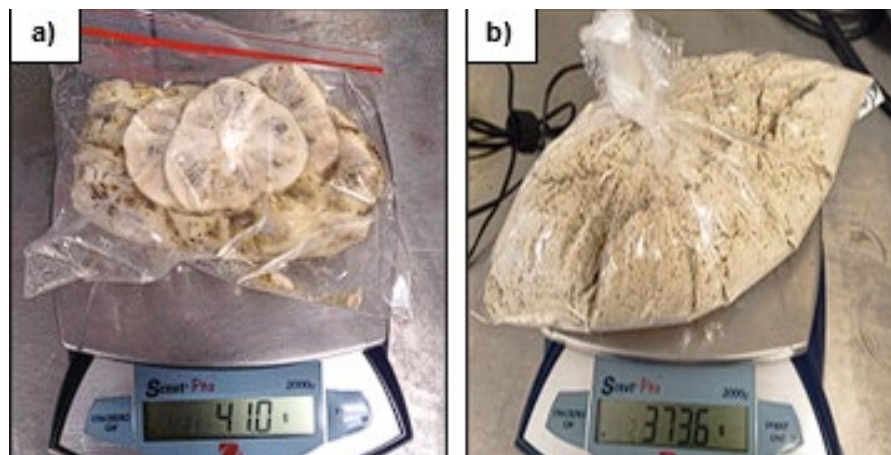


Figura 4. a) Rodajas de frutos de noni liofilizados. b) Muestra molida de semillas de noni.

5.2 Obtención de extractos

Previo a su molienda, las hojas y semillas se colocaron en una estufa de convección de aire seco (ED023UL-120V, BINDER WORLD® USA) a 45 °C por 5 h., mientras que los frutos se trabajaron hasta que alcanzaron la Etapa de Maduración 4, los cuales se seccionaron en rodajas y después se liofilizaron (FreeZone 18 Liter -50C Console Freeze Dryer 7755040, Labconco™ USA), para finalmente ser molidos. La extracción de los tres tejidos (semillas, hoja y fruto) se realizó separadamente, con tres disolventes elegidos de menor a mayor polaridad (hexano, acetato de etilo y metanol) en un equipo Soxhlet por 48 h.

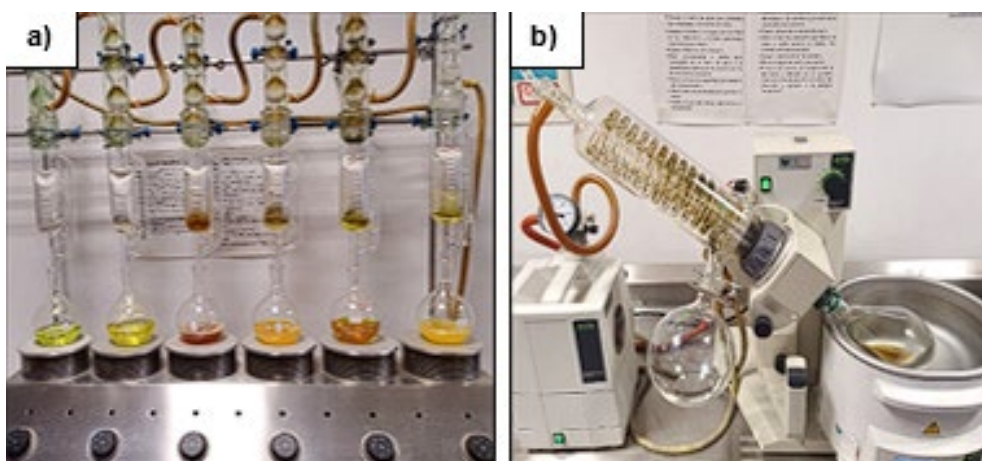


Figura 5. a) Extracción de metabolitos secundarios por Soxhlet. b) Separación del disolvente de un extracto en un rotaevaporador.

Posteriormente, se eliminó el disolvente de cada extracto por medio de un rotaevaporador (Rotavapor R-210, Büchi®, Suiza) para obtener los extractos en crudo y cada uno se almacenó en frascos a -20 ± 2 °C, hasta su análisis.

5.3 Identificación por cromatografía en capa fina

Una vez que se obtuvieron los extractos se realizó por cromatografía en capa fina la identificación cualitativa de aceites esenciales, terpenoides, flavonoides, y alcaloides. Con un capilar se aplicó la muestra sobre una placa de sílica gel 60 F₂₅₄ (10 x 5 cm) (Merck). Una vez que la cámara se saturó con la mezcla de eluyentes, se introdujo la placa en la cámara de elución para separar los componentes de la mezcla. Se retiró la placa después que el disolvente llegó a 1 cm de distancia del borde superior de la misma, se sacó y se analizó de acuerdo con la metodología de identificación cada tipo de metabolito secundario.

5.3.3 Identificación de volátiles

Para la identificación de aceites volátiles se empleó el método descrito por Harborne (1998). El eluyente empleado fue una mezcla de tolueno: acetato de etilo en una proporción 93:7, respectivamente. La placa se reveló con una mezcla de vainillina a 1 % en etanol (v/v), se dejó secar y posteriormente se asperjó con una solución etanólica de H₂SO₄ a 10 % (v/v); por último, se colocó en una estufa a 110 °C durante 5 min para su observación a simple vista.

5.3.4 Identificación de terpenos

Para la identificación de terpenos se utilizó como eluyente tolueno: acetato de etilo en una proporción 85:15. Se asperjó la placa con el reactivo de Liebermann–Burchard y se colocó sobre el calentador y agitador (Thermolyne Cimarec 2 SP46925, CSA® USA) a 100 °C durante 5 min; se expuso la placa a la luz ultravioleta a una longitud de 254 nm para su observación.

5.3.1 Identificación de flavonoides

Para la identificación de flavonoides se empleó el método descrito por Wagner et al. (1996). Se utilizó como eluyente BAW (butanol: ácido acético: agua en una proporción 4:1:5). Después de que el disolvente llegó a 1 cm antes del borde de la

placa se asperjó con el reactivo NP (difenilboriloxietilamina) a 0.3 % en metanol, y posteriormente con PEG (polietilenglicol) 4000 a 5 % p/v en metanol para acentuar la coloración de las manchas. Finalmente, se expuso la placa a la luz ultravioleta a una longitud de 365 nm para observar las diferentes coloraciones.

5.3.2 Identificación de alcaloides

Para la identificación de alcaloides se siguió la metodología descrita por Wagner et al. (1996). Se empleó como eluyente la mezcla metanol:diclorometano en una proporción de 8:2. Luego de que el disolvente llegara a 1cm antes del borde de la placa se asperjó con el reactivo de Dragendorff, previamente preparado; finalmente, se colocó la placa en una parrilla eléctrica. La aparición de manchas de color marrón indicó la presencia de alcaloides.

5.4 Evaluación de la actividad fitotóxica

La evaluación fitotóxica de cada extracto se realizó en semillas de dos especies de dicotiledóneas: lechuga (*Lactuca sativa* L.) y amaranto (*Amaranthus* spp. L.). Las semillas de lechuga fueron compradas en Agro Montemarv y las semillas de amaranto fueron donadas por la Universidad Autónoma Chapingo. Previo al bioensayo se realizaron pruebas de viabilidad y germinación; se utilizaron 5 cajas de Petri con 25 semillas dispuestas sobre el papel filtro; se regaron con agua esterilizada; después de 5 horas se aplicó tetrazolio a 0.1 %, reportándose al final de la prueba 99 % de viabilidad. Para germinación estándar se utilizaron cajas de Petri de vidrio con papel filtro Whatman N°1; se colocaron 25 semillas de lechuga y 25 semillas de amaranto por caja, por separado con tres repeticiones. Se evaluaron tres disolventes para la extracción de metabolitos secundarios (metanol, acetato de etilo y hexano), con tres tejidos vegetales del noni (semillas, fruto y hojas) a cuatro concentraciones (0.5, 1, 2 y 3 % p/v) disueltos en agua + Tween 20 (0.1 %). Luego se asperjaron con 2.5 mL de cada extracto de acuerdo con los tratamientos evaluados. Éstas se llevaron a una cámara de germinación a temperatura controlada de 20 °C durante 7 d. Las variables evaluadas fueron las siguientes:

Porcentaje de germinación (% G): se contabilizó en porcentaje el número de plántulas normales, considerando aquellas con todas sus estructuras esenciales.

Plántulas anormales (PA). se contabilizó en porcentaje el número de plántulas anormales, considerando aquellas con falta de alguna de sus estructuras esenciales o bien malformaciones.

Longitud de raíz (LR): Se midió en centímetros desde la punta de la raíz hasta la base del cuello del tallo.

Longitud de tallo (LT): Se midió en centímetros desde el cuello del tallo hasta la punta de la plúmula.

5.5 Evaluación de la actividad alelopática

Se realizó el bioensayo para la evaluación de la actividad alelopática con el extracto que mostró mayor efecto fitotóxico (extracto hexánico de fruto). Como unidad experimental se utilizaron contenedores de plástico (altura: 7.6, largo: 14.5 y ancho: 13.3 cm) con 175 g de suelo húmedo a capacidad de campo con 25 semillas de cada especie (lechuga y amaranto), por separado con tres repeticiones por tratamiento.

Se adicionaron 5 mL del extracto a diferentes concentraciones (0.5, 1, 2 % p/v), más dos testigos uno negativo (agua destilada + Tween 20 a 0.1 % p/v) y el otro positivo un herbicida sintético (ácido 2,4-diclorofenoxiacético 1 % p/v). Posteriormente se colocaron en una cámara de germinación a 25 °C durante 7 d. Se evaluó el porcentaje de germinación (% G), longitud de raíz (LR) y longitud de tallo (LT) a los 7 d después de la siembra, todos los días se realizó una revisión para mantener las semillas con las condiciones ideales dentro de la cámara de germinación, a 25 °C y 85 % de humedad relativa.

5.6 Análisis estadístico

Los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) bajo un diseño experimental completamente al azar por disolventes y una comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$) mediante el software estadístico SAS versión 9.2. Se reportaron los datos como la media de tres repeticiones para ambos bioensayos.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Identificación por cromatografía en capa fina de metabolitos secundarios

Se llevó a cabo un análisis cualitativo de los grupos de metabolitos secundarios presentes en los ocho extractos realizados mediante cromatografía en capa fina (Cuadro 1).

Cuadro 1. Identificación de metabolitos secundarios por cromatografía en capa fina de los extractos de noni con diferentes disolventes y tejidos vegetales.

Disolvente	Tejido vegetal	Flavonoides	Alcaloides	Volátiles	Terpenos
Metanol	Semillas	+	-	~	~
	Fruto	+	+	~	~
	Hojas	+ ⁴	-	~	~
Acetato de etilo	Fruto	+ ²	~	+	+
	Hojas	+ ¹	~	+	+
	Semillas	~	~	+	+
Hexano.0	Fruto	~	~	+ ³	+ ³
	Hojas	~	~	+	+

* ~: no identificados, (+): identificación positiva, (-): identificación negativa. Castillo-Mompié et al. (2014)¹, Sánchez-Varela & Rodríguez-Luna, (2018)², Pino et al. (2010)³, Trieu-Ly et al. (2020)⁴.

