

ACTIVIDAD FITOTÓXICA DE LOS EXTRACTOS DE CHILE MANZANO (*Capsicum pubescens* R & P)

Ma. del Rosario García-Mateos^{1*}; Claudia Sánchez-Navarro²;
Juan Martínez- Solís³; Mario Pérez-Grajales³

¹Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Preparatoria Agrícola. km 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, Estado de México. MÉXICO. C.P. 56230.
Correo-e: rosgar08@hotmail.com (*Autor para correspondencia).

²Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Batalla 5 de Mayo s/n, Colonia Ejército de Oriente. Iztapalapa, Distrito Federal. MÉXICO. C.P. 09230.

³Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Fitotecnia. km 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, Estado de México. MÉXICO. C.P. 56230.

RESUMEN

La búsqueda de nuevos herbicidas de origen natural se ha realizado mediante los estudios de sustancias fitotóxicas debido a que no afectan el ambiente y son menos tóxicos que los sintéticos. En la literatura existen pocas evidencias de los efectos fitotóxicos de los capsaicinoides presentes en el género *Capsicum*, por lo que el objetivo de la presente investigación fue evaluar *in vitro* el efecto fitotóxico de los extractos del fruto de chile manzano (*Capsicum pubescens* R & P) en la germinación y vigor de *Amaranthus hybridus* L., *Lactuca sativa* L., *Ipomoea purpurea* L. y *Bidens odorata* Cav. Se realizó una prueba de germinación de acuerdo con la metodología de la International Seed Testing Association. El efecto de seis concentraciones de extractos (0.5, 1.5, 2.5, 5.0, 10, 20 % v/v), capsaicina (0.1 p/v) y ABA (0.01 p/v) fue evaluado en un experimento, usando un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones de 50 semillas cada una. El testigo fue agua destilada. Las variables evaluadas fueron el número de semillas germinadas (NSG) y el vigor (longitud de radícula, LR; longitud de la parte aérea, LPA). Se realizaron análisis de varianza y comparaciones de medias de Tukey ($P \leq 0.05$). El extracto de diclorometano, comparado con el extracto etéreo, causó el mayor efecto fitotóxico sobre la germinación de *A. hybridus* y *L. sativa*, en las que el porcentaje se redujo hasta 100 %. También afectó en forma negativa el vigor de *I. purpurea*. El efecto fitotóxico de la capsaicina sobre la germinación y vigor sólo se manifestó en *A. hybridus*.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: Capsaicina, extractos, fitotoxicidad, germinación, vigor.

PHYTOTOXIC ACTIVITY OF MANZANO HOT PEPPER (*Capsicum pubescens* R & P) EXTRACTS

ABSTRACT

The search for new natural herbicides was performed using studies of phytotoxic substances because they do not affect the environment and are less toxic than synthetics. In literature there is little evidence of phytotoxic effects of capsaicinoids, present in the genus *Capsicum*, thus the objective of this research was to evaluate *in vitro* the phytotoxic effects of the extracts of the manzano hot pepper (*Capsicum pubescens* R & P) fruit on germination and vigor of *Amaranthus hybridus* L., *Lactuca sativa* L., *Ipomoea purpurea* L. and *Bidens odorata* Cav. A germination test was performed according to the methodology of the International Seed Testing Association. The effect of six concentrations of extracts (0.5, 1.5, 2.5, 5.0, 10, 20 % v/v), capsaicin (0.1 w/v) and ABA (0.01 w/v) was evaluated in an experiment using a completely random design with four replications of 50 seeds each. The control was distilled water. The variables evaluated were: number of germinated seeds (NGS) and vigor (length of radicle, RL, length of the aerial part, LAP). Variance analysis and Tukey comparisons ($P \leq 0.05$) were performed. The dichloromethane extract, compared to the ether extract, caused the most phytotoxic effect on the germination of *A. hybridus* and *L. sativa*, in which the percentage dropped to 100 %; it also negatively affected the vigor of *I. purpurea*. The phytotoxic effect of capsaicin on germination and vigor was only evident in *A. hybridus*.

ADDITIONAL KEYWORDS: Capsaicin, extracts, phytotoxicity, germination, vigor.

INTRODUCCIÓN

Desde hace treinta años, los trabajos sobre la aplicación de la aleopatía han aumentado considerablemente. La aleopatía está en concordancia con la actual demanda social, preocupada por una conciencia respetuosa al medio ambiente de las prácticas agrícolas (Chiapusio *et al.*, 2004). Muchos productos naturales son fitotóxicos. Algunos de ellos son alelopáticos, representan una gran diversidad de estructuras (Einhelling, 2002), son biodegradables (Duke *et al.*, 2002a) y algunos no generan resistencia (Duke *et al.*, 2002b). Los estudios de sustancias alelopáticas contribuyen a la utilización directa de los compuestos con dicha actividad en la formulación de herbicidas, o a la mejora genética de plantas cultivadas que sintetizan naturalmente sustancias con potencial alelopático (Chiapusio *et al.*, 2004), que coadyuven para reducir pérdidas económicas en la producción de algunos cultivos. Por tanto, la búsqueda de nuevos herbicidas de origen natural se ha intensificado debido a que no afectan el ambiente y son menos tóxicos que los sintéticos (Duke *et al.*, 2002b). Los sintéticos se han usado indiscriminadamente en 47 países desde hace 50 años para el control de malas hierbas. Como consecuencia, se ha desarrollado resistencia en más de 235 especies de arvenses (Narwal, 2002).

En diversas investigaciones (Macías *et al.*, 1997; Anaya *et al.*, 1994) se ha demostrado el efecto alelopático de diversas especies como *Ambrosia cumanensis*, *Brassica oleraceae*, *Brasica campestris*, *Croton pyramidalis*, *Eucalyptus* y *Piper auritum*, entre otras. Casi la totalidad de las moléculas caracterizadas como agentes alelopáticos son metabolitos secundarios de los vegetales. Estos compuestos influyen sobre el crecimiento y el desarrollo de los sistemas biológicos y su variabilidad está controlada por factores genéticos y ambientales (Chiapusio *et al.*, 2004). Los alelopáticos son más específicos y menos dañinos que los sintéticos utilizados en la agricultura y sirven de modelo en la búsqueda de nuevos herbicidas naturales (Macías, 1995). Muchos de los productos naturales son fitotóxicos, pero sólo algunos de éstos pueden ser alelopáticos (Duke *et al.*, 2002b).