En el estudio realizado por Castillo-Mompié et al. (2014) detectó mediante cromatografía en capa fina la presencia de quinonas, cumarinas y flavonoides en extractos hexánico y de acetato de etilo obtenidos de hojas, además de cumarinas y flavonoides en el extracto de semillas con los mismos disolventes.

Por otra parte, Trieu-Ly et al. (2020) detectó en extractos etanólicos de hojas de noni la presencia de flavonoides, alcaloides, taninos, triterpenos, saponinas, cumarinas, antraquinonas y carotenoides, mientras que Sánchez-Varela et al. (2018) identificó por cromatografía en capa fina en extractos de fruto de noni antraquinonas, flavonoides, compuestos fenólicos, esteroides y alcaloides.

Susilawati et al. (2023) identificó mediante cromatografía de gases-masas (GC-MS) 32 metabolitos del extracto de fruto del noni entre los que destacan el ácido 2-

fluorobenzoico y el eucaliptol en cloroformo; asimismo en acetato de etilo se detectó eucaliptol, el ácido 2-cloroanilina-5-sulfónico, hexadecametil octasiloxano en 2-propanol y tetrapropil estanano en metanol (Susilawati et al., 2023). Estos hallazgos subrayan la diversidad de metabolitos presentes en los extractos de noni de diversa polaridad y permiten comprender mejor el potencial de esta planta con propiedades medicinales y atributos en la alimentación, la industria y la agricultura.

6.2 Evaluación de actividad fitotóxica

Se observó actividad fitotóxica de los extractos sobre germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) y amaranto (*Amaranthus* spp. L.); siendo este último más sensible a los daños provocados por los extractos (Figuras 6, 7 y 8).

La sensibilidad de la germinación en algunas semillas por la presencia de fitotóxicos ha sido objeto de investigación. Se ha observado que esta sensibilidad puede depender de algunos factores como la concentración del extracto, el tiempo de exposición, así como el perfil de metabolitos presentes en la muestra (Huerta-Muñoz et al., 2015; Urriola et al., 2022).

Los extractos metanólicos de semillas y fruto produjeron los menores porcentajes de germinación en semillas de lechuga con 68 y 70.67 %, respectivamente (Figura 6a), mientras que, en el bioensayo de amaranto, se encontraron diferencias significativas entre los extractos de semillas, fruto y hojas a partir de 2 % de concentración, lo que implica que los productos obtenidos de semillas y fruto son más agresivos, ya que inhibieron la germinación en su totalidad (Figura 6b).

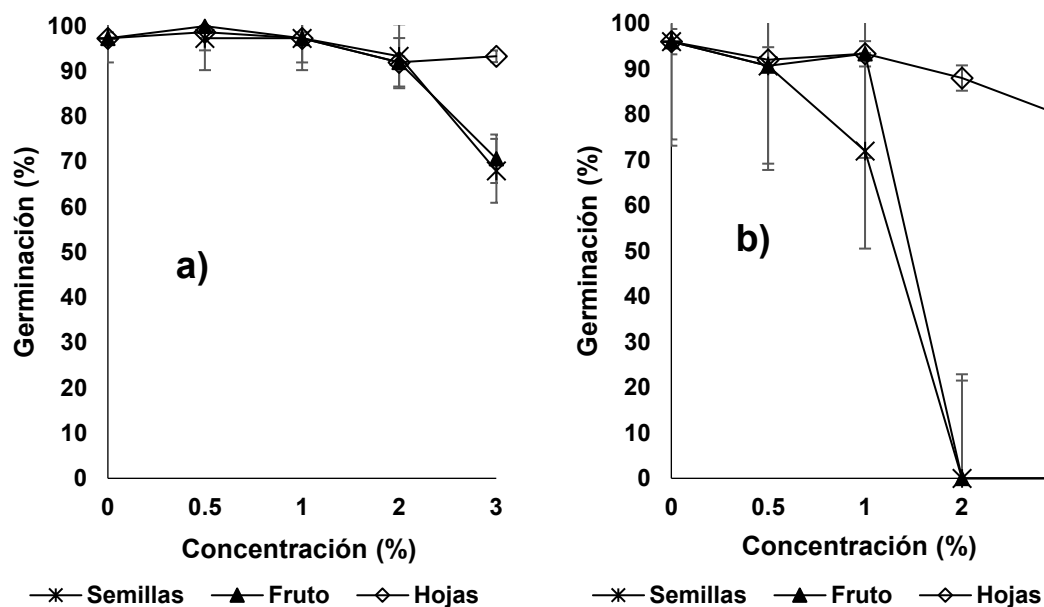


Figura 6. Efecto de extractos metanólicos de semillas, fruto y hojas de noni en el porcentaje de germinación de semillas de lechuga (a) y amaranto (b).

Con los extractos de acetato de etilo obtenidos del fruto se observó una disminución gradual del porcentaje de germinación en semillas de lechuga conforme aumentó la concentración; sin embargo, el extracto de hoja mostró el efecto negativo a partir de 2 % de concentración (Figura 7a). Un comportamiento similar al de lechuga se observó en los extractos de semillas y fruto en semillas de amaranto, no obstante, cabe destacar que el extracto de fruto fue más agresivo en esta especie debido a que a partir de la concentración más pequeña no se observó germinación (Figura 7b).

Los extractos hexánicos derivados del fruto fueron los únicos que inhibieron la germinación en semillas de lechuga desde el 0.5 % de concentración (Figura 8a), mientras que en amaranto se presentó la misma tendencia; no obstante, el extracto de semillas al 0.5 % abatió en casi 30 % la germinación en este cereal (Figura 8b).

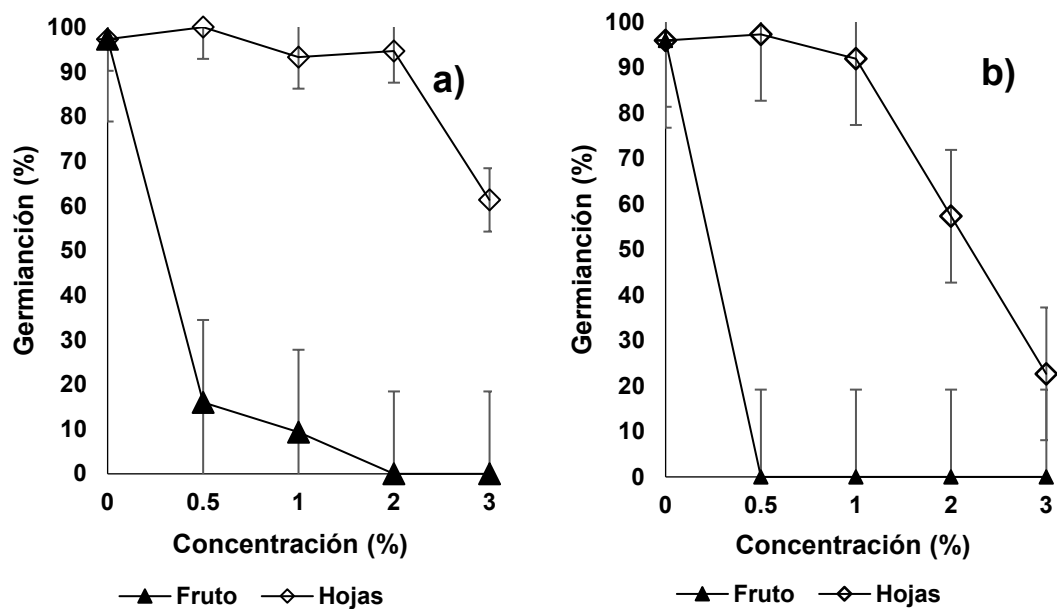


Figura 7. Efecto de extractos de acetato de etilo de fruto y hojas de noni en la germinación de semillas de lechuga (a) y amaranto (b).

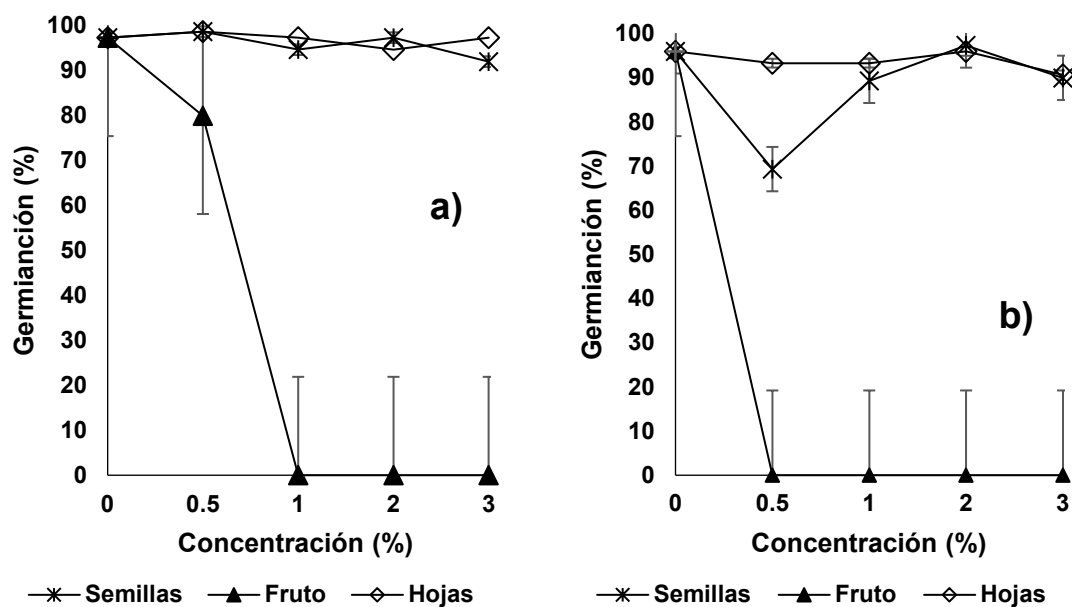


Figura 8. Efecto de extractos hexánicos de semillas, fruto y hojas de noni en la germinación de semillas de lechuga (a) y amaranto (b).

En este contexto los extractos de acetato de etilo y hexánico derivados del fruto presentaron el mayor efecto fitotóxico en la germinación de ambas especies, lo que se puede deber al perfil de metabolitos que contiene cada uno de los extractos de acuerdo con la polaridad del disolvente utilizado. El extracto de acetato de etilo contiene metabolitos como flavonoides, volátiles y terpenos, mientras que en el hexánico se identificaron aceites volátiles y terpenos (Cuadro 1). De acuerdo con Susilawati et al. (2023) el extracto de fruto contiene flavonoides, taninos y fitoesteroides, aseveraciones que coinciden con los grupos de metabolitos identificados en la presente investigación.

A pesar de que no existen estudios de referencia sobre las propiedades fitotóxicas y alelopáticas del noni, se han señalado numerosas investigaciones en diversas especies en donde se han identificado grupos de metabolitos con propiedades fitotóxicas y alelopáticas. Rial et al. (2018) evaluó la actividad fitotóxica en un bioensayo de coleóptilo de trigo y detectó compuestos como el estigmasterol, bergapten y α -tomatina aislados de raíces de tomate, donde a pesar de que la α -tomatina fue más activa que el estigmasterol, no se descartó el efecto fitotóxico que puede provocar este producto en otras especies.

En otro experimento Mahfuzur-Rob et al. (2020) evaluó el potencial fitotóxico de hojas y ramas de *Schumannianthus dichotomus* en lechuga (*Lactuca sativa* L.), canola (*Brassica napus* L.), cola de ratón (*Vulpia myuros* L.) y fleo de los prados (*Phleum pratense* L.), donde se reportó la actividad fitotóxica por la presencia de los ácidos 8-carboxilinalool y octanoico, este último responsable del mayor efecto fitotóxico y que puede encontrarse también en frutos del noni (Abou-Assi et al., 2015). El ácido octanoico, también conocido como ácido caprílico, es un derivado de butanólido, previamente reportado como un producto de oxidación del ácido linoleico generado por la oxidación y degradación de lípidos (Mahfuzur-Rob et al., 2020), por lo que su presencia en extractos del fruto podría deberse a su afinidad con disolventes no polares.

De acuerdo con Suarez-Medina et al. (2016) la síntesis de metabolitos secundarios depende de varios factores, principalmente a daños provocados por estrés biótico

debido a la presencia de microorganismos, insectos o herbívoros, así como al estrés abiótico relacionado con las altas temperaturas, sequia o exceso de lluvias, como inclusive a la alta radiación solar.

Por razones obvias, la longitud de raíz y de tallo, así como el número de plántulas anormales se evaluó exclusivamente en los tratamientos donde se registró germinación. Los extractos metanólicos de semillas, fruto y hojas de noni afectaron negativamente la longitud de raíz de lechuga a medida que fue mayor la concentración en los tratamientos, particularmente en los derivados de semillas y fruto, los cuales ocasionaron disminución desde la menor concentración (Figura 9a). Situación similar se presentó en amaranto, una aparente estimulación de las primeras dos concentraciones en comparación al testigo (Figura 9b).

El extracto de acetato de etilo de fruto afectó drásticamente la longitud de la raíz de las plántulas en lechuga (Figura 10a) y amaranto (Figura 10b) a medida que se incrementó la concentración, y no obstante que el obtenido de hojas presentó la misma tendencia, el efecto no fue tan grave particularmente en las concentraciones 0.5 y 1.0 %, que reportaron resultados estadísticamente iguales al testigo.

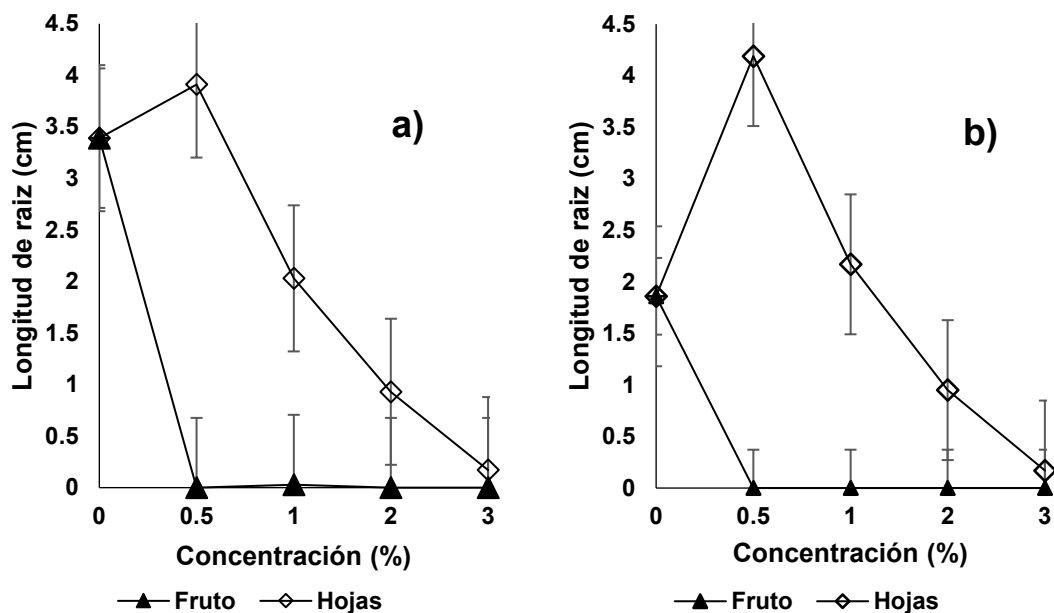


Figura 9. Efecto de extractos de acetato de etilo sobre la longitud de raíz de plántulas de lechuga (a) y amaranto (b).

El extracto hexánico de semillas y hojas no afectaron significativamente el proceso de germinación de lechuga y amaranto a pesar de que a 0.5 % de concentración, en ambas especies el porcentaje se abatió 30 % con respecto al testigo positivo (Figura 8). Sin embargo, el hexánico obtenido del fruto redujo la germinación de los dos cultivos, particularmente a partir de 1 % de concentración. Resultados similares se muestran en la longitud de raíz debido a que el extracto de fruto influyó negativamente en el crecimiento de dicha estructura desde la dosis más baja (Figura 11), al mismo tiempo que los valores alcanzados con extractos de semillas y hojas si bien también afectaron negativamente la longitud a medida que se incrementó la concentración, dicho abatimiento fue alrededor de 50 % del registrado en el testigo.

De manera general el incremento en las concentraciones de extracto hexánico afectan negativamente la longitud de raíz en ambas especies (Figura 11), particularmente el obtenido de fruto, siendo un poco más susceptible el amaranto; no obstante, cabe mencionar que en éste último, los resultados de las primeras dos

concentraciones de semillas y hojas son superiores a los del testigo positivo, que pudiese ser el resultado de una estimulación por efecto del extracto (Figura 11b).

A pesar de que en todos los casos se presentaron raíces, esto no asegura que la planta se desarrolle de forma correcta, ya que en muchos casos las raíces presentaron una longitud mínima, partes necrosadas y el vigor fue poco favorable, lo que probablemente no permitiría el crecimiento y desarrollo óptimo de la planta, iniciando con un anclaje inadecuado y mala absorción de nutrientes del suelo.

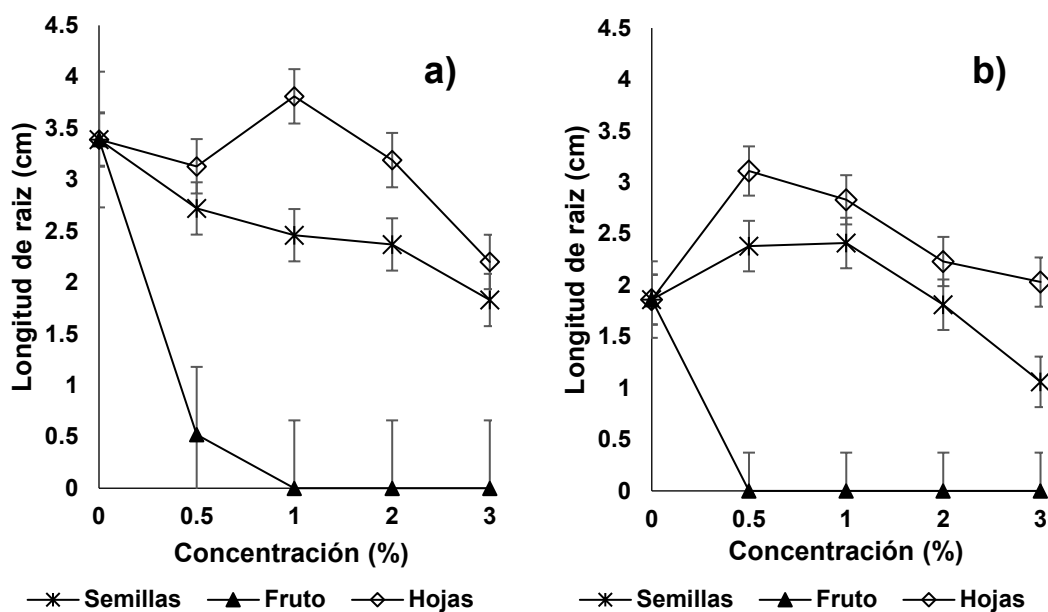


Figura 10. Efecto de extractos hexánicos de semillas, fruto y hojas de noni sobre la longitud de raíz de plántulas de lechuga (a) y amaranto (b).



Figura 11. Semillas germinadas de lechuga con raíz anormal por el extracto hexánico de semilla a una concentración de 3 %.

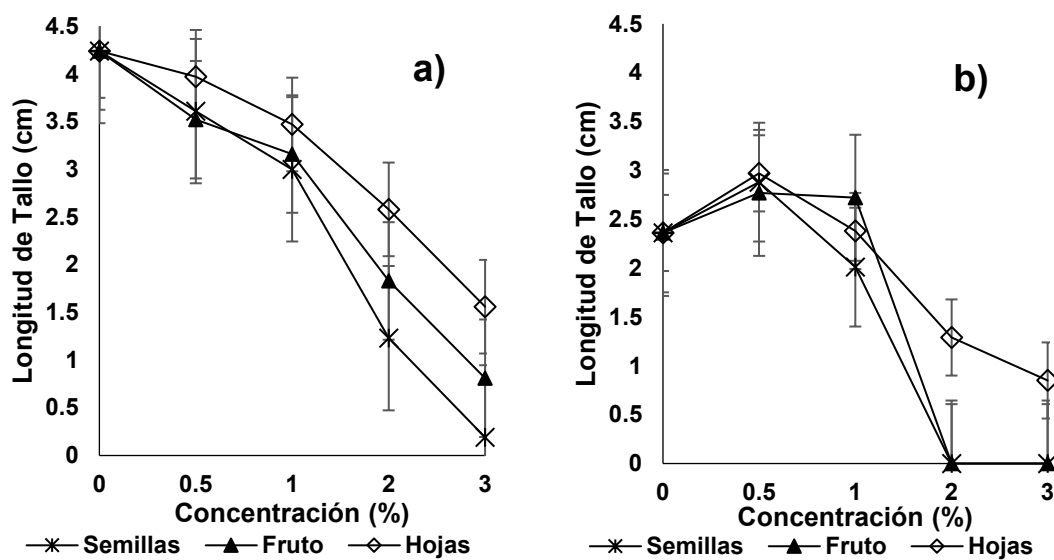


Figura 12. Efecto de extractos metanólicos de semillas, fruto y hojas de noni sobre la longitud del tallo de plántulas de lechuga (a) y amaranto (b).

Cabe destacar que los extractos metanólicos de fruto y hojas al 0.5 y 1 % tuvieron valores estadísticamente iguales al testigo, siendo más marcado este resultado en las plántulas de amaranto.

La aplicación del acetato de etilo derivado de fruto y hojas promovió un abatimiento de la longitud de tallo en plántulas de lechuga y amaranto, a partir concentraciones del 1 y 2 %, respectivamente, para el obtenido de hojas y desde el 0.5 % para el generado de fruto (Figura 14), argumento que permite concluir que este último puede ser una buena alternativa para el control de malezas.