Con el propósito de reducir el uso de herbicidas sintéticos, actualmente son objeto de investigación los efectos fitotóxicos de especies cultivadas sobre malas hierbas (Chiapusio *et al.*, 2004). Se han realizado investigaciones de los extractos de *Capsicum annuum* como fitotóxicos (Cho *et al.*, 1992) y potentes inhibidores del crecimiento de bacterias (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*) y hongos (*Cladosporium*, *Fusarium*, *Pyricularia*) (Greger y Zechner, 1996; Dorantes *et al.*, 2000). Dentro de las especies de *Capsicum* poco explotadas se encuentra el chile manzano (*Capsicum pubescens* R & P), originario de las partes altas del Perú y Bolivia (Pérez y Castro, 2008), de amplia distribución desde México hasta Argentina. La pungencia o

INTRODUCTION

In the last thirty years, studies on the application of allelopathy have increased significantly. Allelopathy is in line with the current social demand, worried about an awareness of environmental friendly agricultural practices (Chiapusio *et al.*, 2004). Many natural products are phytotoxic. Some of them are allelopathic compounds, represent a diversity of structures (Einhelling, 2002), are biodegradable (Duke *et al.* 2002a) and some do not generate resistance (Duke *et al.* 2002b). Studies of allelopathic substances contribute to the direct use of the compounds with such activity in the making of herbicides, or to genetic improvement of cultivated plants which naturally synthesize substances with allelopathic potential (Chiapusio *et al.*, 2004), that help to reduce economic losses in the production of some crops. Therefore, the search for new natural herbicides has been intensified because these herbicides do not affect the environment and are less toxic than synthetics (Duke *et al.*, 2002b). Synthetics have been used indiscriminately in 47 countries for 50 years to control weeds. Resistance to more than 235 species of weeds has developed (Narwal, 2002) as a result.

Several studies (Macías *et al.*, 1997; Anaya *et al.*, 1994) have shown the allelopathic effect of various species such as *Ambrosia cumanensis*, *Brassica oleraceae*, *Brasica campestris*, *Croton pyramidalis*, *Eucalyptus* and *Piper auritum*, among others. Almost all of the molecules characterized as allelopathic agents are secondary metabolites of plants. These compounds influence the growth and development of biological systems and their variability is controlled by genetic and environmental factors (Chiapusio *et al.*, 2004). Allelopathic compounds are more specific and less harmful than synthetics used in agriculture and serve as a model in the search for new natural herbicides (Macías, 1995). Many natural products are phytotoxic, but only some of these may be allelopathic compounds (Duke *et al.*, 2002b).

In order to reduce the use of synthetic herbicides, phytotoxic effects on weeds cultivated species are currently subject to research (Chiapusio *et al.*, 2004). Studies of extracts of *Capsicum annuum* as phytotoxic (Cho *et al.*, 1992) and potent inhibitors of growth of bacteria (*Bacillus subtilis*, *cereus Bacillus*) and fungi (*Cladosporium*, *Fusarium*, *Pyricularia*) (Greger and Zechner, 1996; Dorantes *et al.*, 2000) have been performed. Within the lightly exploited *Capsicum* species, we found manzano hot pepper (*Capsicum pubescens* R & P), native to the highlands of Peru and Bolivia (Pérez and Castro, 2008), widely distributed from Mexico to Argentina. Pungency or hotness of this pepper is caused by at least one of the 14 alkaloid compounds known as capsaicinoids (Kobata *et al.*, 1998). These metabolites have antioxidant (Rosa *et al.*, 2002), anticancer (Macho *et al.*, 2003) and insecticide activities. However, little is known

picor del chile es causada por al menos uno de los 14 compuestos alcaloides conocidos como capsaicinoides (Kobata *et al.*, 1998). Estos metabolitos presentan actividad antioxidante (Rosa *et al.*, 2002), anticancerígena (Macho *et al.*, 2003) e insecticida. Sin embargo, poco se conoce sobre el efecto fitotóxico de algunas especies de *Capsicum*. El objetivo de la presente investigación fue evaluar *in vitro* el efecto fitotóxico de los extractos del fruto de chile manzano (*C. pubescens*) en la germinación y vigor de *Amaranthus hybridus* L., *Lactuca sativa* L., *Ipomoea purpurea* L. y *Bidens odorata* Cav.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se recolectaron 20 kg de fruto de chile manzano 'Grajales St.', producido en 2009 bajo condiciones de invernadero en sistema hidropónico (Pérez y Castro, 2008), en el Campo Agrícola Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicado en Chapingo, Estado de México (19° 29' 23" LN, 98° 52' 24" LO), a una altitud de 2,268 m. Seis meses después del trasplante, fueron tomados al azar los frutos para la preparación de los extractos.

Preparación de los extractos crudos

Se colocaron 18,523 kg de frutos de chile manzano sin semilla en maceración (dentro de 5,000 ml de éter de petróleo) por 72 h en recipientes de cristal de 20 L de capacidad. La extracción se realizó repetidamente (3 x 5,000 ml). El residuo vegetal, libre de disolvente se sometió nuevamente a una extracción con diclorometano (3 x 5,000 ml). Con la finalidad de eliminar el disolvente, los extractos se concentraron al vacío a través de un rotaevaporador marca Büchi. Se obtuvieron 16 g de extracto etéreo (0.086 % de rendimiento) y 14.5 g de extracto de diclorometano (0.078 % de rendimiento). Mediante diluciones seriadas a partir de la concentración más alta, se prepararon cinco concentraciones (0.5, 1.5, 2.5, 5.0, 10, 20 % v/v) de ambos extractos. Utilizando la técnica modificada del bioensayo de bioautografía en cromatografía de capa fina para bacterias, descrita por Hamburger y Cordell (1987) y Ghisalberti (1993), y para germinación de semillas (Anaya, 2003), se establecieron las concentraciones de los extractos y de capsaicina (0.1 p/v) para la evaluación de la fitotoxicidad.

Cromatografía en capa fina

Los extractos preparados se analizaron por cromatografía en capa fina (CCF). Se emplearon cromatoplasas de aluminio (Merck) de 10 x 5 cm de gel de sílice 60 F₂₅₄ y como eluyente se usó la mezcla metanol:diclorometano en una proporción de 8:2 v/v. El agente cromogénico fue el reactivo de Dragendorff (Wagner y Bladt, 1996), y la pre-

about the phytotoxic effects of some species of *Capsicum*. The aim of this study was to evaluate *in vitro* the phytotoxic effects of the extracts of the manzano hot pepper (*C. pubescens*) fruit on germination and vigor of *Amaranthus hybridus* L., *Lactuca sativa* L., *Ipomoea purpurea* L. and *Bidens odorata* Cav.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

A total of 20 kg of 'Grajales St.' manzano hot pepper fruits were collected; this fruit was produced in 2009 under greenhouse conditions using a hydroponic system (Pérez and Castro, 2008), at the Agricultural Experiment field of the Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Estado de México (19° 29' 23" N, 98° 52' 24" W) at an altitude of 2,268 m. Six months after transplantation, fruits were randomly taken for preparing fruit extracts.

Preparation of crude extracts

A total of 18,523 kg of seedless manzano hot pepper fruits were put in maceration (in 5,000 ml of petroleum ether) for 72 h using glass containers of 20 L. Extraction was carried out repeatedly (3 x 5,000 ml). The plant residue, solvent free was again subjected to extraction with dichloromethane (3 x 5,000 ml). The extracts were concentrated in vacuo using a rotary evaporator 'Büchi' in order to remove the solvent. A total of 16 g of ether extract (0.086 % yield) and 14.5 g of dichloromethane extract (0.078 % yield) were obtained. Five concentrations (0.5, 1.5, 2.5, 5.0, 10, 20 % v/v) of both extracts were prepared using serial dilutions from the highest concentration. Using the modified technique of bioautography bioassay by thin layer chromatography for bacteria described by Hamburger and Cordell (1987) and Ghisalberti (1993), and for seed germination (Anaya, 2003), the concentrations of the extracts and capsaicin (0.1 w/v) were established for the evaluation of phytotoxicity.

Thin layer chromatography

The extracts were analyzed by thin layer chromatography (TLC). Aluminum chromatoplates (Merck) of 10 x 5 cm silica gel 60 F₂₅₄ were used and the mixture of methanol:dichloromethane in a ratio of 8:2 v/v was used as eluent. The chromogenic agent was the reagent Dragendorff (Wagner and Bladt, 1996), and the presence of brown spots indicated the presence of alkaloids in the extracts. An authentic sample of capsaicin (8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide, Aldrich) was used as standard.

Phytotoxicity bioassay

I. purpurea and *B. odorata* seeds were provided by the Laboratory of weeds of the Department of Agricultural

sencia de manchas color marrón indicó la presencia del alcaloide en los extractos. Se empleó como estándar una muestra auténtica de capsaicina (8-metil-N-vanillil-6-nonenamida; Aldrich).

Bioensayo de fitotoxicidad

Las semillas de *I. purpurea* y *B. odorata* fueron proporcionadas por el Laboratorio de Malezas del Departamento de Parasitología Agrícola y el Departamento de Zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, respectivamente, mientras *A. hybridus* y *L. sativa* fueron adquiridos de una casa comercial de semillas. Se realizó una prueba preliminar de germinación con base en las recomendaciones de la *International Seed Testing Association* (ISTA) (Anónimo, 2005), en la que *B. odorata* obtuvo 74 % y las especies restantes 100 %.

Los resultados de la bioautografía en cromatografía de capa permitieron definir las concentraciones de los extractos (0.5, 1.5, 2.5, 5.0, 10, 20 % v/v) y de la capsaicina para la evaluación de la fitotoxicidad.

El experimento de fitotoxicidad se llevó a cabo según el método descrito por Anaya *et al.* (1999). En cajas de Petri de 10 cm de diámetro con papel filtro Wattman no. 1, se colocaron 1.5 ml de cada concentración de extracto, de capsaicina (0.1 % p/v) por separado y ácido abscísico (ABA) (Aldrich) 0.01 % p/v. El residuo de disolvente se dejó evaporar, se depositaron 50 semillas por tratamiento y finalmente se agregaron 2.5 ml de agua destilada a cada caja. Como testigo se usó agua destilada. Las cajas Petri se colocaron en una germinadora Seedburo® bajo condiciones de luz continua con intensidad luminosa de $15.39 \text{ mmol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$, humedad relativa de 80 % y a temperatura de 25 °C.

Se usó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones de 50 semillas. La toma de datos en *B. odorata* se realizó a los 21 días después de la siembra (Vibrans, 1995), mientras que en las especies restantes, se consideraron los días establecidos por la ISTA para el segundo conteo en la prueba de germinación estándar (Anónimo, 2005). Las variables para evaluar la fitotoxicidad fueron número total de semillas germinadas (NSG), considerando como germinadas aquellas que emitieron la radícula, y vigor de plántula, mediante la medición de la longitud de raíz (LR) y longitud de parte aérea (LPA) (Lovett y Ryuntyu, 1992). La primera se midió de la base del cuello a la punta de la raíz, y la segunda se cuantificó desde la base del cuello de la raíz hasta la punta de la plúmula, ambas en milímetros.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias (Tukey, $P \leq 0.05$) con el programa Statistical Analysis System (Anónimo, 2000).

Parasitology and the Department of Animal Husbandry of the Universidad Autónoma Chapingo, respectively, while *A. hybridus* and *L. sativa* were purchased from a commercial seed house. A preliminary test of germination based on the recommendations of the *International Seed Testing Association* (ISTA) was conducted (Anonymous, 2005), in which *B. odorata* won 74 % and the remaining species 100 %.

Bioautography results in layer chromatography allowed to define the extract concentrations (0.5, 1.5, 2.5, 5.0, 10, 20 % v/v) and capsaicin for the evaluation of the phytotoxicity.

The phytotoxicity experiment was conducted according to the method described by Anaya *et al.* (1999). A total of 1.5 ml of each extract concentration of capsaicin (0.1% w/v) separately and abscisic acid (ABA) (Aldrich) 0.01% w/v were placed in Petri dishes of 10 cm diameter with filter paper Wattman no. 1. The solvent residual was evaporated, 50 seeds were deposited per treatment and finally 2.5 ml of distilled water were added in each dish. Distilled water was used as control. The Petri dishes were placed in a germinator Seedburo™ under continuous light with light intensity of $15.39 \text{ mmol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$, 80 % relative humidity and temperature of 25 °C.

We used a completely randomized design with four replications of 50 seeds. Data collection of *B. odorata* was performed 21 days after sowing (Vibrans, 1995); while in the case of the remaining species the days were set by ISTA, for the second count in the standard germination test (Anonymous, 2005). The variables to assess the phytotoxicity were total number of seeds germinated (NGS), considering as germinated seeds those that emitted the radicle and seedling vigor by measuring root length (RL) and length of the aerial part (LAP) (Lovett and Ryuntyu, 1992). The first was measured from the base of the neck to the tip of the root, and the second was measured from the base of the neck of the root to the tip of the plumule, both in millimeters.

Statistical analysis

An analysis of variance and mean comparison test (Tukey, $P \leq 0.05$) were conducted using the Statistical Analysis System (Anonymous, 2000).

RESULTS

Number of germinated seeds

The ether extract negatively affected the germination of *A. hybridus* from 5 % concentration. This reduced the germination rate from 98 to 99 % with the highest concentration. A similar situation was shown for capsaicin and ABA, abating germination with respect to the control at 37 and 74 %, respectively. With respect to *L. sativa*, the nega-

RESULTADOS

Número de semillas germinadas

El extracto etéreo afectó negativamente la germinación de *A. hybridus* a partir de 5 % de concentración. Éste redujo el porcentaje de germinación de 98 a 99 % con la concentración más alta. Situación similar se mostró por capsaicina y ABA, que abatieron la germinación en relación al testigo en 37 y 74 %, respectivamente. Con respecto a *L. sativa*, el efecto negativo del extracto se presentó a partir de la concentración de 10 %, y alcanzó su mayor efecto en la concentración más alta (20 %), donde la germinación se abatió hasta 97 %, del mismo modo que con ABA. Sin embargo, la capsaicina no indujo disminución en la germinación (Cuadro 1).

Concentraciones mayores a 5 % del extracto etéreo redujeron la germinación de *B. odorata* desde 82 hasta 98 %, pero ABA presentó el efecto más drástico (100 %), mientras que la capsaicina no afectó negativamente la germinación. Con respecto a *I. purpurea*, solamente ABA promovió un efecto negativo en la semilla, abatiendo hasta 81 % la germinación. Por lo tanto, exceptuando *I. purpurea*, las especies restantes fueron susceptibles al extracto etéreo pero a concentraciones mayores (Cuadro 1).