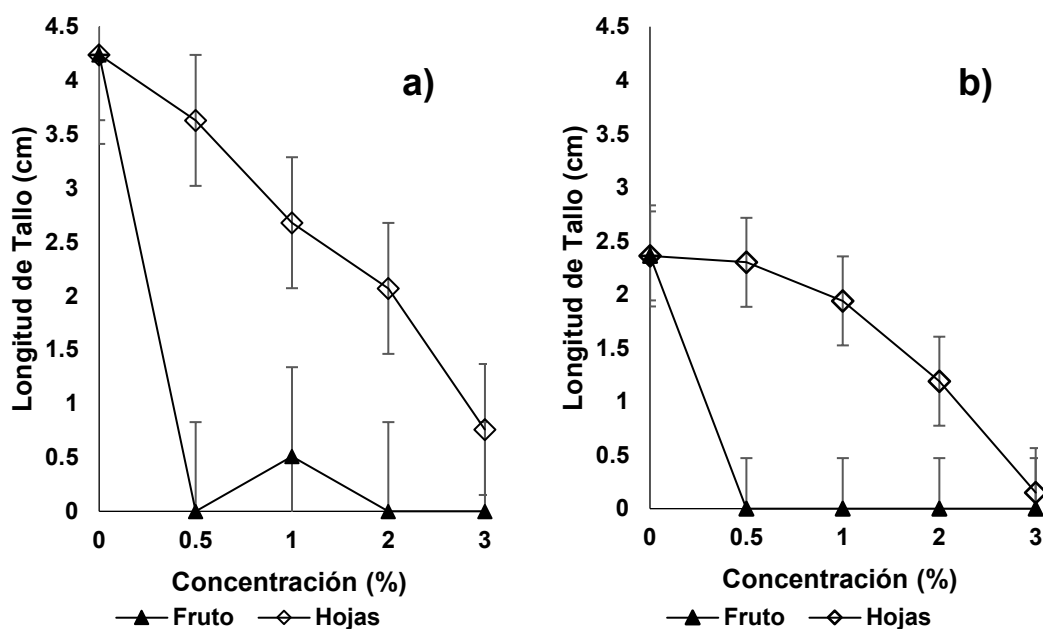


Figura 13. Efecto de extractos de acetato de etilo de fruto y hojas de noni sobre la longitud del tallo de plántulas de lechuga (a) y amaranto (b).

Los extractos hexánicos de semillas y hoja influyeron negativamente en el crecimiento del tallo por arriba de 2 y 3 % de concentración en lechuga y amaranto, respectivamente, no así en el obtenido del fruto el cual demostró efecto fitotóxico a partir de la concentración más baja (0.5 %) (Figura 15).

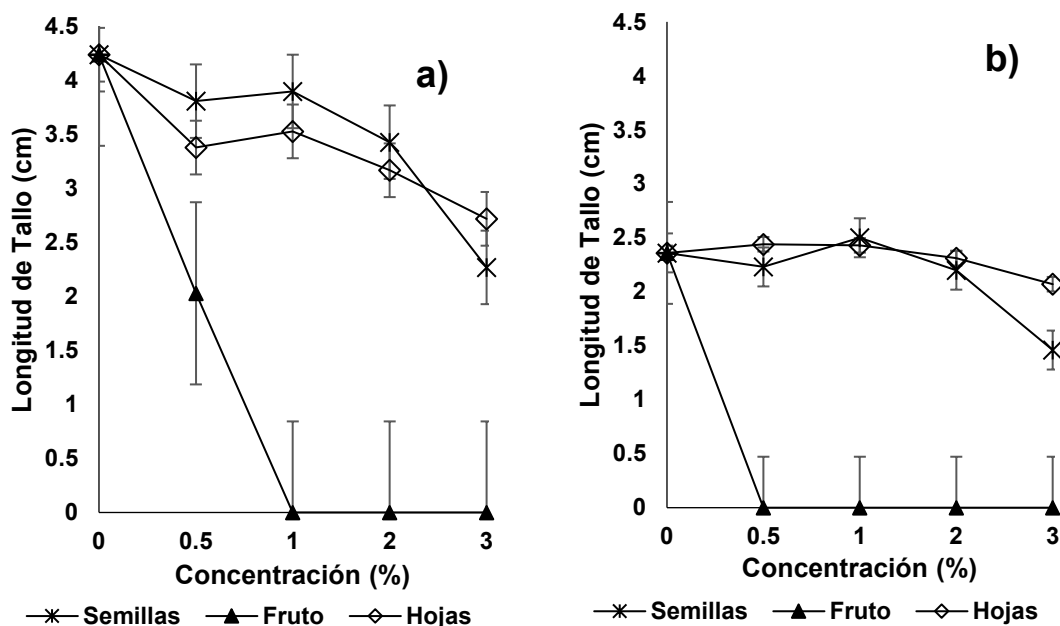


Figura 14. Efecto de extractos hexánicos de semillas, fruto y hojas de noni sobre la longitud del tallo de plántulas de lechuga (a) y amaranto (b).

Una plántula anormal es aquella que muestra características inusuales o atípicas en su crecimiento y desarrollo, por lo que usualmente no tiene todas sus estructuras esenciales bien desarrolladas, comportamiento que puede ser resultado de diversas causas del deterioro de la semilla, efectos ambientales desfavorables o bien el haber sido expuesta a compuestos dañinos, como pudiese ser extractos fitotóxicos. En este contexto, una semilla que produce una plántula anormal no asegura el éxito de su establecimiento y consecuentemente se dificultaría su supervivencia por lo que en este estudio se cuantificó el efecto de los extractos en el porcentaje de plántulas normales producidas.

Los extractos metanólicos promovieron la producción de plántulas anormales de lechuga y amaranto a partir de la concentración más baja (Figura 16); sin embargo, el efecto fue más evidente en amaranto (Figura 16b), en virtud de que en lechuga dicha tendencia se observó en lo generado por las hojas, es decir que los extractos de semillas y fruto una vez alcanzado el mayor número de plántulas anormales a 1

%, por arriba de esta concentración la cantidad de plántulas anormales fue similar a las reportadas en el testigo (Figura 16a).

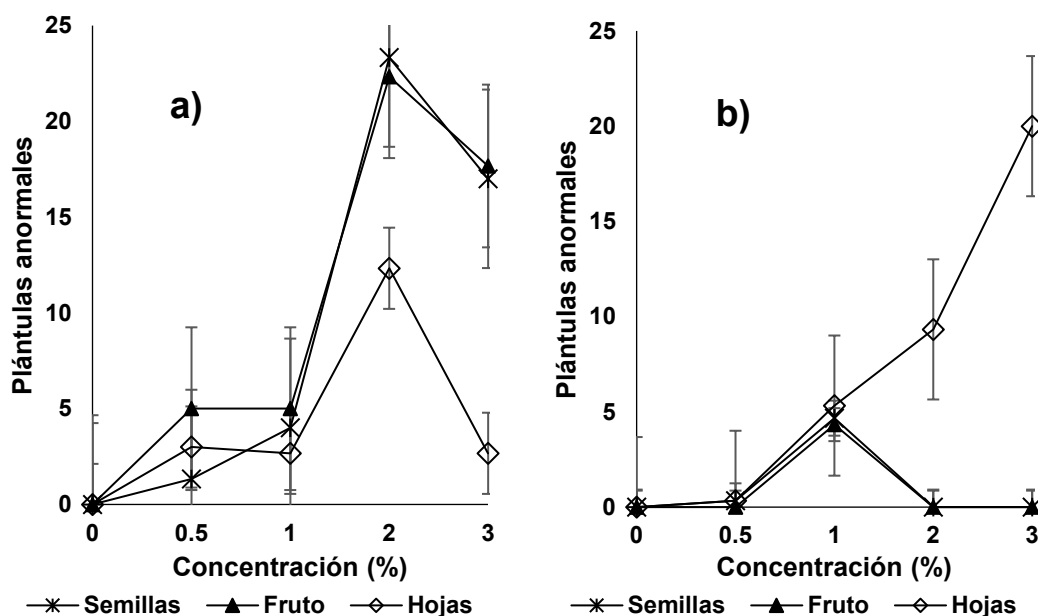


Figura 15. Efecto de extractos metanólicos de semillas, fruto y hojas de noni en la producción de plántulas anormales de lechuga (a) y amaranto (b).

El extracto de acetato de etilo obtenido de hojas de noni incrementó el número de plántulas anormales en ambos cultivos, especialmente en lechuga donde se presentó el mayor número de plántulas anormales a partir de 1 % de concentración, alcanzando hasta poco más de 20 plántulas anormales a 2 % de concentración (Figura 17a), al mismo tiempo que en amaranto, si bien la tendencia es la misma, el mayor número de plántulas anormales (seis) se registró a 3 % de concentración (Figura 17b). En este contexto, los extractos de fruto no fueron fitotóxicos en virtud de que la mayoría de los resultados fueron iguales a los registrados en el testigo.

Del mismo modo que en el caso anterior, los extractos hexánicos de fruto no afectaron negativamente el crecimiento de la plántula en ambas especies, no así los derivados de semillas y hojas que afectaron negativamente el comportamiento natural de la misma (Figura 18), promoviendo incremento del número de plántulas normales en ambos cultivos con efecto notorio a partir de concentraciones mayores

de 2 % y con mayor sensibilidad en la lechuga (Figura 18a). Es evidente que la tendencia por arriba de 3 % pronostica una mayor aparición de plántulas anormales en ambas especies, por lo que son espacios que en futuro podrían explorarse.

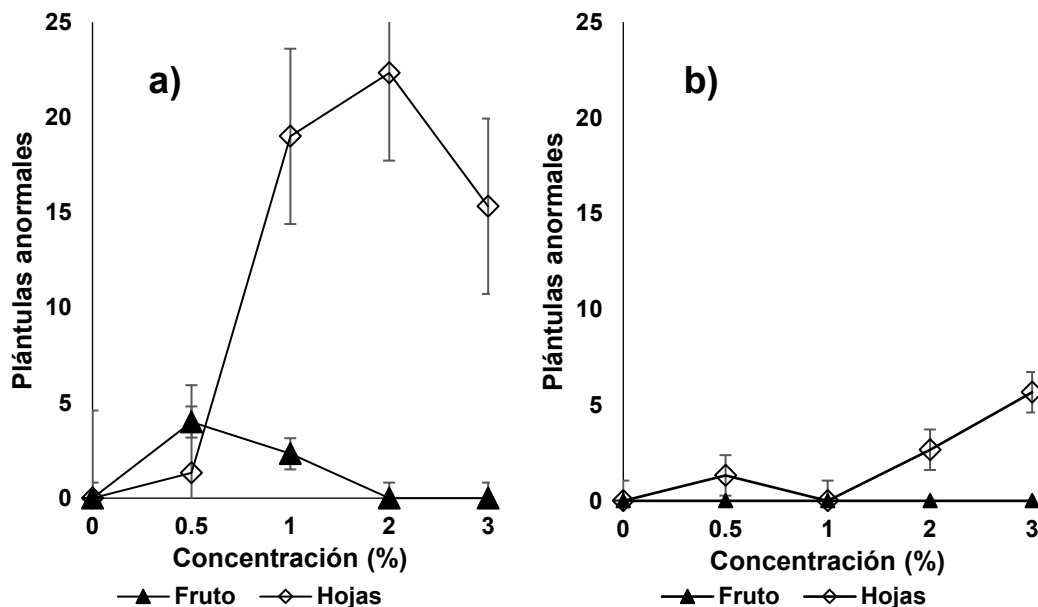


Figura 16. Efecto de extractos de acetato de etilo de fruto y hojas de noni en la producción de plántulas anormales de lechuga (a) y amaranto (b).