La concentración de 0.5 % del extracto de diclorometano promovió una reducción de la germinación (97 %) en *A. hybridus*, y alcanzó el máximo de inhibición (100 %) desde 2.5 % de concentración. Asimismo, la capsaicina y ABA mostraron efecto negativo al inhibir la germinación en relación al testigo en 37 y 74 %, respectivamente. En *L. sativa*, el efecto negativo se encontró a partir de la concentración

tive effect of the extract was shown from the concentration of 10 %, and reached its greatest effect at the highest concentration (20 %), where germination was abated up to 97 %, in the same way that with ABA. However, capsaicin induced no diminution in germination (Table 1).

Concentrations greater than 5 % of ether extract reduced the germination of *B. odorata* from 82 to 98 %, but ABA showed the most drastic effect (100 %), while capsaicin did not negatively affected germination. With respect to *I. purpurea*, only ABA promoted a negative effect on the seed, by abating the germination up to 81 %. Therefore, except for *I. purpurea*, the remaining species were susceptible to ether extract but at higher concentrations (Table 1).

The concentration of 0.5 % of the dichloromethane extract promoted a reduction of the germination (97 %) in *A. hybridus*, and reached the maximum inhibition (100 %) from 2.5 % concentration. Furthermore, capsaicin and ABA showed negative effect by inhibiting germination with respect to the control at 37 and 74 %, respectively. *L. sativa*, showed negative effect from the concentration 1.5 % with a decrease of 95 %, and reached 100 % with the concentrations 2.5, 5 and 10 %. Furthermore, capsaicin showed no phytotoxic effect on the seed of this species. In contrast, ABA decreased the germination 90 % with respect to the control.

In *B. odorata*, the phytotoxic effect was blunt because all concentrations reduced the germination 100 %, just as ABA, while capsaicin caused no toxic effect. The response of germination abatement in *I. purpurea* was accentuated as the concentrations were higher. Values recorded in the inhibition from 27 to 97 % with concentrations 0.5 and 20 %, respectively (Table 2). Capsaicin and ABA had the same effect

CUADRO 1. Efecto del extracto etéreo en la germinación de cuatro especies.

TABLE 1. Effect of ether extract on germination of four species.

Concentración / Concentration (%)	<i>Amaranthus hybridus</i>		<i>Lactuca sativa</i>		<i>Bidens odorata</i>		<i>Ipomoea purpurea</i>	
	NSG / NGS	PG / GP (%)	NSG / NGS	PG / GP (%)	NSG / NGS	PG / GP (%)	NSG / NGS	PG / GP (%)
0.0	49.5 a ⁱ	99.0	49.5 a	99.0	37.0 a	74.0	49.0 a	98.0
0.5	48.3 a	96.6	47.3 a	94.6	38.8 a	77.6	49.5 a	99.0
1.5	49.3 a	98.6	44.0 a	88.0	44.0 a	88.0	49.5 a	99.0
2.5	43.5 a	87.0	45.0 a	90.0	38.3 a	76.6	49.3 a	98.6
5.0	1.0 d	2.0	45.5 a	91.0	9.0 b	18.0	46.0 a	92.0
10.0	0.5 d	1.0	29.0 b	58.0	4.0 b	8.0	46.8 a	93.6
20.0	0.5 d	1.0	1.5 d	3.0	1.0 b	2.0	40.5 a	81.0
Capsaicina / Capsaicin	31.5 b	63.0	49.5 a	99.0	36.5 a	73.0	48.5 a	97.0
ABA	13.0 c	26.0	1.5 c	3.0	0.0 b	0.0	9.5 b	19.0
CV	16.86	----	9.52	----	17.78	----	13.91	----

ⁱMedias con la misma letra dentro de columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$); CV: Coeficiente de variación; NSG: Número de semillas germinadas; PG: Porcentaje de germinación.

ⁱMeans with the same letter within column are equal according to the Tukey test ($P \leq 0.05$); CV: Coefficient of variation; NGS: Number of germinated seeds; GP: germination percentage.

CUADRO 2. Efecto del extracto de diclorometano en la germinación de cuatro especies.

TABLE 2. Dichloromethane extract effect on germination of four species.

Concentración / Concentration (%)	<i>Amaranthus hybridus</i>		<i>Lactuca sativa</i>		<i>Bidens odorata</i>		<i>Ipomoea purpurea</i>	
	NSG / NGS	PG / GP (%)	NSG / NGS	PG / GP (%)	NSG / NGS	PG / GP (%)	NSG / NGS	PG / GP (%)
0.0	49.5 a ^t	99.0	49.5 a	99.0	36.5 a	73.0	49.0 a	98.0
0.5	1.5 d	3.0	48.0 a	96.0	0.0 b	0.0	36.5 b	73.0
1.5	0.5 d	1.0	2.5 bc	5.0	0.0 b	0.0	18.0 cd	36.0
2.5	0.0 d	0.0	0.0 c	0.0	0.0 b	0.0	24.0 c	48.0
5.0	0.0 d	0.0	0.0 c	0.0	0.0 b	0.0	13.0 de	26.0
10.0	0.0 d	0.0	0.0 c	0.0	0.0 b	0.0	13.0 de	26.0
20.0	0.0 d	0.0	1.5 cb	3.0	0.0 b	0.0	1.5 ef	3.0
Capsaicina / Capsaicin	31.5 b	63.0	49.5 a	99.0	37.0 a	74.0	48.5 a	97.0
ABA	13.0 c	26.0	5.0 b	10.0	0.0 b	0.0	9.5 ef	19.0
CV	34.61	----	9.93	----	32.39	----	15.06	----

^tMedias con la misma letra dentro de columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$); CV: Coeficiente de variación; NSG: Número de semillas germinadas; PG: Porcentaje de germinación.

^tMeans with the same letter within column are equal according to the Tukey test ($P \leq 0.05$); CV: Coefficient of variation; NGS: Number of germinated seeds; GP: germination percentage.

CUADRO 3. Efecto del extracto etéreo en la longitud de raíz (LR) de cuatro especies.

TABLE 3. Ether extract effect on the root length (RL) of four species.

Concentración / Concentration (%)	Longitud de raíz / Root length (mm)			
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Lactuca sativa</i>	<i>Bidens odorata</i>	<i>Ipomoea purpurea</i>
0.0	38.45 a ^t	18.85 a	34.40 a	42.85 a
0.5	15.68 b	7.68 bc	43.35 a	29.63 bc
1.5	12.05 b	8.10 bc	29.18 a	34.33 bc
2.5	11.20 b	10.18 b	31.88 a	27.45 bcd
5.0	0.08 c	4.35 cd	4.28 b	23.85 cd
10.0	0.03 c	2.40 d	0.68 b	14.90 de
20.0	0.05 c	0.10 d	0.05 b	6.20 e
Capsaicina / Capsaicin	4.50 c	14.83 a	34.50 a	39.78 ab
CV	23.16	23.08	31.51	21.97

^tMedias con la misma letra dentro de columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$); CV: Coeficiente de variación.

^tMeans with the same letter within column are equal according to the Tukey test ($P \leq 0.05$); CV: Coefficient of variation.

1.5 % con una disminución de 95 %, y llegó a 100 % con las concentraciones 2.5, 5 y 10 %. Por otra parte, la capsaicina no mostró efecto fitotóxico en las semillas de esta especie. En contraste, ABA redujo la germinación 90 % en relación al testigo.

En *B. odorata* fue contundente el efecto fitotóxico debido a que todas las concentraciones redujeron 100 % la germinación, del mismo modo que ABA, mientras que la capsaicina no ocasionó efecto tóxico. La respuesta del abatimiento de la germinación en *I. purpurea* se acentuó a medida que fueron mayores las concentraciones. Se registraron valores en la inhibición desde 27 hasta 97 % con las concentraciones 0.5 y 20 %, respectivamente (Cuadro 2). Capsaicina y ABA presentaron el mismo efecto que el ob-

as that observed with the ether extract (see Table 1). Therefore, *A. hybridus* and weeds *B. odorata* and *I. purpurea* were the most affected by the dichloromethane extract.

Root length and length of the aerial part

The ether extract caused slower growth in root length (RL) and aerial part of the seedling (LAP). In other words, there were phytotoxic effects, especially above 5 % concentration, particularly in *A. hybridus*, *L. sativa* and *B. odorata*, as expected. The greatest growth of RL and LAP was observed with the ether extract in *I. purpurea*. In contrast, capsaicin negatively affected only the growth of RL and LAP of *A. hybridus*. The remaining species did not showed significant differences with respect to the control.

servado con el extracto etéreo (Cuadro 1). Por lo tanto, *A. hybridus* y las malezas *B. odorata* e *I. purpurea* fueron las más afectadas por el extracto de diclorometano.

Longitud de raíz y longitud de la parte aérea

El extracto etéreo provocó menor crecimiento de la longitud de raíz (LR) y parte aérea de la plántula (LPA). Es decir, hubo efecto fitotóxico, especialmente por arriba del 5 % de concentración, particularmente en *A. hybridus*, *L. sativa* y *B. odorata*, como era de esperarse. El mayor crecimiento de la LR y de LPA se observó con el extracto etéreo en *I. purpurea*. En contraste, la capsaicina afectó negativamente sólo el crecimiento de LR y LPA de *A. hybridus*. En las especies restantes no se encontraron diferencias significativas con respecto al testigo.

Por otra parte, todos los tratamientos del extracto de diclorometano afectaron el vigor (LR y LPA) de las cuatro especies. El extracto causó efectos negativos desde 0.5 % de concentración en la longitud de la raíz y en la longitud de la parte aérea en todas especies (Cuadro 5 y 6). Los daños se caracterizaron por la presencia de raíces primarias con hendiduras raquílicas o ausentes, atrofiadas o ahiladas, hipocotilos y cotiledones cortos, gruesos o deformados, plántulas que en condiciones de campo no podrían sobrevivir. La falta de desarrollo o daño de la radícula es importante ya que una plántula normal requiere de una raíz fuerte que pueda penetrar al suelo con el fin de tener buen anclaje para seguir desarrollándose y formar una planta (Rice, 1984).

DISCUSIÓN

El potencial de los productos naturales usado por sus propiedades biológicas particulares como herbicidas, plaguicidas, antibióticos, inhibidores o estimulantes de crecimiento es prácticamente inagotable. Aunque en la búsqueda de nuevos herbicidas, los estudios con extractos orgánicos permiten extraer mayor diversidad de metabolitos, en algunos casos con mayor potencial fitotóxico que las mezclas. Éstos pueden servir de modelo para la síntesis de nuevos fitotóxicos naturales o para evaluar su actividad alelopática.

En este estudio, la capsaicina no afectó la germinación de las semillas de *L. sativa*, *I. purpurea* y *B. odorata*. No obstante, se encontraron diferencias estadísticas entre el alcaloide y las concentraciones de ambos extractos en el número de semillas germinadas (NSG) de *A. hybridus* (Cuadros 1 y 2). El efecto fitotóxico del alcaloide se manifestó con la inhibición del desarrollo de tejido radicular (Cuadros 3 y 5), misma tendencia que se encontró en el crecimiento de la LPA (Cuadros 4 y 6). Las diferencias en el NSG observadas en *A. hybridus*, en comparación con las especies restantes, coinciden con lo descrito por Chou y Yang (1982), quienes señalan que hay diferencias en el

Moreover, all dichloromethane extract treatments affected the vigor (RL and LAP) of the four species. The extract caused negative effects from 0.5 % concentration in root length and the length of the air part in all species (Table 5 and 6). Damage was characterized by the presence of primary roots with absent or stunted, atrophied or etiolated clefts, short, thick or deformed hypocotyls and cotyledons, seedlings that under field conditions could not survive. Lack of development or damage of the radicle is important because a normal seedling requires a strong root that can penetrate the ground in order to have good anchorage for further development and to form a plant (Rice, 1984).

DISCUSSION

The potential of the natural products used for their particular biological properties such as herbicides, pesticides, antibiotics, inhibitors or growth stimulants is practically inexhaustible. Although in the search for new herbicides, studies with organic extracts allow to extract greater diversity of metabolites, in some cases with greater phytotoxic potential than the mixtures. They can serve as a model for the synthesis of new natural phytotoxic or to evaluate the allelopathic activity.

In this study, capsaicin did not affect the germination of *L. sativa*, *I. purpurea* and *B. odorata* seeds. However, statistical differences were found between the alkaloid and the concentrations of both extracts in the number of germinated seeds (NGS) of *A. hybridus* (Tables 1 and 2). The phytotoxic effect of the alkaloid was manifested by inhibiting the development of root tissue (Tables 3 and 5); similar trend that was found in the growth of LAP (Tables 4 and 6). NGS differences observed in *A. hybridus*, compared to the remaining species were similar to those described by Chou and Yang (1982), who point out that there are differences in root development and the germination, which is due to differences between varieties and species (Zárate *et al.*, 2006; Pérez-Leal *et al.*, 2005).

The reduction of radicle growth and aerial part may be because capsaicin affects the division processes and cell elongation, as shown by other metabolites (Besnier, 1989, Rice, 1984), and alkaloids (Zárate-Hernández *et al.*, 2006), although the genetic or environmental causes are not discarded. When the allelopathic effect produced by a plant is manifested through the root growth inhibition means that various cell organelles related to the functioning of mitochondria (respiration), chloroplasts (photosynthesis) primary meristems and secondary (division and cell elongation) properties of membranes, enzyme kinetics, protein synthesis, chromosomal structure, etc., are being affected in a specific way (Anaya *et al.*, 1992).

The differences observed in germination percentage, RL and LAP, on the species affected by dichloromethane

CUADRO 4. Efecto del extracto etéreo en la longitud de plántula (LPA) de cuatro especies.

TABLE 4. Ether extract effect on the seedling length (LAP) of four species.