Con esta investigación se demuestra lo reportado por García-Mateos et al. (2013) quienes reportan efecto fitotóxico de extractos de chile manzano en lechuga y amaranto desde concentraciones de 5 y 10 %, respectivamente. Sin embargo, los extractos de *Calia Secundiflora* tuvieron mayor impacto en lechuga al reducir a 14.5 % la germinación mientras que las semillas de amaranto presentaron 97.5 % (García-Mateos et al., 2011) lo que demuestra que cada especie tiene diferente comportamiento ante los metabolitos, ya que estos fitoquímicos se caracterizan por tener una distribución restringida, es decir, son sintetizados por especies o corresponden a un taxón, lo que explica un mayor o menor efecto fitotóxico en los modelos vegetales estudiados.

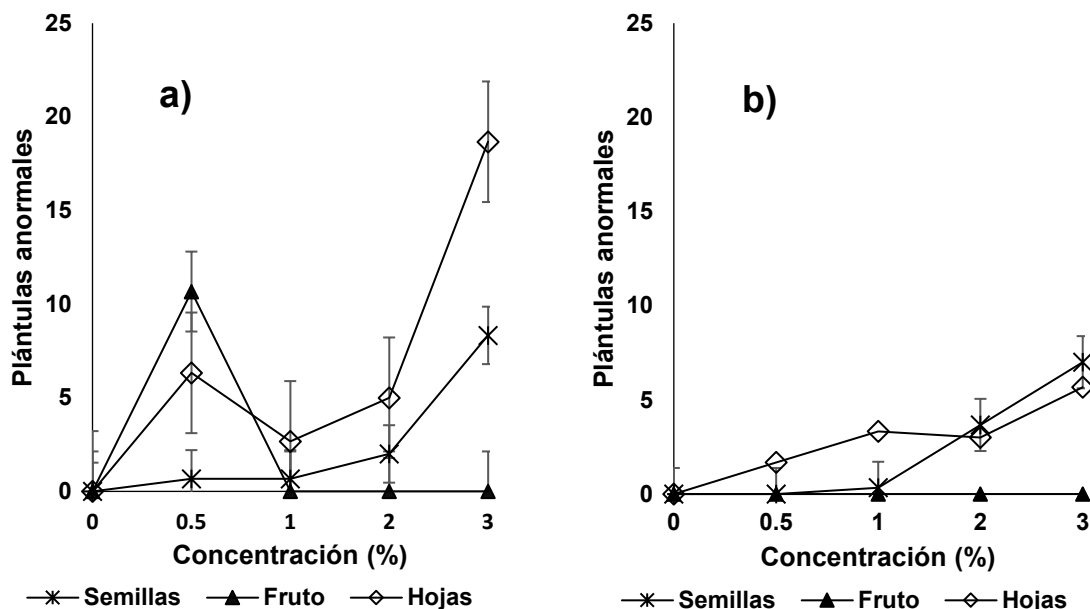


Figura 17. Efecto de extractos hexánicos de semillas, fruto y hojas de noni en la producción de plántulas anormales de lechuga (a) y amaranto (b).

A continuación, se muestra una imagen de algunas plántulas que se obtuvieron con el extracto metanólico a 2 % en la cual se puede observar que no se desarrolló de manera normal la raíz, así como la parte superior de la planta (Figura 19). Cabe resaltar que, en estas plántulas de lechuga con el extracto metanólico la parte del coleóptilo presenta una anomalía en forma de nudo, lo cual no asegura una larga vida a la planta al tener esta anomalía en uno de sus órganos principales, mientras que la raíz es muy pequeña y delgada como para brindar un soporte a la plántula además de estar un poco necrosadas en la punta.

Sánchez y García-Figueroa (2022) reportó que en las hojas del noni la presencia de glicósidos iridoides como el citrifolinósido, asperulósido ácido asperulosídico, así como el iridoide “aucubina” con propiedades bactericidas. Los iridoides pertenecen a los monoterpenos, sintetizados a partir del ácido mevalónico (Boluda et al., 2013).



Figura 18. Plántulas anormales de lechuga por el extracto metanólico de semillas a 2 %.

Soriano et al. (2022) evaluó el efecto de los extractos de *Bellardia trixago* con disolventes de diferente polaridad (acetato de etilo, diclorometano y hexano), de los cuales, la principal actividad inhibidora del crecimiento de plántulas de *Orobancha cumana* se obtuvo con el extracto de acetato de etilo de la raíz de *B. trixago*; posteriormente, por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) encontraron seis metabolitos como el ácido benzoico, bartsiosido, melampirósido, éster metílico de gardósido, musenósido y aucubina. Este último, también presente en las hojas de noni, lo cual podría explicar en la presente investigación, el efecto negativo que provocaron los extractos de acetato de etilo en el crecimiento y desarrollo de la raíz.

De acuerdo con Royani et al. (2023) identificó los componentes activos de extractos de noni mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS) determinaron la presencia de cirsiumaldehído y 7-hidroxi-metoxicumarina. Este último es una cumarina, la cual pertenece a la familia de las benzopironas, son sustancias polifenólicas (Katsori et al., 2014), que se encuentran en gran variedad de especies vegetales y se ha demostrado tener diversas actividades biológicas en las plantas, como defensa contra patógenos, respuesta al estrés abiótico, regulación del estrés oxidativo y posiblemente regulación hormonal, además pueden inhibir la germinación, el crecimiento y desarrollo de otras especies vegetales en su entorno (Pan et al., 2015). Sin embargo, el potencial fitotóxico de

las cumarinas parece depender en gran medida de la naturaleza y la posición del grupo funcional (Katsori et al., 2014).

El estudio realizado por Facenda et al. (2023) proporcionó información sobre las cumarinas naturales, menciona que la mayoría de estas contienen un sustituto oxigenado en la posición C7, entre las más comunes se encuentran la 7-hidroxycumarina (umbeliferona), la 6,7-hidroxycumarina (esculetina) y la 7-hidroxi-6-metoxycumarina (escopoletina), por lo que se ha propuesto que el grupo hidroxilo en la posición C7 contribuye a la fitotoxicidad de las 7-hidroxycumarinas, lo que significa que puede afectar el crecimiento y desarrollo de otras plantas. Los autores antes mencionados, determinaron que ninguna de las hidroxycumarinas evaluadas en la investigación inhibió la germinación de las semillas, pero afectaron el crecimiento de las raíces de las plántulas en diferentes grados.

La umbeliferona mostró la actividad inhibitoria más fuerte en comparación con la esculetina y la escopoletina; además, las especies dicotiledóneas (*Lactuca sativa* y *Eruca sativa*) fueron más sensibles a las hidroxycumarinas que las especies monocotiledóneas (*Hordeum vulgare*), según los autores esto puede estar relacionado con el modo de acción de las hidroxycumarinas, ya que parece ser análogo al de herbicidas auxínicos, debido a que los herbicidas auxínicos afectan principalmente el crecimiento de las plantas al interferir con la regulación del crecimiento celular, lo que puede explicar por qué las dicotiledóneas que tienen un crecimiento más activo de tejidos, son más susceptibles a estos compuestos en comparación con las monocotiledóneas (Facenda et al., 2023).

En el estudio realizado por Yan et al. (2016) investigó los efectos inhibidores de dos cumarinas, la umbeliferona y la dafnoretina, en plántulas de lechuga, así como los mecanismos de su fitotoxicidad a partir de extractos de una maleza perenne llamada *Stellera chamaejasme*. De acuerdo con sus resultados, la umbeliferona mostró una efectiva inhibición en la elongación de brotes, raíces y en el peso fresco de las plántulas de lechuga, de manera dependiente de la concentración. La umbeliferona provocó la formación de peróxido de lípidos de membrana y la muerte celular al inducir la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas

en inglés), que afectó la división celular, lo que resultó en la inhibición del crecimiento de la planta receptora, esto sugiere que la umbeliferona ejerce su efecto fitotóxico al desencadenar una serie de respuestas celulares y moleculares que perturban el equilibrio y la funcionalidad normal de la célula vegetal, lo que lleva eventualmente a la inhibición del crecimiento de la planta (Pan et al., 2015; Yan et al., 2016).

El ácido cafeico es otro metabolito identificado en los extractos acuosos de noni, según el estudio realizado por Zhu et al. (2020) identificaron este compuesto mediante un sistema HPLC acoplado a un espectrómetro de masas de alta resolución con un detector de arreglo de diodos; este método analítico permitió la identificación de los compuestos presentes en los extractos de noni, lo que ayuda a comprender mejor su composición química y sus posibles efectos biológicos.

Entre los numerosos compuestos que juegan un papel en las interacciones ecológicas, los ácidos hidroxicinámicos, que incluyen el ácido cafeico, p-cumárico, ferúlico y sinápico, son abundantes en la naturaleza; estos ácidos son ampliamente conocidos y estudiados debido a su relevancia en diversos procesos biológicos y ecológicos (Lucio-Ferrarese et al., 2016).

Dentro de los posibles mecanismos por los cuales los ácidos hidroxicinámicos interfieren en los procesos más comunes relacionados con el desarrollo de las plantas incluyen: la despolarización de la membrana plasmática, lo que puede afectar la entrada y salida de iones y nutrientes esenciales, el aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), pueden provocar deficiencias nutricionales y estrés hídrico por el daño ocasionado en las raíces, pueden alterar el equilibrio hormonal en las plantas, lo que puede afectar el desarrollo y la diferenciación celular, así como la respuesta a factores ambientales, alteran el proceso de fotosíntesis, lo que puede reducir la capacidad de las plantas para producir energía y biomasa, además de los daños notorios asociadas con la síntesis de lignina en la pared celular a causa de algunas enzimas, de manera general, estos mecanismos pueden afectar negativamente el crecimiento y desarrollo de las

plantas y pueden influir en su capacidad para competir con otros organismos en su entorno (Lucio-Ferrarese et al., 2016).

Debido a las numerosas investigaciones sobre la identificación de metabolitos en los extractos de noni, permiten comprender como la presencia de estas sustancias podría conferirles un potencial como bioherbicidas, es decir, sustancias que podrían ser utilizadas para controlar malezas de manera más natural y sostenible. Sin embargo, las consideraciones que se deben tomar en cuenta son que, al ser metabolitos secundarios, no siempre se puede garantizar que la planta los sintetice en los mismos tejidos vegetales, así como en las mismas concentraciones, además la influencia que puede tener el método de extracción y el disolvente empleado. Cabe destacar que, al no encontrar investigaciones con esta especie sobre la actividad fitotóxica, por esta razón se tomaron disolventes con diferentes polaridades: metanol (polar), acetato de etilo (medio polar) y hexano (no polar), para ser evaluados como fitotóxicos.

Con base en lo antes expuesto, sobre la diversidad de metabolitos identificados en diferentes extractos de noni y su actividad biológica (efectos fitotóxicos) se recomienda realizar una investigación de los metabolitos presentes en los extractos evaluados en esta investigación, debido a que éstos pueden contener un perfil de metabolitos diferente debido a las condiciones edafoclimáticas del sitio de recolecta del fruto de noni.