Concentración / Concentration (%)	Longitud de plántula / seedling length (mm)			
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Lactuca sativa</i>	<i>Bidens odorata</i>	<i>Ipomoea purpurea</i>
0.0	13.58 b ^f	13.93 ab	29.35 a	41.85 a
0.5	18.15 a	15.43 a	28.33 a	28.28 ab
1.5	13.35 b	12.30 ab	23.80 a	16.50 bc
2.5	12.38 b	15.50 a	26.78 a	16.20 bc
5.0	0.00 c	4.93 bc	2.63 b	26.95 ab
10.0	0.00 c	1.18 c	0.33 b	12.68 bc
20.0	0.00 c	0.00 c	0.00 b	1.68 c
Capsaicina / Capsaicin	3.73 c	11.56 ab	28.13 a	40.66 a
CV	18.57	41.77	25.29	38.18

^fMedias con la misma letra dentro de columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$); CV: Coeficiente de variación.

^fMeans with the same letter within column are equal according to the Tukey test ($P \leq 0.05$); CV: Coefficient of variation.

CUADRO 5. Efecto del extracto de diclorometano en la longitud de raíz (LR) de cuatro especies.

TABLE 5. Dichloromethane extract effect on root length (RL) of four species.

Concentración / Concentration (%)	Longitud de raíz / root length (mm)			
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Lactuca sativa</i>	<i>Bidens odorata</i>	<i>Ipomoea purpurea</i>
0.0	38.45 a ^t	18.85 a	34.40 a	45.85 a
0.5	0.13 b	2.45 c	0.00 b	6.20 b
1.5	0.03 b	0.15 c	0.00 b	1.70 b
2.5	0.00 b	0.00 c	0.00 b	1.45 b
5.0	0.00 b	0.00 c	0.00 b	1.10 b
10.0	0.00 b	0.00 c	0.00 b	0.95 b
20.0	0.00 b	0.07 c	0.13 b	0.28 b
Capsaicina / Capsaicin	4.50 b	14.83b	34.50 a	39.78 a
CV	38.47	26.07	69.90	33.65

^tMedias con la misma letra dentro de columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$); CV: Coeficiente de variación.

^tMeans with the same letter within column are equal according to the Tukey test ($P \leq 0.05$); CV: Coefficient of variation.

CUADRO 6. Efecto del extracto de diclorometano en la longitud de plántula (LPA) de cuatro especies.

TABLE 6. Dichloromethane extract effect on seedling length (LAP) of four species.

Concentración / Concentration (%)	Longitud de plántula / seedling length (mm)			
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Lactuca sativa</i>	<i>Bidens odorata</i>	<i>Ipomoea purpurea</i>
0.0	13.58 a ^t	13.9 a	27.5 a	41.8 a
0.5	0.00 c	2.8 b	0.0 b	0.5 b
1.5	0.00 c	0.0 b	0.0 b	0.1 b
2.5	0.00 c	0.0 b	0.0 b	0.0 b
5.0	0.00 c	0.0 b	0.0 b	0.0 b
10.0	0.00 c	0.0 b	0.0 b	0.0 b
20.0	0.00 c	0.0 b	0.0 b	0.0 b
Capsaicina / Capsaicin	3.73 b	11.5 a	28.1 a	40.6 a
CV	32.19	47.2	42.3	33.2

^tMedias con la misma letra dentro de columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$); CV: Coeficiente de variación.

^tMeans with the same letter within column are equal according to the Tukey test ($P \leq 0.05$); CV: Coefficient of variation.

desarrollo radicular y en la germinación, lo que se debe a diferencias entre variedades y especies (Zárate *et al.*, 2006; Pérez-Leal *et al.*, 2005).

La reducción del crecimiento de la radícula y parte aérea puede ser debida a que la capsaicina afecta los procesos de división y elongación celular, tal como se ha observado con otros metabolitos (Besnier, 1989; Rice, 1984), y alcaloides (Zárate-Hernández *et al.*, 2006), aunque no se descartan las causas genéticas o ambientales. Cuando el efecto de un alelopático producido por una planta se manifiesta a través de la inhibición del crecimiento radicular, significa que se está afectando de manera específica a diversos organelos celulares relacionados con el funcionamiento de mitocondrias (respiración), cloroplastos (fotosíntesis), meristemos primarios y secundarios (división y elongación celular), propiedades de las membranas, cinética enzimática, síntesis de proteínas, estructura cromosómica, etc. (Anaya *et al.*, 1992).

Las diferencias observadas en el porcentaje de germinación, LR y LPA, en las especies afectadas por los extractos etéreo y de diclorometano se deben posiblemente a la variación en la composición y concentración de los metabolitos (capsaicina y otros capsaicinoides) presentes en las mezclas. El análisis por cromatografía de capa fina permitió detectar a la capsaicina en ambos extractos, y en mayor proporción en el extracto de diclorometano, debido a la alta afinidad en la polaridad de la capsaicina por el disolvente, lo cual podría explicar el mayor efecto del extracto en el crecimiento de las plántulas. Las diferencias encontradas entre el extracto y el alcaloide también pueden ser atribuidas a una acción sinérgica de los componentes involucrados y a la concentración de los diferentes alcaloides. Por lo tanto, estos factores pueden afectar la capacidad de penetración en la semilla y al tejido, o la dispersión y acumulación en los compartimentos intracelulares, lo que altera la germinación y crecimiento de plántula (Pérez-Leal *et al.*, 2005). Un efecto sinérgico similar de fitotoxicidad se observó en los extractos de *Calia secundiflora* y el alcaloide citisina en *A. hybridus* y *L. sativa* (Zárate-Hernández *et al.*, 2006).

La respuesta diferencial entre especies a los diversos tratamientos obedece a que la actividad biológica de extractos o compuestos no sólo depende de su naturaleza química, de su concentración y proporción de sus componentes, sino también de la sensibilidad de la planta receptora y del proceso metabólico implicado (Anaya *et al.*, 1992). Es decir, que la interferencia de los alelopáticos con los procesos metabólicos es diversa, lo que implica una gran variedad de modos de acción.

Los mecanismos que explican las propiedades fitotóxicas de numerosos tipos de alcaloides (Aniszewski, 2007; Einhelling, 2002; Doan *et al.*, 2000; Wink *et al.*, 1999), en particular los del tipo quinolizidínicos, han sido

and ethereal extracts are possibly due to the variation in composition and concentration of the metabolites (capsaicin and other capsaicinoids) present in the mixtures. Analysis by thin layer chromatography allowed the detection of capsaicin in both extracts and in a greater proportion in the dichloromethane extract, due to the high affinity of capsaicin polarity by the solvent, which may explain the greater effect of the extract in the growth of seedlings. The differences found between the extract and the alkaloid can also be attributed to a synergistic action of the components involved and the concentration of the various alkaloids. Therefore, these factors can affect the ability to penetrate the seed and the tissue, or dispersion and accumulation in intracellular compartments, which alters the germination and seedling growth (Pérez-Leal *et al.*, 2005). A similar synergistic effect of phytotoxicity was observed extracts of *Calia secundiflora* and alkaloid cytisine in *A. hybridus* y *L. sativa* (Zárate-Hernández *et al.*, 2006).

Differential response among species to the various treatments is because the biological activity of extracts or compounds not only depends on their chemical nature, concentration and the proportion of their components, but also the sensitivity of the recipient plant and the metabolic process involved (Anaya *et al.*, 1992). That is, the interference of allelopathic compounds with metabolic processes is diverse; this implies a variety of modes of action.

The mechanisms explaining the phytotoxic properties of many types of alkaloids (Aniszewski, 2007; Einhelling, 2002; Doan *et al.*, 2000; Wink *et al.*, 1999), particularly quinolizidine have been studied (Wink, 1983). Although these metabolites affect a broad spectrum of organisms, no interaction is discarded in the same places in the plant cells (Einhelling, 2002), promoting the inhibition of cell reproduction (Waller and Einhelling, 1999) of DNA, ARN, some enzymes (Wink and Laitz-Bruning, 1995) and protein biosynthesis. They also affect the permeability of membranes and disrupt its stability (Wink *et al.*, 1999; Liu and Lovett, 1993).

CONCLUSIONS

The dichloromethane extract caused the most phytotoxic effect on the germination of the four species, particularly in *A. hybridus* and *L. sativa* from 2.5 % concentration, and 0.5 % in *B. odorata*, in which the e rate was reduced to 100 %. It also negatively affected the expression of the vigor of *I. purpurea* from 0.5 % concentration, particularly the length of the aerial part of seedlings.

Ether extract abated the germination of *A. hybridus* and *B. odorata* with 5 % or more concentration, and *L. sativa* with 10 %. Similarly, root length and length of the aerial part of seedlings were negatively affected in all species. *I. purpurea* was the least susceptible, while *A. hybridus* showed higher susceptibility.

estudiados (Wink, 1983). Aunque estos metabolitos afectan a un amplio espectro de organismos, no se descarta su interacción en los mismos sitios en las células vegetales (Einhelling, 2002), promoviendo la inhibición de la reproducción celular (Waller y Einhelling, 1999) del ADN, ARN, algunas enzimas (Wink y Laitz-Bruning, 1995) y la biosíntesis de proteínas. Además, afectan la permeabilidad de las membranas y perturban su estabilidad (Wink *et al.*, 1999; Liu y Lovett, 1993).

CONCLUSIONES

El extracto de diclorometano causó el mayor efecto fitotóxico sobre la germinación de las cuatro especies, particularmente en *A. hybridus* y *L. sativa* a partir de 2.5 % de concentración, y 0.5 % en *B. odorata*, en las que el porcentaje se redujo hasta 100 %. Asimismo, afectó negativamente la expresión del vigor de *I. purpurea* desde 0.5 % de concentración, particularmente la longitud de la parte aérea de plántula.

El extracto de etéreo abatió la germinación de *A. hybridus* y *B. odorata* con 5 % o más de concentración, y en *L. sativa* con 10 %. Del mismo modo, la longitud de raíz y longitud de la parte aérea de plántula fueron afectados negativamente en todas las especies. *I. purpurea* fue la menos susceptible, mientras que en *A. hybridus* se observó mayor susceptibilidad.

El efecto fitotóxico de la capsaicina sobre la germinación y vigor sólo se manifestó en *A. hybridus*.

LITERATURA CITADA

- ANAYA, A. L.; HERNÁNDEZ-BAUTISTA, B. E.; JIMÉNEZ-ESTRADA, M.; VELASCO-IBARRA, L. 1992. Phenylacetic acid as a phytotoxic compound of corn pollen. *Journal of Chemical Ecology* 18(6): 897-905. doi: 10.1007/BF00988330
- ANAYA, A. L.; HERNÁNDEZ-BAUTISTA, B. E.; PELAYO-BENAVIDES, H. R. 1994. Allelopathy in Mexican plants: More recent studies, pp. 224-241. *In: Allelopathy Organisms, Processes, and Applications*. American Chemical Society Symposium series 582. Washington, D. C. USA.
- ANAYA, A. L.; MATA, R.; RIVERO-CRUZ, F. 1999. Allelochemical potential of *Metopium brownei* (Jacq.) Urban (Anacardiaceae). *Journal of Chemical Ecology* 25(1): 141-156. doi: 10.1023/A:1020845318284
- ANAYA L., A. L. 2003. Alelopatía, pp. 255-298. *In: Ecología Química*. ANAYA L., A. L. (ed.). Plaza y Valdés. México.
- ANÓNIMO. 2000. Institute. SAS/STAT. User's Guide. Release 9.1.3. ed. SAS Institute, Inc. Cary, North Carolina.
- ANÓNIMO. 2005. International Rules for Seed Testing. The International Seed Testing Association. Bassesdorf, Switzerland. pp. 25-26.
- ANISZEWSKI, T. 2007. Biological significance of alkaloids, pp.

The phytotoxic effect of capsaicin on germination and vigor was only evident in *A. hybridus*.

End of English Version

- 141-180. *In: Alkaloids- Secrets of Life*. Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role. ANISZEWSKI, T. (ed.). Elsevier, UK.
- BESNIER R., F. 1989. Semillas, Biología y Tecnología. Mundi-Prensa. Madrid, España. 637p.
- CHIAPUSIO, G.; GALLET, C.; DOBREMEZ, J. F.; PELLISIER, F. 2004. Compuestos alelopáticos ¿herbicidas del futuro?, pp. 153-171. *In: Biopesticidas de Origen Vegetal*. Ediciones Mundi-Prensa. España. REGNAULT-ROGER C.; PHILOGENE, B. J.; VINCENT, C. (eds.). Madrid, España.
- CHO, K. J.; PARK, K. S.; TANG, C. S. 1992. Allelopathic potential of red-pepper (*Capsicum annuum* L.) fruit. *Biotechnology* 34(2): 18-23. <http://web02.affrc.go.jp/english/publication/jarq/28-1/28-1-001-011.pdf>
- CHOU, C. H.; YANG, C. M. 1982. Allelopathic research of subtropical vegetation in Taiwan II. Comparative exclusion of understory by *Phyllostachys edulis* and *Cryptomeria japonica*. *Journal of Chemical Ecology* 8(12): 1489-1507. doi: 10.1007/BF00989105
- DOAN, N. T.; RICHARDS, R. W.; ROTHCHILD, J. M.; SMITH, G. D. 2000. Allelopathic actions of the 12-*epi*-haptalindole E. isonitrile and calothrixin A from cyanobacteria of the genera *Fischerella* and *Calothrix*. *Journal of Applied Phycology* 12(3-5): 409-416. doi: 10.1023/A:1008170007044
- DORANTES, L.; COLMENERO, R.; HERNÁNDEZ, H.; MOTA, L.; JARAMILLO, M. E.; FERNÁNDEZ, E.; SOLANO, C. 2000. Inhibition of growth of some foodborne pathogenic bacteria by *Capsicum annum* extracts. *International Journal of Food Microbiology* 57(1-2): 125-128. doi: 10.1016/S0168-1605(00)00216-6
- DUDAI, N.; POLJAKOFF-MAYBER, A.; MAYER, A. M. 1999. Essential oils as allelochemicals and their potential use as bioherbicides. *Journal of Chemical Ecology* 25(5): 1079-1089. doi: 10.1023/A:1020881825669
- DUKE, S. O.; RIMANDO, A.; SCHEFFER, B. F.; DAYAN, F. E. 2002a. Strategies for research in applied aspects of allelopathy, pp. 139-152. *In: Allelopathy from Molecules to Ecosystems*. REIGOSA, M.; PEDROL, N. (eds.). Science Publishers, Inc. USA.
- DUKE, S. O.; SCHEFFER, B. F.; DAYAN, F. E. 2002b. Allelochemicals as herbicides. pp. 183-195. *In: Allelopathy from Molecules to Ecosystems*. REIGOSA, M.; PEDROL, N. (eds.). Science Publishers, Inc. USA.
- EINHELLING, F. A. 2002. The physiology of allelochemical action: clues and views, pp. 1-23. *In: Allelopathy from Molecules to Ecosystems*. REIGOSA, M.; PEDROL, N. (eds.). Science Publishers, Inc. USA.
- GHISALBERTI, E. L. 1993. Detection and isolation of bioactive natural products, pp. 9-57. *In: Bioactive Natural Products*.