6.3 Evaluación de actividad alelopática

Debido a que el extracto hexánico del fruto de noni presentó efecto fitotóxico en las variables evaluadas en ambas especies, se consideró realizar la evaluación de la actividad alelopática. El mayor abatimiento de la germinación se presentó con 2 % p/v de concentración, al permitir 26.66 y 25.33 % de germinación en lechuga y amaranto, respectivamente, es decir, casi 70 % menos que el reportado en el testigo positivo, mientras que en el testigo negativo (2,4-D) no hubo germinación (Cuadro 2). Adicionalmente, se apreció el mismo comportamiento ($P \leq 0.05$) del porcentaje de germinación, longitud de raíz y tallo entre las concentraciones más bajas.

Cuadro 2. Evaluación alelopática del extracto hexánico del fruto de noni.

Conc. (%)	% G		LR (cm)		LT (cm)	
	Lechuga	Amaranto	Lechuga	Amaranto	Lechuga	Amaranto
0	97.33 a	96 a	3.23 a	2.8 a	4.3 b	4.95 a
0.5	76 b	81.33 b	2.93 a	2.77 a	4.99 a	4.29 a
1.0	70.66 b	76 b	3.52 a	2.94 a	5.09 a	4.46 a
2.0	26.66 c	25.33 c	1.26 b	0.71 b	1.9 c	1.47 b
2,4-D	0 d	0 d	0 b	0 c	0 d	0 c
C.V.	9.34	6.93	21.56	10.53	5.35	8.13

*Los datos se expresan como la media de tres repeticiones. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). T: tratamiento, % G: porcentaje de germinación, LR: longitud de raíz, LT: longitud de tallo, C. V.: coeficiente de variación. 0: testigo negativo (Agua + Tween 20 a 0.1%), 2,4-D: testigo positivo: 2,4-D a 1 %.

Sin embargo, es importante mencionar que cuando se prueban la mayoría de los extractos de manera controlada y sin la presencia de suelo como sucedió en el bioensayo de fitotoxicidad, normalmente los resultados suelen ser satisfactorios, encontrándose así un posible efecto inhibidor de la germinación o del crecimiento de las estructuras esenciales de las plántulas, por lo que se recomienda realizar pruebas más detalladas como puede ser incrementar la concentración a la que se empleó el extracto inicial, pues la interacción con el suelo al ser un componente esencial compuesto por una combinación de minerales, aire, agua, materia orgánica, macro y microorganismos puede provocar que no se obtengan los mismos resultados.

El estudio realizado por Facenda et al. (2023) proporciona una perspectiva interesante sobre cómo los procesos del suelo pueden modular la actividad alelopática de ciertos compuestos químicos naturales o metabolitos, como la cumarina (umbeliferona), en diferentes condiciones edáficas. Los autores no tuvieron los mismos resultados de la evaluación *in vitro* a los obtenidos en suelo, por lo que posteriormente evaluaron en dos tipos de suelo, uno alcalino y otro ácido, además que se esterilizaron para eliminar la actividad microbiana. En las observaciones, se encontró que en el suelo alcalino, la umbeliferona mostró una adsorción insignificante, una rápida biodegradación y su fitotoxicidad poco se

expresó, mientras que en el suelo ácido, el metabolito mostró una mayor adsorción, una biodegradación más lenta y su fitotoxicidad se expresó mejor que en el suelo alcalino; pero cuando la actividad microbiana se eliminó mediante esterilización, el efecto de la umbeliferona se volvió muy similar a la observado en condiciones sin suelo (Facenda et al., 2023), por lo tanto, se confirma una vez más que los microorganismos tienen un efecto significativo en la degradación y reducción de la actividad alelopática de los compuestos químicos presentes en el suelo.

Actualmente, no existen resultados de investigación sobre su actividad fitotóxica, pero si sobre los beneficios de los extractos de noni para la salud humana, además de los usos encontrados como larvicidas, insecticidas y fungicidas; sin embargo, en otra especie perteneciente al género *Morinda* se ha reportado un efecto similar al de la presente investigación pero en extractos acuosos sus hojas de la especie *Morinda lucida* Benth conocida comúnmente como “árbol de azufre” en el continente africano. Okeke et al. (2015) evaluó el efecto de dicho extracto para germinar, nutrir y comparar el crecimiento de *Amaranthus spinosus* y *A. hybridus*; en sus resultados se determinaron efectos negativos a concentraciones altas de los extractos, ya que se abatió el número de hojas, el área foliar, la altura del tallo, el peso fresco, el peso seco y en unas replicas se inhibió la germinación; además la sensibilidad de la actividad inhibidora sobre el crecimiento fue mayor en *A. spinosus* que en *A. hybridus*, por lo que el efecto podría depender de la genética de cada especie.

Lo anterior, permite inferir que algunas plantas pertenecientes a este género sintetizan metabolitos con actividad fitotóxica y alelopática, lo que puede contribuir a futuras investigaciones en la búsqueda de herbicidas naturales como una alternativa al uso de herbicidas sintéticos.

Estos resultados sugieren mayor investigación sobre la identificación del perfil de metabolitos responsables de esta actividad en el extracto hexánico con la finalidad de destacar el potencial como componentes en el desarrollo y uso de estos extractos como bioherbicidas.

7. CONCLUSIONES

Los extractos de acetato de etilo y hexánico presentaron el mayor efecto fitotóxico sobre la germinación de semillas de lechuga y amaranto, debido a la presencia de componentes volátiles y flavonoides. La aplicación de extracto metanólico promovió radículas y tallos necrosados, lo que impidió el crecimiento de una plántula normal. La mayor actividad fitotóxica la generó el extracto hexánico de fruto (2 % de concentración), por reducir alrededor de 70 % la germinación en ambas especies de semillas, así como la longitud de la raíz y tallo en aquellas que germinaron.

8. LITERATURA CITADA

- Abou-Assi, R., Darwis, Y., Abdulbaqi, I. M., Khan, A. A., Vuanghao, L., & Laghari, M. H. (2015). *Morinda citrifolia* (Noni): A comprehensive review on its industrial uses, pharmacological activities, and clinical trials. *Arabian Journal of Chemistry*, 10(5), 691-707. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.06.018>
- Acosta, M. (2003). *Manual de Opciones Tecnológicas para el Manejo Ecológico del Cultivo del Noni (Morinda citrifolia L.) en Panamá*. <https://catalogosiidca.csuca.org/Record/UP.214456/Details>
- Alza-Camacho, W. R., García-Colmenares, J. M., & Chaparro-Acuña, S. P. (2016). Determinación voltamétrica de paraquat y glifosato en aguas superficiales. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 17(3), 331-345. <https://revistacta.agrosavia.co/index.php/revista/article/view/510/408>
- Anantharaj, A., Jeyakumar, S., Sathya, M. M., & Sunder, J. (2017). Biochemical and antioxidant effects in crossbred calves fed with *Morinda citrifolia*. *Journal of Applied Animal Research*, 45(1), 252-255. Doi: 10.1080/09712119.2016.1151794
- Aung, B. B., Jae, D. K., Young, S. K., Hun, T. S., Hye, J. K., Botir, K., Young, K. K., Kee, W. P., & Jung, S. C. (2019). Isolation, identification and characterization of *Streptomyces* metabolites as a potential bioherbicide. *PLoS ONE*, 14(9), Article e0222933. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222933>

- Ávalos-García, A., & Pérez-Urria, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca*, 2(3), 119-145. <https://docta.ucm.es/rest/api/core/bitstreams/26b94db5-92de-4aaf-8822-8f063c180904/content>
- 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, 426-436. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Bailey, K. L. (2014). The bioherbicide approach to weed control using plant pathogens. *Integrated Pest Management Current Concepts and Ecological Perspective*, 13, 245-266. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398529-3.00014-2>
- Barbosa, A. F., Costa, I. C., Zucolotto, S. M., & Giordani, R. B. (2017). *Morinda citrifolia*: fatos e riscos sobre o uso do noni. *Revista Fitos*, 11(2), 119-249, <https://doi.org/10.5935/2446-4775.20170027>
- Berlin, Alemania. 386 p.Facenda, G., Real, M., Galán-Pérez, A. J., Gámiz, B., & Celis, R. (2023). Soil effects on the bioactivity of hydroxycoumarins as plant allelochemicals. *Plants*, 12(6), 1278-1290. <https://doi.org/10.3390/plants12061278>
- Boluda, C. J., & Terrero, J. D. (2013). Iridoides y secoiridoides (1): clasificación, biosíntesis, importancia ecológica, estrategias evolutivas y modificaciones semisintéticas. *Revista de Fitoterapia*, 13(2), 153-161. <https://www.fitoterapia.net>
- Castillo-Mompié, A., Pascual-Sánchez, Y. M., CunhaNune, L. C., Paz-Lorente, C., & Cañete-Aguilar, F. (2014). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de hojas y semillas de *Morinda citrifolia* L. (noni). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19(1), 374-382. <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v19n4/pla09414.pdf>

- Chaïb, S., Pistevos, J. C. A., Bertrand, C., & Bonnard, I. (2021). Allelopathy and allelochemicals from microalgae: An innovative source for bio-herbicidal compounds and biocontrol research. *Algal Research*, 54, Article 102213. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102213>
- Correa-García, M. H., Zuluaga-Ramírez, C., & Berrouet-Mejía, M. C. (2020). Ácido 2-4 diclorofenoxiacético, un herbicida olvidado: reporte de dos casos. *Revista de la Escuela de Ciencias de la Salud de la Universidad Pontificia Bolivariana*, 39(2), 56-59. <https://doi.org/10.18566/medupb.v39n2.a09>
- Coşkun, Ö. (2016). Separation techniques: Chromatography. *North Clin Ustanbul*, 3(2), 156-160. <https://doi.org/10.14744/nci.2016.32757>
- Das, S. K., & Mondal, T. (2014). Mode of action of herbicides and recent trends in development: A Reappraisal. *International Journal of Agricultural and Soil Science*, 2(3), 27-32. <http://internationalinventjournals.org/journals/IJASS>
- Dias, B. L., Dalcin-Sunti, M., Costa-Fonseca, P., Rocha-Dos Santos, P. R., Ribeiro-de Sousa, R., Rocha-Dias, F., Carlos-Mourão, D. S., & Rodrigues-dos Santos, G. (2023). *Morinda citrifolia* compounds such elicitor substances of biochemical responses in melon plants. *Comunicata Scientiae Horticultural Journal*, 14, Article e3919. <https://doi.org/10.14295/cs.v14.3919>
- Florez-Jalixto, M. A., Roldán-Acero, D. J., & Juscamaita-Morales, J. G. (2020). Evaluación de fitotoxicidad y caracterización de un fertilizante líquido elaborado mediante fermentación láctica utilizando subproductos del procesamiento de trucha (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecología aplicada*, 19(2), 121-131. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1726-22162020000200121
- García-Mateos, Ma. R., Castillo, A. M., Zarate-Hernandez, J. M., & Barron-Yanez, R. M., (2011). Extractos de *Calia secundiflora* (ort.) yakovlev con potencial actividad fitotóxica. *Interciencia*, 36(10). 779-784. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33921449013>

- García-Mateos, Ma. R., Sánchez-Navarro, C., Martínez-Solis, J., & Pérez-Grajales, M. (2013). Actividad fitotóxica de los extractos de chile manzano (*Capsicum pubescens* r & p). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 19(4), 23-33. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2012.03.009>
- Gharde, Y., Singh, P. K., Dubey, R. P., & Gupta, P. K. (2018). Assessment of yield and economic losses in agriculture due to weeds in India. *Crop Protection*, 107, 12-18. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.01.007>
- Guzmán-Plazola, P., Guevara-Gutiérrez, R. D., Olguín-López, J. L., & Mancilla-Villa, O. R. (2016). Perspectiva campesina, intoxicaciones por plaguicidas y uso de agroquímicos. *Idesia*, 34(3), 69-80. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292016000300009>
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*. Springer Dordrecht (3rd ed.). https://books.google.com.mx/books/about/Phytochemical_Methods_A_Guide_to_Modern.html?id=vCWHUU6iobwC&redir_esc=y
- Hasan, M., Ahmad-Hamdani, M. S., Rosli, A. M., & Hamdam, H. (2021). Bioherbicides: An eco-friendly tool for sustainable weed management. *Plants*, 10(6), 1212. <https://doi.org/10.3390/plants10061212>
- Huerta-Muñoz, H., Cruz-Hernández, J., Aguirre-Álvarez, L., Caballero-Mata, R., & Pérez-Hidalgo, L. F. (2015). Toxicidad de fertilizantes orgánicos estimada con bioensayo de germinación de lechuga. *Terra Latinoamericana*, 33(2), 179-185. <https://www.terralatinoamericana.org.mx/index.php/terra/article/view/56/60>
- Kaab, S. B., Rebey, I. B., Hanafi, M., Hammi, K. M., Smaoui, A., Fauconnier, M. L., De Clerck, C., Jijakli, M. H., & Ksouri, R. (2020). Screening of tunisian plant extracts for herbicidal activity and formulation of a bioherbicide based on *Cynara cadunculus*. *South African Journal of Botany*, 128, 67-76. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.10.018>

- Katsori, A. M., & Hadjipavlou-Litina, D. (2014). Coumarin derivatives: an updated patent review (2012 – 2014). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 24(12), 1323-1347. <https://doi.org/10.1517/13543776.2014.972368>
- Landrigan, P. J., & Benbrook, C. (2015). GMOs, herbicides, and public health. *The New England Journal of Medicine*, 373(8), 693-695. <https://doi.org/10.1056/NEJMp1505660>
- López-Bastón, M. A., & Luque-de Castro, M. D. (2020). Soxhlet extraction. *Liquid-Phase Extraction*, 327-354. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816911-7.00011-6>
- López-Valdez, F., Ríos-Cortes, A. M., López-Gayou, V., Torres-Valencia, Cabrera-Hilerio, S. L., & Miranda-Arámbula, M. (2021). Fitotóxicos como herbicidas naturales y otras alternativas de uso. *Frontera Biotecnológica*, 18, 22-28. <https://www.revistafronterabiotecnologica.cibatlaxcala.ipn.mx/volumen/vol18/pdf/vol-18-4.pdf>
- Lucio-Ferrarese, M. L., Dantas-Dos Santos, W., Marchiosi, R., Barbosa-de Lima, R., Finger-Teixeira, A., Ferrarese-Filho, O. (2016). *Ácidos hidroxicinámicos como aleloquímicos y su papel en la lignificación de la pared celular: un posible mecanismo de acción fisiológica. Ecología química y alelopatía: avances y perspectivas*. Universidad Nacional Autónoma de México (1ra ed.). https://www.researchgate.net/profile/Francisco-Espinosa-Garcia/publication/360687955_RA11_Ecologia_Quimica_y_Alelopatia_17X23_CS6_RA11/links/628538c72ceddc53b05e88b6/RA11-Ecologia-Quimica-y-Alelopatia-17X23-CS6-RA11.pdf#page=165
- Mahfuzur-Rob, M., Iwasaki, A., Suenaga, K., Ozaki, K., Teruya, T., & Kato-Noguchi, H. (2020). Potential use of *Schumannianthus dichotomus* waste: the phytotoxic activity of the waste and its identified compounds. *Journal of Environmental Science and Health*, 55(12), 1099-1105. <https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1822716>

- McCullough, E., & Matson, P. (2016). Evolution of the knowledge system for agricultural development in the Yaqui Valley, Sonora, Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 113(17), 4609-4614. <https://doi.org/10.1073/pnas.1011602108>
- Menalled, F. D. (2010). Consideraciones ecológicas para el desarrollo de programas de manejo integrado de malezas. *Agroecología*, 5, 73-78. <https://revistas.um.es/agroecologia/article/view/160581/140441>
- Morales, J., Castillo, J., & Luna, I. (2010). Aceite esencial del fruto del noni (*Morinda citrifolia*: Rubiaceae) como larvicida del mosquito *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae). *Tecnociencia*, 12(1), 53-64. <https://revistas.up.ac.pa/index.php/tecnociencia/article/view/879/747>
- Nelson, S. C. (2006). *Morinda citrifolia* (noni). *Species profiles for Pacific Island Agroforestry*, 4, 1-19. <https://www.renevanmaarsseveen.nl/wp-content/uploads/overig/noni/Morinda-noni.pdf>
- Neyra, S. (2006). *NONI: cultivo, derivados y aplicaciones* (1a ed.).
- Nichols, V., Verhulst, N., Cox, R., & Govaerts, B. (2015). Weed dynamics and conservation agriculture principles: A review. *Field Crops Research*, 183, 56-68. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.07.012>
- Okeke, C. U., Iroka, C. F., Okereke, N. C., & Nyanayo, B. L. (2015). Effects of the crude water extract of the leaves of *Morinda lucida* on the germination and growth of *Amaranthus spinosus* and *Amaranthus hybridus*. *European Journal of Medicinal Plants*, 9(1), 1-9. <https://doi.org/10.9734/EJMP/2015/18173>
- Pan, L., Li, X., Yan, Z., Guo, H., & Qin, B. (2015). Phytotoxicity of umbelliferone and its analogs: Structure-activity relationships and action mechanisms. *Plant Physiology and Biochemistry*, 97, 272-277. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.10.020>
- Peillex, C., & Pelletier, M. (2020). The impact and toxicity of glyphosate and glyphosate-based herbicides on health and immunity. *Journal of*

immunotoxicology, 17(1), 163-174.
<https://doi.org/10.1080/1547691X.2020.1804492>

- Pérez-López, M. L., Barraza-Elenes, C., Camacho-Hernández, I. L., Gutiérrez-Dorado, R., Perales-Sánchez, J. X. K., & Carrillo-López, A. (2020). Cambios en la composición química durante la maduración poscosecha del fruto de Noni (*Morinda citrifolia* Linneo). *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 5, 194-196.
<http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume5/5/3/39.pdf>
- Pino, J. A., Marquez, E., Quijano, C. E., & Castro, D. (2010). Volatile compounds in noni (*Morinda citrifolia* L.) at two ripening stages. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(1), 183-187. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000100028>
- Rani, L., Thapa, K., Kanojia, N., Sharma, N., Singh, S., Singh-Grewal, A., Srivastav, A. L., & Kaushal, J. (2020). An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. *Journal of Cleaner Production*, 283, Article 124657. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124657>
- Rial, C., Gómez, E., Varela, R. M., Molinillo, J. M., & Macías. F. A. (2018). Ecological relevance of the major allelochemicals in *Lycopersicon esculentum* roots and exudates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(18), 4638-4644. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01501>
- Ronco-Campaña, A. (2018). Fitotóxicos como alternativa a herbicidas contaminantes. *MoleQla: Revista de Ciencias de la Universidad Pablo de Olavide*, 30, 71-74.
<https://www.upo.es/cms1/export/sites/upo/moleqla/documentos/Numero30/Fitotoxicos.pdf>
- Royani, A., Hanafi, M., Julistiono, H., & Manaf, A. (2023). The total phenolic and flavonoid contents of *Aloe vera* and *Morinda citrifolia* extracts as antibacterial material against *Pseudomonas aeruginosa*. *Materials Today: Proceedings*, 72(6), 2796-2802. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.06.466>

- Sánchez y García-Figueroa, F. L. (2022). *Fitoquímica*. Universidad Nacional Autónoma de México. <https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/2022/Publicaciones/libros/cbiologia/Fitoquimica.pdf>
- Sánchez-Varela, A., & Rodríguez-Luna, I. C. (2018). Efecto de extractos de *Morinda citrifolia* L. sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*. *Revista de Aplicación Científica y Técnica*, 4(11), 20-25. https://www.ecorfan.org/spain/researchjournals/Aplicacion_Cientifica_y_Tecnica/vol4num11/Revista_de_Aplicacion_Cientifica_y_Tecnica_V4_N11_3.pdf
- Scavo, A., Pandino, G., Restuccia, A., & Mauromicale, G. (2020). Leaf extracts of cultivated cardoon as potential bioherbicide. *Scientia Horticulturae*, 261, Article 109024. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109024>
- Schulz, B., & Segobye, K. (2016). 2,4-D transport and herbicide resistance in weeds. *Journal of Experimental Botany*, 67(11), 3177-3179. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw199>
- Singh, A., Kumar-Singh, A., & Singh, S. B. (2020). Relative efficacy of herbicides for weed control in rice: a review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(2), 2375-2382. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.902.270>
- Soltys, D., Krasuska, U., Bogatek, R., & Gniazdowski, A. (2013). *Allelochemicals as Bioherbicides — Present and Perspectives*. Polonia. InTech. <https://doi.org/10.5772/56185>
- Soriano, G., Siciliano, A., Fernández-Aparicio, M., Cala-Peralta, A., Masi, M., Moreno-Robles, A., Guida, M., & Cimmino, A. (2022). Iridoid glycosides isolated from *Bellardia trixago* identified as inhibitors of *Orobancha cumana* radicle growth. *Toxins*, 14(8), Article 559, <https://doi.org/10.3390/toxins14080559>
- Soto-García, M., Rosales-Castro, M. (2016). Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus*

- sideroxyla*. Maderas. *Ciencia y Tecnología*, 18(4), 701-714. <https://doi.org/10.4067/S0718-221X2016005000061>
- Suarez-Medina, K., & Coy-Barrera, E. (2016). Diversidad de los compuestos orgánicos bio-activos de origen natural: una singularidad manifestada por la plasticidad en el metabolismo secundario. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 2(6), 252-269. <https://doi.org/10.18359/rfcb.2031>
- Susilawati, S., Anwar, C., Saleh, M. I., Salni, S., Hermansyah, H., & Oktiarni, D. (2023). Chemical composition and antifungal activity of *Morinda Citrifolia* fruit extract. *Bioscience Journal*, 39, Article e39076. <https://doi.org/10.14393/BJ-v39n0a2023-65077>
- Taiz, L. & Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology*. Sinauer Associates (4th ed.), Sinauer Associates.
- Thrall, P. H., Oakeshott, J. G., Fitt, G., Southerton, S., Burdon, J. J., Sheppard, A., Russell, R. J., Zalucki, M., Heino, M., & Denison R. F., (2011). Evolution in agriculture: the application of evolutionary approaches to the management of biotic interactions in agro-ecosystems. *Evolutionary Applications* 4(2), 200-215. <https://doi.org/10.1111/j.1752-4571.2010.00179.x>.
- Torrens, F., & Castellano, G. (2014). Molecular classification of pesticides including persistent organic pollutants, phenylurea and sulphonylurea herbicides. *Molecules*, 19(6), 7388-7414. <https://doi.org/10.3390/molecules19067388>
- Trieu-Ly, H., Pham-Nguyen, M. T., Oanh-Nguyen, T. K., Quynh-Bui, T. P., Ke, X., & Minh-Le V. (2020). Phytochemical analysis and wound-healing activity of noni (*Morinda citrifolia*) leaf extract. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 26, 379-393. <https://doi.org/10.1080/10496475.2020.1748159>
- Ulloa, J. A., Rosas-Ulloa, P., Ramírez-Ramírez, J. C., Ulloa-Rangel, B. E. (2012). El noni: propiedades, usos y aplicaciones potenciales. *Revista Fuente*, 4(10), 44-49. <http://dspace.uan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/824/EI%20noni>