- COLEGATE, S. M.; MOLYNEUX, R. J. (eds.). CRC Press. USA.
- GREGER, H.; ZECHNER, G.; HOFER, O.; VAJRODAYA, S. 1996. Bioactive Amides from *Glycosmis* species. *Journal of Natural Products* 59(12): 1163-1168. doi: 10.1021/np9604238
- HAMBURGER, M. O.; CORDELL, G. A. 1987. A Direct bioautographic TLC assay for compounds possessing antibacterial activity. *Journal of Natural Products* 50(1): 19-22. doi: 10.1021/np50049a003
- KOBATA, K.; TODO, T.; YAZAWA, S.; IWAI, K.; WATANABE, T. 1998. Novel capsaicinoid-like substances, capsiate and dihydrocapsiate, from the fruits of nonpungent cultivar, CH-19 Sweet, of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(5): 1695-1697. doi: 10.1021/jf980135c
- LIU, D.; LOVETT, J. V. 1993. Biologically active secondary metabolites of barley. II. Phytotoxicity of barley allelochemicals. *Journal of Chemical Ecology* 19(10): 2231-2244. doi: 10.1007/BF00979660
- LOVETT, J.; RYUNTYU, M. 1992. Allelopathy: Broadening the context, pp. 11-19. *In: Allelopathy: Basic and Applied Aspects*. RIZVI, S. J. H.; RIZVI, V. (eds.). Chapman y Hall, London, UK.
- MACHO, A.; LUCENA, C.; SANCHÓ, R.; DADDARIO, N.; MINASSI, A.; MUNOZ, E.; APPENDINO, G. 2003. Non-pungent capsaicinoids from sweet pepper: synthesis and evaluation of the chemopreventive and anticancer potential. *European Journal of Nutrition* 42(1): 2-9. doi: 10.1007/s00394-003-0394-6
- MACIAS F., A. 1995. Allelopathy in the Search for Natural Herbicide Models, pp. 311-327. *In: Allelopathy Organisms, Processes and Applications*. American Chemical Society. Washington, DC. USA.
- MACÍAS, F. A.; SIMONET, A. M.; GALINDO, J. G. 1997. Bioactive steroids and triterpenes from *Melilotus messanensis* and their allelopathic potential. *Journal of Chemical Ecology* 23(7): 1781-1803. doi: 10.1023/B:JOEC.0000006451.19649.a0
- NARWAL, S. S. 2002. Crop allelopathy for weed management in sustainable agriculture, pp. 209-229. *In: Allelopathy from Molecules to Ecosystems*. REIGOSA, M. J.; PEDROL, N. (eds.). Science Publishers, Inc. USA.
- PÉREZ-LEAL, R.; GARCÍA-MATEOS, M. R.; VÁSQUEZ, T. R.; COLINAS-LEÓN, M. T. 2005. Allelopathic potential of *Petiveria alliacea* L. *Agronomy for Sustainable Development* 25(2): 177-182. doi: 10.1051/agro:2005015
- PÉREZ G., M.; CASTRO B., R. 2008. EL CHILE MANZANO. Universidad Autónoma Chapingo. 1a. Reimpresión. Chapingo, México. 135 p.
- RICE E., L. 1984. Allelopathy. 2a ed. Academic Press. Orlando, Florida. 359 p.
- ROSA, A.; DEIANA, M.; CASU, V.; PACCAGNINI, S.; APPENDINO, G.; BALLERO, M.; DESSI, M. A. 2002. Antioxidant activity of capsinoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(25): 7396-7401. doi: 10.1021/jf020431w
- VIBRANS, H. 1995. *Bidens pilosa* L. y *Bidens odorata* Cav (Asteraceae: Heliantheae) en la vegetación urbana de la ciudad de México. *Acta Botánica Mexicana* 32: 85-89. <http://www1.ecologia.edu.mx/publicaciones/resumeness/ABM/ABM.32.1995/acta32%2885-89%29.pdf>
- WAGNER, H.; BLADT, S. 1996. Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas. Springer Verlag, Berlin. p. 32. http://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=8y2B_61iOhlC&oi=fnd&pg=PA3&dq=Plant+Drug+Analysis.+A+Thin+L+ayer+Chromatography+Atlas.+Springer+Verlag,+Berlin.+p.+&ots=xT_bJbchAg&sig=OpZmHD87YoAQxSoTqZJkx6X0TKM#v=onepage&q=Plant%20Drug%20Analysis.%20A%20Thin%20Layer%20Chromatography%20Atlas.%20%20Springer%20Verlag%20C%20%20Berlin.%20p.&f=false
- WALLER, G. R.; EINHELLING, F. A. 1999. Overview of allelopathic in agriculture, forestry, and ecology, pp. 221-245. *In: Biodiversity and allelopathy: from organism to ecosystems in the Pacific*. CHOU, C. H.; WALLER, G. R.; REINHARDT, C. (eds.). Academia Sinica. Taipei.
- WINK, M. 1983. Inhibition of seed germination by quinolizidine alkaloids. Aspects of allelopathy in *Lupinus albus* L. *Planta* 158(4): 365-368. doi: 10.1007/BF00397339
- WINK, M.; LATZ-BRUNING B. 1995. Allelopathic properties of alkaloids and other natural products, pp. 117-126. *In: Principles and Practices in Plant Ecology. Allelochemical Interactions*. INDERJIT; DAKSHIMI, K. M. M.; FOY, CH. L. (eds.). CRC-Press. Washington, D. C.
- WINK, M.; LUTZ-BRUNING, B.; SCHMELLER, T. 1999. Biochemical effects of allelopathic alkaloids, pp. 411-422. *In: Principles and Practices in Plant Ecology. Allelochemical Interactions*. INDERJIT; DAKSHIMI, K. M. M.; FOY, CH. L. (eds.). CRC-Press. Washington, D. C.
- ZÁRATE-HERNÁNDEZ, J.; GARCÍA-MATEOS, R.; ZAVALA-CHÁVEZ, F.; PÉREZ-LEAL, R. 2006. Fitotoxicidad de los extractos de *Calia secundiflora* (Ort.) Yakovlev. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 12(2): 197-202. www.chapingo.mx/revistas/revistas/articulos/doc/f6c9f8de3df401cc449c8880205bc15c.pdf