%20%20propiedades%2c%20usos%20y%20aplicaciones%20potenciales.pdf
?sequence=1&isAllowed=y

- Urriola, L., Montes-Castillo, K., & Díaz-Vergara, M. (2022). Efecto fitotóxico de extractos diluidos de abonos orgánicos en semillas de lechuga. *Revista Científica Semilla del Este*, 3(1), 114-126. <http://portal.amelica.org/ameli/journal/343/3433504007/>
- Valencia, M., Ancona, J., Reyes, J., García, M., & León, F. (2017). Evaluación de los metabolitos del noni (*Morinda citrifolia*). *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 4(4), 16-22. <http://reibci.org/publicados/2017/ago/2400102.pdf>
- Vallejo-Rosero, Y. J., Barrios-Correa, L., & Anaya-Gil, J. (2021). La cromatografía en capa fina: una alternativa vigente en la industria farmacéutica. *La Revista de química (PUCP)*, 35(2), 19-25. <http://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/view/23788>
- Wagner, H.; Bladt, S. (1996). *Plant Drug Analysis: A thin layer chromatography* (2nd ed.). Springer. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-642-00574-9>
- Yan, Z., Wang, D., Cui, H., Zhang, D., Sun, Y., Jin, H., Li, X., Yang, X., Guo, H., He, X., Pan, L., Ren, X., Guo, X., & Qin, B. (2016). Phytotoxicity mechanisms of two coumarin allelochemicals from *Stellera chamaejasme* in lettuce seedlings. *Acta Physiol Plant* 38, Article 248, <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2270-z>
- Zhu, H., Zhanga, J., Lia, C., Liub, S., & Wanga, L. (2020). *Morinda citrifolia* L. leaves extracts obtained by traditional and eco-friendly extraction solvents: Relation between phenolic compositions and biological properties by multivariate análisis. *Industrial Crops & Products*, 153, Article 112586. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112586>

9. APÉNDICES

Cuadro 3. Análisis de varianza de extractos metanólicos en semillas y plántulas de lechuga.

Tejido vegetal	Concentración (%)	% G	LR	LT	PA
Testigo - (Agua + tween 20)		97.33 a	3.39 a	4.24 a	0 d
Semillas	0.5	97.33 a	1.91 bc	3.61 ab	1.33 d
	1	97.33 a	1.85 bcd	3 ab	4 d
	2	93.33 ab	0.64 ef	1.23 de	23.33 a
	3	68 b	0.18 f	0.19 e	17 ab
	0.5	100 a	2.21 b	3.52 ab	5 cd
Fruto	1	97.33 a	2.09 bc	3.16 ab	5 cd
	2	92 ab	1.19 cde	1.83 cd	22.33 a
	3	70.67 b	0.58 ef	0.81 de	17.67 ab
	0.5	98.67 a	3.33 a	3.97 a	3 d
Hojas	1	97.33 a	1.92 bc	3.47 ab	2.67 d
	2	92 ab	1.48 bcde	2.58 bc	12.33 bc
	3	93.33 ab	0.85 def	1.56 cd	2.67 d
C.V.		9.5	22.27	15.36	26.52

*Los datos se expresan como la media de tres repeticiones. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). % G: porcentaje de germinación, LR: longitud de raíz, LT: longitud de tallo, PA: plántulas anormales, C. V.: coeficiente de variación.

Cuadro 4. Análisis de varianza de extractos metanólicos en semillas y plántulas de amaranto.

Tejido vegetal	Concentración (%)	% G	LR	LT	PA
Testigo - (Agua + tween 20)		96 a	1.86 bc	2.36 ab	0 d
Semillas	0.5	90.67 a	2.46 ab	2.88 a	0.33 d
	1	72 ab	1.8 bc	2.01 abc	4.67 c
	2	0 c	0 e	0 d	0 d
	3	0 c	0 e	0 d	0 d
	0.5	90.67 a	2.32 ab	2.77 a	0 d
Fruto	1	93.33 a	2.6 ab	2.72 a	4.33 c
	2	0 c	0 e	0 d	0 d
	3	0 c	0 e	0 d	0 d
	0.5	92 a	2.89 a	2.97 a	0.33 d
Hojas	1	93.33 a	1.94 bc	2.38 ab	5.33 c
	2	88 a	1.3 cd	1.29 bcd	9.33 b
	3	80 ab	0.65 cd	0.85 cd	20 a
C.V.		8	22.18	31.81	30.26

*Los datos se expresan como la media de tres repeticiones. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). % G: porcentaje de germinación, LR: longitud de raíz, LT: longitud de tallo, PA: plántulas anormales, C. V.: coeficiente de variación.

Cuadro 5. Análisis de varianza de extractos de acetato de etilo en semillas y plántulas de lechuga.

Tejido vegetal	Concentración (%)	% G	LR	LT	PA
Testigo - (Agua + tween 20)		97.33 a	3.39 a	4.24 a	0 b
	0.5	16 c	0 d	0 c	4 b
	1	9.33 c	0.03 d	0.51 c	2.33 b
	2	0 c	0 d	0 c	0 b
	3	0 c	0 d	0 c	0 b
Fruto	0.5	100 a	3.91 a	3.63 a	1.33 b
	1	93.33 a	2.03 b	2.68 ab	19 a
	2	94.67 a	0.93 c	2.07 b	22.33 a
	3	61.33 b	0.17 d	0.76 c	15.33 a
	C.V.	22.86	23.78	31.97	45.12

*Los datos se expresan como la media de tres repeticiones. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). % G: porcentaje de germinación, LR: longitud de raíz, LT: longitud de tallo, PA: plántulas anormales, C. V.: coeficiente de variación.

Cuadro 6. Análisis de varianza de extractos de acetato de etilo en semillas y plántulas de amaranto.

Tejido vegetal	Concentración (%)	% G	LR	LT	PA
Testigo - (Agua + tween 20)		96 a	1.86 b	2.36 a	0 b
	0.5	0 c	0 c	0 c	0 b
	1	0 c	0 c	0 c	0 b
	2	0 c	0 c	0 c	0 b
	3	0 c	0 c	0 c	0 b
Fruto	0.5	97.33 a	4.19 a	2.3 a	1.33 ab
	1	92 a	2.17 b	1.94 a	0 b
	2	57.33 b	0.95 c	1.19 b	2.67 ab
	3	22.67 c	0.17 c	0.15 c	5.67 a
	C.V.	31.15	37.56	33.19	15.4

*Los datos se expresan como la media de tres repeticiones. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). % G: porcentaje de germinación, LR: longitud de raíz, LT: longitud de tallo, PA: plántulas anormales, C. V.: coeficiente de variación.

Cuadro 7. Análisis de varianza de extractos de hexánicos en semillas y plántulas de lechuga.

Tejido vegetal	Concentración (%)	% G	LR	LT	PA
Testigo - (Agua + tween 20)		97.33 a	3.39 a	4.24 a	0 c
	0.5	98.67 a	2.72 bc	3.81 a	0.67 c
	1	94.67 a	2.46 bc	3.9 a	0.67 c
	2	97.33 a	2.37 bc	3.43 ab	2 bc
	3	92 a	1.83 c	2.27 de	8.33 bc
Semillas	0.5	80 b	0.52 d	2.03 e	10.67 ab
	1	0 c	0 d	0 f	0 c
	2	0 c	0 d	0 f	0 c
	3	0 c	0 d	0 f	0 c
	0.5	98.67 a	3.13 ab	3.38 ab	6.33 bc
Fruto	1	97.33 a	3.81 a	3.53 ab	2.67 bc
	2	94.67 a	3.19 ab	3.17 bc	5 bc
	3	97.33 a	2.2 bc	2.72 cd	18.67 a
	0.5	98.67 a	3.13 ab	3.38 ab	6.33 bc
	1	97.33 a	3.81 a	3.53 ab	2.67 bc
Hojas	2	94.67 a	3.19 ab	3.17 bc	5 bc
	3	97.33 a	2.2 bc	2.72 cd	18.67 a
	0.5	98.67 a	3.13 ab	3.38 ab	6.33 bc
	1	97.33 a	3.81 a	3.53 ab	2.67 bc
	2	94.67 a	3.19 ab	3.17 bc	5 bc
C.V.		4.7	19.44	8.78	6.64

*Los datos se expresan como la media de tres repeticiones. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). % G: porcentaje de germinación, LR: longitud de raíz, LT: longitud de tallo, PA: plántulas anormales, C. V.: coeficiente de variación.

Cuadro 8. Análisis de varianza de extractos hexánicos en semillas y plántulas de amaranto.

Tejido vegetal	Concentración (%)	% G	LR	LT	PA
Testigo - (Agua + tween 20)		96 a	1.86 cd	2.36 a	0 b
	0.5	69.33 a	2.38 abc	2.23 ab	0 b
	1	89.33 a	2.41 abc	2.5 a	0.33 b
	2	97.33 a	1.81 cd	2.2 ab	3.67 ab
	3	90.67 a	1.06 d	1.46 b	7a
Semillas	0.5	0 b	0 e	0 c	0 b
	1	0 b	0 e	0 c	0 b
	2	0 b	0 e	0 c	0 b
	3	0 b	0 e	0 c	0 b
	0.5	93.33 a	3.11 a	2.44 a	1.67 ab
Fruto	1	93.33 a	2.83 ab	2.43 a	3.33 ab
	2	96 a	2.23 bc	2.31 a	3 ab
	3	90.67 a	2.03 bc	2.07 ab	5.67 ab
	0.5	93.33 a	3.11 a	2.44 a	1.67 ab
	1	93.33 a	2.83 ab	2.43 a	3.33 ab
Hojas	2	96 a	2.23 bc	2.31 a	3 ab
	3	90.67 a	2.03 bc	2.07 ab	5.67 ab
	0.5	93.33 a	3.11 a	2.44 a	1.67 ab
	1	93.33 a	2.83 ab	2.43 a	3.33 ab
	2	96 a	2.23 bc	2.31 a	3 ab
C.V.		22.87	18.89	19.69	9.97

*Los datos se expresan como la media de tres repeticiones. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). % G: porcentaje de germinación, LR: longitud de raíz, LT: longitud de tallo, PA: plántulas anormales, C. V.: coeficiente de variación.

Cuadro 9. Rendimiento de extractos por cada 100 g de muestra seca

				Acetato de etilo				
Disolvente	Metanol					Hexano		
Tejido	Semillas	Frutos	Hojas	Frutos	Hojas	Semillas	Frutos	Hojas
Cantidad (g)	9.07	8	10	7.6	9.3	9.2	8.1	16.9